

ОБЗОР

УДК 57.045

Зимний покой древесных растений и его неинвазивный мониторинг

А.Е. Соловченко^{1, 2, *} , Е.Н. Ткачев³, Е.М. Цуканова³, Б.М. Шурыгин¹,
С.С. Хрущев⁴ , И.В. Конюхов⁴, В.В. Птушенко^{5, 6} 

¹Кафедра биоинженерии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

²Институт естествознания, Тамбовский государственный университет имени Г.Р. Державина, Россия, 392000, г. Тамбов, ул. Интернациональная, д. 33;

³Федеральный научный центр имени И.В. Мичурина, Россия, 393760, г. Мичуринск, ул. Мичурина, д. 30;

⁴Кафедра биофизики, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

⁵Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40;

⁶Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля, Российская академия наук, Россия, 119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4

*e-mail: solovchenko@mail.bio.msu.ru

В состоянии покоя (dormancy) многолетние растения — обитатели регионов с выраженной сезонностью климата — могут переживать длительные периоды неблагоприятных условий. Выделяют периоды предварительного, физиологического и вынужденного покоя. В период предварительного покоя завершаются генетические, физиолого-биохимические и морфологические перестройки, увеличивающие стресс-толерантность растения. Физиологический или глубокий покой характеризуется неспособностью меристем к возобновлению деления клеток даже в благоприятных условиях. Под действием сигналов окружающей среды растения переходят от глубокого покоя к вынужденному, в котором деление клеток и рост сдерживается неблагоприятными условиями среды. Участвующие климатические флуктуации приводят к аномальному выходу из покоя, повышая риск повреждения растений, особенно культурных, неблагоприятными факторами среды. В этой связи важны методы неинвазивного объективного мониторинга состояния покоя растений в реальном времени. Исследования связи между статусом покоя и функционированием фотосинтетического аппарата растений привели к разработке методов мониторинга состояния древесных растений путем регистрации переменной флуоресценции хлорофилла хвои и эндодермы коры их побегов. В обзоре кратко суммированы современные представления о механизме индукции состояния покоя и выхода из него. Приводится анализ функционирования и регуляции фотосинтетического аппарата в покое, связи между амплитудно-кинетической характеристикой индукции флуоресценции хлорофилла и глубиной покоя многолетних растений. Обсуждаются проблемы интерпретации сигналов флуоресценции хлорофилла в контексте мониторинга покоя, а также возможности практического использования этого подхода.

Ключевые слова: покой растений, физиологический покой, вынужденный покой, флуоресценция хлорофилла, нефотохимическое тушение, неинвазивный мониторинг

В ходе эволюции многолетние растения, обитающие в регионах с выраженной сезонной сменой климатических условий, выработали ряд адаптаций для переживания длительных периодов с неблагоприятными условиями (холодного сезона) [1–3]. Одной из ключевых адаптаций для выживания в холодное время года является период покоя (dormancy), характеризующийся минимальной интенсивностью жизнедеятельности растений [4, 5]. Период зимнего покоя характерен как

для зимнезеленых, так и для листопадных растений. Хотя явление покоя растений привлекает внимание ученых уже более 100 лет [6], вокруг связанной с периодом покоя терминологии идет оживленная полемика [2, 7]. Одно из наиболее универсальных определений состояния покоя [8] предлагает считать его «...неактивным состоянием меристем и (или) способных к росту органов, в котором рост не возобновляется даже в благоприятных условиях до тех пор, пока это состояние не бу-

дет изменено сигналами окружающей среды» [7, 9]. В покое растения характеризуются высокой толерантностью к действию неблагоприятных факторов среды, в частности, низких температур. Таким образом, согласованная с сезонными изменениями климата ритмика вхождения в покой и выхода из него обеспечивает максимальную сохранность тканей побегов, вегетативных и генеративных почек в холодный период года [3, 6].

Период зимнего покоя принято делить на три фазы, наиболее выраженные у растений умеренного климатического пояса. Вначале растения вступают в фазу предварительного покоя (предпокоя, pre-dormancy). В период предварительного покоя завершаются генетические, физиолого-биохимические и морфологические перестройки, увеличивающие стресс-толерантность растения [10]. Эти изменения в известной степени обратимы, поскольку возможна индукция вторичного роста выдерживанием растений на удлинённом фотопериоде, внесении высоких доз азотных удобрений, а также шокowymi воздействиями — дефолиацией, сильной обрезкой или обильным увлажнением. Предварительный покой переходит в физиологический или глубокий покой (endo-dormancy), препятствующий росту даже в благоприятных условиях. Наблюдается снижение оводнённости побегов и рост водоудерживающей способности [11]. При этом толерантность к действию неблагоприятных условий среды увеличивается до максимума, у листопадных видов наблюдается осеннее старение и опадение листьев [10, 12]. Под действием низких температур в холодное время года растения переходят из глубокого покоя в состояние вынужденного покоя (eco-dormancy), в котором рост сдерживается только неблагоприятными климатическими условиями. Точные механизмы поддержания покоя неизвестны, но выдвигается ряд гипотез об их природе [1, 13–15]. При наступлении тёплого сезона возобновляется рост, стресс-толерантность снижается до уровня, предшествующего вступлению в покой.

Особенностью зимнего покоя является его количественный, «дозозависимый» характер, выражающийся в зависимости глубины и длительности покоя от интенсивности и времени воздействия факторов среды [10]. Величина минимально необходимого для выхода из глубокого покоя воздействия низких температур (chilling requirement, CR — часы экспозиции растения при температурах в диапазоне 0–7 °C [5]) характеризуется внутри- и межвидовой изменчивостью и считается одной из адаптаций к региональным климатическим особенностям; разработаны математические модели для её расчёта [5]. В качестве регуляторов покоя многолетних древесных растений рассматривали как внутренние (циркадные ритмы, гормональные сигналы), так и внешние (фотопериод, температура, интенсивность солнечной

радиации, водный режим) стимулы [8, 10, 16]. Однако механизмы и факторы входа растений в покой, а также выхода из глубокого покоя (dormancy release) остаются во многом неясными.

Пристальное внимание исследователей к явлению зимнего покоя обусловлено практической важностью этого явления для растениеводства, в особенности плодоводства в регионах с неблагоприятными климатическими условиями (в т. н. зонах рискованного садоводства). С одной стороны, критически важно поддержание покоя в период нестабильных температур и в межсезонье, поскольку преждевременно вышедшие из покоя растения уязвимы для холодового повреждения. С другой стороны, глобальное потепление приводит к риску недостаточности холодового воздействия и, как следствие, к нарушению ритмики прохождения фенологических фаз. Данная проблема стала особенно актуальной в последние годы в связи с дестабилизацией климатических условий и учащением флуктуаций гидротермического режима промышленных садов, вызывающих аномальное протекание периода покоя у растений [5]. Понимание закономерностей влияния резких изменений климатических условий на состояние растений при вступлении в период покоя, в покое и при выходе из него позволило бы спланировать меры по смягчению негативных последствий этих явлений. Данная проблема особенно остра в нынешнюю эпоху климатической нестабильности.

В этой связи актуально определение тенденций изменения ритмики прохождения периода покоя и вероятности раннего цветения в период, когда высок риск заморозков. Не менее важен и подбор сортов с адекватным местным климатическим условиям уровнем зимостойкости (а значит, и объективная количественная, но при этом неинвазивная оценка зимостойкости). Для решения этой задачи оптимальны высокопроизводительные неинвазивные экспресс-методы. К такому относится метод регистрации и анализа амплитудно-кинетических характеристик переменной флуоресценции хлорофилла или РАМ (pulse-amplitude modulation), широко применяемый при высокопроизводительном фенотипировании растений [17–20]. Предварительные исследования показали техническую осуществимость измерений индукционных кривых флуоресценции хлорофилла *a* (ФХ) фотосистемы II, была охарактеризована сезонная динамика фотосинтетической активности хлорофиллоносных тканей побегов дикорастущих и культурных древесных растений [21–23]. Реализация этих методов на современном уровне техники обеспечит круглогодичный автоматизированный сбор данных о функционировании фотосинтетического аппарата и их анализ в реальном времени одновременно с регистрацией климатических условий. Одна-

ко для уверенной интерпретации полученных результатов в контексте исследований зимнего покоя необходимо более глубокое понимание взаимосвязи ритмики покоя растений с состоянием их фотосинтетического аппарата.

С учетом сказанного в обзоре кратко суммированы современные представления о механизмах зимнего покоя растений и выхода из него. Рассматриваются особенности функционирования и регуляции фотосинтетического аппарата растений в покое и возможности их неинвазивного анализа по амплитудно-кинетической характеристике индукции ФХ. В заключении обсуждаются проблемы и возможности практического использования этого подхода.

**Факторы окружающей среды —
детерминанты периода покоя**

Согласно общепринятым представлениям, вступление в состояние покоя происходит под действием сигналов окружающей среды. В классической [2, 3, 6, 24] и современной [1, 13, 15] литературе накоплен значительный объем сведений о феноменологии регуляции ритмики и глубины покоя внешними факторами, среди которых ключевыми являются низкие температуры, короткий фотопериод и их комбинации. Вопрос о том, какой из перечисленных факторов главный, активно обсуждается в литературе и, по-видимому, ответ на него разный в зависимости от вида растения (таблица). Большинству видов древесных растений требуется воздействие обоих факторов, причем как для достижения максимальной холодоустойчивости, так и для выхода из покоя [25, 26]. Необходимость действия обоих факторов особенно характерна для растений, произрастающих в регионах с теплым климатом [27, 34].

Кроме того, укорочение фотопериода сначала индуцирует вход растения в состояние покоя,

и лишь позже развивается холодоустойчивость. Понижение температуры приводит к обратному порядку развития этих двух реакций растения — сначала возникает холодоустойчивость, а позже растение переходит в состояние покоя [37]. Возможно, что с этим различием действия короткого дня и низких температур связаны и различия в механизмах индукции покоя между длинно- и короткодневными растениями [37]. В целом, эффект сокращения длины дня обратим на ранних стадиях прекращения роста: для возобновления роста достаточно вернуть растения к длинному дню [38].

Главным сенсором изменений фотопериода является фитохромная система листа [39, 40], запускающая синтез белка VSP (vegetative storage proteins) [41] — один из признаков входа в покой [41]. Выраженность ответов на вариацию фотопериода зависит от географической широты происхождения растения: северные экотипы более чувствительны к сокращению длины дня, их критический фотопериод длиннее, т.е. при сокращении длины дня северные экотипы раньше прекращают рост и переходят к покою, чем южные [31], однако известны исключения из этого правила [42]. Более того, даже при непрерывном освещении и высокой температуре некоторые виды вступают в состояние покоя, хотя и с опозданием [24].

Восприятие холодовых сигналов и ответы на них изучены намного хуже, чем у фотопериодических сигналов. Интересная гипотеза связывает ритмику покоя древесных растений с нарушением работы «молекулярного осциллятора», контролирующего циркадную ритмику, при действии низких температур и сокращении светового дня [10]. Ключевые исследования соответствующих механизмов были выполнены с использованием модельного травянистого растения — арабидопсиса Таля (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.), работ по древесным растениям существенно меньше.

Таблица

Факторы окружающей среды, влияющие на вход растений в глубокий покой

Виды растений	Действующий фактор		Ссылки
	Фотопериод	Низкие температуры	
Голосеменные (Pinophyta)			
<i>Pinus sylvestris</i> L.	+++*	+++	[32]
<i>Picea glauca</i> (Moench) Voss	+++	+++	[32]
<i>Picea abies</i> (L.) H. Karst.	+++	+++	[32]
Покрытосеменные (Magnoliophyta)			
<i>Castanea sativa</i> Mill.	++	+++	[10]
<i>Betula pendula</i> Roth.	+++*	+++	[28, 31]
<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.	++	+++	[31]
<i>Salix parvifolia</i> C.K. Schneid. ssp	+++*	+++	[35]
<i>Populus tremula</i> L. × <i>tremuloides</i> Michx.	+++	+	[36]
<i>Malus pumila</i> Mill.	++	+++	[27–30]
<i>Pyrus communis</i> L.	++	+++	[27–30]
<i>Vitis vinifera</i> L.	+++	+++	[33]

Примечание: * — ключевой фактор, ** — второстепенный фактор, *** — маловажный фактор

Однако полученные на модельных видах результаты важны для понимания регуляторных механизмов, присутствующих у многих видов, в том числе — у древесных растений. Так, на примере *A. thaliana* было показано, что циркадный осциллятор модулирует холодовые сигналы, экспрессию белков семейства CBF (C repeat-binding factor) и передачу низкотемпературных Ca^{2+} -сигналов [43]. При наступлении холодного сезона циркадный осциллятор останавливается, запуская изменения экспрессии ряда генов (см. ниже), которые приводят, в итоге, к вступлению в покой [44]. Интересно, что для выхода из покоя отдельных видов, таких как абрикос японский (*Prunus mume* (Siebold) Siebold & Zucc.), важнее суммарный эффект высоких, а не низких температур в летний период [45]. Сходный эффект наблюдается при стрессовых воздействиях, таких как преждевременная дефолиация, орошение после засушливого периода и применение химических препаратов, прекращающих покой [46, 47].

Генетический контроль периода покоя

Даже в отсутствие изменений морфологии покоящихся побегов и почек в них существенно изменяются процессы метаболизма и уровни экспрессии определенных генов. При этом наблюдаются сходные изменения экспрессии генов в различных органах и тканях, что может свидетельствовать об универсальности молекулярных механизмов индукции и регуляции покоя. Наиболее характерные изменения, выявленные в геномных исследованиях, предложено использовать в качестве молекулярного индикатора периода покоя [13].

Анализ локусов количественных признаков (ЛКП), связанных с прохождением периода покоя у гибридов тополя волосистоплодного (*Populus trichocarpa* Torr. & A. Gray ex. Hook.) и тополя дельтовидного (*P. deltoides* W. Bartram ex Marshall), показал, что различия в организации генетического контроля ответов на изменение фотопериода лишь частично объясняют различия темпов закладки почек, наблюдаемые в полевых условиях [48]. Для построения более полной картины необходимо учитывать воздействие других факторов, таких как температура. Однако известно, что CR также является комплексным количественным признаком, определяющим, среди прочего, время цветения у представителей рода *Prunus* L., включая миндаль (*P. dulcis* (Mill.) D.A. Webb), абрикос (*P. armeniaca* L.), персик (*P. persica* (L.) Batsch) и черешню (*P. avium* (L.) L.) [13]. Некоторые ЛКП, связанные с CR, включают одни и те же ортологичные области генома, что также может свидетельствовать об универсальности молекулярных механизмов этого процесса [49]. Так, геномные исследования более 400 генотипов персика выявили тесную связь CR с ЛКП, локализованным на хромосоме 1 [50]. Именно

в этой области располагаются шесть tandemных повторов с генами *dam1-6*. Кластер генов *dam* (dormancy associated mads-box), кодирующих факторы транскрипции, ранее был картирован как локус *evg* (evergrowing) [13, 15]. Фенотипическое проявление сверхэкспрессии гена *dam6* — ингибирование роста, сходное с таковым при вступлении в покой. Делеция четырех из шести генов *dam* приводит к потере способности к остановке роста в зимний период [15, 51].

Эксперименты с варьированием фотопериода и температур показали, что гены *dam* связаны с сезонным прекращением роста побегов и образованием генеративных почек в конце лета [15]. Экспрессия *dam1-dam6* регулируется длиной дня, достигая максимума при переходе в глубокий покой и снижается в течение холодного сезона [52]. Паттерны экспрессии генов кластера *dam* позволяют предположить их участие в поддержании состояния глубокого покоя [15]. Также считается, что в регуляции прохождения покоя участвуют гены *svl* (*short vegetative phase-like*), гомологи генов *dam*. Оба семейства регулируются рядом факторов транскрипции, гормонами, а также эпигенетически [53]. Предполагается, что факторы транскрипции *teosinte branched1* снижают экспрессию *dam5* и *dam6* и тем самым приводят к окончанию глубокого покоя.

Сильное охлаждение влияет на метаболизм гормонов (см. ниже) и активирует гены семейств *dam*, *flowering locus C-like* (*flc*), *flowering locus T* (*ft*) и *terminal flower 1*. Происходит обогащение транскриптома продуктами генов, контролирующими постэмбриональное развитие, а также — *early flowering 7*, *raf10*, *zep4* и *F-box*, которые могут быть вовлечены в регуляцию выхода из покоя. Воздействие холода регулирует связанные с фитогормонами пути и постэмбриональное развитие при вскрытии почек. В этом задействована реципрокная регуляция двух локусов *ft* и *flc*, ответственных за цветение. После долгого периода холода подавляется экспрессия *flc*, снимается репрессия *ft*, и растение может цвести. Наиболее подробно представленность и регуляция данных генов изучена у модельных травянистых растений, в частности, у арабидопсиса, но гомологи этих генов найдены и в геномах некоторых изученных к настоящему времени древесных растений. Так, описана эпигенетическая регуляция экспрессии этих генов с участием изменений в метилировании ДНК и гистонов, упаковке хроматина и путей регуляции клеточного цикла. Соответствующие механизмы связаны с взаимодействием гистонов с промотором, вторым экзоном и вторым интроном гена *dam6*, а также с протяженными вставками в интронах *dam5* и *dam6* у персика и яблони [13, 52].

Среди генов, вовлеченных в регуляцию покоя, упоминаются гены, экспрессия которых регулируется

ется уровнем гормонов и абиотическими стрессорами: гены, кодирующие циклин D и стабилизирующие структуру макромолекул дегидрины. Экспрессия дегидринов связана с регуляцией покоя [12] и закалкой, белки CRF2 (cytokinin response factor 2), CAP160 (catabolite activator protein), а также белки семейства LEA (late embryogenesis abundant), связанные с ответами на холодовой стресс [54, 55]. Как правило, сокращение длины светового дня и снижение температуры усиливают экспрессию этих белков, после чего она постепенно репрессируется в течение холодного сезона. Низкие температуры синергически усиливают действие изменения фотопериода [52, 56]. Получены свидетельства участия гена-ортолога впервые описанного у арабидопсиса репрессора цветения *sup* (Short Vegetative Phase) в процессе передачи фотопериодического сигнала и сигнала абсцизовой кислоты (АБК) у гибрида осины и тополя осинообразного (*P. tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) [57]. Снижение экспрессии *sup* нарушает состояние покоя. Напротив, сверхэкспрессия этого гена устраняет нарушения покоя при мутациях, вызывающих нечувствительность к абсцизовой кислоте.

Белки CBF связываются с геномной ДНК перед генами *dam*, индуцируя транскрипцию последних [58]. Сверхэкспрессия генов, кодирующих CBF-белки у персика, замедляет распускание почек, повышает экспрессию генов семейства *lea* и иных генов, например, кодирующих белки COR (Cold-Responsive), экспрессия которых активируется низкими температурами и вызывает акклимацию к действию холода [59, 60]. Тем не менее, однозначных подтверждений участия LEA- и COR-белков в индукции и поддержании состояния покоя, а не только в формировании толерантности к действию низких температур, пока нет.

На основании полученных к настоящему времени экспериментальных данных был предложен гипотетический механизм индукции глубокого покоя, в котором снижение температуры воздуха индуцирует транскрипцию CBF-факторов, а те повышают экспрессию генов *dam* и блокируют передачу сигналов гиббереллинов [13]. Длительное действие низких температур приводит к постепенному снижению экспрессии генов *CBF* и *DAM*, и, как следствие, к выходу из глубокого покоя (рис. 1).

Гормональные сигналы и покой растений

Гормоны-ингибиторы роста ранее рассматривались как первопричина покоя, при этом знания о механизмах их действия в контексте прохождения покоя остаются в значительной степени фрагментированными и противоречивыми, несмотря на большое число исследований, посвященных этому вопросу [8]. Современные исследования указывают на вероятную роль гиббереллинов и АБК в регуляции покоя почек [61]. Сокращение светового дня индуцирует у древесных растений снижение содержания гиббереллинов, коррелирующее с замедлением роста и остановкой деления клеток в субапикальной меристеме побегов [62]. Напротив, обработка гиббереллинами верхушечных почек, воспринявших сигнал короткого дня, приводит к возобновлению деления клеток их апикальных меристем.

Были предложены гипотетические механизмы поддержания покоя, такие как блокирование поступления ростостимулирующих гормонов в клетки меристем. Так, в период глубокого покоя происходит обособление клеток апикальных меристем за счет нарушения проводимости плазмодесм. В апикальных почках проводимость плазмодесм нарушается за счет накопления в них каллозы. Была выдвинута гипотеза о том, что гиббереллины восстанавливают межклеточные контакты, открывая запечатанные каллозой поры, что необходимо для передачи иных химических сигналов и выхода растений из покоя [63].

Известно также, что сокращение светового дня сопровождается снижением экспрессии гена, кодирующего GA-20-оксидазу — ключевой фермент

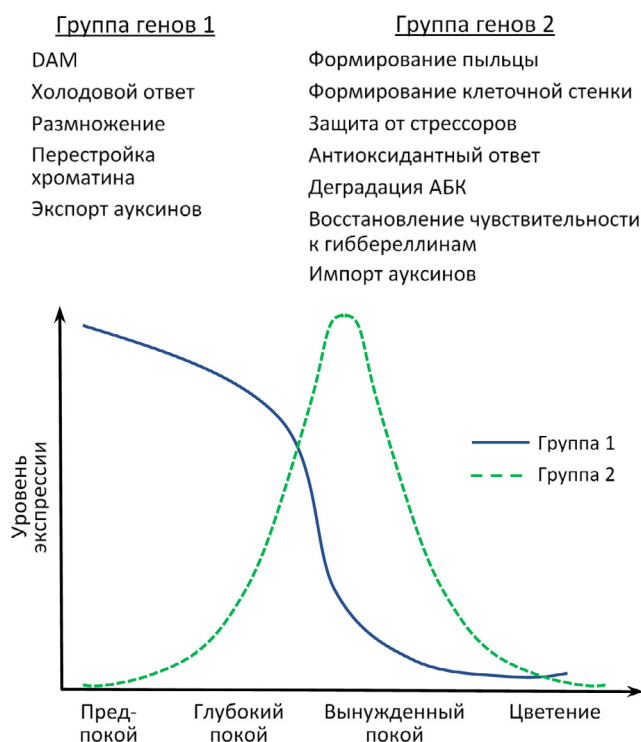


Рис. 1. Гипотетическая динамика экспрессии генов при смене фаз покоя растений. При вступлении в покой глобальный уровень экспрессии генов постепенно снижается и достигает минимума в глубоком покое, а при переходе к вынужденному покою снова временно увеличивается. При этом можно выделить две группы генов с контрастными показателями экспрессии. Предполагается, что гены из первой группы отвечают за «аккумуляцию эффекта холода» и выход из глубокого покоя, а гены второй группы — за созревание генеративных почек и подготовку к выходу из покоя (подробнее см. работу Ю и соавт. [13]).

биосинтеза гиббереллинов [62]. И наоборот, выход из глубокого покоя сопровождается ростом экспрессии генов GA-20-оксидазы у *P. mume*. Снижение экспрессии GA-2-оксидазы, превращающей гиббереллины в неактивную форму, повышает содержание активной формы этих гормонов, таких как GA₃, после выхода из глубокого покоя [64]. Не исключено, что регуляция периода покоя гиббереллинами может координироваться фитохромной системой. Так, вышеописанный эффект не наблюдался у растений гибридного тополя с увеличенной экспрессией гена *phyA* [65]. Таким образом, ингибирование биосинтеза гиббереллинов вносит свой вклад в ответ на фотопериодический сигнал (остановка роста). У тополя содержание гиббереллинов повышалось по мере действия низких температур [44].

В отличие от транспорта гиббереллинов, транспорт ауксинов не нарушается при разрыве межклеточных контактов. Последний осуществляется специализированными переносчиками, транскрипты которых обнаруживаются и в покоящихся клетках. При входе в покой и выходе из него уровень ауксина в камбиальных клетках остается прежним, однако меняется чувствительность тканей к этому гормону [10]. По другим данным, наблюдается значительный рост концентрации ауксинов в период вынужденного покоя [66]. В пользу последнего предположения свидетельствует снижение экспрессии экспортирующих ауксины белков-транспортёров на фоне индукции транспортёров, отвечающих за импорт молекул этих гормонов. Интересно, что при выходе из глубокого покоя усиливается транскрипция целого семейства малых ауксин-отзывчивых РНК (small auxin up RNA, SAUR). В настоящее время считается, что именно транспорт ауксинов играет роль «переключателя», регулирующего период покоя у яблони [67]. Действительно, один из генов транспортёров ауксинов у персика (*Prupe.1G07180*) оказался связанным с ЛКП *qCR1d-2008*, контролирующим «накопление» холодового сигнала.

Абсцизовая кислота — ингибитор роста и стимулятор опадения листьев [63, 68], участвующий в индукции покоя, накапливаясь в почках при коротком дне. Разрыв межклеточных контактов через плазмодесмы также является одним из эффектов АБК [61, 69]. Предполагается, что изменения в состоянии покоя теснее связаны с изменениями восприимчивости к АБК, чем с изменениями ее концентрации. Сведения о роли АБК остаются противоречивыми. Так, при сокращении светового дня наблюдается рост содержания этого гормона, однако обработка растений экзогенной АБК не вызвала индукции покоя [31]. Сокращение светового дня индуцировало вхождение в покой даже у форм березы повислой (*Betula pendula* Roth), дефицитных по синтезу АБК, но эти растения имели сниженную толерантность к действию низких

температур по сравнению с диким типом [31, 69]. У тополя белого (*Populus alba* L.) сокращение длины светового дня и снижение температур также вызывают опосредованный повышением концентрации АБК рост экспрессии гена *SVL*, потенциально вовлеченного в контроль покоя и распускания почек [70]. Сверхэкспрессия гена *DAM6* из *P. mume* в растениях яблони низкой (*Malus pumila* Mill.) задерживает распускание почек посредством повышения уровня АБК и снижения содержания цитокинина [14]. В итоге было признано, что АБК участвует скорее в фотопериодической регуляции устойчивости к низким температурам, чем в индукции глубокого покоя [12]. В целом эти результаты свидетельствуют о независимом характере индукции покоя и закладки «спящих» почек при модуляции обоих процессов фотопериодом и уровнем этилена (см. далее) [71]. В выводковых почках ряски (*Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid) фотосинтез и физиологические процессы, связанные с их прорастанием, как предполагают, также находятся под контролем АБК [72].

Этилен, газообразный «гормон старения», также принимает участие в регуляции прохождения покоя совместно с другими гормонами. Влияние этилена на ритмику прохождения покоя изучали на трансгенных растениях березы, не восприимчивых к действию этого гормона вследствие экспрессии аберрантного гена рецептора этилена *ETR1* из арабидопсиса с доминантно-негативной мутацией *etr1-1* [73]. При сокращении длины светового дня у таких растений замедлялся рост, но не наблюдалась закладка верхушечных почек. Аналогичные данные получены на гибридных растениях тополя (*P. tremula* × *P. alba*) со сверхэкспрессией гена-гомолога *ABI3* [71, 73].

Структурно-функциональные перестройки фотосинтетического аппарата в период покоя

Адаптация растений к низкой температуре в значительной степени направлена на поддержание баланса между поглощенной энергией света и метаболическими потребностями клеток в фотоассимилятах [74, 75]. В связи с этим растения повышают емкость метаболического стока и (или) снижают фотохимическую эффективность фотосинтетического аппарата клеток [76–78]. Параллельно при входе в покой в клетке могут происходить изменение пропорций фотосинтетических пигментов, рост содержания ненасыщенных жирных кислот в мембранах, накопление моно- и олигосахаридов, синтез криопротекторных белков, рост вязкости цитоплазмы и изменения в структуре фотосинтетического аппарата [78–80]. В то же время, для достижения баланса между поглощенной и используемой энергией света хвойные вечнозеленые растения используют поддержание высокофункциональной фотосистемы (ФС) I, через которую происходит диссипация из-

бытка поглощенной энергии при низких температурах [75, 78]. Полагают, что это один из ключевых факторов, определяющих доминирование хвойных в высоких широтах [81].

Так, *Picea obovata* Ledeb. и *Abies sibirica* Ledeb. быстрее выходят из зимнего покоя, чем *Pinus sibirica* Du Tour и *P. sylvestris* L., но вследствие этого фотосинтетический аппарат *A. sibirica* может повреждаться весенними заморозками. Это различие связано с тем, что вышеупомянутые виды используют разные механизмы реактивации фотосинтеза весной. У сосны в течение зимы снижается производительность системы ассимиляции CO₂, и в начале весны активируется альтернативный (зависимый от белков Proton Gradient Regulation, PGR5 и PGRL1) сток электронов через ФС1 до восстановления ассимиляции CO₂. К концу весны содержание PGR5 в хвое сосны снижается, вместе с ним снижается интенсивность транспорта электронов через ФС1, возрастает транспорт через ФС2, а интенсивность ассимиляции CO₂ возрастает. Наряду с контролируемым и гибко регулируемым содержанием PGR5, фотосинтетический аппарат сосны использует также и другой путь увеличения стока с ФС1 – зависящий от железосодержащих флавопротеинов [81].

В отличие от сосны, растения ели не обладают способностью переключаться между разными стоками электрона в течение года, в результате чего страдают от фотоокислительного повреждения в весенний период [82]. Как следствие, величина переменной флуоресценции хлорофилла *a*, F_v/F_m, снижается у ели при похолоданиях сильнее, чем у сосны. Видимо, это различие стратегий сосны и ели связано с их разными экологическими стратегиями: сосна – пионер в заселении нарушенных местообитаний, а ель – теневыносливое растение поздних стадий сукцессии [81]. По мере индукции покоя и приобретения холодоустойчивости (закалки) при наступлении морозов в фотосинтетический аппарат сосны происходит частичная потеря компонента антенны ФС2 – белка CP43, а также накопление белка PsbS, участвующего в защите путем тепловой диссипации избытка поглощенной световой энергии [83]. Существенно, что и потеря CP43, и накопление PsbS происходят на ранней стадии закалки, когда начинает укорачиваться фотопериод и понижается температура. Структурно-функциональные перестройки фотосинтетического аппарата хвойных растений при наступлении зимнего покоя детально суммированы в обзоре Ченг и соавт. [84] (рис. 2).

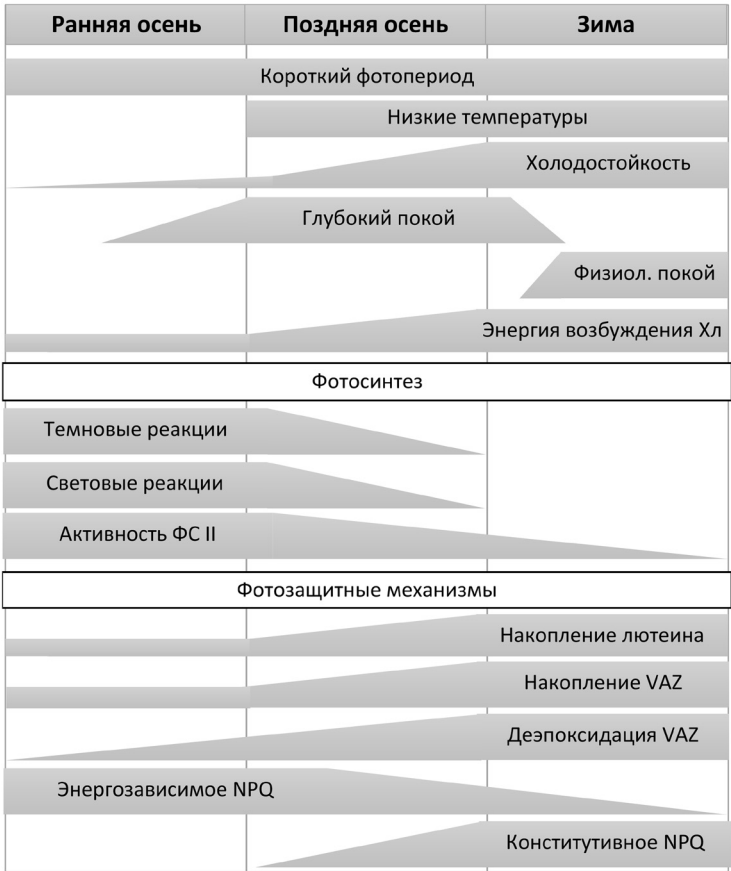


Рис. 2. Обобщенная последовательность событий при холодовой акклимации фотосинтетического аппарата и индукции покоя у хвойных деревьев. Короткий фотопериод и низкие температуры осенью вызывают прекращение роста, замедление фотосинтеза и развитие холодостойкости. Снижение фотохимической утилизации поглощенной энергии света запускает фотозащитные механизмы, включая накопление и деэпоксидацию пигментов виолаксантинового цикла (VAZ), переход от энергозависимого к конститутивному нефотохимическому тушению (NPQ) (по Ченг с соавт. [84]).

Исследований динамики фотосинтетического аппарата при входе в покой на листопадных растениях существенно меньше, чем на хвойных. На растениях персика обыкновенного (*P. persica*) были изучены причины снижения скорости фотосинтеза при входе в состояние покоя [37]. Данные дифференциальной протеомики показали, что фотосинтез лимитировали ключевые белки углеводного цикла — Рубиско и фосфоенолпируваткарбоксилаза, содержание которых снижалось при входе в покой. В листьях наблюдалась ферментативная деградация этих ферментов, которая проходила глубже и быстрее при коротком дне, чем при длинном.

Интересным примером могут служить выводковые почки (турионы) водных растений, таких как многокоренник обыкновенный (*Spirodela polyrrhiza*), которые содержат развитый фотосинтетический аппарат, но зимуют в темноте [72]. Падение величины F_v/F_m у *S. polyrrhiza* в период покоя происходит за счет снижения максимальной флуоресценции, F_m , и роста минимальной, F_o . При этом возрастает уровень нерегулируемого тушения, $Y(NO)$, а регулируемое тушение, $Y(NPQ)$, наоборот, снижается. Данный ответ можно считать необычным, поскольку одновременно сильно возрастает уровень дезэпокидации ксантофиллов виолаксантинового цикла, но абсолютное содержание этих пигментов не увеличивается [72].

Возможности неинвазивного мониторинга состояния покоя

Как следует из анализа литературы, представленного выше, физиолого-биохимические перестройки при входе растений в глубокий покой и выходе из него сопровождаются значительными изменениями функционирования фотосинтетического аппарата. В свою очередь, эти изменения отражаются на амплитудно-кинетических параметрах индукции ФХ, измерения которой широко применяются для анализа и мониторинга физиологического состояния растений [85, 86]. Так, установлено, что изменения переменной ФХ, F_v/F_m , и продуктивности фотосинтеза при входе в покой имеют двухфазный характер: первая фаза индуцируется укорочением светового дня, вторая — понижением температуры. Развитие методологии РАМ-флуориметрии хлорофилла позволило эффективно использовать переменную флуоресценцию для регистрации зимнего покоя хвойных [87]. В настоящее время тестирование физиологического статуса проростков в посадках древесных растений является обычной практикой в различных регионах США, Канады, Швеции, Великобритании. Оно имеет цель количественно охарактеризовать внутренние параметры, такие как общая устойчивость к стрессам, холодоустойчивость, статус состояния покоя, а также детектировать латентные повреждения, не заметные нево-

оруженным глазом. Однако, насколько известно авторам данного обзора, проанализировать эффекты покоя отдельно от таковых эффектов низкой температуры и (или) интенсивности солнечного излучения пока не удалось.

Наряду с классическими методами [37], здесь используется метод индукции ФХ. Важным шагом в развитии применений индукции ФХ для мониторинга зимнего покоя стало измерение этого процесса в побегах, а не только в листьях, что обусловило применимость данной методики и к листопадным растениями в холодный период года [42, 88]. Так, слой феллодермы в коре древесных растений содержит хлоропласты и обладает фотосинтетической активностью. Это делает возможным круглогодичный мониторинг состояния фотосинтетического аппарата [21]. Таким образом, мониторинг ФХ принципиально позволяет отслеживать динамику вхождения растений в состояние зимнего покоя, степень холодового повреждения растений зимой и выхода из покоя весной. Однако использование этого подхода связано с некоторыми сложностями в интерпретации динамики сигналов ФХ. Так, снижение максимального уровня ФХ, F_m , связывают как с ростом толерантности к холоду, так и с акклимацией к дневному свету. Так, на 20-летних растениях *Fagus sylvatica* L. установлено, что листья и стебли показывают одинаковый ход изменений F_v/F_m в весенне-летний период, хотя F_v/F_m обычно немного ниже в побегах (0,78 по сравнению с 0,81) [88]. Показано также, что параметры индукции ФХ (F_v/F_m) побегов являются индикатором холодоустойчивости и степени повреждения камбия клонов ивы (*Salix viminalis* L. и *S. dasyclados* Wimm.) [89]. У сосны обыкновенной и у ели обыкновенной, несмотря на существенные различия в их механизмах акклимации к низкой температуре, F_v/F_m следует за температурой [90]; при этом у *P. sylvestris* снижение F_v/F_m можно использовать для предсказания холодоустойчивости [91]. Показано, что для растений, обладающих различной холодоустойчивостью, характерны разные зависимости F_v/F_m от температуры. Так, для позднецветущих сортов миндаля (*P. dulcis*) с выраженной восприимчивостью к заморозкам было обнаружено линейное уменьшение F_v/F_m с температурой, а для раннецветущих сортов того же вида, устойчивых к низким температурам, наблюдалась квадратичная кривая с точкой перегиба при $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ [92]. Однако более чувствительным, чем F_v/F_m , является реальный (operating) квантовый выход ФС2, т.к. он может быстро меняться [93], в то время как снижение F_v/F_m может быть детектировано только на глубоких стадиях заделки или зимнего стресса [94].

Можно заключить, что изучение температурной зависимости параметров ФХ способно дать алгоритм выявления холодоустойчивых растений, но параметры динамики ФХ, специфичные для

наступления и окончания периода глубокого покоя, не выявлены до сих пор. Тем не менее, существуют гипотезы о механизмах модуляции ФХ в период зимнего покоя. Одна из них постулирует, что атрибутом покоя является нарушение межсистемного транспорта электронов из-за инактивации либо повреждения пластохинонового пула [95]). Более поздние предположения связывают физиологическую пластичность хвойных, в том числе в период покоя, с индукцией высокого, медленно релаксирующего уровня нефотохимического тушения, NPQ (non-photochemical quenching). В качестве механизмов упоминаются фосфорилирование тилакоидных белков и более интенсивная индукция виолаксантинового цикла (см. соответствующие работы [96, 97] и ссылки в этих работах). Одним из потенциальных индикаторов состояния покоя является метод регистрации термолюминесценции. Еще на ранних стадиях закаливания растения, когда лишь начинается фотопериод, снижается температура В-полосы термолюминесценции игл *P. sylvestris* (возможно, это говорит об усилении рекомбинации зарядов в ФС2, обеспечивающем дополнительную защиту от фотоповреждения [98]). Очевидно, однако, что поиск надежных индикаторов для неинвазивного мониторинга состояния покоя растений необходимо продолжать.

Заключение

В настоящем обзоре суммированы современные представления о механизмах индукции и регуляции различных фаз зимнего покоя у древесных растений и их фенотипические проявления на уровне фотосинтетического аппарата. Даже из столь краткого рассмотрения очевидно, что зимний покой представляет собой комплексное явление, динамика которого обусловлена суперпозицией сигналов окружающей среды (фотопериод и температурный режим), путей их восприятия и передачи, а также ответов растения на эти сигналы.

Последние достижения техники регистрации и теории анализа сигналов ФХ открывают новые возможности для мониторинга ритмики и глубины зимнего покоя. Размещение множества автономных датчиков ФХ, связанных в вычислительное «облако» через беспроводные телекоммуникационные каналы, позволяет вести мониторинг состояния растений в покое с беспрецедентным временным разрешением как в природных, так и в антропогенных экосистемах.

Основные проблемы применения данной методики в настоящее время связаны с недостаточным пониманием фундаментальных механизмов зимнего покоя и отсутствием независимых методов, позволяющих оперативно оценивать статус покоя растений. По-прежнему нет четкого критерия для выявления перехода растений от глубокого

покоя к вынужденному, не ясно даже, является ли этот переход плавным или дискретным. Для этой цели по-прежнему применяют, в основном, традиционные методики (отращивание срезанных побегов, анатомо-гистохимические методы). В последнее время обсуждаются эпигенетические и «омиксные» подходы [10, 13], однако пока они не могут считаться достаточно универсальными и селективными. Так, для доказательства участия выявленных к настоящему времени генов-кандидатов в регуляции покоя растений необходимы более детальные профили экспрессии для сопоставления с фенотипическими данными, характеризующими глубину и фазу покоя. При этом критически важным является высокое временное разрешение фенотипирования. Перспективным для решения этой задачи подходом можно признать использование состояния фотосинтетического аппарата молодых побегов как «внутреннего зонда», отражающего метаболическую активность тканей, очевидно, связанную с глубиной покоя растений. Многообещающей кажется возможность использования недавно разработанной методологии зондирования растений с помощью ФХ, индуцированной солнечным светом, SIF (solar-induced fluorescence) [99].

Очевидна необходимость дополнительных исследований для выявления связей между различными проявлениями покоя на морфологическом, генетическом и физиолого-биохимическом уровнях (включая регуляцию диссипации поглощенной энергии света в фотосинтетическом аппарате). В частности, необходимы критерии, позволяющие отличать картину сравнительно долговременной индукции фотозащитных механизмов (таких как NPQ) при вхождении в покой от «оперативной» акклимации к действию стрессоров, таких как свет высокой интенсивности и (или) низкие температуры. В этой связи важна проблема выбора наиболее информативных параметров ФХ, отражающих статус покоя растений. Можно также думать, что подробная регистрация динамики состояния фотосинтетического аппарата в течение длительных периодов времени, сопоставимых по протяженности с фазами покоя, позволит применить математические методы для устранения «высокочастотных помех», вызванных суточными колебаниями температуры воздуха и освещенности.

Результаты получены с использованием ресурсов Центра коллективного пользования ТГУ имени Г.Р. Державина. Работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта по соглашению № 075-15-2021-709 (уникальный идентификатор проекта RF — 2296.61321X0037). Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Работа выполнена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Withers P., Cooper C. Dormancy // Encyclopedia of ecology, vol. 3 / Ed. B.D. Fath. Elsevier, 2018. P. 309–314.
2. Генкель П.А., Окнина Е.З. О физиологии состояния покоя и способах его диагностики // Физиология состояния покоя у растений / Под. ред. А. Прокофьева. М.: Наука, 1968. С. 29–54.
3. Нестеров Я.С. Период покоя плодовых культур. М.: Сельхозиздат, 1962. 152 с.
4. Camproy J.A., Ruiz D., Egea J. Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: a review // Sci. Hort. 2011. Vol. 130. N 2. P 357–372.
5. Luedeling E. Climate change impacts on winter chill for temperate fruit and nut production: A review // Sci. Hort. 2012. Vol. 144. N 6. P. 218–229.
6. Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. М.: Наука, 1979. 352 с.
7. Considine M.J., Considine J.A. On the language and physiology of dormancy and quiescence in plants // J. Exp. Bot. 2016. Vol. 67. N 11. P. 3189–3203.
8. Rohde A., Bhalerao R.P. Plant dormancy in the perennial context // Trends Plant. Sci. 2007. Vol. 12. N 5. P. 217–223.
9. Bewley J.D. Seed germination and dormancy // The Plant Cell. 1997. Vol. 9. N 7. P. 1055–1066.
10. Allona I., Ramos A., Ibáñez C., Contreras A., Casado R., Aragoncillo C. Molecular control of winter dormancy establishment in trees: a review // Span. J. Agric. Res. 2008. Vol. 6. P. 201–210.
11. Saito T., Tuan P.A., Katsumi-Horigane A., Bai S., Ito A., Sekiyama Y., Ono H., Moriguchi T. Development of flower buds in the Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*) from late autumn to early spring // Tree Physiol. 2015. Vol. 35. N 6. P. 653–662.
12. Arora R., Rowland L.J., Tanino K. Induction and release of bud dormancy in woody perennials: a science comes of age // HortScience. 2003. Vol. 38. N 5. P. 911–921.
13. Yu J., Conrad A.O., Decroocq V., Zhebentyayeva T., Williams D.E., Bennett D., Roch G., Audergon J.-M., Dardick C., Liu Z., Abbott A.G., Staton M.E. Distinctive gene expression patterns define endodormancy to ecodormancy transition in apricot and peach // Front. Plant Sci. 2020. Vol. 11: 180.
14. Yamane H., Wada M., Honda C., Matsuura T., Ikeda Y., Hirayama T., Osako Y., Gao-Takai M., Kojima M., Sakakibara H. Overexpression of *Prunus* DAM6 inhibits growth represses bud break competency of dormant buds and delays bud outgrowth in apple plants // PLoS One. 2019. Vol. 14. N 4: e0214788.
15. Moser M., Asquini E., Miolli G.V., Weigl K., Hanke M.-V., Flachowsky H., Si-Ammour A. The MADS-box gene MdDAM1 controls growth cessation and bud dormancy in apple // Front. Plant Sci. 2020. Vol. 11: 1003.
16. Maurya J.P., Bhalerao R.P. Photoperiod- and temperature-mediated control of growth cessation and dormancy in trees: a molecular perspective // Ann. Bot. 2017. Vol. 120. N 3. P. 351–360.
17. Demidchik V.V., Shashko A.Y., Bandarenko U.Y., Smolikova G.N., Przhevalskaya D.A., Charnysh M.A., Pozhnyanov G.A., Barkosvkiy A.V., Smolich I.I., Sokolik A.I., Yu M., Medvedev S.S. Plant phenomics: fundamental bases software and hardware platforms and machine learning // Russ. J. Plant Physiol. 2020. Vol. 67. N 3. P. 397–412.
18. McAusland L., Atkinson J.A., Lawson T., Murchie E.H. High throughput procedure utilising chlorophyll fluorescence imaging to phenotype dynamic photosynthesis and photoprotection in leaves under controlled gaseous conditions // Plant Meth. 2019. Vol. 15: 109.
19. Jin X., Zarco-Tejada P., Schmidhalter U., Reynolds M.P., Hawkesford M.J., Varshney R.K., Yang T., Nie C., Li Z., Ming B., Xiao Y., Xie Y., Li S. High-throughput estimation of crop traits: a review of ground and aerial phenotyping platforms // IEEE Geosci. Remote Sens. Mag. 2020. Vol. 9. N 1. P. 200–231.
20. Watt M., Fiorani F., Usadel B., Rascher U., Muller O., Schurr U. Phenotyping: new windows into the plant for breeders // Annu. Rev. Plant Biol. 2020. Vol. 71. P. 689–712.
21. Alekseev A., Matorin D., Osipov V., Venediktov P. Investigation of the photosynthetic activity of bark phelloderm of arboreal plants using the fluorescent method // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2007. Vol. 62. N 4. P. 164–170.
22. Tikhonov K.G., Khristin M.S., Klimov V.V., Sundireva M.A., Kreslavski V.D., Sidorov R.A., Tsidendambayev V.D., Savchenko T.V. Structural and functional characteristics of photosynthetic apparatus of chlorophyll-containing grape vine tissue // Russ. J. Plant Physiol. 2017. Vol. 64. N 1. P. 73–82.
23. Perks M.P., Monaghan S., O'Reilly C., Osborne B.A., Mitchell D.T. Chlorophyll fluorescence characteristics performance and survival of freshly lifted and cold stored Douglas fir seedlings // Ann. Forest Sci. 2001. Vol. 58. N 3. P. 225–235.
24. Samish R. Dormancy in woody plants // Annu. Rev. Plant Physiol. 1954. Vol. 5. P. 183–204.
25. Ritchie G.A. Effect of freezer storage on bud dormancy release in Douglas-fir seedlings // Can. J. Forest Res. 1984. Vol. 14. N 2. P. 186–190.
26. Colombo S., Raitanen E. Frost hardening in white cedar container seedlings exposed to intermittent short days and cold temperatures // For. Chron. 1991. Vol. 67. N 5. P. 542–544.
27. Heide O., Prestrud A. Low temperature but not photoperiod controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear // Tree Physiol. 2005. Vol. 25. N 1. P. 109–114.
28. Heide O. High autumn temperature delays spring bud burst in boreal trees counterbalancing the effect of climatic warming // Tree Physiol. 2003. Vol. 23. N 13. 931–936.
29. Heide O.M. Interaction of photoperiod and temperature in the control of growth and dormancy of *Prunus* species // Sci. Hort. 2008. Vol. 115. N 3. P. 309–314.
30. Cook N.C., Bellen A., Cronjé P.J., De Wit I., Keulemans W., Van den Putte A., Steyn W. Freezing temperature treatment induces bud dormancy in 'Granny Smith' apple shoots // Sci. Hort. 2005. Vol. 106. N 2. P. 170–176.
31. Li C., Junttila O., Heino P., Palva E.T. Low temperature sensing in silver birch (*Betula pendula* Roth) ecotypes // Plant Sci. 2004. Vol. 167. N 1. P. 165–171.
32. Christersson L. The influence of photoperiod and temperature on the development of frost hardiness in seedlings of *Pinus silvestris* and *Picea abies* // Physiol. Plant. 1978. Vol. 44. N 3. P. 288–294.
33. Wake C.M., Fennell A. Morphological physiological and dormancy responses of three *Vitis* genotypes to short photoperiod // Physiol. Plant. 2000. Vol. 109. N 2. P. 203–210.
34. Соловченко А.Е., Ткачев Е.Н., Цуканова Е.М., Шурьгин Б.М., Хрущев С.С., Конохов И.В., Птушенко В.В.

Фотосинтетическая активность древесных растений в период зимнего покоя и ее неинвазивный мониторинг // Цифровизация агропромышленного комплекса: Сборник научных статей II международной научно-практической конференции / Под ред. Д.Ю. Муромцева и др. Тамбов: Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ», 2020. С. 352–355

35. Li C., Wu N., Liu S. Development of freezing tolerance in different altitudinal ecotypes of *Salix paraplesia* // Biol. Plant. 2005. Vol. 49. N 1. P. 65–71.

36. Jeknić Z., Chen T.H.H. Changes in protein profiles of poplar tissues during the induction of bud dormancy by short-day photoperiods // Plant Cell Physiol. 1999. Vol. 40. N 1. P. 25–35.

37. Zhang H.-S., Li D.-M., Tan Q.-P., Gao H.-Y., Gao D.-S. Photosynthetic activities C3 and C4 indicative enzymes and the role of photoperiod in dormancy induction in 'Chunjie' peach // Photosynthetica. 2015. Vol. 53. N 2. P. 269–278.

38. Junttila O. Apical growth cessation and shoot tip abscission in *Salix* // Physiol. Plant. 1976. Vol. 38. N 4. P. 278–286.

39. Knott J.E. Effect of a localized photoperiod on spinach // Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci. 1934. Vol. 31. P. 152–154.

40. Garner W., Allard H. Further studies in photoperiodism: the response of the plant to relative length of day and night // Science. 1922. Vol. 55. N 1431. P. 582–583.

41. Coleman G.D., Chen T.H., Ernst S.G., Fuchigami L. Photoperiod control of poplar bark storage protein accumulation // Plant Physiol. 1991. Vol. 96. N 3. P. 686–692.

42. Wilson B.C., Jacobs D.F. Chlorophyll fluorescence of stem cambial tissue reflects dormancy development in *Juglans nigra* seedlings // New Forests. 2012. Vol. 43. N 5–6. P. 771–778.

43. Fowler S.G., Cook D., Thomashow M.F. Low temperature induction of *Arabidopsis* CBF1 2 and 3 is gated by the circadian clock // Plant Physiol. 2005. Vol. 137. N 3. P. 961–968.

44. Druart N., Johansson A., Baba K., Schrader J., Sjödin A., Bhalerao R.R., Resman L., Trygg J., Moritz T., Bhalerao R.P. Environmental and hormonal regulation of the activity–dormancy cycle in the cambial meristem involves stage-specific modulation of transcriptional and metabolic networks // Plant J. 2007. Vol. 50. N 4. P. 557–573.

45. Kitamura Y., Yamane H., Yukimori A., Shimo H., Numaguchi K., Tao R. Blooming date predictions based on Japanese apricot 'Nanko' flower bud responses to temperatures during dormancy // HortScience. 2017. Vol. 52. N 3. P. 366–370.

46. Erez A. Bud dormancy; phenomenon problems and solutions in the tropics and subtropics // Temperate fruit crops in warm climates / Ed. A. Erez. Dordrecht: Springer, 2000. P. 17–48.

47. Erez A. Chemical control of budbreak // HortScience. 1987. Vol. 22. N 6. P. 1240–1243.

48. Frewen B.E., Chen T.H., Howe G.T., Davis J., Rohde A., Boerjan W., Bradshaw H. Quantitative trait loci and candidate gene mapping of bud set and bud flush in *Populus* // Genetics. 2000. Vol. 154. N 2. P. 837–845.

49. Dirlwanger E., Quero-Garcia J., Le Dantec L., Lambert P., Ruiz D., Dondini L., Illa E., Quilot-Turion B., Audergon J.M., Tartarini S. Comparison of the genetic determinism of two key phenological traits flowering and

maturity dates in three *Prunus* species: peach apricot and sweet cherry // Heredity. 2012. Vol. 109. N 5. P. 280–292.

50. Li S., Tan Q., Sun M., Xu G., Li C., Fu X., Li L., Gao D., Li D. Protein changes in response to photoperiod during dormancy induction in peach leaves and flower buds // Sci. Hort. 2018. Vol. 239. P. 114–122.

51. Bielenberg D.G., Wang Y.E., Li Z., Zhebentyayeva T., Fan S., Reighard G.L., Scorza R., Abbott A.G. Sequencing and annotation of the evergrowing locus in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] reveals a cluster of six MADS-box transcription factors as candidate genes for regulation of terminal bud formation // Tree Genet. Genomes. 2008. Vol. 4. N 3. P. 495–507.

52. Leida C., Conesa A., Llácser G., Badenes M.L., Ríos G. Histone modifications and expression of DAM6 gene in peach are modulated during bud dormancy release in a cultivar-dependent manner // New Phytol. 2012. Vol. 193. N 1. P. 67–80.

53. Cattani A.M., Sartor T., da Silveira Falavigna V., Porto D.D., Silveira C.P., de Oliveira P.R.D., Revers L.F. The control of bud break and flowering time in plants: contribution of epigenetic mechanisms and consequences in agriculture and breeding // Advances in Botanical Research, vol. 88 / Eds. M. Mirouze, E. Bucher, and P. Gallusci. Elsevier, 2018. P. 277–325.

54. Pedrosa A.M., Martins C.d.P.S., Goncalves L.P., Costa M.G.C. Late embryogenesis abundant (LEA) constitutes a large and diverse family of proteins involved in development and abiotic stress responses in sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osb.) // PloS One. 2015. Vol. 10. N 12: e0145785.

55. Kaye C., Neven L., Hofig A., Li Q.-B., Haskell D., Guy C. Characterization of a gene for spinach CAP160 and expression of two spinach cold-acclimation proteins in tobacco // Plant Physiol. 1998. Vol. 116. N 4. P. 1367–1377.

56. Puhakainen T., Hess M.W., Mäkelä P., Svensson J., Heino P., Palva E.T. Overexpression of multiple dehydrin genes enhances tolerance to freezing stress in *Arabidopsis* // Plant Mol. Biol. 2004. Vol. 54. N 5. P. 743–753.

57. Singh R.K., Miskolczi P., Maurya J.P., Bhalerao R.P. A tree ortholog of SHORT VEGETATIVE PHASE floral repressor mediates photoperiodic control of bud dormancy // Curr. Biol. 2019. Vol. 29. N 1. P. 128–133.

58. Xie Y., Chen P., Yan Y., Bao C., Li X., Wang L., Shen X., Li H., Liu X., Niu C. An atypical R2R3 MYB transcription factor increases cold hardiness by CBF-dependent and CBF-independent pathways in apple // New Phytol. 2018. Vol. 218. N 1. P. 201–218.

59. Chinnusamy V., Zhu J.-K., Sunkar R. Gene regulation during cold stress acclimation in plants // Plant stress tolerance. Methods in molecular biology (Methods and protocols), vol. 639 / Ed. R. Sunkar. Humana Press, 2010. P. 39–55.

60. Artlip T., McDermaid A., Ma Q., Wisniewski M. Differential gene expression in non-transgenic and transgenic "M. 26" apple overexpressing a peach CBF gene during the transition from eco-dormancy to bud break // Hort. Res. 2019. Vol. 6: 86.

61. Tylewicz S., Petterle A., Marttila S., Miskolczi P., Azeez A., Singh R.K., Immanen J., Mähler N., Hvidsten T.R., Eklund D.M. Photoperiodic control of seasonal growth is mediated by ABA acting on cell-cell communication // Science. 2018. Vol. 360. N 6385. P. 212–215.

62. Eriksson M.E., Moritz T. Daylength and spatial expression of a gibberellin 20-oxidase isolated from hybrid

- aspen (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) // *Planta*. 2002. Vol. 214. N 6. P. 920–930.
63. Rinne P.L., Welling A., Vahala J., Ripel L., Ruonala R., Kangasjärvi J., van der Schoot C. Chilling of dormant buds hyperinduces FLOWERING LOCUS T and recruits GA-inducible 1 3-β-glucanases to reopen signal conduits and release dormancy in *Populus* // *The Plant Cell*. 2011. Vol. 23. N 1. P. 130–146.
64. Wen L., Zhong W., Huo X., Zhuang W., Ni Z., Gao Z. Expression analysis of ABA- and GA-related genes during four stages of bud dormancy in Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) // *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 2016. Vol. 91. N 4. P. 362–369.
65. Mølmann J.A., Asante D.K., Jensen J.B., Krane M.N., Ernsten A., Junttila O., Olsen J.E. Low night temperature and inhibition of gibberellin biosynthesis override phytochrome action and induce bud set and cold acclimation but not dormancy in PHYA overexpressors and wild-type of hybrid aspen // *Plant Cell Environ.* 2005. Vol. 28. N 12. P. 1579–1588.
66. Kumar G., Gupta K., Pathania S., Swarnkar M.K., Rattan U.K., Singh G., Sharma R.K., Singh A.K. Chilling affects phytohormone and post-embryonic development pathways during bud break and fruit set in apple (*Malus domestica* Borkh.) // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7: 42593.
67. Porto D.D., Bruneau M., Perini P., Anzanello R., Renou J.-P., Santos H.P.d., Fialho F.B., Revers L.F. Transcription profiling of the chilling requirement for bud break in apples: a putative role for FLC-like genes // *J. Exp. Bot.* 2015. Vol. 66. N 9. P. 2659–2672.
68. Кефели В.И., Коф Э.М., Власов П.В., Кислин Е.Н. Природный ингибитор роста-абсцизовая кислота. М.: Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева, 1989. 184 с.
69. Rinne P.L., Kaikuranta P.M., Van Der Schoot C. The shoot apical meristem restores its symplasmic organization during chilling-induced release from dormancy // *Plant J.* 2001. Vol. 26. N 3. P. 249–264.
70. Busov V.B. Plant development: dual roles of poplar SVL in vegetative bud dormancy // *Curr. Biol.* 2019. Vol. 29. N 2. P. R68–R70.
71. Ruttink T., Arend M., Morreel K., Storme V., Rombauts S., Fromm J., Bhalarao R.P., Boerjan W., Rohde A. A molecular timetable for apical bud formation and dormancy induction in poplar // *The Plant Cell*. 2007. Vol. 19. N 8. P. 2370–2390.
72. Oláh V., Hepp A., Mészáros I. Temporal dynamics in photosynthetic activity of *Spirodela polyrrhiza* turions during dormancy release and germination // *Environ. Exp. Bot.* 2017. Vol. 136. P. 50–58.
73. Ruonala R., Rinne P.L., Baghour M., Moritz T., Tuominen H., Kangasjärvi J. Transitions in the functioning of the shoot apical meristem in birch (*Betula pendula*) involve ethylene // *Plant J.* 2006. Vol. 46. N 4. P. 628–640.
74. Li M., Kim C. Chloroplast ROS and stress signaling // *Plant Commun.* 2022. Vol. 3. N 1: 100264.
75. Hüner N., Bode R., Dahal K., Busch F., Possmayer M., Szyzka B., Rosso D., Ensminger I., Krol M., Ivanov A., Maxwell D. Shedding some light on cold acclimation, cold adaptation, and phenotypic plasticity // *Botany*. 2012. Vol. 91. N 3. P. 127–136.
76. Hüner N., Dahal K., Hollis L., Bode R., Rosso D., Krol M., Ivanov A.G. Chloroplast redox imbalance governs phenotypic plasticity: the “grand design of photosynthesis” revisited // *Front. Plant Sci.* 2012. Vol. 3: 255.
77. Ensminger I., Busch F., Hüner N. Photostasis and cold acclimation: sensing low temperature through photosynthesis // *Physiol. Plant.* 2006. Vol. 126. N 1. P. 28–44.
78. Öquist G., Hüner N.P. Photosynthesis of overwintering evergreen plants // *Ann. Rev. Plant Biol.* 2003. Vol. 54. P. 329–355.
79. Sofronova V., Antal T., Dymova O., Golovko T. Seasonal changes in primary photosynthetic events during low temperature adaptation of *Pinus sylvestris* in Central Yakutia // *Russ. J. Plant Physiol.* Vol. 65. N 5. P. 658–666.
80. Lípová L., Krchňák P., Komenda J., Ilík P. Heat-induced disassembly and degradation of chlorophyll-containing protein complexes *in vivo* // *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Bioenergetics*. 2010. Vol. 1797. N 1. P. 63–70.
81. Yang Q., Blanco N.E., Hermida-Carrera C., Lehotai N., Hurry V., Strand Å. Two dominant boreal conifers use contrasting mechanisms to reactivate photosynthesis in the spring // *Nat. Comm.* 2020. Vol. 11. N 1: 128.
82. Tikkanen M., Grebe S. Switching off photoprotection of photosystem I—a novel tool for gradual PSI photoinhibition // *Physiol. Plant.* 2018. Vol. 162. N 2. P. 156–161.
83. Vogg G., Heim R., Hansen J., Schäfer C., Beck E. Frost hardening and photosynthetic performance of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles. I. Seasonal changes in the photosynthetic apparatus and its function // *Planta*. 1998. Vol. 204. N 2. P. 193–200.
84. Chang C.Y.Y., Bräutigam K., Hüner N.P., Ensminger I. Champions of winter survival: cold acclimation and molecular regulation of cold hardiness in evergreen conifers // *New Phytol.* 2021. Vol. 229. N 2. P. 675–691.
85. Valcke R. Can chlorophyll fluorescence imaging make the invisible visible? // *Photosynthetica*. 2021. Vol. 51. P. 381–398.
86. Vlaovic J., Balen J., Grgic K., Zagar D., Galic V., Simic D. An overview of chlorophyll fluorescence measurement process meters and methods // *Proceedings of 2020 International Conference on Smart Systems and Technologies (SST)* / Eds. D. Zagar, G. Martinovic, S. Rimac Drlje, and I. Galic. Computer Science and Information Technology Osijek, 2020. P. 245–250.
87. Hawkins C., Lister G. *In vivo* chlorophyll fluorescence as a possible indicator of the dormancy stage in Douglas-fir seedlings // *Can. J. Forest Res.* 1985. Vol. 15. N 4. P. 607–612.
88. Damesin C. Respiration and photosynthesis characteristics of current-year stems of *Fagus sylvatica*: from the seasonal pattern to an annual balance // *New Phytol.* 2003. Vol. 158. N 3. P. 465–475.
89. Lennartsson M., Ögren E. Predicting the cold hardiness of willow stems using visible and near-infrared spectra and sugar concentrations // *Trees*. 2003. Vol. 17. N 5. P. 463–470.
90. Linkosalo T., Heikkinen J., Pulkkinen P., Mäkipää R. Fluorescence measurements show stronger cold inhibition of photosynthetic light reactions in Scots pine compared to Norway spruce as well as during spring compared to autumn // *Front. Plant Sci.* 2014. Vol. 5: 264.
91. Sundblad L.-G., Sjöström M., Malmberg G., Öquist G. Prediction of frost hardiness in seedlings of Scots pine (*Pinus sylvestris*) using multivariate analysis of chlorophyll *a* fluorescence and luminescence kinetics // *Can. J. Forest Res.* 1990. Vol. 20. N 5. P. 592–597.
92. Sakar E.H., El Yamani M., Rharrabti Y. Frost susceptibility of five almond [*Prunus dulcis* (mill.) DA Webb]

cultivars grown in north-eastern Morocco as revealed by chlorophyll fluorescence // Int. J. Fruit Sci. 2017. Vol. 17. N 4. P. 415–422.

93. Savitch L.V., Leonardos E.D., Krol M., Jansson S., Grodzinski B., Huner N., Öquist G. Two different strategies for light utilization in photosynthesis in relation to growth and cold acclimation // Plant Cell Environ. 2002. Vol. 25. N 6. P. 761–771.

94. Corcuera L., Gil-Pelegrin E., Notivol E. Intraspecific variation in *Pinus pinaster* PSII photochemical efficiency in response to winter stress and freezing temperatures // PLoS One. 2011. Vol. 6. N 12: e28772.

95. Öquist G., Brunet L., Hällgren J.-E., Gezelius K., Hallén M., Malmberg G. Effects of artificial frost hardening and winter stress on net photosynthesis photosynthetic electron transport and RuBP carboxylase activity in seedlings of *Pinus sylvestris* // Physiol. Plant. 1980. Vol. 48. N 4. P. 526–531.

96. Grebe S., Trotta A., Bajwa A.A., Suorsa M., Gollan P.J., Jansson S., Tikkanen M., Aro E.M. The unique photosynthetic apparatus of Pinaceae—Analysis of

photosynthetic complexes in Norway spruce (*Picea abies*) // J. Exp. Bot. 2019. Vol. 70. N 12. P. 3211–3225.

97. Grebe S., Trotta A., Bajwa A., Mancinia I., Bag P., Jansson S., Tikkanen M., Aro E.M. Specific thylakoid protein phosphorylations are prerequisites for overwintering of Norway spruce (*Picea abies*) photosynthesis // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2020. Vol. 117. N 30. P. 17499–17509.

98. Ivanov A., Sane P., Zeinalov Y., Simidjiev I., Huner N., Öquist G. Seasonal responses of photosynthetic electron transport in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) studied by thermoluminescence // Planta. 2002. Vol. 215. N 3. P. 457–465.

99. Zhang C., Atherton J., Penuelas J., Filella I., Kolari P., Aalto J., Ruhanen H., Back J., Porcar-Castell A. Do all chlorophyll fluorescence emission wavelengths capture the spring recovery of photosynthesis in boreal evergreen foliage? // Plant Cell Environ. Vol. 42. N 12. P. 3264–3279.

Поступила в редакцию 04.02.2022

После доработки 07.03.2022

Принята в печать 19.04.2022

REVIEW

Winter dormancy of woody plants and its non-invasive monitoring

A.E. Solovchenko^{1, 2, *} , E.N. Tkachyov³, E.M. Tsukanova³, B.M. Shuryhin¹, S.S. Khrushev⁴ , I.V. Konyukhov⁴, V.V. Ptushenko^{5, 6} 

¹Department of Bioengineering, School of Biology, Lomonosov Moscow State University,
1–12 Leninskie gory, Moscow, 119234, Russia;

²Institute of Natural Sciences, Derzhavin Tambov State University, 33 Internatsionalnaya str., Tambov, 392000, Russia;

³Michurin Federal Scientific Centre, 30 Michurina str., Michurinsk, 393760, Russia;

⁴Department of Biophysics, School of Biology, Lomonosov Moscow State University,
1–12 Leninskie gory, Moscow, 119234, Russia;

⁵Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University,
1–40 Leninskie gory, Moscow, 119234, Russia;

⁶Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, 4 Kosygina str., Moscow 119334, Russia

*e-mail: solovchenko@mail.bio.msu.ru

When dormant, perennial plants dwelling in the regions with pronounced seasonality of climate can withstand prolonged periods of harsh environmental conditions. The period of plant dormancy is commonly divided into pre-dormancy, endodormancy, and ecodormancy. During pre-dormancy, genetic, physiological, biochemical, and morphological rearrangements increasing stress resilience of the plant organism are completed. In the course of endodormancy, meristem cells cannot resume division even under favorable conditions. Environmental stimuli trigger dormancy release and the onset of ecodormancy when plant cell division and growth are restrained only by unfavorable environmental conditions. Frequent nowadays, weather fluctuations can lead to abnormal progression of dormancy. It results in the increased risk of damage to plants, especially crop plants, by adverse climatic conditions. This situation calls for the development of methods for noninvasive express monitoring of plant dormancy. Studies of the relationships between the dormancy status of plants and the functioning of their photosynthetic apparatus made possible the development of methods for monitoring of woody plant condition by recording the variable fluorescence of chlorophyll contained either in needles or in the endoderm of the shoots. This review briefly summarizes current knowledge about the mechanism of the dormancy induction and release. The functioning and regulation of the photosynthetic apparatus during winter dormancy as well as characteristic patterns of chlorophyll fluorescence induction in this period are considered. The difficulties of interpretation of chlorophyll fluorescence signals in the context of monitoring of plant dormancy are discussed together with its potential applications.

Keywords: *plant dormancy, endodormancy, ecodormancy, chlorophyll fluorescence, non-photochemical quenching, non-invasive monitoring*

Funding: The results were obtained using the resources of the Center for Collective Use of Scientific Equipment of Derzhavin Tambov State University. This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the frame work of agreement № 075-15-2021-709 (unique project identifier RF – 2296.61321X0037).

Сведения об авторах

Соловченко Алексей Евгеньевич – докт. биол. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-25-87; e-mail: solovchenko@mail.bio.msu.ru; ORCID <https://orcid.org/0000-0001-6746-8511>

Ткачев Евгений Николаевич – канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр. ФНЦ имени И.В. Мичурина. Тел.: 8-47545-2-07-61; e-mail: etkachyov@yandex.ru

Цуканова Елена Михайловна – докт. с.-х. наук, вед. науч. сотр. ФНЦ имени И.В. Мичурина. Тел.: 8-47545-2-07-61; e-mail: elenam31@yandex.ru

Шурыгин Борис Михайлович – вед. инж. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-25-87; e-mail: shu_b@mail.ru

Хрущев Сергей Сергеевич – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-51-50; e-mail: sskhrsch@gmail.com; ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4714-6221>

Конюхов Иван Владимирович – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-51-50; e-mail: vanka.kon@gmail.com

Птушенко Василий Витальевич – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр. НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ. Тел.: 8-495-939-51-50; e-mail: ptush@mail.ru; ORCID <https://orcid.org/0000-0003-1268-4414>