


DOI 10.18699/vjgb-24-21

## *In silico* поиск *R*-генов у примитивных культурных видов картофеля

А.А. Гурина <sup>1</sup> , М.С. Ганчева <sup>2</sup>, Н.В. Алпатьева <sup>1</sup>, Е.В. Рогозина <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

 a.gurina@vir.nw.ru

**Аннотация.** Ключевую роль в защите растений от патогенов играют рецепторы, кодируемые *R*-генами. Они являются генетической основой для селекции многих сельскохозяйственных культур, в том числе картофеля. Множество генов устойчивости у картофеля стало известно и было вовлечено в селекцию благодаря изучению широкого разнообразия диких сородичей картофеля. Использование примитивных культурных видов (ПКВ), относящихся к первичному генофонду картофеля, также перспективно. Как наиболее близкие к ранним доместцированным формам картофеля, ПКВ представляют особый интерес для исследования эволюции генов устойчивости. Целью настоящего исследования стали поиск и анализ *R*-генов у ПКВ картофеля, геномы которых с различным качеством сборки представлены в базе данных NCBI. Исследовано 27 образцов, относящихся к трем видам: *Solanum phureja* Juz. & Bukasov, *S. stenotomum* Juz. & Bukasov и *S. goniocalyx* Juz. & Bukasov. Проведен *in silico* поиск последовательностей, гомологичных 26 *R*-генам, идентифицированных у различных по филогенетической отдаленности от ПКВ картофеля видов: паслёна (*S. americanum* Mill.), североамериканских (*S. bulbocastanum* Dunal., *S. demissum* Lindl.) и южноамериканских (*S. venturii* Hawkes & Hjert., *S. berthaultii* Hawkes) диких видов, а также видов культурного картофеля (*S. tuberosum* L., *S. andigenum* Juz. & Bukasov). Гомологи кодирующих последовательностей всех исследованных генов обнаружены у ПКВ картофеля с относительно высокой степенью сходства (85–100 %). Впервые у примитивных культурных видов картофеля найдены гомологи генов *R3b*, *Rpi-amr3* и *Rpi-ber1*. Для 15 *R*-генов проведен анализ полиморфизма нуклеотидных и аминокислотных последовательностей. Приведены отличия в частоте замен у ПКВ картофеля при анализе *R*-генов, референсные последовательности которых идентифицированы у разных видов. Для всех изученных NBS-LRR генов доля замещенных аминокислот в LRR-домене превосходит этот показатель для NBS-домена. Показана потенциальная перспективность использования ПКВ картофеля в качестве источников устойчивости к вертициллёзному увяданию. Ключевые слова: *R*-гены; NBS-LRR; полиморфизм; *Solanum phureja*; *S. stenotomum*.


**Для цитирования:** Гурина А.А., Ганчева М.С., Алпатьева Н.В., Рогозина Е.В. *In silico* поиск *R*-генов у примитивных культурных видов картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;28(2):175-184. DOI 10.18699/vjgb-24-21

## *In silico* search for and analysis of *R* gene variation in primitive cultivated potato species

А.А. Gurina <sup>1</sup> , М.С. Gancheva <sup>2</sup>, N.V. Alpatieva <sup>1</sup>, E.V. Rogozina <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup> St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

 a.gurina@vir.nw.ru

**Abstract.** Pathogen recognition receptors encoded by *R* genes play a key role in plant protection. Nowadays, *R* genes are a basis for breeding many crops, including potato. Many potato *R* genes have been discovered and found suitable for breeding thanks to the studies of a wide variety of wild potato species. The use of primitive cultivated potato species (PCPS) as representatives of the primary gene pool can also be promising in this respect. PCPS are the closest to the early domesticated forms of potato; therefore, their investigation could help understand the evolution of *R* genes. The present study was aimed at identifying and analyzing *R* genes in PCPS listed in the open database of NCBI and Solomics DB. In total, the study involved 27 accessions belonging to three species: *Solanum phureja* Juz. & Bukasov, *S. stenotomum* Juz. & Bukasov and *S. goniocalyx* Juz. & Bukasov. Materials for the analysis were the sequencing data for the said three species from the PRJNA394943 and PRJCA006011 projects. An *in silico* search was carried out for sequences homologous to 26 *R* genes identified in potato species differing in phylogenetic distance from PCPS, namely nightshade (*S. americanum*), North- (*S. bulbocastanum*, *S. demissum*) and South-American (*S. venturii*, *S. berthaultii*) wild potato species, as well as the cultivated potato species *S. tuberosum* and *S. andigenum*. Homologs of all investigated protein-coding sequences were discovered in PCPS with a relatively high degree of similarity (85–100 %). Homologs of the *Rpi-R3b*, *Rpi-amr3* and *Rpi-ber1* genes have been identified in PCPS for the first time. An analysis of polymorphism of nucleotide and amino acid sequences has been carried out for 15 *R* genes. The differences in frequencies of substitutions in PCPS have been demonstrated by analysis of *R* genes, the reference sequences of which have been identified

in different species. For all the studied NBS-LRR genes, the proportion of substituted amino acids in the LRR domain exceeds this figure for the NBS domain. The potential prospects of using PCPS as sources of resistance to *Verticillium wilt* have been shown.

Key words: R genes; NBS-LRR; polymorphism; *Solanum phureja*; *S. stenotomum*.

**For citation:** Gurina A.A., Gancheva M.S., Alpatieva N.V., Rogozina E.V. In silico search for and analysis of R gene variation in primitive cultivated potato species. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(2):175-184. DOI 10.18699/vjgb-24-21

## Введение

Главный фактор эволюции растений – адаптация к неблагоприятным внешним условиям, в том числе к воздействию микроорганизмов и вредителей (Fang et al., 2022). За последнее время достигнут значительный прогресс в познании молекулярных механизмов взаимодействия растений с патогенами. Установлено, что у растений существует многоуровневая система защиты от вредных организмов, включающая стадии распознавания, сигналинга и инициации защитного ответа (Zhang et al., 2019). Показано, что в активации иммунитета ведущую роль играют рецепторы, локализованные на поверхности или внутри клетки, а R-гены (гены устойчивости), кодирующие рецепторы, являются генетической основой селекции многих сельскохозяйственных культур на устойчивость к болезням (Deng et al., 2020).

У растений выделяют две системы иммунитета: РАМР (pathogen-associated molecular patterns) иммунитет, включает распознавание элиситоров (консервативные нерасо-специфические сигналы: полисахариды, хитин и т.п.) и ЕТИ (effector-triggered immunity) иммунитет, включающий распознавание расо-специфических эффекторов. Именно с распознаванием эффекторов связано действие R-генов, которые прямо или косвенно (опосредованно другими белками) взаимодействуют с эффекторами и запускают иммунный ответ растений, часто включающий запрограммированную смерть клеток, блокирующую дальнейшее распространение патогена (Kourelis et al., 2018).

Картофель – важная незерновая культура, по объемам производства занимает четвертое место среди всех сельскохозяйственных культур. По данным ФАО, в 2020 г. мировое производство картофеля составило более 350 млн т (ФАО, 2020). Несмотря на высокий потенциал адаптации, картофель поражается множеством болезней и вредителей, 27 из которых причиняют экономически значимый ущерб повсеместно (Bradshaw, 2021). Заболевания картофеля приводят к ежегодным потерям около 11.6 % валового сбора (ФАО, 2010). Возделывание устойчивых сортов картофеля необходимо для стабильного агропроизводства, оптимизации применения химических средств защиты, получения продукции высокого качества. Интрогрессия генов устойчивости от дикорастущих и культурных родичей картофеля (видов секции *Petota* Dumort. рода *Solanum* L.) позволяет создавать устойчивые сорта и селекционные линии. Поиск генов устойчивости к возбудителям болезней и вредителям у представителей разных групп генофонда картофеля представляет актуальное направление исследований, проводимых научными центрами в Европе, США, Индии и Китае (Bradshaw, 2021).

Селекционная ценность клубненосных видов *Solanum* зависит от их совместимости с культурным картофелем и характера наследования целевого признака (Рогозина,

Хавкин, 2017). Примитивные культурные виды, в том числе *S. phureja* Juz. & Bukasov, *S. stenotomum* Juz. & Bukasov, *S. goniocalyx* Juz. & Bukasov (по системе J. Hawkes (Hawkes, 1990) *S. stenotomum* subsp. *goniocalyx* (Juz. & Bukasov) Hawkes) относятся к первичному генофонду, представители которого легко скрещиваются с сортовым картофелем (Bradeen, Kole, 2011). В связи с этим использование в качестве исходного материала для селекции примитивных культурных видов представляет особый интерес.

В 2011 г. вышла первая статья, описывающая последовательность генома искусственно созданного удвоенного моноплоида DM 1-3 516 R44 (DM1-3) *Solanum* L. группы Phureja (Potato Genome Sequencing Consortium (PGSC), 2011). Опубликованная последовательность представляла 86 % генома искусственно созданного гомозиготного клона. Она была получена в результате интеграции двух сборок геномных последовательностей: диплоидного гетерозиготного клона RH89-039-16 и клона DM 1-3 516 R44 (CIP 801092), (The Potato Genome Sequencing Initiative, [https://www.hutton.ac.uk/sites/default/files/documents/posters/sharma/Sharma\\_Potato\\_Sequencing\\_Initiative.pdf](https://www.hutton.ac.uk/sites/default/files/documents/posters/sharma/Sharma_Potato_Sequencing_Initiative.pdf), дата обращения 2 мая 2023 г.).

Совершенствование технологий секвенирования позволило к 2022 г. создать сборки геномных последовательностей представителей всех групп генофонда картофеля: диких и культурных видов и тетраплоидных сортов картофеля (Usadel, 2022). Представленная в базах данных NCBI, Spud DB, Solomics генетическая информация о картофеле и родственных *Solanum* spp. способствует лучшему пониманию их генетических различий, процесса эволюции видов, помогает в поиске генов, определяющих селекционно-ценные признаки.

Цель работы – поиск и структурный анализ R-генов в данных полногеномного секвенирования, включая данные коротких прочтений (sequence raw archive, SRA) и частично собранные (до уровня контигов) геномы ПКВ картофеля.

## Материалы и методы

**Материал.** Для поиска генов устойчивости были использованы: последовательность референсного генома картофеля DM1-3 v4.3 (PGSC, 2011), данные коротких прочтений, полученные в результате полногеномного секвенирования в проекте PRJNA394943 (Li Y. et al., 2018), а также сборки геномов из проекта PRJCA006011 (Tang et al., 2022) для образцов ПКВ: *Solanum phureja*, *S. stenotomum*, *S. goniocalyx* (табл. 1).

В качестве объектов для анализа были взяты 26 R-генов (полный список приведен в Приложении 2)<sup>1</sup>, референсные

<sup>1</sup> Приложения 1 и 2 см. по адресу:  
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2024-28/appx9.pdf>

**Таблица 1.** Полногеномные последовательности и SRA-данные, взятые в анализ

| Вид                  | Обозначение | Количество образцов (SRA-данные) | Сборка генома         |
|----------------------|-------------|----------------------------------|-----------------------|
| <i>S. phureja</i>    | phu         | 9                                | DM1-3; PG6169; PG6225 |
| <i>S. stenotomum</i> | stn         | 8                                | PG6029; PG6055        |
| <i>S. goniocalyx</i> | gon         | 4                                | PG6148                |

Примечание. Идентификационные номера сборок геномов даны согласно (Tang et al., 2022). Полное описание материала представлено в Приложении 1.

последовательности которых представлены в базе данных NCBI. Эти последовательности были выделены из генетического материала диких и культурных видов картофеля, а также американского черного паслёна *S. americanum*.

***In silico*-поиск и анализ *R*-генов в геномах ПКВ картофеля.** На первом этапе анализа *in silico* осуществлен поиск гомологов *R*-генов в данных полногеномного секвенирования и сборках геномов ПКВ картофеля.

**Поиск и анализ гомологов *R*-генов в SRA-данных.** После оценки качества секвенирования (FASTQC v0.11.9) (Wingett, Andrews, 2018) проводили фильтрацию низкокачественных прочтений (Trimmomatic 0.39), которая включала удаление ПЦР-дубликатов, а также прочтений, содержащих более чем 20 % нуклеотидов с Phred качеством менее 5 или более 10 % неустановленных нуклеотидов (Bolger et al., 2014). Далее выполняли выравнивание прочтений каждого образца на референсные *R*-гены с использованием алгоритма локального множественного выравнивания программы bowtie2 v.2.3.5.1 (Langmead, Salzberg, 2012). Результаты выравнивания обрабатывали при помощи программ samtools 1.10 и bedtools 2.30.0, эти же программы использовали для оценки достаточности и однородности покрытия генов (Quinlan, Hall, 2010). Поиск вариантов осуществляли с помощью VarScan 2.4.4 с минимальным покрытием 5 (Koboldt et al., 2009). Обработку результатов производили с использованием R 4.2.2 и Python 3.8.2.

**Поиск и анализ *R*-генов в сборках геномов ПКВ картофеля.** Проверка наличия последовательностей генов в нескольких сборках геномов ПКВ картофеля из проекта PRJCA006011 (Tang et al., 2022) проведена при помощи local blast 2.5.0+ алгоритма (Ladunga, 2017). Отбирали последовательности, имеющие сходство с референсными – не менее 80 % и покрывающие не менее 80 % последних, которые могли представлять как полные последовательности *R*-генов, так и отдельные их части – UTR, экзоны, интроны. При помощи локального выравнивания ClustalW выбраны последовательности с полностью представленной кодирующей областью гена.

На втором этапе обнаруженные в геномах ПКВ картофеля гены устойчивости анализировали на наличие полиморфизма в нуклеотидных и аминокислотных последовательностях. Для оценки изменений аминокислотных последовательностей применяли локальное выравнивание ClustalW в программе Mega X (Kumar et al., 2018). Для вычисления доменной организации и ключевых позиций в аминокислотных последовательностях *R*-генов использовали InterPro (Paysan-Lafosse et al., 2023).

## Результаты

В данных полногеномного секвенирования и сборках геномов *S. phureja*, *S. stenotomum*, *S. goniocalyx* идентифицированы гомологи всех 26 исходных референсных *R*-генов, выявлено их значительное сходство (более 80 %) в кодирующих областях. Некодирующие последовательности (UTR и/или интроны) в большинстве предполагаемых гомологов значительно отличаются от таковых в референсных генах, и степень их сходства, как правило, не превышает 60 %.

Проведены оценка качества и равномерности покрытия SRA-данных на каждый из 26 *R*-генов и поиск в сборках геномов ПКВ картофеля полных кодирующих последовательностей. Из дальнейшего анализа исключены гены, точные и полные белок-кодирующие последовательности которых неизвестны, а также гены, при первичном поиске которых были расхождения между данными, полученными при изучении сборок геномов, и SRA-данными (в частности, при анализе SRA-данных ген *Rpi-mch1* имел крайне низкое покрытие, хотя в сборках он присутствовал). С учетом опубликованных данных о высокой степени сходства генов в кластерах на IV, VIII и IX хромосомах из каждого кластера выбран один референсный ген для анализа группы гомологов: *Rpi-R2-like* для группы гомологов *Rpi-R2*, *Rpi-R2-like*, *Rpi-abpt* и *Rpi-blb3*; *Rpi-sto1* – для группы гомологов *Rpi-sto1*, *Rpi-blb1* и *Rpi-bt1*; *Rpi-vnt1.3* – среди разных аллельных вариантов гена *Rpi-vnt1*.

На основании результатов первого этапа анализа были отобраны 15 *R*-генов. Ряд этих генов обеспечивает устойчивость картофеля к фитофторозу: *Rpi-R1* (Ballvora et al., 2002), *Rpi-R2-like* (Lokossou et al., 2009), *Rpi-R3a* (Huang et al., 2005), *Rpi-R3b* (Li G. et al., 2011), *Rpi-sto1* (Vleeshouwers et al., 2008), *Rpi-blb2* (van der Vossen et al., 2005), *Rpi-vnt1.3* (Foster et al., 2009), *Rpi-ber1* (Monino-Lopez et al., 2021), *Rpi-R8* (Vossen et al., 2016) и *Rpi-amr3*- у паслёна (Witek et al., 2021). Среди них также были найдены гены устойчивости к X вирусу картофеля – *Rx* (Bendahmane et al., 1999), патотипу Pa2 бледной цистообразующей нематоды – *Gpa2* (van der Vossen et al., 2000), к вертициллёзному увяданию – *Ve1*, *Ve2* (Song et al., 2017), к вирусам мозаики томата и табака – *Tm2-ToMV* (Wu X. et al., неопубл.). Все указанные гены являются представителями двух семейств: гены *Ve1* и *Ve2* – семейства RLP/RKL (receptor-like proteins/receptor-like kinases), остальные 13 генов – семейства CC-NBS-LRR (Coiled-Coil Nucleotide Binding Site Leucine Rich Repeats).

В сборках геномов ПКВ картофеля обнаружено разное число копий, анализируемых *R*-генов (табл. 2). Ген *Rpi-R3a* представлен единственной последовательностью в

**Таблица 2.** Количество копий генов в сборках ПКВ картофеля с указанием числа копий, не содержащих преждевременных стоп-кодонов (в скобках)

| Ген                | DM1-3  | PG6029  | PG6225  | PG6169  | PG6148  | PG6055  |
|--------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| <i>Rpi-amr3</i>    | 6 (1)  | 11 (3)  | 7 (6)   | 6 (2)   | 9 (6)   | 8 (4)   |
| <i>Rpi-R1</i>      | 3 (0)  | 8 (6)   | 7 (3)   | 4 (3)   | 7 (5)   | 9 (5)   |
| <i>Rpi-R2-like</i> | 26 (7) | 34 (22) | 35 (21) | 24 (17) | 45 (26) | 40 (23) |
| <i>Rpi-R3a</i>     | 7 (1)  | 1 (1)   | 1 (1)   | 1 (1)   | 2 (2)   | 1 (1)   |
| <i>Rpi-R3b</i>     | 2 (0)  | 5 (1)   | 3 (2)   | 5 (2)   | 7 (6)   | 4 (2)   |
| <i>Rpi-sto1</i>    | 5 (3)  | 16 (12) | 13 (8)  | 7 (5)   | 20 (13) | 8 (6)   |
| <i>Rpi-blb2</i>    | 1 (0)  | 3 (1)   | 4 (4)   | 2 (2)   | 4 (3)   | 2 (1)   |
| <i>Rpi-ber1</i>    | 3 (1)  | 6 (1)   | 9 (2)   | 4 (1)   | 5 (1)   | 3 (1)   |
| <i>Rpi-vnt1.3</i>  | 6 (5)  | 6 (6)   | 11 (6)  | 10 (9)  | 17 (12) | 13 (7)  |
| <i>Ve1</i>         | 3 (2)  | 4 (2)   | 6 (4)   | 7 (6)   | 5 (3)   | 5 (3)   |
| <i>Ve2</i>         | 3 (1)  | 3 (2)   | 3 (1)   | 4 (1)   | 4 (1)   | 4 (1)   |
| <i>Rpi-R8</i>      | 10 (1) | 18 (12) | 20 (9)  | 21 (15) | 12 (7)  | 15 (9)  |
| <i>Rx</i>          | 2 (1)  | 4 (3)   | 6 (4)   | 3 (1)   | 4 (4)   | 2 (2)   |
| <i>Gpa2</i>        | 2 (2)  | 3 (2)   | 7 (4)   | 2 (2)   | 6 (5)   | 2 (2)   |
| <i>Tm2-ToMV</i>    | 4 (3)  | 6 (5)   | 11 (8)  | 7 (7)   | 10 (7)  | 9 (6)   |

большинстве геномов. Гены *Rpi-amr3*, *Rpi-R1*, *Rpi-R3b*, *Rpi-blb2*, *Rpi-ber1*, *Ve1*, *Ve2*, *Rx*, *Gpa2* и *Tm2-ToMV* имеют от одной до десяти копий. Более десятка копий обнаружено у генов *Rpi-sto1*, *Rpi-vnt1.3*, *Rpi-R8*. Число копий гена *Rpi-R2-like* в разных сборках может достигать 45. Заметных различий в числе копий каждого гена между сборками геномов не наблюдается, коэффициент парной корреляции между числом копий в разных сборках превышает 80 % (см. табл. 2).

В отличие от остальных сборок, в референсном геноме DM1-3 несколько генов (*Rpi-R1*, *Rpi-R3b*, *Rpi-blb2*) не имеют гомологов, способных производить схожие белки (все гомологичные последовательности содержат преждевременные стоп-кодоны) (см. табл. 2). Мы связываем это с синтетическим происхождением удвоенного моноплоида *S. phureja*.

Для отобранных 15 референсных *R*-генов в дальнейшем был проведен анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей на наличие полиморфизма у ПКВ картофеля. При этом у данных видов в кодирующих последовательностях генов устойчивости обнаружено более 2000 сайтов полиморфизма, большинство из которых – однонуклеотидные полиморфизмы (SNP). Во всех генах хотя бы в одной из копий были найдены делеции или инсерции, которые влияют на предполагаемую аминокислотную последовательность. Тем не менее для всех генов в геномах отдельных видов были найдены такие варианты, которые способны производить белок, схожий с референсным.

Распределение встречаемости SNP соответствует представлениям о ПКВ картофеля как о группе близкородственных видов. Наиболее распространены общие для всех образцов SNP относительно уникальных SNP (найденных только в одном образце). Множество общих SNP (572, что составляет более 25 % от всех выявленных) при

этом отличали исследованные образцы от референсных последовательностей *R*-генов (рис. 1). Почти 15 % обнаруженных SNP составляют уникальные сайты.

Распределение встречаемости SNP в образцах ПКВ картофеля зависит от происхождения вида – источника референсного *R*-гена. Мы обнаружили значимые различия (критерий Краскала–Уоллеса 7.4044,  $p$ -value = 0.02467) между общими для всех исследованных образцов ПКВ картофеля SNP в генах из североамериканских диких видов и из культурных видов картофеля (см. рис. 1). Аналогичные показатели мы отмечаем и при анализе сборок геномов. Для референсных генов *Rpi-R8*, *Rx*, *Ve1*, *Ve2*, источниками которых являются образцы культурного картофеля, количество общих для ПКВ картофеля вариативных сайтов было минимальным. А в генах *Rpi-R3a*, *Rpi-blb2*, *Rpi-R2-like*, идентифицированных у филогенетически отдаленных от ПКВ картофеля образцов североамериканских диких видов картофеля, более 40 % обнаруженных SNP были одинаковы для всех образцов ПКВ картофеля (см. рис. 1). Отличия в частотах уникальных SNP не столь выражены, но наибольшая доля характерна для генов *Rpi-R8*, *Ve1* и *Gpa2*, источниками которых являются культурные виды картофеля.

Из генов, происходящих от североамериканских диких видов картофеля, только *Rpi-R1* нарушает тенденцию высокой доли общих SNP, свойственную остальным генам (доля общих для ПКВ SNP в этом гене составляет менее 20 %) (см. рис. 1). Данный ген был интрогрессирован в культурный картофель из отдаленного дикого вида *S. demissum*. Однако при исследовании различных копий этого гена, представленных в геномах ПКВ, в каждой из них мы обнаружили несколько инделей, включая делеции длиной до 15 нуклеотидов. Аналогичное снижение доли общих SNP вместе с наличием инделей в каждой из копий мы наблюдали при исследовании другого гена устойчивости к

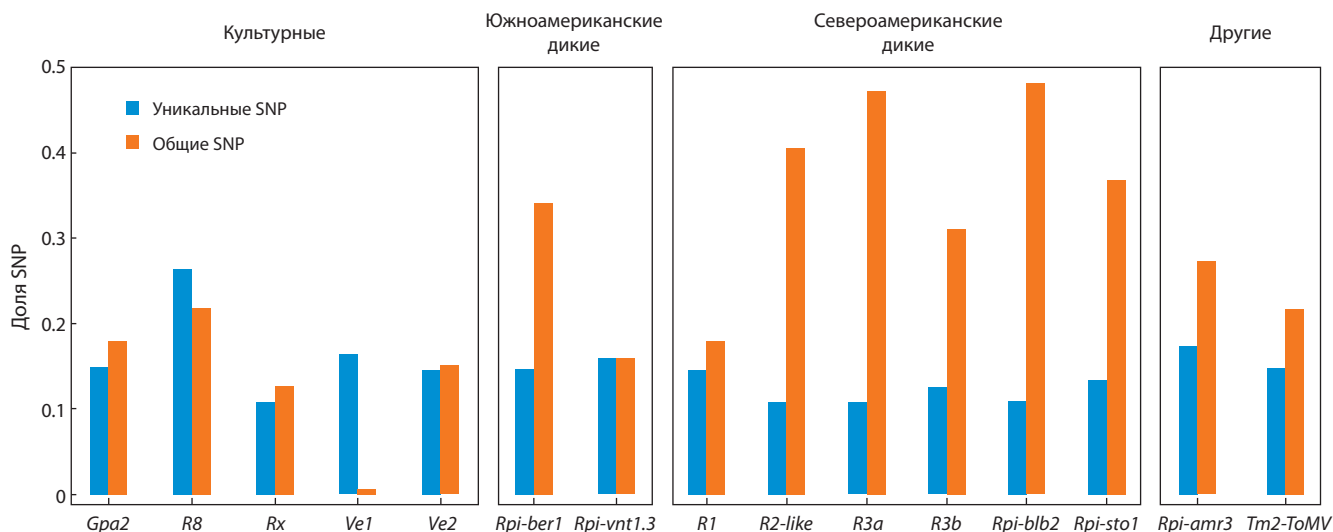


Рис. 1. Встречаемость SNP в гомологах *R*-генов среди образцов ПКВ картофеля (по SRA-данным).

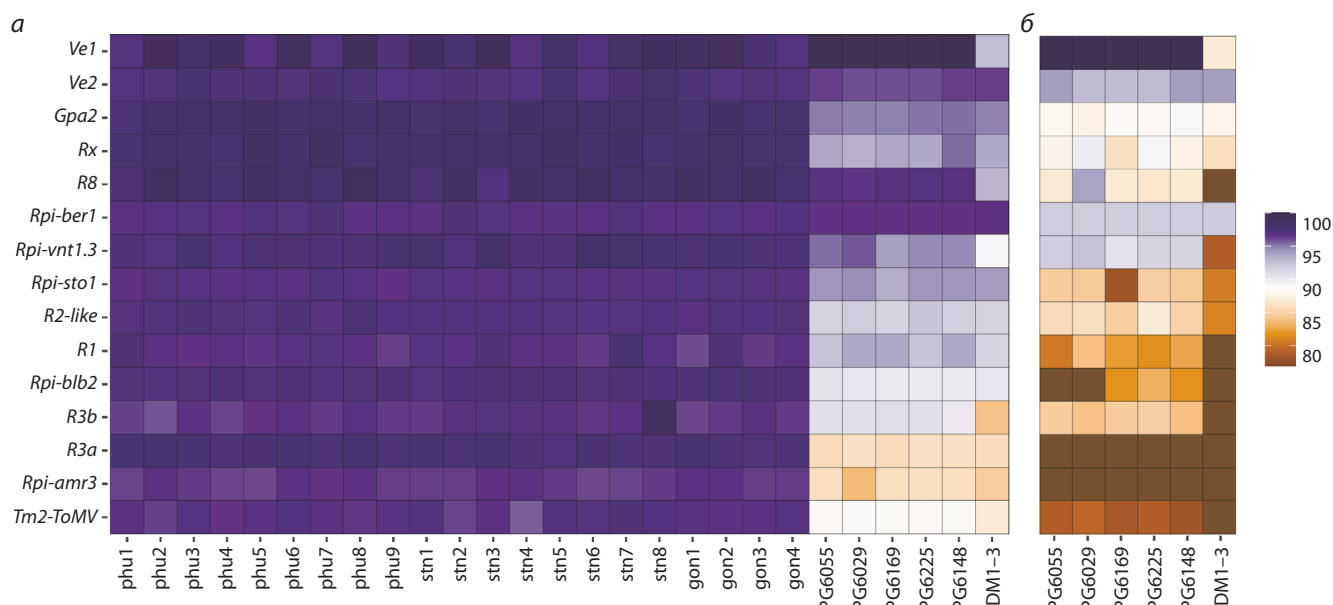


Рис. 2. Тепловая карта сходства нуклеотидных последовательностей *cds* (а) и аминокислотных последовательностей (б) гомологов *R*-генов у ПКВ картофеля с референсными последовательностями *R*-генов.

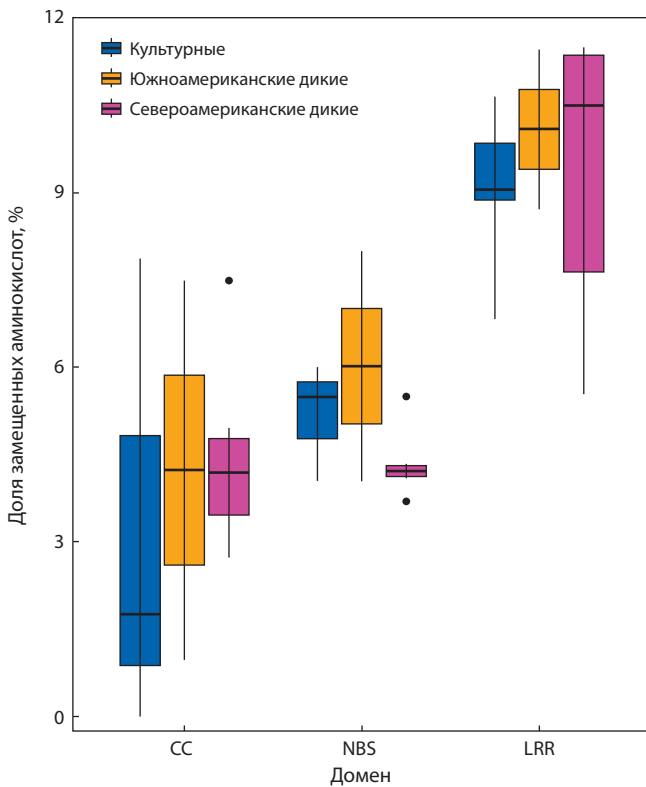
Цветовая шкала отображает уровень сходства с референсным геном.

фитофторозу – *Rpi-amr3*, обнаруженного у *S. americanum*, одного из видов паслёна, также очень далекого от культурного картофеля.

При анализе сборок геномов и SRA-данных выявлены различия в степени сходства последовательностей, найденных у ПКВ картофеля, с референсными последовательностями *R*-генов (рис. 2, а). Различия наиболее выражены у многокопийных генов. Это связано с тем, что при анализе SRA-данных фактически учитывается консенсусная последовательность для всех копий. И увеличение количества копий уменьшает вероятность учета SNP, поскольку в консенсусной последовательности учитывается тот вариант, который встречается в большинстве копий.

Наиболее сильные различия между оценками собранных геномов и сырых прочтений наблюдаются при анализе генов *Rpi-R3a* и *Rpi-amr3* (см. рис. 2, а). Скорее всего, это результат химерного выравнивания прочтений с других генов на референсные. При дальнейшем анализе этих последовательностей результаты обработки SRA-данных нами не учитывались.

Обнаружены различия между образцами ПКВ картофеля по степени сходства найденных гомологов (без учета сборки DM1-3) с референсными последовательностями *R*-генов. Медианный уровень отличий составляет 0.5 %. Наиболее схожие с референсным геном копии генов *Rpi-ber1* и *Ve1* между разными геномами ПКВ картофеля



**Рис. 3.** Сравнение доли аминокислотных замен в разных доменах *R*-генов.

Значимые различия между LRR и другими доменами оценивали согласно критерию Краскела–Уоллеса 17.343,  $p$ -value = 0.0001714.

отличаются единичными SNP (0.01 %). Максимальный уровень различий между нуклеотидными последовательностями гомологов *R*-генов у ПКВ картофеля выявлен для гена *Rpi-amr3*, он составляет 2.3 %. Близкий к этому значению уровень полиморфизма отмечен при анализе гомологов *Rx*, *R1*, *Rpi-vnt1.3*, *Rpi-sto1*. Для генов *Rpi-R8*, *Rpi-blb2*, *Ve2* показано, что одна или несколько копий довольно стабильны и обладают низким уровнем полиморфизма, в то время как другие копии значительно различаются между собой. Это соответствует представлениям об эволюционном процессе *R*-генов, для которых копияность может снизить влияние отбора.

В сборках ПКВ картофеля (без учета сборки DM1-3) у гомологов всех *R*-генов выявлены копии, потенциально способные производить аминокислотные последовательности (в них не обнаружены сдвиги рамки считывания и преждевременные стоп-кодона). Степень сходства с референсной аминокислотной последовательностью варьирует (72–100 %) (см. рис. 2, б).

Гены, происхождение которых напрямую связано с культурным картофелем, по сходству аминокислотных последовательностей с референсными четко подразделяются на две группы: гены семейства RLP-RLK (*Ve1* и *Ve2*) обладают самым высоким сходством с референсным геном: 100 и 92–94 % соответственно; сходство генов семейства CC-NBS-LRR (*Gpa2*, *Rx*, *Rpi-R8*) существенно ниже: 85–90 % (см. рис. 2, б). Гены семейства CC-NBS-LRR, происхождение которых связано с южноамериканскими

дикими видами, имеют более высокое сходство аминокислотных последовательностей с референсными, чем гены *Rpi-R2-like*, *Rpi-sto1*, *Rpi-R1* и *Rpi-R3b* из североамериканских диких видов: около 95 и 80–85 % соответственно. Изменения нуклеотидной последовательности в генах *Rpi-R3a*, а также *Rpi-amr3* и *Tm2-ToMV* приводят к низкому сходству (75–80 %) с референсной аминокислотной последовательностью (см. рис. 2, б).

Функциональный анализ аминокислотных последовательностей, выполненный при помощи InterPro, показал, что в гомологах NBS-LRR генов у ПКВ картофеля нет изменений в доменной организации даже в тех последовательностях, сходство которых с референсной последовательностью составляет менее 80 %.

Распределение аминокислотных замен по отдельным доменам у генов семейства CC-NBS-LRR показано на рис. 3. Учитывались только последовательности, образующие полноценные белки (не содержащие преждевременных стоп-кодонов). Не включены гены *Ve1* и *Ve2*, имеющие, согласно данным InterPro и NCBI, другую доменную организацию по сравнению с CC-NBS-LRR.

Доля замещенных аминокислот значительно варьирует в зависимости от домена (см. рис. 3). В LRR-доме всех найденных гомологов *R*-генов обнаружено наибольшее число (в среднем более 9 %) аминокислотных замен по сравнению с референсом. В генах *Rpi-vnt1.3*, *Rpi-sto1*, *Rpi-R1* и *Rpi-R3b* доля замещенных в LRR-доме аминокислот превышает 10 %. Доля замен в CC-доме значительно варьировала между генами. В этом домене не обнаружено аминокислотных замен у гомологов генов *R8*, *Rpi-vnt1.3* и *Rx*, в то время как у генов *Rpi-blb2*, *Gpa2* аминокислотных замен 7 %, у гена *Tm2-ToMV* – 11 %. В NBS-доме в среднем около 5 % замещенных аминокислот.

Распределение замещенных аминокислот в разных доменах среди ПКВ картофеля также неравномерно. В CC-доме почти всех генов большинство замен встречается лишь в отдельных образцах или небольших группах. Общие для всех образцов ПКВ замещенные аминокислоты представлены 0–3 сайтами. Исключение – ген *Gpa2*, в котором пять замен в CC-доме являются общими, и из них несколько замен расположено или в RanGAP2-сайте взаимодействия (по данным NCBI), или в непосредственной близости от него (соседние аминокислоты). В NBS-доме преобладают общие для ПКВ картофеля замены, единственным геном, где они отсутствовали, был *Rx*. В LRR-доме общие и характерные лишь для некоторых образцов замещенные аминокислоты распределены относительно равномерно.

## Обсуждение

Картофель – гетерозиготный тетраплоид, генетический анализ которого является сложной задачей. Геномное исследование картофеля и родственных клубнеобразующих видов, поиск и аннотация генов, определяющих агрономически важные характеристики, вносят существенный вклад в частную генетику культуры и совершенствование технологий селекции (Bradshaw, 2021). Прimitивные культурные виды картофеля относятся к систематической группе, интересной с точки зрения эволюции и в качестве

источника селекционно-ценных признаков картофеля, таких как устойчивость к болезням.

Нами проведен биоинформатический анализ данных полногеномного секвенирования 27 образцов видов *S. phureja*, *S. stenotomum* и *S. goniocalyx* (21 SRA-данных и 6 сборок геномов) по 26 генам устойчивости к возбудителям болезней и вредителям. У всех образцов найдены последовательности, гомологичные кодирующим участкам всех проанализированных *R*-генов. Выявлено их значительное сходство с соответствующими участками референсных генов (> 85 %). Некодирующие последовательности (UTR и/или интроны) в большинстве предполагаемых гомологов сильно отличаются от таковых в референсных генах, и степень их сходства, как правило, не превышает 60 %.

Многие из референсных последовательностей получены из далеких от ПКВ картофеля видов. Так, последовательность гена *Rpi-amr3* изолирована из паслёна *S. americanum*, а *Rpi-blb2* – из *S. bulbocastanum*, представителя североамериканских диких видов картофеля. Последний напрямую не скрещивается с культурными видами, и обнаружение гомологов *R*-генов с довольно высоким уровнем сходства у ПКВ представляет интерес с точки зрения особенностей эволюции этих генов. Впервые у видов *S. phureja* и *S. stenotomum* обнаружены гомологи генов *Rpi-R3b*, *Rpi-amr3* и *Rpi-ber1*.

У культурного картофеля, возделываемого на территории Южной Америки, обнаружены гомологи генов, обеспечивающих надежную защиту от фитофтороза, южноамериканского дикого вида *S. venturii* и мексиканских видов *S. bulbocastanum* и *S. stoloniferum*, а также генов расоспецифической устойчивости к фитофторозу североамериканского вида *S. demissum*. Ранее молекулярно-генетический скрининг образцов коллекции картофеля ВИР выявил наличие SCAR-маркеров *Rpi*-генов у диких видов картофеля северо- и южноамериканских серий и у образцов ПКВ картофеля (Muratova et al., 2020; Гурина и др., 2022; Rogozina et al., 2023). Сходство дикого и культурного картофеля по генам устойчивости к узкоспециализированному паразиту *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary подтверждает вывод о наследовании части генетического материала дикорастущих видов диплоидным культурным картофелем (Hardigan et al., 2017).

Обнаружение у представителей культурного картофеля не только генов, участвующих в защите картофеля от фитофтороза, вирусов, бледной нематоды, но и гомологов *R*-генов томата и паслёна, хорошо согласуется с данными о существенно большем репертуаре генов устойчивости к болезням у картофеля, по сравнению с близкородственными паслёновыми культурами (Tang et al., 2022).

Ранее проведенный биоинформатический анализ референсного генома картофеля DM1-3 (Jue et al., 2012; Lozano et al., 2012) был выполнен без учета генов *R3b*, *Rpi-amr3*, *Ve1*, *Ve2*, *Rpi-ber1*, так как их последовательности еще не были известны. В более поздней работе, посвященной поиску NBS-LRR генов у культурного картофеля *S. stenotomum* subsp. *goniocalyx*, не были использованы последовательности генов *R8*, *Ve1*, *Ve2*, *Rpi-ber1* и *Tm2-ToMV* (Liu, 2020). Для большинства выявленных нами гомологов *R*-генов степень их сходства с референсными

последовательностями соответствует опубликованным данным (Lozano et al., 2012; Liu, 2020). Однако у изученных образцов *S. goniocalyx* Z. не обнаружены в достаточной мере достоверные гомологичные последовательности для генов *Rx*, *R3b* и *Gpa2* (Liu, 2020). Вероятнее всего, это связано с крайне высокой степенью полиморфизма некодирующих частей этих генов, которые к тому же занимают довольно протяженные участки, что препятствует их полноразмерному анализу.

Диплоидные виды *S. phureja* и *S. stenotomum* наиболее близки ранним доместичированным формам клубнеобразующих видов рода *Solanum* L. У представителей этих видов мы обнаружили гомологи *R*-генов с разной эволюционной историей. На древнее происхождение внеклеточного рецептора, кодируемого геном *Ve1*, указывает широкое распространение функциональных и нефункциональных гомологов *Ve1* у растений семейства Solanaceae и других филогенетически отдаленных видов (Song et al., 2017). У ПКВ картофеля во всех сборках найдены копии гена *Ve1*, которые по аминокислотной последовательности не отличаются от референса, что говорит о потенциальной перспективности этой группы в качестве донора устойчивости к вертицилллёзному увяданию.

Эволюция генов мексиканского вида *S. bulbocastanum* *Rpi-blb1* и *Rpi-blb3* происходила с разной скоростью и разными путями, а для гена *Rpi-blb2* в образцах *S. bulbocastanum* были обнаружены только последовательности, идентичные референсному гену (Lokossou et al., 2010). Поэтому выявление гомологов *Rpi-blb2* и *Rpi-sto1* (ортолога *Rpi-blb1*) у культурного картофеля, произрастающего на другом континенте и не скрещивающегося с *S. bulbocastanum*, представляет значительный интерес.

*R*-гены, в особенности представители семейства NBS-LRR, как правило, представлены в геноме не одиночно, а в виде кластеров – многочисленных копий гомологичных генов (Prakash et al., 2020). В геномах ПКВ картофеля большинство исследованных *R*-генов (кроме *R3a*, *Rpi-ber1* и *Ve2*) также представлены двумя и более копиями. Особо выделяется ген *R2-like*, который относится к большому кластеру *R*-генов, лежащих на IV хромосоме. Его копияность среди ПКВ картофеля была самой высокой, количество найденных копий варьировало от 24 до 40. По литературным данным, присутствие/отсутствие гена и число его копий – это распространенный тип полиморфизма среди генов устойчивости, поскольку их организация способствует неравной рекомбинации, в результате которой в потомстве возникают отличия в числе копий одного гена. Для некоторых генов мы действительно наблюдали различия в количестве копий, но поскольку сборки незавершенные, а метод показывал лишь гомологи, имеющие сходство выше порогового, мы не можем точно утверждать, что обнаруженные различия имеют место, а не являются следствием методических аспектов работы.

Некоторые исследователи связывают с процессом одомашнивания потерю разнообразия во многих генах, в первую очередь хозяйственно ценных, к которым относятся и *R*-гены (Li Y. et al., 2018; Tang et al., 2022). Li с коллегами (2018) отмечали более низкую вариабельность генетического материала культурных видов по сравнению с дикими. Это хорошо согласуется с высокой долей общих

SNP у ПКВ картофеля, а также с систематикой картофеля, разработанной D. Spooner, в которой большинство ПКВ картофеля рассматривается как группа в составе одного вида *S. tuberosum* (Spooner et al., 2014).

Исследуемые *R*-гены обладают сложной структурой; ранее была показана неравнозначность скорости аминокислотных замен в разных доменах (Prakash et al., 2020). Так, NBS-домен – более консервативный, поскольку связан с активацией механизма защиты растений внутри клетки, в то время как LRR-домен, отвечающий за распознавание патогена, – более вариабельный, и скорость замен в нем выше. Выявленная нами неравномерность распределения аминокислотных замен по доменам NBS-LRR белков соответствует данным литературы о скорости эволюции этих белков.

По распространенности замещенных аминокислот среди образцов ПКВ картофеля домены *R*-генов также неравномерны. Наиболее распространены общие для этой группы изменения в NBS-домене, что, вероятно, связано с изменением белков, в дальнейшем активируемых *R*-генами. В СС-домене, напротив, наименьшее количество общих для ПКВ картофеля аминокислотных замен. О выполняемой функции этого домена до сих пор мало известно, есть данные, что в некоторых белках он запускает механизм клеточной смерти (Huang et al., 2021), но для других генов показано его взаимодействие с системой распознавания патогена (Rairdan et al., 2008). Предположить, чем обусловлены и к чему могут привести такие отличия в ПКВ картофеля, достаточно сложно, но при исследовании различных копий нами выявлено, что в большинстве явно нефункциональных последовательностей (содержащих преждевременный стоп-кодон) индели были именно в СС-домене. Это может отражать эволюционный характер диверсификации паралогов в геноме при сохранении относительно стабильного варианта.

В LRR-домене обнаружены как общие, так и характерные для отдельных образцов или набольших групп замещенные аминокислоты, скорее всего, эти замены – часть адаптивного механизма предковых форм ПКВ картофеля к распространенным в то время расам патогенов. Механизм работы LRR-домена изучен плохо. Показано, что даже небольшое количество изменений конкретных аминокислот может привести к изменению распознаваемого патогена от вируса к нематоду (Slootweg et al., 2017). В то же время известны большие группы ортологов, схожих между собой лишь на 85–90 %, которые распознают один и тот же патоген (Park et al., 2005). Вероятно, лишь изменения конкретных паттернов в последовательности приводят к изменению эффектора, который распознается LRR-доменом. Но для подробного изучения этого явления требуются значительно большее количество хорошо фенотипированных образцов, а также применение методов, позволяющих оценить взаимодействие продуктов разных генов.

## Заключение

У примитивных культурных видов картофеля обнаружены последовательности, гомологичные *R*-генам, участвующим в защите картофеля от фитофтороза, вирусов, бледной нематоды; картофеля и томата – от вертициллёзного

увядания; томата – от вирусов мозаики. Впервые произведен поиск и показано наличие у ПКВ картофеля гомологов генов *R3b*, *Rpi-amr3*, *Ve1*, *Ve2*, *Rpi-ber1*. Схожесть кодирующих последовательностей, обнаруженных у ПКВ картофеля, с референсными *R*-генами свыше 85 % для всех генов. Впервые продемонстрировано, что гомологи всех *R*-генов во всех исследованных сборках геномов имеют копии, среди которых во всех геномах, кроме DM1-3, встречается хотя бы одна последовательность, не содержащая стоп-кодонов или сдвигов рамки считывания.

У исследованной группы образцов выявлены различия в характере полиморфизма *R*-генов, в зависимости от источника референсного гена. Для гомологов генов из североамериканских диких видов, по сравнению с генами из культурных видов картофеля, значимо более представлены изменения, характеризующие группу ПКВ картофеля в целом. Впервые показано, что одна из копий гена *Ve1* у ПКВ картофеля не содержит аминокислотных замен относительно референсного гена, что говорит о потенциальной устойчивости ПКВ картофеля к вертициллёзному увяданию (*Verticillium dahliae* Kleb.).

## Список литературы / References

- Гурина А.А., Алпатьева Н.В., Чалая Н.А., Мироненко Н.В., Хютти А.В., Рогозина Е.В. Гомологи генов устойчивости к фитофторозу у представителей клубнеобразующих видов рода *Solanum* L. *Генетика*. 2022;58(12):1418-1430. DOI 10.31857/S0016675822120049
- [Gurina A.A., Alpatieva N.V., Chalaya N.A., Mironenko N.V., Khiutti A.V., Rogozina E.V. Homologs of late blight resistance genes in representatives of tuber-bearing species of the genus *Solanum* L. *Russ. J. Genet.* 2022;58(12):1473-1484. DOI 10.1134/S1022795422120043]
- Рогозина Е.В., Хавкин Э.Е. Межвидовые гибриды картофеля как доноры долговременной устойчивости к патогенам. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017;21(1):30-41. DOI 10.18699/VJ17.221
- [Rogozina E.V., Khavkin E.E. Interspecific potato hybrids as donors of durable resistance to pathogens. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(1):30-41. DOI 10.18699/VJ17.221 (in Russian)]
- Armstrong M.R., Vossen J., Lim T.Y., Hutten R.C.B., Xu J., Strachan S.M., Harrower B., Champouret N., Gilroy E.M., Hein I. Tracking disease resistance deployment in potato breeding by enrichment sequencing. *Plant Biotechnol. J.* 2019;17(2):540-549. DOI 10.1111/pbi.12997
- 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 J.* 2002;30(3):361-371. DOI 10.1046/J.1365-313X.2001.01292.X
- Bendahmane A., Kanyuka K., Baulcombe D.C. The *Rx* gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses. *Plant Cell*. 1999;11(5):781-791. DOI 10.1105/tpc.11.5.781
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014;30(15):2114-2120. DOI 10.1093/bioinformatics/btu170
- Bradeen J.M., Kole C. (Eds.). *Genetics, Genomics and Breeding of Potato*. CRC Press, 2011. DOI 10.1201/b10881
- Bradshaw J.E. *Potato Breeding: Theory and Practice*. Cham (Switzerland): Springer, 2021. DOI 10.1007/978-3-030-64414-7
- Deng Y., Ning Y., Yang D.-L., Zhai K., Wang G.-L., He Z. Molecular basis of disease resistance and perspectives on breeding strategies for resistance improvement in crops. *Mol. Plant*. 2020;13(10):1402-1419. DOI 10.1016/j.molp.2020.09.018



- Fang Y., Jiang J., Hou X., Guo J., Li X., Zhao D., Xie X. Plant protein-coding gene families: Their origin and evolution. *Front. Plant Sci.* 2022;13:995746. DOI 10.3389/fpls.2022.995746
- FAO. The Second Report on the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome, 2010
- FAO. Land Use Statistics and Indicators. Global, Regional and Country Trends, 2000–2020. No. 48. Rome: FAOSTAT analytical Brief, 2020
- Foster S.J., Park T.H., Pel M., Brigneti G., Sliwka J., Jagger L., van der Vossen E., Jones J.D.G. *Rpi-vnt1.1*, a *Tm-2<sup>2</sup>* homolog from *Solanum venturii*, confers resistance to potato late blight. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2009;22(5):589-600. DOI 10.1094/MPMI-22-5-0589
- Hardigan M.A., Laimbeer F.P.E., Newton L., Crisovan E., Hamilton J.P., Vaillancourt B., Wiegert-Rininger K., Wood J.C., Douches D.S., Farré E.M., Veilleux R.E., Buell C.R. Genome diversity of tuber-bearing *Solanum* uncovers complex evolutionary history and targets of domestication in the cultivated potato. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017;114(46):E9999-E10008. DOI 10.1073/pnas.1714380114
- Hawkes J.G. The Potato: Evolution, Biodiversity and Genetic Resources. Belhaven Press, 1990
- Huang S., van der Vossen E.A.G., Kuang H., Vleeshouwers V.G.A.A., Zhang N., Borm T.J.A., van Eck H.J., Baker B., Jacobsen E., Visser R.G.F. Comparative genomics enabled the isolation of the *R3a* late blight resistance gene in potato. *Plant J.* 2005;42(2):251-261. DOI 10.1111/j.1365-313X.2005.02365.x
- Huang J., Wu X., Sun K., Gao Z. Structure and function analysis of a CC-NBS-LRR protein AT1G12290. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2021;1(534):206-211. DOI 10.1016/j.bbrc.2020.11.111
- Jones J., Foster S.J., Chu Z., Park T.H., Pel M.A. Late Blight Resistance Genes and Methods. US Patent WO 2009013468 A3. 2013
- Jupe F., Pritchard L., Etherington G.J., MacKenzie K., Cock P.J.A., Wright F., Sharma S.K., Bolser D., Bryan G.J., Jones J.D.G., Hein I. Identification and localisation of the NB-LRR gene family within the potato genome. *BMC Genomics.* 2012;13:75. DOI 10.1186/1471-2164-13-75
- Koboldt D.C., Chen K., Wylie T., Larson D.E., McLellan M.D., Mardis E.R., Weinstock G.M., Wilson R.K., Ding L. VarScan: variant detection in massively parallel sequencing of individual and pooled samples. *Bioinformatics.* 2009;25(17):2283-2285. DOI 10.1093/Bioinformatics/BTP373
- Kourelis J., van der Hoorn R.A.L. Defended to the nines: 25 years of resistance gene cloning identifies nine mechanisms for R protein function. *Plant Cell.* 2018;30(2):285-299. DOI 10.1105/tpc.17.00579
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018;35(6):1547-1549. DOI 10.1093/MOLBEV/MSY096
- Ladunga I. Finding similar nucleotide sequences using Network BLAST searches. *Curr. Protoc. Bioinformatics.* 2017;58(1):3.3.1-3.3.25. DOI 10.1002/CPBI.29
- Langmead B., Salzberg S.L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat. Methods.* 2012;9(4):357-359. DOI 10.1038/nmeth.1923
- Li G., Huang S., Guo X., Li Y., Yang Y., Guo Z., Kuang H., Rietman H., Bergervoet M., Vleeshouwers V.G.G.A., van der Vossen E.A.G., Qu D., Visser R.G.F., Jacobsen E., Vossen J.H. Cloning and characterization of *R3b*; members of the *R3* superfamily of late blight resistance genes show sequence and functional divergence. 2011;24(10):1132-1142. DOI 10.1094/MPMI-11-10-0276
- Li Y., Colleonì C., Zhang J., Liang Q., Hu Y., Ruess H., Simon R., Liu Y., Liu H., Yu G., Schmitt E., Ponitzki C., Liu G., Huang H., Zhan F., Chen L., Huang Y., Spooner D., Huang B. Genomic analyses yield markers for identifying agronomically important genes in potato. *Mol. Plant.* 2018;11(3):473-484. DOI 10.1016/j.molp.2018.01.009
- Liu Z. Diversity of NB-LRR genes in the genome of *Solanum stenotomum* subsp. *goniocalyx*. Thesis. Montreal: McGill University, 2020
- Lokossou A.A., Park T.H., van Arkel G., Arens M., Ruyter-Spira C., Morales J., Whisson S.C., Birch P.R.J., Visser R.G.F., Jacobsen E., van der Vossen E.A.G. Exploiting knowledge of *R/Avr* genes to rapidly clone a new LZ-NBS-LRR family of late blight resistance genes from potato linkage group IV. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2009;22(6):630-641. DOI 10.1094/MPMI-22-6-0630
- Lokossou A.A., Rietman H., Wang M.Q., Krenke P., Schoot H., Henken B., Hoekstra R., Vleeshouwers V.G.A.A., van der Vossen E.A.G., Visser R.G.F., Jacobsen E., Vosman B. Diversity, distribution, and evolution of *Solanum bulbocastanum* late blight resistance genes. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2010;23(9):1206-1216. DOI 10.1094/MPMI-23-9-1206
- Lozano R., Ponce O., Ramirez M., Mostajo N., Orjeda G. Genome-wide identification and mapping of NBS-encoding resistance genes in *Solanum tuberosum* group phureja. *PLoS One.* 2012;7(4):e34775. DOI 10.1371/journal.pone.0034775
- Monino-Lopez D., Nijenhuis M., Kodde L., Kamoun S., Salehian H., Schentsnyi K., Stam R., Lokossou A., Abd-El-Halim A., Visser R.G.F., Vossen J.H. 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. *Plant J.* 2021;107(1):182-197. DOI 10.1111/tpj.15284
- Muratova (Fadina) O.A., Beketova M.P., Kuznetsova M.A., Rogozina E.V., Khavkin E.E. South American species *Solanum alandiae* Card. and *S. okadae* Hawkes et Hjerting as potential sources of genes for potato late blight resistance. *Proc. Appl. Bot. Genet. Breed.* 2020;181(1):73-83. DOI 10.30901/2227-8834-2020-1-73-83
- Oosumi T., Rockhold D.R., Maccree M.M., Deahl K.L., McCue K.F., Belknap W.R. Gene *Rpi-bt1* from *Solanum bulbocastanum* confers resistance to late blight in transgenic potatoes. *Am. J. Pot. Res.* 2009; 86:456-465. DOI 10.1007/s12230-009-9100-4
- Paal J., Henselewski H., Muth J., Meksem K., Menéndez C.M., Salamini F., Ballvora A., Gebhardt C. Molecular cloning of the potato *Grol-4* gene conferring resistance to pathotype Ro1 of the root cyst nematode *Globodera rostochiensis*, based on a candidate gene approach. *Plant J.* 2004;38(2):285-97. DOI 10.1111/j.1365-313X.2004.02047.x
- Park T.H., Gros J., Sikkema A., Vleeshouwers V.G., Muskens M., Allefs S., Jacobsen E., Visser R.G., van der Vossen E.A. The late blight resistance locus *Rpi-bib3* from *Solanum bulbocastanum* belongs to a major late blight R gene cluster on chromosome 4 of potato. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2005;18(7):722-729. DOI 10.1094/MPMI-18-0722
- Paysan-Lafosse T., Blum M., Chuguransky S., Grego T., Pinto B.L., Salazar G.A., Bileschi M.L., ... Sillitoe I., Thanki N., Thomas P.D., Tosatto S.C.E., Wu C.H., Bateman A. InterPro in 2022. *Nucleic Acids Res.* 2023;51(D1):D418-D427. DOI 10.1093/NAR/GKAC993
- Potato Genome Sequencing Consortium; Xu X., Pan S., Cheng S., Zhang B., Mu D., Ni P., Zhang G., Yang S., ... Kloosterman B., van Eck H., Datema E., Hekkert Bt., Goverse A., van Ham R.C., Visser R.G. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. *Nature.* 2011;475(7355):189-195. DOI 10.1038/nature10158
- Prakash C., Trognitz F.C., Venhuizen P., von Haeseler A., Trognitz B. A compendium of genome-wide sequence reads from NBS (nucleotide binding site) domains of resistance genes in the common potato. *Sci. Rep.* 2020;10(1):11392. DOI 10.1038/s41598-020-67848-z
- Quinlan A.R., Hall I.M. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features. *Bioinformatics.* 2010;26(6):841-842. DOI 10.1093/bioinformatics/btq033
- Rairdan G.J., Collier S.M., Sacco M.A., Baldwin T.T., Boettrich T., Moffett P. The coiled-coil and nucleotide binding domains of the Potato Rx disease resistance protein function in pathogen recognition and signaling. *Plant Cell.* 2008;20(3):739-751. DOI 10.1105/tpc.107.056036
- Rogozina E.V., Gurina A.A., Chalaya N.A., Zoteyeva N.M., Kuznetsova M.A., Beketova M.P., Muratova O.A., Sokolova E.A., Drobyazina P.E., Khavkin E.E. Diversity of late blight resistance genes in

- the VIR potato collection. *Plants*. 2023;12(2):273. DOI 10.3390/plants12020273
- Sliwka J., Jakuczun H., Chmielarz M., Hara-Skrzypiec A., Tomczyńska I., Kilian A., Zimnoch-Guzowska E. A resistance gene against potato late blight originating from *Solanum × michoacanum* maps to potato chromosome VII. *Theor. Appl. Genet.* 2012;124(2):397-406. DOI 10.1007/s00122-011-1715-4
- Slootweg E., Koropacka K., Roosien J., Dees R., Overmars H., Lankhorst R.K., van Schaik C., Pomp R., Bouwman L., Helder J., Schots A., Bakker J., Smant G., Goverse A. Sequence exchange between homologous NB-LRR genes converts virus resistance into nematode resistance, and vice versa. *Plant Physiol.* 2017;175(1):498-510. DOI 10.1104/pp.17.00485
- Song Y., Zhang Z., Seidl M.F., Majer A., Jakse J., Javornik B., Thomma B.P.H.J. Broad taxonomic characterization of *Verticillium* wilt resistance genes reveals an ancient origin of the tomato Ve1 immune receptor. *Mol. Plant Pathol.* 2017;18(2):195-209. DOI 10.1111/MPP.12390
- Spooner D.M., Ghislain M., Simon R., Jansky S.H., Gavrilenko T. Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes. *Bot. Rev.* 2014;80:283-383. DOI 10.1007/s12229-014-9146-y
- Tang D., Jia Y., Zhang J., Li H., Cheng L., Wang P., Bao Z., Liu Z., Feng S., Zhu X., Li D., Zhu G., Wang H., Zhou Y., Zhou Y., Bryan G.J., Buell C.R., Zhang C., Huang S. Genome evolution and diversity of wild and cultivated potatoes. *Nature*. 2022;606(7914):535-541. DOI 10.1038/s41586-022-04822-x
- Usadel B. *Solanaceae* pangenomes are coming of graphical age to bring heritability back. *aBIOTECH*. 2022;3(4):233-236. DOI 10.1007/s42994-022-00087-0
- van der Vossen E.A., van der Voort J.N., Kanyuka K., Bendahmane A., Sandbrink H., Baulcombe D.C., Bakker J., Stiekema W.J., Klein-Lankhorst R.M. Homologues of a single resistance-gene cluster in potato confer resistance to distinct pathogens: a virus and a nematode. *Plant J.* 2000;23(5):567-576. DOI 10.1046/j.1365-313x.2000.00814.x. PMID: 10972883
- van der Vossen E., Sikkema A., Hekkert Bt., Gros J., Stevens P., Muskens M., Wouters D., Pereira A., Stiekema W., Allefs S. An ancient R gene from the wild potato species *Solanum bulbocastanum* confers broad-spectrum resistance to *Phytophthora infestans* in cultivated potato and tomato. *Plant J.* 2003;36(6):867-882. DOI 10.1046/j.1365-313x.2003.01934.x
- van der Vossen E.A.G., Gros J., Sikkema A., Muskens M., Wouters D., Wolters P., Pereira A., Allefs S. The *Rpi-blb2* gene from *Solanum bulbocastanum* is an *Mi-1* gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato. *Plant J.* 2005;44(2):208-222. DOI 10.1111/j.1365-313X.2005.02527.x
- Vleeshouwers V.G.A.A., Rietman H., Krenek P., Champouret N., Young C., Oh S.K., Wang M., Bouwmeester K., Vosman B., Visser R.G.F., Jacobsen E., Govers F., Kamoun S., van der Vossen E.A.G. Effector genomics accelerates discovery and functional profiling of potato disease resistance and *Phytophthora infestans* avirulence genes. *PLoS One*. 2008;3(8):2875. DOI 10.1371/journal.pone.0002875
- Vossen J.H., van Arkel G., Bergervoet M., Jo K.R., Jacobsen E., Visser R.G.F. The *Solanum demissum* *R8* late blight resistance gene is an *Sw-5* homologue that has been deployed worldwide in late blight resistant varieties. *Theor. Appl. Genet.* 2016;129(9):1785-1796. DOI 10.1007/S00122-016-2740-0
- Wingett S.W., Andrews S. FastQ Screen: A tool for multi-genome mapping and quality control. *FI1000Res*. 2018;7:1338. DOI 10.12688/f1000research.15931.2
- Witek K., Lin X., Karki H.S., Jupe F., Witek A.I., Steuernagel B., Stam R., van Oosterhout C., Fairhead S., Heal R., Cocker J.M., Bhanvadia S., Barrett W., Wu C.H., Adachi H., Song T., Kamoun S., Vleeshouwers V.G.A.A., Tomlinson L., Wulff B.B.H., Jones J.D.G. A complex resistance locus in *Solanum americanum* recognizes a conserved *Phytophthora* effector. *Nat. Plants*. 2021;7(2):198-208. DOI 10.1038/S41477-021-00854-9
- Zhang R., Zheng F., Wei S., Zhang S., Li G., Cao P., Zhao S. Evolution of disease defense genes and their regulators in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(2):335. DOI 10.3390/ijms20020335

---

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 22-26-00111 «Гены устойчивости картофеля к фитофторозу в контексте эволюции культурных и диких клубненосных видов *Solanum* L.».

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 16.07.2023. После доработки 29.08.2023. Принята к публикации 30.08.2023.