

УДК 577.24

Пептиды EPFL в регуляции развития и стрессовых ответов у растений

А. Д. Майборода¹, А. А. Макеева¹, Р. А. Азаркина¹, А. С. Барашкова^{1,2}, А. С. Мамаева^{1*}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, 117997 Россия

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений», Санкт-Петербург, Пушкин, 196608 Россия

*E-mail: AnnetteSt@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.04.2025

Принята к печати 01.07.2025

DOI: 10.32607/actanaturae.27675

РЕФЕРАТ Цистеин-богатые пептиды семейства EPF/EPFL (epidermal patterning factor/epidermal patterning factor-like) распространены у растений, начиная со мхов и заканчивая покрытосеменными. EPF/EPFL играют важную роль в морфогенезе – регулируют расположение устьиц, развитие соцветий, функционирование апикальной и латеральной побеговых меристем, закладку проводящих тканей, формирование края листа, а также развитие цветков и плодов. Недавние исследования показали, что EPFL могут быть вовлечены в адаптацию растений к биотическим и абиотическим стрессам. В обзоре рассмотрены структура, механизмы передачи сигнала, филогенетическое распространение и функции пептидов семейства EPF/EPFL.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА регуляторные пептиды растений, цистеин-богатые пептиды, EPF/EPFL.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ EPF – epidermal patterning factor; EPFL – epidermal patterning factor-like; АБК – абсцизовая кислота; МАП – митоген-активируемая протеинкиназа; МДА – малоновый диальдегид; МКМ – материнская клетка мегаспоры.

ВВЕДЕНИЕ

Растения, ведущие прикрепленный образ жизни, адаптируются к изменениям окружающей среды с помощью гибкой системы регуляции физиологических процессов. Важную роль в адаптации играют сигнальные пептиды, контролирующие широкий спектр реакций, включая рост и развитие, половое размножение, межклеточную коммуникацию, старение, формирование симбиотических взаимодействий, а также устойчивость к патогенам и абиотическим стрессам [1, 2]. Первый растительный регуляторный пептид – системин – выделили в 1991 году из листьев томата [3]. С тех пор было описано множество семейств пептидов, образующихся либо путем процессинга белков-предшественников, либо в результате трансляции коротких открытых рамок [1, 4].

Пептиды, происходящие из белков-предшественников, делятся на три функционально и структурно различающиеся группы: посттрансляционно модифицированные [5], цистеин-богатые и немодифицированные, не содержащие остатков цистеина [6, 7]. Цистеин-богатые пептиды содержат четное число остатков цистеина, формирующих дисульфидные

связи, которые обеспечивают стабильность пространственной структуры. Среди представителей этой группы первыми были обнаружены и описаны антимикробные пептиды [8]. Первоначально считалось, что функции цистеин-богатых пептидов ограничены защитой от патогенов [4, 9], однако впоследствии показали, что функции, выполняемые цистеин-богатыми пептидами, гораздо шире и включают регуляцию закладки устьиц, симбиоза, репродуктивных процессов и стрессового ответа [10–12].

Цистеин-богатые пептиды EPF/EPFL были впервые идентифицированы как ключевые регуляторы устьичного развития у *Arabidopsis thaliana* [10, 13–15]. В дальнейшем установили, что эти пептиды участвуют в контроле активности апикальной побеговой меристемы, развитии соцветий и адаптации к стрессам. Несмотря на растущий объем экспериментальных данных, до сих пор отсутствуют систематизированные обзоры, суммирующие информацию об этом семействе. В представленной работе обобщены данные о пептидах EPF/EPFL, включая их структуру, эволюционное разнообразие и биологические функции.

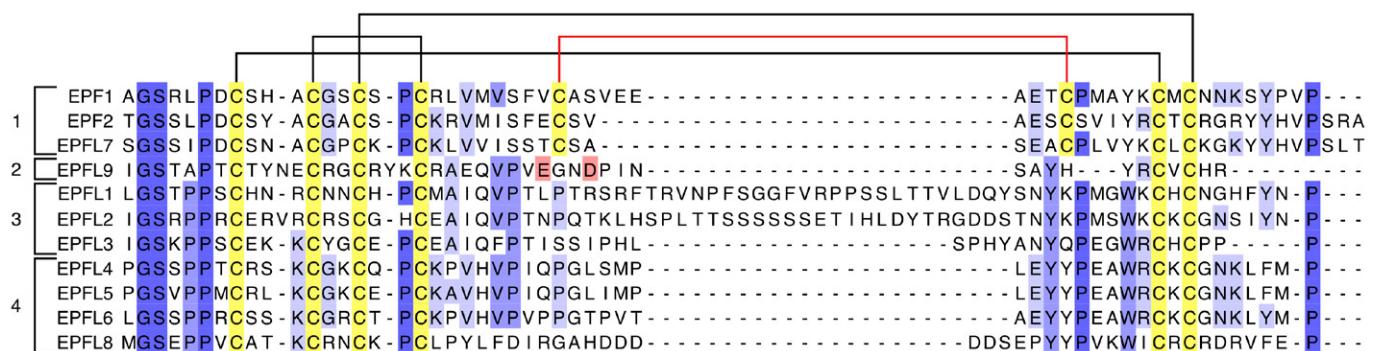


Рис. 1. Множественное выравнивание зрелых пептидов семейства EPF/EPFL *A. thaliana*, полученное при помощи алгоритма Muscle. 1–4 – клады пептидов; аминокислотные остатки Cys отмечены желтым цветом. Три консервативные дисульфидные связи выделены черными скобками, четвертая дисульфидная связь, характерная для клады EPF1/EPF2/EPFL7, показана красным. Аминокислотные остатки Glu28 и Asp31 в EPFL9 выделены розовым. UniProt ID: EPF1: Q8S8I4; EPF2: Q8LC53; EPFL7: C4B8C5; EPFL9: Q9SV72; EPFL1: Q9LFT5; EPFL2: Q9T068; EPFL3: C4B8C4; EPFL4: Q2V3I3; EPFL5: Q9LUH9; EPFL6: Q1PEY6; EPFL8: Q1G3V9

СТРОЕНИЕ И ПЕРЕДАЧА СИГНАЛА

К цистеин-богатым пептидам растений, которые условно можно разделить на защитные (антибиотические) и сигнальные, относится ряд семейств, включая EPF/EPFL [16]. Наиболее детально изучена структура защитных пептидов: проведен ЯМР-анализ многих из них, определены структурные детерминанты антибиотической активности [17, 18]. Структурные особенности сигнальных цистеин-богатых растительных пептидов, включая семейство EPF/EPFL, изучены не столь глубоко, однако определена первичная и пространственная структура пептида EPFL9, выделенного из апопласта *A. thaliana* [19, 20]. Более того, получены данные о структурных аспектах связывания ряда пептидов этого семейства с рецептором [21]. У *A. thaliana*, классического модельного объекта, на котором активнее всего проходит изучение этого семейства, выявлено 11 пептидов – EPF1–2 и EPFL1–9, включая EPFL9/Stomagen [22]. Первыми были охарактеризованы EPF1–2, а затем паралоги EPF1, в дальнейшем названные EPFL [23]. В результате филогенетического анализа пептиды семейства EPF/EPFL были разделены на четыре клады (рис. 1). Представители двух из них, EPF1–EPF2/EPFL7 и EPFL9, изучены наиболее подробно.

Как и большинство пептидных гормонов и антибиотических пептидов растений, пептиды семейства EPF/EPFL синтезируются в виде белков-предшественников, состоящих из N-концевого сигнального пептида, про-домена и зрелого пептида (рис. 2A) [24]. Сигнальный пептид направляет предшественник в эндоплазматический ретикулум, после чего отщепляется пептидазами и разрушается. Затем удаляется про-область и высвобождается зрелая форма пептида, способная взаимодействовать с рецепторными комплексами [25].

Первичная структура пептидов семейства EPF/EPFL обогащена остатками цистеина, из которых шесть консервативны для всего семейства, а два характерны только для клады EPF1/EPF2/EPFL7 (рис. 1). Все пептиды семейства содержат мотив

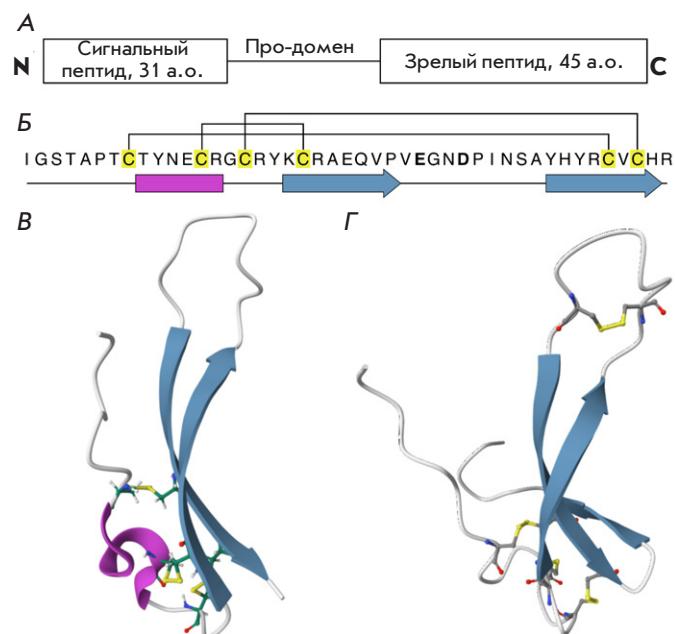


Рис. 2. Структура пептида EPFL9. А – структура пропептида [20]. Б – первичная структура пептида [19]. β -листы показаны голубыми стрелками, фрагмент спирали 3_{10} – розовый прямоугольник; остатки Cys отмечены желтым, дисульфидные связи – скобками. Отрицательно заряженные Glu28 и Asp31 в петлевой области выделены жирным. В – пространственная структура EPFL9 (PDB ID: 2LIY). Г – модель пространственной структуры пептида EPFL7 *A. thaliana*, построенная с помощью алгоритма AlphaFold3 [26]

Gly-Ser в N-концевой области. Известно, что этот мотив критичен для связывания пептидов с рецепторами [21]. Также в N-концевой области присутствует консервативный остаток Pro. Вероятно, что, изгиная полипептидную цепь, этот остаток обеспечивает пространственную конформацию пептида.

По данным ЯМР-спектроскопии, полученным для EPFL9, трехмерная структура EPF/EPFL-пептидов состоит из двух антипараллельных β -листов (скаффолда), соединенных петлевой областью (loop region), и стабилизированного дисульфидными связями (рис. 2B). Петлевая область более вариабельна, чем скаффолд, она играет ключевую роль в специфичности связывания с рецепторами [19]. Пространственные структуры остальных представителей семейства были получены путем гомологичного моделирования.

Консервативные остатки цистеина участвуют в образовании дисульфидных связей, количество и расположение которых влияет на функциональную активность и конформацию пептида. Так, замена остатков цистеина на серин в молекуле EPFL9 приводила к утрате способности стимулировать за кладку устьиц [19]. С другой стороны, вариабельные участки могут определять специфичность функции пептидов. Например, пептиды EPF1–2 являются негативными регуляторами развития устьиц, тогда как EPFL9 выступает в роли позитивного регулятора [20]. По-видимому, различие в физиологических ответах обусловлено особенностями строения петлевой области у этих пептидов [21].

Так, замена аминокислот петлевой области EPF2 на последовательность EPFL9 приводила к смене функции пептида с ингибирования формирования устьиц на их активное развитие. В то же время химерный пептид, содержащий петлю EPF2 и каркас EPFL9, обладал ингибирующими действием [19]. Рецепторами EPFL является семейство киназ ERECTA (ERf, ERECTA family), относящихся к кладе XIII LRR-RLK (Leucine-rich repeat receptor-like kinases, рецептороподобные киназы с лейцин-богатыми повторами). У *Arabidopsis* к этому семейству относятся белки ERECTA (ER), ERECTA-LIKE 1 (ERL1) и ERECTA-LIKE 2 (ERL2). Дальнейший путь передачи сигнала включает МАП-киназный (митоген-активируемая протеинкиназа) каскад, состоящий у арабидопсиса из MAPKKK YODA, MKK4/5 и терминальных MPK3/6 [27]. Взаимодействие пептидов с рецептором зависит от того, находится ли рецептор в комплексе с LRR-RLP (рецептороподобный белок с лейцин-богатыми повторами) ТММ (Too Many Mouth). Интересно, что для связывания EPF1/2 с рецепторами ERf необходимо, чтобы ERf входили в комплекс с ТММ,

тогда как EPFL4 взаимодействует со всеми тремя ERf в отсутствие ТММ [21].

ФИЛОГЕНИЯ. РАСПРОСТРАНЕНИЕ У РАСТЕНИЙ

Пептиды EPF и EPFL обнаружены только у наземных растений и не найдены у водорослей [28, 29]. Это указывает на появление этого семейства лишь после выхода растений на сушу и, возможно, на важную роль в их адаптации к наземной жизни. Предполагается, что ключевые генетические компоненты, обеспечивающие формирование устьичного аппарата, включая EPF/EPFL, возникли на ранних этапах эволюции наземных растений [30].

Последовательности пептидов консервативны у разных таксонов: у мха *Physcomitrium patens* идентифицирован *PpEPF1*, являющийся гомологом *AtEPF1* и *AtEPF2*. Филогенетический анализ показывает, что *PpEPF1* ближе к *AtEPF1* и *AtEPF2*, чем *AtEPFL9* к *AtEPF1–2* [28]. Это довольно интересно, так как устьица у мхов устроены иначе, чем у цветковых, но механизм их развития, судя по всему, сходен [31, 32]. Помимо *PpEPF1*, у мха также идентифицированы 10 пептидов семейства EPFL, функции которых пока не изучены [28]. При этом уже у цветковых растений гены, кодирующие представителей семейства EPF/EPFL, распределены по хромосомам неравномерно, что может быть результатом дупликации генов [33, 34].

Филогенетически семейство этих пептидов у арабидопсиса разделяют на четыре клады: EPF1–EPF2–EPFL7, EPFL9, EPFL1–3 и EPFL4–6–EPFL8 (рис. 1) [28, 34]. Эти группы различаются как по структуре, так и по предполагаемым функциям. Так, представители клады EPF1–EPF2–EPFL7 несут четыре консервативные дисульфидные связи, одна из которых находится в петлевой области, в то время как в структуре пептидов остальных клад присутствует три дисульфидных мостика. Это отражается на способности пептидов связываться с рецепторными комплексами [21, 28].

Пептид EPFL9 представлен у всех исследованных сосудистых растений, начиная с плаунов (*Selaginella moellendorffii*), голосеменных и вплоть до цветковых [28]. При этом он отсутствует у мха *P. patens*, у которого найдены только гомологи EPF1/EPF2. Интересно, что появление EPFL9, который является активатором развития устьиц, совпадает с резким увеличением плотности устьиц на поверхности листьев, произошедшем в позднем девонском периоде, которое дает начало активному развитию макрофиллов – крупных листьев с развитой сосудистой системой [28, 35].

В последние годы количество секвенированных растительных геномов увеличивается, что значи-

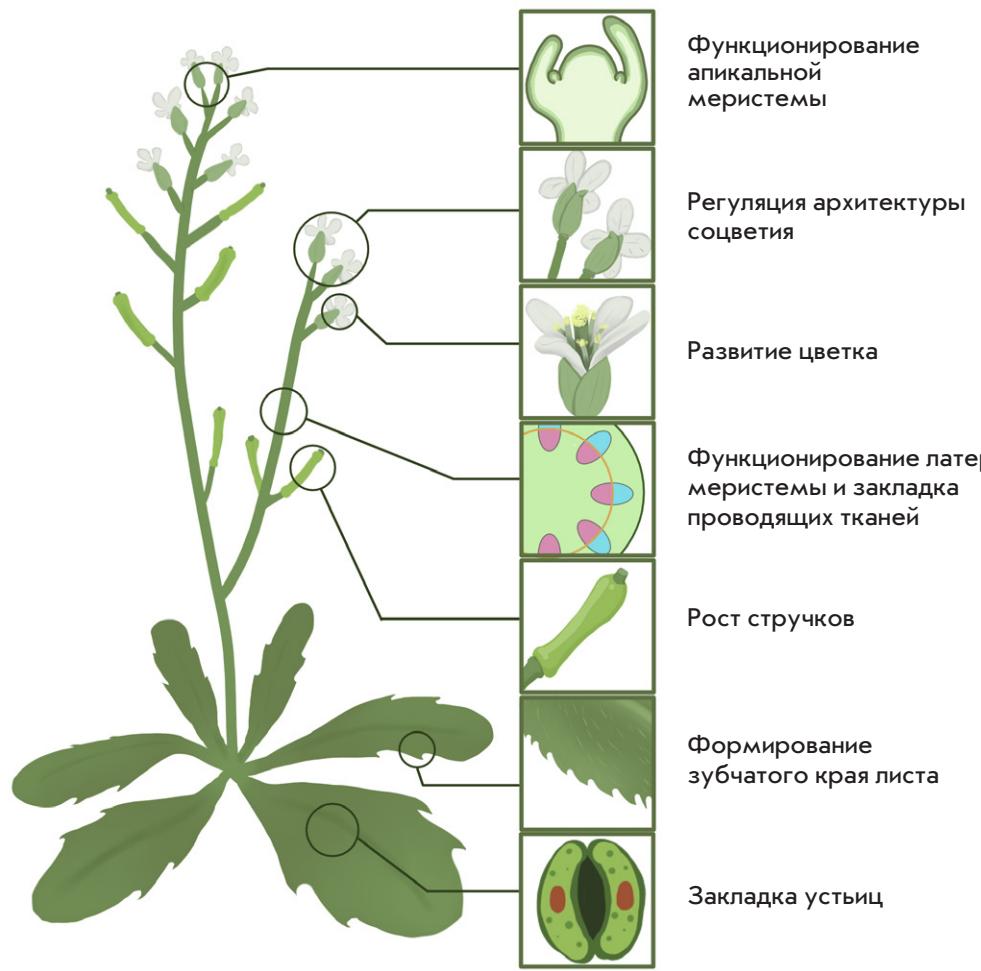


Рис. 3. Морфогенетические процессы, регулируемые пептидами семейства EPF/EPFL, у арабидопсиса

тельно облегчает поиск и дальнейшую валидацию гомологов. Таким образом, биоинформационическими методами были проанализированы геномы большого количества сельскохозяйственных цветковых растений. В четырех геномах хлопчатника обнаружили 132 гена EPF/EPFL: 20 и 24 у диплоидных видов и по 44 гена у тетраплоидных [34]. В растениях картофеля идентифицировали 14 генов [36], рапса – 27 [37]. У тополя волосистого *Populus trichocarpa* идентифицировано 15 генов EPF/EPFL [38], тогда как у тополя евфратского *P. euphratica* – 14 [33]. Гены EPFL обнаружены и у однодольных растений: у риса, сорго и ржи идентифицировано по 12 генов [39–41], у кукурузы – 18 [42], а у пшеницы 35 [43]. Широкое распространение представителей семейства EPF/EPFL в разных линиях эволюции цветковых и других растений подчеркивает их значение в адаптации к наземным условиям обитания, тогда как функции многих недавно идентифицированных гомологов остаются неясными и требуют дальнейшего экспериментального изучения.

ЗАКЛАДКА УСТЬИЦ

Известно, что пептиды семейства EPF/EPFL регулируют целый спектр морфогенетических программ, однако первой выявленной функцией этих пептидов стала регуляция расположения устьиц (рис. 3, табл. 1) [10].

У арабидопсиса *EPF1* экспрессируется в молодых листьях, а именно в клетках-предшественниках устьиц. Сверхэкспрессия *EPF1* приводит к снижению количества устьиц, тогда как нокаут приводит к его увеличению и кластеризации [10]. Гомолог *EPF1*, *EPF2* также ингибирует развитие устьиц: у растений со сверхэкспрессией гена *EPF2* наблюдается снижение, а у растений с нокаутом – увеличение числа устьиц, однако они не образуют кластеры [13]. Оба пептида необходимы для соблюдения «правила одной клетки»: между устьицами должно находиться не менее одной клетки эпидермиса [10, 13, 14]. *EPF2* экспрессируется в предшественниках устьиц раньше, чем *EPF1*. То есть, *EPF2* регулирует переход клеток к дифференцировке в устьица,

Таблица 1. Функции пептидов семейства EPF/EPFL у *A. thaliana*

Пептид	Функция	Ссылка
AtEPF1/2	Ингибирование формирования устьиц	[10, 13, 15, 23, 44]
AtEPFL9 (STOMAGEN)	Стимуляция образования устьиц	[11, 15, 44, 45]
	Удлинение стручка	[46]
AtEPFL2	Формирование зубчатого края листа	[47]
	Равномерная закладка семязачатков и увеличение их числа в стручке	[46]
AtEPFL1/2/4/6	Регуляция функционирования апикальной меристемы	[48–51]
	Повышение устойчивости к патогену	[52]
	Удлинение соцветий и цветоносков	[53]
	Формирование единственной материнской клетки мегаспоры	[54]
AtEPFL1–6	Обрастание нүцеллуса интегументами	[55]
AtEPFL4–6	Удлинение тычиночных нитей за счет стимуляции пролиферации клеток	[56, 57]

тогда как EPF1 контролирует дальнейшее развитие [10, 14, 15]. Пептид EPFL9, напротив, стимулирует развитие устьиц – сверхэкспрессия EPFL9 приводит к увеличению плотности устьиц и их кластеризации, тогда как сайленсинг ингибирует развитие устьиц [45]. Показано, что EPF2 и EPFL9 связываются с рецептором ER, при этом EPFL9 конкурентно вытесняет EPF2 из этого комплекса [44]. Пептиды EPF1/2 секрециируются клетками устьиц, связываются с ER и ERL1 и ингибируют дифференцировку устьиц, тогда как EPFL9 секрециируется клетками мезофилла, конкурирует с EPF2 за связывание с ER и стимулирует образование устьиц [15, 44]. Таким образом, EPF1/2 и EPFL9 действуют как антагонисты в контроле плотности устьиц [44].

Наиболее подробно роль EPF исследована на примере арабидопсиса, однако участие этих пептидов в регуляции развития устьиц показано и на других растениях. Например, сверхэкспрессия *PeEPF2* – полия, гомолога AtEPF2, в растениях арабидопсиса с нокаутом по гену AtEPF2, приводила к снижению плотности устьиц на листе, восстанавливая мутантный фенотип [33]. Ортологи EPFL, вовле-

ченные в регуляцию развития устьиц у арабидопсиса – AtEPF2 и AtEPFL9, обнаружены в геномах однодольных *Triticum aestivum* и *Brachypodium distachyon* [58]. Как и соответствующие пептиды у арабидопсиса, эти пептиды также оказывают противоположный эффект на развитие устьиц.

Показано, что модуль EPF/TMM/ERECTA является довольно древним регулятором развития устьиц – его компоненты контролируют расположение устьиц у первых наземных растений, в частности, у мха *P. patens* [59]. Устьица у *P. patens* образуются на спорофите, и *PpEPF1*, гомолог EPF1/2 арабидопсиса, негативно регулирует их развитие. Однако сверхэкспрессия *PpEPF1* не способна восстановить нормальную плотность устьиц мутантных по EPF2 растений арабидопсиса. В то же время у *P. patens* нет ортолога AtEPFL9 и сверхэкспрессия AtEPFL9 не влияет на плотность устьиц, что говорит о том, что конкурентная регуляция закладки устьиц появилась на более поздних этапах эволюции наземных растений [59].

Таким образом, пептиды EPFL – консервативные и довольно древние регуляторы развития устьиц у наземных растений.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АПИКАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЫ ПОБЕГА

Апикальная меристема побега является ключевой структурой, обеспечивающей рост надземных органов растения. Ее пространственная организация, размер и активность строго регулируются сетью сигнальных каскадов, важную роль в которых играют в том числе пептиды семейства EPF/EPFL.

У *A. thaliana* пептиды EPFL1, EPFL2, EPFL4 и EPFL6 экспрессируются преимущественно по периферии апикальной меристемы побега, а также в области границы между меристемой и закладывающимися листьями [48]. В то же время рецепторы ER, ERL1 и ERL2 активны в центральной зоне меристемы, что указывает на их участие в пространственной регуляции клеточного деления и дифференцировки меристемы. Мутанты по EPFL1/2/4/6, а также ERf имеют схожий фенотип: увеличение размеров меристемы, снижение числа листовых примордиев и уменьшение общей биомассы растений [48]. Эти данные подтверждают гипотезу о том, что пептиды EPFL и рецепторы ER демонстрируют функциональную избыточность в регуляции размера апикальной меристемы побега и инициации роста листьев [60].

У мутантов по гену EPFL2 наблюдаются нарушения симметрии и равномерности закладки органов, а также изменения числа ауксиновых максимумов в апикальной меристеме побега [49]. Это

согласуется и с результатами другого исследования, согласно которому у мутантов *epfl2* наблюдалось изменение количества максимумов ауксина, приводящее к изменению формы листьев и семядолей [50].

Кроме того, показано что обработка синтетическими пептидами EPFL4 и EPFL6 ограничивает латеральный рост меристемы, снижая экспрессию ключевых регуляторов апикальной меристемы – CLV3 (CLAVATA3) и WUS (WUSCHEL) – при участии рецепторов ERf [51]. Взаимодействие между этими пептидами и их рецепторами регулирует не только размер, но и границы меристемы, что способствует контролю за числом инициируемых органов и нормальным развитием растений.

Таким образом, EPFL играют важную роль в пространственно-временной регуляции активности апикальной меристемы побега.

РЕГУЛЯЦИЯ ЛАТЕРАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЫ И ЗАКЛАДКИ ПРОВОДЯЩИХ ТКАНЕЙ

Регуляция латеральной меристемы и закладки проводящих тканей является ключевым процессом, обеспечивающим правильное развитие как вегетативных, так и репродуктивных органов. В регуляции функционирования латеральных меристем гипокотиля и соцветий арабидопсиса участвуют рецепторные киназы ER и ERL1 [61–63]. Так, обнаружена экспрессия генов *ER* и *ERL1*, но не *ERL2* в центральном цилиндре гипокотиля [61]. Двойные мутанты по генам *ER* и *ERL1* отличаются от растений дикого типа утолщением гипокотиля за счет увеличения ксилемы, при этом в такой ксилеме была повышена доля клеток с лигнифицированными клеточными стенками [61]. То есть, *ER* и *ERL1* предотвращают чрезмерное развитие ксилемы в гипокотилях.

Киназы *ER* и *ERL1* регулируют также развитие прокамбия в стеблях соцветий [62, 63]. У двойных мутантов по генам *ER* и *ERL1* наблюдалось нарушение строения проводящих пучков – слой прокамбия был прерывистым, в некоторых местах ксилема и флоэма соприкасались. Показано, что *ER* и *ERL1* экспрессируются в ксилеме и флоэме, причем именно флоэмная экспрессия гена *ER* является определяющей для регуляции анатомической структуры стебля соцветия [62]. Предполагается, что в этот процесс вовлечены пептиды EPFL4 и EPFL6, которые экспрессируются в эндодерме и связываются с *ER*. Однако у двойного мутанта по генам *EPFL4* и *EPFL6* не было нарушено строение проводящих пучков, поэтому вопрос о том, какие именно EPFL участвуют в регуляции функционирования латеральных меристем, все еще остается открытым.

Таким образом, показано, что рецепторы *ER* и *ERL1* и, по-видимому, их лиганды участвуют в контроле образования и функционирования латеральных меристем и закладке проводящих тканей.

ФОРМИРОВАНИЕ ЗУБЧАТОГО КРАЯ ЛИСТА

Еще одна роль пептидов семейства EPFL – это регуляция формирования зубчатого края листовой пластиинки [47]. У арабидопсиса этот процесс регулирует пептид EPFL2 совместно с рецепторами *ER* и *ERL1/2*. Мутанты по гену *EPFL2*, а также двойные мутанты по киназам *ERf* характеризуются отсутствием зубцов по краю листовой пластиинки. Взаимодействие EPFL2 с каждой из трех *ERf* подтвердили при помощи коиммунопреципитации [47]. Ген *EPFL2* экспрессируется в растущих листьях за исключением кончиков зубцов и развивающихся жилок [47]. Интересно, что экспрессия *ERL2* контрастирует экспрессии *EPFL2*: она обнаружена в кончиках зубцов и жилках, в то время как *ER* и *ERL1* экспрессируются во всей листовой пластиинке. Таким образом, регуляторный модуль EPFL2-ERf подавляет ответ на ауксин, ограничивая его небольшим количеством клеток на кончике растущего зубца.

РАЗВИТИЕ ГЕНЕРАТИВНЫХ ОРГАНОВ

В ходе эволюции у цветковых растений возникли сложные и разнообразные структуры для размножения, в формировании которых, начиная с регуляции архитектуры соцветия и заканчивая образованием семян, важную роль играют пептиды EPF/EPFL.

EPFL4/6, а также в меньшей степени EPFL1/2 вместе с *ERf* стимулируют удлинение соцветий и цветоножек у *A. thaliana* [53]. При этом EPFL4/6, выступающие лигандами *ER*, экспрессируются в клетках эндодермы, а ген *ER* экспрессируется в клетках эпидермы, флоэмы и ксилемы. Однако для формирования нормальной архитектуры соцветия важна рецепция сигнала именно во флоэме, так как экспрессия *ER* под специфичным для флоэмы промотором гена *SUC1* восстанавливала фенотип мутантов *er*. Экспрессия *ER* под промоторами, активными в ксилеме и эпидерме, подобного эффекта не давала [53]. Таким образом, пептиды EPFL4/6 экспрессируются в клетках эндодермы соцветий, мигрируют во флоэму, где связываются с *ER* и стимулируют рост стебля соцветия и цветоножек [53]. Транскриптомные данные показывают, что у мутантов *A. thaliana er-2* и *epfl4/6* значительная часть дифференциально экспрессируемых генов является компонентами ауксинового и гиббереллинового ответа. В частности, подавляется экспрессия ARGOS,

стимулирующего рост надземных органов [64], и транскрипционного фактора WRKY15 [53].

Роль пептидов EPFL в регуляции архитектуры соцветия показана и у риса. Так, *OsEPFL5–9* регулируют архитектуру метелки и размер зерен. При этом *OsEPFL6–9* снижают количество колосков на метелку, а *OsEPFL5* – повышает, то есть является их антагонистом [65]. Дальнейшая передача сигнала *OsEPFL6–9* идет через рецептор *OsER1* и МАП-киназный каскад, содержащий *OsMKK10–OsMKK4–OsMPK6* [65, 66].

Пептиды семейства EPFL контролируют не только развитие соцветий в целом, но и мужских и женских половых органов, и образующихся плодов. У растений арабидопсиса *EPFL4/5/6* стимулируют удлинение тычиночных нитей за счет регуляции пролиферации клеток [56, 57]. У тройных мутантов по генам *EPFL4/5/6* нарушается самоопыление и наблюдается мужская стерильность, поскольку тычинки оказываются существенно короче, чем пестик [57]. При более низкой температуре нарушение самоопыления происходит уже у одиночного мутанта *epfl6* [56]. При этом ER опосредует удлинение не только тычинок, но и пестика [56].

EPFL1 T. aestivum и *EPFL6 Brassica napus* также, по всей видимости, регулируют морфологию органов цветка. Их сверхэкспрессия в растениях *A. thaliana* уменьшала число тычинок и их длину относительно пестика [67, 68].

Пептиды EPFL также могут регулировать развитие стручков у *A. thaliana*. *EPFL9* совместно с ER способствует удлинению стручка, тогда как *EPFL2* экспрессируется в промежутках между примордиями семяпочек и, взаимодействуя с рецепторами *ERL2* и *ERL1*, увеличивает число семязачатков в стручке и повышает равномерность закладки их примордииев [46]. Интересно, что *EPFL9* и *EPFL2* могут выступать антагонистами, так как экспрессия *EPFL9* под промотором *EPFL2* приводила к фенотипу, сходному с фенотипом мутанта *epfl2* [46].

EPFL1/2/4/6 контролируют также начальные этапы развития женского гаметофита. Эти пептиды нужны для выделения единственной материнской клетки мегаспоры (МКМ), препятствуя как образованию многочисленных МКМ, так и их отсутствию [54].

На более поздних стадиях развития семязачатка *EPFL1–6* обеспечивают обрастанье нуцеллуса интегументами [55]. Гены *EPFL1–6*, ER и *ERL1/2* экспрессируются на разных стадиях развития семязачатка, тогда как мутации по этим генам приводят к нарушению формирования интегумента. *SERK1/2/3* при этом выступают в качестве корецептора: показано взаимодействие *SERK* с киназами

семейства ERf, которое усиливается в присутствии экзогенных пептидов *EPFL4/6* [55].

Пептиды EPF/EPFL контролируют такой важный сельскохозяйственный признак риса, как наличие ости у зерновки. Ген *EPFL1* дикого риса *Oryza rufipogon* активно экспрессируется в развивающихся соцветиях и обеспечивает формирование более длинных зерновок с остью и метелок с меньшим количеством зерновок [69]. Мутации, изменяющие число остатков цистеина в *OsEPFL1*, обнаружены у большинства безостных культурных сортов риса *O. sativa*, а аллель *EPFL1* африканского культурного риса *O. glaberrima* определял появление остистых зерен у *O. sativa* ssp. *japonica* [69]. При этом у сорта *O. sativa* ssp. *aus* cv. *Kasalath* наличие ости у зерновки определяется другими генами EPF/EPFL: у одиночного мутанта по гену *OsEPFL1* ости сохраняются, а мутант *osepfl2* оствей не имеет и формирует более короткие зерновки меньшей массы и с меньшим числом клеток в продольном сечении. *OsEPFL2*, *OsEPFL7*, *OsEPFL9*, *OsEPFL10* также вносят вклад в развитие ости. По генам *OsEPFL1/GAD1/RAE2* и *OsEPFL2/9/10* шел отбор в процессе доместикации риса [39, 69].

Функции пептидов EPFL в развитии репродуктивной сферы растения крайне многообразны. Представители данного семейства контролируют архитектуру соцветия, рост органов цветка и правильное формирование женского гаметофита.

АБИОТИЧЕСКИЕ СТРЕССЫ

В последние годы ведется активный поиск и аннотирование генов, кодирующих пептиды семейства EPF/EPFL, у различных сельскохозяйственных растений. Часто обнаруживается, что промоторные области этих генов содержат *чиc*-регуляторные элементы, связанные с ответами на стрессовые воздействия и фитогормоны [33, 34, 36, 40, 41]. Более того, экспериментально подтверждено, что экспрессия отдельных EPF/EPFL регулируется данными факторами. Это позволяет предположить, что EPF/EPFL могут играть роль в формировании устойчивости растений к стрессовым условиям.

Так, экспрессия *EPFL8* повышается при обработке растений кукурузы абсцизовой кислотой (АБК), метилжасмонатом и салициловой кислотой, тогда как экспрессия ряда других *EPFL* в тех же условиях снижается [34]. Кроме того, водный дефицит может вызывать изменения экспрессии сразу нескольких *EPFL*, что косвенно указывает на их возможное участие в регуляции ответа на засуху [34, 70]. У ржи обнаружены как индуцируемые, так и ингибируемые при осмотическом стрессе *EPFL*, а также выявлены два *EPFL*, индуцируемых высокой темпе-

ратурой [40]. Показано достоверное снижение экспрессии семи генов *EPF* рапса при солевом стрессе [37]. Дифференциальны экспрессируемые в ответ на осмотический стресс гены *EPFL* идентифицированы также у сорго, картофеля, тополя, яблони [33, 36, 41, 71].

Известно, что *EPF1/2* ингибируют образование устьиц у *A. thaliana*, тогда как *EPFL9* стимулирует [10, 13, 45]. При этом плотность расположения устьиц и интенсивность транспирации определяют устойчивость растения к засухе. Сравнение экспрессии генов *EPF/EPFL* у устойчивого и чувствительного к засухе сортов яблони *Malus domestica* показало, что экспрессия ортолога *AtEPF2*, *MdEPF2*, сильнее индуцируется засухой в листьях устойчивого сорта [71]. Обработка АБК – ключевым регулятором ответа на осмотический стресс – также индуцировала экспрессию *MdEPF2*. Растения томата, сверхэкспрессирующие *MdEPF2*, отличались повышенной устойчивостью к осмотическому стрессу. При засухе у таких растений была больше биомасса, выше скорость фотосинтеза и относительное содержание воды, меньше содержание малонового диальдегида (МДА), маркера окислительного стресса, и пероксида водорода, а активность антиоксидантных ферментов выше, чем у растений дикого типа [71]. Основным морфологическим эффектом сверхэкспрессии *MdEPF2* было снижение количества устьиц, что можно рассматривать как причину большей устойчивости таких растений к осмотическому стрессу.

Ранее изучали физиологическую роль ортолога *AtEPF2*, *PdEPF2*, обнаруженного в геноме тополя [72]. *PdEPF2*, экспрессия которого индуцировалась засухой и АБК, сверхэкспрессировали в растениях арабидопсиса, которые оказались более устойчивыми к засухе, в условиях осмотического стресса у них было повышенено содержание пролина и интенсивность фотосинтеза.

У картофеля также выявлены *EPF/EPFL*, экспрессия которых отвечает на засуху: экспрессия трех генов растет, а одного (*EPF4*) падает [36]. Получили растения с нокдауном и сверхэкспрессией *EPF4*. Показали, что нокдаун этого гена приводит к повышению устойчивости к засухе – относительное содержание воды, содержание пролина и активность антиоксидантных ферментов (SOD, POD, CAT) у таких растений при засухе выше, чем у растений дикого типа, а МДА – ниже. При этом у растений, сверхэкспрессирующих *EPF4* при засухе, обнаруживались противоположные эффекты [36]. Изменение экспрессии *EPF4* влияло на плотность устьиц – в растениях с нокдауном *EPF4* она была ниже, а со сверхэкспрессией этого гена выше,

чем у растений дикого типа. Возможно, что негативная роль *EPF4* в регуляции ответа на осмотический стресс связана с его действием на формирование устьиц.

Совокупность геномных и физиологических данных, полученных на различных сельскохозяйственных культурах, указывает на потенциальную вовлеченность пептидов семейства *EPF/EPFL* в регуляцию ответа растений на абиотические стрессы, прежде всего, на засуху. Чаще всего в качестве наиболее вероятного механизма действия этих пептидов рассматривают контроль устьичной плотности и транспирации, однако нельзя исключить существование и других механизмов. При этом разные члены семейства могут выполнять как положительную, так и отрицательную регуляторную роль, что подчеркивает функциональное разнообразие *EPF/EPFL* и необходимость дальнейших исследований их специфических функций в различных физиологических контекстах.

БИОТИЧЕСКИЙ СТРЕСС

Изменение экспрессии различных представителей *EPF/EPFL* в ответ на заражение фитопатогенными грибами показано у нескольких видов растений. Так, заражение мха *P. patens* патогенным грибом *Botrytis cinerea* существенно снижало экспрессию шести генов, кодирующих предсказанные пептиды семейства *EPFL* [73]. Показано, что экспрессия *EPFL1–6* и *EPFL9* *A. thaliana* увеличивалась после инокуляции *Sclerotinia sclerotiorum*, тогда как экспрессия остальных представителей семейства *EPF/EPFL* не изменялась [52]. В то же время воздействие биотического стресса разнонаправленно влияло на экспрессию генов *EPF/EPFL* в растениях томата *Solanum lycopersicum*: так инфицирование фитопатогеном *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* приводило к повышению экспрессии *SIEPF7* и снижению экспрессии *SIEPF1/5*, а обработка элиситорами из не-патогенного для томата штамма *F. sambicuum* повышала экспрессию *SIEPF6/7* и снижала *SIEPF3/5* [74].

Изменение экспрессии сразу нескольких генов *EPF/EPFL* при взаимодействии с фитопатогенами позволяет предположить, что пептиды этого семейства могут совместно регулировать защитные механизмы растения. Так, рост *S. sclerotiorum* и продукция H_2O_2 у мутантов *Arabidopsis epfl1,2,4,6* существенно повышались, тогда как одиночные мутанты не отличались от растений дикого типа [52]. Кроме того, у мутантов *epfl1,2,4,6* существенно снижалась индуцируемая патогеном экспрессия генов, относящихся к *YODA DOWNSTREAM* (YDD). YDD – это группа генов, позитивно регулируемых у мутантов с конститутивно активной *YODA* [52]. С дру-

гой стороны, индуцибельная экспрессия *EPF1/2* у *A. thaliana* не повышала устойчивость растений к некротрофному грибу *Plectosphaerella cisticlerina* [75]. Как известно, многие патогены проникают в ткани растения через устьица, поэтому ослабление устойчивости мутантов по *ERf*, по-видимому, можно связать с увеличением числа устьиц. Так, после обработки EPFL9 число устьиц увеличивалось и симптомы заражения усиливались [76].

Таким образом, данные об участии пептидов EPF/EPFL в регуляции ответа на биотический стресс крайне скучны. При этом неоднократно показано участие рецепторов и компонентов сигнального пути пептидов EPF/EPFL в обеспечении устойчивости к фитопатогенам. Так, у мутантов по гену *ER* снижалась устойчивость к бактерии *Ralstonia solanacearum* [77], оомицету *Pythium irregularare* [78], патогенным грибам *Verticillium longisporum* [79], *S. sclerotiorum* [80] и *P. cisticlerina* [81, 82]. Дополнительный нокаут генов *ERL1/2* и *TMM* усиливал развитие инфекции [75, 80].

Однако снижение устойчивости к *R. solanacearum* при инокуляции патогена через поврежденные корни [77] указывает на то, что уязвимость *er* может быть связана не только с увеличением числа устьиц, но и с ингибированием защитного ответа растения. В пользу этого говорит снижение экспрессии патоген-индуцируемых генов *WRKY33*, *WRKY53*, *CYP79B2* и *CYP81F2* у мутантов *er*, *bak1* и *er bak1* [75].

В то же время активность *ER* не влияла на экспрессию генов, индуцируемых *flg22* – 22-аминокислотным эпипептидом, производным флагеллина [75]. Также мутанты *er* были не менее устойчивы к заражению *B. cinerea*, *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans* и *Peronospora parasitica*, чем растения дикого типа [81]. Таким образом, *ER* не всегда необходим для формирования устойчивости к патогенам. Возможно, но не обязательно, это связано с функциональной избыточностью рецепторов EPFL.

ER регулирует ответ арабидопсиса на заражение *S. sclerotiorum*, влияя на связывание транскрипционного фактора *WRKY33* с промоторами генов *YDD* [80]. В этом процессе участвует хроматинремоделирующий комплекс *SWR1* и регуляторный модуль *ER-MPK6-WRKY33*. *SWR1* способствует связыванию W-box транскрипционного фактора *WRKY33*

с промоторами и активации экспрессии генов *YDD*, которые необходимы для поддержания устойчивости растения к заражению *S. sclerotiorum* [80, 83].

Поскольку EPF/EPFL-пептиды известны в первую очередь как регуляторы развития устьиц, их роль в контроле адаптации к стрессам часто пытаются связать с количеством устьиц, но, по-видимому, роль данной группы пептидов при стрессе обширнее и нуждается в дальнейшем изучении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на значительное расширение знаний о пептидах семейства EPF/EPFL, в понимании их функций остаются важные пробелы. Так, подавляющее большинство функциональных исследований EPF/EPFL проведено на модельном растении *A. thaliana*. Более того, хотя гомологи генов EPF/EPFL идентифицированы у представителей различных групп покрытосеменных, их функциональный анализ в этих таксонах практически не проводился. Это особенно актуально в контексте филогенетического разнообразия растений, поскольку результаты, полученные на *Arabidopsis*, могут не полностью отражать спектр биологических функций EPFL в других видах.

Дополнительные сложности в изучении этих пептидов обусловлены функциональной избыточностью: многие представители семейства могут частично компенсировать друг друга, что затрудняет оценку вклада отдельных представителей. По этой причине значительная часть исследований основана на анализе мутантов по рецепторам, которые также демонстрируют частичную избыточность, но число их существенно меньше.

На сегодняшний день показано, что экспрессия EPFL может меняться при биотических и абиотических воздействиях, однако связь между пептидной регуляцией и адаптивными реакциями растений не до конца ясна.

Управление активностью EPFL и их рецепторов потенциально может быть использовано для оптимизации морфогенеза, повышения устойчивости к стрессам и, как следствие, для улучшения сельскохозяйственных культур. ●

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-74-10048).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fukuda H, Hardtke CS. Peptide Signaling Pathways in Vascular Differentiation. *Plant Physiol.* 2020;182(4):1636-1644. doi: 10.1104/pp.19.01259
2. Mamaeva A, Makeeva A, Ganaeva D. The Small Key to the Treasure Chest: Endogenous Plant Peptides Involved in Symbiotic Interactions. *Plants.* 2025;14(3):378. doi: 10.3390/plants14030378
3. Pearce G, Strydom D, Johnson S, Ryan CA. A Polypeptide from Tomato Leaves Induces Wound-Inducible Proteinase Inhibitor Proteins. *Science.* 1991;253(5022):895-897. doi: 10.1126/science.253.5022.895

4. Tavormina P, De Coninck B, Nikonorova N, De Smet I, Cammue BPA. The Plant Peptidome: An Expanding Repertoire of Structural Features and Biological Functions. *Plant Cell*. 2015;27(8):2095-2118. doi: 10.1105/tpc.15.00440
5. Stintzi A, Schaller A. Biogenesis of post-translationally modified peptide signals for plant reproductive development. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2022;69:102274. doi: 10.1016/j.pbi.2022.102274
6. Feng YZ, Zhu QF, Xue J, Chen P, Yu Y. Shining in the dark: the big world of small peptides in plants. *aBIOTECH*. 2023;4(3):238-256. doi: 10.1007/s42994-023-00100-0
7. Gancheva MS, Malovichko YuV, Poliushkevich LO, Doudueva IE, Lutova LA. Plant Peptide Hormones. *Russ J Plant Physiol*. 2019;66(2):171-189. doi: 10.1134/S1021443719010072
8. Okada T, Yoshizumi H, Terashima Y. A Lethal Toxic Substance for Brewing Yeast in Wheat and Barley: Part I. Assay of Toxicity on Various Grains, and Sensitivity of Various Yeast StrainsPart II. Isolation and Some Properties of Toxic Principle. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1970;34(7):1084-1094. doi:10.1080/00021369.1970.10859736
9. van der Weerden NL, Bleackley MR, Anderson MA. Properties and mechanisms of action of naturally occurring antifungal peptides. *Cell Mol Life Sci*. 2013;70(19):3545-3570. doi: 10.1007/s00018-013-1260-1
10. Hara K, Kajita R, Torii KU, Bergmann DC, Kakimoto T. The secretory peptide gene EPF1 enforces the stomatal one-cell-spacing rule. *Genes Dev*. 2007;21(14):1720-1725. doi: 10.1101/gad.155070
11. Sugano SS, Shimada T, Imai Y, Okawa K, Tamai A, Mori M, Hara-Nishimura I. Stomagen positively regulates stomatal density in Arabidopsis. *Nature*. 2010;463(7278):241-244. doi: 10.1038/nature08682
12. Maróti G, Downie JA, Kondorosi É. Plant cysteine-rich peptides that inhibit pathogen growth and control rhizobial differentiation in legume nodules. *Curr. Opin. Plant Biol*. 2015;26:57-63. doi: 10.1016/j.pbi.2015.05.031
13. Hunt L, Gray JE. The Signaling Peptide EPF2 Controls Asymmetric Cell Divisions during Stomatal Development. *Curr. Biol*. 2009;19(10):864-869. doi: 10.1016/j.cub.2009.03.069
14. Richardson LGL, Torii KU. Take a deep breath: peptide signalling in stomatal patterning and differentiation. *J. Exp. Bot*. 2013;64(17):5243-5251. doi: 10.1093/jxb/ert246
15. Lee JS, Kuroha T, Hnilova M, Khatayevich D, Kanaoka MM, McAbee JM, Sarikaya M, Tamerler C, Torii KU. Direct interaction of ligand-receptor pairs specifying stomatal patterning. *Genes Dev*. 2012;26(2):126-136. doi: 10.1101/gad.179895.111
16. Silverstein KAT, Moskal Jr. WA, Wu HC, Underwood BA, Graham MA, Town CD, VandenBosch KA. Small cysteine-rich peptides resembling antimicrobial peptides have been under-predicted in plants. *Plant J*. 2007;51(2):262-280. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03136.x
17. Финкина ЕИ, Мельникова ДН, Богданов ИВ, Овчинникова ТВ. Пептиды системы врожденного иммунитета растений. Часть I. Структура, биологическая активность и механизмы действия. *Биоорган. химия*. 2019;45(1):3-16. doi: 10.1134/S013234231901007X
18. Финкина ЕИ, Мельникова ДН, Богданов ИВ, Овчинникова (Марченко) ТВ. Пептиды системы врожденного иммунитета растений. Часть II. Биосинтез, биологические функции и возможное практическое применение. *Биоорган. химия*. 2019;45(2):115-126. doi: 10.1134/S0132342319020040
19. Ohki S, Takeuchi M, Mori M. The NMR structure of stomagen reveals the basis of stomatal density regulation by plant peptide hormones. *Nat Commun*. 2011;2(1):512. doi: 10.1038/ncomms1520
20. Kondo T, Kajita R, Miyazaki A, Hokoyama M, Nakamura-Miura T, Mizuno S, Masuda Y, Irie K, Tanaka Y, Takada S, et al. Stomatal Density is Controlled by a Mesophyll-Derived Signaling Molecule. *Plant and Cell Physiology*. 2010;51(1):1-8. doi: 10.1093/pcp/pcp180
21. Lin G, Zhang L, Han Z, Yang X, Liu W, Li E, Chang J, Qi Y, Shpak ED, Chai J. A receptor-like protein acts as a specificity switch for the regulation of stomatal development. *Genes Dev*. 2017;31(9):927-938. doi: 10.1101/gad.297580.117
22. Rowe MH, Bergmann DC. Complex signals for simple cells: the expanding ranks of signals and receptors guiding stomatal development. *Current Opinion in Plant Biology*. 2010;13(5):548-555. doi: 10.1016/j.pbi.2010.06.002
23. Hara K, Yokoo T, Kajita R, Onishi T, Yahata S, Peterson KM, Torii KU, Kakimoto T. Epidermal cell density is auto-regulated via a secretory peptide, EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 2 in Arabidopsis leaves. *Plant Cell Physiol*. 2009;50(6):1019-1031. doi: 10.1093/pcp/pcp068
24. Tabata R, Sawa S. Maturation processes and structures of small secreted peptides in plants. *Front Plant Sci*. 2014;5:311. doi: 10.3389/fpls.2014.00311
25. Olsson V, Joos L, Zhu S, Gevaert K, Butenko MA, Smet ID. Look Closely, the Beautiful May Be Small: Precursor-Derived Peptides in Plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2019;70(1):153-186. doi: 10.1146/annurev-arplant-042817-040413
26. Abramson J, Adler J, Dunger J, Evans R, Green T, Pritzel A, Ronneberger O, Willmore L, Ballard AJ, Bambrick J, et al. Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3. *Nature*. 2024;630(8016):493-500. doi: 10.1038/s41586-024-07487-w
27. Wang H, Ngwenyama N, Liu Y, Walker JC, Zhang S. Stomatal Development and Patterning Are Regulated by Environmentally Responsive Mitogen-Activated Protein Kinases in Arabidopsis. *The Plant Cell*. 2007;19(1):63-73. doi: 10.1105/tpc.106.048298
28. Takata N, Yokota K, Ohki S, Mori M, Taniguchi T, Kurita M. Evolutionary relationship and structural characterization of the EPF/EPFL gene family. *PLoS One*. 2013;8(6):e65183. doi: 10.1371/journal.pone.0065183
29. Bowman JL, Kohchi T, Yamato KT, Jenkins J, Shu S, Ishizaki K, Yamaoka S, Nishihama R, Nakamura Y, Berger F, et al. Insights into Land Plant Evolution Garnered from the *Marchantia polymorpha* Genome. *Cell*. 2017;171(2):287-304.e15. doi: 10.1016/j.cell.2017.09.030
30. Rydel AL, Peterson KM, Torii KU. Plant twitter: ligands under 140 amino acids enforcing stomatal patterning. *J Plant Res*. 2010;123(3):275-280. doi: 10.1007/s10265-010-0330-9
31. Caine RS, Chater CC, Kamisugi Y, Cuming AC, Beerling DJ, Gray JE, Fleming AJ. An ancestral stomatal patterning module revealed in the non-vascular land plant *Physcomitrella patens*. *Development*. 2016;143(18):3306-3314. doi: 10.1242/dev.135038
32. Caine RS, Chater CCC, Fleming AJ, Gray JE. Stomata and Sporophytes of the Model Moss *Physcomitrium patens*. *Front Plant Sci*. 2020;11:643. doi: 10.3389/fpls.2020.00643
33. Jia M, Wang Y, Jin H, Li J, Song T, Chen Y, Yuan Y, Hu H, Li R, Wu Z, et al. Comparative Genomics Analysis of the *Populus* Epidermal Pattern Factor (EPF) Family Revealed Their Regulatory Effects in *Populus euphratica* Stomatal Development. *Int J Mol Sci*. 2024;25(18):10052. doi: 10.3390/ijms251810052
34. Li P, Zhao Z, Wang W, Wang T, Hu N, Wei Y, Sun Z, Chen Y, Li Y, Liu Q, et al. Genome-wide analyses of member iden-

- tification, expression pattern, and protein–protein interaction of EPF/EPFL gene family in *Gossypium*. *BMC Plant Biology*. 2024;24(1):554. doi: 10.1186/s12870-024-05262-7
35. McElwain JC, Chaloner WG. Stomatal Density and Index of Fossil Plants Track Atmospheric Carbon Dioxide in the Palaeozoic. *Annals of Botany*. 1995;76(4):389–395. doi: 10.1006/anbo.1995.1112
36. Qiao R, Yang J, Deng Y, Duan X, Li X, Zhu F, Liu M, Mou J, Zhang N, Si H. Genome-Wide Identification of Epidermal Pattern Factor (EPF) Gene Family in Potato and Functional Characterization of StEPF4 in Regulating Drought Stress. *Agronomy*. 2024;14(12):2948. doi: 10.3390/agronomy14122948
37. Wang S, Wang W, Chen J, Wan H, Zhao H, Liu X, Dai X, Zeng C, Xu D. Comprehensive Identification and Expression Profiling of Epidermal Pattern Factor (EPF) Gene Family in Oilseed Rape (*Brassica napus* L.) under Salt Stress. *Genes*. 2024;15(7):912. doi: 10.3390/genes15070912
38. Liu S, Chen T, Li X, Cui J, Tian Y. Genome-wide identification and expression analysis of EPF/EPFL gene family in *Populus trichocarpa*. *Front Genet*. 2024;15:1432376. doi: 10.3389/fgene.2024.1432376
39. Xiong L, Huang Y, Liu Z, Li C, Yu H, Shahid MQ, Lin Y, Qiao X, Xiao J, Gray JE, et al. Small EPIDERMAL PATTERNING FACTOR-LIKE2 peptides regulate awn development in rice. *Plant Physiology*. 2022;190(1):516–531. doi: 10.1093/plphys/kiac278
40. Zhiling L, Wenhua D, Fangyuan Z. Genome-wide identification and phylogenetic and expression pattern analyses of EPF/EPFL family genes in the Rye (*Secale cereale* L.). *BMC Genomics*. 2024;25(1):532. doi: 10.1186/s12864-024-10425-9
41. Jiao Z, Wang J, Shi Y, Wang Z, Zhang J, Du Q, Liu B, Jia X, Niu J, Gu C, et al. Genome-Wide Identification and Analysis of the EPF Gene Family in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Plants*. 2023;12(22):3912. doi: 10.3390/plants12223912
42. Liu R, Xu K, Li Y, Zhao W, Ji H, Lei X, Ma T, Ye J, Zhang J, Du H, et al. Investigation on the Potential Functions of ZmEPF/EPFL Family Members in Response to Abiotic Stress in Maize. *Int. J. Mol. Sci.* 2024;25(13):7196. doi: 10.3390/ijms25137196
43. Wei D, Chang P, Liu JY, Yang Y, Zhang X, Chen L, Hu YA. Genome-wide identification of EPF/EPFL gene family in wheat (*Triticum aestivum*) and analysis of TaEPF1-2B associated with stomatal traits. *J. Triticeae Crops*. 2021;41(11):1317–1329. doi: 10.7606/j.issn.1009-1041.2021.11.01
44. Lee JS, Hnilova M, Maes M, Lin YCL, Putarjunan A, Han SK, Avila J, Torii KU. Competitive binding of antagonistic peptides fine-tunes stomatal patterning. *Nature*. 2015;522(7557):439–443. doi: 10.1038/nature14561
45. Hunt L, Bailey KJ, Gray JE. The signalling peptide EPFL9 is a positive regulator of stomatal development. *New Phytol*. 2010;186(3):609–614. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03200.x
46. Kawamoto N, Carpio DPD, Hofmann A, Mizuta Y, Kurihara D, Higashiyama T, Uchida N, Torii KU, Colombo L, Groth G, et al. A Peptide Pair Coordinates Regular Ovule Initiation Patterns with Seed Number and Fruit Size. *Current Biology*. 2020;30(22):4352–4361.e4. doi: 10.1016/j.cub.2020.08.050
47. Tameshige T, Ikematsu S, Torii KU, Uchida N. Stem development through vascular tissues: EPFL–ERECTA family signaling that bounces in and out of phloem. *J. Exp. Bot.* 2017;68(1):45–53. doi: 10.1093/jxb/erw447
48. Kosentka PZ, Overholt A, Maradiaga R, Mitoubsi O, Shpak ED. EPFL Signals in the Boundary Region of the SAM Restrict Its Size and Promote Leaf Initiation. *Plant Physiology*. 2019;179(1):265–279. doi: 10.1104/pp.18.00714
49. Fujihara R, Uchida N, Tameshige T, Kawamoto N, Ho- tokezaka Y, Higaki T, Simon R, Torii KU, Tasaka M, Aida M. The boundary-expressed EPIDERMAL PATTERNING FACTOR-LIKE2 gene encoding a signaling peptide promotes cotyledon growth during *Arabidopsis thaliana* embryogenesis. *Plant Biotechnol (Tokyo)*. 2021;38(3):317–322. doi: 10.5511/plantbiotechnology.21.0508a
50. Kimura Y, Tasaka M, Torii KU, Uchida N. ERECTA-family genes coordinate stem cell functions between the epidermal and internal layers of the shoot apical meristem. *Development*. 2018;145(1):dev156380. doi: 10.1242/dev.156380
51. Zhang L, DeGennaro D, Lin G, Chai J, Shpak ED. ERECTA family signaling constrains CLAVATA3 and WUSCHEL to the center of the shoot apical meristem. *Development*. 2021;148(5):dev189753. doi: 10.1242/dev.189753
52. Huang Y, Chai M, Xi X, Zhu W, Qi J, Qin Y, Cai H. Functional analysis of EPF/EPFL genes in *Arabidopsis* resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*. 2022;51(4):486–492. <https://jfafu.fafu.edu.cn/#/digest?ArticleID=1333>
53. Uchida N, Lee JS, Horst RJ, Lai HH, Kajita R, Kakimoto T, Tasaka M, Torii KU. Regulation of inflorescence architecture by intertissue layer ligand–receptor communication between endodermis and phloem. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(16):6337–6342. doi: 10.1073/pnas.1117537109
54. Cai H, Huang Y, Liu L, Zhang M, Chai M, Xi X, Aslam M, Wang L, Ma S, Su H, et al. Signaling by the EPFL-ERECTA family coordinates female germline specification through the BZR1 family in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*. 2023;35(5):1455–1473. doi: 10.1093/plcell/koad032
55. Li M, Lv M, Wang X, Cai Z, Yao H, Zhang D, Li H, Zhu M, Du W, Wang R, et al. The EPFL-ERF-SERK signaling controls integument development in *Arabidopsis*. *New Phytologist*. 2023;238(1):186–201. doi: 10.1111/nph.18701
56. Negoro S, Hirabayashi T, Iwasaki R, Torii KU, Uchida N. EPFL peptide signalling ensures robust self-pollination success under cool temperature stress by aligning the length of the stamen and pistil. *Plant, Cell & Environment*. 2023;46(2):451–463. doi: 10.1111/pce.14498
57. He Y, He X, Wang X, Hao M, Gao J, Wang Y, Yang ZN, Meng X. An EPFL peptide signaling pathway promotes stamen elongation via enhancing filament cell proliferation to ensure successful self-pollination in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*. 2023;238(3):1045–1058. doi: 10.1111/nph.18806
58. Jangra R, Brunetti SC, Wang X, Kaushik P, Gulick PJ, Foroud NA, Wang S, Lee JS. Duplicated antagonistic EPF peptides optimize grass stomatal initiation. *Development*. 2021;148(16):dev199780. doi: 10.1242/dev.199780
59. Caine RS, Chater CC, Kamisugi Y, Cuming AC, Beerling DJ, Gray JE, Fleming AJ. An ancestral stomatal patterning module revealed in the non-vascular land plant *Physcomitrella patens*. *Development*. 2016;143(18):3306–3314. doi: 10.1242/dev.135038
60. Uzair M, Urquidi Camacho RA, Liu Z, Overholt AM, DeGennaro D, Zhang L, Herron BS, Hong T, Shpak ED. An updated model of shoot apical meristem regulation by ERECTA family and CLAVATA3 signaling pathways in *Arabidopsis*. *Development*. 2024;151(12):dev202870. doi: 10.1242/dev.202870
61. Ikematsu S, Tasaka M, Torii KU, Uchida N. ERECTA-family receptor kinase genes redundantly prevent premature progression of secondary growth in the *Arabidopsis* hypocotyl. *New Phytol*. 2017;213(4):1697–1709. doi: 10.1111/nph.14335

62. Uchida N, Tasaka M. Regulation of plant vascular stem cells by endodermis-derived EPFL-family peptide hormones and phloem-expressed ERECTA-family receptor kinases. *J. Exp. Bot.* 2013;64(17):5335-5343. doi: 10.1093/jxb/ert196
63. Yuan B, Wang H. Peptide Signaling Pathways Regulate Plant Vascular Development. *Front Plant Sci.* 2021;12:719606. doi: 10.3389/fpls.2021.719606
64. Hu Y, Xie Q, Chua NH. The Arabidopsis Auxin-Inducible Gene ARGOS Controls Lateral Organ Size. *The Plant Cell.* 2003;15(9):1951-1961. doi: 10.1105/tpc.013557
65. Guo T, Lu ZQ, Xiong Y, Shan JX, Ye WW, Dong NQ, Kan Y, Yang YB, Zhao HY, Yu HX, et al. Optimization of rice panicle architecture by specifically suppressing ligand-receptor pairs. *Nat Commun.* 2023;14(1):1640. doi: 10.1038/s41467-023-37326-x
66. Guo T, Lu ZQ, Shan JX, Ye WW, Dong NQ, Lin HX. ERECTA1 Acts Upstream of the OsMKKK10-OsMKK4-OsMPK6 Cascade to Control Spikelet Number by Regulating Cytokinin Metabolism in Rice. *Plant Cell.* 2020;32(9):2763-2779. doi: 10.1105/tpc.20.00351
67. Sun Q, Qu J, Yu Y, Yang Z, Wei S, Wu Y, Yang J, Peng Z. TaEPFL1, an EPIDERMAL PATTERNING FACTOR-LIKE (EPFL) secreted peptide gene, is required for stamen development in wheat. *Genetica.* 2019;147(2):121-130. doi: 10.1007/s10709-019-00061-7
68. Huang Y, Tao Z, Liu Q, Wang X, Yu J, Liu G, Wang H. BnEPFL6, an EPIDERMAL PATTERNING FACTOR-LIKE (EPFL) secreted peptide gene, is required for filament elongation in *Brassica napus*. *Plant Mol Biol.* 2014;85(4):505-517. doi: 10.1007/s11103-014-0200-2
69. Jin J, Hua L, Zhu Z, Tan L, Zhao X, Zhang W, Liu F, Fu Y, Cai H, Sun X, et al. GAD1 Encodes a Secreted Peptide That Regulates Grain Number, Grain Length, and Awn Development in Rice Domestication. *The Plant Cell.* 2016;28(10):2453-2463. doi: 10.1105/tpc.16.00379
70. Xia H, Wang Q, Chen Z, Sun X, Zhao F, Zhang D, Fei J, Zhao R, Yin Y. Identification and Functional Analysis of the EPF/EPFL Gene Family in Maize (*Zea mays* L.): Implications for Drought Stress Response. *Agronomy.* 2024;14(8):1734. doi:10.3390/agronomy14081734
71. Jiang Q, Yang J, Wang Q, Zhou K, Mao K, Ma F. Overexpression of *MdEPF2* improves water use efficiency and reduces oxidative stress in tomato. *Environmental and Experimental Botany.* 2019;162:321-332. doi: 10.1016/j.envexpbot.2019.03.009
72. Liu S, Wang C, Jia F, An Y, Liu C, Xia X, Yin W. Secretory peptide PdEPF2 enhances drought tolerance by modulating stomatal density and regulates ABA response in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2016;125(3):419-431. doi: 10.1007/s11240-016-0957-x
73. Lyapina I, Ganaeva D, Rogozhin EA, Ryabukhina EV, Ryazantsev DYu, Lazarev V, Alieva SE, Mamaeva A, Fesenko I. Comparative analysis of small secreted peptide signaling during defense response: insights from vascular and non-vascular plants. *Physiologia Plantarum.* 2025;177(2):e70147. doi: 10.1111/ppl.70147
74. Slezina MP, Istomina EA, Korostyleva TV, Kovtun AS, Kasianov AS, Konopkin AA, Shcherbakova LA, Odintsova TI. Molecular Insights into the Role of Cysteine-Rich Peptides in Induced Resistance to *Fusarium oxysporum* Infection in Tomato Based on Transcriptome Profiling. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(11):5741. doi: 10.3390/ijms22115741
75. Jordá L, Sopeña-Torres S, Escudero V, Nuñez-Corcuera B, Delgado-Cerezo M, Torii KU, Molina A. ERECTA and BAK1 Receptor Like Kinases Interact to Regulate Immune Responses in Arabidopsis. *Front Plant Sci.* 2016;7:897. doi: 10.3389/fpls.2016.00897
76. Tateda C, Obara K, Abe Y, Sekine R, Nekoduka S, Hikage T, Nishihara M, Sekine KT, Fujisaki K. The Host Stomatal Density Determines Resistance to *Septoria gentianae* in Japanese Gentian. *MPMI.* 2019;32(4):428-436. doi: 10.1094/MPMI-05-18-0114-R
77. Godiard L, Sauviac L, Torii KU, Grenon O, Mangin B, Grimsley NH, Marco Y. ERECTA, an LRR receptor-like kinase protein controlling development pleiotropically affects resistance to bacterial wilt. *Plant J.* 2003;36(3):353-365. doi: 10.1046/j.1365-313X.2003.01877.x
78. Adie BAT, Pérez-Pérez J, Pérez-Pérez MM, Godoy M, Sánchez-Serrano JJ, Schmelz EA, Solano R. ABA Is an Essential Signal for Plant Resistance to Pathogens Affecting JA Biosynthesis and the Activation of Defenses in Arabidopsis. *The Plant Cell.* 2007;19(5):1665-1681. doi: 10.1105/tpc.106.048041
79. Häffner E, Karlovsky P, Splivallo R, Traczewska A, Diederichsen E. ERECTA, salicylic acid, abscisic acid, and jasmonic acid modulate quantitative disease resistance of *Arabidopsis thaliana* to *Verticillium longisporum*. *BMC Plant Biol.* 2014;14(1):85. doi: 10.1186/1471-2229-14-85
80. Cai H, Huang Y, Chen F, Liu L, Chai M, Zhang M, Yan M, Aslam M, He Q, Qin Y. ERECTA signaling regulates plant immune responses via chromatin-mediated promotion of WRKY33 binding to target genes. *New Phytol.* 2021;230(2):737-756. doi: 10.1111/nph.17200
81. Llorente F, Alonso-Blanco C, Sánchez-Rodríguez C, Jordá L, Molina A. ERECTA receptor-like kinase and heterotrimeric G protein from *Arabidopsis* are required for resistance to the necrotrophic fungus *Plectosphaerella cucumerina*. *Plant J.* 2005;43(2):165-180. doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02440.x
82. Sánchez-Rodríguez C, Estévez JM, Llorente F, Hernández-Blanco C, Jordá L, Pagán I, Berrocal M, Marco Y, Somerville S, Molina A. The ERECTA Receptor-Like Kinase Regulates Cell Wall-Mediated Resistance to Pathogens in *Arabidopsis thaliana*. *MPMI.* 2009;22(8):953-963. doi: 10.1094/MPMI-22-8-0953
83. Sopeña-Torres S, Jordá L, Sánchez-Rodríguez C, Miedes E, Escudero V, Swami S, López G, Piślewska-Bednarek M, Lassowska I, Lee J, et al. YODA MAP3K kinase regulates plant immune responses conferring broad-spectrum disease resistance. *New Phytol.* 2018;218(2):661-680. doi: 10.1111/nph.15007