

гордеинкодирующих локусов // Генетика. 2016. Т. 52. №6. С. 650-663. DOI: 10.1134/S1022795416060077.

12. Лялина Е. В., Болдырев С. В., Поморцев А. А. Генетическая паспортизация культивируемых в России сортов ярового ячменя по аллелям гордеин-кодирующих локусов // Генетика. 2018. Т. 54. ПРИЛОЖЕНИЕ. С. S27-S31. DOI: 10.1134/S001667581813012X

13. А. А. Поморцев, Е.В. Лялина, Н. А. Терещенко, С. В. Болдырев, Е. Ю. Яковлева, А.Н. Березкин, А. М. Малько, О. В. Андросова. Генетические маркеры в лабораторном сортовом контроле ячменя (*Hordeum vulgare* L.) // Генетика. 2021. Т. 57. № 9. С. 1054-1061. DOI: 10.31857/S0016675821090101

14. Поморцев А.А., Болдырев С.В., Лялина Е.В. Комплекс полиморфных локусов, контролирующих белки семян для идентификации сортов ячменя// Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2014. т. 175, вып. № 4, с. 87-91.

УДК 633.491: 631.52: 577.21

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *RPI-CHC1* У ДИКИХ И КУЛЬТУРНЫХ ФОРМ *SOLANUM*

Мартынов В.В. Бекетова М.П.

*Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия*

**Ключевые слова:** *Solanum*, *Phytophthora infestans*, фитофтороз, гены устойчивости, ген *Rpi-chc1*

### Введение

Картофель (*Solanum tuberosum*) занимает в мировом производстве продовольствия третье место после риса и пшеницы. Фитофтороз, вызываемый оомицетом *Phytophthora infestans*, является одним из самых вредоносных заболеваний картофеля. Одной из стратегий борьбы с этим заболеванием является интрогрессия генов устойчивости (*R* генов) к фитофторозу от диких родственников картофеля. Большинство таких генов устойчивости было интродуцировано в коммерческие сорта картофеля из дикого вида *S. demissum*. Однако устойчивость, даваемая этими генами, преодолевается новыми вирулентными штаммами *P. infestans* [1]. Одним из подходов к решению этой проблемы является поиск новых *R* генов, обеспечивающих устойчивость широкого спектра сразу к нескольким расам патогена. Основным источником таких новых генов (*Rpi* генов) служат дикие виды рода *Solanum*. На сегодняшний день более 70 *Rpi* генов было идентифицировано у 32 видов *Solanum* [3]. Одним из этих генов является ген *Rpi-chc1*, открытый у дикого южноамериканского вида *S. chacoense* [4]. Позднее было установлено, что ген *Rpi-chc1* имеет два аллельных варианта *Rpi-chc1.1* и *Rpi-chc1.2*, и было показано, что эти аллели распознают разные эффекторы из суперсемейства эффекторных белков PexRD12/31 *P. infestans* [2]. Кроме того, гомологи гена *Rpi-chc1* были обнаружены у некоторых других видов рода *Solanum*, причем среди них были как гомологи, обладающие функциональной активностью, так и нефункциональные варианты [2]. Эти данные показывают, что ген *Rpi-chc1* является членом обширного семейства *R* генов, которое до сих пор недостаточно изучено у *Solanaceae*. Вместе с тем, поиск новых гомологов гена *Rpi-chc1* у *S. chacoense* и других представителей рода *Solanum* оправдан, так как новые данные о полиморфизме первичной структуры гена *Rpi-chc1* и его гомологов и возможной связи этого полиморфизма с функцией помогут при создании новых фитофтороустойчивых сортов картофеля, а также в выборе мишеней для геномного редактирования.

**Цель работы.** Таким образом, целью настоящей работы было изучение полиморфизма гена *Rpi-chc1* у сортов и межвидовых гибридов картофеля, возделываемых в Российской

Федерации, а также у образцов дикорастущих видов картофеля из генетической коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР).

**Материалы и методы.** В качестве растительного материала использовали 122 образца рабочей коллекции, состоящей из культурных сортов картофеля, сложных межвидовых гибридов и представителей 11 диких видов рода *Solanum*.

Полиморфизм гена *Rpi-chc1* изучали при помощи ПЦР-амплификации участка этого гена, который кодирует LRR-домен, отвечающий за распознавание патогена и являющийся наиболее полиморфным, со специфичными праймерами с последующим клонированием и секвенированием полученных ампликонов. Полученные нуклеотидные последовательности сравнивали с последовательностью гена-прототипа.

**Результаты.** В результате из 122 образцов рабочей коллекции, ожидаемый ПЦР-продукт был обнаружен у 30 образцов. При этом у североамериканских видов *S. bulbocastanum*, *S. verrucosum*, *S. cardiophyllum*, *S. phureja*, *S. andigenum*, *S. stoloniferum* и *S. pinnatisectum* специфичный ПЦР-продукт ожидаемого размера обнаружен не был. Это может свидетельствовать в пользу предположения о том, что предковая форма гена *Rpi-chc1* возникла после разделения североамериканских и южноамериканских видов *Solanum*. В то же время среди южноамериканских видов мы обнаружили гомологи гена *Rpi-chc1* не только у видов *S. chacoense*, *S. berthaultii*, *S. tuberosum*, но и у еще двух видов *S. microdontum* и *S. maglia*.

Мы клонировали и секвенировали амплифицированный фрагмент у семи образцов рабочей коллекции растений рода *Solanum*. Это были образцы диких видов *S. chacoense*, *S. microdontum*, *S. berthaultii* и *S. maglia*, образцы культурного картофеля *S. tuberosum* сорта Sargo mira и Bintje и образец, представляющий собой сложный межвидовой гибрид №2372-60. Мы сравнили полученные нами последовательности с последовательностями двух аллельных вариантов гена-прототипа *Rpi-chc1.1* и *Rpi-chc1.2*. По результатам этого сравнения наиболее близкими к прототипу оказались последовательности из образцов *S. microdontum*, *Sargo mira* и *S. berthaultii*, а последовательности из образцов *S. chacoense*, *S. maglia*, гибрид №2372-60 и Bintje существенно меньше похожи на прототип. При этом уровень гомологии всех полученных последовательностей как с *Rpi-chc1.1* так и с *Rpi-chc1.2* оказался примерно одинаковым – в среднем 91% для менее гомологичных последовательностей и 96% для более гомологичных последовательностей.

Полученные последовательности транслируются *in silico*, и так как ранее было показано, что обладающий функциональной активностью вариант *Rpi-chc1.1* из *S. chacoense* отличается от своего нефункционального гомолога *Rpi-tub1.3* из *S. tuberosum* 21 аминокислотной заменой [2], из которых семь находятся в амплифицированном нами участке LRR-домена, то мы сравнили находящиеся в этих положениях аминокислоты у полученных нами гомологов и функционального и нефункционального вариантов гена *Rpi-chc1*. В результате этого сравнения мы установили, что ни один из полученных нами гомологов по своему аминокислотному составу в этих положениях не соответствует как функциональному, так и нефункциональному варианту гена *Rpi-chc1*. Таким образом, полученные нами гомологи представляют собой новые, ранее неизвестные варианты гена *Rpi-chc1*.

**Выводы.** Мы получили новые данные о структурном полиморфизме гена *Rpi-chc1* у пяти видов рода *Solanum*: *S. chacoense*, *S. berthaultii*, *S. tuberosum*, *S. microdontum* и *S. maglia*, а именно обнаружили у этих видов ранее неизвестные варианты этого гена, которые по своей аминокислотной последовательности отличаются как от функционального, так и от нефункционального варианта гена *Rpi-chc1*. Полученные данные могут служить отправной точкой для изучения функции этих гомологов и их вклада в устойчивость к фитофторозу у представителей рода *Solanum*.

#### Список литературы

1. Jo K. R. et al. Development of late blight resistant potatoes by cisgene stacking //BMC biotechnology. – 2014. – Т. 14. – С. 1-10.

2. Monino-Lopez D. et al. Allelic variants of the NLR protein Rpi-chc1 differentially recognize members of the *Phytophthora infestans* PexRD12/31 effector superfamily through the leucine-rich repeat domain //The Plant Journal. – 2021. – T. 107. – №. 1. – C. 182-197.
3. Paluchowska P., Śliwka J., Yin Z. Late blight resistance genes in potato breeding //Planta. – 2022. – T. 255. – №. 6. – C. 127.
4. Vossen J. H. et al. Cloning and exploitation of a functional *R*-gene from *Solanum chacoense*// International Patent Application WO2011/034433 – 2011. – C. 166.