

УДК 575.826 : 577.21 : 582.683.2

ТРАНСКРИПЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕНА МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ *CLF*, УЧАСТВУЮЩЕГО В КОНТРОЛЕ ВРЕМЕНИ ЦВЕТЕНИЯ, В ПРОЦЕССЕ ЯРОВИЗАЦИИ *ARABIDOPSIS THALIANA* СЕВЕРНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

М. В. Зарецкая*, О. М. Федоренко

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»
(ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910),
*genmg@mail.ru

Показано, что при выращивании в лабораторных условиях растений *Arabidopsis thaliana* из разных популяций Карелии время начала их цветения зависит от яровизации, то есть воздействия низких температур различной продолжительности. Выявлен полиморфизм популяций по этому адаптивному признаку. Популяции *A. thaliana* Кончезеро и Шуйская характеризовались высокой частотой позднецветущих форм (без предварительной холодной обработки растения зацветали через 4–6 месяцев). Популяция Царевичи оказалась гетерогенной по срокам зацветания (позднецветущие и раннецветущие формы) растений. Популяции различались также и по реакции на яровизацию растений, входящих в их состав. Проанализирована динамика уровня транскриптов гена метилтрансферазы гистонов *CLF* (*CURLY LEAF*) в ходе яровизации растений *A. thaliana* из трех изученных популяций Карелии. Показано, что в процессе холодового воздействия транскрипционная активность *CLF* имеет тенденцию к постепенному усилению к 20-му и 30-му дню яровизации растений, а затем достоверно снижается к 40-му дню ($p < 0,01$). Результаты ANOVA демонстрируют, что характер изменения транскриптов *CLF* в ходе яровизации не зависит от принадлежности растений к трем из изученных популяций Карелии ($F = 1,1$; $p = 0,34$; $\eta = 0,02$). Сопоставление динамики экспрессии гена *CLF* с динамикой транскриптов гена *FLC*, контролирующего время цветения, позволило предположить, что метилтрансфераза гистонов *CLF* участвует в регуляции экспрессии гена *FLC* при яровизации растений *A. thaliana*.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*; северные природные популяции; яровизация; ген *FLC*; ген *CLF*; PRC2-комплекс

Для цитирования: Зарецкая М. В., Федоренко О. М. Транскрипционная активность гена метилтрансферазы *CLF*, участвующего в контроле времени цветения, в процессе яровизации *Arabidopsis thaliana* северных популяций // Труды Карельского научного центра РАН. 2025. № 3. С. 23–31. doi: 10.17076/eb2054

Финансирование. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (FMEN-2022-0009).

M. V. Zaretskaya*, O. M. Fedorenko. TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY OF THE CLF METHYLTRANSFERASE GENE INVOLVED IN THE CONTROL OF FLOWERING TIME DURING THE VERNALIZATION PROCESS OF ARABIDOPSIS THALIANA IN NORTHERN POPULATIONS

*Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia), *genmg@mail.ru*

It has been shown that when *Arabidopsis thaliana* plants from different populations of Karelia are grown in laboratory conditions, the time of their flowering depends on vernalization, i.e. the effect of low temperatures of varying duration. This adaptive trait proved to have populational polymorphism. The Konchezzero and Shuiskaya *A. thaliana* populations featured a high frequency of late-flowering forms (without a cold pre-treatment, plants began to bloom in 4-6 months). The Tsarevichi population turned out to be heterogeneous in terms of flowering (both late-flowering and early-flowering forms). The populations also differed in the response to vernalization. We analyzed the dynamics of the transcription level of the histone methyltransferase gene *CLF* (*CURLY LEAF*) during vernalization in *A. thaliana* plants from three populations in Karelia and found that during cold exposure, the transcriptional activity of *CLF* tended to gradually increase towards the 20th and 30th days of plant vernalization and then significantly declined towards the 40th day ($p < 0.01$). The ANOVA results demonstrate that the pattern of changes in *CLF* transcription during vernalization did not depend on the population to which the plants belonged ($F = 1.1$; $p = 0.34$; $\eta = 0.02$). Comparison of the dynamics of *CLF* gene expression with the transcription dynamics of the *FLC* gene, which controls flowering time, suggests that histone methyltransferase *CLF* is involved in regulating *FLC* gene expression during vernalization of *A. thaliana* plants.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*; northern natural populations; vernalization; *FLC* gene; *CLF* gene; PRC2 complex

For citation: Zaretskaya M. V., Fedorenko O. M. Transcriptional activity of the *CLF* methyltransferase gene involved in the control of flowering time during the vernalization process of *Arabidopsis thaliana* in northern populations. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2025. No. 3. P. 23–31. doi: 10.17076/eb2054

Funding. The studies were financed from the federal budget through state assignment to KarRC RAS (FMEN-2022-0009).

Введение

Адаптация к условиям окружающей среды имеет большое значение для живых организмов. Время начала цветения для растений является одним из важнейших адаптивных признаков: оно должно происходить строго в определенное время, чтобы обеспечить максимальный репродуктивный успех. В частности, для растений из популяций на северной границе ареала этот признак, вероятно, имеет большое значение в силу высокого риска действия заморозков в период цветения и формирования семян. В настоящее время наблюдается огромный прогресс в изучении генетических и эпигенетических механизмов, участвующих в процессах адаптации. Именно эпигенетические механизмы позволяют организму адаптироваться к флуктуациям климатических условий быстрее, чем изменение генотипа в результате отбора и эволюции. Поэтому изучение

эпигенетических механизмов регуляции активности генов, отвечающих за процессы адаптации, является актуальным.

Примером эпигенетического механизма адаптации *A. thaliana* к нестабильным условиям на северной периферии ареала вида является репрессия гена *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*), который кодирует ингибирующий цветение фактор транскрипции *FLC* [Schmitz, Amasino, 2007; He, 2009]. В связи с этим для индукции цветения многих растений северных и умеренных широт необходима репрессия *FLC*, которая происходит под воздействием низких температур – яровизации.

Большую роль в эпигенетических механизмах адаптации живых организмов играют гены, кодирующие белки, участвующие в регуляции конформации хроматина путем модификации гистонов. Эти белки объединены в две большие антагонистические по своему действию группы – Polycomb Group (PcG) и trithorax Group (trxG).

Белки PcG участвуют в поддержании «молчащего» статуса гена (репрессированного), а белки trxG вовлечены в поддержание активного статуса генной экспрессии. Белки одного из PcG-комплексов – PRC2 (Polycomb Repressive Complex) – присутствуют у всех многоклеточных эукариот. Высокая степень эволюционной стабильности PRC2-комплекса свидетельствует о важности выполняемых им функций у живых организмов [Heo, Sung, 2011; Baile et al., 2022].

Под воздействием холода запускаются механизмы эпигенетического контроля, переводящие ген *FLC* у *A. thaliana* в репрессивное состояние. Холодовой стресс индуцирует экспрессию гена *VIN3* (*VERNALIZATION INSENSITIVE 3*), кодирующего транскрипционный фактор, относящийся к группе PHD (Plant Homeo Domain finger) и отвечающий за сайт-специфическое связывание с хроматином. *VIN3* необходим для запуска молекулярных механизмов модификации хроматина *FLC*. Пролонгированное воздействие холода приводит к усилению экспрессии *VIN3*, при этом транскрипционный фактор *VIN3* связывается с мультибелковым комплексом PRC2 [Yu et al., 2023]. Этот комплекс способен блокировать транскрипцию генов-мишеней путем метилирования гистонов и формирования плотной структуры хроматина. PRC2 опосредует метилирование гистона H3 по Lys²⁷ (H3K27me₃) через его коровый компонент – гистон метилтрансферазу – CLF [Godwin, Farrona, 2022]. CLF, кодируемый геном *CLF* (*CURLY LEAF*), имеет домен SET и, как все подобные белки, обладает H3K27-метилтрансферазной активностью [Jiang et al., 2008]. У растений из семейства крестоцветных, в частности некоторых сортов рапса (*Brassica napus* L.), согласно данным QTL-анализа, время цветения контролируется по меньшей мере 20 локусами. Среди генов-кандидатов, участвующих в регуляции этого адаптивного признака, названы гомологи известных генов времени цветения у *Arabidopsis*: *VERNALISATION INSENSITIVE 3*, *APETALA1*, *CAULIFLOWER*, *FLOWERING LOCUS C*, *FLOWERING LOCUS T*, *CURLY LEAF*, *SHORT VEGETATIVE PHASE*, *GA3 OXIDASE* и *LEAFY* [Raman et al., 2013]. Мутантные растения *Brassica rapa* с потерей функции *clf-1* демонстрируют ускоренное цветение вместе с другими фенотипическими изменениями по сравнению с растениями дикого типа [Poza-Viejo et al., 2024]. При этом в областях хроматина, соответствующих генам, регулирующим цветение (*FT*, *SOC1* и *SEP3*), наблюдается снижение уровня H3K27me₃ и повышение уровня соответствующих транскриптов по сравнению с растениями дикого типа [Poza-Viejo et al., 2024].

Это позволило авторам заявить, что указанные гены являются прямыми целями для CLF и ключевыми игроками в регулировании времени цветения *Brassica rapa*. Таким образом, метилтрансфераза гистонов может участвовать в регуляции состояния хроматина и экспрессии генов, регулирующих время цветения, в том числе и *FLC*. В результате уровень метилированных гистонов хроматина *FLC* постепенно увеличивается, что способствует формированию плотной структуры хроматина [Heo, Sung, 2011; Chen, Penfield, 2018] и ассоциируется с транскрипционно «молчащим» состоянием гена. В настоящее время считается, что процесс регуляции экспрессии *FLC* представляет собой модель контроля экспрессии других генов развития у растений путем хроматиновых модификаций [He, 2009; Berry, Dean, 2015]. Тем не менее роль метилтрансферазы гистонов CLF в регуляции экспрессии гена *FLC* и других генов, участвующих в контроле адаптивного признака «время цветения», до конца не изучена. Как уже было отмечено, для ускорения или запуска процесса цветения растений *A. thaliana* из популяций Карелии необходим этап воздействия низкими положительными температурами (яровизация). При этом, вероятно, важнейшую роль в опосредованном действии низких температур зацветании растений из этих популяций играет активация пути *FRI-FLC* [Курбидзаева и др., 2013]. В то же время у растений из других популяций или линий могут быть задействованы альтернативные пути индукции цветения без этапа яровизации и, по-видимому, в обход активации локуса *FRI* (*FRIGIDA*). Как показано, CLF также участвует в реализации сигналов холодового стресса [Nugroho et al., 2023]. Однако вопрос о том, как изменяется уровень транскриптов гена *CLF* в ходе яровизации растений *A. thaliana* из популяций Карелии и связан ли он с транскрипционной активностью гена *FLC*, остается открытым.

Таким образом, целью исследования явилось изучение уровня транскриптов гена *CLF* в ходе яровизации растений из разных популяций Карелии и его связи с уровнем транскриптов *FLC* и началом времени цветения.

Материалы и методы

В работе использовали растения *A. thaliana*, выращенные из собранных в природе семян северных природных популяций, находящихся в Карелии. Анализ экспрессии генов *FLC* и *CLF* проводили на молодых листьях растений из трех карельских популяций: Царевичи (62°01' с. ш. 34°25' в. д.), Шуйская (61°56' с. ш. 34°25' в. д.),

Кончезеро (62°08' с. ш. 34°01' в. д.). Названия популяций даны в соответствии с близлежащими населенными пунктами. Популяции Шуйская и Кончезеро представлены поздноцветущими формами растений, а Царевичи – смешанная по времени начала цветения популяция (присутствуют как ранние, так и поздние формы растений).

Выращивание растений в лабораторных условиях проводили по общепринятым методикам культивирования арабидопсиса [Иванов и др., 1966]. Семена высевали в чашки Петри на простую среду по Гихнеру – Велеминскому, которая готовилась на основе 8%-го агар-агара с добавлением растворов макро- и микроэлементов, и проращивали под люминесцентными лампами при температуре 22–24 °С и 16-часовом фотопериоде (10000 лк). Яровизацию проводили на проростках (стадия розетки). Для яровизации чашки Петри с 14-дневными проростками переносили на холод (2–4 °С) на 10, 20, 30, 40 или 63 (9 недель) дня. Для определения времени начала цветения молодые растения пересаживали из чашек Петри в почву (смесь земли и песка 1:1) и выращивали в тех же условиях. Время начала цветения определяли у 60 растений из каждой популяции (от момента посева за вычетом количества дней яровизации).

Проведен анализ уровня транскриптов генов *FLC* и *CLF*. Выделение суммарной РНК из листьев растений осуществлялось с использованием набора Extract RNA («Евроген», Россия) по протоколу производителя. Качество и количество РНК определяли на спектрофотометре SmartSpec (Bio-Rad, США). Первую цепь кДНК синтезировали с помощью набора для обратной транскрипции MMLVRT kit («Евроген»). Содержание мРНК оценивали методом ПЦР в режиме реального времени с интеркалирующим красителем SYBRGreen на приборе iCycler iQ5 (Bio-Rad, США) с набором для ПЦР-РВ («Евроген»). Для определения уровня экспрессии генов каждую ПЦР проводили два раза, на пяти независимых образцах кДНК. Последовательности праймеров для анализа экспрессии: *FLC* f: 5'-GCCAAGAAGACC-GAAGT-CATGTTGA-3', r: 5'-CAACCGCCGATTTAAGGTG-GCTA-3' (номер доступа в NCBI – AT5G10140); *CLF* f: 5'-CATCGCCAAAGGTGAAAGGTAGTG-3' r: 5'-CATCGCTGGGTGAACAATTCC-3' (номер доступа в NCBI – AT2G23380). Дизайн праймеров и расчет температуры плавления выполняли с помощью программы Beacon Designer 5. Анализ относительного содержания транскриптов проводился с помощью метода $2^{-\Delta\Delta C_t}$ [Livak, Schmittgen, 2001], основанного на нормализации данных по экспрессии относительно

двух референсных генов. Рассчитывалась разница значений C_t (ΔC_t) между целевым и референсными генами, затем сравнивались значения ΔC_t контрольного и опытного образцов. В качестве референсных использованы гены *18sRNA* (номер доступа в NCBI – 1G30960) и *ACTIN8* (номер доступа в NCBI – AF494822.1) [Gutierrez et al., 2008], которые характеризуются конститутивной экспрессией. Последовательности праймеров референсных генов: *18sRNA* f: 5'-TGCCCGTTGCTCT-GATGA-3', r: 5'-GGATGTGGTAGCCGTTTCT-3'; *ACTIN8* f: 5'-GCAGACCGTATGAGCAAAGAG-3', r: 5'-TGAGGGAAGCAAGGATAGAACC-3'. О специфичности фрагментов судили по кривым плавления.

Экспериментальные данные обрабатывали с использованием статистических программ Microsoft Excel и Statgraphics 2.1 (ANOVA). На рисунках данные представлены в виде средних значений и ошибки среднего. Достоверность различий содержания мРНК *FLC* и *CLF* в листьях растений разных популяций и между отдельными группами растений по длительности яровизации оценивали с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни (U-тест).

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты и обсуждение

Влияние длительности яровизации на время начала цветения A. thaliana северных популяций

Изучение времени начала цветения *A. thaliana* показало, что карельские популяции представлены в основном поздноцветущими формами растений. К ним относятся популяции Кончезеро и Шуйская, которые без предварительной холодной обработки зацветают через 4–6 месяцев. Популяция Царевичи оказалась гетерогенной по срокам зацветания, в ней присутствуют как поздноцветущие, так и раннецветущие формы растений. Популяции различаются также и по реакции на яровизацию растений, входящих в их состав. Результаты представлены на графиках (рис. 1), из которых видно, что длительная яровизация (40 дн.) приводит к раннему цветению всех растений из популяции Царевичи. В популяциях, представленных поздними формами растений, наблюдается незначительное ускорение времени начала цветения; при этом большая доля растений не зацветает в течение почти трех месяцев.

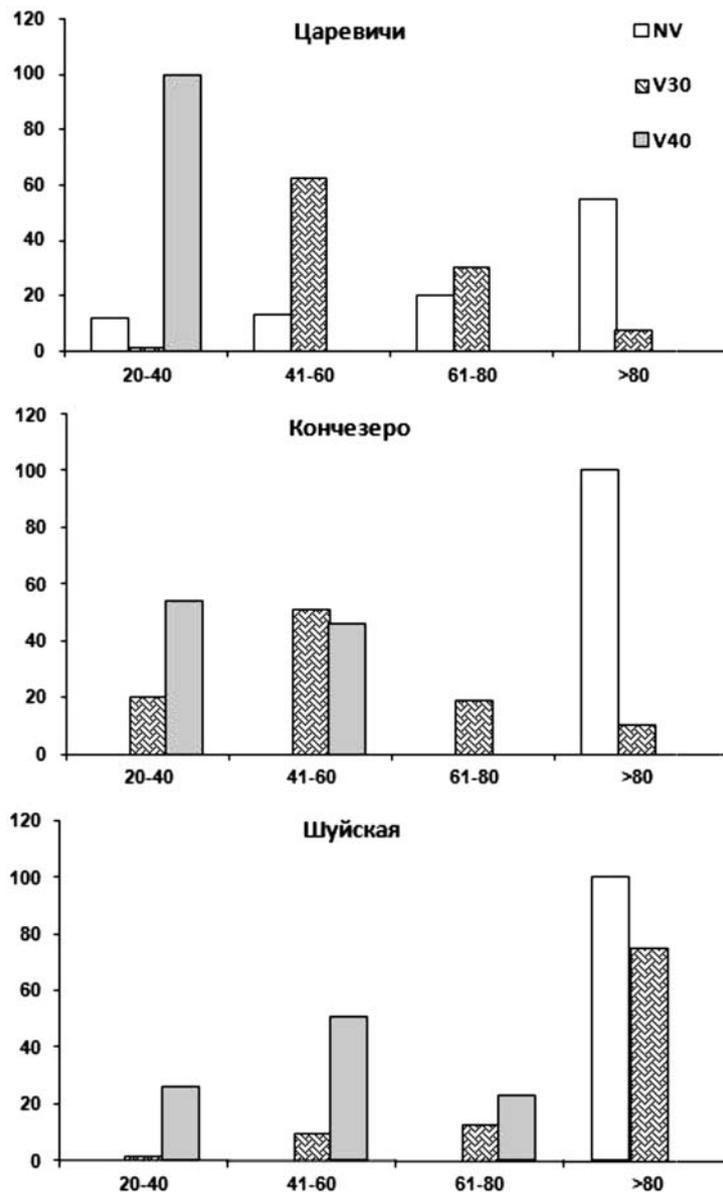


Рис. 1. Влияние длительности яровизации на время начала цветения растений *A. thaliana* северных природных популяций: NV – цветущие растения без яровизации; V30 и V40 – цветущие растения при яровизации 30 или 40 суток. По оси X – доля цветущих растений (%); по оси Y – количество дней до начала цветения

Fig. 1. The influence of the vernalization duration on the time of the onset of flowering of *A. thaliana* plants of northern natural population: NV – flowering plants without vernalization; V30 and V40 – flowering plants with vernalization for 30 or 40 days. X-axis – proportion of flowering plants (%); Y-axis – number of days before flowering

Изучение транскрипционной активности гена CLF – компонента комплекса PRC2 в процессе яровизации растений A. thaliana северных популяций

Показано, что уровень экспрессии гена *CLF* у растений *A. thaliana* до воздействия на них низких положительных температур различался

в зависимости от принадлежности к популяции (рис. 2). Анализ экспрессии *CLF* проводили на неяровизированных растениях и растениях, подвергшихся яровизации в течение 10, 20, 30 и 40 дней. Уровень транскриптов *CLF* у неяровизированных растений из популяции Шуйская был ниже, чем у растений двух других популяций ($p < 0,01$) (рис. 2).

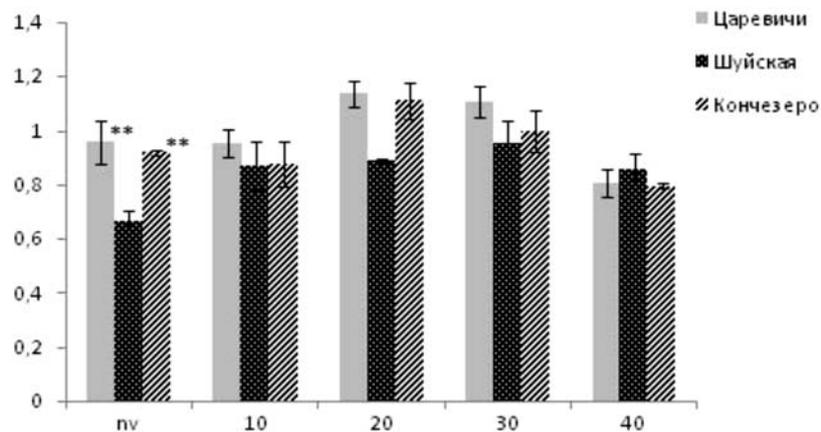


Рис. 2. Относительный уровень экспрессии гена *CLF* у растений *A. thaliana* карельских популяций:

по оси X – продолжительность яровизации растений: nv – без яровизации; 10, 20, 30, 40 – длительность яровизации в сутках; по оси Y – относительный уровень транскриптов *CLF* в отн. ед. Значимость различий относительного уровня транскриптов *CLF* у растений, подвергшихся 20-дн. яровизации, по сравнению с 40-дн. из популяций Царевичи и Кончезеро $p < 0,01$; все остальные сравнения незначимы. Звездочками отмечена значимость различий в экспрессии гена для популяций без яровизации (Шуйская – Царевичи и Шуйская – Кончезеро): $p < 0,01$

Fig. 2. Relative expression level of the *CLF* gene in *A. thaliana* plants of the Karelian populations:

X-axis – duration of plant vernalization: nv – no vernalization; 10, 20, 30, 40 – duration of vernalization in days; Y-axis – relative level of *CLF* transcripts in rel. units. The significance of differences in the relative level of *CLF* transcripts in plants subjected to 20-day vernalization compared to 40-day vernalization from the Tsarevichi and Konchezero populations is $p < 0.01$; all other comparisons are not significant; Asterisks indicate the significance of differences in gene expression for populations without vernalization (Shuiskaya-Tsarevichi and Shuiskaya-Konchezero): $p < 0.01$

Согласно результатам ANOVA, характер изменения уровня транскриптов гена *CLF* в ходе яровизации не зависел от принадлежности растений к определенной популяции ($F = 1,1$; $p = 0,34$; $\eta = 0,02$). Вероятно, это может быть связано с тем, что сложный признак «время начала цветения» контролируется большим количеством генов помимо *CLF*, а также за счет изменения уровня некодирующих РНК [Raman et al., 2013]. Далее в процессе холодового воздействия транскрипционная активность *CLF* имеет тенденцию к постепенному усилению к 20-му дню яровизации растений и затем достоверно снижается к 40-му дню в популяциях Царевичи и Кончезеро ($p < 0,01$).

Ускорению темпов цветения растений в ходе яровизации в северных популяциях *A. thaliana*, возможно, способствуют другие генетические и/или эпигенетические факторы. В частности, в экспериментах на еже сборной (*Dactylis glomerata*) показано, что раннее цветение растений было вызвано гиперметилированием ДНК генов. По данным авторов [Yang et al., 2022], условия короткого дня и

низких температур (осень и зима) приводят к повышенному метилированию ДНК, которое усиливает транскрипционную активность генов яровизационного пути (*VIN3*, *VRN1*, *SWN* и др.). Среди генов, участвующих в контроле времени цветения, как было указано выше, важнейшую роль играет ген *FLC*.

Ранее нами проанализирована динамика транскрипционной активности гена *FLC* – центрального ингибитора инициации цветения *Arabidopsis thaliana* в изученных популяциях [Федоренко и др., 2019]. Сопоставление уровня транскриптов генов *CLF* и *FLC* при яровизации показало, что на начальной стадии холодной обработки количество транскриптов *CLF* находится в соответствии с транскрипцией гена *FLC*, которая также увеличивается к 20-му дню яровизации у растений из смешанной по времени цветения популяции Царевичи и к 30-му дню в популяциях позднецветущих растений (Кончезеро и Шуйская) (рис. 3) [Зарецкая и др., 2023]. Корреляционный анализ показал, что количество транскриптов гена *CLF* коррелирует с уровнем экспрессии гена *FLC* в ходе яровизации у растений популяции

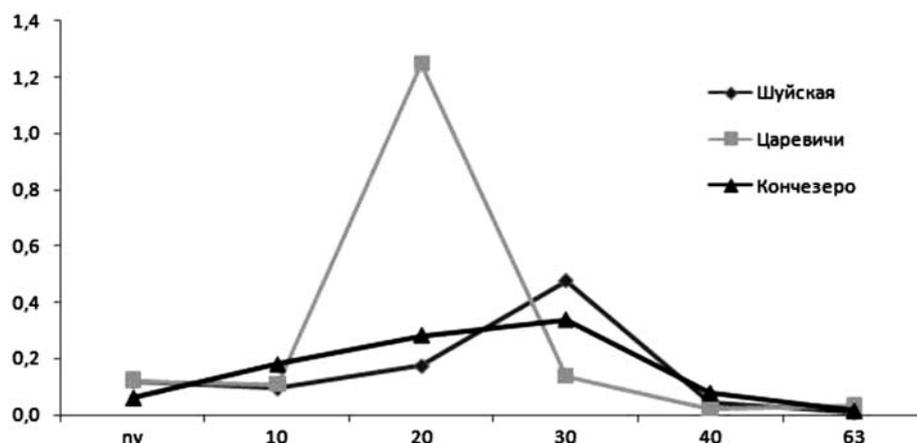


Рис. 3. Изменение уровня транскриптов гена *FLC* в процессе яровизации растений *A. thaliana* северных популяций:

по оси X – условия выращивания растений: nv – без яровизации; 10, 20...63 – длительность яровизации в сутках; по оси Y – относительный уровень транскриптов *FLC* (отн. ед. * 10000) [Зарецкая и др., 2023]

Fig. 3. Changes in the level of *FLC* gene transcripts during vernalization of *A. thaliana* plants of northern populations:

X-axis – plant growing conditions: nv – without vernalization; 10, 20...63 – duration of vernalization in days; Y-axis – relative level of *FLC* transcripts (rel. units * 10000) [Zaretskaya et al., 2023]

Царевичи ($r = 0,63$; $p = 0,02$). По-видимому, это связано с задержкой процесса накопления репрессирующих меток H3K27me3 в хроматине *FLC* и влияния их на репрессию этого гена. Кроме того, имеются данные, свидетельствующие о том, что увеличение количества меток H3K27me3 не всегда связано с повышением экспрессии *CLF* [Wang et al., 2024]. Положительная корреляция также может быть связана с альтернативными путями регуляции *FLC*. Так, при скрининге мутантов, которым больше не требуется яровизация для быстрого цветения, был идентифицирован доминантный аллель *clf-59* [Doyle, Amasino, 2009]. Мутантные растения со сниженной активностью метилтрансферазы *CLF* цветут рано и имеют пониженную экспрессию *FLC* и повышенные уровни триметилирования лизина 27 гистона H3 (H3K27me3) в *FLC*, что, вероятно, связано с активацией независимых от *CLF* механизмов регуляции экспрессии этого гена.

Исходя из представленных в указанной статье данных, *CLF*, вероятно, подавляет экспрессию *FLC* без некоторых компонентов, необходимых для репрессии, опосредованной яровизацией [Doyle, Amasino, 2009]. Doyle и Amasino также показали, что существует заметная разница в уровнях H3K27me3 в локусе *FLC* между растениями, которые содержат ген *FRI*, и теми, у которых он отсутствует [Doyle, Amasino, 2009]. Также имеются данные, свидетельствующие о том, что не всегда метилирование гисто-

нов гена-мишени сопровождается подавлением его транскрипционной активности. В частности, показано [Faire et al., 2024], что у мутантных растений *A. thaliana* с дефектным геном метилтрансферазы *CLF* многие гены, регулируемые холодом, демонстрируют пониженные уровни репрессирующих меток H3K27me3, но их транскрипционная активность не изменяется до или во время воздействия холода. Это позволяет предположить, что H3K27me3 может играть более сложную роль в реакции на холод, чем простое подавление генов, индуцируемых холодом.

Заключение

В результате проведенного исследования удалось установить, что яровизация растений *A. thaliana* сопровождается изменением транскрипционной активности гена *CLF*. В процессе холодной обработки растений *A. thaliana* ген гистон метилтрансферазы *CLF* активно транскрибируется и, вероятно, участвует в подавлении экспрессии центрального ингибитора инициации цветения – *FLC*. При переходе *FLC* в репрессивное состояние транскрипционная активность *CLF* снижается к 40-му дню яровизации. По-видимому, ускорение времени зацветания за счет воздействия низкими положительными температурами у *A. thaliana* из популяций Карелии с позднецветущими формами растений связано с изменением транскрипционной активности генов *CLF* и *FLC*.

Литература

Иванов В. И., Касьяненко А. Г., Санина А. В., Тимофеева-Ресовская Е. А. Краткая характеристика *A. thaliana* и некоторые сведения о его культивировании, технике скрещиваний и учете изменчивости // Генетика. 1966. № 8. С. 55–70.

Зарецкая М. В., Лебедева О. Н., Федоренко О. М. Особенности транскрипционной активности длинных некодирующих РНК (COOLAIR, COLDAIR и COLDWRAP) при яровизации растений *Arabidopsis thaliana* северных природных популяций // Генетика. 2023. Т. 59, № 8. С. 938–945. doi: 10.31857/S0016675823080118

Курбидова А. С., Зарецкая М. В., Солтабаева А. Д., Новокрещёнова М. Г., Куприянова Е. В., Федоренко О. М., Ежова Т. А. Генетические механизмы адаптации растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heunh. к экстремальным условиям северной границы ареала // Генетика. 2013. Т. 49, № 8. С. 943–953. doi: 10.7868/S0016675813080092

Федоренко О. М., Топчиева Л. В., Зарецкая М. В., Лебедева О. Н. Динамика экспрессии *FLC* и *VIN3* в процессе яровизации растений *Arabidopsis thaliana* северных природных популяций // Генетика. 2019. Т. 55, № 7. С. 811–818. doi: 10.1134/S0016675819060031

Baile F., Gómez-Zambrano Á., Calonje M. Roles of Polycomb complexes in regulating gene expression and chromatin structure in plants // Plant Commun. 2022. Vol. 3, no. 1. P. 100267. doi: 10.1016/j.xplc.2021.100267

Berry S., Dean C. Environmental perception and epigenetic memory: mechanistic insight through *FLC* // Plant J. 2015. Vol. 83. P. 133–148. doi: 10.1111/tpj.12869

Chen M., Penfield St. Feedback regulation of COOLAIR expression controls seed dormancy and flowering time // Science. 2018. Vol. 360. P. 1014–1017. doi: 10.1126/science.aar7361

Doyle M. R., Amasino R. M. A single amino acid change in the enhancer of zeste ortholog *CURLY LEAF* results in vernalization-independent, rapid flowering in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2009. Vol. 151, no. 3. P. 1688–1697. doi: 10.1104/pp.109.145581

Faivre L., Kinscher N.-F., Kuhlmann A. B., Xu X., Kaufmann K., Schubert D. Cold stress induces rapid gene-specific changes in the levels of H3K4me3 and H3K27me3 in *Arabidopsis thaliana* // Front. Plant Sci. 2024. Vol. 15. Art. 1390144. doi: 10.3389/fpls.2024.1390144

Godwin J., Farrona S. The importance of networking: Plant Polycomb Repressive Complex 2 and its interactors // Epigenomes. 2022. Vol. 6, no. 1. P. 8. doi: 10.3390/epigenomes6010008

Gutierrez L., Mauriat M., Guenin S., Pelloux J., Lefebvre J. F., Louvet R., Rusterucci C., Moritz T., Guérineau F., Bellini C., Van Wuytswinkel O. The lack of a systematic validation of reference genes: a serious pitfall undervalued in reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis in plants // Plant Biotechnol. J. 2008. Vol. 6. P. 609–618. doi: 10.1111/j.1467-7652.2008.00346.x

He Y. Control of the transition to flowering by chromatin modification // Molecular Plant. 2009. Vol. 2, no. 4. P. 1751–1754. doi: 10.1126/science.1091109

Heo J. B., Sung S. Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA // Science. 2011. Vol. 331. P. 76–79. doi: 10.1126/science.1197349

Jiang D., Wang Y., Wang Y., He Y. Repression of *FLOWERING LOCUS C* and *FLOWERING LOCUS T* by the *Arabidopsis* Polycomb Repressive Complex 2 components // PLoS ONE. 2008. Vol. 3(10). e3404. doi: 10.1371/journal.pone.0003404

Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCt} method // Methods. 2001. Vol. 25. P. 402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262

Nugroho A. B. D., Kim S., Lee S.W., Kim D.-H. Transcriptomic and epigenomic analyses revealed that polycomb repressive complex 2 regulates not only developmental but also stress responsive metabolism in *Brassica rapa* // Front. Plant Sci. 2023. Vol. 14. P. 1079218. doi: 10.3389/fpls.2023.1079218

Poza-Viejo L., Payá-Milans M., Wilkinson M. D., Piñeiro M., Jarillo J.A., Crevillén P. *Brassica rapa* *CURLY LEAF* is a major H3K27 methyltransferase regulating flowering time // Planta. 2024. Vol. 260, no. 1. P. 27. doi: 10.1007/s00425-024-04454-7

Raman H., Raman R., Eckermann P., Coombes N., Manoli S., Zou X., Edwards D., Meng J., Prangnell R., Stiller J., Batley J., Luckett D., Wratten N., Dennis E. Genetic and physical mapping of flowering time loci in canola (*Brassica napus* L.) // Theoretical and Applied Genetics. 2013. Vol. 126, no. 1. P. 119–132. doi: 10.1007/s00122-012-1966-8

Schmitz R. J., Amasino R. M. Vernalization: a model for investigating epigenetics and eukaryotic gene regulation in plants // Biochim. Biophys. Acta. 2007. No. 1769. P. 269–275. doi: 10.1016/j.bbaexp.2007.02.003

Wang H., Yin C., Zhang G., Yang M., Zhu B., Jiang J., Zeng Z. Cold-induced deposition of bivalent H3K4me3-H3K27me3 modification and nucleosome depletion in *Arabidopsis* // Plant J. 2024. Vol. 118, no. 2. P. 549–564. doi: 10.1111/tpj.16624

Yang Z., Yan H., Wang J., Nie G., Feng G., Xu X., Li D., Huang L., Zhang X. DNA hypermethylation promotes the flowering of orchardgrass during vernalization // Plant Physiol. 2022. Vol. 190, no. 2. P. 1490–1505. doi: 10.1093/plphys/kiac335

Yu Y., Wang S., Wang Z., Gao R., Lee J. *Arabidopsis thaliana*: a powerful model organism to explore histone modifications and their upstream regulations // Epigenetics. 2023. Vol. 18, no. 1. Art. 2211362. doi: 10.1080/15592294.2023.2211362

References

Baile F., Gómez-Zambrano Á., Calonje M. Roles of Polycomb complexes in regulating gene expression and chromatin structure in plants. *Plant Commun.* 2022;3(1):100267. doi: 10.1016/j.xplc.2021.100267

Berry S., Dean C. Environmental perception and epigenetic memory: mechanistic insight through *FLC*. *Plant J.* 2015;83:133–148. doi: 10.1111/tpj.12869

Chen M., Penfield St. Feedback regulation of COOLAIR expression controls seed dormancy and flowering time. *Science.* 2018;360:1014–1017. doi: 10.1126/science.aar7361

Doyle M. R., Amasino R. M. A single amino acid change in the enhancer of zeste ortholog *CURLY LEAF* results in vernalization-independent, rapid flowering in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2009;151(3):1688–1697. doi: 10.1104/pp.109.145581

Ivanov V. I., Kas'yanenko A. G., Sanina A. V. Timofeeva-Resovskaya E. A. A brief description of *A. thaliana* and some information about its cultivation, crossbreeding technique and accounting for variability. *Genetika = Rus. J. Genetics*. 1966;8:55–70. (In Russ.)

Kurbidaeva A. S., Zaretskaya M. V., Soltabaeva A. D., Novokreshchenova M. G., Kupriyanova E. V., Fedorenko O. M., Ezhova T. A. Genetic base of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.: fitness of plants for extreme conditions in northern margins of species range. *Rus. J. Genetics*. 2013;49(8):819–826. doi: 10.1134/S1022795413080097

Faivre L., Kinscher N.-F., Kuhlmann A. B., Xu X., Kaufmann K., Schubert D. Cold stress induces rapid gene-specific changes in the levels of H3K4me3 and H3K27me3 in *Arabidopsis thaliana*. *Front. Plant Sci.* 2024;15:1390144. doi: 10.3389/fpls.2024.1390144

Fedorenko O. M., Topchieva L. V., Zaretskaya M. V., Lebedeva O. N. Changes in *FLC* and *VIN3* expression during vernalization of *Arabidopsis thaliana* plants from northern natural populations. *Rus. J. Genetics*. 2019;55(7):865–818. doi: 10.1134/S1022795419060036

Godwin J., Farrona S. The importance of networking: Plant Polycomb Repressive Complex 2 and its interactors. *Epigenomes*. 2022;6(1):8. doi: 10.3390/epigenomes6010008

Gutierrez L., Mauriat M., Guenin S., Pelloux J., Lefebvre J. F., Louvet R., Rusterucci C., Moritz T., Guerinneau F., Bellini C., Van Wuytswinkel O. The lack of a systematic validation of reference genes: a serious pitfall undervalued in reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis in plants. *Plant Biotechnol. J.* 2008;6:609–618. doi: 10.1111/j.1467-7652.2008.00346.x

He Y. Control of the transition to flowering by chromatin modification. *Molecular Plant*. 2009;2(4):1751–1754. doi: 10.1126/science.1091109

Heo J. B., Sung S. Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA. *Science*. 2011;331:76–79. doi: 10.1126/science.1197349

Jiang D., Wang Y., Wang Y., He Y. Repression of *FLOWERING LOCUS C* and *FLOWERING LOCUS T* by the *Arabidopsis* Polycomb Repressive Complex

2 components. *PLoS ONE*. 2008;3(10):e3404. doi: 10.1371/journal.pone.0003404

Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. *Methods*. 2001;25:402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262

Nugroho A. B. D., Kim S., Lee S. W., Kim D.-H. Transcriptomic and epigenomic analyses revealed that polycomb repressive complex 2 regulates not only developmental but also stress responsive metabolism in *Brassica rapa*. *Front. Plant Sci.* 2023;14:1079218. doi: 10.3389/fpls.2023.1079218

Poza-Viejo L., Payá-Milans M., Wilkinson M. D., Piñeiro M., Jarillo J. A., Crevillén P. *Brassica rapa* *CURLY LEAF* is a major H3K27 methyltransferase regulating flowering time. *Planta*. 2024;260(1):27. doi: 10.1007/s00425-024-04454-7

Raman H., Raman R., Eckermann P., Coombes N., Manoli S., Zou X., Edwards D., Meng J., Prangnell R., Stiller J., Batley J., Luckett D., Wratten N., Dennis E. Genetic and physical mapping of flowering time loci in canola (*Brassica napus* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2013;126(1):119–132. doi: 10.1007/s00122-012-1966-8

Schmitz R. J., Amasino R. M. Vernalization: a model for investigating epigenetics and eukaryotic gene regulation in plants. *Biochim. Biophys. Acta*. 2007;1769:269–275. doi: 10.1016/j.bbaexp.2007.02.003

Wang H., Yin C., Zhang G., Yang M., Zhu B., Jiang J., Zeng Z. Cold-induced deposition of bivalent H3K4me3-H3K27me3 modification and nucleosome depletion in *Arabidopsis*. *Plant J.* 2024;118(2):549–564. doi: 10.1111/tpj.16624

Yang Z., Yan H., Wang J., Nie G., Feng G., Xu X., Li D., Huang L., Zhang X. DNA hypermethylation promotes the flowering of orchardgrass during vernalization. *Plant Physiol.* 2022;190(2):1490–1505. doi: 10.1093/plphys/kiac335

Yu Y., Wang S., Wang Z., Gao R., Lee J. *Arabidopsis thaliana*: a powerful model organism to explore histone modifications and their upstream regulations. *Epigenetics*. 2023;18(1):2211362. doi: 10.1080/15592294.2023.2211362

Zaretskaya M. V., Lebedeva O. N., Fedorenko O. M. Peculiarities of the transcriptional activity of long non-coding RNAs (*COOLAIR*, *COLDIAIR*, and *COLDWRAP*) during the vernalization of the plant *Arabidopsis thaliana* of Northern natural populations. *Rus. J. Genetics*. 2023;59(8):817–823. doi: 10.1134/S1022795423080112

Поступила в редакцию / received: 17.01.2025; принята к публикации / accepted: 21.02.2025.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Зарецкая Марина Витальевна

канд. биол. наук, научный сотрудник

e-mail: genmg@mail.ru

Федоренко Ольга Михайловна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

e-mail: fedorenko_om@mail.ru

CONTRIBUTORS:

Zaretskaya, Marina

Cand. Sci. (Biol.), Researcher

Fedorenko, Olga

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher