

УДК 577.214.5:575.174.015.3

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДИВЕРСИФИКАЦИЯ *SEPALLATA*-ГЕНОВ *TM5* И *RIN* У ВИДОВ ТОМАТА СЕКЦИИ *LYCOPERSICON*

© 2020 г. М. А. Слугина^{1,*}, Е. А. Дьяченко¹, Е. З. Кочиева^{1,2}, А. В. Щенникова¹

Представлено академиком РАН В.О. Поповым

Поступило 06.03.2020 г.

После доработки 17.03.2020 г.

Принято к публикации 19.03.2020 г.

Идентифицированы новые гомологи гена *TOMATO MADS 5 (TM5)* у красноплодных, эволюционно молодых, и дикорастущих зеленоплодных, более древних, видов томата. Показана филогенетическая принадлежность гомологов *TM5* к кластеру *SEPALLATA3* и охарактеризована диверсификация подсемейства *SEP*. Впервые определены профили экспрессии гомологов *TM5*, а также их ко-экспрессии с геном *RIN* в цветках, незрелых плодах и спелых плодах *Solanum lycopersicum* и пяти дикорастущих видов томата. Показано, что, независимо от вида, в цветках уровень транскрипции *TM5* выше, чем *RIN*, а в плодах – ниже, чем *RIN*. Полученные данные предполагают совместное участие *TM5* с другими факторами транскрипции *RIN* и *SLCMB1* в регуляции развития и созревания плода.

Ключевые слова: MADS-факторы транскрипции, репродуктивное развитие томата, созревание сочного плода, дикорастущие виды томата, диверсификация клады *SEPALLATA*

DOI: 10.31857/S2686738920030191

К одной из главных причин разнообразия растений относят дубликацию, диверсификацию и неофункционализацию регуляторных генов, большинство которых выполняет более чем одну функцию в развитии организма [1–3]. Плейотропность считается адаптивным ограничением, которое препятствует эволюционным изменениям уже выработанного оптимального фенотипа [3]. С другой стороны, специфичная для признака функция может развиваться даже в высокоплейотропных генах, то есть плейотропия может ускорять таксономическую дивергенцию видов [3].

В возникновении цветка и разнообразии его форм решающую роль отдают высокоплейотропным MADS-box генам транскрипционных факторов (ТФ), целое семейство которых образовалось в процессе эволюции в следующем порядке: *APETALA3 (AP3)/PISTILLATA (PI) → AGAMOUS (AG)/SHATTERPROOF (SHP)/SEEDSTICK (STK) →*

AG-Like 6 (AGL6)/AGL13 → SEPALLATA(SEP) → AP1/FRUITFULL (FUL) [2, 4]. После формирования определенных репродуктивных структур (цветки, шишки) возникла ветвь MADS-семейства, положившая начало семенным растениям – *AGL6/13*, самый последний общий предок которого существовал от 400 до 296 млн лет назад [2, 4]. Позже, дубликация и диверсификация генов *AGL6/13* привела к возникновению отсутствующих в геноме Голосеменных генов *SEP*, с чем сопряжено появление отдела Покрытосеменных, включая последовательное возникновение сухого и затем сочного плода, сопровождающееся прогрессивными морфологическими изменениями [1, 4].

Функции современных генов *AGL6/13* связаны с репродуктивным развитием растений. К примеру, ген *AGL13* модельного растения *Arabidopsis thaliana* участвует в контроле инициации цветения и идентичности мужских и женских гаметофитов [5]. Произшедшие от *AGL6/13*-предшественника гены *SEP* участвуют в спецификации клеток всех органов цветка, представляя Е-активность в общепринятой генетической модели развития цветка ABCDE [4–6]. Группа *SEP* высших растений включает четыре вида гомологов (*SEP1*, *SEP2*, *SEP3* и *SEP4*), среди которых наиболее важным считается *SEP3*, играющий ключевую

¹ Институт биоинженерии Федерального исследовательского центра “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, Россия

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*e-mail: mashinmail@mail.ru

Таблица 1. Характеристики гомологов генов *SEP* у видов томата

Вид	Сорт/номер ВИР	Ген, п. н.	Белок, а. о.	Координаты гена (NCBI GenBank)
<i>TM5</i>				
<i>S. lycopersicum</i>	cv. Heinz	6105	241	NC_015442.3:11897272-11903607. Chromosome 5 (11897316..11903420)*
<i>S. pimpinellifolium</i>	ВИР 1018	6111	241	MT157228
<i>S. chilense</i>	ВИР 4300	6155	241	MT157230
<i>S. corneliomulleri</i>	ВИР 4367	6163	241	MT157231
<i>S. peruvianum</i>	ВИР 4361	6167	241	MT157229
<i>S. arcanum</i>	LA2157	6057	241	CBYQ010007652.1:3937-9993
<i>S. habrochaites</i>	LYC4	5667	241	CBYS010020555.1:8333-13999
<i>S. pennellii</i>	LA0716	6014	241	HG975444.1:13146693-13152706
<i>RIN</i>				
<i>S. lycopersicum</i>	cv. Heinz	5288	242	NC_015442.3:5225417-5230937 Chromosome 5 (5225633..5230920)*
<i>S. arcanum</i>	LA2157	5582	242	CBYQ010009972.1:20809-21105
<i>S. habrochaites</i>	LYC4	5589	242	CBYS010023633.1:20000-29875
<i>S. pennellii</i>	LA0716	5451	242	CCXL01022058.1:212-7800
<i>SLCMB1</i>				
<i>S. lycopersicum</i>	cv. Heinz	4843	238	NC_015441.3 (228275..233497, complement). Chromosome 4 (228418..233260)*
<i>S. arcanum</i>	LA2157	4808	238	CBYQ010004772.1:25329-30136
<i>S. habrochaites</i>	LYC4	4511	238	CBYS010015130.1:44500-49010
<i>S. pennellii</i>	LA0716	4765	238	CCXL01010766.1:3182-7946

Примечание: * Согласно *Solanum lycopersicum* cultivar Heinz SL3.0 (GCF_000188115.4) genome assembly

роль в формировании мультимерных комплексов MADS-ТФ [6].

Эволюционные изменения сочного плода хорошо отражены у растений секции *Lycopersicon*, объединяющей 13 видов томата – от древних зеленоплодных до эволюционно молодых красноплодных. Несмотря на высокую геномную синтению этих видов, их плоды имеют значительное расхождение в морфофизиологии и биохимии [7].

Целью настоящей работы стала оценка возможных корреляций между структурно-функциональной вариабельностью *SEP*-гомологов и эволюционной историей видов томата. Для этого были идентифицированы и сравнительно охарактеризованы новые гомологи гена *SEP3* – *ТОМАТО MADS 5 (TM5)*, у красноплодных и зеленоплодных видов томата.

Образцы культивируемого (*Solanum lycopersicum*) и дикорастущих (*Solanum pimpinellifolium*, *Solanum chmielewskii*, *Solanum peruvianum*, *Solanum chilense*, *Solanum corneliomulleri*, *Solanum neorickii*, *Solanum arcanum* и *Solanum habrochaites*) видов томата выращивали в условиях теплицы. Геномную ДНК выделяли из свежесобранных листьев ана-

лизируемых видов. На основе известной последовательности гена *TM5* (синонимы – *TDR5*, *LeSEP3*, *LeMADS5*; NCBI-GeneID: 543885) *S. lycopersicum* были разработаны праймеры MADS5F/MADS5R (табл. 2) для ПЦР-амплификации полноразмерных генов, гомологичных *TM5*, на геномной ДНК анализируемых дикорастущих видов. Фрагменты ожидаемой длины клонировали (pGEM-T Easy, Promega, США) и секвенировали (ABI 310 Capillary DNA Analyzer, Applied Biosystems, США). Сравнительные выравнивания и филогенетический анализ проводили с использованием программ MEGA 6.0 и 7.0 (www.megasoftware.net). Консервативные домены и мотивы в белках определяли с помощью NCBI-CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>) и MEME 5.1.0 (<http://meme-suite.org/tools/meme>). На основе полученных последовательностей подбирали пары праймеров для секвенирования и экспрессионного анализа гомологов *TM5* методом количественной ПЦР в реальном времени (РВ-ПЦР) (табл. 2). Для анализа экспрессии другого *SEP*-гена *RIPENING INHIBITOR (RIN)*; NCBI-GeneID: 543708) *S. lycopersicum* использо-

Таблица 2. Праймеры, используемые в работе

Ген	Праймер	Последовательность (5' → 3')	Назначение праймера
<i>TM5</i>	MADS5F	TCATATAATACGAAATACCCTAGG	Аmplification и секвенирование гена
	MADS5R	TTATGATGATAGGAAAACCATGAGC	
	SPLi1F	CACTGTTTCATTTCATCAATATAG	
	SPL1R	TATATTCGGTTCAGGTGCTCC	
	SPLi2R	GGAGAACACATCATAATAGG	
	SPLi2F	CTCATAATAACTCGTAATTTAGG	
	SPLi2R2	CTTCATCATATTATGTTCCAC	
	SPLi2F2	CTTCTTTGAACTCTACTTAC	
	SPL3R	CTGTGATCGCTGCAATG	
	SPL3F	TAGCCAGCAGGAGTAC	
	SPL7R	TTCACAATCCAAAGGATG	
	SPL7F	AGTTGATGGAAGGAAGCCAAC	
	MADS5rtF	GCCAAATGCACAAGATGTGGG	
	MADS5rtR	CCAGCCATGTAGTTATTCACAC	
<i>RIN</i>	MADS-RINrtF	AAACATCATGGCATTGTGGTGAGC	PB-ПЦР
	MADS-RINrtR*	AGGTACAACCTCCAGTAGCATCATG	
<i>Expressed**</i>	ExpressedF	GCTAAGAACGCTGGACCTAATG	
	ExpressedR	TGGGTGTGCCTTTCTGAATG	
<i>ACTIN2**</i>	Qactin2/7for	CATTGTGCTCAGTGGTGGTTC	
	Qactin2/7rev	TCTGCTGGAAGGTGCTAAGTG	

Источник: * [8]; ** [9].

вали праймеры MADS-RINrtF/MADS-RINrtR ([8]; табл. 2).

Из тканей листьев, корней, цветков (на стадии антезиса) и плодов (2 стадии развития – незрелые и зрелые) образцов шести видов томата (*S. lycopersicum*, *S. peruvianum*, *S. chmielewskii*, *S. neorickii*, *S. arcanum* и *S. habrochaites*) выделяли препараты суммарной РНК (RNeasy Plant Mini Kit, Qiagen, ФРГ). Незрелые и зрелые плоды соответствовали стадиям развития Mature Green (твердый плод, достигший финальных размеров, но имеющий зеленую окраску) и Red Ripe (мягкий плод, достигший биологической спелости и имеющий красную окраску в случае *S. lycopersicum* и остающийся зеленым у всех других анализируемых видов). На их основе синтезировали пробы кДНК (GoScript, Promega, США) для определения профилей экспрессии гомологов генов *TM5* и *RIN*. РВ-ПЦР проводили в двух биологических и трех технических повторах (“Реакционная смесь для проведения РВ-ПЦР в присутствии SYBR Green I и ROX”, ЗАО “Синтол”, РФ) в следующих условиях: 95°C – 5 мин; 40 циклов (95°C – 15 с, 60°C – 50 с). Для нормализации экспрессии генов использовали референсные гены *Expressed* [8] и *ACTIN2* [9]. Статистическую обработку результатов проводили в GraphPadPrism v. 7.02 (<https://www.graphpad.com>).

В результате проведенной работы были клонированы и секвенированы полноразмерные гены, гомологичные *TM5*, у дикорастущих видов томата *S. chilense*, *S. corneliomulleri*, *S. pimpinellifolium* и *S. peruvianum*. Кроме того, *in silico* (база данных WGS NCBI) были идентифицированы последовательности гомологов *TM5* в геномах еще трех дикорастущих видов томата *S. arcanum*, *S. habrochaites* и *Solanum pennellii* (табл. 1). Идентифицированные гомологи гена *TM5* видов томата различались по длине (от 5667 п.н. у *S. habrochaites* до 6167 п.н. у *S. peruvianum*) и характеризовались вариабельностью 10.91% (688 SNPs). Тем не менее, все они содержали по 8 экзонов и кодировали белки одинакового размера (241 а.о.). Было показано, что, как и все известные MADS-ТФ МКС-типа, идентифицированные гомологи *TM5* содержат консервативные домены MADS и К, соединяющую их I-область и вариабельный C-конец. В сравнении с *TM5 S. lycopersicum* гомологи *TM5* дикорастущих видов имеют шесть замещений а.о. – K9M, E68G, R172G, Q178R, T196A и V225A, первые пять из которых были найдены у зеленоплодных видов, а последнее – у красноплодных *S. lycopersicum* и *S. pimpinellifolium*. Согласно PROVEAN (<http://provean.jcvi.org/index.php>), три замещения (K9M, E68G и R172G) являются радикальными, все они характерны для

зеленоплодных видов и расположены в домене MADS и в конце К-домена и могут влиять на пространственную структуру и способность белков димеризоваться и взаимодействовать с регуляторными последовательностями ДНК.

Для определения филогении SEP-гомологов томата были использованы последовательности SEP-белков модельного вида *A. thaliana* (клада Superrosids), видов Superasterids (Пасленовые и Астровые), а также SEP-предшественников из AP3- и AGL6-подсемейств в качестве внешней группы. На дендрограмме (рис. 1) SEP-подсемейство делится на два основных кластера с общим предшественником: (1) наиболее древний SEP1/2/3, где SEP3-кластер включает анализируемые гомологи TM5; (2) SEP4/JOINTLESS-2 (J2), состоящего из двух субкластеров J2 и SEP4, где последний дивергировал на субкластеры SLCMB1 и RIN.

MEME-анализ аминокислотных последовательностей SEP-гомологов определил консервативные мотивы, которые характерны для: (1) всех анализируемых MADS-белков MIKC-типа SEP- и AGL6-кластеров – соответствуют консервативным доменам MADS (m7, m1, m3) и K (m2, m4) и междоменной области I (m9), внешний белок AP3 содержит только m7, m1 и m2; (2) TM5- и SEP1/2-белков видов томата и других Пасленовых и RIN-белков видов томата (m8); (3) RIN-белков Пасленовых и AGL6 томата (m15); (4) всех SEP-белков (m5, m6); (5) SEP3-белков сложноцветных (m16; присутствует также у AP3); (6) TM5/SEP3-белков видов томата и других Пасленовых (m18); (7) SEP1/2-белков видов томата и других Superasterids (m17); (8) клады AGL6 (m14); (9) AstSEP3-белков и SEP1/2 *A. thaliana* (m19; локализован в разных частях данных двух групп белков) (рис. 1). Внутри клад встречаются некоторые различия MEME-профиля, однако все они являются либо следствием структурных расхождений изоформ одного и того же белка (например, две изоформы белка RIN), либо результатом неполной/неправильной сборки последовательности (например, отсутствует MADS-домен у белка SEP3 *Petunia x hybrida*) (рис. 1). MEME-профили С-конца анализируемых белков (у AGL6-группы – m14, у остальных – m5) демонстрировали высокую степень консерватизма. Сравнение вручную помогло найти в С-области дополнительные консервативные мотивы: ‘TM5/SEP3’ – NYMA(L)GWLP; ‘RIN/SLCMB1/SEP4’ – GV(I/F)V(L/F)PGWML(V); ‘TM5/SEP3’/‘SIAGL6/AGL6’ – EPT(D)LQIGY(Q)/E(D)PV(F)LQIGY(F/H). Таким образом, были выявлены отличия первичной структуры TM5(SEP3)-гомологов от других представителей SEP-подсемейства и от предшественников (группа AGL6). Эти отличия сосредоточены в самой вариабельной для MIKC-белков С-области (мотив m18 в самом начале С-домена (175–182 а.о.) и

два ‘TM5/SEP3’-мотива на С-конце С-домена). Они могут определять специфичность функции TM5, включая его участие в мультимерных транскрипционных комплексах.

Для изучения возможной функциональной диверсификации SEP3- и SEP4-гомологов томата были определены профили экспрессии гена *TM5* в сравнении с наиболее эволюционно молодым геном *RIN* у красноплодного *S. lycopersicum* и зеленоплодных *S. chmielewskii*, *S. peruvianum*, *S. neorickii*, *S. arcanum* и *S. habrochaites*. Анализ, проведенный на тканях *S. lycopersicum* показал отсутствие транскриптов *TM5* и *RIN* в корнях и листьях. В связи с этим для анализа экспрессии генов у дикорастущих видов были использованы ткани только цветков и плодов (две стадии развития). Было показано, что у всех исследуемых образцов оба гена экспрессируются и в цветках, и в плодах с наивысшим уровнем транскрипции у *S. habrochaites* и минимальным – у *S. lycopersicum* (рис. 2б, в). При этом в сравнении с *RIN* уровень экспрессии *TM5* в цветках выше, а в плодах ниже (рис. 2в). Сопоставление с данными по красноплодному виду показало, что в цветке зеленоплодных видов уровень экспрессии *TM5* существенно (более чем в 2 раза) ниже, а в незрелых плодах – выше. В зрелом плоде уровень экспрессии *TM5* снижался по отношению к незрелому (рис. 2а). Исключение составили зрелые плоды *S. habrochaites* и *S. neorickii*, что можно объяснить трудностью определения стадии зрелости у зеленоплодных видов: не по окраске, а по размеру и степени мягкости.

Секция *Lycopersicon* рода *Solanum* является моделью для изучения регуляторных генов репродуктивного развития, так как виды, которые она объединяет (*S. lycopersicum* и 12 его дикорастущих сородичей), различаются по морфофизиологии и биохимии зрелых плодов. Более древние виды формируют зеленые плоды, которые накапливают сахарозу и хлорофиллы, тогда как более молодые виды имеют желтые/оранжевые/красные плоды, которые накапливают глюкозу, фруктозу и каротиноиды [6].

В данной работе у видов секции были идентифицированы гомологи гена *TM5* (табл. 1), которые, согласно полученной дендрограмме (рис. 1), произошли в результате дупликации и диверсификации общего с генами *RIN/SLCMB1* предшественника. Учитывая общность происхождения, плейотропные функции *TM5* (гомолог *SEP3*) и *RIN/SLCMB1* (гомолог *SEP4*) должны быть похожи. Известно, что гомологи ТФ SEP3 являются ключевыми участниками спецификации цветковых органов трех внутренних кругов, а также терминации развития цветка [10]. Действительно, отсутствие транскрипции *TM5* приводит к увеличению размеров цветковой меристемы томата с

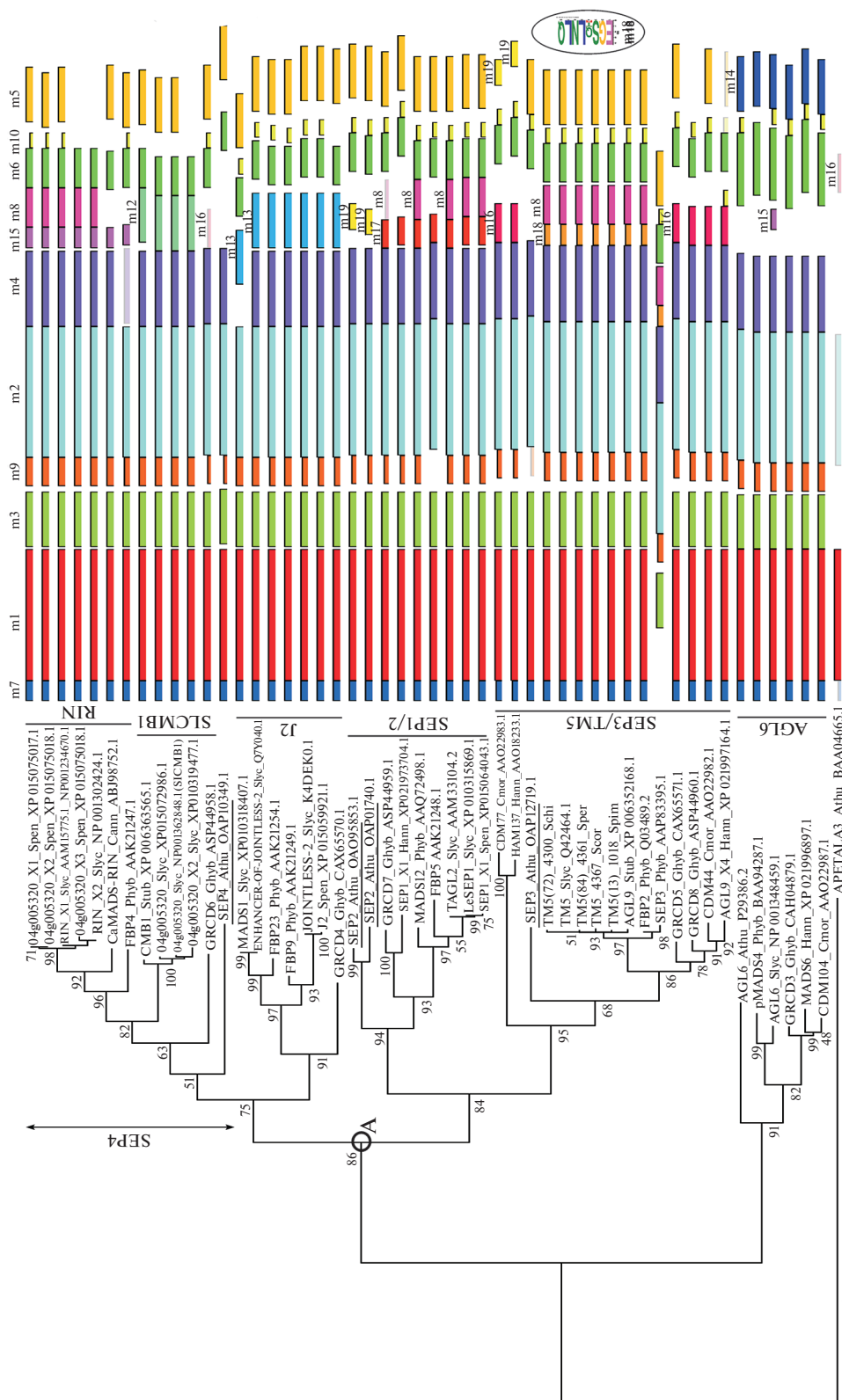


Рис. 1. Филогенетическая классификация и структурный анализ 51 последовательности белков, включая гомологи MADS-ТФ подсемейств SEP и AGL6 видов томата. Дендрограмма (слева) построена методом максимального правдоподобия (модель JTT; G+G; программа MEGA 6.0). Существенные значения бутстрэп указаны в основании ветвей. A (Ancestor) — общий предшественник подклад SEP. Профили консервативных мотивов в последовательностях анализируемых белков (справа от дендрограммы) определены с помощью MEME 5.1.0. Последовательность мотива m18, уникальная для TMS-белков видов томата и других Пасленовых, приведена справа от MEME-профилей. Рядом с каждым названием белка приведен номер доступа в NCBI и вид растения: Slyc — *Solanum lycopersicum* L.; Spen — *Solanum peruvianum* L.; Scor — *Solanum cornelium* J.F. Macbr.; Spen — *Solanum pennellii* Correll; Schi — *Solanum chilense* (Dunal) Reiche; Spim — *Solanum pimpinellifolium* (L.) Mill.; Stub — *Solanum tuberosum* L.; Phyb — *Petunia x hybrida* hort. ex E. Vilm.; Cmor — *Chrysanthemum x morifolium* Ramat.; Ghyb — *Gerbera hybrid* cultivar; Hann — *Helianthus annuus* L.; Athu — *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

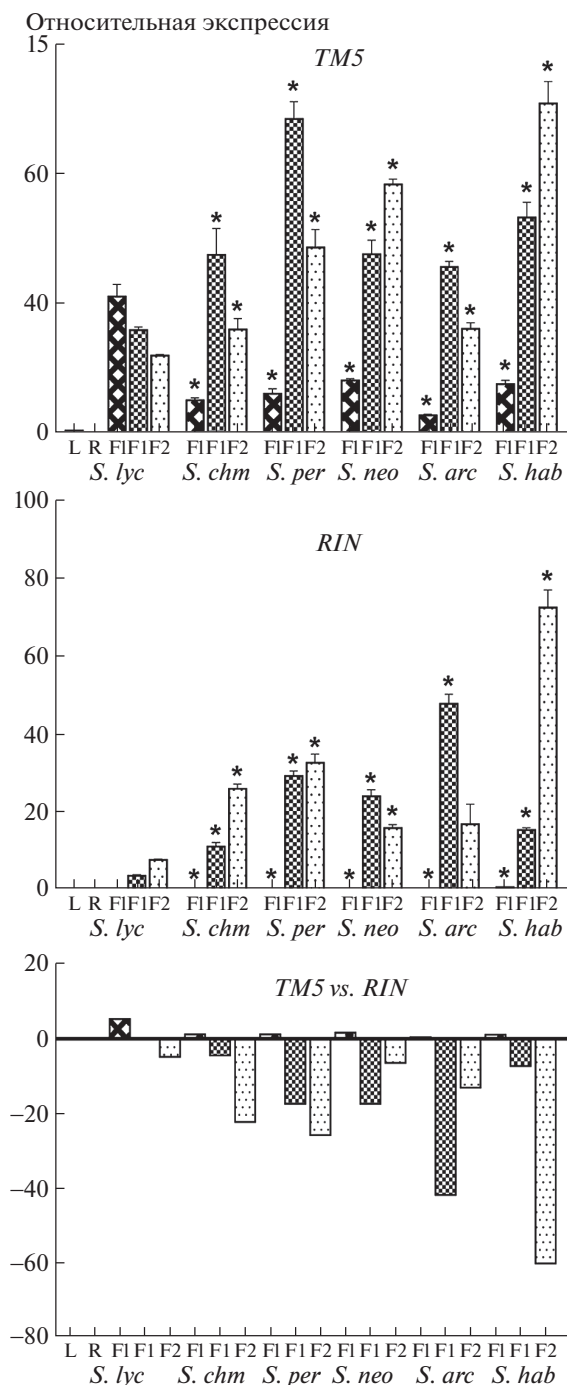


Рис. 2. Профиль относительной экспрессии гомологов генов *TM5* и *RIN*, а также значения *TM5* vs. *RIN* в тканях корня (R), листа (L), цветка (F1), незрелого плода (F1) и зрелого плода (F2) *S. lycopersicum* (*S. lyc*), *S. chmielewskii* (*S. chm*), *S. peruvianum* (*S. per*), *S. neorickii* (*S. neo*), *S. arcanum* (*S. arc*) и *S. habrochaites* (*S. hab*). Звездочками обозначены статистически значимые различия в уровне экспрессии генов между красноплодным *S. lycopersicum* и зеленоплодными видами ($p < 0.0001$). Дополнительные цифры над звездочками означают меньшую достоверность значимости различий: 1 ($p < 0.05$); 2 ($p < 0.01$); 3 ($p < 0.001$). Значения '*TM5* vs. *RIN*' определяли как разницу между средними значениями относительной экспрессии *TM5* и *RIN*.

нарушением идентичности и количества лепестков, тычинок и плодolistиков [11, 12]. Этому соответствует и наблюдаемая нами обратная корреляция между уровнем экспрессии *TM5* и размером цветка исследуемых видов: экспрессия гена в цветках зеленоплодных видов ниже, чем у *S. lycopersicum* (рис. 2а), цветок которого меньше в сравнении с цветками дикорастущих видов томата [13]. Фактор транскрипции *SEP4* участвует в определении идентичности цветковой меристемы и всех органов цветка [6]. А его гомологи *RIN* и *SLCMB1* осуществляют контроль биосинтеза этилена и каротиноидов в процессе созревания и смены окраски плода *S. lycopersicum* [14]. Все три ТФ—*TM5*, *RIN* и *SLCMB1*, способны взаимодействовать с одним и тем же базовым набором белковых партнеров, однако *TM5*, в отличие от *RIN/SLCMB1*, не взаимодействует с *MADS*-ТФ клад *AP1/FUL* и *SEP* [10].

Это снижает вероятность участия *TM5* в процессе созревания плода. Тем не менее, в плоде (и зреющем, и спелом) зарегистрирована значительная экспрессия гена *TM5* (рис. 2а), и это можно объяснить тем, что *TM5* является одной из мишеней ТФ *RIN* [15]. Данный факт допускает возможность совместного, взаимодополняющего участия всех трех генов в регуляции разных аспектов развития плода — от инициации плодolistиков/завязи до стадии биологической спелости плода. Более того, отметим, что уровень экспрессии *TM5* и *RIN* в незрелых плодах у зеленоплодных видов выше по сравнению с красноплодным *S. lycopersicum* (рис. 2). Это позволяет предположить, что вариабельность структуры и экспрессии гомологов генов *TM5*, *RIN* и *SLCMB1* в совокупности может быть связана с прогрессирующими эволюционными изменениями характеристик сочного плода у видов томата.

Таким образом, в данной работе были идентифицированы гомологи гена *TM5* видов томата — древних зеленоплодных и эволюционно более молодых красноплодных, и охарактеризована их диверсификация с другими генами подсемейства *SEP*. Полученные данные свидетельствуют о консервативности структуры и функций *TM5* по отношению к известным гомологам *SEP3*. В дополнение к этому предполагается участие *TM5* в регуляции развития и созревания плода совместно с *RIN* и *SLCMB1*, а также наличие ко-эволюции гена *TM5* с размерами цветка и генов *TM5*, *RIN* и *SLCMB1* с морфофизиологическими и биохимическими признаками плода видов томата.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 19-76-00006) и, частично, Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Дьяченко Е.А., Щенникова А.В., Кочие-

ва Е.З.), с использованием экспериментальной установки искусственного климата (Институт биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tifney B.H. // Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 2004. V. 35. P. 1–29.
2. Theissen G., Becker A., Di Rosa A., et al. // Plant Mol. Biol. 2000. V. 42. P. 115–149.
3. Donohue K. // Mol. Ecol. 2019. V. 28. № 5. P. 917–919.
4. Shen G., Yang C. H., Shen C.Y., Huang K.S. // Biol. Res. 2019. V. 52. № 1. Article 25.
5. Hsu W.H., Yeh T.J., Huang K.Y., et al. // Plant J. 2014. V. 77. № 1. P. 1–15.
6. Immink R.G., Tonaco I.A., de Folter S., et al. // Genome Biol. 2009. V. 10. № 2. Article R24.
7. Peralta I.E., Spooner D.M., Knapp S. // Syst. Bot. Monogr. 2008. V. 84. P. 1–186.
8. Liu D.D., Zhou L.J., Fang M.J., et al. // Sci. Rep. 2016. V. 6. Article 31806.
9. González-Aguilera K.L., Saad C.F., Chávez Montes R.A., et al. // Front. Plant Sci. 2016. V. 7. Article 1386.
10. Pelaz S., Tapia-Lopez R., Alvarez-Buylla E.R., Yanofsky M.F. // Curr. Biol. 2001. V. 11. P. 182–184.
11. Pnueli L., Hareven D., Broday L., et al. // Plant Cell. 1994. V. 6. № 2. P. 175–186.
12. Pnueli L., Abu-Abaid M., Zamir D., et al. // Plant J. 1991. V. 1. № 2. P. 255–266.
13. Filyushin M.A., Slugina M.A., Dzhos E.A., et al. // Dokl. Biochem. Biophys. 2018. V. 478. № 1. P. 50–54.
14. Li S., Chen K., Grierson D. // New Phytol. 2019. V. 221. № 4. P. 1724–1741.
15. Li S., Xu H., Ju Z., et al. // Plant Physiol. 2018. V. 176. № 1. P. 891–909.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL DIVERSIFICATION OF *SEPALLATA* GENES *TM5* AND *RIN* IN TOMATO SPECIES (SECTION LYCOPERSICON)

M. A. Slugina^{a, #}, E. A. Dyachenko^a, E. Z. Kochieva^{a, b}, and A. V. Shchennikova^a

^a Institute of Bioengineering, Research Centre of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

^b Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

[#]e-mail: mashinmail@mail.ru

Presented by Academician of the RAS V.O. Popov

New *TOMATO MADS 5 (TM5)* homologous genes have been identified in evolutionarily recent, red-fruited and more ancient, wild green-fruited tomato species. It was shown that identified *TM5* homologs belong to the *SEP3* clade, thus, *SEP* subfamily diversification was characterized. For the first time, the *TM5* and *RIN* co-expression pattern was determined in flowers, immature green fruits and ripe fruits of *Solanum lycopersicum* and five wild tomato species. It was shown that, regardless of species, in flowers, the level of *TM5* transcription was higher than that of *RIN*, but in fruits, it was lower than *RIN* transcription. The data obtained suggest that *TM5* together with other transcription factors *RIN* and *SLCMB1* are involved in the regulation of fruit development and ripening.

Keywords: MADS-domain transcription factors, tomato reproductive development, fleshy fruit ripening, wild tomato species, *SEPALLATA* clade diversification