

Транскриптомный профайлинг клубней картофеля в динамике длительного холодого хранения

А.В. Быкова*, Е.З. Кочиева, А.В. Щенникова

Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, ФИЦ «Биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия

* kulakova_97@mail.ru

doi 10.18699/PlantGen2025-

Цель: Выявление генов, определяющих различия между основными фазами длительного хранения клубней картофеля при низких положительных температурах.

Материалы и методы: В исследовании использовался сорт картофеля (*Solanum tuberosum* L.) Леди Клэр. При сборе урожая с одного растения были отобраны клубни сходного размера (90–100 г), которые далее были помещены на хранение при температуре 3 ± 1 °C в темноте на период 3.5 и 7 месяцев соответственно. Для отбора образцов на анализ (по 2 биологических повтора) были использованы точки '0' (перед закладкой на холод), '3.5' (3.5 месяца холодого хранения) и '7' (7 месяцев). Образец представлял собой сектор (включая и кожуру, и мякоть), вырезанный из средней части клубня. Из каждой пробы была выделена суммарная РНК, и на основе препаратов были подготовлены и секвенированы (HiSeq2500) шесть библиотек мРНК. Полученные чистые чтения были использованы для сборки и аннотации транскриптомов (Trinity 2.1.1), включая нормализацию уровней транскриптов между образцами и определение дифференциально экспрессирующихся генов.

Результаты: Для каждого образца было получено около 17 миллионов одноконцевых прочтений длиной 100 п.н. После удаления некачественных и содержащих адаптеры последовательностей чистые чтения были сопоставлены с геномом картофеля сорта DM 1-3 516 R44 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000226075.1/). Из 31629 аннотированных в ГенБанке генов в образцах '0'-1/2 найдены транскрипты 23426, '3.5'-1/2 – 22604 и '7'-1/2 – 22576 дифференциально экспрессированных генов (ДЭГ). Было определено, что vs. '0'-1/2 в транскриптомах '3.5'-1/2 и '7'-1/2 значимо активировано 4746 и 4882 генов и репрессировано 5945 и 5911 генов соответственно. Анализ ДЭГ на предмет возможных функций показал, что уже спустя 3.5 месяца холодого хранения ('3.5') клубни выходят из состояния физиологического покоя, так как уровень экспрессии гена-маркера выхода, кодирующего dUTPase (deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase), увеличился на порядок ('3.5' vs. '0') и сохранил свое значение до прорастания клубня ('3.5' vs. '7'). Выход сопровождался активацией процессов углеводного метаболизма, связанных с гидролизом сахарозы и его ингибированием, синтезом и деградацией крахмала, транспортом сахаров. Значимо увеличилось число транскриптов генов, ассоциированных с ответом на фитогормоны (этилен, ауксины, гиббереллины, АБК). Другие свидетельства выхода клубней из состояния покоя – значительное увеличение экспрессии генов, чьи белковые продукты связаны с дифференцировкой и делением клеток, закладкой органов, переносом фитогормонов и вторичных метаболитов и инициацией цветения (транскрипционные факторы (ТФ) WUS, ATHB-15, MYB30, MOTHER of FT and TF1, SOC1, AGL27, MADS23, RICESLEEPER1, BLH8, bZIP53, NRT1/PTR, др.). Помимо этого, была показана резкая активация генов, которые могут участвовать в ответе клубней на холодовой стресс (гены ТФ GI, HY5, NAC29, NAC56, NAC100, WRKY3, WRKY65, DREB, др.) и которые ассоциированы с антиоксидантной активностью, сохранением свежести и потерей влаги клубнями во время хранения (PAL, patatin, NAC53, ERD15, MYB48). О стрессовом ответе клубней может также свидетельствовать дифференциальная регуляция регуляторных и структурных генов биосинтеза флавоноидов/антоцианов (кодирующих ТФ WD40, MYB, TTG1 (GLABRA1), а также ферменты FMO, OMT1, F3'5'H, flavonol 3-sulfotransferase-like, FLS, F3H, UFGT, ANS, DFR) и каротиноидов (STAY-GREEN, PSY1, PSY2, PDS, CRTISO, crtRB1, DWARF27, CCD1, CCD4, CYP97C1, ZE).

Выводы: Проведен сравнительный транскриптомный анализ клубней картофеля в динамике длительного холодого хранения (три точки: закладка после сбора урожая на хранение, 3.5 и 7 месяцев хранения при 3 °C). Выявлены свидетельства значимых модификаций генетических программ, которые направлены на сохранение клубня, определение его выхода из состояния физиологического покоя и подготовку к прорастанию. Показано, что в процессе длительного холодого хранения происходит преимущественное подавление экспрессии генов биосинтеза флавоноидов/антоцианов и каротиноидов. Впервые установлено, что выход из состояния физиологического покоя клубня может находиться под контролем генетической программы, близкой к программе регуляции инициации цветения растения.

Финансирование: Исследование поддержано ФНТП развития сельского хозяйства РФ на 2017–2025 гг. (подпрограмма «Развитие селекции и семеноводства картофеля в Российской Федерации», рег. № 123071400015-8) и МОН РФ.