

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Полиморфизм последовательностей генов *CLE* картофеля

М.С. Ганчева¹✉, М.Р. Лосев¹, А.А. Гурина², Л.О. Полюшкевич¹, И.Е. Додуева¹, Л.А. Лутова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР),

Санкт-Петербург, Россия

✉ ganchovai@gmail.com

Аннотация. *CLE* (CLV3/ESR) – одна из важнейших групп пептидных фитогормонов. Ее представители регулируют развитие различных органов и тканей растений, а также взаимодействие с некоторыми паразитами и симбионтами и ответ на факторы окружающей среды. В связи с этим идентификация и изучение генов *CLE*, кодирующих пептиды этой группы, у культурных растений представляют большой практический интерес. О функциях *CLE* пептидов у картофеля известно немного, поскольку гены *CLE* картофеля *Solanum phureja* Juz. et Buk. были охарактеризованы только в 2021 г. Вместе с тем картофель включает в себя много клубненосных видов рода *Solanum* L., как диких, так и культурных, и разнообразие его форм может зависеть в том числе от различий по последовательностям генов *CLE*. В этой работе мы впервые произвели поиск и анализ последовательностей генов *CLE* у трех диких видов картофеля (*S. bukasovii* Juz. et Rybin., *S. verrucosum* Schldtl., *S. commersonii* Dunal.) и четырех культурных (*S. chaucha* Juz. et Buk., *S. curtilobum* Juz. et Buk., *S. juzepczukii* Juz. et Buk., *S. ajanhuiri* Juz. et Buk.). У проанализированных видов картофеля выявлено 332 гена *CLE*: от 40 до 43 генов этого семейства для каждого вида картофеля. У всех видов картофеля, взятых в исследование, выявлены гомологи ранее идентифицированных генов *CLE S. phureja*; в то же время ген *CLE42*, отсутствующий в геноме *S. phureja*, найден у всех остальных проанализированных нами видов картофеля. Наибольшие отличия по аминокислотным последовательностям белков *CLE* оказались характерны для *S. commersonii* – вида, растущего вне ареалов культурных видов картофеля и, вероятно, не входящего в число их предков. Обнаружены также примеры полиморфизма по аминокислотным последовательностям доменов белков *CLE*, несущих разную функциональную нагрузку. Дальнейшее изучение белков *CLE* картофеля позволит выявить их роль в развитии этой важнейшей сельскохозяйственной культуры, в том числе в формировании признаков продуктивности.

Ключевые слова: гены *CLE*; картофель; *Solanum bukasovii*; *Solanum verrucosum*; *Solanum commersonii*; *Solanum chaucha*; *Solanum curtilobum*; *Solanum juzepczukii*; *Solanum ajanhuiri*.

Для цитирования: Ганчева М.С., Лосев М.Р., Гурина А.А., Полюшкевич Л.О., Додуева И.Е., Лутова Л.А. Полиморфизм последовательностей генов *CLE* картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(7):746-753. DOI 10.18699/VJ21.085

Polymorphism of *CLE* gene sequences in potato

M.S. Gancheva¹✉, M.R. Losev¹, A.A. Gurina², L.O. Poliushkevich¹, I.E. Dodueva¹, L.A. Lutova¹

¹ Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

² Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

✉ ganchovai@gmail.com

Abstract. *CLE* (CLV3/ESR) is one of the most important groups of peptide phytohormones: its members regulate the development of various plant organs and tissues, as well as interaction with some parasites and symbionts and response to environmental factors. In this regard, the identification and study of the *CLE* genes encoding the peptides of this group in cultivated plants are of great practical interest. Relatively little is known about the functions of *CLE* peptides in potato, since the *CLE* genes of the potato *Solanum phureja* Juz. et Buk. were characterized only in 2021. At the same time, potato includes plenty of tuberous species of the genus *Solanum* L., both wild and cultivated, and the diversity of its forms may depend on differences in the sequences of *CLE* genes. In this work, we performed a search for and analysis of the *CLE* gene sequences in three wild potato species (*S. bukasovii* Juz., *S. verrucosum* Schldtl., *S. commersonii* Dunal) and four cultivated species (*S. chaucha* Juz. et Buk., *S. curtilobum* Juz. et Buk., *S. juzepczukii* Juz. et Buk., *S. ajanhuiri* Juz. et Buk.). In total, we identified 332 *CLE* genes in the analyzed potato species: from 40 to 43 genes of this family for each potato species. All potato species taken for analysis had homologues of previously identified *S. phureja CLE* genes; at the same time, the *CLE42* gene, which is absent from the *S. phureja* genome, is present in all other analyzed potato species. Polymorphism of *CLE* proteins of *S. commersonii* is significantly higher than that of other analyzed potato species, due to the fact that *S. commersonii* grows in places outside the growing areas of other potato species and this potato is probably not one of the ancestors of cultivated potato. We also found examples of polymorphism of domains of *CLE* proteins that carried different func-

tions. Further study of potato *CLE* proteins will reveal their role in development, including regulation of productivity in this important agricultural crop.

Key words: *CLE* genes; potato; *Solanum bukasovii*; *Solanum verrucosum*; *Solanum commersonii*; *Solanum chaucha*; *Solanum curtilobum*; *Solanum juzepczukii*; *Solanum ajanhuiri*.

For citation: Gancheva M.S., Losev M.R., Gurina A.A., Poliushkevich L.O., Dodueva I.E., Lutova L.A. Polymorphism of *CLE* gene sequences in potato. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(7):746-753. DOI 10.18699/VJ21.085

Введение

Рост и развитие высших растений, а также их ответ на внешние стимулы регулируются с помощью межклеточных коммуникаций, опосредованных фитогормонами. Помимо давно известных и детально изученных «классических» фитогормонов (ИУК, цитокининов, АБК и т. д.), важную роль в координации развития растений играют многочисленные семейства пептидных гормонов, представляющих собой мобильные секретируемые олигопептиды или небольшие белки (Ганчева и др., 2019). Одно из самых известных семейств пептидных фитогормонов с очень широкими функциями – пептиды *CLE* (*CLV3/ESR*), получившие свое название по первым выявленным представителям: пептидам *CLAVATA3 (CLV3)* резуховидки (Clark et al., 1995) и *ENDOSPERM SURROUNDING REGION (ESR)* кукурузы (Opsahl-Ferstad et al., 1997). К настоящему времени гены, кодирующие пептиды *CLE*, выявлены у всех групп наземных растений, а также у зеленой водоросли *Chlamidomonas reinhardtii* (Oelkers et al., 2008; Goad et al., 2017).

Гены *CLE* кодируют белки длиной 100–150 аминокислот (АК), которые имеют сигнальный домен на N-конце, консервативный *CLE*-домен на C-конце и варибельный домен между ними (Strabala et al., 2014). *CLE*-домен, состоящий из 12 АК, является функциональной частью белка *CLE*: сразу после синтеза белок-предшественник подвергается протеолитическому процессингу и посттрансляционным модификациям (Kondo et al., 2006; Ni et al., 2011). В результате от него остается *CLE*-домен с модификациями консервативных остатков пролина (гидроксилированием, арабинозилированием) – это и есть зрелый пептид *CLE*. Секретируясь в межклеточное пространство, пептиды *CLE* становятся лигандами для рецепторных киназ семейств *Leucine Repeats containing Receptor-Like Kinases (LRR-RLK)* и *CRINKLY4*, расположенных на плазматических мембранах клеток (Полюшкевич и др., 2020). Взаимодействуя с рецепторами, пептиды *CLE* запускают сигнальный каскад, в числе мишеней которого – гомеодоменсодержащие транскрипционные факторы семейства *WOX*, регулирующие поддержание ниш ствольных клеток у растений (Творогова и др., 2021). К числу известных функций пептидов *CLE* относятся контроль активности апикальных меристем и камбия, дифференцировка проводящих тканей, образование боковых корней и клубеньков, ранний эмбриогенез, развитие устьиц, а также ответ на ряд средовых факторов: нехватку воды и изменение содержания азота в почве (Yamaguchi et al., 2016; Fletcher, 2020) (рис. 1).

У всех изученных видов покрытосеменных семейство пептидов *CLE* кодируется многочисленными генами. Так, в относительно небольшом геноме резуховидки *Ara-*

bidopsis thaliana имеется 32 гена *CLE* (Sharma et al., 2003; Strabala et al., 2006), при этом каждый из них отличается уникальным пространственным характером экспрессии (Jun et al., 2010). Однако некоторые гены *CLE* кодируют одинаковые пептиды *CLE*. Предполагается, что такая избыточность *CLE*-пептидов служит для тонкой регуляции развития (Kinoshita et al., 2007).

Очевидно, что семейство генов *CLE* далеко не исчерпывается открытыми к настоящему моменту генами; накопление геномных данных и усовершенствование программного обеспечения позволяют находить новых представителей этого семейства. В нашем исследовании в референсном геноме картофеля, являющемся последовательностью удвоенного моноплоида клона *Solanum phureja* DM-1-3 516R44 (Gancheva et al., 2021), был выявлен 41 ген *CLE*, который кодирует 37 уникальных пептидов *CLE*. В то же время известно множество культурных и дикорастущих видов картофеля. По представлениям разных авторов, к картофелю (*Solanum* L., секция *Petota* Dumort.) относится от 112 до 235 видов (Huamán, Ross, 1985; Spooner et al., 2014). Геномы некоторых видов картофеля секвенированы и доступны в базах данных.

В нашей работе мы произвели поиск и анализ генов *CLE* в геномах семи видов картофеля: трех диких видов (*S. bukasovii*, *S. verrucosum*, *S. commersonii*) и четырех примитивных культурных видов (*S. chaucha*, *S. curtilobum*, *S. juzepczukii*, *S. ajanhuiri*), представленных в базе данных NCBI. Всего мы обнаружили 332 гена *CLE* и выявили уникальные пептиды у единичных видов картофеля, которые могут выполнять иные функции либо вовсе потерять функциональность. Мы обнаружили также сходство последовательностей разных *CLE*, что может говорить об их общем происхождении.

Материалы и методы

В работе использовали представленные в базе данных NCBI сборки геномов различных видов картофеля: диких видов *S. commersonii*, *S. verrucosum* и *S. bukasovii*, а также примитивных культурных видов *S. chaucha*, *S. juzepczukii*, *S. curtilobum* и *S. ajanhuiri*.

Solanum commersonii – широко распространенный в Южной Америке диплоидный вид картофеля, ареал которого приурочен к прибрежной зоне Атлантического океана, преимущественно в Аргентине и Уругвае, и простирается от уровня моря до высоты 1300 м. Этот вид является рудеральным. Основные места его обитания – каменистые участки, дюны, посадки культурных растений (Hawkes, Hjerting, 1969).

Диплоидный вид *S. verrucosum*, в отличие от других рассмотренных нами видов, распространен в Северной Америке, а точнее в Мексике. Тем не менее считается,

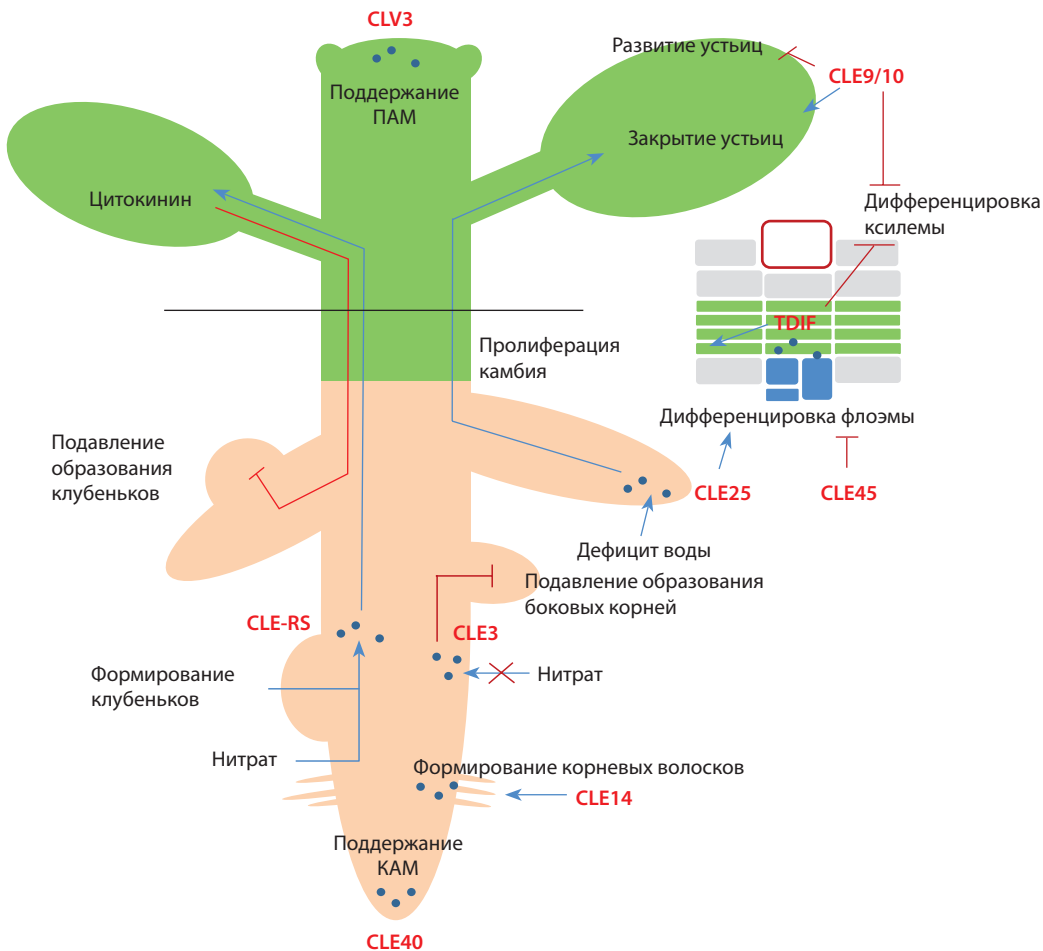


Рис. 1. Некоторые функции пептидов CLE в развитии растений.
ПAM – апикальная меристема побега; KAM – апикальная меристема корня.

что эволюционно он ближе к предкам культурных видов картофеля, чем *S. commersonii* (Hawkes, 1990). Его местообитания – лесные массивы.

Южноамериканский диплоидный вид *S. bukasovii* произрастает на высоте 3300–4000 м над уровнем моря в Перу. Относится к группе диких видов картофеля, от которых предположительно произошли культурные виды (Li et al., 2018).

Solanum juzepczukii и *S. curtilobum* – высокогорные триплоидный и пентаплоидный виды соответственно, обладающие крайне ограниченным ареалом. Относятся к группе «горьких» картофелей из-за высокого содержания гликоалкалоидов. Фактически были обнаружены лишь отдельные их клоны, возделываемые в высокогорных районах Перу и Боливии, где не могут возделываться другие виды картофеля. Являются более морозостойкими в сравнении с другими культурными видами (Лехнович, 1971).

Solanum ajanhuiri – диплоидный высокогорный вид, который возделывается на высоте более 3900 м в районе озера Титикака. Тоже морозостойкий, но, в отличие от *S. juzepczukii* и *S. curtilobum*, имеет значительно более низкое содержание гликоалкалоидов в клубнях (Hawkes, 1990).

Solanum chaucha – триплоидный вид, встречающийся преимущественно в северных горных районах Южной Америки (Эквадор, Колумбия), а также на севере Перу. Возделывается на более низких высотах по сравнению с вышеперечисленными культурными видами картофеля (Hawkes, 1990).

Поиск генов *CLE* у разных видов картофеля производили по гомологии с генами этого семейства у картофеля *S. phureja* (Gancheva et al., 2021), резуховидки *A. thaliana* (Sharma et al., 2003; Strabala et al., 2006) и томата *Solanum lycopersicum* (Zhang et al., 2014; Gancheva et al., 2021) с использованием базы данных NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), где размещены сборки геномов изучаемых видов картофеля (см. таблицу), с помощью инструмента Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool (BLASTN) и алгоритма discontinuous megablast (Altschul et al., 1990). Выравнивание аминокислотных и нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью алгоритма Muscle из программы MEGA7 (<https://www.megasoftware.net/>) (Kumar et al., 2016).

Филогенетический анализ выполняли в программе MEGA7 методом ближайшего соседа (Saitou, Nei, 1987) со стандартными настройками и бутстрепом 1000 (Felsenstein, 1985). Сигнальные домены белков CLE предска-

Количество выявленных генов CLE у разных видов картофеля, взятых в анализ

№ п/п	Вид картофеля	Номер сборки	Сокращение	Кол-во выявленных CLE	Характеристика вида
1	<i>S. chaucha</i> Juz. et Buk.	GCA_009849625.1	Sch	43	Примитивный культурный
2	<i>S. curtilobum</i> Juz. et Buk.	GCA_009849645.1	Scu	40	
3	<i>S. juzepczukii</i> Juz. et Buk.	GCA_009849685.1	Sj	42	
4	<i>S. phureja</i> Juz. et Buk.	GCA_009849755.1	Sph	41	
5	<i>S. ajanhuiri</i> Juz. et Buk.	GCA_009849805.1	Sa	40	Дикий
6	<i>S. bukasovii</i> Juz. et Rybin.	GCA_009849815.1	Sb	43	
7	<i>S. commersonii</i> Dunal.	GCA_001239805.1	Sco	42	
8	<i>S. verrucosum</i> Schtdl.	GCA_900185145.1	Sv	41	

зывали с использованием программы SignalP-5.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>). Консенсусные последовательности белков CLE визуализировали в программе Geneious Prime (<https://www.geneious.com/features/>).

Результаты

С помощью базы данных NCBI по гомологии с генами CLE картофеля *S. phureja* (*SphCLE*), резуховидки (*A. thaliana*) и томата (*S. lycopersicum*) нами были идентифицированы гены CLE у картофеля семи видов: примитивных культурных видов *S. chaucha*, *S. curtilobum*, *S. juzepczukii*, *S. ajanhuiri* и диких видов *S. bukasovii*, *S. commersonii*, *S. verrucosum* (Приложение)¹. Мы также произвели идентификацию генов CLE у примитивного культурного картофеля *S. stenotomum* и дикого вида *S. pinnatisectum*, однако недостаточное качество сборок не позволило внести эти гены в дальнейший анализ.

Для каждого вида картофеля было найдено разное количество генов CLE – от 40 до 43 (см. таблицу). Это связано в первую очередь с различным уровнем сборок. Так, геном *S. verrucosum* представлен в базе данных в виде протяженных скэффолдов, тогда как для *S. curtilobum* это сборка на уровне контигов, в результате чего некоторые гены CLE не взяты в анализ в связи с обрывом контига и невозможностью проанализировать всю последовательность гена. Гомологи большинства ранее идентифицированных нами генов CLE *S. phureja* (*SphCLE*) (Gancheva et al., 2021) были обнаружены у всех видов картофеля, взятых в анализ. В то же время ген, названный нами *CLE42*, не найден в геноме *S. phureja*, хотя присутствует у всех остальных изученных нами видов картофеля.

Анализируя аминокислотные последовательности (АКП) отдельных белков CLE у разных видов картофеля, мы обнаружили их высокое сходство между собой (78–98 % идентичных АК) (рис. 2), причем присутствуют как полностью идентичные АКП белков (например, АКП CLE39 у шести из восьми проанализированных видов идентичны), так и варианты, когда идентичных АКП среди видов нет (CLE3, CLE16, CLE40). Тем не менее белки CLE у разных видов картофеля очень похожи между собой, и по полной последовательности белка отдельные CLE формируют группы, каждая из которых включает все

гомологи одного белка CLE у разных видов картофеля (рис. 3). Среди всех проанализированных видов картофеля у *S. commersonii* в белках CLE присутствует большее число уникальных АК, которых нет у других видов.

В составе молекул белков CLE выделяют три домена: сигнальный (СД), варибельный (ВД) и CLE-домен. CLE-домен является функциональной частью белка, которая наиболее консервативна, и замены в ней довольно редки. В остальных участках белка замены происходят намного чаще. Наибольший эффект от замен будет при их появлении в домене CLE, однако остальные части белка, такие как СД и ВД, тоже важны и играют роль в осуществлении функции пептида CLE. Они вовлечены в процессинг пептида CLE и могут таким образом влиять на наличие рабочего пептида в определенных клетках и тканях (Meng et al., 2010). Оказалось, что у разных видов картофеля АКП доменов CLE в пределах каждой группы, как правило, идентичны. В то же время нуклеотидные последовательности (НП) CLE-домена у белков одной группы часто различаются между видами. Так, белки группы CLE12, хоть имеют и идентичные АКП CLE-доменов, отличаются по НП соответствующих участков генов.

Несмотря на то что у *S. phureja* мы выявили 41 ген CLE, они кодируют всего 37 пептидов CLE (Gancheva et al., 2021). Связано это с тем, что АКП CLE доменов у некоторых белков идентичны (например, у CLE8 и CLE12). Однако у других видов картофеля найдено еще 20 доменов CLE, которых нет у *S. phureja*. Все эти домены имеют сходство с доменами CLE белков *S. phureja*, но отличаются от них на 1–4 АК (рис. 4).

Как упоминалось выше, у некоторых CLE белков одного вида растений домены CLE идентичны (например, у CLE41 и CLE44 резуховидки). У картофеля обнаружено 10 пар белков с идентичными CLE-доменами: идентичны по АКП зрелые пептиды в группах CLE10 и CLE38, CLE17 и CLE18, CLE25 и CLE34, CLE6 и CLE19, CLE8 и CLE12, но остальные части этих белков (за пределами CLE-домена) существенно различаются внутри каждой пары.

Некоторые CLE белки картофеля имеют сходную АКП, но их домены CLE не идентичны и различаются на одну или несколько АК (например, CLE32 и CLE35, CLE26 и CLE27). Интересно, что некоторые белки группируются по-разному в зависимости от того, что сравнивается –

¹ Приложение см. по адресу: <http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2021-25/appx12.pdf>

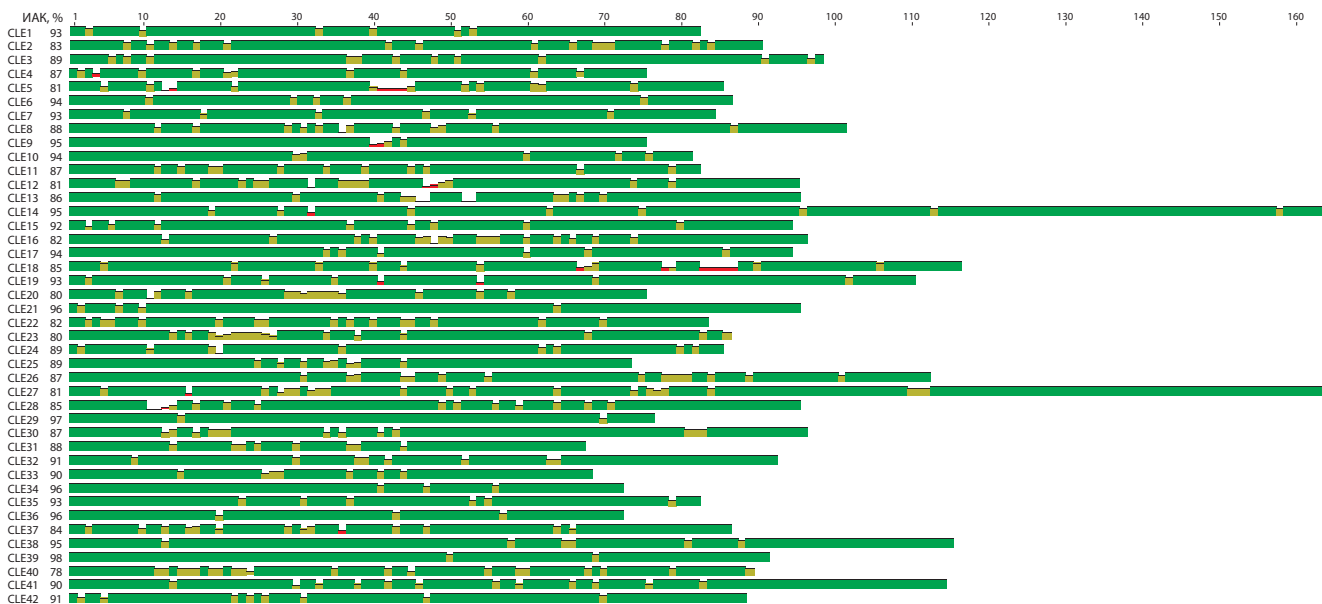


Рис. 2. Консенсусные последовательности белков CLE у восьми видов картофеля.

ИАК – идентичные АК, %.

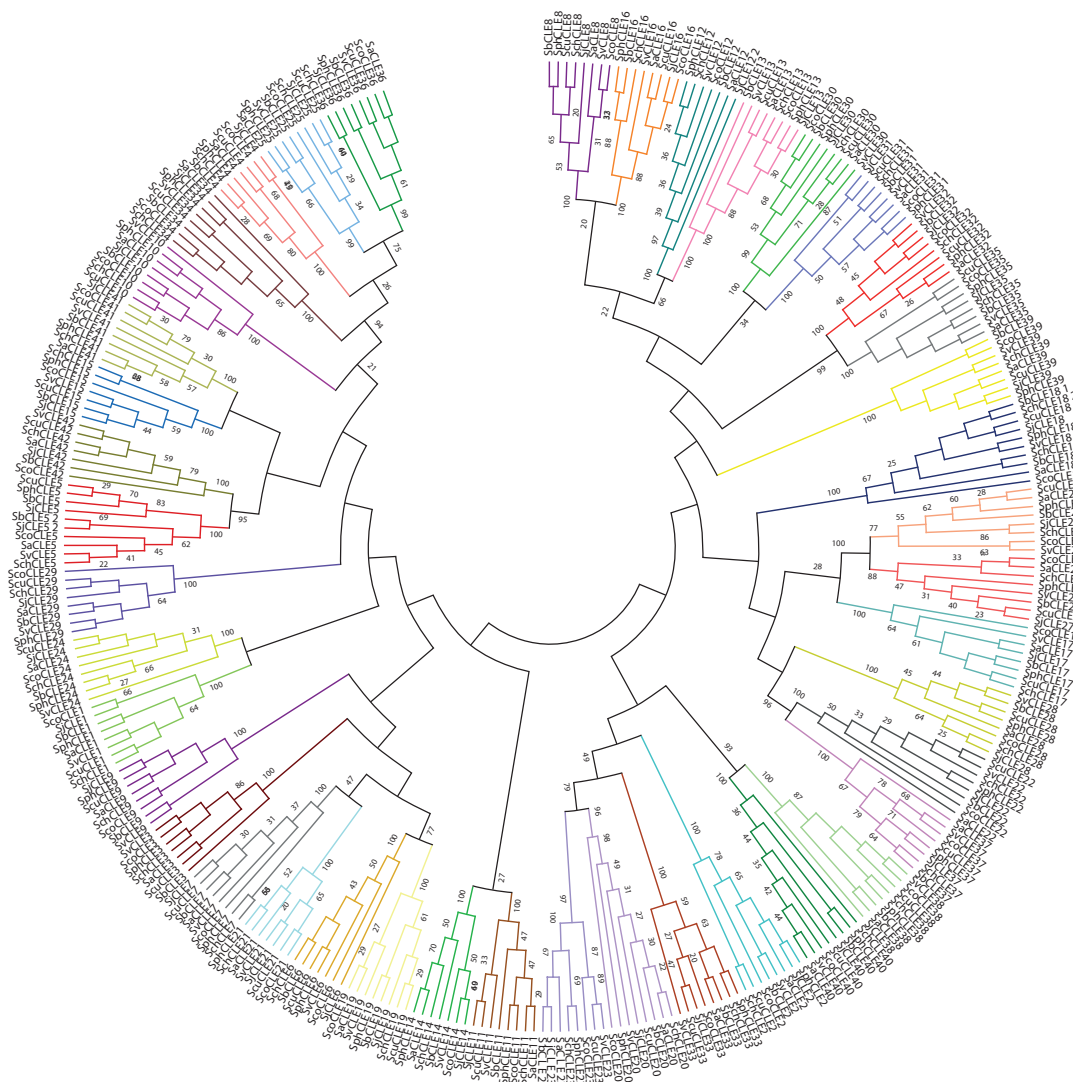


Рис. 3. Филогенетическое дерево белков CLE картофеля.

CLE-домен или оставшаяся часть белка. Так, по CLE-домену CLE37 ближе к CLE31 (отличаются на 1 АК), однако по остальной части белка CLE37 объединяется вместе с CLE22. То же самое происходит у CLE25 и CLE34: они имеют одинаковые CLE-домены, но их последовательности вне домена различаются, и по ним CLE34 группируется вместе с CLE36, а не CLE25. Иногда такая ситуация имеет место в пределах только одного вида картофеля: к примеру, CLE-домен *ScuCLE4* всего на 1 АК отличается от CLE25 (в то время как у остальных видов картофеля CLE-домены белков CLE4 отличаются на 2 АК от CLE25), притом часть вне домена определенно является CLE4. Очевидно, различия по последовательности CLE-домена (и, следовательно, зрелого пептида) должны приводить к функциональным различиям таких белков, несмотря на большое сходство их АКП. Сходные по АКП, но различающиеся по CLE-домену белки CLE имеются и у других видов растений (например, CLE41 и CLE42 или CLE25 и CLE26 резуховидки). Считается, что их гены могли возникнуть в результате дупликаций с последующими мутациями в последовательности CLE-домена, приведшими к появлению новых функций (Yaginuma et al., 2011; Takahashi et al., 2018). Действительно, некоторые гены *CLE* у картофеля дублированы, и их последовательности очень слабо отличаются друг от друга. Так, у всех видов картофеля, взятых в анализ, дублированы гены *CLE26* и *CLE2*. В ряде случаев у таких дублированных генов имеются замены в последовательности домена CLE, что ведет к появлению уникального пептида (например, *SvCLE2-2*). Тем не менее, в связи с высоким уровнем сходства, такие гены не учитываются в таблице.

В некоторых случаях домен CLE некоторых CLE белков идентичен у нескольких видов картофеля и отличается от CLE-доменов тех же белков у других видов. Так, у белков CLE26 *S. juzepczukii* и *S. chaucha* во втором положении CLE-домена находится I, тогда как у прочих видов – L; у белков CLE11 *S. verrucosum*, *S. curtilobum* и *S. juzepczukii* в положении 5 CLE-домена стоит E, тогда как у других видов – Q (см. рис. 4). Наибольшее число уникальных доменов CLE, отличающихся от таковых у всех прочих видов картофеля, было найдено у *S. verrucosum*, *S. commersonii* и *S. juzepczukii*.

Более крупные межвидовые различия по АКП белков CLE касаются последовательностей вне домена CLE. Например, среди генов группы *CLE8* выделяется *SvCLE8*, у которого есть три дополнительных нуклеотида в варибельном домене (ВД), что делает белок на 1 АК длиннее. У белков CLE18 *S. verrucosum*, *S. commersonii*, *S. bukasovii*, *S. chaucha* и *S. juzepczukii* в ВД присутствует участок длиной 5 АК, в то время как у CLE18 других видов такого участка нет; при этом у *S. bukasovii* и *S. chaucha* есть по два гена *CLE18*, кодирующих белки как с участком, так и без него (рис. 5). Сходная ситуация имеет место для

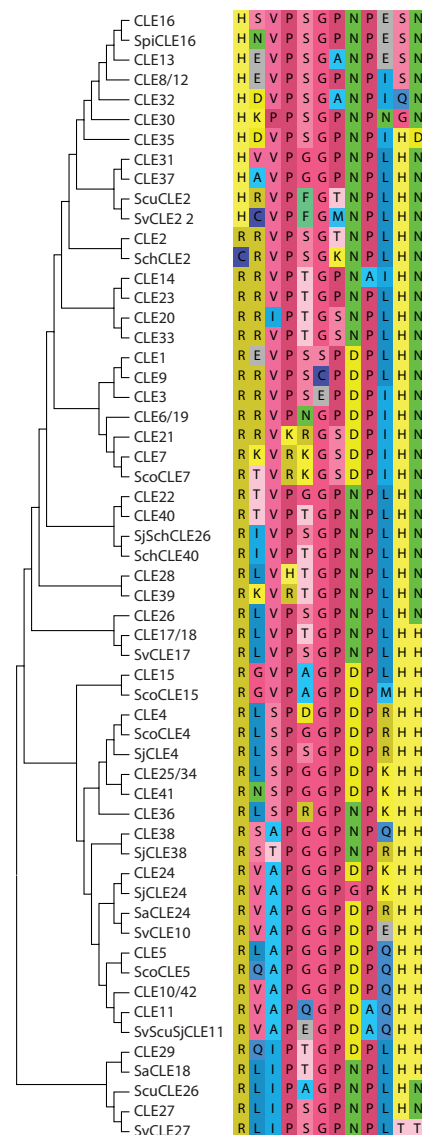


Рис. 4. Дерево и выравнивание уникальных пептидов CLE картофеля.

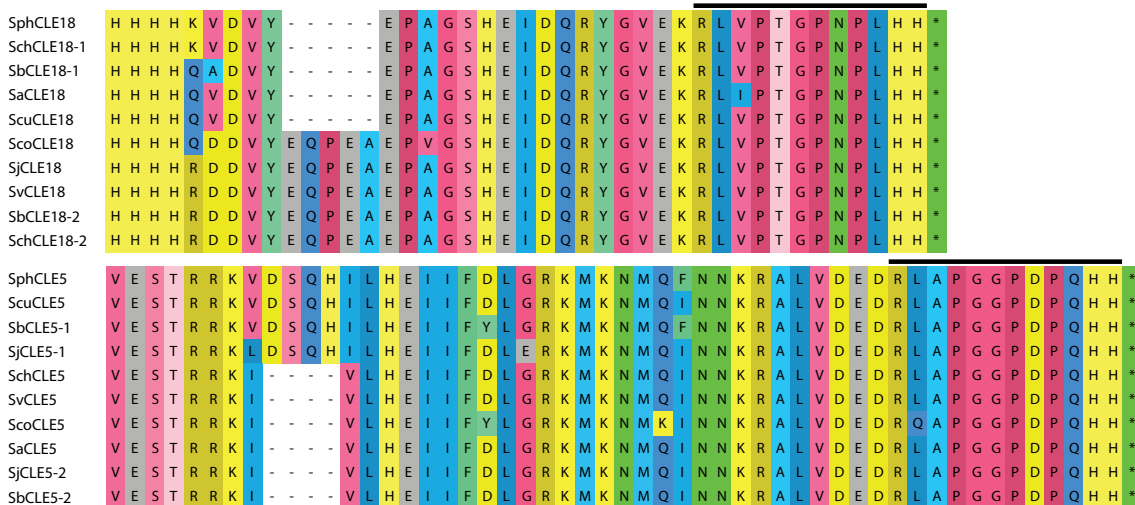


Рис. 5. Фрагменты выравниваний белков CLE18 и CLE5. Черной линией выделен CLE-домен.

белка CLE5: участок в 4 АК в ВД присутствует у *S. phureja*, *S. curtilobum*, *S. juzepczukii*, *S. bukasovii*, но отсутствует у *S. chaucha*, *S. verrucosum*, *S. ajanhuiri*, *S. commersonii*, тогда как у *S. bukasovii* и *S. juzepczukii* имеется по два гена CLE5, кодирующих белки как без этого участка, так и с ним (см. рис. 5). Иногда такие крупные отличия по АКП белков CLE наблюдаются только в пределах одного вида. Так, у белка SvCLE30, в отличие от CLE30 других видов картофеля, в ВД отсутствуют 3 АК; в ВД ScoCLE20 отсутствует участок в 8 АК, а его сигнальный домен (СД) удлинён на 1 АК. У *S. juzepczukii* найдены два гена *CLE12*, один из которых кодирует белок, отличающийся от CLE12 других видов тем, что начало его СД удлинено на 6 АК, при этом в ВД отсутствуют 3 АК.

Итак, анализ последовательностей генов и белков CLE у проанализированных нами видов картофеля выявил полиморфизм по разным участкам белков CLE, несущим разную функциональную нагрузку. Такой полиморфизм может сказываться на функционировании пептидов CLE; касаются изменения самого домена CLE, из которого образуется собственно пептид CLE, или последовательностей вне его, которые могут влиять на процессинг белка CLE. Вместе с тем точные данные о функциональном различии белков CLE у видов картофеля могут быть получены только при более детальном анализе функций каждого из них. Например, в опытах по сверхэкспрессии соответствующих генов или обработке растений синтетическими пептидами. Наше исследование может послужить заделом в этой области.

Обсуждение

Нами проведены поиск и анализ генов, кодирующих белки CLE, у разных видов картофеля: диких и примитивных культурных. Из 332 выявленных генов *CLE* мы обнаружили 57 генов, кодирующих уникальные пептиды CLE. Всего выявлено 42 гена, которые присутствуют почти у всех проанализированных видов картофеля, при этом есть гены как очень похожие между собой у разных видов, так и имеющие значительные межвидовые различия. Так, в генах *S. commersonii* предположительно происходило наибольшее количество уникальных замен, что привело к серьезным отличиям его белков CLE от таковых у прочих видов картофеля. Этот дикий вид картофеля характеризуется и иным местом произрастания – вне ареалов культурных видов картофеля, и, скорее всего, не входит в число предков культурного картофеля (Юзепчук, Букасов, 1929).

Некоторые выявленные различия в последовательностях белков CLE уникальны для определенного вида картофеля, а некоторые касаются нескольких видов картофеля. Особенно интересны белки CLE5 и CLE18, которые выделяются наличием или отсутствием участка в 4–5 АК. И есть виды картофеля, у которых присутствуют оба варианта белка (см. рис. 4), что может быть связано с естественной гибридизацией картофеля (Hawkes, 1990).

У некоторых видов картофеля происходила замены в домене CLE, которые могли повлиять на функции соответствующих пептидов. Так, известно, что отличие на 1 АК в домене CLE у *A. thaliana* приводит к тому, что один пептид (CLE25) участвует в ответе на нехватку воды, а второй (CLE26) – нет (Takahashi et al., 2018). Уникальные

пептиды, появившиеся у единичных видов картофеля в связи с отличиями в домене CLE, могут выполнять иные функции либо вовсе потерять функциональность. Кроме того, изменения в последовательности вне домена CLE могут сказаться на функционировании пептида CLE, и у разных видов картофеля есть изменения, коснувшиеся варибельного или сигнального доменов, что также могло повлиять на работу пептидов. В то же время сходство последовательностей разных CLE может говорить об их общем происхождении. Наличие дублированных генов, таких как *CLE2-2*, у которых происходят замены в последовательности домена CLE и которые в дальнейшем могут приводить к появлению новых генов, подтверждает это предположение.

Заключение

Таким образом, мы обнаружили, что белки CLE у разных видов картофеля чаще всего очень похожи друг на друга, но имеют и отличия, которые могли повлиять на их функционирование. Дальнейшее изучение белков CLE позволит выявить их роль в развитии картофеля.

Список литературы / References

- Ганчева М.С., Маловичко Ю.В., Полошкевич Л.О., Додуева И.Е., Лутова Л.А. Пептидные гормоны растений. *Физиология растений*. 2019;66(2):83-103. DOI 10.1134/S001533031901007X.
- [Gancheva M.S., Malovichko Y.V., Poliushkevich L.O., Dodueva I.E., Lutova L.A. Plant peptide hormones. *Russ. J. Plant Physiol.* 2019;66:171-189. DOI 10.1134/S1021443719010072.]
- Лехнович В.С. Культурные виды картофеля. В: Культурная Флора СССР. Т. 9. Картофель. Л., 1971;41-304.
- [Lekhnovich V.S. Cultivated Potato Species. In: Flora of Cultivated Plants of the USSR. Vol. 9. Potato. Leningrad, 1971;41-304. (in Russian)]
- Полошкевич Л.О., Ганчева М.С., Додуева И.Е., Лутова Л.А. Рецепторы пептидов CLE у растений. *Физиология растений*. 2020; 67(1):1-17. DOI 10.1134/S0015330320010285.
- [Poliushkevich L.O., Gancheva M.S., Dodueva I.E., Lutova L.A. Receptors of CLE peptides in plants. *Russ. J. Plant Physiol.* 2020; 67(1):1-16. DOI 10.1134/S1021443720010288.]
- Творогова В.Е., Красноперова Е.Ю., Кудряшов А.А., Поценковская Э.А., Додуева И.Е., Лутова Л.А. Что могут рассказать белки WOX? Обзор мишеней, регуляторов, партнеров. *Молекулярная биология*. 2021;55(3):362-391. DOI 10.31857/S0026898421030174.
- [Tvorogova V.E., Krasnoperova E.Y., Potsenkovskaia E.A., Kudriashov A.A., Dodueva I.E., Lutova L.A. What does the WOX say? Review of regulators, targets, partners. *Mol. Biol.* 2021. DOI 10.1134/S002689332102031X.]
- Юзепчук С.В., Букасов С.М. К вопросу о происхождении картофеля. В: Труды Всесоюз. съезда по генетике, селекции и семеноводству. Л., 1929;3:593-611.
- [Juzepczuk S.W., Bukasov S.M. A contribution to the question of the origin of the potato. In: Proceedings of the USSR Congress of Genetics, Plant and Animal Breeding. Leningrad, 1929;3:593-611. (in Russian)]
- Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 1990;215(3):403-410. DOI 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.
- Clark S.E., Running M.P., Meyerowitz E.M. CLAVATA3 is a specific regulator of shoot and floral meristem development affecting the same processes as CLAVATA1. *Development*. 1995;121(7):2057-2067. DOI 10.1242/dev.121.7.2057.
- Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*. 1985;39(4):783-791. DOI 10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x.

- Fletcher J.C. Recent advances in Arabidopsis CLE peptide signaling. *Trends Plant Sci.* 2020;25(10):1005-1016. DOI 10.1016/j.tplants.2020.04.014.
- Gancheva M., Dodueva I., Lebedeva M., Lutova L. *CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION (CLE)* gene family in potato (*Solanum tuberosum* L.): identification and expression analysis. *Agronomy.* 2021;11(5):984. DOI 10.3390/agronomy11050984.
- Goad D.M., Zhu C., Kellogg E.A. Comprehensive identification and clustering of CLV3/ESR-related (CLE) genes in plants finds groups with potentially shared function. *New Phytol.* 2017;216(2):605-616. DOI 10.1111/nph.14348.
- Hawkes J.G. The Potato: Evolution, Biodiversity and Genetic Resources. Belhaven Press., 1990.
- Hawkes J.G., Hjerting J.P. The Potatoes of Argentina, Brazil, Paraguay and Uruguay. A biosystematic study. Oxford, 1969.
- Huamán Z., Ross R.W. Updated listing of potato species names, abbreviations and taxonomic status. *Am. J. Potato Res.* 1985;62(11):629-641. DOI 10.1007/BF02854438.
- Jun J., Fiume E., Roeder A.H., Meng L., Sharma V.K., Osmont K.S., Baker C., Ha C.M., Meyerowitz E.M., Feldman L.J., Fletcher J.C. Comprehensive analysis of *CLE* polypeptide signaling gene expression and overexpression activity in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 2010;154(4):1721-1736. DOI 10.1104/pp.110.163683.
- Kinoshita A., Nakamura Y., Sasaki E., Kyozuka J., Fukuda H., Sawa S. Gain-of-function phenotypes of chemically synthetic CLAVATA3/ESR-related (CLE) peptides in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*. *Plant Cell Physiol.* 2007;48(12):1821-1825. DOI 10.1093/pcp/pcm154.
- Kondo T., Sawa S., Kinoshita A., Mizuno S., Kakimoto T., Fukuda H., Sakagami Y. A plant peptide encoded by CLV3 identified by *in situ* MALDI-TOF MS analysis. *Science.* 2006;313(5788):845-848. DOI 10.1126/science.1128439.
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016;33(7):1870-1874. DOI 10.1093/molbev/msw054.
- Li Y., Colleoni C., Zhang J., Liang Q., Hu Y., Ruess H., Simon R., Liu Y., Liu H., Yu G., Schmitt E., Ponitzki C., Liu G., Huang H., Zhan F., Chen L., Huang Y., Spooner D., Huang B. Genomic analyses yield markers for identifying agronomically important genes in potato. *Mol. Plant.* 2018;11(3):473-484. DOI 10.1016/j.molp.2018.01.009.
- Meng L., Ruth K.C., Fletcher J.C., Feldman L. The roles of different CLE domains in Arabidopsis CLE polypeptide activity and functional specificity. *Mol. Plant.* 2010;3(4):760-772. DOI 10.1093/mp/ssp021.
- Ni J., Guo Y., Jin H., Hartsell J., Clark S.E. Characterization of a CLE processing activity. *Plant Mol. Biol.* 2011;75(1-2):67-75. DOI 10.1007/s11103-010-9708-2.
- Oelkers K., Goffard N., Weiller G.F., Gresshoff P.M., Mathesius U., Frickey T. Bioinformatic analysis of the CLE signaling peptide family. *BMC Plant Biol.* 2008;8:1. DOI 10.1186/1471-2229-8-1.
- Opsahl-Ferstad H.-G., Deunff E.L., Dumas C., Rogowski P.M. *ZmEsr*, a novel endosperm-specific gene expressed in a restricted region around the maize embryo. *Plant J.* 1997;12:235-246. DOI 10.1046/j.1365-313X.1997.12010235.x.
- Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 1987;4(4):406-425. DOI 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454.
- Sharma V.K., Ramirez J., Fletcher J.C. The Arabidopsis CLV3-like (CLE) genes are expressed in diverse tissues and encode secreted proteins. *Plant Mol. Biol.* 2003;51(3):415-425. DOI 10.1023/a:1022038932376.
- Spooner D.M., Ghislain M., Simon R., Jansky S.H., Gavrilenko T. Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes. *Bot. Rev.* 2014;80(4):283-383. DOI 10.1007/s12229-014-9146-y.
- Strabala T.J., O'Donnell P.J., Smit A.M., Ampomah-Dwamena C., Martin E.J., Netzler N., Nieuwenhuizen N.J., Quinn B.D., Foote H.C., Hudson K.R. Gain-of-function phenotypes of many CLAVATA3/ESR genes, including four new family members, correlate with tandem variations in the conserved CLAVATA3/ESR domain. *Plant Physiol.* 2006;140(4):1331-1344. DOI 10.1104/pp.105.075515.
- Strabala T.J., Phillips L., West M., Stanbra L. Bioinformatic and phylogenetic analysis of the CLAVATA3/EMBRYO-SURROUNDING REGION (CLE) and the CLE-LIKE signal peptide genes in the Pinophyta. *BMC Plant Biol.* 2014;14:47. DOI 10.1186/1471-2229-14-47.
- Takahashi F., Suzuki T., Osakabe Y., Betsuyaku S., Kondo Y., Dohmae N., Fukuda H., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. A small peptide modulates stomatal control via abscisic acid in long-distance signalling. *Nature.* 2018;556(7700):235-238. DOI 10.1038/s41586-018-0009-2.
- Yaginuma H., Hirakawa Y., Kondo Y., Ohashi-Ito K., Fukuda H. A novel function of TDIF-related peptides: promotion of axillary bud formation. *Plant Cell Physiol.* 2011;52(8):1354-1364. DOI 10.1093/pcp/pcr081.
- Yamaguchi Y.L., Ishida T., Sawa S. CLE peptides and their signaling pathways in plant development. *J. Exp. Bot.* 2016;67(16):4813-4826. DOI 10.1093/jxb/erw208.
- Zhang Y., Yang S., Song Y., Wang J. Genome-wide characterization, expression and functional analysis of CLV3/ESR gene family in tomato. *BMC Genom.* 2014;15(1):827. DOI 10.1186/1471-2164-15-827.

ORCID ID

M.S. Gancheva orcid.org/0000-0002-9631-6143
M.R. Losev orcid.org/0000-0003-0968-8684
A.A. Gurina orcid.org/0000-0002-1791-3063
L.O. Polushkevich orcid.org/0000-0003-2896-1893
I.E. Dodueva orcid.org/0000-0001-5282-718X
L.A. Lutova orcid.org/0000-0001-6125-0757

Благодарности. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 20-316-80004.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 14.05.2021. После доработки 16.07.2021. Принята к публикации 16.07.2021.