

# ИММУННАЯ РЕАКЦИЯ В ЛИСТЬЯХ *SOLANUM TUBEROSUM* В ОТВЕТ НА ВНЕДРЕНИЕ *PECTOBACTERIUM VERSATILE*

Н. А. Григорьева

Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4,  
220030, г. Минск, Беларусь, grigorieva887@gmail.com  
Научный руководитель — А. В. Колубако

*Pectobacterium versatile* – фитопатогенные бактерии, вызывающие заболевание черная ножка вегетирующих растений семейства Пасленовые. Кроме того, фитопатоген поражает клубни картофеля, вызывая мягкую гниль. *P. versatile* способны паразитировать на многих видах семейства Пасленовых, тем самым нанося значительный ущерб сельскому-хозяйству. Экспрессия защитных генов *PR1* и *PR10*, а также транскрипционных факторов с доменом *WRKY* и *AP2* изменяются разнонаправленно в клубнях и листьях растений *Solanum tuberosum* при заражении *Pectobacterium versatile*.

**Ключевые слова:** реакция гиперчувствительности; *Pectobacterium versatile*; *Solanum tuberosum*; иммунитет растений.

*Solanum tuberosum* – культурный картофель, ценная сельскохозяйственная культура, являющаяся частью рациона людей по всему миру. Регуляция иммунного ответа растений происходит при помощи сигнальных путей гормонов, но их количество в клубнях и листьях может отличаться из-за особенностей развития органов [1]. В связи с этим у нас появилась потребность выяснить, одинаков ли иммунный ответ картофеля в листьях и в клубнях у *S. tuberosum* в ответ на заражение некротрофным патогеном *Pectobacterium versatile* и возможна ли экстраполяция результатов заражения в листьях на все растение и, в частности, подземную его часть.

Растения картофеля *Solanum tuberosum* сорта Рогнеда были посажены в начале мая, в срок, а заражению они подвергались по истечении 45 дней после посадки. Листья растений картофеля были инфильтрованы суспензиями клеток ( $OD_{600} = 0,05$ ) патогена *P. versatile* JN42 (дикий тип) и *P. versatile* VKE (мутант по эффектору системы секреции III типа DspE). В качестве контроля раневого ответа листья растений инфильтровались физиологическим раствором (NaCl 0,85 %) Регистрация реакции гиперчувствительности и отбор образцов проводились через 24 часа после заражения. Выделение РНК производилось методом с горячим фенолом [2]. Измерение экспрессии генов проводилось методом ОТ-кПЦР. Для подбора наиболее стабильно экспрессирующихся референсных генов использован алгоритм geNorm версии 3.5. В качестве референсных использованы гены *EF1a*, *SAND*. Расчет относительных уровней

экспрессии генов проводился при помощи программы REST 2009 версии 2.0.13.

Инфильтрация суспензиями клеток штаммов *P. versatile* JN42 (дикого типа) и *P. versatile* VKE (*dspE*-мутантом) вызывала индукцию реакции гиперчувствительности в листьях растений *S. tuberosum* по всей зоне инфильтрации в подавляющем большинстве случаев. Наиболее типичная реакция растений на инфильтрацию представлена на рисунке 1.

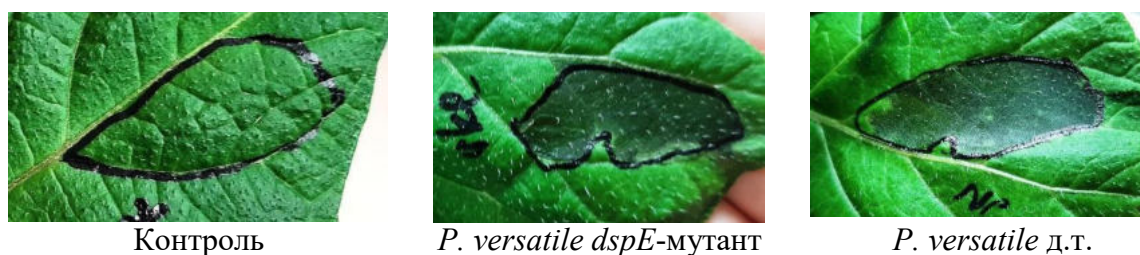


Рис.1. Индукция реакции сверхчувствительности суспензиями клеток штаммов *P. versatile* JN42 (дикого типа) и *P. versatile* VKE (*dspE*-мутантом) в листьях *S. tuberosum*

Дифференциальные уровни экспрессии генов в листьях *S. tuberosum* показаны на рисунке 2.

Уровень экспрессии генов *NCED3* и *AAO3*, ответственных за биосинтез абсцизовой кислоты (универсального гормона стресса растений) не менялся при заражении штаммом, мутантным по эффектору DspE системы секреции 3 типа патогена. Экспрессия *NCED3* снизилась почти в 3 раза в случае заражения штаммом дикого типа. Уровень экспрессии гена *CYP707a1*, фермента, гидроксилирующего АБК, увеличился 2 раза при заражении *P. versatile* вне зависимости от штамма.

Уровень экспрессии гена *JAZ*, негативного регулятора жасмонат-зависимых генов, увеличился в 5 раз при заражении при заражении мутантным штаммом и почти в 2 раза штаммом дикого типа. Экспрессия гена *HIN1*, кодирующего белок, который индуцируется харпинами, увеличилась менее чем в 2 раза при заражении обоими штаммами. Уровень экспрессии транскрипционного фактора салицилатного сигнального пути *TGA* снизился менее чем в 2 раза при заражении *P. versatile* вне зависимости от штамма. Экспрессия гена *PR1*, который кодирует защитный белок, конечное звено салицилатной сигнализации, увеличилась почти в 10 раз при заражении *dspE*-мутантом и почти в 3 раза при заражении штаммом дикого типа. Экспрессия других защитных генов: *PR2*, *PR5* и *PR10*, кодирующих белки, связанные с патогенезом, которые обычно синтезируются растениями в ответ на заражение патогенами, увеличилась более чем в 9 раз при заражении *P. versatile* VKE и более чем в 2 раза при заражении *P. versatile* JN42.

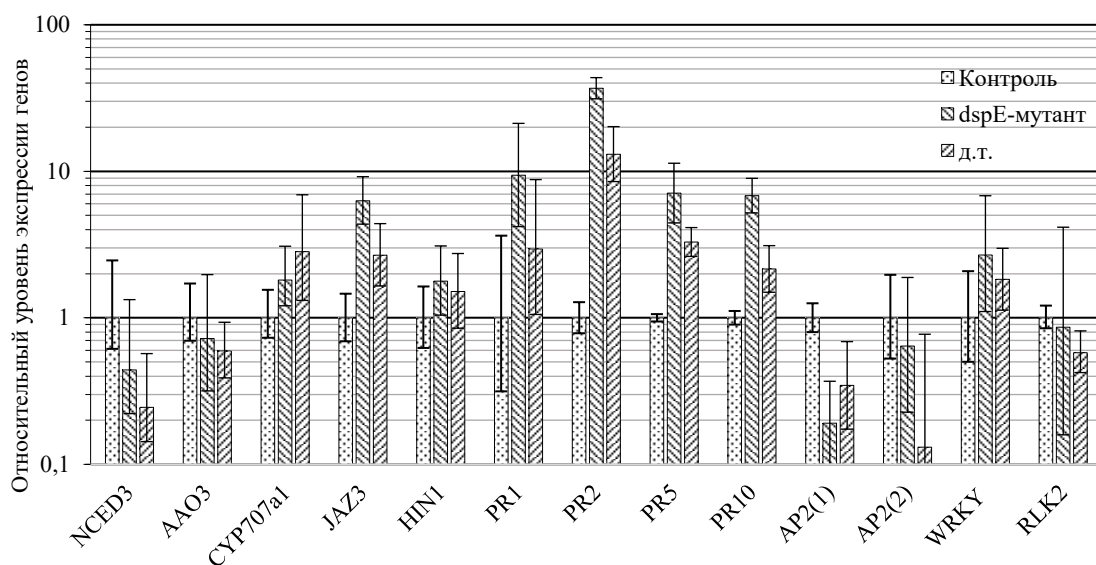


Рис.2. Дифференциальные уровни экспрессии генов иммунного ответа в листьях *S. tuberosum* в ответ на внедрение *P. versatile* JN42 (дикого типа) и *P. versatile* VKE (*dspE*-мутанта)

Уровень экспрессии транскрипционного фактора *AP2(1)*, этиленовой сигнализации, снизился в 5 раз при заражении *dspE*-мутантом и в 2 раза при заражении штаммом дикого типа. Экспрессия *AP2(2)* снизилась более чем в 10 раз при заражении штаммом дикого типа. Экспрессия гена транскрипционного фактора семейства *WRKY* увеличилась более чем в 2 раза при заражении штаммом *P. versatile* VKE. Уровень экспрессии гена *RLK2*, кодирующего рецепторподобную протеинкиназу, снизился менее чем в 2 раза при заражении *P. versatile* вне зависимости от штамма.

Сравнение результатов эксперимента с данными, полученными при заражении клубней растений картофеля того же сорта [3], показало, что экспрессия *NCED3* и *AAO3* в клубнях при заражении снижается более существенно, а уровень экспрессии *CYP707a1* повышается до 9 раз. Однонаправленно меняется (возрастает) экспрессия негативного регулятора жасмонат-зависимых генов *JAZ3*, харпин-индуцируемого белка *HIN1*, связанных с патогенезом генов *PR2* и *PR5*, снижается экспрессия транскрипционного фактора этиленовой сигнализации *AP2(1)* и рецепторподобной киназы *RLK2* как в листьях, так и в клубнях растений картофеля в ответ на заражение патогеном. Экспрессия же защитных генов *PR1* и *PR10*, а также транскрипционного фактора *WRKY* повышалась в листьях, однако снижалась в клубнях при заражении. Экспрессия гена *AP2(2)* значительно повышалась при заражении клубней и снижалась при заражении в листьях картофеля.

Ответ генов метаболизма АБК на заражение более выражен в клубнях. Жасмонатный сигнальный путь, судя по экспрессии *JAZ3*, подавляется и в листьях, и в клубнях, как и этиленовая сигнализация, поскольку конечное

звено ее, транскрипционный фактор *AP2(1)* снижает экспрессию. Другой транскрипционный фактор *AP2(2)* меняет экспрессию разнонаправленно в листьях и клубнях, но его функция еще не описана. Салицилатный сигнальный путь в листьях активируется. В клубнях же конечное звено салицилатной сигнализации *PR1* значительно снижает экспрессию, исходя из этого можно предположить, что салицилатная сигнализация в клубнях подавляется.

### Библиографические ссылки

1. Hormonal regulation of tuber formation in potato plants / N. Aksenova [et al.] // Russian J. Plant Physiology. 2012. Vol. 59. P. 451-466.
2. *Carpenter E.* RNA Isolation from Plant Tissue Protocol 15: Hot Acid Phenol Method for Algae // Methods in Enzymology. 2019. Vol. 194. P. 398-405.
3. *Колубако А.В.* Транскрипционный фактор WRKY65 участвует в регуляции иммунного ответа растений картофеля на *Pectobacterium versatile* // Молекулярная и прикладная генетика. 2021. Т. 27. С. 83-92.