

Геномика устойчивости картофеля к пектобактериозам

Е.А. Николайчик^{1*}, А.В. Колубако¹, Е.В. Шруб¹, А.Ю. Некрашевич¹, В.А. Козлов²

¹ Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

² Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству, Минская область, аг. Самохваловичи, Республика Беларусь

* nikolaichik@bsu.by

Цель: Поиск генетических детерминант устойчивости и чувствительности к бактериальным патогенам рода *Pectobacterium* путем комплексного анализа генетических ресурсов диких видов картофеля.

Материалы и методы: Секвенирование генома выполнено по технологии длинных прочтений, сборка генома – с помощью Flye 2.9.5. Маскирование повторов проведено с использованием Repeatmasker 4.1.5, аннотация генома – с использованием Braker 3.0.8 с 8 раундами оптимизации Augustus 3.5. Взаимодействующие с эффектором DspE рецепторные протеинкиназы выявляли с помощью LexA-зависимой дрожжевой двухгибридной системы. Вирус-индуцированный сайленсинг генов (ВИГС) проводили с помощью вектора TRV2 и штамма *Agrobacterium tumefaciens* GV3101.

Результаты: Фитопатогены рода *Pectobacterium*, в условиях Беларуси прежде всего *P. versatile* и *P. atrosepticum*, вызывают «черную ножку» стеблей и мягкую гниль клубней картофеля и являются наиболее вредоносными бактериальными возбудителями заболеваний картофеля. Отсутствие сортов картофеля с существенной полевой устойчивостью к этим патогенам обусловлено, по крайней мере частично, слабым пониманием механизмов распознавания *Pectobacterium* spp. в растении-хозяине. Пектобактерии долгое время считались некротрофами, массово производящими экзоферменты для разрушения растительных клеток и подавления иммунитета. С помощью мутагенеза, сайленсинга, скрининга белковых взаимодействий и транскриптомных исследований мы выявили более сложную и динамичную природу молекулярных взаимодействий между пектобактериями и растениями-хозяевами. Ключевыми моментами таких взаимодействий в контексте устойчивости к патогену являются раннее распознавание растением основного эффекторного белка DspE и реорганизация гормональной сигнализации при контакте растения с патогеном. Коррекция аннотации референсного генома картофеля на основе транскриптомных данных позволила выявить неаннотированные гены биосинтеза абсцизовой кислоты и установить центральную роль этого гормона в обеспечении устойчивости к пектобактериям. Среди рецепторподобных киназ (RLK) растений семейства *Solanaceae*, включая дикие виды картофеля с недавно расшифрованными геномами, мы идентифицировали четыре RLK, взаимодействующих с DspE в дрожжевой двухгибридной системе. ВИГС ортологов трех RLK у оптимального для этой процедуры растения *Nicotiana benthamiana* показал их необходимость для развития некроза при заражении *P. versatile*, что предполагает возможность использования этих RLK в качестве R-генов в селекции на устойчивость.

В отличие от *N. benthamiana*, растения *S. tuberosum* устойчивы к вирусу TRV, что не позволяет использовать основанные на TRV векторы для проведения ВИГС у культурного картофеля. Оценка возможности использования процедуры ВИГС в качестве быстрой методики скрининга генных нокаутов на разных диких видах картофеля показала пригодность для этих целей *S. bulbocastanum* и *S. hjertingii*. Эти виды показали высокую устойчивость к заражению *Pectobacterium* spp., однако имели существенные недостатки для наших целей: низкую семенную продуктивность диплоида *S. bulbocastanum* и отсутствие информации о геномной последовательности *S. hjertingii*.

«Черновик» геномной последовательности *S. hjertingii* показывает размер более 1.4 млрд н. п. и подтверждает один из мексиканских диплоидных видов как источник генома В. Аннотация с последующим анализом протеома выявили гомологи охарактеризованных ранее рецепторподобных киназ, взаимодействующих с DspE, причем четко прослеживается 100%-е (или почти 100%-е) сходство ортологов этих RLK, кодируемых геномом В, с таковыми *S. bulbocastanum*. Для одной из этих RLK подтверждено взаимодействие с пектобактериальным эффектором в дрожжевой двухгибридной системе, а ВИГС ее гена характеризует его как ген чувствительности (S-ген) и перспективную мишень для геномного редактирования.

Выводы: Устойчивость растений картофеля к *Pectobacterium* spp. может быть достигнута с помощью DspE-специфических рецепторных киназ и контроля уровня абсцизовой кислоты.

Финансирование: Исследования поддержаны Министерством образования Республики Беларусь (проект № 20241129) и грантом БРФФИ № Б24М-035.