

РОЛЬ *DOG1* И *FT* – КЛЮЧЕВЫХ РЕГУЛЯТОРОВ ПОКОЯ СЕМЯН В АДАПТАЦИИ *Arabidopsis thaliana* СЕВЕРНЫХ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

© 2022 г. М. В. Зарецкая¹, О. Н. Лебедева¹, О. М. Федоренко¹, *

¹Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, 185910 Россия

*e-mail: fedorenko_om@mail.ru

Поступила в редакцию 03.12.2021 г.

После доработки 16.12.2021 г.

Принята к публикации 24.01.2022 г.

Представлены результаты оценки первичного покоя семян растений *A. thaliana* северных природных популяций, имеющего решающее значение для адаптации. Установлено, что температурный опыт материнского растения в период созревания семян используется для контроля прорастания семенного потомства. Выявлена зависимость транскрипционной активности гена *FT* в стручках растений от температуры выращивания материнского растения: она оказалась выше при прохладной температуре (16°C) по сравнению с более теплыми условиями. Для *DOG1* подобная зависимость верна лишь для некоторых популяций, имеющих в своем составе не только позднецветущие, но и относительно раннецветущие растения. Вероятно, это связано с тем, что самые поздние экотипы *A. thaliana* имеют особые механизмы регуляции физиологических функций *DOG1*. Показано, что в условиях холодного климата у большинства растений *A. thaliana* семена имеют более глубокий покой при высокой температуре (22°C), что обеспечивает их прорастание осенью и цветение весной, после окончания яровизации. Тем не менее выявленная способность определенного количества семян прорасти при 22°C позволяет выдвинуть предположение о наличии смещения альтернативных стратегий жизненного цикла растений *A. thaliana* в карельских популяциях. В некоторых популяциях присутствуют как зимние, так и летние однолетники, что создает адаптивный потенциал для выживания вида в жестких и нестабильных условиях на северной периферии ареала.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, природные популяции, покой семян, экспрессия генов *DOG1* и *FT*, жизненные циклы растений.

DOI: 10.31857/S0016675822070153

Проблема адаптации живых организмов к условиям окружающей среды продолжает оставаться наиболее актуальной в современной биологии. Высшие растения по сравнению с животными ведут прикрепленный образ жизни, поэтому они в значительной степени зависят от климатических условий окружающей среды и имеют принципиально иную жизненную стратегию, связанную с адаптацией. В частности, установлено, что в развитии растений задействовано значительно большее количество регуляторных генов, чем у животных. Растения координируют свой жизненный цикл в соответствии с сезонами года. Центральное место в этом процессе занимает способность растений воспринимать и интегрировать информацию об окружающей среде [1].

Сезонные сроки прорастания семян имеют решающее значение для адаптации растений к различным климатическим условиям. Они непосредственно связаны с периодом покоя семян и определяют в каких условиях окружающей среды

будут формироваться последующие жизненные признаки растений (такие, как потребность в яровизации, время начала цветения и т.д.) [2, 3]. Эти признаки могут быть скоррелированы в результате естественного отбора и могут формировать синдромы адаптивных форм жизненного цикла [4, 5]. У однолетних растений вариации в сроках сезонного прорастания семян создают альтернативные стратегии жизненных циклов. Индукция вторичного покоя семян в зимних условиях, который ограничивает прорастание до осени, положительно коррелирует со временем цветения, создавая зимние и весенние сезонные стратегии жизненного цикла [3]. Зимние однолетники прорастают осенью, перезимовывают, а затем цветут и рассеивают семена весной, тогда как летние однолетники зимуют в виде семян и прорастают, цветут и рассеивают семена весной или летом [6]. Также наблюдается смещение типов осеннего и весеннего прорастания внутри популяций [7–9]. Предполагается, что такая неоднород-

ность стратегий жизненного цикла растений является своеобразной формой защиты популяций от риска вымирания и увеличивает потенциал выживаемости [10].

На *Arabidopsis thaliana* – классическом модельном объекте показано, что ключевые гены, регулирующие цветение, – *FLOWERING LOCUS C (FLC)*, *FLOWERING LOCUS T (FT)* и *DELAY OF GERMINATION 1 (DOG1)* участвуют и в переходе от покоя семян к прорастанию, предполагая, что покой и цветение могут координированно регулироваться через перекрывающиеся молекулярные пути [1, 3, 11].

Известно, что материнское растение играет важную роль в контроле покоя семян: температурные условия, в которых оно находится перед цветением, заметно влияют на состояние покоя семян и соответственно на сроки их прорастания. Белок FT используется для модулирования периода покоя семян, интегрируя долгосрочную память о пережитой температуре в тканях плода [12]. В частности установлено, что воздействие температуры на материнское растение *A. thaliana* в течение его выращивания передается с помощью путей сигнальной трансдукции в FT-локус флоремы стручка [11].

DOG1 – наиболее важный регулятор первичного покоя у *A. thaliana*. Он участвует в программе созревания семян и времени прорастания [1, 3, 13]. Белок DOG1 в семенах приводит к глубокому покою и задержке прорастания у *A. thaliana* [14]. Известна природная аллельная изменчивость *DOG1*, ассоциированная с естественными вариациями в первичном покое [15, 16]. Установлено, что уровень экспрессии *DOG1* связан с вариабельностью покоя и проявляет клинальную изменчивость [17, 18]. Аллельные варианты *DOG1* также связаны с естественной изменчивостью времени цветения [19] и могут иметь плейотропные эффекты [20].

Одной из важных функций DOG1 является индукция температурно-зависимого покоя [6, 18, 21, 22]. Температура во время созревания семян обладает доминирующим эффектом на уровень транскриптов *DOG1* в зрелых семенах и определяет глубину покоя [8, 21, 23]. Известно, что чем ниже температура созревания семян (т.е. температура, которую испытывает материнское растение), тем выше экспрессия гена и степень покоя семян, по сравнению с более теплыми условиями (20°C). Следовательно, *DOG1*, вероятно, проявляет чувствительность к окружающей среде [21].

Ранее нами было показано [24, 25], что в некоторых карельских популяциях встречаются и раннецветущие формы *A. thaliana*, что не характерно для северных широт [26]. В то же время недавно обнаружено, что раннецветущая линия *Ler* с очень слабым покоем семян имеет инсерцию 285 пар

нуклеотидов (пн) в промоторе *DOG1*, что обуславливает низкую экспрессию этого гена [27].

Таким образом, с целью изучения генетических механизмов адаптации растений *A. thaliana* северных природных популяций на одной из важнейших стадий жизненного цикла – стадии прорастания семян, а также для выявления адаптивных стратегий жизненного цикла растений проведено настоящее исследование. Здесь мы представляем результаты 1) оценки глубины покоя семян в зависимости от температуры выращивания растений и прорастания семян; 2) изучения транскрипционной активности генов *FT* и *DOG1* при различной температуре выращивания растений; 3) анализа размера фрагмента ДНК 5'-регуляторной области *DOG1* у растений карельских популяций (в сравнении с таковым у *Ler*).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал и условия выращивания растений

В работе использованы растения *A. thaliana* четырех популяций, находящихся на северной границе ареала вида, в Карелии: Шуйская (62°00' с.ш.), Царевичи (62°01' с.ш.), Кончезеро (62°08' с.ш.), Медвежьегорск (62°55' с.ш.). Названия популяций даны в соответствии с близлежащими населенными пунктами. В качестве контроля использована раннецветущая линия – *Ler*. Из семян, собранных во время экспедиции 2019 г., выращивали исходный материал в лабораторных условиях по общепринятым методикам культивирования арабидопсиса [28] или использовали растения, выросшие в природной среде (среднесуточная температура июня 2019 г. приблизительно 12–16°C). Семена высевали в чашки Петри и проращивали на простой среде по Гихнеру–Велеминскому, которая готовилась на основе 8%-ного агар-агара с добавлением растворов макро- и микроэлементов. 14-Дневные растения яровизировали в течение восьми недель при 2–4°C. Затем растения пересаживали в смесь почвы и песка (2 : 1) и выращивали в лабораторных условиях при 22°C и круглосуточном освещении (10000 лк) или в камере искусственного климата (Snijders Micro Clima, Snijders Labs, Нидерланды) при 16°C и 16-часовом фотопериоде. Для изучения глубины покоя свежесобранные семена в количестве 200 шт. (50 × 4 повторности) из каждой популяции высевали на второй день и выращивали в чашках Петри на агаризованной питательной среде, как описано выше, в камере искусственного климата при 10 или 22°C, 16-часовом фотопериоде и освещении 10000 лк. О глубине покоя семян судили по их всхожести на 10-й день. Анализ экспрессии генов *FT* и *DOG1* проводили на молодых стручках растений, выращенных при 16 или 22°C, как описано выше.

Анализ уровня транскриптов генов

Выделение суммарной РНК из стручков растений осуществлялось СТАБ-методом [29]. Качество и количество РНК определяли на спектрофотометре Smart Spec (Bio-Rad, США). Первую цепь кДНК синтезировали с помощью набора для обратной транскрипции MMLV RT kit (Евроген). Содержание мРНК оценивали методом ПЦР в режиме реального времени с интеркалирующим красителем SYBR Green на приборе iCycler iQ5 (Bio-Rad) с набором для ПЦР-РВ (Евроген). Для определения уровня экспрессии гена каждую ПЦР проводили три раза, на трех независимых образцах кДНК. Последовательности праймеров для анализа экспрессии: *FT* F: 5'-CGC-CAGAACTTCAACACTCG-3', R: 5'-CTTCCTC-CGCAGCCACTC-3', *DOG1* F: 5'-GACGAAGAA-GAGAAGATGACCAAG-3', R: 5'-CGACCAATA-AACGAGCCATAGC-3'. Анализ относительного содержания транскриптов проводили с помощью метода $2^{-\Delta\Delta C_t}$ [30], 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. Для *FT* в качестве референсных использованы гены *18sRNA* и *UBQ10* [31], которые характеризуются конститутивной экспрессией; для *DOG1* – *ACTIN8* и *18sRNA*. Последовательности праймеров референсных генов: *18sRNA* F: 5'-TGCCCGTTGCTCTGATGA-3', R: 5'-GGATGTGGTAGCCGTTTCT-3'; *UBQ10* F: 5'-TCTTCTTTATCATCGCTTTCG-3', R: 5'-GCT-CAACACTTTCGCTACAT-3'; *ACTIN8* F: 5'-GCA-GACCGTATGAGCAAAGAG-3', R: 5'-TGAGG-GAAGCAAGGATAGAACC-3'. О специфичности фрагментов судили по кривым плавления.

Сравнительный анализ размера регуляторной 5'-области *DOG1*

Для определения размера регуляторной 5'-области *DOG1* у растений карельских популяций была выделена геномная ДНК СТАБ-методом [32] из листьев взрослых растений. Из каждой популяции проанализировано по 10 растений. Последовательности праймеров для ПЦР-амплификации участка регуляторной 5'-области *DOG1*: F: 5'-ACAACAACCTCGCACTCTC-3', R: 5'-AATATAG-GGAAACAATGACAAATG-3'. Продукты амплификации выявляли методом электрофореза в 2%-ном агарозном геле в ТВЕ буферном растворе с добавлением бромистого этидия и фотографировали в проходящем УФ-свете. Анализ молекулярной массы фрагментов осуществляли относительно маркера молекулярной массы (100 bp–1 kb) (Силекс, Россия).

Статистическая обработка данных

Экспериментальные данные обрабатывали с использованием статистических программ Microsoft Excel и Statgraphics 2.1 (ANOVA). Достоверность различий содержания мРНК генов *FLC* и *VIN3* 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

Изучение глубины покоя семян растений *A. thaliana* карельских популяций

Изучение глубины покоя свежесозревших семян в карельских популяциях проводилось на растениях, выросших в природной среде и в лабораторных условиях (при 16 или 22°C). Семена проращивали при 10°C или при 22°C (приблизительная среднесуточная температура осени и лета, соответственно). Такая температура была использована в экспериментах согласно литературным данным [3, 6, 33, 34] для возможности сопоставления полученных результатов.

Исследование показало, что у растений, выросших в природной среде, в популяциях Шуйская и Кончезеро, которые представлены позднецветущими формами растений, всхожесть семян выше при 10°C по сравнению с 22°C. Популяция Царевичи является смешанной по наличию раннецветущих и позднецветущих форм растений [26]. В этой популяции всхожесть семян при разных температурных условиях проращивания различается незначительно (табл. 1).

При выращивании растений в климатической камере (табл. 2) как при 16°C, так и при 22°C в двух популяциях, представленных позднецветущими формами растений, – Кончезеро и Медвежьегорск сохраняется закономерность, выявленная в природных условиях: всхожесть семян выше при 10°C по сравнению с 22°C. Также сохраняется природная закономерность прорастания семян в популяции Царевичи – примерно одинаковая, но только при выращивании растений при 16°C, а при 22°C – всхожесть семян выше при 10°C. По-видимому, в смешанной по времени цветения популяции (Царевичи) в условиях прохладного северного лета семена имеют равные шансы прорасти в разных температурных условиях, что способствует формированию альтернативных стратегий жизненного цикла: зимние однолетники (прорастают осенью) и летние однолетники (прорастают весной) [7–9]. В популяции Шуйская при выращивании растений и проращивании семян в разных температурных условиях всхожесть семян оказалась примерно одинаковой в отличие от природных условий.

Таблица 1. Всхожесть (%) свежесозревших семян *A. thaliana* карельских популяций при выращивании материнских растений в полевых условиях при 12–16°C

Популяция	Температура проращивания семян	
	10°C	22°C
Царевичи	23.5	27.0
Шуйская	40.5***	5.8
Кончезеро	9.0***	0

Примечание. Здесь и в табл. 2 достоверность различий всхожести семян при 10°C: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Таблица 2. Всхожесть (в %) свежесозревших семян *A. thaliana* карельских популяций при выращивании материнских растений в лабораторных условиях

Популяция	Материнское растение выращено при 22°C		Материнское растение выращено при 16°C	
	Температура проращивания семян			
	10°C	22°C	10°C	22°C
Царевичи	88.3**	28.8	95.0	95.3
Шуйская	72.2	72.8	98.6	89.6
Кончезеро	14.2**	0.5	79.5***	8.0
Медвежьегорск	2.0**	0	1.0*	0

Такое несоответствие полученных результатов в природе и в лаборатории объясняется, по-видимому, особенностями природных условий: перепадами температур в дневное и ночное время, световым периодом и некоторыми другими. Медвежьегорск – самая северная популяция, по-видимому это послужило причиной медленных темпов прорастания семян при всех условиях проращивания, однако всхожесть выше при 10°C (табл. 2).

Таким образом, в условиях невысоких летних температур в карельских популяциях *A. thaliana* преобладают озимые однолетние формы растений. По-видимому, растения, выросшие в прохладных условиях северного лета, формируют более глубокий покой семян, поэтому прорастают осенью, а не летом, и цветут после окончания яровизации. Тем не менее способность определенного количества семян прорасти в более теплых условиях (22°C) по сравнению с прохладными (10°C) свидетельствует о наличии смешанных жизненных форм растений (зимние и летние однолетники) в северных природных популяциях. Это, по-видимому, способствует их экологической пластичности и создает адаптивный потенциал для выживания вида в жестких и нестабильных условиях произрастания.

Анализ экспрессии генов FT и DOG1, контролирующих эпигенетический механизм покоя семян растений, в стручках A. thaliana карельских популяций

Анализ относительного уровня транскриптов *FT* и *DOG1* в стручках *A. thaliana* проводили на растениях, выращенных при 16 или 22°C. Результаты представлены на диаграммах (рис. 1, 2).

Оказалось, что уровень экспрессии *FT* выше при прохладной температуре выращивания мате-

ринских растений (16°C) по сравнению с более высокой температурой (22°C), что согласуется с данными литературы [11, 34] (рис. 1).

Сопоставление полученных данных с результатами проращивания семян в различных температурных условиях позволяет сделать вывод о зависимости глубины покоя семян от уровня экспрессии *FT*. В частности, высокий уровень экспрессии *FT* приводит к более высокой всхожести семян при прохладной температуре (10°C) по сравнению с 22°C в природных условиях (кроме популяции Царевичи – смешанной по времени цветения растений). Однако при выращивании материнских растений в лабораторных условиях указанная зависимость не всегда сохраняется.

Результаты анализа относительного уровня транскриптов *DOG1* в стручках растений оказались неоднозначными (рис. 2). Так, в двух популяциях (Царевичи и Кончезеро) экспрессия *DOG1* оказалась выше при выращивании растений при 16°C по сравнению с 22°C, что согласуется с данными литературы [18]. Одна из этих популяций – Царевичи имеет в своем составе раннецветущие растения. В двух популяциях (Шуйская и Медвежьегорск) различия в экспрессии *DOG1* при разной температуре выращивания материнских растений небольшие или отсутствуют. Медвежьегорск – самая северная популяция, где присутствуют самые позднецветущие растения с глубоким покоем семян (см. табл. 2). Растения популяции Шуйская, как было показано нами ранее [35], имеют потребность в более длительной яровизации (9 нед.) по сравнению с популяциями Кончезеро и Царевичи (6 нед.). Таким образом, возможно отсутствие различий в экспрессии *DOG1* в данном случае связано с генетическими особенностями растений северных популяций, а также с тем, что

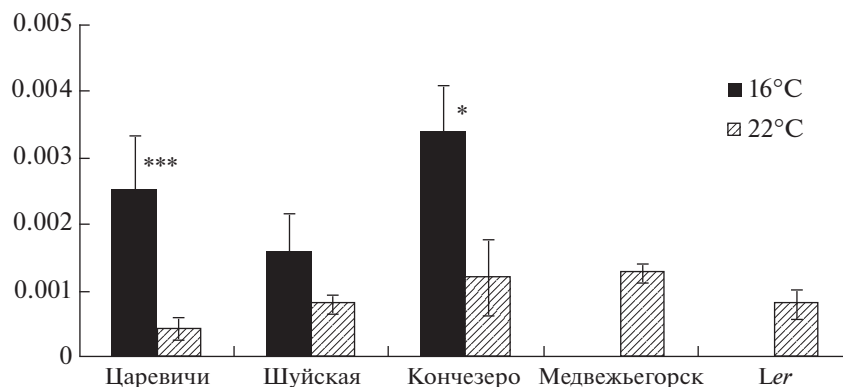


Рис. 1. Уровень транскрипционной активности локуса *FT* в стручках растений северных природных популяций *A. thaliana* при различной температуре их выращивания. По оси *X* – карельские популяции и линия *Ler*; по оси *Y* – относительный уровень транскриптов *FT*. Здесь и на рис. 2 звездочками отмечена значимость различий в экспрессии гена при разной температуре выращивания растений: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

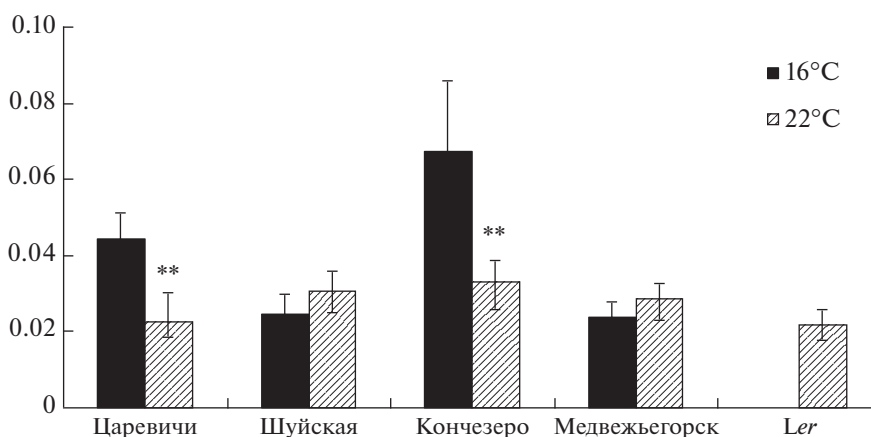


Рис. 2. Уровень транскрипционной активности гена *DOG1* в стручках растений северных природных популяций *A. thaliana* при различной температуре их выращивания – 16 и 22°C. По оси *X* – линия *Ler* и карельские популяции; по оси *Y* – относительный уровень транскриптов *DOG1*.

температура 16–22°C типична для карельского лета и не составляет большой разницы для позднецветущих экотипов с глубоким покоем семян.

Наши результаты несколько отличаются от результатов других исследователей. По-видимому, это связано с тем, что по их мнению [3, 6, 14, 34] все еще нет четкого понимания механизма действия и контроля экспрессии этого гена. Известно, что физиологическая функция *DOG1* широко регулируется с помощью сложного набора эпигенетических трансформаций, которые включают альтернативный сплайсинг, альтернативное полиаденилирование, модификации гистонов и антимысловую транскрипцию [22, 36]. Характеристика регуляторных сетей, выявленных между различными модификаторами хроматина с другими эпигенетическими эффекторами и регуляторами, только началась и представляет перспективу дальнейших исследований [14, 37].

Сравнительный анализ размера регуляторной 5'-области ДНК гена *DOG1* в карельских популяциях *A. thaliana*

Известно, что функциональные аллельные варианты *DOG1* широко распространены и имеют большое адаптивное значение [13, 18, 38, 39]. Недавно было показано, что для активации экспрессии *DOG1* необходим фактор транскрипции bZIP67. Он связывается с промотором *DOG1*, при этом низкая температура во время созревания семян и обилие белка bZIP67 увеличивают экспрессию гена, ведущую к усилению покоя семян. В промоторе *DOG1 Ler-0* – раннецветущей линии *A. thaliana* с очень слабой степенью покоя обнаружена вставка 285 пн, которая обуславливает низкую экспрессию *DOG1*. Изменение длины промотора, вызванное INDEL длиной 285 пн, влияет на bZIP67-зависимую активацию *DOG1* и приводит к фенотипическим различиям в покое семян [27].

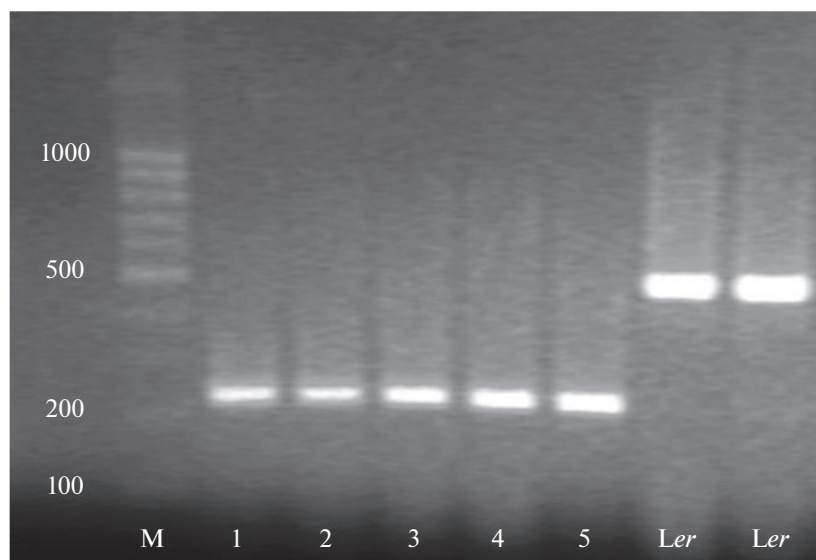


Рис. 3. Электрофореграмма фрагментов ДНК 5'-регуляторной области гена *DOG1* у растений карельских популяций *A. thaliana*. М – ДНК-маркер молекулярной массы (1500–100 пн); 1–5 – продукты амплификации образцов растений карельских популяций; *Ler* – линия *A. thaliana*.

Для выяснения связи особенностей экспрессии *DOG1* в карельских популяциях с возможными изменениями нуклеотидной последовательности гена был проведен анализ размера регуляторной 5'-области этого гена в сравнении с таковым у *Ler*. Результаты показали, что размер амплифицированного фрагмента ДНК регуляторной области *DOG1* в растениях всех исследованных популяций составляет 224 пн. У линии *Ler* обнаружена дополнительная протяженная инсерция 285 пн, что соответствует данным литературы [27] (рис. 3). Поэтому можно заключить, что раннее цветение растений некоторых популяций вероятно связано с другими генетическими причинами.

Таким образом, в результате проведенного исследования получены данные, позволяющие судить о своеобразии генетических механизмов, участвующих в регуляции глубины покоя и сезонных сроков прорастания семян *A. thaliana* в популяциях, расположенных на северной периферии ареала вида в нестабильных условиях произрастания растений. Установлено, что температурный опыт материнского растения в период созревания семян важен и используется для контроля прорастания семенного потомства. В частности, выявлена зависимость транскрипционной активности локуса *FT* в стручках растений от температуры выращивания материнского растения: она оказалась выше при прохладной температуре (16°C). Для *DOG1* подобная зависимость верна лишь для некоторых популяций, имеющих в своем составе не только позднецветущие, но и относительно раннецветущие растения. Вероятно, это связано с

тем, что самые поздние экотипы *A. thaliana* имеют особые механизмы регуляции физиологических функций *DOG1*. Как считают другие исследователи [3, 14, 37], функциональная активность этого гена сложна и механизм контроля его экспрессии недостаточно изучен.

Изучение глубины покоя свежесозревших семян, влияющего на сроки их прорастания, показало, что в условиях холодного климата на северной периферии ареала вида у большинства растений семена имеют более сильный покой при высокой температуре лета (22°C) по сравнению с прохладной температурой осени (10°C). Это обеспечивает их прорастание осенью и цветение весной, после окончания яровизации. Тем не менее выявлена способность определенного количества семян прорасти при 22°C. По-видимому, это свидетельствует о наличии смещения альтернативных стратегий жизненного цикла растений *A. thaliana* в карельских популяциях. В некоторых популяциях присутствуют как зимние, так и летние однолетники, что создает адаптивный потенциал для выживания вида в условиях нестабильного климата, выбирая осеннее или весеннее прорастание.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение Государственного задания КарНЦ РАН (№ темы FMEN-2022-0009).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Huo H., Wei Sh., Bradford K.J. DELAY OF GERMINATION1 (*DOG1*) regulates both seed dormancy and flowering time through microRNA pathways // PNAS. 2016. V. 113(15). P. 2199–2206. <https://doi.org/10.1073/pnas.1600558113>
- Donohue K. Germination timing influences natural selection on life-history characters in *Arabidopsis thaliana* // Ecology. 2002. V. 83. P. 1006–1016. <https://doi.org/10.2307/3071909>
- Martínez-Berdeja A., Stitzer M.C., Taylor M.A. et al. Functional variants of *DOG1* control seed chilling responses and variation in seasonal life-history strategies in *Arabidopsis thaliana* // PNAS. 2020. V. 117(5). P. 2526–2534. <https://doi.org/10.1073/pnas.1912451117>
- Donohue K., Dorn L., Griffith C. et al. Niche construction through germination cueing life-history responses to timing of germination in *Arabidopsis thaliana* // Evolution. 2005. V. 59(4). P. 771–785. <https://doi.org/10.1554/04-655>
- Auge G., Blair L.K., Kareddy A., Donohue K. The autonomous flowering-time pathway pleiotropically regulates seed germination in *Arabidopsis thaliana* // Annals Botany. 2018. V. 121(1). P. 183–191. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx132>
- Kendall S.L., Hellwege A., Marriot P. et al. Induction of dormancy in *Arabidopsis* summer annuals requires parallel regulation of *DOG1* and hormone metabolism by low temperature and CBF transcription factors // Plant Cell. 2011. V. 23(7). P. 2568–2580. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.087643>
- Picó F.X. Demographic fate of *Arabidopsis thaliana* cohorts of autumn- and spring-germinated plants along an altitudinal gradient // J. Ecol. 2012. V. 100. № 4. P. 10091018.
- Footitt S., Huang Z., Clay H.A. et al. Temperature, light and nitrate sensing coordinate *Arabidopsis* seed dormancy cycling, resulting in winter and summer annual phenotypes // Plant J. 2013. V. 74(6). P. 1003–1015. <https://doi.org/10.1111/tpj.12186>
- Baskin C.C., Baskin J.M. Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. San Diego, California: Acad. Press, 1998. 1573 p. <https://doi.org/10.2307/176683>
- Gremer J.R., Kimball S., Venable D.L. Within- and among-year germination in Sonoran Desert winter annuals: Bet hedging and predictive germination in a variable environment // Ecol. Lett. 2016. V. 19. P. 1209–1218. <https://doi.org/10.1111/ele.12655>
- Chen M., MacGregor D.R., Dave A. et al. Maternal temperature history activates Flowering Locus T in fruits to control progeny dormancy according to time of year // PNAS. 2014. V. 111(52). P. 18787–18792. <https://doi.org/10.1073/pnas.1412274111>
- Chen M., Penfield St. Feedback regulation of COOLAIR expression controls seed dormancy and flowering time // Science. 2018. V. 360. P. 1014–1017. <https://doi.org/10.1126/science.aar7361>
- Bentsink L., Hanson J., Hanhart C.J. et al. Natural variation for seed dormancy in *Arabidopsis* is regulated by additive genetic and molecular pathways // PNAS. 2010. V. 107(9). P. 4264–4269. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000410107>
- Chen N., Wang H., Abdelmageed H. et al. HSI2/VAL1 and HSL1/VAL2 function redundantly to repress *DOG1* expression in *Arabidopsis* seeds and seedlings // New Phytol. 2020. V. 227(3). P. 840–856. <https://doi.org/10.1111/nph.16559>
- Huang X., Schmitt J., Dorn L. et al. The earliest stages of adaptation in an experimental plant population: strong selection on QTLs for seed dormancy // Mol. Ecol. 2010. V. 19(7). P. 1335–1351. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04557.x>
- Postma F.M., Ågren J. Early life stages contribute strongly to local adaptation in *Arabidopsis thaliana* // PNAS. 2016. V. 113(27). P. 7590–7595. <https://doi.org/10.1073/pnas.1606303113>
- Vigidal D.S., Marques A.C.S., Willems L.A. et al. Altitudinal and climatic associations of seed dormancy and flowering traits evidence adaptation of annual life cycle timing in *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell Environ. 2016. V. 39(8). P. 737–748. <https://doi.org/10.1111/pce.12734>
- Chiang G.C., Bartsch M., Barua D. *DOG1* expression is predicted by the seed-maturation environment and contributes to geographical variation in germination in *Arabidopsis thaliana* // Mol. Ecol. 2011. V. 20(16). P. 3336–3349. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05181.x>
- 1001 Genomes Consortium [Corporate Author]. 1,135 Genomes reveal the global pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana* // Cell. 2016. V. 166. P. 481–491. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.06.044>
- Chiang G.C., Barua D., Dittmar E. et al. Pleiotropy in the wild: The dormancy gene *DOG1* exerts cascading control on life cycles // Evolution. 2013. V. 67(3). P. 883–893. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2012.01828.x>
- Murphey M., Kovach K., Elnaccash T. et al. *DOG1*-imposed dormancy mediates germination responses to temperature cues // Environ. Exp. Bot. 2015. V. 112. P. 33–43. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.11.013>
- Nonogaki H. Seed germination and dormancy: the classic story, new puzzles, and evolution // J. Integr. Plant Biol. 2019. V. 61(5). P. 541–563. <https://doi.org/10.1111/jipb.12762>
- Nakabayashi K., Bartsch M., Xiang Y. et al. The time required for dormancy release in *Arabidopsis* is determined by DELAY OF GERMINATION1 protein levels in freshly harvested seeds // Plant Cell. 2012. V. 24. P. 2826–2838. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.100214>
- Федоренко О.М., Савушкин А.И., Олимпиенко Г.С. Генетическое разнообразие природных популяций *Arabidopsis thaliana* (L.) Неунн. в Карелии // Генетика. 2001. Т. 37. № 2. С. 223–229.
- Курбидаева А.С., Зарецкая М.В., Солтабаева А.Д. и др. Генетические механизмы адаптации растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Неунн. к экстремальным условиям северной границы ареала // Генетика. 2013. Т. 49. № 8. С. 943–952. <https://doi.org/10.7868/S0016675813080092>
- Федоренко О.М., Грицких М.В., Николаевская Т.С. Полиморфизм по времени начала цветения у *Arabidopsis thaliana* (L.) Неунн. на северной границе

- его ареала // Труды КарНЦ РАН. Серия эксперим. биология. 2012. № 2. С. 139–146.
27. Bryant F.M., Hughes D., Hassani-Pak K., Eastmond P.J. Basic LEUCINE ZIPPER TRANSCRIPTION FACTOR67 transactivates DELAY OF GERMINATION1 to establish Primary seed dormancy in *Arabidopsis* // Plant Cell. 2019. V. 31(6). P. 1276–1288. <https://doi.org/10.1105/tpc.18.00892>
 28. Иванов В.И., Касьяненко А.Г., Санина А.В., Тимофеева-Ресовская Е.А. Опыты по радиационной генетике *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Сообщение I // Генетика. 1966. № 8. С. 55–70.
 29. Су М., Цзан В., Яо Н., Хуан М. Выделение высококачественной РНК из различных тканей *Populus* // Физиол. растений. 2009. Т. 56. № 5. С. 791–795.
 30. 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. V. 25. P. 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
 31. Eickelberg G.J., Fisher A.J. Environmental regulation of plant gene expression: An RT-PCR laboratory project for an upper-level undergraduate biochemistry or molecular biology course // Biochemistry and Mol. Biology Education. 2013. V. 41. № 5. <https://doi.org/10.1002/bmb.20722>
 32. Möller E.M., Bahnweg G., Sandermann H., Geiger H.H. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues // Nucl. Acids Res. 1992. V. 20. № 22. P. 6115–6116.
 33. Chiang G.C., Barua D., Kramer E.M. et al. Major flowering time gene, Flowering Locus C, regulates seed germination in *Arabidopsis thaliana* // PNAS. 2009. V. 106(28). P. 11661–1666. <https://doi.org/10.1073/pnas.090367106>
 34. Penfield St., MacGregor D.R. Effect of environmental variation during seed production on seed dormancy and germination // J. Exp. Bot. 2017. V. 68. № 4. P. 819–825. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw436>
 35. Зарецкая М.В., Федоренко О.М., Лебедева О.Н. Генетические основы адаптации: время начала цветения и степень покоя семян у *Arabidopsis thaliana* северных природных популяций // Труды КарНЦ РАН. Серия эксперим. биология. 2020. № 11. С. 80–91. <https://doi.org/10.17076/eb1218>
 36. Cyrek M., Fedak H., Ciesielski A. et al. Seed dormancy in *Arabidopsis* is controlled by alternative polyadenylation of DOG1 // Plant Physiol. 2016. V. 170. P. 947–955. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01483>
 37. Carrillo-Barral N., Rodríguez-Gacio M., Matilla A.J. DELAY OF GERMINATION-1 (DOG1): a key to understanding seed dormancy // Plants. 2020. V. 9(4). P. 480–500. <https://doi.org/10.3390/plants9040480>
 38. Alonso-Blanco C., Bentsink L., Hanhart C.J. et al. Analysis of natural allelic variation at seed dormancy loci of *Arabidopsis thaliana* // Genetics. 2003. V. 164. P. 711–729.
 39. Kerdaffrec E., Filiault D.L., Korte A. et al. Multiple alleles at a single locus control seed dormancy in Swedish *Arabidopsis* // eLife. 2016. 5:e22502 <https://doi.org/10.7554/eLife.22502>

Role of *DOG1* and *FT*, Key Regulators of Seed Dormancy, in Adaptation of *Arabidopsis thaliana* from Northern Natural Populations

M. V. Zaretskaya^a, O. N. Lebedeva^a, and O. M. Fedorenko^{a, *}

^aInstitute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, 185910 Russia

*e-mail: fedorenko_om@mail.ru

The results of assessing the primary dormancy of seeds of *A. thaliana* plants from northern natural populations, which is of great importance for adaptation, are presented. It has been established that the temperature experience of the mother plant during the period of seed ripening is used to control the germination of seed progeny. The dependence of the transcriptional activity of the *FT* gene in plant pods from temperature experience of the mother plant was revealed: it turned out to be higher at cool temperature (16°C) compared to warmer conditions. For *DOG1*, a similar relationship is true only for some populations that include not only late flowering, but also relatively early flowering plants. This is probably due to the fact that the latest ecotypes of *A. thaliana* have special mechanisms for the regulation of the physiological functions of *DOG1*. It has been shown that in a cold climate, the seeds of most *A. thaliana* plants have a deeper dormancy at a high temperature (22°C), which ensures their germination in autumn and flowering in spring, after the end of vernalization. Nevertheless, the revealed ability of a certain number of seeds to germinate at 22°C makes it possible to suggest the presence of a mixture of alternative strategies of the life cycle of *A. thaliana* plants in the Karelian populations. In some populations, both winter and summer annuals are present, which creates an adaptive potential for the species to survive in harsh and unstable environment at the northern limits of the species range.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, natural populations, seed dormancy, gene expression of *FT* and *DOG1*, plant life cycles.