

БИОЛОГИЯ**BIOLOGY**УДК 581.1;633/635;577.359
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2025-69-6-488-497>Поступило в редакцию 15.05.2025
Received 15.05.2025**А. А. Смирнов, Е. М. Кабачевская, академик И. Д. Волотовский***Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларусь,
Минск, Республика Беларусь***ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *R1* И *PR1* В ЛИСТЬЯХ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) СОРТОВ БЕЛОРУССКОЙ СЕЛЕКЦИИ,
РАЗЛИЧНЫХ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ФИТОФТОРОЗУ**

Аннотация. Проведено исследование динамики экспрессии генов *R1* и *PR1* в тканях листьев картофеля (*Solanum tuberosum* L.) высокоустойчивого к фитофторозу сорта Вектар и низкоустойчивого сорта Уладар в норме и при их заражении в течение 3 суток *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, определены общие и сортоспецифические закономерности в защитных ответах на уровне относительной экспрессии изученных генов. Обнаружено, что в отсутствии заражения в листьях сорта Вектар детектируется экспрессия *R1*, которая незначительно возрастает после заражения листьев фитофторой. В неустойчивом сорте Уладар экспрессия *R1* не зафиксирована ни в здоровых, ни в зараженных листьях. Экспрессия *PR1* в сорте Вектар присутствует в клетках незараженных листьев и увеличивается при заражении. Сорт Уладар характеризуется существенно более низким уровнем экспрессии *PR1* в незараженных и зараженных листьях по сравнению с сортом Вектар, однако более существенной в сравнении с ним ее активацией в ответ на атаку патогена. Обнаружено, что экзогенный донор этилена этефон оказывает стимулирующее влияние на экспрессию *R1* в сорте Вектар и экспрессию *PR1* в обоих сортах. Салициловая кислота оказывает существенное положительное влияние на экспрессию *R1* и *PR1* в сорте Вектар, но ингибирует накопление транскриптов *PR1* в сорте Уладар. Синтетический брассиностериоид эпин оказывает отрицательное действие на транскрипцию *R1* и *PR1* в обоих сортах. Полученные профили экспрессии генов *R1* и *PR1* у чувствительного и устойчивого сортов картофеля к действию фитофторы на фоне одновременного действия фитогормонов могут стать основой для ранней оценки чувствительности селекционных сортов картофеля к действию указанного фитопатогена.

Ключевые слова: картофель (*Solanum tuberosum* L.), фитофтороз, *R*-гены, *PR*-гены, салициловая кислота, этилен, брассиностериоиды

Для цитирования. Смирнов, А. А. Экспрессия генов *R1* и *PR1* в листьях картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сортов белорусской селекции, различных по устойчивости к фитофторозу / А. А. Смирнов, Е. М. Кабачевская, И. Д. Волотовский // Доклады Национальной академии наук Беларусь. – 2025. – Т. 69, № 6. – С. 488–497. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2025-69-6-488-497>

Andrei A. Smirnov, Elena M. Kabachevskaya, Academician Igor D. Volotovsky*Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus***EXPRESSION OF *R1* AND *PR1* GENES IN LEAVES OF BELARUSIAN-BREEDED POTATO (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) VARIETIES WITH DIFFERENT RESISTANCE TO LATE BLIGHT**

Abstract. The dynamics of *R1* and *PR1* gene expression in leaves of potato (*Solanum tuberosum* L.) highly resistant cultivar Vector and susceptible to late blight cultivar Uladar under normal conditions and after 3-day infection with *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary was studied. In the absence of infection, the expression of *R1* was detected in the leaves of the Vector, which was slightly increased after infection of leaves with late blight. In the susceptible Uladar *R1* expression was not detected in either healthy or infected leaves. *PR1* expression in the Vector was present in the cells of uninfected leaves and increased during infection. The Uladar was characterized by a significantly lower level of *PR1* expression in uninfected and infected leaves as compared to Vector, but activation of *PR1* expression in response to the pathogen attack was more

significant in the Uladar than in the Vector. The exogenous ethylene donor ethephon has a stimulating effect on expression of *R1* in the Vector and expression of *PRI* in both cultivars. Exogenous salicylic acid has a significant positive effect on the expression of *R1* and *PRI* in the Vector, but inhibited the accumulation of *PRI* transcripts in the Uladar. The synthetic brassinosteroid epin has an inhibitory effect on the transcription of *R1* and *PRI* in both cultivars. The obtained data reflect general and cultivar-specific patterns in defense responses at the level of relative expression of the studied genes. The obtained expression profiles of the *R1* and *PRI* genes in potato varieties sensitive and resistant to the action of phytopathogenic microflora, against the background of the simultaneous action of phytohormones, can become the basis for an early assessment of the sensitivity of breeding potato varieties to the action of the specified microflora.

Keywords: potato (*Solanum tuberosum* L.), late blight, *R*-genes, *PR*-genes, salicylic acid, ethylene, brassinosteroids

For citation. Smirnov A. A., Kabachevskaya E. M., Volotovsky I. D. Expression of *R1* and *PRI* genes in leaves of belarusian-bred potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties with different resistance to late blight. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2025, vol. 69, no. 6, pp. 488–497. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2025-69-6-488-497>

Введение. Картофель (*Solanum tuberosum* L.) – одна из самых востребованных сельскохозяйственных культур в мире. Ежегодно инфекционные заболевания наносят ущерб его урожайности и сохранности при хранении. Одним из наиболее вредоносных патогенов картофеля является хемибиотрофный оомицет фитофтора (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary). Высокоэффективной стратегией борьбы с фитопатогенами, в том числе фитофторой, является селекция высокоустойчивых сортов, а также создание эффективных средств борьбы с ними. Изучение фундаментальных механизмов формирования естественной устойчивости и протекания защитных реакций растений является необходимым этапом как для обнаружения перспективных селективных маркеров, ценных для выведения более устойчивых сортов, так и для создания биобезопасных средств защиты от фитопатогенов.

В рамках реализации реакций врожденного иммунитета растение развивает многокомпонентный защитный ответ, который включает в себя изменение и перепрограммирование экспрессии большого числа генов, изменение активности биосинтеза и различных белков, в том числе транскрипционных факторов, ферментов, катализирующих образование защитных соединений, и пр. Ключевую роль в формировании растительного иммунитета играют представители двух групп защитных генов и кодируемых ими белков: *R*-гены (от англ. Resistance) и *PR*-гены (Pathogenesis Related).

R-гены представляют собой обширную группу генов, продукты экспрессии которых отвечают за прямое или косвенное распознавание эффекторов, секрецируемых патогенами, и инициацию защитных реакций растений, в том числе системную приобретенную устойчивость [1]. Самый большой класс *R*-генов – NBS-LRR (Nucleotide Binding Sites, сайты связывания нуклеотидов / Leucine Rich Repeats, повторы, богатые лейцином). Распознавание патогенных эффекторов обычно опосредовано LRR-доменом, в то время как NBS-домен функционирует как молекулярный переключатель, активирующий нижестоящие компоненты сигнальной цепи, которые инициируют защиту растений [2]. *R*-гены представляют собой немалый интерес для селекционеров картофеля, так как именно они в значительной степени определяют высокую устойчивость к фитофторозу диких видов рода *Solanum*, и при этом *R*-гены мало характерны для культурного картофеля. В ходе селекции путем интродукции такие *R*-гены уже в течение нескольких десятилетий вводят в геном *S. tuberosum* от различных видов того же рода. Одним из расоспецифичных *R*-генов, важных для повышения устойчивости картофеля к фитофторе, является ген *R1*, расположенный на хромосоме картофеля V в QTL-регионе (Quantitative Trait Locus, локус количественных признаков) устойчивости к фитофторозу [3]. В геномах сортов культурного картофеля *R1* присутствует преимущественно от мексиканского дикого вида *S. demissum* или, в меньшей степени, от *S. stoloniferum* [4]. В существующем на сегодняшний день селекционном материале до 40 % устойчивости к фитофторозу объясняется присутствием этого гена [5], что повышает актуальность углубленного изучения особенностей его функционирования в растениях картофеля, в том числе в сортах белорусской селекции.

PR-гены, которые активируются в ответ на действие биотических и абиотических стрессовых факторов внешней среды, представляют собой особую группу генов. Их принято подразделять на 17 различных классов (*PRI*–*PR17*). Способ действия большинства *PR*-белков хорошо оха-

рактеризован, за исключением класса PR1, который принадлежит к широко распространенному суперсемейству белков, содержащих общий домен CAP (названо в честь трех его основных представителей: богатых цистеином секреторных белков человека (CRISP), антигена 5 (Ag5) жалящих насекомых и связанных с патогенезом белков 1 (PR1) растений) [6]. Белки этого семейства экспрессируются не только в растениях, но и у людей, а также во многих различных патогенах, включая фитопатогенные нематоды и грибы. Важность PR1-белков в иммунной защите подтверждается тем фактом, что сверхэкспрессия *PR1* в растениях приводит к повышенной устойчивости к патогенам [6]. Однако PR1-подобные CAP-белки также продуцируются фитопатогенами, и удаление этих генов приводит к снижению вирулентности, что позволяет предположить, что CAP-белки могут выполнять как защитные, так и наступательные функции. Имеются сведения, что растительный белок PR1 протеолитически расщепляется, чтобы высвободить С-концевой пептид CAPE1, которого достаточно для активации иммунного ответа. Образование этого сигнального пептида блокируется патогенными эффекторами, чтобы избежать иммунной реакции [6]. В отношении растений картофеля последние данные свидетельствуют о наличии 22 изоформ *PR1*-генов в геноме картофеля, 13 из которых показывают повышенную экспрессию при инфицировании *Ph. infestans* [7].

Для эффективной передачи сигналов о заражении и активизации ответных защитных реакций в растениях эволюционно сформировалась сложная сеть регуляторных путей, в обеспечении функционирования которой, наряду с вышеописанными группами защитных белков, участвует большое количество других соединений, в том числе фитогормонов. Согласно современным представлениям, фитогормоны салициловая кислота и этилен играют ключевую роль в проведении сигналов о заражении растения патогеном. Кроме того, все большее внимание привлекает связь развития ответных реакций на патогенную атаку с брацисиностероидами [8].

Несмотря на значительную роль *R1*- и *PR1*-генов в формировании устойчивости растений к инфекции, особенности их экспрессионных паттернов в сортах картофеля белорусской селекции практически не изучены. В данном контексте актуальным представляется исследование участия *R1* и *PR1* в реализации механизмов резистентности сортов картофеля, контрастных по устойчивости к фитофторозу листьев, в ответ на заражение фитофторой, а также оценка роли в контроле данных процессов сигнальных систем, ассоциированных с активностью защитных фитогормонов или их аналогов (салициловая кислота, донор этилен, брацисиностероид эпин).

Материалы и методы исследования. В качестве объектов исследования использовали растения картофеля *S. tuberosum* L. высокоустойчивого к фитофторозу листьев сорта Вектар и низкоустойчивого сорта Уладар белорусской селекции (Вектар – балл устойчивости 8, Уладар – 3) [9].

Растения выращивались из клубней в условиях грунтовой теплицы на базе РУП «НПЦ НАН Беларусь по картофелеводству и плодовоощеводству». В возрасте 6–8 недель от растений картофеля отделялись сложные листья (9 долей), которые использовались для постановки экспериментов и отбора образцов тканей для анализа. Для оценки различий экспрессионных профилей исследованных генов *R1* и *PR1* в тканях устойчивого и неустойчивого сорта использовали по 6 листьев каждого сорта на контрольный (незараженный) и опытный (заряженный) вариант эксперимента. Для оценки влияния экзогенных фитогормонов или их аналогов на экспрессию генов при заражении фитофторой также использовали по 6 сложных листьев, однако перед заражением листья инкубировали в растворах салициловой кислоты (5 мМ, Sigma-Aldrich, США), этифона (2 мМ, Sigma-Aldrich, США) или эпина (200 мкЛ/л, ОАО «Белреахим»). Для этого срезанные сложные листья помещали в емкости с растворами модуляторов (или с водой) таким образом, чтобы черенки были погружены в жидкость на 2 ч. В данной серии экспериментов в качестве контрольных использовали зараженные листья исследованных сортов, инкубированные в воде, не содержащей модуляторов.

Листья помещали на стеклянные плашки, обернутые смоченной водой фильтровальной бумагой. Для заражения на каждую долю сложного листа наносилась капля раствора, содержащего конидии фитофторы (\approx 10 конидий в наблюдаемой зоне микроскопа при увеличении $\times 120$) [9]. Смесь сложных рас *Ph. infestans* была представлена отделом иммунитета и защиты картофеля РУП «НПЦ НАН Беларусь по картофелеводству и плодовоощеводству». В контрольной группе

вместо суспензии конидий использовали воду. Для нанесения одинаковых по объему капель использовали микродозатор. Плашки с листьями помещались в специальные шкафы для инкубации в условиях высокой влажности. Через 1, 2 и 3 суток после инокуляции патогена отбирались образцы листьев для выделения пула общей РНК. Все варианты анализировались в 3 биологических и 3–5 экспериментальных повторностях.

Гомогенизацию тканей и выделение общей РНК проводили с использованием реактива «Лира» (Биолабмикс, Россия) в соответствии с протоколом производителя. Содержание РНК в полученных препаратах и их чистоту оценивали спектрофотометрически. Синтез кДНК проводили с использованием реактивов производства Thermo Fisher Scientific, США. ПЦР в реальном времени проводили с использованием готовой смеси для ПЦР (Артбиотех, Беларусь) в соответствии с протоколом фирмы-производителя. Реакционная смесь для ПЦР содержала: смесь для ПЦР; УДГ – фермент урацил-ДНК-гликазилаза (СибЭнзайм, Россия), ген-специфические олигонуклеотидные ДНК-праймеры (Genterra, Россия; Артбиотех, Беларусь) для генов *R1* и *PRI* или гена-нормализатора *EFL*, кДНК-матрицу, воду для ПЦР.

В работе использовали следующие самостоятельно разработанные ген-специфические ДНК-праймеры: для гена *R1* F (прямой) – TGGAGTGCCTTGCTCATT, R (обратный) – TGTCACGAGTGGAAAAGTATGAGT, для гена *PRI* F: ACCGGCTTCGATTCCAAGT, R – TCCCCAATCCCCAGTCACTA. В качестве гена-нормализатора использовали ген фактора элонгации картофеля *EFL* и праймеры к нему: F – ATTGGAAACGGATATGCTCCA, R – TCCTTACCTGAACGCCGTCA.

Расчет уровня относительной экспрессии R исследованных генов в клетках листьев картофеля проводили с помощью специализированной программы REST (Relative Expression Software Tool), версия REST-MCS [9]. Расчет и статистический анализ изменений относительного уровня экспрессии для каждого из исследованных генов проводился в соответствии с требованиями используемой программы. Значение экспрессии гена в контрольных образцах принималось за единицу согласно алгоритму программы REST.

Результаты и их обсуждение. В ходе проведенного исследования экспрессия гена устойчивости к фитофторозу *R1* была зафиксирована только в тканях листьев картофеля сорта Вектар, как в здоровых, так и в зараженных фитофторой, в то время как в листьях сорта Уладар экспрессия *R1* не обнаруживалась ни до, ни после заражения (рис. 1, a). При этом в устойчивом сорте Вектар отмечена тенденция к росту экспрессии *R1* с течением времени – в 1-е сутки после заражения превышение над контролем составляло около 56 %, во 2 – 60 %, в 3 – почти 140 % (рис. 1, b).

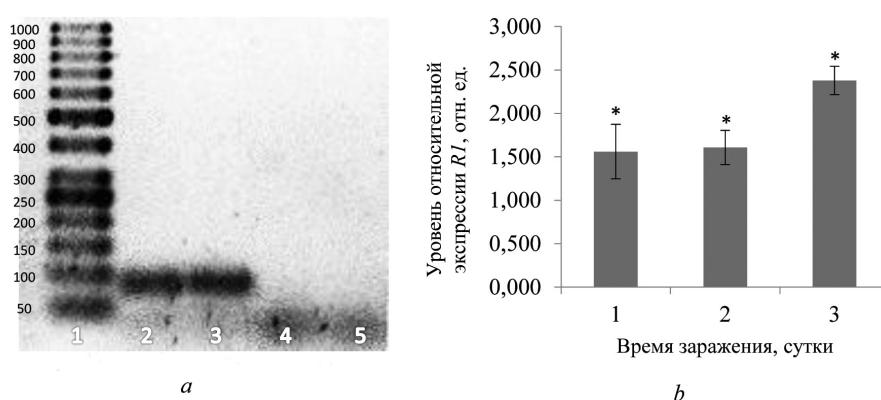


Рис. 1. Экспрессия гена *R1* в клетках листьев картофеля сортов Вектар и Уладар: а – электрофореграмма ПЦР-продуктов с образцами кДНК и праймерами к *R1* (1 – маркер длины ДНК, 50 п. н., 2 – Вектар, без заражения, 3 – Вектар, зараженный, 4 – Уладар, без заражения, 5 – Уладар, зараженный); б – динамика экспрессии *R1* в клетках листьев сорта Вектар при 3-дневном заражении фитофторой

Fig. 1. *R1* gene expression in leaf cells of potato cultivars Vector and Uladar: a – electrophoresis of PCR products with cDNA samples and primers to *R1* (1 – DNA length marker, 50 bp, 2 – Vector, without infection, 3 – Vector, infected, 4 – Uladar, without infection, 5 – Uladar, infected); b – dynamics of *R1* expression in leaf cells of the Vector cultivar after 3-day infection by *Ph. infestans*

В неустойчивом сорте Уладар *R1* не проявлял никакой активности ни в образцах листьев интактных растений, ни в листьях, подвергшихся трехдневному заражению патогеном (рис. 1, *b*).

Следует отметить, что согласно исследованиям, направленным на оценку белорусских сортов на предмет наличия в их геномах ДНК-маркера гена *R1*, в геноме как сорта Вектар, так и сорта Уладар данный маркер присутствует [10; 11]. Однако как показано в наших исследованиях, *R1* экспрессируется (на уровне транскрипции) только в листьях сорта Вектар, но не в сорте Уладар. Можно предположить, что наличие амплифицируемого ДНК-маркера гена *R1* в геноме не всегда сопровождается его экспрессией в тканях листьев картофеля и, соответственно, функциональной активностью. Наличие такой экспрессии может быть одним из важных этапов развития у сорта защитной реакции по устойчивому пути, в то время как ее отсутствие может быть предпосылкой для низкой устойчивости сорта. В недавно опубликованной работе [12] авторы описали подобные эффекты в отношении растений картофеля российской селекции. В рамках проведенного исследования ими было показано, например, отсутствие экспрессии маркерного гена устойчивости к фитофторозу *R3a* в некоторых из протестированных сортов картофеля при наличии в их геномах соответствующего ДНК-маркера, и высказано предположение, что данный ген имеет активность только в виде *S. demissum*, в котором он был обнаружен изначально. В рамках настоящего исследования привлекает внимание факт наличия ДНК-маркера гена устойчивости *R1* в геномах обоих исследованных сортов, контрастных по устойчивости, но при этом отсутствие его экспрессии в одном из них, что является интересным феноменом, требующим более детального изучения. Возможно, например, что в сорте Уладар имеются какие-то особенности в функционировании элементов цепи трансдукции, стоящих выше *R1*-белка, что блокирует его экспрессию и нивелирует положительный эффект на формирование защитного ответа.

Также интересным представляется выявленный факт наличия экспрессии *R1*-гена в здоровых листьях сорта Вектар и лишь относительно небольшой уровень ее индукции после инокуляции патогеном, что указывает на важность для развития устойчивого ответа наличия базисной экспрессии данного гена. Эти результаты согласуются с данными работы [1], в которой показано, что конститутивная экспрессия небольшого базового набора *R*-генов может придавать растению статус готового к обнаружению патогена и быстрой защите, что ставит под сомнение широко распространенное мнение о том, что экспрессия *R*-генов индуцируется при атаке патогена.

Анализ данных, полученных в отношении экспрессии гена *PR1*, выявил его существенную активацию на уровне транскрипции в ответ на заражение фитофторой как в листьях высокоустойчивого, так и низкоустойчивого сортов по сравнению со здоровыми листьями того же сорта (рис. 2, *a*). Причем в неустойчивом сорте Уладар был отмечен даже более существенный рост уровня экспрессии *PR1* (в первые сутки – в 79,7 раз выше незараженного контроля, во вторые – в 100,6 раза, в третьи – в 9,4 раза), чем у сорта Вектар, для которого превышение экспрессии *PR1* в зараженных тканях относительно незараженных контролей составило 16,8, 20,2, 3,4 раза в 1-е, 2-е и 3-и сутки после заражения соответственно.

С целью выявления сортовых особенностей экспрессии *PR1* дополнительно был проведен сравнительный анализ экспрессии *PR1* в незараженных и зараженных тканях сорта Вектар относительно соответствующих значений для сорта Уладар. Было установлено, что в незараженных листьях картофеля высокоустойчивого сорта Вектар базальный уровень экспрессии *PR1* выше, чем у низкоустойчивого сорта Уладар, а именно, в первые, вторые и третьи сутки эксперимента в незараженных листьях сорта Вектар, выступающих контрольными для каждой временной точки при расчетах эффектов заражения, экспрессия была в 8,3, 2,0, 20,9 раза выше, чем в соответствующих образцах сорта Уладар (рис. 2, *b*). Аналогичное сравнение уровня экспрессии *PR1* в зараженных тканях сорта Вектар относительно соответствующих временных точек заражения сорта Уладар (рис. 2, *c*) показало, что через 1 сутки после инфицирования уровень экспрессии в тканях высокоустойчивого сорта в 1,75 выше, чем в сорте Уладар. Во 2-е сутки заражения, в которые для Уладара наблюдался максимальный рост экспрессии *PR1* (более чем в 100 раз по сравнению с незараженными тканями этого же сорта), уровень экспрессии *PR1* в Уладаре был на 60 % выше, чем в Вектаре. Но уже к 3-м суткам после заражения экспрессия *PR1* в Вектаре вновь превосходила таковую в Уладаре (в 7,5 раз).

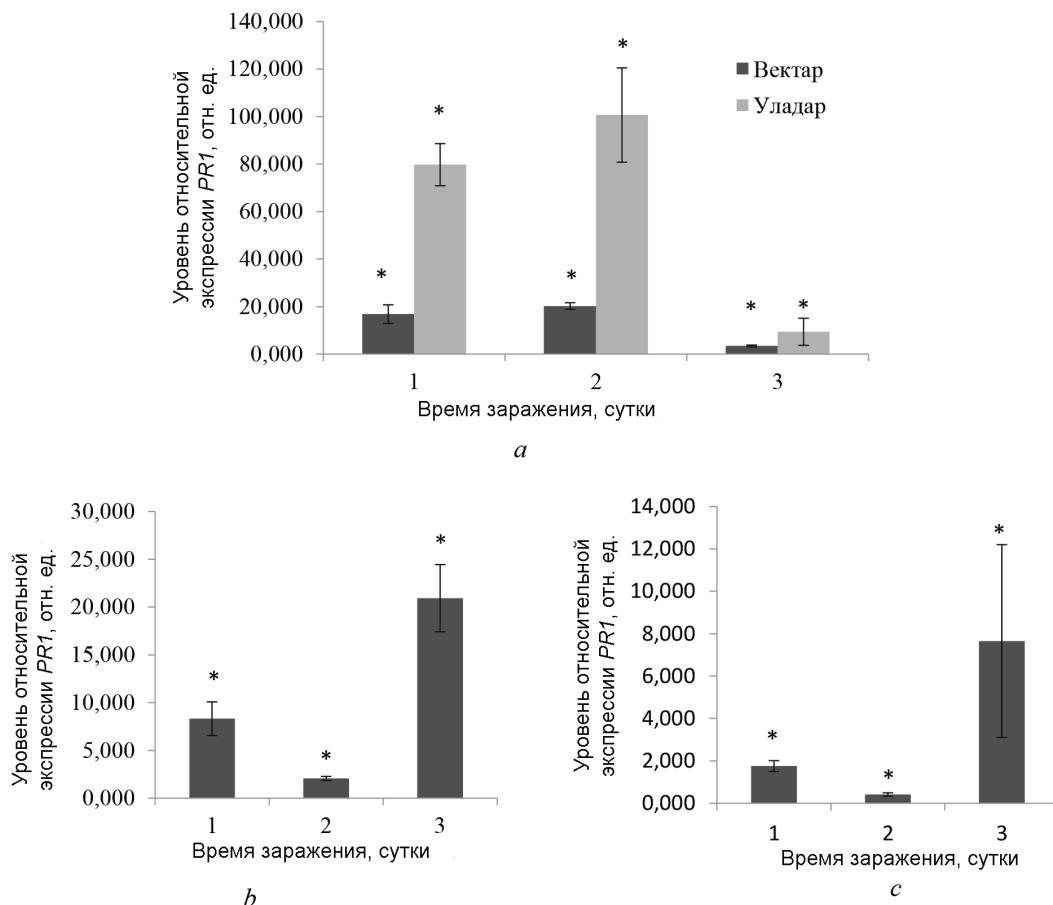


Рис. 2. Динамика экспрессии *PR1* в клетках листьев картофеля сортов Вектар и Уладар: *a* – зараженные ткани Вектара и Уладара относительно незараженных тканей одноименных сортов; *b* – незараженные ткани сорта Вектар относительно незараженных тканей сорта Уладар; *c* – зараженные ткани сорта Вектар относительно зараженных тканей сорта Уладар

Fig. 2. Dynamics of PR1 expression in leaf cells of potato cultivars Vector and Uladar: *a* – infected tissues of Vector and Uladar relative to uninfected tissues of the same varieties; *b* – uninfected tissues of the Vector relative to uninfected tissues of the Uladar; *c* – infected tissues of the Vector relative to infected tissues of the Uladar

Полученные данные указывают на то, что неустойчивый к фитофторозу листьев сорт Уладар, по сравнению с сортом Вектар, характеризовался более значительным индуциальным (т. е. развивающимся в ответ на инфицирование) приращением уровня экспрессии *PR1*. В то же время высокоустойчивый сорт Вектар, несмотря на меньший по амплитуде индуциальный рост, отличался более высоким базальным уровнем экспрессии данного гена, что, вероятно, позволяет ему более быстро и эффективно реагировать на заражение и не тратить ресурсы клеток на ускоренное интенсивное накопление транскриптов данного гена после патогенной атаки.

Также проведен анализ влияния экзогенной обработки листьев картофеля салициловой кислотой и регуляторами роста, представляющими собой синтетические аналоги растительных гормонов этилена (этелефон) и брацисиостероида (эпин) перед заражением, что позволяло модулировать активность сигнальных путей соответствующих фитогормонов и могло сказываться на экспрессии исследуемых генов. В данной серии экспериментов в качестве контрольных образцов выступали образцы тканей листьев картофеля, зараженные фитофторой, но инкубированные в воде, не содержащей модуляторы.

Анализ полученных данных показал как стимулирующее, так и ингибирующее действие фитогормонов на экспрессию *R1* в ходе трехдневного заражения фитофторой в листьях сорта Вектар (рис. 3). В 1-е сутки заражения листьев, предобработанных салициловой кислотой или этелефоном, отмечена тенденция к увеличению экспрессии *R1* по сравнению с зараженными необработанными

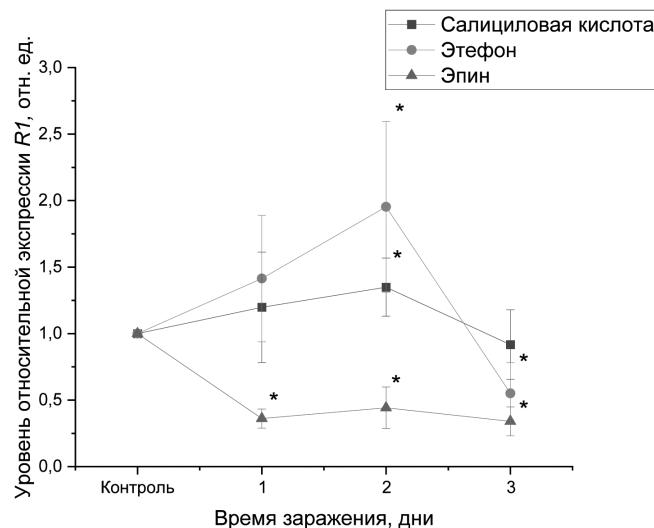


Рис. 3. Влияние модуляторов сигнальных путей на экспрессию гена *R1* в тканях листьев картофеля сорта Вектар

Fig. 3. Effect of signaling pathway modulators on the expression of the *R1* gene in leaf tissues of the Vectar potato cultivar

ной экспрессии *PRI* у сорта Вектар. При этом салициловая кислота оказывала более существенное влияние (повышение экспрессии *PRI* в 3,35 и 2,84 раза в первые и вторые сутки заражения относительно зараженных тканей сорта Вектар, не обработанных салициловой кислотой), чем этефон, для которого превышение относительно контроля составляло порядка 60 и 77 % в 1-е и 2-е сутки после инфицирования. В отношении эпина было зафиксировано ингибирующее действие (в среднем до 10–30 % от контрольных значений) его предобработки во всех временных точках эксперимента.

В отношении неустойчивого сорта Уладар были зафиксированы следующие эффекты. В первую очередь, весьма контрастным относительно устойчивого сорта Вектар оказалось влияние салициловой кислоты на экспрессию *PRI*, которая была значительно снижена во все 3 дня после заражения и составляла в 1-е сутки – около 30 % от контрольных значений, во 2-е, 3-и сутки – менее 1 %. В отношение эпина было установлено преимущественно его подавляющее действие – только в первые сутки была зафиксирована тенденция к росту экспрессии *PRI* (примерно на 30 % по сравнению с контролем). Также выявлено весьма существенное влияние этефона – в 1-е сутки после заражения и обработки модулятором количество транскриптов гена было более чем в 80 раз выше, чем в зараженных, но необработанных этефоном, листьях сорта Уладар. Повышенный, но в меньшей степени, уровень экспрессии этого гена был обнаружен и во 2-е сутки (на 190 % выше контроля). К третьему дню эксперимента влияние всех модуляторов, включая этефон, становилось ингибирующим.

Трансдукция сигналов о заражении, ассоциированная с *R*-генами, является важнейшим элементом как развития реакции гиперчувствительности, характерной для ответов растений по устойчивому пути, так и для формирования системной приобретенной устойчивости, важную роль в формировании которой играет также салицилат-зависимая сигнальная система [13]. Как следствие, высокий базальный уровень экспрессии *R1*, а также ее положительная реакция на обработку экзогенным салицилатом у устойчивого сорта Вектар может свидетельствовать о ключевой роли *R1* и салицилата в механизмах устойчивости данного сорта к фитофторозу листьев. Обнаруженная активация экспрессии *R1* и *PRI* в сорте Вектар и *PRI* в сорте Уладар при действии этефона, экзогенного донора этилена, который играет важную роль в контроле защитных реакций растений от действия хемибиотрофных патогенов. Согласно литературным данным, взаимодействия между сигнальными путями салициловой кислоты и этилена могут быть antagonистическими или синергическими в зависимости от вида патогена и растения [14; 15]. В случае с сортом Вектар как салицилат, так и этилен активируют экспрессию изученных генов. В то же время салицилат подавляет, а этефон активирует экспрессию *PRI* в листьях неустойчивого сорта

листьями, продолжившаяся достоверным ростом экспрессии во 2-е сутки заражения (на 34 и 95 % выше контрольных значений соответственно). К 3-м суткам активирующее действие этих модуляторов прекращалось, и экспрессия *PRI* была даже несколько ниже, чем в контрольных образцах. Действие эпина в тканях листьев сорта Вектар было достоверно ингибирующим, и уровень экспрессии *PRI* составлял в среднем 40–60 % от контрольного во всех временных точках после заражения.

Анализ данных, полученных в результате оценки влияния салициловой кислоты, этефона и эпина на экспрессию гена *PRI* в тканях листьев сортов Вектар и Уладар, позволил выявить следующие закономерности (рис. 4). Было установлено, что в первые и вторые сутки после инфицирования салициловая кислота и этефон оказывают стимулирующее действие на уровень относитель-

Уладар, что указывает на различие в сигнальных путях у двух изученных сортов. Обнаруженные особенности трансдукции сигналов и контроля экспрессии исследованных генов, возможно, объясняются различиями в активности в их тканях паттерн-зависимой (PTI) и эффектор-зависимой (ETI) ветвей иммунитета. В частности, наличие у сорта Вектар конститутивной и индуцибелльной экспрессии *R1* может способствовать более эффективному развитию реакций иммунитета, ассоциированных с распознаванием патогенных эффекторов, осуществляемым R1-белком (путь ETI), чем у сорта Уладар. Обнаруженное ингибирующее действие эпина на экспрессию исследованных генов в обоих сортах может быть объяснено тем, что брахиостероиды являются прежде всего адаптогенами, применяемыми для улучшения процессов роста и развития здоровых растений, а не противомикробными агентами. Вероятно, предобработка растений эпином незадолго до патогенной атаки может запускать регуляторные механизмы, оказывающие негативное действие на защитные ответные реакции растений.

Заключение. В результате проведенного исследования были получены следующие результаты. Уровни относительной экспрессии генов *R1* и *PRI* в тканях высокоустойчивого к фитофторозу сорта картофеля Вектар и низкоустойчивого к фитофторозу листьев сорта Уладар различаются. В первую очередь следует отметить, что экспрессия на уровне транскрипции гена устойчивости к фитофторозу *R1* присутствует как в незараженных, так и в зараженных фитофторой листьях сорта Вектар, при этом отмечался ее небольшой плавный рост в течение трех суток после заражения. В то же время в сорте Уладар экспрессия *R1* полностью отсутствовала как в здоровых, так и в зараженных листьях в исследованном временном диапазоне.

Характер экспрессии гена *PRI*, продукт экспрессии которого является важным регуляторным элементом в клетках листьев картофеля устойчивого и неустойчивого сорта также сильно отличается. В рамках проведенного исследования обнаружено, что в ответ на заражение фитофторой в листьях обоих сортов наблюдается рост экспрессии *PRI*, при этом устойчивый сорт характеризуется высоким уровнем базальной экспрессии исследованного гена, а неустойчивый сорт более яркой ее активизацией после заражения. Сравнительный анализ экспрессии *PRI* в листьях высокоустойчивого сорта относительно неустойчивого сорта выявил ее повышенный уровень в клетках листьев устойчивого сорта в здоровых, а также в зараженных листьях в 1-е и 3-и сутки после заражения. Неустойчивый сорт Уладар превосходил по этому параметру устойчивый сорт Вектар лишь на 2-й день после заражения фитофторой.

В результате исследования влияния фитогормонов на экспрессию *R1* и *PRI* был выявлен неодинаковый характер участия фитогормональных сигнальных систем в процессах трансдукции

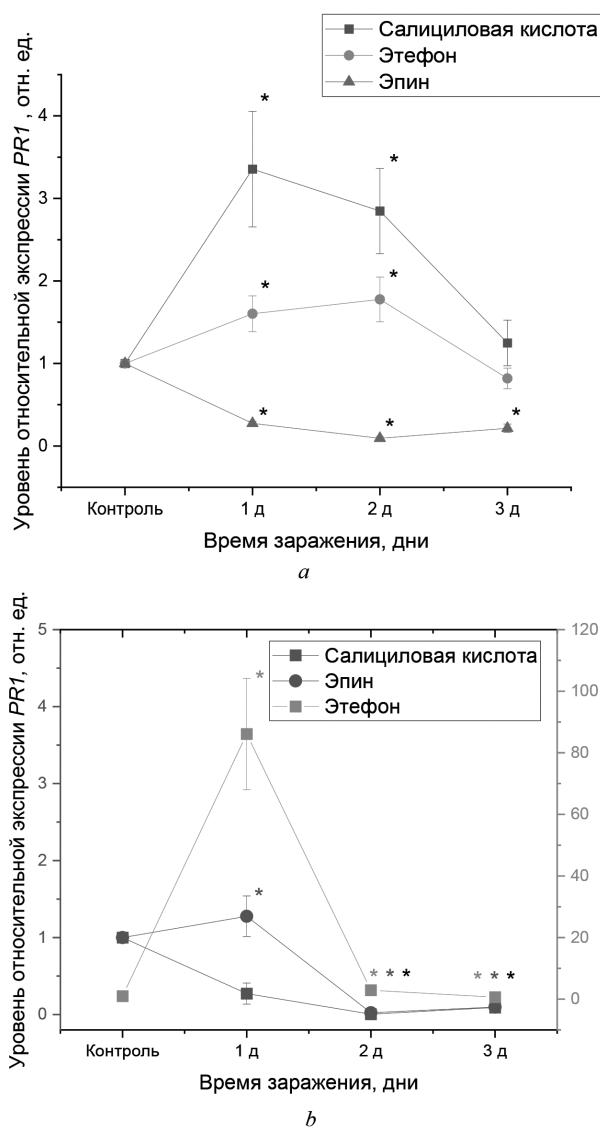


Рис. 4. Влияние модуляторов сигнальных путей (салациловой кислоты, этифона, эпина) на экспрессию *PRI* в тканях листьев картофеля: *a* – сорт Вектар, *b* – сорт Уладар

Fig. 4. The effect of signaling pathway modulators (salicylic acid, ethephon, epine) on *PRI* expression in potato leaf tissues: *a* – Vector, *b* – Uladar

сигналов о заражении фитофторой в устойчивом и неустойчивом сортах. В отношении сорта Вектар можно предполагать, что в процессе передачи сигналов о заражении *Ph. infestans* важную роль играет сигнальный путь салициловой кислоты. Это подтверждается активизацией экспрессии как гена *RI*, так и *PRI* в предобработанных экзогенным салицилатом листьях данного сорта. Этефон также оказывал стимулирующее действие на экспрессию исследованных генов в листьях сорта Вектар. Причем более ярко выраженные эффекты салициловой кислоты выявлены в отношении *PRI*, а этифона – в отношении *RI*. Предобработка листьев сорта Вектар раствором синтетического брассиностерида эпина приводила к снижению уровня экспрессии обоих исследованных генов. Для неустойчивого сорта Уладар установлено, что салициловая кислота выступала ингибитором гена *PRI*, в отличие от устойчивого сорта Вектар. Положительным влиянием отметил этифон, оказавший чрезвычайно сильный активирующий эффект на экспрессию *PRI* в первые сутки после заражения фитофторой, однако в дальнейшем наблюдалось резкое снижение ее уровня, достигшего к третьим суткам значений даже более низких, чем в контроле. Эпин, за исключением первых суток после заражения, когда наблюдалась тенденция к небольшому росту экспрессии, оказывал ингибирующее действие на *PRI*.

Таким образом, для высокоустойчивого сорта Вектар белорусской селекции характерно наличие конститутивной и индуцируемой заражением фитофторой экспрессии защитных генов *RI* и *PRI*, в то время как для неустойчивого сорта Уладар было свойственно наличие таковой экспрессии лишь для *PRI*, но не *RI*. Обработка листьев этифоном в целом вызывала активацию экспрессии у неустойчивого и устойчивого сортов различной интенсивности, в то время как обработка эпином подавляла экспрессию обоих исследованных генов в двух исследованных сортах. Салициловая кислота оказывала активирующее действие на экспрессию *RI* и *PRI* у сорта Вектар и подавляла экспрессию *PRI* у сорта Уладар.

Список использованных источников

1. Global expression patterns of *R*-genes in tomato and potato / J. K. von Dahlen, K. Schulz, J. Nicolai, L. E. Rose // Frontiers in Plant Science. – 2023. – Vol. 14. – Art. 1216795. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1216795>
2. Plant NBS-LRR proteins: adaptable guards / L. McHale, X. Tan, P. Koehl, R. W. Michelmore // Genome Biology. – 2006. – Vol. 7. – Art. 212. <https://doi.org/10.1186/gb-2006-7-4-212>
3. A genetic analysis of quantitative resistance to late blight in potato: towards marker-assisted selection / P. Oberhagemann, C. Chatot-Balandras, R. Schäfer-Pregel [et al.] // Molecular Breeding. – 1999. – Vol. 5. – P. 399–415. <https://doi.org/10.1023/A:1009623212180>
4. The *RI* gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the leucine zipper/NBS/LRR class of plant resistance genes / A. Ballvora, M. R. Ercolano, J. Weiß [et al.] // Plant Journal. – 2002. – Vol. 30, N 3. – P. 361–371. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2001.01292.x>
5. Результаты по созданию нового исходного материала картофеля / В. А. Козлов, А. В. Чашинский, Н. В. Руслецкий [и др.] // Картофелеводство. – 2022. – Т. 30. – С. 61–68. <https://doi.org/10.47612/0134-9740-2022-30-61-68>
6. The function of plant PR1 and other members of the CAP protein superfamily in plant-pathogen interactions / Z. Han, D. Xiong, R. Schneiter, C. Tian // Molecular Plant Pathology. – 2023. – Vol. 24, N 6. – P. 651–668. <https://doi.org/10.1111/mpp.13320>
7. Expression profiling of pathogenesis-related Protein-1 (PR-1) genes from *Solanum tuberosum* reveals its critical role in phytophthora infestans infection / M. Zaynab, J. Peng, Y. Sharif [et al.] // Microbial Pathogenesis. – 2021. – Vol. 161, Part B. – Art. 105290. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105290>
8. Exploring the vital role of phytohormones and plant growth regulators in orchestrating plant immunity / A. Shafqat, S. Abbas, M. Ambreen [et al.] // Physiological and Molecular Plant Pathology. – 2024. – Vol. 133. – Art. 102359. <https://doi.org/10.1016/j.pmp.2024.102359>
9. О механизмах формирования устойчивости картофеля (*Solanum tuberosum* L.) к фитофторозу на различных этапах фенилпропаноидного метаболизма / А. А. Смирнов, Е. М. Кабачевская, С. В. Суховеева, И. Д. Волотовский // Ботаника. Исследования. – 2024. – Вып. 54. – С. 316–325.
10. Оценка первичных дигаплоидов *S. tuberosum* на наличие генов устойчивости к болезням и вредителям методом ПЦР-анализа / В. И. Лукаша, Е. В. Воронкова, О. Н. Гукасян, А. П. Ермишин // Молекулярная и прикладная генетика. – Мин., 2012. – Т. 13. – С. 82–87.
11. Клименко, Н. С. Генетическое разнообразие сортов картофеля отечественной селекции, изученное с использованием различных типов ДНК-маркеров: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.07 / Клименко Наталья Станиславовна. – СПб., 2022. – 225 с.
12. Expression of late blight resistance gene markers in potato varieties and wild *Solanum* species / E. Sokolova, M. Beke-tova, O. Kazakov, V. Martynov // Journal of Applied Biology and Biotechnology. – 2025. – Vol. 13, N 3. – P. 82–88. <https://doi.org/10.7324/JABB.2025.220736>
13. Systemic acquired resistance is induced by *R* gene-mediated responses independent of cell death / P.-P. Liu, S. Bhattacharjee, D. F. Klessig, P. Moffett // Molecular Plant Pathology. – 2010. – Vol. 11, N 1. – P. 155–160. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00564.x>

14. Van Loon, L. C. Ethylene as a modulator of disease resistance in plants / L. C. van Loon, B. P. J. Geraats, H. J. M. Linthorst // *Trends in Plant Science*. – 2006. – Vol. 11, N 4. – P. 184–191. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.02.005>
15. Glazebrook, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens / J. Glazebrook // *Annual Review of Phytopathology*. – 2005. – Vol. 43. – P. 205–227. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135923>

References

1. Von Dahlen J. K., Schulz K., Nicolai J., Rose L. E. Global expression patterns of *R*-genes in tomato and potato. *Frontiers in Plant Science*, 2023, vol. 14, art. 1216795. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1216795>
2. McHale L., Tan X., Koehl P., Michelmore R. W. Plant NBS-LRR proteins: adaptable guards. *Genome Biology*, 2006, vol. 7, art. 212. <https://doi.org/10.1186/gb-2006-7-4-212>
3. Oberhagemann P., Chatot-Balandras C., Schäfer-Pregl R., Wegener D., Palomino C., Salamini F., Bonnel E., Gebhardt C. A genetic analysis of quantitative resistance to late blight in potato: towards marker-assisted selection. *Molecular Breeding*, 1999, vol. 5, pp. 399–415. <https://doi.org/10.1023/A:1009623212180>
4. Ballvora A., Ercolano M. R., Weiß J., Meksem K., Bormann C. A., Oberhagemann P., Salamini F., Gebhardt C. The *R1* gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the leucine zipper/NBS/LRR class of plant resistance genes. *Plant Journal*, 2002, vol. 30, no. 3, pp. 361–371. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2001.01292.x>
5. Kozlov V. A., Chashinskiy A. V., Rusetskiy N. V., Mihalkovich I. A., Semanyuk T. V. Results on the creation of a new potato basic material. *Kartofolevodstvo = Potato Growing*, 2022, vol. 30, pp. 61–68 (in Russian). <https://doi.org/10.47612/0134-9740-2022-30-61-68>
6. Han Z., Xiong D., Schneiter R., Tian C. The function of plant PR1 and other members of the CAP protein superfamily in plant-pathogen interactions. *Molecular Plant Pathology*, 2023, vol. 24, no. 6, pp. 651–668. <https://doi.org/10.1111/mpp.13320>
7. Zaynab M., Peng J., Sharif Y., Al-Yahyai R., Jamil A., Hussain A., Khan K. A., Alotaibi S. S., Li S. Expression profiling of pathogenesis-related Protein-1 (PR-1) genes from *Solanum tuberosum* reveals its critical role in phytophthora infestans infection. *Microbial Pathogenesis*, 2021, vol. 161, part B, art. 105290. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105290>
8. Shafqat A., Abbas S., Ambreen M., Bhatti A. S., Kausar H., Gull T. Exploring the vital role of phytohormones and plant growth regulators in orchestrating plant immunity. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2024, vol. 133, art. 102359. <https://doi.org/10.1016/j.pmp.2024.102359>
9. Smirnov A. A., Kabachevskaya E. M., Suhoveeva S. V., Volotovski I. D. The formation mechanisms of potato (*Solanum tuberosum* L.) resistance to late blight on various steps of phenylpropanoid metabolism. *Botanika. Issledovaniya* [Botany. Research], 2024, no. 54, pp. 316–325 (in Russian).
10. Luksha V. I., Voronkova E. V., Gukasian O. N., Yermishin A. P. Estimation *S. tuberosum* primary dihaploids on possession of disease and pest resistance genes by means of PCR analysis. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika* [Molecular and Applied Genetics]. Minsk, 2012, vol. 13, pp. 82–87 (in Russian).
11. Klimenko N. S. *Genetic diversity of domestically bred potato varieties studied using different types of DNA markers*. PhD thesis. Saint Petersburg, 2022. 225 p. (in Russian).
12. Sokolova E., Beketova M., Kazakov O., Martynov V. Expression of late blight resistance gene markers in potato varieties and wild *Solanum* species. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 2025, vol. 13, no. 3, pp. 82–88. <https://doi.org/10.7324/JABB.2025.220736>
13. Liu P.-P., Bhattacharjee S., Klessig D. F., Moffett P. Systemic acquired resistance is induced by *R* gene-mediated responses independent of cell death. *Molecular Plant Pathology*, 2010, vol. 11, no. 1, pp. 155–160. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00564.x>
14. Van Loon L. C., Geraats B. P. J., Linthorst H. J. M. Ethylene as a modulator of disease resistance in plants. *Trends in Plant Science*, 2006, vol. 11, no. 4, pp. 184–191. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.02.005>
15. Glazebrook J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 2005, vol. 43, pp. 205–227. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135923>

Информация об авторах

Смирнов Андрей Александрович – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларусь (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: aasm96@bk.ru.

Кабачевская Елена Михайловна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларусь (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kabachevskaya@ibce.by.

Волотовский Игорь Дмитриевич – академик, д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларусь (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: volotovski@yahoo.com.

Information about the authors

Smirnov Andrei A. – Junior Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: aasm96@bk.ru.

Kabachevskaya Elena M. – Ph. D. (Biology), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kabachevskaya@ibce.by.

Volotovsky Igor D. – Academician, D. Sc. (Biology), Professor, Chief Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: volotovski@yahoo.com.