

УДК 577.214.5:575.174.015.3

## ГЕНЫ ФИТОИНСИНТАЗ (*StPSY1*, *StPSY2*, *StPSY3*) *SOLANUM TUBEROSUM* L. УЧАСТВУЮТ В ОТВЕТЕ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ НА ХОЛОДОВОЙ СТРЕСС

© 2024 г. А. В. Кулакова<sup>1,\*</sup>, А. В. Щенникова<sup>1</sup>, Е. З. Кочиева<sup>1</sup>

Представлено академиком РАН В.О. Поповым

Поступило 28.12.2023 г.

После доработки 25.01.2024 г.

Принято к публикации 30.01.2024 г.

Охарактеризована структура и филогения генов *StPSY1*, *StPSY2* и *StPSY3*, кодирующих фитоинсинтазы *Solanum tuberosum* L. Исследована экспрессия данных генов в проростках картофеля в ответ на воздействие холодого стресса в темновой фазе суточного цикла как имитации ночного похолодания. Выявлено, что все три гена активируются при снижении температуры, и наибольшая реакция наблюдается для *StPSY1*. Впервые показана реакция гена *StPSY3* на холодого стресс и фотопериод. Проведен поиск *cis*-регуляторных элементов в области промотора и 5'-UTR генов *StPSY* и показано, что регуляция всех трех генов связана с реакцией на свет. Высокий уровень низкотемпературной активации гена *StPSY1* может быть связан с присутствием *cis*-элементов, ассоциированных с чувствительностью к холоду и АБК.

**Ключевые слова:** картофель, *Solanum tuberosum*, биосинтез каротиноидов, фитоинсинтаза PSY, холодого стресс

**DOI:** 10.31857/S2686738924030019, **EDN:** VUVRYO

Каротиноиды являются важными компонентами фотосинтеза и фотозащиты растений. Ферментативное расщепление данных метаболитов приводит к образованию апокаротиноидов, в том числе фитогормонов (абсцизовой кислоты (АБК) и стриголактонов), критичных для онтогенеза и иммунитета растения. Кроме того, каротиноиды, накапливаясь в пластидах запасяющих органов, являются аттрактантами, придающими цветкам, плодам и зернам яркую (красную, оранжевую, желтую) окраску, тем самым способствуя опылению цветков и распространению семян [1].

Ключевым ферментом биосинтеза каротиноидов является фитоинсинтаза PSY, которая локализуется в строме и/или пластоглобулах пластид и катализирует первую стадию биосинтеза каротиноидов с образованием С40-фитоина [2, 3]. В геноме большинства видов растений показано существование трех

паралогичных генов, кодирующих, соответственно, три изофермента – PSY1, PSY2 и PSY3, тогда как для ряда видов выявлено только два (например, морковь *Daucus carota*, Apiaceae) или один (*Arabidopsis thaliana* L., Brassicaceae) ген PSY [3–7]. Ген *PSY1* впервые идентифицирован при исследовании плодов томата *Solanum lycopersicum* L. [4]. Позднее, также у томата, был найден гомологичный ген *PSY2* с преимущественной экспрессией в листьях [5]. Ген *PSY3* впервые упоминается в исследованиях риса *Oryza sativa* L. и кукурузы *Zea mays* L. [6, 7], и в настоящее время известен и у других видов растений, включая томат и люцерну *Medicago truncatula* L. [3]. Показано, что *PSY3*, в отличие от *PSY1* и *PSY2*, экспрессируется в растении в следовых количествах, однако активируется в вегетативной ткани при воздействии нескольких типов стрессовых факторов: засуха, избыток соли, повышенная температура, грибная инфекция или дефицит фосфатов [3, 6–8].

Изоферменты PSY1 и PSY2 ассоциируют с тканеспецифичным синтезом каротиноидов. Экспрессия *PSY2* больше свойственна фотосинтезирующим органам, тогда как для *PSY1* характерна преимущественная активность в запасяющих органах, но и в фотосинтезирующей ткани *PSY1* действует, поддерживая, в частности, темновую фазу

<sup>1</sup>Федеральное государственное учреждение “Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук”, Москва, Россия

\*e-mail: kulakova\_97@mail.ru

фотосинтеза [8, 9]. Светочувствительность регуляции обоих генов отражается на суточных колебаниях уровня их экспрессии [8, 9]. Роль *PSY3* связывают со стрессовой реакцией растения через стимулирование синтеза АБК и стриголактонов [3, 6, 7]. При замалчивании *PSY1* в плодах томата полностью отсутствуют каротиноиды, тогда как в случае замалчивания (на 70%) *PSY2* и *PSY3* заметно снижено содержание фитоина, фитофлуина и  $\zeta$ -каротина (предшественники цветных каротиноидов); данные факты подтверждают ведущую роль *PSY1* в каротиногенезе запасующих органов и возможное соучастие в нем *PSY2* и *PSY3* [9]. Замалчивание *PSY3* приводит к значительному падению содержания апокаротиноидов в корнях *M. truncatula*, что поддерживает идею об участии *PSY3* в обеспечении адаптивности растения [3].

Считается, что гены *PSY1* и *PSY2* возникли в результате нескольких событий полногеномных дупликаций цветковых растений [3, 8, 10]. Гипотезы о происхождении *PSY3* разнятся. С одной стороны, предполагается более раннее происхождение *PSY1* и *PSY2* и последующее специфическое событие дупликации, приведшее к появлению *PSY3*, являвшееся независимым у однодольных и двудольных видов [10]. С другой стороны, *PSY3* считается более древним, чем *PSY1* и *PSY2*, поскольку его гомологи обнаружены и у однодольных, и у двудольных видов, вплоть до *Amborella trichopoda* Baill. — самого базального покрытосеменного растения [3, 8].

Как упоминалось выше, каротиноиды представляют собой важные компоненты защиты растений от стрессовых факторов [1]. У картофеля *Solanum tuberosum* L., значимой сельскохозяйственной культуры, для которой вопрос стрессоустойчивости занимает важное место, исследования каротиногенеза ограничены анализом клубней на содержание каротиноидов и, иногда, экспрессию генов фитоинсинтаз. В частности, показана сортовая специфичность содержания каротиноидов и уровня экспрессии генов *PSY1* и *PSY2* в клубнях [11]. Также, определена динамика изменения содержания каротиноидов и уровня экспрессии генов *PSY1*, *PSY2* и *PSY3* в процессе низкотемпературного хранения клубней [12]. Показано, что при продолжительном низкотемпературном хранении клубней уровень транскриптов всех трех генов сначала снижается, а затем, к моменту выхода клубней из состояния физиологического покоя, начинает расти, что, вероятно, обусловлено необходимостью синтеза фитогормонов (АБК, стриголактоны) для прорастания глазков и дальнейшего развития побегов [12].

Целью данного исследования стали гены *PSY1*, *PSY2* и *PSY3* картофеля *S. tuberosum* и их ответ на воздействие одного из основных стрессовых факторов — холод (3°C). Помимо этого, реакция на имитацию ночного похолодания была интересна также с учетом предполагаемых суточных изменений уровня

экспрессии данных генов в ответ на наличие/отсутствие освещения.

Используя данные генбанка NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), включая аннотацию генов *S. tuberosum* и поиск по гомологии с известными генами *PSY1*, *PSY2* и *PSY3* *S. lycopersicum*, были извлечены последовательности гомологичных генов *StPSY1* (NCBI Gene ID: 102593756), *StPSY2* (102589336) и *StPSY3* (102603193) картофеля.

Сравнительный анализ кодируемых генами аминокислотных последовательностей показал, что *StPSY1* и *StPSY2* идентичны друг другу на 79% (100% покрытие последовательностей при сравнении) и *StPSY1/StPSY2* с *StPSY3* — на 69%/65% (покрытие 71%/74%). Все три последовательности содержат фитоинсинтазный домен (PLN02632) в положениях 75—406 (*StPSY1*, размер белка 412 аа), 92—430 (*StPSY2*, 438 аа), 63—380 (*StPSY3*, 384 аа). Сравнение последовательностей *StPSY1* и *StPSY2* выявило отсутствие на N-конце *StPSY1* мотивов FPSP и RQEWNFGFLNADLRYSC (рис. 1а), что является основным различием белков. Предсказанный согласно [13] функционально значимый сайт отщепления N-концевого транзитного пептида, ответственного за пластидную локализацию *StPSY*, может находиться в положениях V61/R62 (*StPSY1*), V85/Q86 (*StPSY2*) и V55/Q56 (*StPSY3*).

Филогенетический анализ, проведенный с использованием гомологичных белков из других видов растений, позволил построить дендрограмму, где четко прослеживается формирование гомологами *PSY1* и *PSY2* видов Пасленовых отдельных кластеров, сестринскую ветвь к которым образует единственный белок *PSY A. thaliana* (рис. 1б). При этом гомологи *PSY3* формируют отдельный кластер, занимая базовую позицию в дендрограмме (рис. 1б).

В совокупности, полученные структурно-филогенетические данные свидетельствуют в пользу наиболее древнего происхождения гена *PSY3* среди генов фитоинсинтаз, в согласии с предположением, выдвинутым ранее [3, 10]. С учетом известного участия изофермента *PSY1* в синтезе каротиноидов в тканях репродуктивных органов (цветков, плодов, зерен) можно предположить, что ген *StPSY1* возник эволюционно позднее гена *StPSY2*, возможно, в результате дупликации последнего с изменением регуляторных областей и 5'-концевой последовательности гена и, как следствие, приобретением им новых функций. Размер гена *StPSY1* (4731 пн, 7 экзонов) больше, чем *StPSY2* (4020 пн, 7 экзонов), и оба гена по размеру существенно превышают *StPSY3* (3440 пн, 6 экзонов). В пользу более раннего происхождения *StPSY3* также свидетельствует отсутствие у гена нетранслируемой области 5'-UTR, предполагающее упрощенную регуляцию гена [14], и наличие такой области в случае *StPSY1* и *StPSY2* (1635 и 1074 пн соответственно).



Таким образом, предполагая, что *PSY1* и *PSY2* возникли в результате дупликации гена-предшественника, *PSY3*, с вероятным приобретением новых и сохранением старых функций, а также учитывая данные об участии *PSY3* в стрессовых ответах растения, был проведен анализ профиля экспрессии генов *StPSY1*, *StPSY2* и *StPSY3* в ответ на холодовый стресс. В опыте использовали ранний сорт картофеля Леди Клэр, который пригоден для выращивания в средней полосе России и рекомендуется к высадке в мае, когда в регионе часто случаются возвратные ночные похолодания.

Используя индивидуальные клубни сорта, были получены проростки и доведены до стадии образования 6–7 листьев в условиях экспериментальной установки искусственного климата (ЭУИК ФИЦ Биотехнологии РАН) при длинном фотопериоде и оптимальной для выращивания картофеля температуре (день/ночь 16 ч/8 ч; 23°C). Данные растения были подвергнуты воздействию холодового стресса (3°C) в течение ночи (8 ч) для имитации ночного похолодания. Листовой материал собирали в трех временных точках: (точка '0') непосредственно до начала холодового стресса и темновой фазы (конец световой фазы); ('6') 6 ч холодового стресса и темновой фазы; ('12') 4 ч после возврата в тепло с наступлением световой фазы (рис. 2). В процессе эксперимента опытные растения инкубировались вместе с контрольными в климатической камере с аналогичным световым режимом и температурой 23°C и на время темновой фазы переносились в климатическую камеру, поддерживающую температуру 3°C. Выбор временных точек был основан на данных о суточных колебаниях уровня экспрессии генов *PSY1* и *PSY2*. Ранее показано, что днем значимый уровень экспрессии наблюдается для обоих генов, тогда как ночью фотозависимая экспрессия *PSY2* падает; каротиногенез, необходимый для темновой фазы фотосинтеза, поддерживается активностью *PSY1*, предположительно, от света не зависящей [8].

Опыт проводили в двух биологических и трех технических повторях. Измельченный растительный материал использовали для выделения и очистки суммарной РНК (наборы RNeasy Plant Mini Kit и RNase-free DNase set; QIAGEN, Германия), на основе которой синтезировали кДНК (GoScript™ Reverse Transcription System, Promega, США). Экспрессию генов *StPSY1*, *StPSY2* и *StPSY3* определяли с помощью количественной ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с использованием 3 нг кДНК, набора "Реакционная смесь для проведения ПЦР-РВ в присутствии красителя SYBR Green I и референсного красителя ROX" (ООО "Синтол", Россия), CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, США) и программы [5 мин 95°C; 40 циклов (15 с 95°C; 50 с 62°C)].

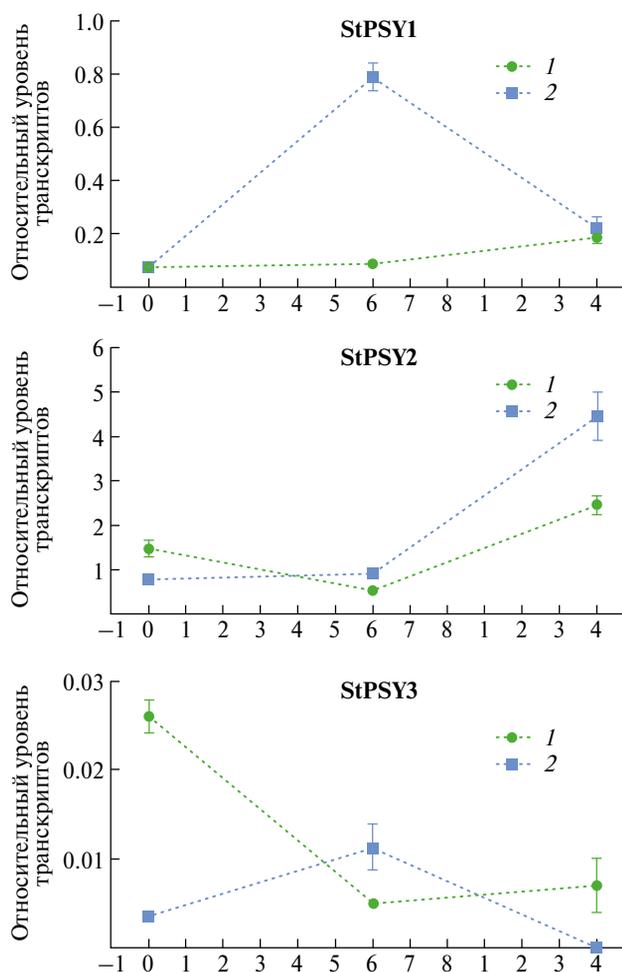
В результате было показано, что в нормальных условиях уровень экспрессии гена *StPSY1* не изменяется при переносе растений в темноту (контроль,

'6' vs. '0') и возрастает через 4 ч после начала световой фазы (контроль, '12' vs. '6'). При воздействии холода (опыт, '6' vs. '0') уровень транскриптов гена *StPSY1* поднимается в ~8 раз, а при возврате в тепло (опыт, '12' vs. '6') опускается в ~3 раза (рис. 2).

В соответствии с предполагаемой главной ролью *PSY2* в каротиногенезе в фотосинтезирующих тканях [8, 9], уровень транскриптов *StPSY2* в проростке картофеля на один и два порядка выше, чем в случае *StPSY1* и *StPSY3* соответственно (рис. 2). При переносе растений в темноту (контроль, '6' vs. '0') экспрессия *StPSY2* и *StPSY3* снижается в ~2.5 и 4 раза соответственно и через 4 ч после начала дня (контроль, '12' vs. '6') вырастает в ~3 раза (*StPSY2*) или не меняется (*StPSY3*). При воздействии холода (опыт, '6' vs. '0') уровень транскриптов не меняется (*StPSY2*) или растет в ~2 раза (*StPSY3*), а при возврате в тепло (опыт, '12' vs. '6') поднимается в ~5 раз (*StPSY2*) или падает почти до нуля (*StPSY3*) (рис. 2).

Поддержание экспрессии *StPSY1* на дневном уровне в темноте (контроль, '0' vs. '6') (рис. 2) говорит о возможном участии гена в темновой фазе фотосинтеза в растении и о наличии путей фотонезависимой регуляции активности гена. Одновременное падение уровня мРНК генов *StPSY2* и *StPSY3* (контроль, '0' vs. '6') (рис. 2) свидетельствует о регуляции их экспрессии фотозависимым образом. Учитывая разницу в уровне транскриптов в точке '6' для двух температур (опыт 3°C vs. контроль 23°C) (рис. 2), можно утверждать, что экспрессия всех трех генов *StPSY* в разной степени (*StPSY1* — значительно большей, чем *StPSY2* и *StPSY3*) стимулируется воздействием холода.

Для понимания особенностей регуляции экспрессии генов *StPSY1*, *StPSY2* и *StPSY3* был проведен поиск *cis*-регуляторных элементов, ассоциированных с ответом на свет, холод и АБК, в промоторе (1.5 кб) и 5'-UTR генов. В результате было обнаружено 30 (*StPSY1*), 40 (*StPSY2*) и 5 (*StPSY3*) элементов, подавляющее большинство которых (соответственно 24, 29 и 5) представлено чувствительными к свету мотивами (табл. 1), что согласуется с реакцией генов на наличие освещения (рис. 2). АБК-ассоциированных элементов было найдено 5, 11 и 0 соответственно. И только регуляторная область *StPSY1* содержала один мотив (LTR), связанный с ответом на низкие температуры (табл. 1), что согласуется с его повышенной (в сравнении с *StPSY2* и *StPSY3*) реакцией на холодовый стресс (рис. 2). Помимо вышеназванных элементов, регуляторные области всех трех генов содержали сайты (*StPSY1* — 54, *StPSY2* — 33, *StPSY3* — 17), ассоциированные со стрессовым ответом, чувствительностью к другим фитогормонам, кроме АБК, и связыванием с транскрипционными факторами. Данные элементы также могут влиять на регуляцию генов *StPSY* в ответ на холодовый стресс, но не столь очевидно.



		<i>StPSY1</i>	<i>StPSY2</i>	<i>StPSY3</i>
<b>1 vs. 1</b>	1/'0' vs. 1/'6'	0.9997	0.0005	<0.0001
	1/'0' vs. 1/'12'	0.0004	0.0002	<0.0001
	1/'6' vs. 1/'12'	0.0014	<0.0001	0.8541
<b>2 vs. 2</b>	2/'0' vs. 2/'6'	<0.0001	0.9979	0.0014
	2/'0' vs. 2/'12'	<0.0001	<0.0001	0.5098
	2/'6' vs. 2/'12'	<0.0001	<0.0001	0.0008
<b>3 vs. 3</b>	1/'0' vs. 2/'0'	>0.9999	0.0073	<0.0001
	1/'0' vs. 2/'6'	<0.0001	0.0397	<0.0001
	1/'0' vs. 2/'12'	<0.0001	<0.0001	<0.0001
	2/'0' vs. 1/'6'	0.9972	0.9574	0.9658
	2/'0' vs. 1/'12'	0.0002	<0.0001	0.2325
	1/'6' vs. 2/'6'	<0.0001	0.5912	0.0136
	1/'6' vs. 2/'12'	<0.0001	<0.0001	0.2042
	2/'6' vs. 1/'12'	<0.0001	<0.0001	0.1378
	1/'12' vs. 2/'12'	0.7166	<0.0001	0.0316

**Рис. 2.** Уровень экспрессии генов *StPSY1* (NCBI Gene ID 102593756), *StPSY2* (102589336) и *StPSY3* (102603193) в листовой ткани контрольных (1) и опытных (2) проростков [0 ч 23°C ('0'); 6 ч темновой фазы, 23°C/3°C ('6'); 4 ч световой фазы 23°C ('12')] образцов картофеля сорта Леди Клэр. Дневной и ночной периоды обозначены под графиками белым и серым боксами соответственно. Праймеры: *PSY1* (5'-catgctcgatggctgttgc-3' и 5'-gacttctcaagtc-catacagca-3'); *PSY2* (5'-aactgagctctgtagtagatg-3' и 5'-gcactagatcttcgataagca-3'); *PSY3* (5'-gcctagttagccattcaatagac-3' и 5'-gcctagagtgtgatgaacgattc-3'). Данные нормализованы по двум референсным генам: *ef11* (LOC102600998; 5'-attggaacggatagctcca-3' и 5'-tccttactgaacgcctgtca-3') и *SEC3A* (LOC102599118; 5'-gcttgcacagccatcaat-3' и 5'-tggattttaccacctccgca-3'). Статистическая обработка (one-way ANOVA; "multiple comparisons, corrected with Bonferroni test") проведена с помощью GraphPad Prism v. 8 (GraphPad Software Inc., США) на основе двух биологических и трех технических повторов ( $p < 0.05$  для значимых различий); в таблице (справа) красным выделены  $p$ -value для незначимых различий.

В целом, результаты структурно-функционального анализа генов фитоинсинтаз картофеля предполагают участие *StPSY1*, *StPSY2* и *StPSY3* в ответе растения на холод. Наибольшая среди генов реакция *StPSY1* может быть связана с наличием *цис*-регуляторных элементов, ассоциированных с чувствительностью к холоду и АБК (апокаротиноид). Участие в ответе на холод *StPSY2* и *StPSY3* менее заметно и может зависеть от количества АБК (*StPSY2*) и/или других фитогормонов (*StPSY2* и *StPSY3*). В то же время экспрессия всех трех генов находится под регуляторным воздействием освещения, что для *StPSY3* показано впервые.

Таким образом, *PSY1* и *PSY2* могли унаследовать от эволюционно более древнего гена *PSY3* роль в синтезе каротиноидов, светочувствительность и базовую способность реагировать на стрессовые факторы. Усложнение функций генов *PSY1* и *PSY2*, вероятно, связано с существенными эволюционными модификациями, как в регуляторной области (приобретение 5'-UTR, обогащение промотора регуляторными элементами), так и в кодирующей последовательности (транзитный пептид, каталитический домен). Как результат можно отметить существенно более высокие в сравнении с *PSY3* уровни экспрессии обоих генов

**Таблица 1.** Свет-, холод- и АБК-чувствительные *cis*-регуляторные элементы, обнаруженные в области промотора и 5'-UTR генов *StPSY1*, *StPSY2* и *StPSY3*

Ген	Количество <i>cis</i> -регуляторных элементов, промотор/5'-UTR															
	Светочувствительные элементы														АБК	Холод
	TCCC-motif	Box 4	ATC-motif	GATA-motif	TCT-motif	ACE	AE-box	MRE	Box II	G-box	GTT-motif	chis-CMA1a	Gap-box	LAMP-element	wABRE	LTR
<i>StPSY1</i>	0/0	4/0	0/0	1/0	0/1	1/0	0/1	4/1	1/0	2/4	3/1	0/0	0/0	0/0	2/3	1/0
<i>StPSY2</i>	0/1	2/1	0/0	1/1	2/0	0/0	0/1	1/0	1/1	6/3	2/2	1/0	0/1	1/1	7/4	0/0
<i>StPSY3</i>	1/-	1/-	2/-	1/-	0/-	0/-	0/-	0/-	0/-	0/-	0/-	0/-	0/-	0/-	0/-	0/-

Поиск осуществлялся в программе PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)

в тканях растений, а также усиленную реакцию *StPSY1* на холодовой стресс.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке ФНТП развития сельского хозяйства РФ на 2017—2025 гг. (под-программа “Развитие селекции и семеноводства картофеля в Российской Федерации”).

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ И СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Stra A., Almarwaey L. O., Alagoz Y., et al.* Carotenoid Metabolism: New Insights and Synthetic Approaches // *Front. Plant Sci.* 2023. V. 13. P. 1072061.
2. *Shumskaya M., Bradbury L. M. T., Monaco R. R., et al.* Plastid Localization of the Key Carotenoid Enzyme Phytoene Synthase is Altered by Isozyme, Allelic Variation, and Activity[W] // *Plant Cell.* 2012. V. 24(9). P. 3725–3741.
3. *Stauder R., Welsch R., Camagna M., et al.* Strigolactone Levels in Dicot Roots are Determined by an Ancestral Symbiosis-regulated Clade of the PHYTOENE SYNTHASE Gene Family // *Front. Plant Sci.* 2018. V. 9. P. 255.
4. *Bartley G. E., Viitanen P. V., Bacot K. O., et al.* A Tomato Gene Expressed During Fruit Ripening Encodes an Enzyme of the Carotenoid Biosynthesis Pathway // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267(8). P. 5036–5039.
5. *Bartley G. E., Scolnik P. A.* cDNA Cloning, Expression During Development, and Genome Mapping of PSY2, a Second Tomato Gene Encoding Phytoene Synthase // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268(34). P. 25718–25721.
6. *Li F. Q., Vallabhaneni R., Wurtzel E. T.* PSY3, a New Member of the Phytoene Synthase Gene Family Conserved in the Poaceae and Regulator of Abiotic Stress-induced Root Carotenogenesis // *Plant Physiol.* 2008. V. 146(3). P. 1333–1345.
7. *Welsch R., Wust F., Bar C., et al.* A Third Phytoene Synthase is Devoted to Abiotic Stress-induced Abscisic Acid Formation in Rice and Defines Functional Diversification of Phytoene Synthase Genes // *Plant Physiol.* 2008. V. 147(1). P. 367–380.
8. *Li F., Vallabhaneni R., Yu J., Rocheford T., et al.* The Maize Phytoene Synthase Gene Family: Overlapping Roles for Carotenogenesis in Endosperm, Photomorphogenesis, and Thermal Stress Tolerance // *Plant Physiol.* 2008. V. 147(3). P. 1334–1346.
9. *Fantini E., Falcone G., Frusciante S., et al.* Dissection of Tomato Lycopene Biosynthesis through Virus-induced Gene Silencing // *Plant Physiol.* 2013. V. 163(2). P. 986–998.
10. *Lisboa M. P., Canal D., Filgueiras J. P. C., et al.* Molecular Evolution and Diversification of Phytoene Synthase (PSY) Gene Family // *Genetics and Molecular Biology.* 2022. V. 45(4). P. e20210411.
11. *Valcarcel J., Reilly K., Gaffney M., et al.* Levels of Potential Bioactive Compounds Including Carotenoids, Vitamin C and Phenolic Compounds, and Expression of Their Cognate Biosynthetic Genes Vary Significantly in Different Varieties of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Grown Under Uniform Cultural Conditions // *J. Sci. Food Agric.* 2016. V. 96(3). P. 1018–1026.
12. *Кулакова А. В., Шенникова А. В., Кочиева Е. З.* Экспрессия генов биогенеза каротиноидов в процессе длительного холодового хранения клубней картофеля // *Генетика.* 2023. Т. 59(8). С. 914–928.
13. *Giorio G., Stigliani A. L., D'Ambrosio C.* Phytoene Synthase Genes in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.): New Data on the Structures, the Deduced Amino Acid Sequences and the Expression Patterns // *FEBS Letters.* 2008. V. 275. P. 527–535.
14. *Ryzek N., Łys A., Makołowska I.* The Functional Meaning of 5'UTR in Protein-coding Genes // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24(3). P. 2976.

***SOLANUM TUBEROSUM* L. PHYTOENE SYNTHASE GENES  
(*StPSY1*, *StPSY2*, *StPSY3*) PARTICIPATE IN THE POTATO PLANT'S  
RESPONSE TO COLD STRESS**

**A. V. Kulakova<sup>a, #</sup>, A. V. Shchennikova<sup>a</sup>, and E. Z. Kochieva<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Institute of Bioengineering, Federal Research Center "Fundamentals of Biotechnology"  
of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

<sup>#</sup>*e-mail: kulakova\_97@mail.ru*

Presented by Academician of the RAS V.O. Popov

The structure and phylogeny of the genes *StPSY1*, *StPSY2* and *StPSY3*, encoding phytoene synthases from *Solanum tuberosum* L., were characterized. The expression of these genes in potato seedlings was studied in response to exposure to cold stress in the dark phase of the diurnal cycle as an imitation of night cooling. It was found that all three genes are activated when the temperature decreases, and the greatest response is observed for *StPSY1*. The response of the *StPSY3* gene to cold stress and photoperiod has been demonstrated for the first time. A search was carried out for *cis*-regulatory elements in the promoter region and 5'-UTR of the *StPSY* genes and it was shown that the regulation of all three genes is associated with the response to light. The high level of low-temperature activation of the *StPSY1* gene may be associated with the presence of *cis*-elements associated with sensitivity to cold and ABA.

*Keywords:* potato, *Solanum tuberosum*, carotenoid biosynthesis, phytoene synthase PSY, cold stress