

doi 10.18699/vjgb-25-58

Рецепторподобные киназы с лейцин-богатыми повторами подсемейства III участвуют в распознавании *Pectobacterium* spp. растениями семейства Solanaceae

Е.В. Шруб, А.В. Колубако, П.В. Вычик, О.А. Бадалян, Е.А. Николайчик  

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
 nikolaichik@bsu.by

Аннотация. Геномы растений семейства Пасленовые содержат более 600 генов рецепторных протеинкиназ с лейцин-богатыми повторами (LRR-RLK), многие из которых, вероятно, связаны с детекцией патогенов, но лишь некоторые были функционально охарактеризованы. Энтеробактерии рода *Pectobacterium* – основные бактериальные патогены многих сельскохозяйственных культур, в том числе картофеля и других растений семейства Пасленовые. Для актуальных патогенов из рода *Pectobacterium* специфические иммунные рецепторы растений не описаны. Однако у *Malus × domestica* охарактеризовано четыре LRR-RLK из подсемейства LRRIII (DIPM1-4), специфически взаимодействующих с эффекторным белком DspE и участвующих в распознавании родственного энтеробактериального фитопатогена *Erwinia amylovora*. Поскольку ортолог DspE является основным эффектором и у *Pectobacterium* spp., мы выполнили филогенетический анализ RLK-LRRIII растений семейства Пасленовые совместно с более полно охарактеризованными LRR-RLKIII у *Arabidopsis thaliana* и выделили девять кластеров родственных RLK. Кластеризация и анализ опубликованных данных позволили функционально охарактеризовать это семейство RLK и предложить наиболее вероятных кандидатов для проверки взаимодействия с основным эффектором пектобактерий DspE. Тестирование киназных доменов репрезентативных представителей разных кластеров в дрожжевой двухгибридной системе выявило четыре RLK растений семейства Пасленовые, которые взаимодействуют с эффектором DspE из *Pectobacterium versatile* (Pve). Уровень экспрессии генов этих RLK и их ортологов у разных растений семейства варьировал, но в целом был очень низким. При этом обнаружена сильная DspE-зависимая супрессия генов *RLK2* и *RLK5* у инфицированных Pve растений картофеля, а инаktivация их ортологов предотвращала развитие сверхчувствительной реакции в листьях растений, инфицированных суспензиями Pve. Данная работа расширяет понимание разнообразия RLK подсемейства LRR-RLKIII и их роли в иммунитете растений и может способствовать селекции устойчивых к бактериозам сортов растений семейства Пасленовые.

Ключевые слова: рецепторподобные протеинкиназы; Solanaceae; *Pectobacterium*; эффектор; растительный иммунитет

Для цитирования: Шруб Е.В., Колубако А.В., Вычик П.В., Бадалян О.А., Николайчик Е.А. Рецепторподобные киназы с лейцин-богатыми повторами подсемейства III участвуют в распознавании *Pectobacterium* spp. растениями семейства Solanaceae. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2025;29(4):549-558. doi 10.18699/vjgb-25-58

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект № Б24М-035) и Министерства образования Республики Беларусь (проект № 20241129).

Receptor-like leucine-rich repeat kinases of subfamily III are involved in the recognition of *Pectobacterium* spp. by Solanaceae plants

E.V. Shrub, N.V. Kalubaka, P.V. Vychyk, O.A. Badalyan, Y.A. Nikolaichik  

Belarusian State University, Minsk, Belarus
 nikolaichik@bsu.by

Abstract. The genomes of Solanaceae plants contain over 600 receptor-like protein kinase genes with leucine-rich repeats (LRR-RLK), many likely associated with pathogen detection, but very few functionally characterized. *Pectobacterium* spp. are the major bacterial pathogens of agricultural crops, particularly potatoes and other Solanaceae plants. For relevant potato pathogens from the genus *Pectobacterium*, specific immune receptors have not been described in Solanaceae. However, in *Malus × domestica*, four LRR-RLK from the LRRIII subfamily (DIPM1-4) have been characterized as receptors for the related pathogen *Erwinia amylovora*. DIPMs specifically interact with the effector protein DspE and are involved in *E. amylovora* recognition. Since the DspE ortholog is also the main effector in *Pectobacterium* spp., we performed a phylogenetic analysis of LRRIII subfamily receptors in the most relevant Solanaceae representatives

together with a much better characterized LRR-RLKIII of *Arabidopsis thaliana* and identified nine clusters of related RLKs. Clustering followed by analysis of published data allowed us to functionally characterize this RLK family and suggest the most likely candidates for checking interactions with the main effector of pectobacteria, DspE. Testing the kinase domains of representative cluster members in a yeast two-hybrid system revealed four Solanaceae RLKs interacting with the DspE effector from *Pectobacterium versatile*. Virus-induced silencing of these RLK genes demonstrated their involvement in *P. versatile* recognition. The *RLK6* gene from *Solanum bulbocastanum*, which is not an ortholog of the DIPM proteins in apple, seems to be the most promising potential resistance gene. This work expands our understanding of LRR-RLKIII subfamily RLKs and their role in plant immunity, providing a foundation for future development of disease-resistant Solanaceae varieties.

Key words: receptor-like protein kinase; Solanaceae; *Pectobacterium*; effector; plant immunity

For citation: Shrub E.V., Kalubaka N.V., Vychyk P.V., Badalyan O.A., Nikolaichik Y.A. Receptor-like leucine-rich repeat kinases of subfamily III are involved in the recognition of *Pectobacterium* spp. by Solanaceae plants. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(4):549–558. doi 10.18699/vjgb-25-58

Введение

Pectobacterium spp. являются основными бактериальными патогенами целого ряда важнейших сельскохозяйственных культур, в первую очередь картофеля. Для картофеля наиболее актуальны штаммы видов *P. atrosepticum*, *P. carotovorum*, *P. parmentieri* и *P. versatile*. В зависимости от условий и особенностей штамма пектобактерии могут поражать как подземные, так и надземные части растения, вызывая мягкую гниль клубней, а также черную ножку или воздушную гниль стеблей картофеля. Основным признаком пектобактериозов – массивная продукция около 30 экзоферментов (пектолитических, целлюлолитических и протеолитических), что и приводит к характерному размягчению пораженных тканей (Chatterjee et al., 1995; Pérombelon, 2002).

Большинство сортов картофеля восприимчиво к пектобактериозам. Хотя известны относительно толерантные сорта (Kwenda et al., 2016), устойчивые к этим патогенам растения картофеля пока не созданы. В немалой степени такая ситуация определяется недостаточным пониманием механизмов распознавания растениями этих патогенов и, в частности, отсутствием информации о специфических к пектобактериям рецепторах растений.

Пектобактерии довольно долго рассматривались как типичные некротрофы, минимально взаимодействующие со своими хозяевами. Однако с начала геномной эры накоплено достаточно данных, свидетельствующих о сложном характере молекулярных коммуникаций между *Pectobacterium* spp. и его хозяевами. Пектобактерии способны достаточно долго сосуществовать со своими хозяевами в «невидимом» режиме – без развития системной инфекции и без существенных повреждений растительных тканей (Toth, Birch, 2005; Gorshkov et al., 2018).

Переключение между двумя принципиально разными фазами инфекции – латентной и симптоматической – зависит от регуляторных событий, о которых пока имеются только фрагментарные представления, причем критически отсутствуют сведения о самых ранних стадиях взаимодействия растения с патогеном. Так, система «чувства кворума» патогена активирует синтез множества факторов вирулентности только при высокой плотности популяции (Liu H. et al., 2008), специализированный репрессор пектинолиза KdgR инактивируется продуктами гидролиза полигалактуронатов (Liu Y. et al., 1999; Скобляков и др., 2004), т. е. уже при заметном разрушении клеточной стенки, а PhoPQ-зависимое переключение метаболических и

транспортных процессов патогена происходит вследствие освобождения дивалентных катионов при разрушении клеточной стенки (Kravchenko et al., 2021). Эти три регуляторных механизма хорошо изучены, однако срабатывают довольно поздно в ходе инфекции, когда определенный ущерб растению уже фактически гарантирован, поэтому не могут быть хорошими мишенями для контроля над патогеном. Более перспективной представляется стадия первоначального распознавания патогена растением с помощью мембранных рецепторов, однако специфические растительные рецепторы пектобактерий до сих пор не описаны.

Классическая модель иммунитета растений (Jones, Dangl, 2006) показывает специфическое распознавание молекулярных образов патогенов (PAMP/MAMP, Pathogen/microbe-associated molecular pattern) и эффекторов как триггер взаимосвязанных цепочек PAMP- и эффектор-индуцируемого иммунного ответа (PTI, pathogen-triggered immunity и ETI, effector-triggered immunity). В качестве PAMP чаще всего выступают консервативные белки (флагеллин, фактор элонгации трансляции Tu) (Gómez-Gómez, Boller, 2000; Zipfel et al., 2006), липиды (например, 3-гидроксидекановая кислота) (Kutschera et al., 2019), пептидогликан (Willmann et al., 2011) и полисахариды (Kawaharada et al., 2015).

Эффекторами являются белки, транслоцируемые патогеном непосредственно в клетки растений, однако они могут действовать и снаружи клетки, как, например, Avr-белки грибного патогена *Cladosporium fulvum* (*Fulvia fulva*) (Rooney et al., 2005). Основная функция эффекторных белков заключается в нарушении работы растительных сигнальных цепочек, ответственных за распознавание патогена и активацию иммунного ответа, при этом механизмы их действия разнообразны и многочисленны (Giraldo, Valent, 2013; Macho, Zipfel, 2015; Zhang et al., 2022). Несмотря на ключевую роль эффекторов в адаптации патогена к своему хозяину, наличие у растения специфичного к конкретному эффектору иммунного рецептора (продукта R-гена) активирует ETI и обеспечивает устойчивость к заражению.

Детекция PAMP/MAMP осуществляется мембранными рецепторными комплексами, тогда как рецепторы эффекторов, запускающие ETI, могут быть как мембранными, так и цитоплазматическими (Böhm et al., 2014; Couto, Zipfel, 2016; Bentham et al., 2020; Sun, Zhang, 2020), причем мембранные рецепторы MAMP/PAMP и цитоплазматиче-

ческие рецепторы эффекторов могут физически взаимодействовать между собой (Qi et al., 2011). При различных начальных звеньях последующие компоненты сигнальных цепочек и активируемые иммунные реакции в значительной степени совпадают, поэтому разница между РТИ/МТИ и ЕТИ скорее количественная, а не качественная (Navarro et al., 2004; Thomma et al., 2011; Yuan et al., 2021).

В комплексе со специфическим к конкретному лиганду рецептором обычно работают корецепторы, которые могут входить в состав многих рецепторных комплексов. Рецепторы и корецепторы принадлежат к нескольким белковым семействам, однако их большая часть входит в семейство белков с рецепторным доменом, богатым лейциновыми повторами (leucine-rich repeat, LRR) (Shiu, Bleecker, 2003; Chakraborty et al., 2019; Dievart et al., 2020). Рецепторы обычно имеют более 10 LRR, тогда как корецепторы – менее 9. Специфические рецепторы могут иметь или не иметь цитоплазматический киназный домен и называются рецепторподобными киназами (receptor-like kinase, RLK) или рецепторподобными белками (receptor-like protein, RLP) соответственно. Корекцепторы, как правило, имеют киназный домен и способны фосфорилировать другие компоненты рецепторного комплекса, включая сам рецептор. В состав рецепторного комплекса могут входить несколько корекцепторов (что является обязательным в рецепторных комплексах с участием RLP) (Huang, Joosten, 2025).

Применение классической зигзаг-модели иммунитета (Jones, Dangl, 2006) к пектобактериям затруднено минимумом данных по PAMP-индуцируемым реакциям (Kröner et al., 2011; Кузьмич и др., 2014), а также тем, что на сегодняшний день для пектобактерий известен единственный эффекторный белок – DspE (DspA) (Николайчик и др., 2005; Kim J.-G. et al., 2009). DspE принадлежит к AvrE-суперсемейству эффекторов системы секреции III типа (CC3T) (Николайчик и др., 2005; Degraeve et al., 2015). Эффекторы этого семейства получили свои названия от “avirulence” (авирулентность), “disease-specific protein” (болезнь-специфичный белок) и “water-soaking” (водонасыщенный) в соответствии с индуцируемым у растения фенотипом (AvrE, DspE и WtsE соответственно) и считаются критичными для патогенов с небольшим числом эффекторов (*Erwinia* spp., *Pantoea* spp. и *Pectobacterium* spp.) (Gaudriault et al., 1997; Frederick et al., 2001; Mor et al., 2001; Kim H.-S. et al., 2011).

Белок DspE у *P. versatilis* (Pve) – основной индуктор сверхчувствительной реакции (типичного признака ЕТИ). Его доставка в клетки растений обеспечивается CC3T, причем DspE в клетках растений детектируется уже через 3 ч после заражения растений неиндуцированной культурой (Николайчик и др., 2005). Доставка DspE в клетки растений запускает как локальные, так и системные защитные реакции, что свидетельствует в пользу способности растений детектировать этот эффекторный белок (Николайчик, 2009).

Первое свидетельство способности растений специфически распознавать DspE было получено при исследовании ортолога этого эффектора из *Erwinia amylovora*, возбудителя бактериального ожога яблони: с помощью дрожжевой двухгибридной системы у растений *Malus* ×

domestica были обнаружены четыре рецепторподобные киназы (DIPM1-4), внутриклеточные домены которых специфически взаимодействовали с DspE (Meng et al., 2006). DIPM (DspE-Interacting Protein from *Malus*, DspE-взаимодействующий белок яблони) представляют собой рецепторподобные киназы с лейцин-богатыми повторами в сенсорном домене, относящиеся к третьему подсемейству этого семейства (LRR-RLKIII).

Инактивация DIPM с помощью сайленсинга или генетического редактирования приводила к повышению устойчивости растений к бактериальному ожогу (Borejsza-Wysocka et al., 2006; Pompili et al., 2020). Аналогичный подход позволил нам ранее выявить три рецепторподобные киназы томата и табака, взаимодействующие с DspE Pve. Сайленсинг генов *RLK2* и *RLK5* у *Nicotiana benthamiana* снижал способность растений распознавать Pve, что вызывало ослабление реакции сверхчувствительности (Николайчик и др., 2012; Бадалян, Николайчик, 2014). Обнаружены также три RLK *Zea mays* (WIP3-5), специфически взаимодействующие с WtsE – ортологом DspE из *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*, однако их функции в растениях пока не исследованы (Jin et al., 2016).

Фенотип растений яблони и *N. benthamiana* с инактивацией *DIPM* и *RLK2/5* свидетельствует о том, что эти рецепторные протеинкиназы ответственны за чувствительность растений к DspE-продуцирующим патогенам, т. е. могут рассматриваться как S-гены. Инактивация S-генов может применяться для получения устойчивых растений, однако очевидно, что охарактеризованные DspE-взаимодействующие киназы частично дублируют функции друг друга, а их весь спектр неизвестен, поэтому полная элиминация чувствительности к патогену за счет инактивации одного или даже пары генов этих рецепторов выглядит маловероятной. С другой стороны, для обеспечения устойчивости к патогену может быть достаточно одного «подходящего» R-гена, и такой ген, кодирующий LRR-RLKIII, был описан для другой патосистемы (Zhao et al., 2019).

Вышеприведенные данные показывают, что LRR-RLKIII могут быть кандидатами на роль S- и R-генов к различным патогенам, а также выполнять различные функции, связанные с ростом и развитием растений. Настоящая работа обобщает и классифицирует доступную информацию по LRR-RLKIII с акцентом на растения семейства Solanaceae, что должно упростить поиск перспективных генов устойчивости для применения в селекционных целях. Мы также приводим пример использования этой классификации для идентификации потенциального гена устойчивости к пектобактериозам.

Материалы и методы

Растительный материал и штаммы микроорганизмов. Использованы: растения *Solanum tuberosum* сорта Рагнеда и *N. benthamiana*, выращенные в нестерильном питательном грунте при 20 °C и 16-часовом световом дне, а также следующие штаммы микроорганизмов: Pve JN42 (*mcrB::ISPcc2*, *ΔfliTEFG*, Cm^R (Tn9), Rif^R), VKE (JN42 *dspE*) (Николайчик et al., 2005); *A. tumefaciens* GV3101 (Rif^R, Gen^R, vir⁺) (Arabidopsis Biological Resource Center); *Saccharomyces cerevisiae* SKY48 (*MATa*, *trp1*,

his3, *ura3*, *lexAop-LEU2*, *cIop-LYS2*), SKY473 (*MATa*, *his3*, *leu2*, *trp1*, *ura3*, *lexAop-LEU2*, *cIop-LYS2*) (Serebriiskii et al., 2005). Штамм JN42 является производным от природного изолята *Pve* 3-2, не имеющего жгутиков из-за делеции фрагмента *fli*-кластера (GenBank CP024842). Культуры *Pve* и *A. tumefaciens* культивировали на среде LB, а *S. cerevisiae* – на среде YPD при 28 °C.

Нуклеиновые кислоты. Использованы плазмиды pTRV2, p1039, p1044, p1046 (Liu Y. et al., 2002), они получены из Arabidopsis Biological Resource Center; pTRV2::RLK2, pTRV2::RLK5; pJG4-5; pJG4-5::*dspF*, pJK202::*dspE* (Николайчик и др., 2012); pJG4-5::*sIRLK2*, pJG4-5::*sIRLK5*, pJG4-5::*ntRLK5* (Бадалян, Николайчик, 2014). Последовательности олигонуклеотидов для ОТ-кПЦР указаны в табл. S1 Приложения¹.

Молекулярное клонирование. Фрагмент гена C00T013379 (*sbRLK6*) из *S. bulbocastanum* был амплифицирован с помощью праймеров 5'-ccgaattcggtttattctctggaagat-3' и 5'-cgctctgagggccaactcattgagaatcag-3' и клонирован в векторах pJG4-5 и pTRV2 по сайтам EcoRI – XhoI.

Анализ белок-белковых взаимодействий осуществлялся в LexA-зависимой дрожжевой двухгибридной системе (Serebriiskii et al., 2005). В качестве приманки выступал фрагмент гена *dspE*, клонированный в векторе pJK202. Для позитивного контроля взаимодействия с DspE использован секреторный шаперон DspF, специфичный к DspE (Валентович и др., 2008). Клетки штамма *S. cerevisiae* SKY473 трансформировали производными pJG4-5, а клетки противоположного типа спаривания SKY48 – pJK202::*dspE*. Для выявления белок-белковых взаимодействий диплоиды *S. cerevisiae*, полученные в результате скрещивания штаммов SKY473 и SKY48, культивировали на селективной среде 2–4 суток, затем проводили “blue-white” тест на активность β-галактозидазы.

Анализ белковых последовательностей. Использованы геномные сборки и аннотации следующих версий: *S. tuberosum* DM v.6.1 (Pham et al., 2020), *S. bulbocastanum* (Tang et al., 2022), *S. lycopersicum* cv. Micro-Tom v.1.2.1 (Kudo et al., 2017), *Arabidopsis thaliana* Araport11 от 2022-09-14 (Cheng et al., 2017).

Идентификация рецепторподобных киназ в протеомах и их классификация по семействам выполнены с помощью iTAK v. 1.2 (Zheng et al., 2016). Устранение избыточности последовательностей проведено с применением алгоритма easy-cluster в составе программы MMseqs2 (Steinegger, Söding, 2017). Для выравнивания аминокислотных последовательностей киназных доменов задействован веб-сервис MAFFT (Rozewicki et al., 2019), для коррекции выравнивания – Jalview 2.11.2.7 (Waterhouse et al., 2009). Дендрограмма максимального правдоподобия построена с помощью ITREE v. 2.1.3 на основе модели Edge-linked partition (von Haeseler et al., 2015; Chernomor et al., 2016), а графическая визуализация проведена с использованием сервиса iTOL 6.8 (Letunic, Bork, 2021).

Вirus-индуцированный сайленсинг генов (ВИГС) на растениях *N. benthamiana* осуществляли с помощью вектора TRV2 по методике Y. Liu с коллегами (2002). Тест сверхчувствительности выполняли через 40 дней после

индукции ВИГС, для чего листья растений инфильтровали с применением шприца без иглы суспензиями клеток штаммов *Pve* в 0.85 % NaCl плотностью 1.5×10^8 клеток/мл. Инфильтрации всеми видами суспензий и раствором NaCl было подвергнуто не менее 10 растений каждого вида. На каждый вид суспензии и раствора NaCl приходилось по два и более листа на одно растение. Учет результатов и отбор образцов проводили через 24 ч после заражения.

ОТ-кПЦР. Образцы листьев *N. benthamiana* отбирали через 24 ч после их инфильтрации (как описано выше) суспензиями клеток *Pve*. Инокуляцию клубней картофеля выполняли с применением автоматической пипетки суспензиями такой же плотности (1.5×10^8 клеток/мл) в объеме 10 мкл. Образцы тканей картофеля отбирали на границе зоны мацерации через 48 ч после инокуляции. Выделение РНК и ОТ-кПЦР осуществляли в шести биологических повторностях, как описано в работе (Николайчик и др., 2009). Уровни экспрессии генов определяли с помощью ОТ-кПЦР относительно референсных генов *CAC*, *EF1A*, *TBP* для *N. benthamiana* и *SAND*, *CAC*, *EF1a* – для *S. tuberosum* с использованием программы REST2009 2.0.13 (QuiaGen, США).

Результаты

Филогенетический анализ выделяет четкие структурно-функциональные подгруппы в пределах LRR-RLKIII

Поскольку все известные RLK, взаимодействующие с AvrE-подобными эффекторами, принадлежат к семейству LRR-RLKIII, мы проанализировали спектр RLK этого семейства у различных представителей семейства Пасленовые и сравнили их с охарактеризованными LRR-RLKIII (большинство из *A. thaliana*). Классификатор iTAK относит к LRR-RLKIII от 45 до 77 RLK у разных видов пасленовых и 47 RLK у *A. thaliana* (см. таблицу), что оставляет много вариантов для поиска потенциальных рецепторов, задействованных в регуляции иммунитета и детекции фитопатогенов, в том числе и *Pve*.

Филогенетический анализ позволил выделить девять кластеров родственных LRR-RLKIII (рис. 1). Для RLK из кластеров I–V, а также VIII опубликованная информация не показывает связи с иммунитетом. В трех оставшихся кластерах, VI, VII и IX, присутствовали киназы, способные связываться с AvrE-подобными эффекторными белками, однако связь с иммунитетом продемонстрирована только для представителей кластеров VII и IX. Более подробная информация по экспериментально охарактеризованным LRR-RLKIII приведена в табл. S2.

Идентификация новой DspE-взаимодействующей LRR-RLKIII у *S. bulbocastanum*

На сегодня среди генов DspE-взаимодействующих RLK не обнаружено генов R-типа, т.е. генов устойчивости, а связанные с иммунитетом *mdRLK4*, *slTARK1*, *nbEIR1* и *ntRLK2* можно классифицировать как S-гены. Однако как минимум один явный R-ген этого семейства (*RLK902 A. thaliana*, необходимый для устойчивости к *Hyaloperonospora arabidopsidis*), в литературе описан (ten Hove et al., 2011), что предполагает возможность выявления в

¹ Табл. S1 и S2 Приложения см. по адресу:
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2025-29/appx19.pdf>

Количественный анализ RLK у растений семейства Solanaceae

Вид	Общее число RLK	Число классов RLK по классификатору iTAK	Ранг LRR-RLKIII среди других классов по числу в геноме	Число представителей LRR-RLKIII
<i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabrisculum</i>	1151	121	III	59
<i>S. melongena</i>	1189	123	VI	45
<i>S. bulbocastanum</i>	1892	123	VI	69
<i>S. tuberosum</i>	1328	124	VII	46
<i>S. lycopersicum</i> cv. Heinz	1020	123	III	45
<i>S. lycopersicum</i> cv. Micro-Tom	2073	123	VIII	61
<i>N. benthamiana</i>	1329	123	IV	77
<i>A. thaliana</i>	1028	123	III	47

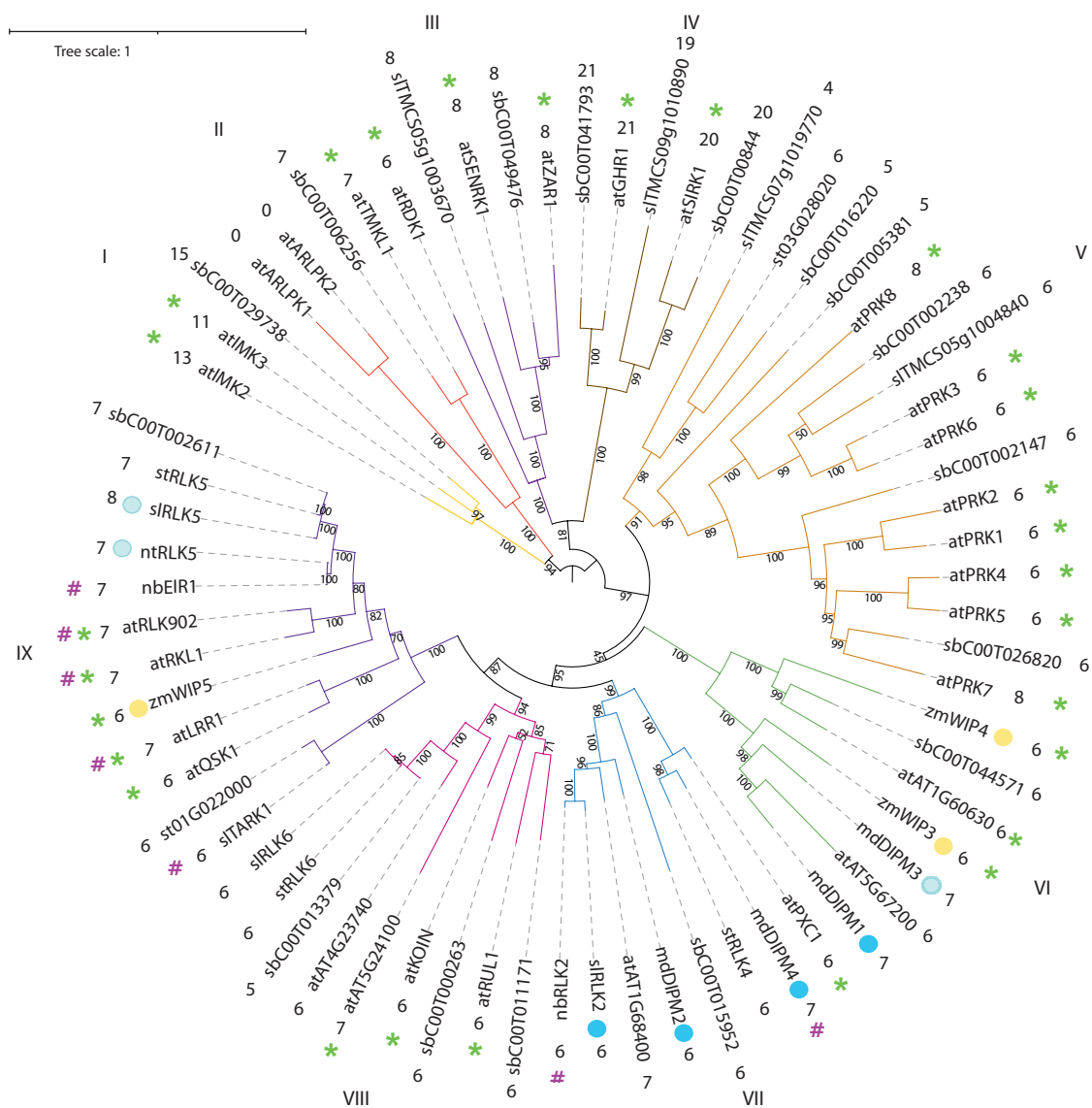


Рис. 1. Дендрограмма представителей семейства LRR-RLKIII. Используются последовательности только киназных доменов. Видовая принадлежность указана двухбуквенными индексами: at – *A. thaliana*, md – *Malus x domestica*, nb – *N. benthamiana*, nt – *N. tabacum*, sb – *S. bulbocastanum*, sl – *S. lycopersicum*, st – *S. tuberosum*, zm – *Z. mays*. Кластеры похожих RLK выделены цветом и обозначены римскими цифрами. LRR-RLK, взаимодействующие с эффекторами AvrE-семейства (DspA/E, WtsE), отмечены кружками, интенсивность закрашивания которых пропорциональна интенсивности взаимодействия, а цвет (голубой или желтый) указывает на наличие либо отсутствие blue-white теста. Цифры рядом с идентификаторами показывают число богатых лейцином повторов (LRR) в сенсорной части белка. Экспериментально исследованные LRR-RLK отмечены «*» при их участии в регуляции роста и развития и/или «#» при участии в контроле иммунитета.

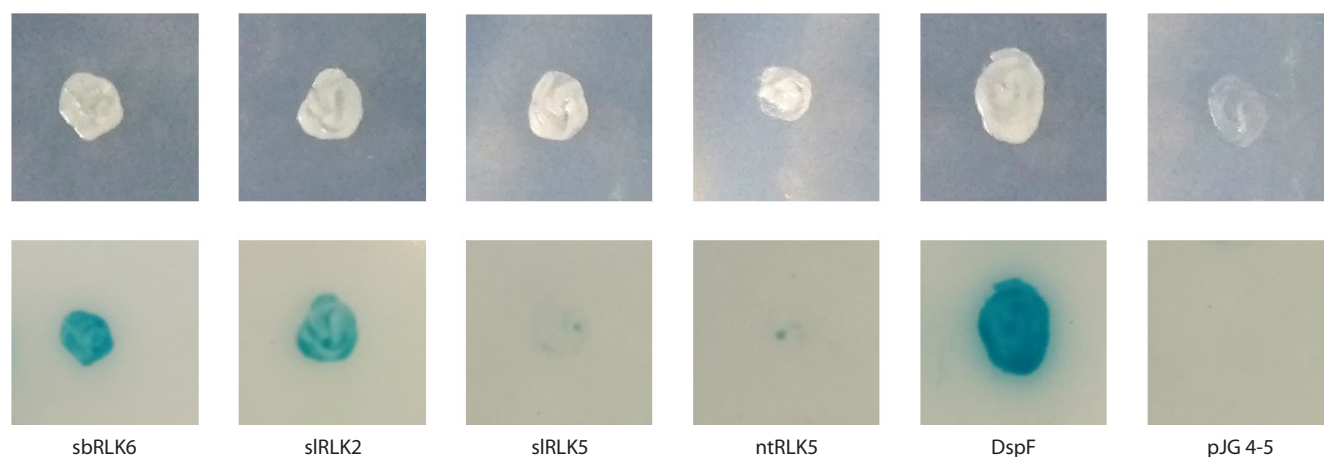


Рис. 2. Взаимодействие эффекторного белка DspE с киназными доменами RLK. Рост диплоидов на среде без лейцина с X-gal.

Все клетки содержат плазмиды pJK202-DspE, pDR8 с *lacZ*, а также производные плазмиды pJG4-5 с инсерцией рамки считывания указанного гена.

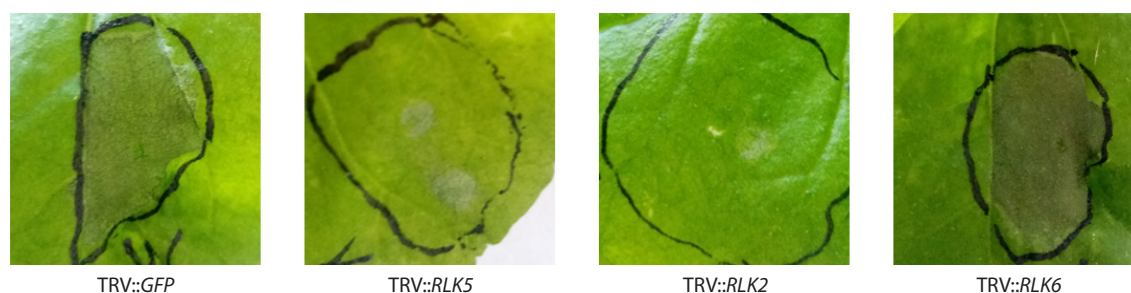


Рис. 3. Реакция сверхчувствительности растений *N. benthamiana*, подвергнутых сайленсингу генов RLK.

В качестве контроля использованы растения, инфицированные TRV с нейтральной вставкой (*GFP*).

этом семействе генов устойчивости и к другим патогенам. RLK с четко доказанной ролью в обеспечении иммунитета (в том числе и взаимодействующие с эффекторами AvrE-типа) присутствуют только в кластерах VII и IX. Связь с иммунитетом DspE/WtsE-взаимодействующих RLK из кластера VI пока не показана, однако представляется возможной. Наиболее близки к этим кластерам представители кластера VIII, в котором, однако, DspE-взаимодействующих киназ пока не обнаружено. В рамках настоящей работы для экспериментального анализа был выбран ген VIII кластера *C00T013379* из *S. bulbocastanum* — растения-источника *R*-генов, пригодного для использования в селекции культурного картофеля.

Клонированный в векторе pJG4-5 фрагмент *C00T013379*, кодирующий цитоплазматическую часть RLK, дал положительный результат в тесте взаимодействия с DspE в дрожжевой двухгибридной системе (рис. 2). Судя по интенсивности роста и окраски дрожжевых макроколоний на селективной среде, взаимодействие DspE с киназными доменами, амплифицированными из *S. bulbocastanum*, было на уровне slRLK2 и положительного контроля (DspF) и значительно превышало интенсивность взаимодействия с slRLK5 и ntRLK5 (ортологами nbEIR1). По аналогии с охарактеризованными ранее LRR-RLKIII мы обозначили этот ген как *sbRLK6*.

Сайленсинг ортолога *sbRLK6* у *N. benthamiana*, в отличие от сайленсинга *nbRLK2* и *nbRLK5*, не повлиял на интенсивность сверхчувствительной реакции при инфильтрации листьев суспензией клеток *Pve* JN42 (рис. 3).

***P. versatile* подавляет экспрессию генов LRR-RLK растений**

Чтобы получить представление о последствиях распознавания DspE с помощью LRR-RLKIII, мы оценили уровни экспрессии основных маркерных генов иммунитета как в растениях-хозяевах (*S. tuberosum*), так и в растениях-нехозяевах (*N. benthamiana*). Радикальные изменения наблюдались для генов салицилатной и жасмонатной сигнализации, а также для генов, описываемых RLK (рис. 4).

В инфицированных *Pve* растениях *N. benthamiana* была существенно снижена экспрессия салицилат-зависимых генов *PR1A* и *SIPK* (см. рис. 4, а). Напротив, ген жасмонат-зависимого транскрипционного активатора *JAZ3* был индуцирован, в то время как ген ингибитора этого пути *COI1* был репрессирован, а маркерные гены *WIPK* и *PR3* были сильно индуцированы. Важно отметить, что как подавление, так и индукция этих генов зависели от DspE, поскольку реакция растений на инокуляцию мутантными бактериями *dspE* была намного слабее. Подобное DspE-зависимое подавление маркера салицилатного пути

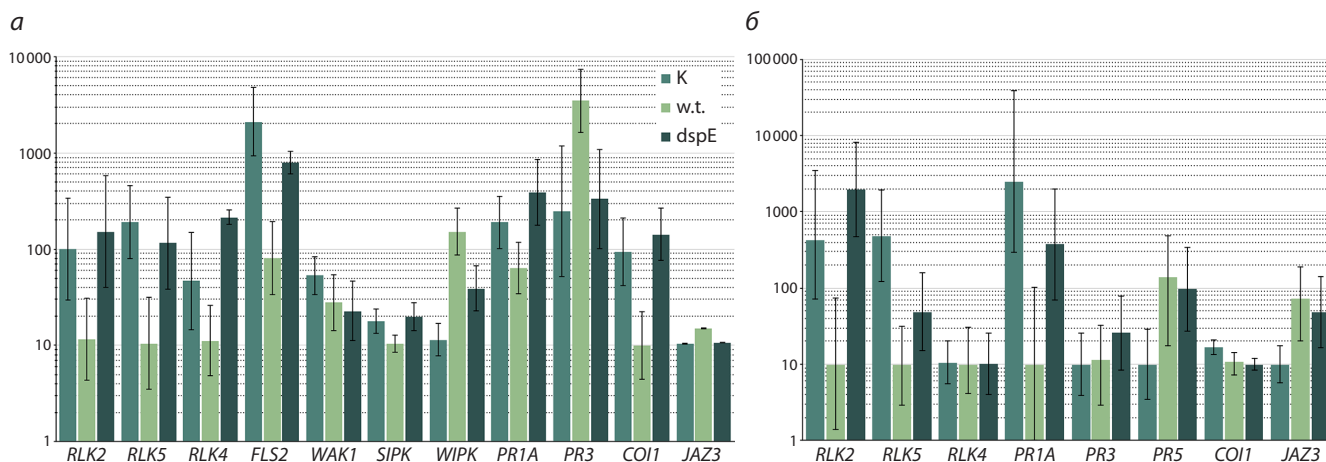


Рис. 4. Изменения уровней экспрессии генов растений *N. benthamiana* (а) и *S. tuberosum* (б), инокулированных суспензиями *Pve* дикого типа (w. t.) и мутантными по гену *dspE* (*dspE*) или 0.85 % раствором NaCl (K).

Приведены средние значения (в условных единицах) шести измерений с 95 % доверительными интервалами.

PR1A наблюдалось в растениях картофеля, инфицированных *Pve* (см. рис. 4, б). Гены жасмонатного сигнального пути были активированы, но эффект был гораздо менее выражен и не зависел от *DspE*.

Экспрессия ортологов *RLK2* и *RLK5* в обоих растениях и *RLK4* в *N. benthamiana* также снижалась в *DspE*-зависимой манере (очень низкий уровень экспрессии *stRLK6* не позволил оценить его изменение) (см. рис. 4, б).

Чтобы увидеть, насколько типична наблюдаемая картина экспрессии во время заражения *Pve*, мы проверили у *N. benthamiana* экспрессию двух хорошо изученных генов RLK других семейств: *FLS2*, кодирующего рецептор флагеллина, и *WAK1*, кодирующего связанную с клеточной стенкой киназу, участвующую в восприятии олигогалактуроната. *FLS2* реагировал на контакт с *Pve* дикого типа и *dspE*-мутантом аналогично *RLK2* и *RLK5* (см. рис. 4, а). *WAK1* в зараженных *Pve* растениях продемонстрировал едва заметную (примерно двукратную), но воспроизводимую в повторных экспериментах супрессию, независимую от *DspE*.

Обсуждение

Выполненный в настоящей работе филогенетический анализ позволил разделить LRR-RLKIII на две четкие функциональные группы. Несмотря на отсутствие детальной информации по каждому корецептору, можно заключить, что представители кластеров I–V в основном участвуют в контроле роста и развития растений, тогда как кластеры VI–IX обогащены RLK, связанными с контролем иммунных реакций. Большинство LRR-RLKIII, включая все взаимодействующие с *DspE*, лишены ключевого остатка аспартата в составе консервативного мотива каталитической петли (HRDXXXXN) и поэтому классифицируются как псевдокиназы. Однако многие псевдокиназы сохраняют некоторую киназную активность и способны выполнять функции рецепторов как часть рецепторных комплексов, содержащих активную киназу (Rodriguez-Furlan et al., 2022). Кроме того, LRR-RLKIII в основном имеют малое (5–7) число лейцин-богатых повторов в сенсорной части

и поэтому могут выполнять свою сигнальную функцию только в составе сложных рецепторных комплексов, которые должны содержать два дополнительных критичных компонента, киназу и рецептор (или рецепторподобный белок), с полным набором (более 10, обычно около 20) лейцин-богатых повторов.

Известные белки, взаимодействующие с *DspE*, относятся к кластерам VI, VII и IX. Среди них роль в распознавании патогенов была четко установлена для четырех белков: *mdDIPM4* и *nbRLK2* (кластер VII), а также *ntRLK5* и *nbEIR1* (кластер IX). Во всех этих случаях подавление гена RLK увеличивало устойчивость растения (Borejsza-Wysocka et al., 2006; Николайчик и др., 2012; Бадалян, Николайчик, 2014; Pompili et al., 2020). На основании этих результатов *mdDIPM4*, *nbRLK2* и *nbEIR1* можно считать *S*-генами. Однако следует отметить, что из-за перекрестной регуляции экспрессии генов RLK, зарегистрированной как у яблони (Borejsza-Wysocka et al., 2006), так и у табака (Бадалян, Николайчик, 2014), наблюдаемый фенотип не может быть однозначно связан с подавленным геном. Другой член кластера IX, *TARK1*, также является *S*-геном, поскольку его сверхэкспрессия усиливает, а инактивация ослабляет симптомы заболевания (Kim J.-G. et al., 2009; Campos, 2020; Guzman et al., 2020).

Впервые описанный в настоящей работе ген *sbRLK6* кодирует LRR-RLKIII, принадлежащую к кластеру VIII, в котором ранее *DspE*-взаимодействующие RLK не были описаны. Сайленсинг ортолога *sbRLK6* у растений *N. benthamiana* не привел (в отличие от сайленсинга *RLK2* и *RLK5*) к ослаблению сверхчувствительной реакции растений при контакте с бактериями *Pve*. Для некротрофов (включая *Pve*) некроз, сопровождающий сверхчувствительную реакцию, благоприятен для расширения зоны поражения и дальнейшей колонизации растения, поэтому мы классифицируем *RLK2* и *RLK5* как *S*-гены, однако очевидно, что на сегодняшний день считать *sbRLK6* *S*-геном нельзя. Ответ на вопрос о том, может ли *RLK6* выполнять функцию *R*-гена, требует его стабильной инактивации или сверхэкспрессии с последующим тестированием устойчи-

вости растений при заражении органов (клубни и стебли), являющихся типичными мишенями пектобактерий, но мало подходящих для использованной технологии вирус-индуцированного сайленсинга.

Поскольку гены корецепторподобных киназ RLK2, RLK5 и впервые описанной в настоящей работе RLK6 имеют картину экспрессии во время заражения *Pve*, похожую на картину экспрессии гена рецептора распознавания образов *FLS2*, а экспрессия всех четырех генов демонстрирует признаки общего контроля через салицилатный сигнальный путь, можно предположить, что взаимодействующие с DspE LRR-RLKIII являются компонентами сложных рецепторных комплексов, участвующих в обнаружении *Pve*. Другие компоненты таких комплексов, а также взаимодействующие с ними цитоплазматические сигнальные белки могут рассматриваться как перспективные кандидаты для обнаружения генов устойчивости к *Pve* и другим бактериям.

Заключение

До настоящего времени специфические гены устойчивости к *Pectobacterium* spp. не описаны, а адресная селекция картофеля на устойчивость к пектобактериозам не проводится, не в последнюю очередь из-за отсутствия информации об *R*-генах, способных обеспечить такую устойчивость. Мы предлагаем использовать рецепторные протеинкиназы подсемейства RLK-LRRIII, специфически распознающие основной эффекторный белок пектобактерий DspE. В качестве первого шага по этому пути в настоящей работе собрана информация об экспериментально изученных представителях данного семейства, намечены перспективные для поиска кластеры, а также идентифицирована новая рецепторподобная киназа, специфически распознающая DspE и имеющая отличные от описанных ранее свойства.

Список литературы / References

- Бадалян О.А., Николайчик Е.А. Рецепторподобные киназы RLK2 и RLK5 *Nicotiana benthamiana* участвуют в регуляции экспрессии генов ключевых компонентов иммунной системы растения при контакте с *Pectobacterium carotovorum*. *Известия НАН Беларуси. Серия биологических наук*. 2014;4:75-80
- [Badalyan O.A., Nikolaichik Y.A. Receptor-like kinases RLK2 and RLK5 of *Nicotiana benthamiana* are involved in regulation of gene expression of key plant immune system components during the contact with *Pectobacterium carotovorum*. *Izvestiya NAN Belarusi. Seriya Biologicheskikh Nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological Series*. 2014;4:75-80 (in Russian)]
- Валентович Л.Н., Губич О.И., Николайчик Е.А. Роль белка DspF *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* в работе системы секреции III типа. *Доклады НАН Беларуси*. 2008;52(5):79-85
- [Valentovich L.N., Gubich O.I., Nikolaichik Y.A. The role of the DspF protein of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in the functioning of the type III secretion system. *Doklady Nacional'noj Akademii Nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2008;52(5):79-85 (in Russian)]
- Кузьмич С.В., Бадалян О.А., Николайчик Е.А. Анализ индукции и супрессии МАМР-индуцируемого иммунитета растений *Nicotiana benthamiana* при контакте с *Pectobacterium atrosepticum*. *Вестник БГУ. Серия 2: Химия. Биология. География*. 2014;(2): 36-40
- [Kuzmich S.V., Badalyan O.A., Nikolaychik E.A. Analysis of induction and suppression of MAMP-induced immunity of *Nicotiana benthamiana* plants upon contact with *Pectobacterium atrosepticum*. *Vestnik Belorusskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya 2: Khimiya. Biologiya. Geografiya = Bulletin of the Belarusian State University. Series 2: Chemistry, Biology, Geography*. 2014;(2):36-40.
- Николайчик Е.А. Системная индукция PR-генов растений *Solanum lycopersicum* при контакте с бактериями *Pectobacterium carotovorum*: роль гена *DspE*. *Труды БГУ*. 2009;4(2):215-220
- [Nikolaichik Y.A. Systemic induction of PR genes in *Solanum lycopersicum* plants upon contact with *Pectobacterium carotovorum* bacteria: the role of the *DspE* gene. *Trudy Belorusskogo Gosudarstvennogo Universiteta = Proceedings of the Belarusian State University*. 2009;4(2):215-220 (in Russian)]
- Николайчик Е.А., Овчинникова Т.В., Валентович Л.Н., Губич О.И., Шолух М.В., Евтушенков А.Н. Транслокация белка DspE фитопатогенными бактериями *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* в клетки *Nicotiana tabacum* и его необходимость для индукции реакции гиперчувствительности. *Доклады НАН Беларуси*. 2005;49(5):81-85
- [Nikolaichik Y.A., Ovchinnikova T.V., Valentovich L.N., Gubich O.I., Sholukh M.V., Evtushenkov A.N. DspE protein is translocated by phytopathogenic bacteria *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* into the cells of *Nicotiana tabacum* and is required for the induction of the hypersensitive reaction. *Doklady Nacional'noj Akademii Nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2005;49(5):81-85 (in Russian)]
- Николайчик Е.А., Хомская Л.Л., Игнатенко Е.И. Фитопатоген *Pectobacterium carotovorum* использует аппарат секреции III типа для блокирования системного защитного ответа растения-хозяина. *Труды БГУ*. 2009;4(1):193-200
- [Nikolaichik Y.A., Homskaya L.L., Ignatenko E.I. The plant pathogen *Pectobacterium carotovorum* employs its Type III secretion system for blocking the systemic defense response in the host plant. *Trudy Belorusskogo Gosudarstvennogo Universiteta = Proceedings of the Belarusian State University*. 2009;4(1):193-200 (in Russian)]
- Николайчик Е.А., Кулик Е.В., Бадалян О.А., Валентович Л.Н., Кузьмич С.В., Евтушенков А.Н. Роль рецепторноподобной трансмембранной киназы растений семейства пасленовых во взаимодействии с фитопатогеном *Pectobacterium carotovorum*. *Доклады НАН Беларуси*. 2012;56(1):106-112
- [Nikolaichik Y.A., Kulik E.V., Badalyan O.A., Valentovich L.N., Kuzmich S.V., Evtushenkov A.N. Receptor-like transmembrane kinase of Solanaceae plants controls interaction with plant pathogen *Pectobacterium carotovorum*. *Doklady Nacional'noj Akademii Nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2012;56(1):106-112 (in Russian)]
- Скобляков С.А., Мямин В.Е., Лагоненко А.Л., Николайчик Е.А., Песнякевич А.Г. Влияние мутаций в генах *peIW* и *kdgR* на продукцию пекатиллаз у *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Вестник БГУ. Серия 2: Химия. Биология. География*. 2004;(2):40-44
- [Skoblyakov S.A., Miamin V.E., Lagonenko A.L., Nikolaichik Y.A., Pesnyakevich A.G. The effect of mutations in the *peIW* and *kdgR* genes on the production of pectate lyases in *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Vestnik Belorusskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya 2: Khimiya. Biologiya. Geografiya = Bulletin of the Belarusian State University. Series 2: Chemistry, Biology, Geography*. 2004;(2):40-44 (in Russian)]
- Bentham A.R., De la Concepcion J.C., Mukhi N., Zdrzałek R., Draeger M., Gorenkin D., Hughes R.K., Banfield M.J. A molecular roadmap to the plant immune system. *J Biol Chem*. 2020;295(44): 14916-14935. doi 10.1074/jbc.REV120.010852
- Böhm H., Albert I., Fan L., Reinhard A., Nürnberger T. Immune receptor complexes at the plant cell surface. *Curr Opin Plant Biol*. 2014;20:47-54. doi 10.1016/j.pbi.2014.04.007

- Borejsza-Wysocka E.E., Malnoy M., Aldwinckle H.S., Meng X., Bonasera J.M., Nissinen R.M., Kim J.F., Beer S.V. The fire blight resistance of apple clones in which DspE-interacting proteins are silenced. *Acta Hort.* 2006;704:509-514. doi 10.17660/ActaHortic.2006.704.80
- Campos M.L. A novel regulator of stomatal immunity in tomato. *Plant Physiol.* 2020;183(3):820-821. doi 10.1104/pp.20.00655
- Chakraborty S., Nguyen B., Wasti S.D., Xu G. Plant leucine-rich repeat receptor kinase (LRR-RLK): structure, ligand perception, and activation mechanism. *Molecules.* 2019;24(17):3081. doi 10.3390/molecules24173081
- Chatterjee A., Cui Y., Liu Y., Dumenyo C.K., Chatterjee A.K. Inactivation of *rsmA* leads to overproduction of extracellular pectinases, cellulases, and proteases in *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* in the absence of the starvation/cell density-sensing signal, N-(3-oxo-hexanoyl)-L-homoserine lactone. *Appl Environ Microbiol.* 1995; 61(5):1959-1967. doi 10.1128/aem.61.5.1959-1967.1995
- Cheng C.-Y., Krishnakumar V., Chan A.P., Thibaud-Nissen F., Schobel S., Town C.D. Arabidopsis thaliana reference genome. *Plant J.* 2017;89(4):789-804. doi 10.1111/tj.13415
- Chernomor O., von Haeseler A., Minh B.Q. Terrace aware data structure for phylogenomic inference from supermatrices. *Syst Biol.* 2016;65(6):997-1008. doi 10.1093/sysbio/syw037
- Couto D., Zipfel C. Regulation of pattern recognition receptor signaling in plants. *Nat Rev Immunol.* 2016;16(9):537-552. doi 10.1038/nri.2016.77
- Degrave A., Siamer S., Boureau T., Barny M.-A. The AvrE superfamily: ancestral type III effectors involved in suppression of pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity. *Mol Plant Pathol.* 2015;16(8):899-905. doi 10.1111/mpp.12237
- Dievart A., Gottin C., Périn C., Ranwez V., Chantret N. Origin and diversity of plant receptor-like kinases. *Annu Rev Plant Biol.* 2020;71: 131-156. doi 10.1146/annurev-arplant-073019-025927
- Frederick R.D., Ahmad M., Majerczak D.R., Arroyo-Rodríguez A.S., Manulis S., Coplin D.L. Genetic organization of the *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* *hrp* gene cluster and sequence analysis of the *hrpA*, *hrpC*, *hrpN*, and *wisE* operons. *Mol Plant Microbe Interact.* 2001;14(10):1213-1222. doi 10.1094/MPMI.2001.14.10.1213
- Gaudriault S., Malandrin L., Paulin J.-P., Barny M.-A. DspA, an essential pathogenicity factor of *Erwinia amylovora* showing homology with AvrE of *Pseudomonas syringae*, is secreted via the Hrp secretion pathway in a DspB-dependent way. *Mol Microbiol.* 1997; 26(5):1057-1069. doi 10.1046/j.1365-2958.1997.6442015.x
- Giraldo M.C., Valent B. Filamentous plant pathogen effectors in action. *Nat Rev Microbiol.* 2013;11(11):800-814. doi 10.1038/nrmicro.3119
- Gómez-Gómez L., Boller T. FLS2: An LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Mol Cell.* 2000;5(6):1003-1011. doi 10.1016/S1097-2765(00)80265-8
- Gorshkov V., Gubaev R., Petrova O., Daminova A., Gogoleva N., Ageeva M., Parfirova O., Prokhorchik M., Nikolaichik Y., Gogolev Y. Transcriptome profiling helps to identify potential and true molecular switches of stealth to brute force behavior in *Pectobacterium atrosepticum* during systemic colonization of tobacco plants. *Eur J Plant Pathol.* 2018;152(4):957-976. doi 10.1007/s10658-018-1496-6
- Guzman A.R., Kim J.-G., Taylor K.W., Lanver D., Mudgett M.B. Tomato atypical receptor kinase1 is involved in the regulation of preinvasion defense. *Plant Physiol.* 2020;183(3):1306-1318. doi 10.1104/pp.19.01400
- Huang W.R.H., Joosten M.H.A.J. Immune signaling: receptor-like proteins make the difference. *Trends Plant Sci.* 2025;30(1):54-68. doi 10.1016/j.tplants.2024.03.012
- Jin L., Ham J.H., Hage R., Zhao W., Soto-Hernández J., Lee S.Y., Paek S.-M., Kim M.G., Boone C., Coplin D.L., Mackey D. Direct and indirect targeting of PP2A by conserved bacterial type-III effector proteins. *PLoS Pathog.* 2016;12(5):e1005609. doi 10.1371/journal.ppat.1005609
- Jones J.D.G., Dangl J.L. The plant immune system. *Nature.* 2006; 444(7117):323-329. doi 10.1038/nature05286
- Kawaharada Y., Kelly S., Nielsen M.W., Hjuler C.T., Gysel K., Muszyński A., Carlson R.W., ... Jensen K.J., Ronson C.W., Blaise M., Radutoiu S., Stougaard J. Receptor-mediated exopolysaccharide perception controls bacterial infection. *Nature.* 2015;523(7560): 308-312. doi 10.1038/nature14611
- Kim J.-G., Li X., Roden J.A., Taylor K.W., Aakre C.D., Su B., Lalonde S., Kirik A., Chen Y., Baranage G., McLane H., Martin G.B., Mudgett M.B. *Xanthomonas* T3S effector XopN suppresses PAMP-triggered immunity and interacts with a tomato atypical receptor-like kinase and TPT1. *Plant Cell.* 2009;21(4):1305-1323. doi 10.1105/tpc.108.063123
- Kim H.-S., Thammarat P., Lommel S.A., Hogan C.S., Charkowski A.O. *Pectobacterium carotovorum* elicits plant cell death with DspE/F but the *P. carotovorum* DspE does not suppress callose or induce expression of plant genes early in plant-microbe interactions. *Mol Plant Microbe Interact.* 2011;24(7):773-786. doi 10.1094/MPMI-06-10-0143
- Kravchenko U., Gogoleva N., Kalubaka N., Kruk A., Diubo Y., Gogolev Y., Nikolaichik Y. The PhoPQ two-component system is the major regulator of cell surface properties, stress responses and plant-derived substrate utilisation during development of *Pectobacterium versatile*-host plant pathosystems. *Front Microbiol.* 2021;11: 621391. doi 10.3389/fmicb.2020.621391
- Kröner A., Hamelin G., Andrivon D., Val F. Quantitative resistance of potato to *Pectobacterium atrosepticum* and *Phytophthora infestans*: Integrating PAMP-triggered response and pathogen growth. *PLoS One.* 2011;6(8):e23331. doi 10.1371/journal.pone.0023331
- Kudo T., Kobayashi M., Terashima S., Katayama M., Ozaki S., Kanno M., Saito M., Yokoyama K., Ohyanagi H., Aoki K., Kubo Y., Yano K. TOMATOMICs: a web database for integrated omics information in tomato. *Plant Cell Physiol.* 2017;58(1):e8. doi 10.1093/pcp/pcw207
- Kutschera A., Dawid C., Gisch N., Schmid C., Raasch L., Gerster T., Schäffer M., ... Ernst R.K., Dorey S., Hückelhoven R., Hofmann T., Ranf S. Bacterial medium-chain 3-hydroxy fatty acid metabolites trigger immunity in *Arabidopsis* plants. *Science.* 2019;364(6436): 178-181. doi 10.1126/science.aau1279
- Kwenda S., Motlolometsi T.V., Birch P.R.J., Moleleki L.N. RNA-seq profiling reveals defense responses in a tolerant potato cultivar to stem infection by *Pectobacterium carotovorum* ssp. *brasiliense*. *Front Plant Sci.* 2016;7:1905. doi 10.3389/fpls.2016.01905
- Letunic I., Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(W1):W293-W296. doi 10.1093/nar/gkab301
- Liu H., Coulthurst S.J., Pritchard L., Hedley P.E., Ravensdale M., Humphris S., Burr T., Takle G., Brurberg M.-B., Birch P.R.J., Salmond G.P.C., Toth I.K. Quorum sensing coordinates brute force and stealth modes of infection in the plant pathogen *Pectobacterium atrosepticum*. *PLoS Pathog.* 2008;4(6):e1000093. doi 10.1371/journal.ppat.1000093
- Liu Y., Jiang G., Cui Y., Mukherjee A., Ma W.L., Chatterjee A.K. *kdgR_{Ecc}* negatively regulates genes for pectinases, cellulase, protease, Harpin_{Ecc}, and a global RNA regulator in *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *J Bacteriol.* 1999;181(8):2411-2421. doi 10.1128/jb.181.8.2411-2421.1999
- Liu Y., Schiff M., Dinesh-Kumar S.P. Virus-induced gene silencing in tomato. *Plant J.* 2002;31(6):777-786. doi 10.1046/j.1365-313X.2002.01394.x
- Macho A.P., Zipfel C. Targeting of plant pattern recognition receptor-triggered immunity by bacterial type-III secretion system effectors. *Curr Opin Microbiol.* 2015;23:14-22. doi 10.1016/j.mib.2014.10.009
- Meng X., Bonasera J.M., Kim J.F., Nissinen R.M., Beer S.V. Apple proteins that interact with DspA/E, a pathogenicity effector of *Erwinia*

- amylovora*, the fire blight pathogen. *Mol Plant Microbe Interact.* 2006;19(1):53-61. doi 10.1094/MPMI-19-0053
- Mor H., Manulis S., Zuck M., Nizan R., Coplin D.L., Barash I. Genetic organization of the *hrp* gene cluster and *dspAE/BF* operon in *Erwinia herbicola* pv. *gypsophylae*. *Mol Plant Microbe Interact.* 2001; 14(3):431-436. doi 10.1094/MPMI.2001.14.3.431
- Navarro L., Zipfel C., Rowland O., Keller I., Robatzek S., Boller T., Jones J.D.G. The transcriptional innate immune response to flg22. Interplay and overlap with Avr gene-dependent defense responses and bacterial pathogenesis. *Plant Physiol.* 2004;135(2):1113-1128. doi 10.1104/pp.103.036749
- Pérombelon M.C.M. Potato diseases caused by soft rot erwinias: an overview of pathogenesis. *Plant Pathol.* 2002;51(1):1-12. doi 10.1046/j.0032-0862.2001.Shorttitle.doc.x
- Pham G.M., Hamilton J.P., Wood J.C., Burke J.T., Zhao H., Vaillancourt B., Ou S., Jiang J., Buell C.R. Construction of a chromosome-scale long-read reference genome assembly for potato. *GigaScience.* 2020;9(9):giaa100. doi 10.1093/gigascience/giaa100
- Pompili V., Dalla Costa L., Piazza S., Pindo M., Malnoy M. Reduced fire blight susceptibility in apple cultivars using a high-efficiency CRISPR/Cas9-FLP/FRT-based gene editing system. *Plant Biotechnol J.* 2020;18(3):845-858. doi 10.1111/pbi.13253
- Qi Y., Tsuda K., Nguyen L.V., Wang X., Lin J., Murphy A.S., Glazebrook J., Thordal-Christensen H., Katagiri F. Physical association of *Arabidopsis* hypersensitive induced reaction proteins (HIRs) with the immune receptor RPS2. *J Biol Chem.* 2011;286(36):31297-31307. doi 10.1074/jbc.M110.211615
- Rodriguez-Furlan C., Campos R., Toth J.N., Van Norman J.M. Distinct mechanisms orchestrate the contra-polarity of IRK and KOIN, two LRR-receptor-kinases controlling root cell division. *Nat Commun.* 2022;13(1):235. doi 10.1038/s41467-021-27913-1
- Rooney H.C., Van't Klooster J.W., van der Hoorn R.A., Joosten M.H., Jones J.D., de Wit P.J. Cladosporium Avr2 inhibits tomato Rcr3 protease required for Cf-2-dependent disease resistance. *Science.* 2005; 308(5729):1783-1786. doi 10.1126/science.1111404
- Rozewicki J., Li S., Amada K.M., Standley D.M., Katoh K. MAFFT-DASH: integrated protein sequence and structural alignment. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(W1):W5-W10. doi 10.1093/nar/gkz342
- Serebriiskii I.G., Golemis E.A., Uetz P. The yeast two-hybrid system for detecting interacting proteins. In: Walker J.M. (Ed.) The Proteomics Protocols Handbook. Springer Protocols Handbooks. Humana Press, 2005;653-682. doi 10.1385/1-59259-890-0:653
- Shiu S.-H., Bleecker A.B. Expansion of the receptor-like kinase/Pelle gene family and receptor-like proteins in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2003;132(2):530-543. doi 10.1104/pp.103.021964
- Steinberger M., Söding J. MMseqs2 enables sensitive protein sequence searching for the analysis of massive data sets. *Nat Biotechnol.* 2017;35(11):1026-1028. doi 10.1038/nbt.3988
- Sun L., Zhang J. Regulatory role of receptor-like cytoplasmic kinases in early immune signaling events in plants. *FEMS Microbiol Rev.* 2020;44(6):845-856. doi 10.1093/femsre/fuaa035
- 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 Ya., Zhou Yo., 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
- ten Hove C.A., de Jong M., Lapin D., Andel A., Sanchez-Perez G.F., Tarutani Y., Suzuki Y., Heidstra R., van den Ackerveken G. Trans-repression of gene activity upstream of T-DNA tagged *RLK902* links *Arabidopsis* root growth inhibition and downy mildew resistance. *PLoS One.* 2011;6(4):e19028. doi 10.1371/journal.pone.0019028
- Thomma B.P., Nürnberger T., Joosten M.H. Of PAMPs and effectors: The blurred PTI-ETI dichotomy. *Plant Cell.* 2011;23(1):4-15. doi 10.1105/tpc.110.082602
- Toth I.K., Birch P.R. Rotting softly and stealthily. *Curr Opin Plant Biol.* 2005;8(4):424-429. doi 10.1016/j.pbi.2005.04.001
- von Haeseler A., Schmidt H.A., Bui M.Q., Nguyen L.T. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol Biol Evol.* 2015;32(1):268-274. doi 10.1093/molbev/msu300
- Waterhouse A.M., Procter J.B., Martin D.M.A., Clamp M., Barton G.J. Jalview Version 2 – a multiple sequence alignment editor and analysis workbench. *Bioinformatics.* 2009;25(9):1189-1191. doi 10.1093/bioinformatics/btp033
- Willmann R., Lajunen H.M., Erbs G., Newman M.-A., Kolb D., Tsuda K., Katagiri F., ... Kulik A., Molinaro A., Lipka V., Gust A.A., Nürnberger T. *Arabidopsis* lysin-motif proteins LYM1 LYM3 CERK1 mediate bacterial peptidoglycan sensing and immunity to bacterial infection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108(49):19824-19829. doi 10.1073/pnas.1112862108
- Yuan M., Ngou B.P.M., Ding P., Xin X.-F. PTI-ETI crosstalk: an integrative view of plant immunity. *Curr Opin Plant Biol.* 2021;62: 102030. doi 10.1016/j.pbi.2021.102030
- Zhang S., Li C., Si J., Han Z., Chen D. Action mechanisms of effectors in plant-pathogen interaction. *Int J Mol Sci.* 2022;23(12):6758. doi 10.3390/ijms23126758
- Zhao Y., Wu G., Shi H., Tang D. RECEPTOR-LIKE KINASE 902 associates with and Phosphorylates BRASSINOSTEROID-SIGNALING KINASE1 to regulate plant immunity. *Mol Plant.* 2019; 12(1):59-70. doi 10.1016/j.molp.2018.10.008
- Zheng Y., Jiao C., Sun H., Rosli H.G., Pombo M.A., Zhang P., Banf M., Dai X., Martin G.B., Giovannoni J.J., Zhao P.X., Rhee S.Y., Fei Z. iTAK: a program for genome-wide prediction and classification of plant transcription factors, transcriptional regulators, and protein kinases. *Mol Plant.* 2016;9(12):1667-1670. doi 10.1016/j.molp.2016.09.014
- Zipfel C., Kunze G., Chinchilla D., Caniard A., Jones J.D.G., Boller T., Felix G. Perception of the bacterial PAMP EF-Tu by the receptor EFR restricts *Agrobacterium*-mediated transformation. *Cell.* 2006; 125(4):749-760. doi 10.1016/j.cell.2006.03.037

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 15.11.2024. После доработки 06.02.2025. Принята к публикации 10.02.2025.