Вавиловский журнал генетики и селекции
Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2024;28(8):960-973

doi 10.18699/vjgb-24-103

Поиск перспективных генетических маркеров, ассоциированных с молекулярными механизмами снижения устойчивости риса к *Rhizoctonia solani* при избытке азотных удобрений, методом реконструкции и анализа генных сетей

Е.А. Антропова [1, 2] ✉, А.Р. Волянская [1, 2], А.В. Адамовская [1, 2], П.С. Деменков [1, 2, 3, 4], И.В. Яцык [1, 2, 4], Т.В. Иванисенко [1, 2, 3, 4], Ю.Л. Орлов [1, 3, 5, 6], Х. Чао [7], М. Чэнь [7], В.А. Иванисенко [1, 2, 3, 4]

[1] Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
[2] Исследовательский центр в сфере искусственного интеллекта Новосибирского национального исследовательского государственного университета, Новосибирск, Россия
[3] Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия
[4] Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия
[5] Аграрно-технологический институт Российского университета дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Москва, Россия
[6] Центр цифровой медицины, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия
[7] Отдел биоинформатики, Колледж естественных наук, Чжэцзянский университет, Ханчжоу, Китай
✉ nzhenia@bionet.nsc.ru

Аннотация. Азотные удобрения, повышающие урожайность риса, при избытке могут снижать устойчивость растений к заболеваниям, в частности к ризоктониозу, вызываемому *Rhizoctonia solani*. Этот патоген способен уничтожить до 50 % урожая, однако механизмы, лежащие в основе снижения устойчивости при избытке азота, остаются малоизученными. Данное исследование направлено на выявление потенциальных генов-маркеров для повышения устойчивости риса к *R. solani* в условиях избытка азота. Применен комплексный биоинформатический подход, включающий анализ дифференциальной экспрессии генов, реконструкцию генных сетей, анализ перепредставленности биологических процессов, филостратиграфический анализ и анализ коэкспрессии некодирующих РНК. Использованы когнитивная система Smart crop, ANDSystem, база данных ncPlantDB и другие биоинформатические ресурсы. Анализ молекулярно-генетической сети взаимодействий выявил три потенциальных механизма, объясняющих снижение устойчивости риса к *R. solani* при избытке азота: OsGSK2-опосредованный путь, путь OsMYB44-OsWRKY6-OsPR1 и путь SOG1-Rad51-PR1/PR2. Идентифицированы потенциальные маркеры для селекции: 7 генов, контролирующих ответы риса на широкий круг стрессов, и 11 генов-модуляторов иммунной системы. Особое внимание уделено ключевым участникам регуляторных путей в условиях избытка азота. Анализ некодирующих РНК выявил 30 микроРНК, мишенями которых являются гены из реконструированной генной сети. Для двух микроРНК (Osa-miR396 и Osa-miR7695) обнаружено около 7400 тыс. уникальных длинных некодирующих РНК (днРНК) с различными индексами коэкспрессии. Выделены топ-50 днРНК с наибольшим индексом коэкспрессии для каждой микроРНК, что открывает новые перспективы в изучении регуляторных механизмов устойчивости риса к патогенам. Полученные результаты создают теоретическую основу для экспериментальных работ по созданию новых сортов риса с повышенной устойчивостью к патогенам в условиях избыточного азотного питания.

Ключевые слова: *Oryza sativa*; *Rhizoctonia solani*; биоинформатика растений; дифференциально экспрессируемые гены; генетическая регуляция; ассоциативные генные сети; база знаний Smart crop; программно-информационная система ANDSystem; азотные удобрения; ответ на грибную инфекцию.

Для цитирования: Антропова Е.А., Волянская А.Р., Адамовская А.В., Деменков П.С., Яцык И.В., Иванисенко Т.В., Орлов Ю.Л., Чао Х., Чэнь М., Иванисенко В.А. Поиск перспективных генетических маркеров, ассоциированных с молекулярными механизмами снижения устойчивости риса к *Rhizoctonia solani* при избытке азотных удобрений, методом реконструкции и анализа генных сетей. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;28(8):960-973. doi 10.18699/vjgb-24-103

Финансирование. Работа ЕАА, АРВ, АВА, ПСД, ИВЯ, ТВИ, ЮЛО и ВАИ поддержана российско-китайским грантом Российского научного фонда № 23-44-00030. Работа ХЧ и МЧ поддержана Национальным фондом естественных наук Китая (№ 32261133526).

Computational identification of promising genetic markers associated with molecular mechanisms of reduced rice resistance to *Rhizoctonia solani* under excess nitrogen fertilization using gene network reconstruction and analysis methods

E.A. Antropova [1, 2] ✉, A.R. Volyanskaya [1, 2], A.V. Adamovskaya [1, 2], P.S. Demenkov [1, 2, 3, 4], I.V. Yatsyk [1, 2, 4], T.V. Ivanisenko [1, 2, 3, 4], Y.L. Orlov [1, 3, 5, 6], Ch. Haoyu [7], M. Chen [7], V.A. Ivanisenko [1, 2, 3, 4]

© Антропова Е.А., Волянская А.Р., Адамовская А.В., Деменков П.С., Яцык И.В., Иванисенко Т.В., Орлов Ю.Л., Чао Х., Чэнь М., Иванисенко В.А., 2024
Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

[1] Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
[2] Artificial Intelligence Research Center, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia
[3] Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia
[4] Kurchatov Genomic Center of ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia
[5] Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia
[6] Digital Health Center, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenovskiy University), Moscow, Russia
[7] Department of Bioinformatics, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou, China
nzhenia@bionet.nsc.ru

Abstract. Although nitrogen fertilizers increase rice yield, their excess can impair plant resistance to diseases, particularly sheath blight caused by *Rhizoctonia solani*. This pathogen can destroy up to 50 % of the crop, but the mechanisms underlying reduced resistance under excess nitrogen remain poorly understood. This study aims to identify potential marker genes to enhance rice resistance to *R. solani* under excess nitrogen conditions. A comprehensive bioinformatics approach was applied, including differential gene expression analysis, gene network reconstruction, biological process overrepresentation analysis, phylostratigraphic analysis, and non-coding RNA co-expression analysis. The Smart crop cognitive system, ANDSystem, the ncPlantDB database, and other bioinformatics resources were used. Analysis of the molecular genetic interaction network revealed three potential mechanisms explaining reduced resistance of rice to *R. solani* under excess nitrogen: the OsGSK2-mediated pathway, the OsMYB44-OsWRKY6-OsPR1 pathway, and the SOG1-Rad51-PR1/PR2 pathway. Potential markers for breeding were identified: 7 genes controlling rice responses to various stresses and 11 genes modulating the immune system. Special attention was given to key participants in regulatory pathways under excess nitrogen conditions. Non-coding RNA analysis revealed 30 miRNAs targeting genes of the reconstructed gene network. For two miRNAs (Osa-miR396 and Osa-miR7695), about 7,400 unique long non-coding RNAs (lncRNAs) with various co-expression indices were found. The top 50 lncRNAs with the highest co-expression index for each miRNA were highlighted, opening new perspectives for studying regulatory mechanisms of rice resistance to pathogens. The results provide a theoretical basis for experimental work on creating new rice varieties with increased pathogen resistance under excessive nitrogen nutrition. This study opens prospects for developing innovative strategies in rice breeding aimed at optimizing the balance between yield and disease resistance in modern agrotechnical conditions.

Key words: *Oryza sativa*; *Rhizoctonia solani*; plant bioinformatics; differentially expressed genes; genetic regulation; associative gene networks; Smart crop knowledge base; ANDSystem software and information system; nitrogen fertilizer; fungal response.

For citation: Antropova E.A., Volyanskaya A.R., Adamovskaya A.V., Demenkov P.S., Yatsyk I.V., Ivanisenko T.V., Orlov Y.L., Haoyu Ch., Chen M., Ivanisenko V.A. Computational identification of promising genetic markers associated with molecular mechanisms of reduced rice resistance to *Rhizoctonia solani* under excess nitrogen fertilization using gene network reconstruction and analysis methods. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(8):960-973. doi 10.18699/vjgb-24-103

Введение

Рис (*Oryza sativa* L.) – одна из самых хозяйственно ценных культур в мире, составляющая основную часть рациона питания около половины мирового населения. Азотные удобрения находят широкое применение при выращивании риса. На их долю приходится около 80–90 % прибавки урожая, получаемой от минеральных удобрений (Кумейко и др., 2013). Однако, помимо положительного эффекта, азотные удобрения ухудшают устойчивость риса к заболеваниям. Избыток азотных удобрений является одним из основных факторов, способствующих развитию у риса такого заболевания как ризоктониоз, вызываемого грибком *Rhizoctonia solani* Kühn. Ризоктониоз наносит серьезный ущерб этой сельскохозяйственной культуре, приводя к потерям урожая до 50 % (Senapati et al., 2022).

Чувствительность растений к патогенным инфекциям на фоне избытка азотных удобрений обусловлена комплексом факторов, связанных как с быстрым ростом и развитием, так и с изменениями защитных реакций растений. Избыток азота приводит к ряду физиологических изменений, которые могут повышать восприимчивость растений к патогенам. В частности, ускоренный рост может вызывать ослабление клеточных структур, включая снижение прочности клеточных стенок и уменьшение толщины кутикулы, что облегчает проникновение патогенов (Hückelhoven, 2007; Rose et al., 2018). Кроме того, избыточное азотное питание способно вызывать изменения в микробиоме растений и стимулировать рост патогенных микроорганизмов в ризосфере (Xiong et al., 2021).

На молекулярно-генетическом уровне ключевую роль в формировании устойчивости к патогенам играют сложные регуляторные сети, включающие фитогормоны, транскрипционные факторы и некодирующие РНК. Эти компоненты участвуют в комплексных механизмах ответа на стрессы, затрагивающих иммунные процессы растений.

Фитогормоны, такие как салициловая кислота, брассиностероиды, жасмоновая кислота, гиббереллины, абсцизовая кислота, ауксины и этилен, имеют особое значение в ответе на патогенные инфекции (Yang J. et al., 2019). Примечательно, что некоторые из этих фитогормонов, в частности салициловая и абсцизовая кислоты, также вовлечены в метаболизм азотных соединений, регулируя экспрессию генов, связанных с азотным обменом (Xing et al., 2023). Это наблюдение позволяет предположить, что интерференция сигнальных путей фитогормонов может служить механизмом, посредством которого избыток азота влияет на устойчивость растений к патогенам.

Некодирующие РНК (нкРНК) представляют собой разнообразную группу молекул РНК, которые не транслируются в белки, но выполняют важные регуляторные функции в клетке. Среди них выделяют несколько основных типов: микроРНК, малые интерферирующие РНК (миРНК), Piwi-взаимодействующие РНК (пиРНК), рибосомные РНК (рРНК), транспортные РНК (тРНК) и длинные некодирую-

щие РНК (днРНК). днРНК представляют особый интерес, так как они играют значительную роль в регуляции генов, влияя на стабильность и трансляцию мРНК и участвуя в сигнальных путях. В частности, в работе Supriya с сотрудниками (2024) показано, что днРНК принимают участие в ответе риса на инфекцию *R. solani*.

Несмотря на их важность, днРНК остаются наименее изученными среди некодирующих РНК (Statello et al., 2021). Это связано с их разнообразием, сложностью функций и механизмов действия, а также с техническими трудностями их идентификации и характеризации. Одним из подходов для изучения функциональной роли нкРНК является анализ их коэкспрессии с кодирующими белки генами, а также с другими типами нкРНК, для которых установлена их функция. Наиболее полным ресурсом по коэкспрессии нкРНК, включая днРНК риса, является база данных ncPlantDB (https://bis.zju.edu.cn/ncPlantDB/).

Изучение взаимодействий между такими регуляторными элементами как фитогормоны, транскрипционные факторы и нкРНК представляет собой перспективное направление исследований в контексте азотного обмена и устойчивости к патогенам. Оно может привести к более глубокому пониманию механизмов, лежащих в основе индуцированной азотом восприимчивости растений к заболеваниям, и потенциально открыть новые пути для повышения устойчивости сельскохозяйственных культур в условиях интенсивного азотного питания.

В области компьютерной системной биологии метод генных сетей является широко используемым подходом к изучению сложных молекулярно-генетических процессов (Колчанов и др., 2013). Для автоматической реконструкции генных сетей в ИЦиГ СО РАН была разработана когнитивная система ANDSystem, которая с использованием методов искусственного интеллекта осуществляет экстракцию знаний из баз данных и текстов научных публикаций (Ivanisenko et al., 2015, 2019). ANDSystem успешно применялась для реконструкции ассоциативных генных сетей и интерпретации геномных, протеомных и метаболомных данных в различных областях биомедицины и агробиологии. С использованием данной программно-информационной системы были реконструированы важные молекулярно-генетические механизмы различных патологических процессов и биологических явлений, включая астму (Bragina et al., 2014; Saik et al., 2018; Zolotareva et al., 2019), лимфедему (Saik et al., 2019), туберкулез (Bragina et al., 2016), гепатит С (Saik et al., 2016), коронавирусную инфекцию (Ivanisenko et al., 2022), болезнь Хантингтона (Bragina et al., 2023), глиому (Rogachev et al., 2021), послеоперационный делирий (Иванисенко В.А. и др., 2023) и др.

В области биологии растений ANDSystem позволила получить новые данные о молекулярных механизмах функционирования клеточной стенки листьев *Arabidopsis thaliana* L. при ответе на засуху (Volyanskaya et al., 2023). Настройка методов извлечения знаний ANDSystem на область биологии картофеля привела к созданию специализированной базы знаний SOLANUM TUBEROSUM, содержащей информацию о генетической регуляции метаболических путей данной культуры (Иванисенко Т.В. и др., 2018), с использованием которой была проведена приоритизация генов картофеля, вовлеченных в формирование агрономически ценных признаков (Деменков и др., 2019).

Цель настоящей работы заключалась в комплексном биоинформатическом анализе молекулярных механизмов ответа риса на *R. solani* в условиях избытка азота. Исследование включало реконструкцию генных сетей при помощи базы знаний Smart crop – специализированной версии ANDSystem, настроенной на предметную область биологии риса, а также применение биоинформатических методов анализа перепредставленности биологических процессов, филостратиграфического анализа эволюционного возраста генов и анализа коэкспрессии нкРНК.

Материалы и методы

Исследование состояло из нескольких последовательных этапов (рис. 1). На первом этапе на основе анализа транскриптомных данных были идентифицированы гены, дифференциально экспрессирующиеся при инфицировании *R. solani*, а также гены, дифференциальная экспрессия которых наблюдалась в условиях избытка азота. Второй этап включал реконструкцию регуляторных генных сетей с участием идентифицированных генов. На третьем этапе был проведен структурно-функциональный анализ полученных сетей, включающий оценку показателей центральности узлов, анализ обогащения биологических процессов и определение эволюционного возраста генов. Далее был выполнен анализ регуляции трансляции генов сети микроРНК и исследована коэкспрессия днРНК. Заключительный этап был направлен на выявление потенциальных маркеров устойчивости к *R. solani* в условиях избытка азота.

Общедоступные данные по экспрессии генов. Публично доступные транскриптомные данные о реакции *O. sativa* на избыток азотных удобрений, а также на патоген *R. solani*, были собраны из баз данных NCBI GEO (Gene Expression Omnibus) и NCBI SRA (Sequence Read Archive) (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra) (табл. 1). Для анализа транскриптома *O. sativa* в условиях избытка азота было найдено одно исследование, включающее в себя три эксперимента. В данной работе растения обрабатывались избытком удобрения – нитратом аммония (NH_4NO_3) в концентрациях, превышающих нормальную в 4, 16 и 64 раза.

В анализ дифференциальной экспрессии генов *O. sativa* при инфицировании *R. solani* были включены данные пяти исследований с временными сериями, содержащие в общей сложности 21 эксперимент.

Анализ транскриптомных данных. Для извлечения файлов в формате FASTQ был использован пакет SRA Toolkit (v3.1.0). Контроль качества прочтений был произведен с помощью FastQC (v0.12.0). Фильтрация и удаление нуклеотидов низкого качества были проведены в программе Trimmomatic (https://github.com/usadellab/Trimmomatic). В качестве порога использовали длину прочтений в 15 п.н. и показатель качества последовательности Phred < Q20. Прочтения были картированы на референсный геном *O. sativa* Japonica Group (IRGSP-1.0), депонированный из базы данных EnsemblPlants (https://plants.ensembl.org/index.html) при помощи инструмента

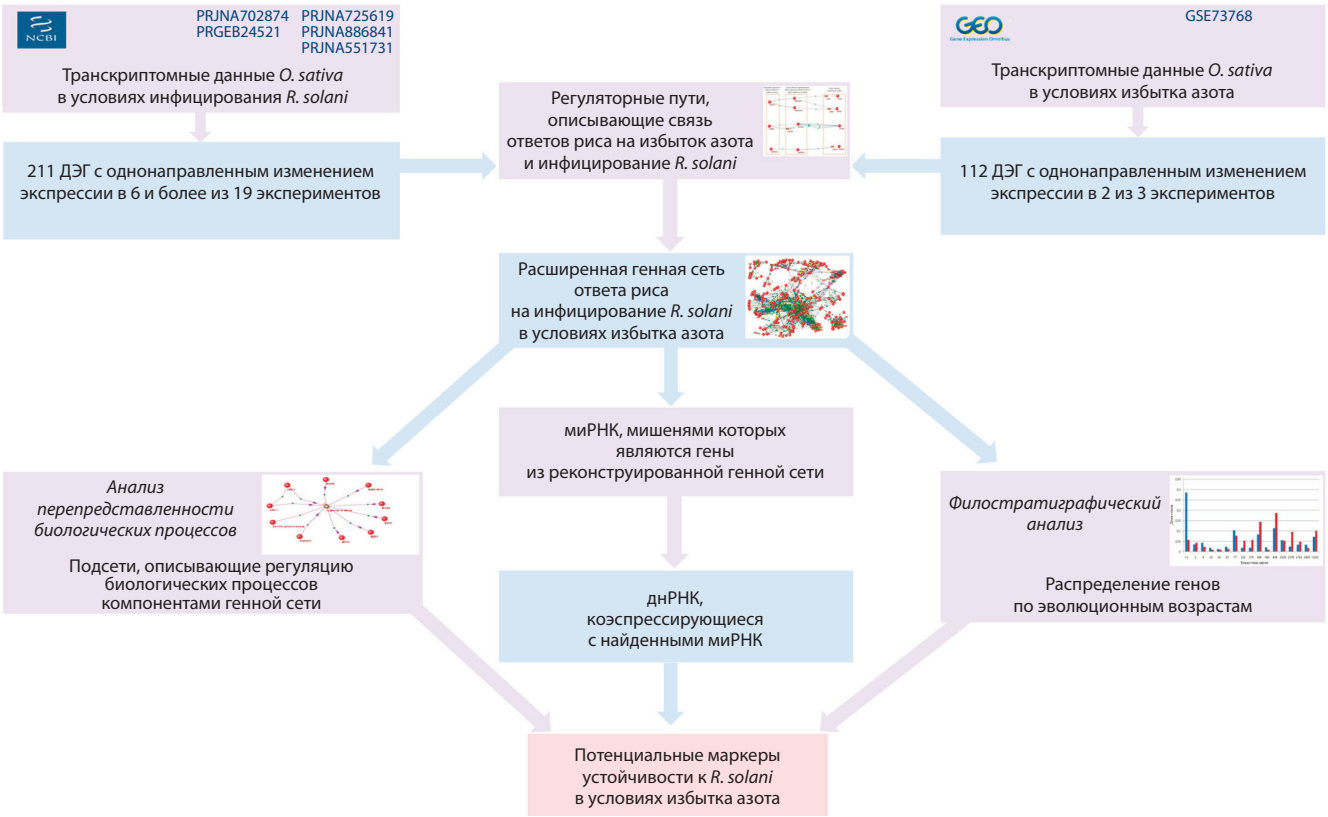

Рис. 1. Схема этапов исследования.

Таблица 1. Перечень использованных в работе публично доступных данных RNA-seq и ДНК-микрочипов

Стресс	Дизайн	ID проекта	Подсемейство	Генотип	Орган	Тип данных
Избыток азота (NH_4NO_3)	3 эксперимента: 3 концентрации (x64, x16, и x4 от нормальной концентрации)	GSE73768	ssp. *japonica*	cv. Nipponbare	Побег	микрочип
Инфицирование *R. solani*	3 эксперимента: 3 временные точки (1, 2 и 5 дней после инфекции)	PRJNA725619	ssp. *indica*	var. BPT- 5204	Лист	RNA-seq
Инфицирование *R. solani*	4 эксперимента: 2 временные точки для 2 сортов (1 и 2 дня после инфекции)	PRJNA886841	ssp. *japonica*	var. Lemont, var. GD66	Лист	RNA-seq
Инфицирование *R. solani*	2 эксперимента: 1 временная точка для 2 сортов (3 дня после инфекции)	PRJNA551731	ssp. *japonica*	cv. Yanhui-888, cv. Jingang-30	Лист	RNA-seq
Инфицирование *R. solani*	6 экспериментов: 3 временные точки для 2 сортов (1, 3 и 5 дней после инфекции)	PRJEB24521	ssp. *japonica*	var. Cocodrie, line MCR	Лист	RNA-seq
Инфицирование *R. solani*	6 экспериментов: 3 временные точки для 2 сортов (1, 2 и 3 дня после инфекции)	PRJNA702874	ssp. *indica*	Line PAU-ShB8, line PR114	Лист	RNA-seq

HISAT2 (v2.2.1). Для конвертации выходных файлов картирования формата SAM в бинарный формат BAM использовали SAMtools (v1.20). Для квантификации был использован HTSeq (v2.0.2). Нормализация количества прочтений и анализ дифференциальной экспрессии генов осуществлялся с помощью инструмента edgeR (4.0.16), реализованного в проекте Bioconductor (https://www.bioconductor.org/). Для нормализации был использован метод TMM (Trimmed Mean of M-values). Поправка на множественное тестирование была введена с использованием FDR (false discovery rate).

Данные ДНК-микрочипов аналиировали с помощью пакета limma (v3.58.1) из проекта Bioconductor. Чтение сырых файлов ДНК-микрочипа платформы Agilent было выполнено с использованием read.images. Далее была проведена коррекция фонового шума и квантильная

№	Схема шаблона
Ш1	$Ген_N$ —*экспр*→ $Белок_N$ —*рег.акт., асс., рег.тран., PPi, расщ., рег.дегр.*→ $Белок_{гр}$
Ш2	$Ген_N$ —*экспр*→ $Белок_N$ —*рег.эксп., асс., PPi*→ $Ген_{гр}$
Ш3	$Ген_N$ —*экспр*→ $Белок_N$ —*рег.акт., асс., рег.тран., PPi, расщ., рег.дегр.*→ $Белок_п$ —*рег.акт., асс., рег.тран., PPi, расщ., рег.дегр.*→ $Белок_{гр}$
Ш4	$Ген_N$ —*экспр*→ $Белок_N$ —*рег.акт., асс., рег.тран., PPi, расщ., рег.дегр.*→ $Белок_п$ —*рег.эксп., асс., PPi*→ $Ген_{гр}$
Ш5	$Ген_N$ —*экспр*→ $Белок_N$ —*рег.эксп., асс., PPi*→ $Ген_п$ —*экспр*→ $Белок_п$ —*рег.акт., асс., рег.тран., PPi, расщ., рег.дегр.*→ $Белок_{гр}$
Ш6	$Ген_N$ —*экспр*→ $Белок_N$ —*рег.эксп., асс., PPi*→ $Ген_п$ —*экспр*→ $Белок_п$ —*рег.эксп., асс., PPi*→ $Ген_{гр}$

Рис. 2. Схема шаблонов, использованных для поиска молекулярно-генетических путей в базе знаний Smart crop.

Обозначения: Ш – шаблон; $Ген_N$ – ДЭГ риса при избытке азотных удобрений; $Белок_N$ – белковые продукты ДЭГ при избытке азотных удобрений; $Ген_п$ – гены, кодирующие белки-посредники; $Белок_п$ – белки-посредники; $Ген_{гр}$ – ДЭГ риса при ответе на инфекцию *R. solani*; $Белок_{гр}$ – белковые продукты ДЭГ риса при ответе на инфекцию *R. solani*.

нормализация данных. Пакет biomaRt (v2.58.2) (https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/biomaRt.html) был применен для сопоставления идентификаторов зондов ДНК-микрочипа с идентификаторами генов *Ensembl*. Анализ дифференциальной экспрессии генов был осуществлен с использованием пакета limma. Для идентификации дифференциально экспрессирующихся генов был использован порог FDR < 0.05.

База знаний Smart crop. В данном исследовании была использована специализированная база знаний Smart crop, представляющая собой адаптированную версию программно-информационной системы ANDSystem, ориентированной на область генетики и селекции риса и пшеницы. Адаптация системы включала настройку трех ключевых модулей ANDSystem для эффективного решения поставленных задач. Первым стал модуль предметно-ориентированной онтологии, который был расширен специальными словарями. Эти словари охватывали широкий спектр объектов исследования, которые можно разбить на группу молекулярно-генетических объектов (гены, белки, метаболиты, нкРНК и микроРНК), их функциональные характеристики (биологические процессы, генетические биомаркеры, QTL-полиморфизмы), фенотипические характеристики (сорта растений, селекционно значимые качества, фенотипические признаки, болезни), биотические и абиотические факторы (патогены, вредители и др.). Для формирования этих словарей были использованы различные базы данных и онтологии, такие как NCBI Gene (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/), ChEBI (https://www.ebi.ac.uk/chebi/), MirBase (https://www.mirbase.org/), Gene Ontology (https://cropontology.org/), Wheat Ontology, Rice Ontology и другие (Chao et al., 2023). Так, например, словарь генов из группы молекулярно-генетических объектов содержит наименования около 627 тысяч генов, включая их общепринятые названия и синонимы. Биологические процессы, относящиеся к функциональным характеристикам, содержат более 122 тысяч наименований. Словарь патогенов, входящих в группу биотических факторов, содержит около 755 наименований.

Вторым важным компонентом стал модуль экстракции информации из фактографических баз данных, который был настроен на автоматизированное извлечение данных из специализированных источников в области биологии растений. К таким источникам относились Oryzabase, (https://shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/), GrainGenes (https://wheat.pw.usda.gov/GG3/), ASPNet и др. Третьим выступил модуль интеллектуального анализа текстов (text mining) с использованием семантико-лингвистических шаблонов и методов искусственного интеллекта. Он был адаптирован для эффективного извлечения знаний из текстовых источников, таких как научные статьи и патенты в области биологии растений. На основе анализа научных публикаций, выполненного с использованием данного модуля, было экстрагировано более 4 млн взаимодействий между объектами, представленными в словарях.

Реконструкцию генных сетей производили с помощью «Мастера запросов» и «Мастера путей» программного модуля ANDVisio (Demenkov et al., 2011), представляющего собой пользовательский интерфейс в системах ANDSystem и Smart crop. Структура шаблонов, использованных при поиске регуляторных путей в базе знаний Smart Crop с помощью «Мастера путей», приведена на рис. 2.

Центральность узлов в генной сети оценивалась с помощью показателя сетевой связности (Network connectivity), определяемого как число связей данного узла с другими узлами сети.

Анализ перепредставленности биологических процессов Онтологии гена был выполнен с помощью ресурса PANTHER (https://pantherdb.org/).

Анализ длинных некодирующих РНК. Анализ коэкспрессии между микроРНК и днРНК проводился с использованием базы данных ncPlantDB (https://bis.zju.edu.cn/ncPlantDB/).

Филостратиграфический анализ. Эволюционный возраст генов был определен с использованием базы данных GenOrigin (http://chenzxlab.hzau.edu.cn/) (Tong et al., 2021), которая содержит информацию об эволюционном возрасте генов различных организмов, установленном методом филостратиграфического анализа. Для оценки статистической значимости различий в распределении генов разного возраста между полным набором белок-кодирующих генов риса и генами реконструированной сети был применен гипергеометрический тест. Вероятность наблю-

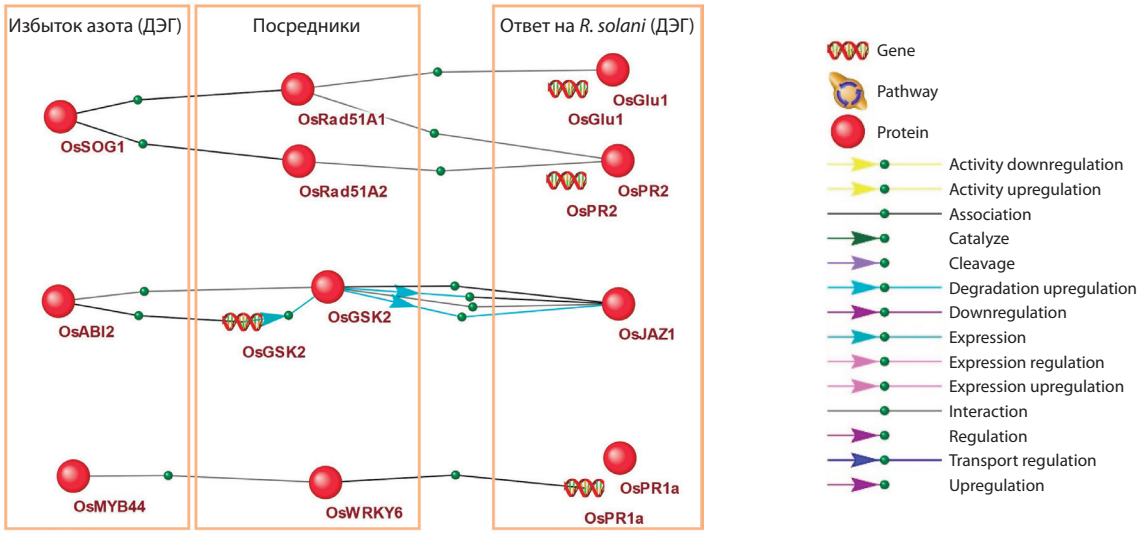

Рис. 3. Регуляторные пути, описывающие связь между ДЭГ при ответе риса на избыток азота и инфицирование *R. solani*.

дения m и более генов определенного возрастного интервала среди M генов сети рассчитывалась с помощью функции hypergeom.pmf библиотеки scipy. Анализ проводился для 17 возрастных интервалов, представленных в базе данных GenOrigin. При расчетах использовались следующие параметры: N – общее количество белок-кодирующих генов риса, n – число генов риса в заданном возрастном интервале, M – число генов в генной сети, m – количество генов сети в анализируемом возрастном интервале. Различия считались статистически значимыми при p-value < 0.05.

Результаты и обсуждение

Выявление устойчивых дифференциально экспрессирующихся генов

Для поиска дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) риса в условиях избытка азота было проанализировано 3 эксперимента, а в условиях влияния грибка *R. solani* – 21 эксперимент, транскриптомные данные которых удалось найти в открытых источниках. Мы рассмотрели гены с однонаправленным изменением экспрессии в разных экспериментах (одновременное понижение или повышение), которые в дальнейшем будем называть устойчивыми ДЭГ.

В случае избытка азота было обнаружено только 5 генов, которые являлись устойчивыми ДЭГ во всех трех экспериментах (*Os09g0538000*, *Os05g0162000*, *Os09g0537700*, *Os04g0664900*, *Os06g0113800*). При условии встречаемости ДЭГ в двух из трех экспериментов число таких генов составило 112. Они и были взяты для дальнейшего анализа.

Анализ дифференциальной экспрессии генов в условиях инфицирования *R. solani* показал, что в двух экспериментах из 21 статистически достоверные ДЭГ не были выявлены. При анализе оставшихся 19 экспериментов не было выявлено ни одного гена, который являлся бы ДЭГ в каждом эксперименте. Оказалось, что только 2 гена являлись устойчивыми ДЭГ в половине и более экспериментов (*Os04g0180500* и *Os09g0255600*). При рассмотрении трети экспериментов (6 и более из 19) в число устойчивых ДЭГ вошло 211 генов. Число устойчивых ДЭГ для четверти экспериментов (5 и более из 19) составило 463 гена. Для дальнейшего анализа мы выбрали значение порога для определения устойчивых ДЭГ, равное одной трети экспериментов (6 и более из 19), поскольку при этом значении выборки устойчивых ДЭГ в условиях избытка азота и влияния грибка оказались сопоставимы по размеру.

Реконструкция молекулярно-генетических путей, описывающих взаимосвязь ответов риса на избыток азота и инфицирование *R. solani*

С помощью программы ANDVisio, которая является пользовательским интерфейсом для баз знаний Smart crop и ANDSystem, был проведен поиск молекулярно-генетических путей в глобальной генной сети Smart crop (см. рис. 2), связывающих группу отобранных 112 устойчивых ДЭГ при ответе на избыток азота и 211 устойчивых ДЭГ при ответе на инфекцию *R. solani*. В результате такого поиска было найдено несколько регуляторных путей, которые включали в себя 3 белка, кодируемых ДЭГ при ответе на избыток азота, 4 ДЭГ и кодируемых ими белков при ответе на инфицирование *R. solani*, а также 4 белка, являющихся посредниками во взаимодействиях между рассмотренными ДЭГ (рис. 3).

Молекулярно-генетический путь OsABI2-OsGSK2-OsJAZ1

Одним из важных реконструированных путей (см. рис. 3), потенциально объясняющих механизм снижения устойчивости риса к грибку при избытке азота, является путь OsABI2-OsGSK2-OsJAZ1. Белок OsABI2 (PP2C06, protein phosphatase 2C6) является продуктом дифференциально экспрессируемого при избытке азота гена *Os01g0583100*. Его экспрессия снижается при 16- и 64-кратном превышении концентрации азотного удобрения (Приложение 1[1]).

[1] Приложения 1–5 см. по адресу: https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2024-28/appx34.xlsx

Известно, что ABI2 – один из основных участников сигнального пути абсцизовой кислоты (ABA) (Sun et al., 2011), которая является важным гормоном, регулирующим закрывание устьиц, старение листьев, покой почек, ингибирование прорастания семян, ингибирование роста растений, ответные реакции на засуху, засоление, действие токсичных металлов (Chen et al., 2020; Kumar S. et al., 2022). Было показано, что OsABI2 участвует в ответе риса на избыток железа (Junior et al., 2015), его экспрессия усиливается при засухе у подсолнечника (Shen et al., 2023) и также отмечается при засухе в корнях и стебле риса (Sircar et al., 2022). Представленность этого белка в реконструированном регуляторном пути может свидетельствовать о его участии в модуляции реакции риса на патоген при избытке азота. OsABI2 может оказывать регуляторное влияние на OsJAZ1 (jasmonate ZIM-domain protein 1), важного фактора ответа на патогены, через посредника OsGSK2.

Согласно нашему анализу, OsJAZ1 (*Os10g0392400*) является ДЭГ с повышенным уровнем экспрессии в 7 из 19 экспериментов по влиянию *R. solani* на транскриптом риса (Приложение 2). Было показано, что грибок *Verticillium dahliae*, вызывающий вертициллёзное увядание (так называемый «вилт») у арабидопсиса и хлопка, индуцирует фосфорилирование JAZ1 через GSK2 (glycogen synthase kinase 2, brassinosteroid insensitive 2, BIN2), и это способствует дальнейшей деградации JAZ1 (Song Y. et al., 2021). Авторы отмечают, что в данном случае GSK2 является отрицательным регулятором устойчивости к грибку – его конститутивная экспрессия ослабляла устойчивость, а нокдаун гена *GSK2* повышал устойчивость к *V. dahliae*. Интересно отметить, что *OsGSK2* (*Os05g0207500*) является ДЭГ в двух из 19 проанализированных экспериментах по изучению влияния *R. solani* на транскриптом, в которых его экспрессия была снижена (см. Приложение 2). *OsGSK2* также являлся ДЭГ при ответе на избыток азота в эксперименте с наибольшей концентрацией азотного удобрения, превышающей нормальную концентрацию в 64 раза.

В нашей сети связь между ABI2 и GSK2 имеет тип “interaction” (физическое взаимодействие). У арабидопсиса ABI1 и ABI2 дефосфорилируют белок GSK2, что приводит к подавлению его киназной активности и снижению стабильности. Рассмотренные взаимодействия между участниками регуляторного пути согласуются с данными Wang H. с сотрудниками (2018), в которых показано, что сигнальный путь ABA подавляет сигнальный путь брассиностероидов (BR). BR представляют собой важную группу гормонов растений, в ряде случаев выполняющих антагонистическую роль по отношению к действию ABA. Например, BR стимулируют прорастание семян, в то время как ABA способствует их покою (Steber, McCourt, 2001). ABA действует противоположно BR в регуляции наклона листьев *O. sativa* через ген биосинтеза BR *OsD11* и сигнальные гены *OsGSK2* и *OsDLT* (Li et al., 2019).

Молекулярно-генетический путь MYB44-WRKY6-PR1

Другой важный регуляторный путь начинается с белка OsMYB44 – продукта гена *Os09g0106700*, дифференциально экспрессируемого при избытке азота. Отметим, что он является ДЭГ в двух из трех экспериментов, когда экспрессия гена снижена при 16- и 64-кратном превышении концентрации азотного удобрения (см. Приложение 1). Транскрипционный фактор (ТФ) MYB44 принимает важное участие в регуляции жизни растения (развитии корней, соматическом эмбриогенезе, старении листьев и др.) и ответе на биотические и абиотические стрессы, такие как засуха, холод, недостаток фосфата и азота, заражение патогенными организмами (Wang F. et al., 2024). Интересно отметить разнонаправленное действие MYB44 при защите от инфекций. Он усиливал защитную реакцию на патогенную бактерию *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, индуцированную салициловой кислотой, но снижал зависимый от жасмоновой кислоты защитный ответ против грибка *Alternaria brassicicola*, вызывающего болезнь черной пятнистости (Shim et al., 2013). В рассматриваемом пути MYB44 образует регуляторный комплекс с другим ТФ – WRKY6 (*Os03g0798500*), регулирующим транспорт неорганического фосфата у картофеля (Zhou et al., 2017). ТФ WRKY6, как и MYB44 у *A. thaliana*, действует как положительный регулятор сигнализации ABA. Семейство ТФ WRKY участвует в формировании устойчивости растений к широкому кругу стрессов, в частности OsWRKY6 необходим для защиты риса от *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, вызывающего бактериальную полосатость (Im et al., 2024). OsWRKY6 активирует экспрессию *OsPR1* (Im et al., 2022) – конечного звена рассматриваемого регуляторного пути.

Молекулярно-генетический путь SOG1-Rad51-PR1/PR2

Данный путь включает в себя три звена: SOG1 (suppressor of gamma response1), RAD51 (DNA repair protein RAD51) и гены *PR1* (pathogenesis-related protein 1) и *PR2* (pathogenesis-related protein 2) (см. рис. 3). SOG1 – ТФ растений, аналог белка p53 животных, играющий решающую роль в регуляции транскрипции генов, вовлеченных в программируемую клеточную гибель, восстановление повреждений ДНК, а также в ответы на абиотические стрессы и патогенные инфекции (Ogita et al., 2018; Yoshiyama, Kimura, 2018). Согласно нашему анализу транскрипционных данных, *SOG1* (*Os06g0267500*) является ДЭГ при избытке азота. Уровень его экспрессии повышается в двух из трех экспериментов: при 16- и 64-кратном превышении концентрации азотного удобрения (см. Приложение 1).

SOG1 регулирует транскрипцию *OsRad51* (Ogita et al., 2018; Yoshiyama, Kimura, 2018), выступающего в роли посредника в рассматриваемом пути. RAD51 – регуляторный белок иммунного ответа растений. В числе прочих его прямых мишеней есть представители семейства белков *PR1* и *PR2*, связанные с патогенезом (Wang S. et al., 2010). Эти гены оказались в числе ДЭГ ответа на инфекцию *R. solani* (см. Приложение 2).

Экспрессия *PR1* (*Os07g0129200*) повышалась в 6 из 19 экспериментов по влиянию *R. solani* на транскриптом. В геноме риса обнаружено семь генов, названных *PR2* (Yokotani et al., 2014). Согласно нашим данным, экспрессия трех из них (*Os07g0539900*, *Os01g0940700* и *Os01g0940800*) повышалась в 7 из 19 экспериментов.

Следует отметить, что гены *PR1* и *PR2* также оказались в числе ДЭГ по результатам нашего анализа транскриптомных данных серии экспериментов по исследованию

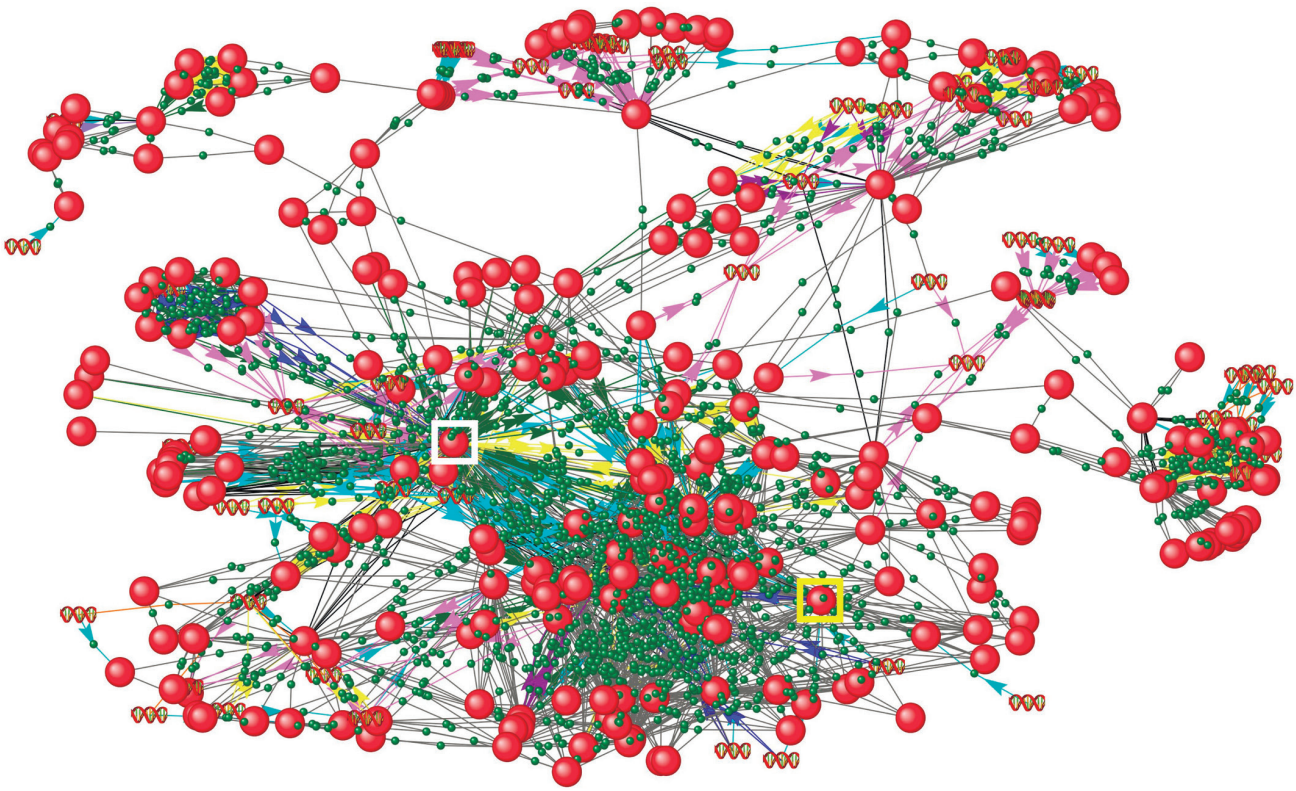

Рис. 4. Расширенная генная сеть ответа риса на инфицирование *R. solani* в условиях избытка азота.

Сеть включает как исходные регуляторные пути, так и вновь идентифицированные компоненты (гены и белки). Желтым и белым квадратами выделены белки JAZ1 и GSK2 соответственно. Обозначения генов, белков и типов их взаимодействий аналогичны представленным на рис. 3.

избытка азота. Их экспрессия статистически значимо изменялась в одном из трех экспериментов, в котором концентрация азотных удобрений была максимальной.

Реконструкция расширенной генной сети ответа риса на инфицирование *R. solani* в условиях избытка азота

Для выявления более широкого круга потенциальных участников механизмов снижения устойчивости риса к грибку *R. solani* при избытке азота мы провели реконструкцию расширенной генной сети, в основу которой были положены рассмотренные выше регуляторные пути. Реконструкция осуществлялась автоматически с помощью функционального модуля программы ANDVisio. Этот инструмент позволяет расширять исходную сеть, добавляя новые компоненты (гены, белки, метаболиты и др.) на основе данных об их взаимодействиях, содержащихся в базе знаний Smart crop. Для 15 участников исходных регуляторных путей (см. рис. 3) в базе знаний содержалась информация об их взаимодействиях с 358 новыми белками и генами. Реконструированная таким образом сеть содержала 61 ген, 271 белок, 2359 взаимодействий (рис. 4). Для выявления ключевых участников данной сети был проведен анализ центральности вершин с использованием индекса Network connectivity, указывающего на количество ближайших соседей. Наибольшим значением индекса обладал белок OsGSK2 – участник исходных регуляторных путей, опосредующий взаимодействия между дифференциально экспрессирующимися генами. В числе первой тройки по величине индекса Network connectivity также оказался Jaz1. Следует отметить, что ген, кодирующий Jaz1, являлся устойчивым ДЭГ при ответе на инфекцию *R. solani*.

Идентификация днРНК, потенциально регулирующих выявленные молекулярно-генетических пути

Для поиска днРНК, потенциально вовлеченных в регуляцию генной сети ответа риса на грибную инфекцию в условиях избытка азота, мы проанализировали базу данных ncPlantDB. Эта база содержит информацию о коэкспрессии днРНК с микроРНК, полученную в результате анализа single-cell данных.

Основываясь на данных базы знаний Smart crop, мы нашли 30 микроРНК, мишенями которых являются гены из реконструированной генной сети (табл. 2). В базе данных ncPlantDB были обнаружены связи для Osa-miR396 и Osa-miR7695 с днРНК с различными индексами степени коэкспрессии. Для двух вариантов Osa-miR396 (Osa-miR396b и Osa-miR396c) число таких нкРНК составило ~4000. Для Osa-miR7695 было выявлено около 3500 коэкспрессионных связей с днРНК. Суммарное число уникальных днРНК составило ~7400.

Среди выявленных днРНК особое внимание стоит уделить тем, которые обладают наибольшим индексом коэкспрессии. К таким днРНК можно отнести топ-50, ранжированных по индексу коэкспрессии, в частности, группу выявленных в метаксилеме риса днРНК, обладающих одинаковым индексом коэкспрессии с Osa-miR396b, генами-мишенями которой являются *GFR1* и *GFR3*: LNC-

Таблица 2. МикроРНК, регулирующие гены стрессовых ответов в реконструированной генной сети

№	МикроРНК	Ген-мишень	Литература
1–3	Osa-miR156	*OsMPKs*, *OsSPL14*	Xie et al., 2006; Kumar K. et al., 2022; Song L. et al., 2021
4	Osa-miR159	*OsGAMYB*	Kumar K. et al., 2022
5	Osa-miR162	*OsDCL1*	Kumar K. et al., 2022
6–8	Osa-miR166	*EIN 2*	Song L. et al., 2021; Kumar K. et al., 2022
9	Osa-miR167	*ARF12*	Kumar K. et al., 2022
10	Osa-miR319	*OsTCP21*	Song L. et al., 2021; Kumar K. et al., 2022
11–12	Osa-miR393	*AFB2/TIR*	Song L. et al., 2021
13–21	Osa-miR396	*OsGRFs*	Song L. et al., 2021
22	Osa-miR398	*SOD*, *CSD1*, *CSD2*	Song L. et al., 2021; Kumar K. et al., 2022
23	Osa-miR408	*OsAAE3*	Charagh et al., 2024
24–29	Osa-miR444	*MADS23/27a/57*	Kumar K. et al., 2022; Song L. et al., 2021
30	Osa-miR7695	*OsNramp6*	Kumar K. et al., 2022; Song L. et al., 2021

Примечание. МикроРНК одного семейства объединены в группы.

Os08g15450, LNC-Os04g61735, LNC-Os05g27975, LNC-Os05g62500 и др. (Приложение 3).

Поиск функций этих днРНК по литературным данным не дал результатов. Поэтому связь днРНК с генной сетью может иметь особое значение для дальнейшей характеризации их функций.

Филостратиграфический анализ

Применение методов филостратиграфического анализа для оценки эволюционного возраста генов является перспективным подходом к исследованию особенностей эволюции генных сетей и идентификации их ключевых компонентов (Мустафин и др., 2021). В настоящей работе этот подход был использован для анализа этапов эволюции, на которых возникли гены, участвующие в реконструированной сети ответа на грибковую инфекцию в условиях повышенных концентраций азотных удобрений.

Анализ распределения эволюционного возраста генов показал, что в реконструированной сети присутствуют гены разного возраста, среди которых можно выделить несколько наиболее представленных групп (рис. 5). Возрастные интервалы, в пределах которых количество генов статистически значимо превышало ожидаемое по случайным причинам, соответствовали следующим временным точкам, представленным на графике (см. рис. 5): 1 – 132 млн лет ($p = 1.85 \cdot 10^{-3}$), 2 – 170 млн лет ($p = 9.16 \cdot 10^{-4}$) и 3 – 1578 млн лет ($p = 5.41 \cdot 10^{-7}$).

Первая группа, включающая 11 генов возрастом около 132 млн лет, вероятно, возникла на эволюционном этапе появления однодольных растений (Friis et al., 2004). К представителям этой группы принадлежит ТФ OFP3 (ovate family protein 3). Специфичное для растений семейство OFP принимает участие в регуляции клеточной плюрипотентности, морфогенеза и роста у *A. thaliana* (Wang F. et al., 2016). Более того, существует предположение, что изменения в сетях регуляции транскрипционных факторов являются существенной чертой эволюции однодольных растений (Vincentz et al., 2004).

В пределах второго рассматриваемого интервала (170 млн лет) оказался возраст 12 генов. К этому периоду относят появление цветковых растений (van der Kooi, Ollerton, 2020). В этот интервал попали члены семейства

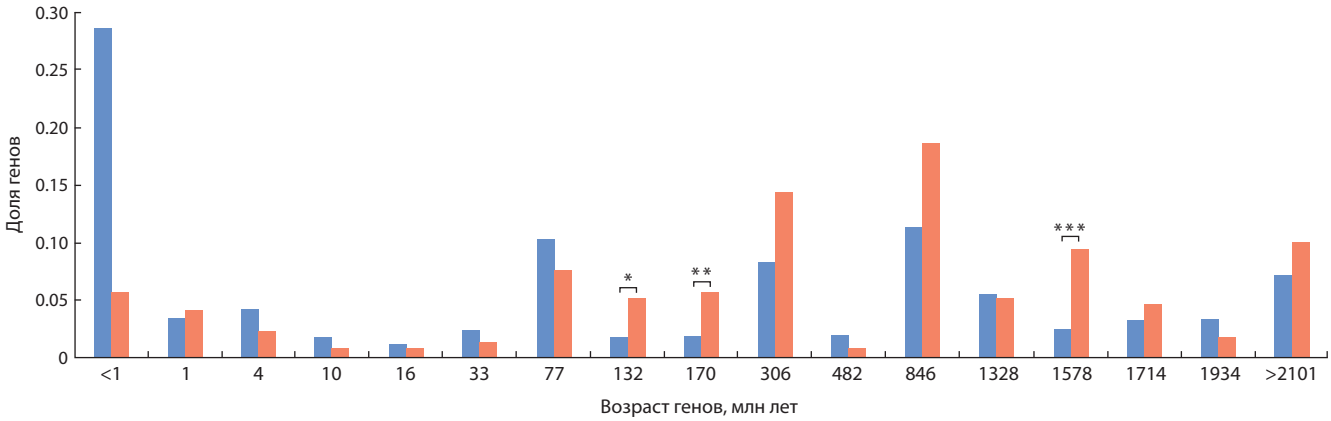

Рис. 5. Распределение эволюционного возраста генов в реконструированной генной сети.

По оси абсцисс отложены центральные точки возрастных интервалов (млн лет) согласно базе данных GenOrigin, по оси ординат – доля генов в каждом возрастном интервале. Синим цветом показано распределение для полного набора белок-кодирующих генов риса, красным – для генов реконструированной сети. Звездочками отмечены возрастные интервалы со статистически значимыми различиями в представленности генов: * $p = 1.85 \cdot 10^{-3}$, ** $p = 9.16 \cdot 10^{-4}$, *** $p = 5.41 \cdot 10^{-7}$, гипергеометрический тест.

Таблица 3. Результаты анализа перепредставленности биологических процессов для генов расширенной сети ответа риса на инфицирование *R. solani* в условиях избытка азота

Термин из Gene Ontology	*p*-value	FDR	Количество генов
Response to hormone	1.09E-38	2.87E-36	44
Hormone-mediated signaling pathway	2.08E-37	4.75E-35	38
Response to chemical	2.15E-30	3.38E-28	47
Response to stress	1.41E-22	1.69E-20	50
Regulation of defense response	4.12E-16	4.41E-14	13
Seed germination	5.17E-10	3.76E-08	6
Response to water deprivation	4.47E-09	2.74E-07	8
Defense response	3.36E-07	1.51E-05	18
Cellular response to abiotic stimulus	3.70E-06	1.46E-04	5
Defense response to fungus	1.81E-03	3.96E-02	4

Примечание. Анализ выполнен с помощью ресурса PANTHER. Представлены наиболее значимые биологические процессы, связанные с ответом на различные биотические и абиотические факторы.

ТФ WRKY (WRKY6, 40 и 46), участвующие в молекулярных механизмах регуляции цветения (Song H. et al., 2024). Важно отметить, что WRKY6 также является участником исходных регуляторных путей.

В третью группу вошли 20 генов, возраст которых оказался в пределах третьего интервала (1578 млн лет), соответствующего появлению красных и зеленых водорослей (Zhang S. et al., 2021). Одним из представителей этой группы является ген *PHT1* (*phosphate transporter1*), продукт которого участвует в поглощении и транспорте неорганического фосфата (Wang X. et al., 2014). Развитие механизмов усвоения фосфора могло иметь значение в эволюции растений, поскольку увеличение доступности фосфата в океанах связывают с ростом более крупных эукариотических организмов (Zhang S. et al., 2021).

Можно отметить еще одну особенность генной сети: доля «молодых» генов, возраст которых меньше 1 млн лет, оказалась меньше, чем их доля в полном геноме. В число «молодых» генов, оказавшихся в этом интервале, попадает 12 генов, многие из которых в той или иной степени связаны с иммунными ответами: *OsPR5* (*OS01G0122000*), *OsNAC6* (*Os01g0672100*), *similar to histone H4* (*OS01G0835900*), *OsMPK3* (*OS02G0148100*), *R2R3-MYB* (*OS02G0641300*), *R2R3-MYB* (*OS06G0205100*), *OsPR1b* (*OS07G0127700*), *histone H4* (*OS07G0549900*), *R2R3MYB-domain protein* (*OS12G0564100*).

Полученные данные могут способствовать более глубокому пониманию механизмов функционирования реконструированной генной сети и послужить основой для дальнейшего выбора маркеров для селекции растений, устойчивых к патогенам в условиях повышенной концентрации азотных удобрений.

Поиск потенциальных мишеней для маркер-ориентированной селекции

Чтобы найти потенциальные мишени для маркер-ориентированной селекции, был проведен анализ функциональной значимости генов на уровне биологических процессов. С помощью ресурса PANTHER была проанализирована перепредставленность терминов Онтологии гена для расширенной генной сети. В результате было выявлено 239 статистически значимых биологических процессов (Приложение 4), включая ключевые сигнальные пути и ответы на абиотические и биотические стрессы, в том числе на грибковые инфекции (табл. 3).

Хотя анализ перепредставленности биологических процессов предоставляет важные сведения о функциональной значимости генной сети, для отбора эффективных маркеров необходимо понимание конкретных регуляторных механизмов. База знаний Smart crop содержит информацию о регуляторных взаимодействиях между генами и биологическими процессами, что позволяет идентифицировать потенциальные маркеры не только по их ассоциации с ключевыми процессами, но и по их регуляторному потенциалу.

Для поиска потенциальных маркеров генная сеть была дополнена регуляторными связями с биологическими процессами с использованием ANDVisio (Приложение 5). Регуляторные связи между генами и процессами были классифицированы как положительные (upregulation), отрицательные (downregulation) или без указания знака направленности (regulation). На рис. 6 представлены регуляторные сети для процессов “response to stress” и “innate immune system”, играющих ключевую роль в механизмах стрессового ответа.

Следует отметить, что “response to stress” оказался перепредставлен среди генов расширенной сети ответа риса на инфицирование *R. solani* в условиях избытка азота (см. табл. 3). Важными регуляторами данного процесса являются три белка (см. рис. 6, *а*): BZR1 (brassinazole resistant 1), серин-треониновая протеинкиназа SAPK4 (Ser/Thr protein kinase см. рис. 6, *а*) и ТФ SOG1 (OsSOG1 см. рис. 6, *а*, *б*). Известно, что BZR1 опосредует передачу сигналов брассиностероидов, подавляя транскрипцию генов стрессового ответа (Yang Y.X. et al., 2015; Cao et al., 2024). SAPK4 регулирует экспрессию генов в ответ на солевой стресс у риса (Diédhiou et al., 2008). SOG1 контролирует ответ растений на стрессы, вызывающие повреждение ДНК (Ogita et al., 2018; Yoshiyama, Kimura, 2018). SOG1 является компонентом исходных регуляторных путей, что позволяет отнести его к особо важным потенциальным маркерам. Все рассмотренные белки можно

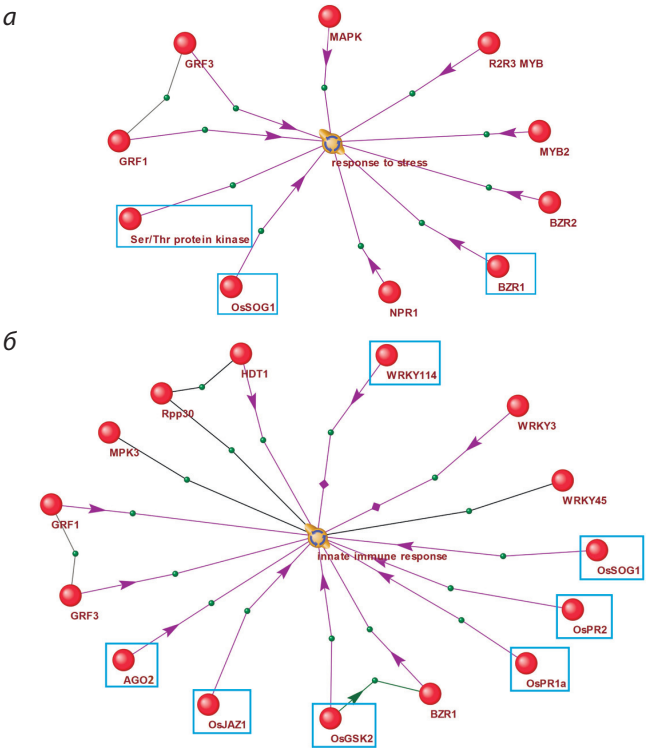

Рис. 6. Регуляция биологических процессов “response to stress” (*а*) и “innate immune response” (*б*) белками, являющимися компонентами генной сети ответа риса на патогенный грибок в условиях избытка азота.

Связи между объектами, отмеченные черными линиями, обозначают ассоциацию; фиолетовыми стрелками – регуляторные воздействия. Голубыми прямоугольниками выделены белки, обсуждаемые в тексте.

классифицировать как маркеры, контролирующие ответы на широкий спектр стрессовых воздействий. Такая характеристика делает их особенно ценными для дальнейших исследований и потенциального применения в биотехнологии растений.

Процесс “innate immune system” (врожденная иммунная система) интересен тем, что регулируется тринадцатью участниками генной сети, которые могут рассматриваться как перспективные маркеры, ассоциированные с устойчивостью к патогенам (см. рис. 6, *б*). Ключевыми регуляторами этого процесса являются белки WRKT114 и AGO2, а также компоненты описанных выше молекулярно-генетических путей (GSK, PR1, PR2, JAZ1 и SOG1). WRKT114 активирует иммунный ответ при инфицировании *X. oryzae* pv. *oryzae* (Son et al., 2020). AGO2 регулирует врожденный иммунитет через микроРНК-опосредованную супрессию генов-мишеней при инфицировании *P. syringae* pv. *tomato* (Zhang X. et al., 2011). Остальные компоненты также вносят существенный вклад в регуляцию иммунного ответа растений (Song Y. et al., 2021; Johnson et al., 2023; Javed et al., 2024).

Характеризация генов-маркеров по эволюционному возрасту

Оценка эволюционного возраста генов может дать важную информацию при планировании селекционных программ, позволяя прогнозировать специфичность, функциональную консервативность и фенотипические эффекты генов-кандидатов. Применение анализа эволюционного возраста генов при планировании экспериментов иллюстрирует работа по интрогрессии гена *Xa21* риса. Этот ген обеспечивает устойчивость к бактериальному ожогу риса, вызываемому *X. oryzae* pv. *oryzae*. *Xa21* был изолирован из дикого вида *Oryza longistaminata* и является эволюционно молодым геном, специфичным для рода *Oryza*. Введение гена *Xa21* в культивируемые сорта риса привело к созданию линий с высокой устойчивостью к болезни без негативного влияния на урожайность и качество зерна (Song W.Y. et al., 1995; Wang G.L. et al., 1996).

Другим примером является модификация гена *ERF922* для увеличения устойчивости риса к грибковым патогенам с использованием CRISPR/Cas9. *ERF922* – эволюционно молодой ген, участвующий в регулировании иммунного ответа риса. Его нокаут привел к повышению устойчивости к «взрыву риса» без негативного влияния на рост растения (Wang F. et al., 2016).

Проведенный нами филостратиграфический анализ генной сети выявил, что средний эволюционный возраст потенциальных генов-маркеров группы “innate immune response” составляет 605 млн лет, что существенно меньше аналогичного показателя для группы “response to stress” (1270 млн лет). Эти данные подтверждают представления об эволюционной молодости иммунных механизмов (Han, 2019). В группе “innate immune response” возрастной диапазон простирается от OsPR1a (менее 1 млн лет) до OsGSK2 (более 2101 млн лет), тогда как в группе “response to stress” – от OsSOG1 (306 млн лет) до Ser/Thr protein kinase (1714 млн лет).

Известно, что гены с большим эволюционным возрастом функционируют в наиболее фундаментальных процессах (Wolf et al., 2009; Domazet-Lošo, Tautz, 2010). Вариации в этих генах могут влиять на множество фенотипических признаков, что может усложнять селекцию по целевым свойствам. В связи с этим для маркер-ориентированной селекции наиболее перспективными представляются эволюционно молодые гены сети: *OsPR5*, *OsNAC6*, *OsMPK3*, *R2R3-MYB*, *OsPR1b* и *histone H4*.

Заключение

В данной работе для поиска потенциальных генов-маркеров, направленных на повышение устойчивости риса к *R. solani* в условиях избытка азота, был применен системный подход, включающий широкий круг биоинформатических методов, реализованных в когнитивной системе Smart crop, ANDSystem и других известных биоинформатических ресурсах. Системный анализ, реализованный в виде конвейерной обработки данных, включал: 1 – исследование дифференциальной экспрессии генов; 2 – реконструкцию и анализ генных сетей; 3 – анализ перепредставленности биологических процессов; 4 – анализ эволюции генных сетей методом филостратиграфического анализа; 5 – анализ омиксных данных по коэкспрессии некодирующих РНК.

Анализ молекулярно-генетической сети взаимодействий, связывающих ответы риса на избыток азота и инфицирование *R. solani*, позволил предложить механизмы, объясняющие снижение устойчивости риса к грибку на

фоне повышенных концентраций азотных удобрений. Выделены три потенциальных пути. Первый – опосредован через OsGSK2, который может связывать ответы растения на избыток азота и на инфекцию *R. solani*. При повышенном уровне OsGSK2 способен снижать устойчивость растений к грибку, что показано на примере *V. dahliae*, поражающего арабидопсис и хлопок. По нашим данным, уровень активного OsGSK2 может быть повышен при избытке азота из-за снижения экспрессии его ингибитора OsABI2. Второй – путь OsMYB44-OsWRKY6-OsPR1. Все участники этого пути имеют отношение к защите растений от биотических стрессов. Третий – путь SOG1-Rad51-PR1/PR2: от транскрипционного фактора SOG1 через регулятор транскрипции генов иммунного ответа Rad51 к генам *PR1* и *PR2*, незаменимым участникам ответа на патогены.

Реконструкция расширенной генной сети позволила идентифицировать потенциальные маркеры для селекции, направленной на повышение устойчивости к патогенам, таким как *R. solani*, в условиях избытка азота. Найденные маркеры разделены на две группы: маркеры, контролирующие ответы риса на широкий круг стрессов (7 генов) и маркеры-модуляторы иммунной системы (11 генов).

Среди наиболее важных маркеров выделяются гены, являющиеся ключевыми участниками регуляторных путей, лежащих в основе генной сети ответа риса на патоген *R. solani* в условиях избытка азота (*OsGSK2*, *JAZ1*, *PR1*/*PR2*, *SOG1*).

Полученные теоретические результаты могут послужить фундаментом для дальнейших экспериментальных работ по созданию новых сортов риса, обладающих повышенной устойчивостью к патогенам в условиях избыточного содержания азотных удобрений. Проведенные исследования открывают перспективы для разработки инновационных стратегий в селекции риса, направленных на оптимизацию баланса между урожайностью и устойчивостью к заболеваниям в современных агротехнических условиях.

Список литературы / References

Деменков П.С., Сайк О.В., Иванисенко Т.В., Колчанов Н.А., Кочетов А.В., Иванисенко В.А. Приоритизация генов картофеля, вовлеченных в формирование селекционно-значимых признаков, с использованием базы знаний SOLANUM TUBEROSUM. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2019;23(3):312-319. doi 10.18699/VJ19.501
[Demenkov P.S., Saik O.V., Ivanisenko T.V., Kolchanov N.A., Kochetov A.V., Ivanisenko V.A. Prioritization of potato genes involved in the formation of agronomically valuable traits using the SOLANUM TUBEROSUM knowledge base. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(3):312-319. doi 10.18699/VJ19.501]

Иванисенко В.А., Басов Н.В., Макарова А.А., Вензель А.С., Рогачев А.Д., Деменков П.С., Иванисенко Т.В., Клещев М.А., Гайслер Е.В., Мороз Г.Б., Плеско В.В., Сотникова Ю.С., Патрушев Ю.В., Ломиворотов В.В., Колчанов Н.А., Покровский А.Г. Применение генных сетей к анализу результатов метаболомного скрининга плазмы крови пациентов с послеоперационным делирием. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023; 27(7):768-775. doi 10.18699/VJGB-23-89
[Ivanisenko V.A., Basov N.V., Makarova A.A., Venzel A.S., Rogachev A.D., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Kleshchev M.A., Gaisler E.V., Moroz G.B., Plesko V.V., Sotnikova Y.S., Patrushev Y.V., Lomivorotov V.V., Kolchanov N.A., Pokrovsky A.G. Gene networks for use in metabolomic data analysis of blood plasma from patients with postoperative delirium. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(7):768-775. doi 10.18699/VJGB-23-89]

Иванисенко Т.В., Сайк О.В., Деменков П.С., Хлесткин В.К., Хлесткина Е.К., Колчанов Н.А., Иванисенко В.А. База знаний SOLANUM TUBEROSUM: раздел по молекулярно-генетической регуляции метаболических путей. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(1):8-17. doi 10.18699/VJ18.325
[Ivanisenko T.V., Saik O.V., Demenkov P.S., Khlestkin V.K., Khlestkina E.K., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A. The SOLANUM TUBEROSUM knowledge base: the section on molecular-genetic regulation of metabolic pathways. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(1): 8-17. doi 10.18699/VJ18.325 (in Russian)]

Колчанов Н.А., Игнатьева Е.В., Подколодная О.А., Лихошвай В.А., Матушкин Ю.Г. Генные сети. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(4/2):833-850
[Kolchanov N.A., Ignatyeva E.V., Podkolodnaya O.A., Likhoshvai V.A., Matushkin Yu.G. Gene networks. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2013;17(4/2):833-850 (in Russian)]

Кумейко Ю.В., Паращенко В.Н., Кремзин Н.М. Применение ингибитора нитрификации для снижения потерь азота и повышения эффективности азотного удобрения в рисоводстве. *Сб. науч. трудов Ставропольского НИИ животноводства и кормопроизводства*. 2013;3(6):144-147
[Kumeiko Yu.V., Paraschenko V.N., Kremzin N.M. Application of nitrification inhibitor to reduce nitrogen losses and increase the efficiency of nitrogen fertilizers in rice growing. *Sbornik Nauchnykh Trudov Stavropolskogo NII Zhivotnovodstva i Kormoproizvodstva = Proceedings of the Stavropol Research Institute of Animal Husbandry and Forage Production*. 2013;3(6):144-147 (in Russian)]

Мустафин З.С., Лашин С.А., Матушкин Ю.Г. Филостратиграфический анализ генных сетей заболеваний человека. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(1):46-56. doi 10.18699/VJ21.006
[Mustafin Z.S., Lashin S.A., Matushkin Yu.G. Phylostratigraphic analysis of gene networks of human diseases. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(1):46-56. doi 10.18699/VJ21.006]

Bragina E.Y., Tiys E.S., Freidin M.B., Koneva L.A., Demenkov P.S., Ivanisenko V.A., Kolchanov N.A., Puzyrev V.P. Insights into pathophysiology of dystropy through the analysis of gene networks: an example of bronchial asthma and tuberculosis. *Immunogenetics*. 2014;66(7-8):457-465. doi 10.1007/s00251-014-0786-1

Bragina E.Y., Tiys E.S., Rudko A.A., Ivanisenko V.A., Freidin M.B. Novel tuberculosis susceptibility candidate genes revealed by the reconstruction and analysis of associative networks. *Infect. Genet. Evol*. 2016;46:118-123. doi 10.1016/j.meegid.2016.10.030

Bragina E.Y., Gomboeva D.E., Saik O.V., Ivanisenko V.A., Freidin M.B., Nazarenko M.S., Puzyrev V.P. Apoptosis genes as a key to identification of inverse comorbidity of Huntington's disease and cancer. *Int. J. Mol. Sci*. 2023;24(11):9385. doi 10.3390/ijms24119385

Cao X., Wei Y., Shen B., Liu L., Mao J. Interaction of the transcription factors BES1/BZR1 in plant growth and stress response. *Int. J. Mol. Sci*. 2024;25(13):6836. doi 10.3390/ijms25136836

Chao H., Zhang S., Hu Y., Ni Q., Xin S., Zhao L., Ivanisenko V.A., Orlov Y.L., Chen M. Integrating omics databases for enhanced crop breeding. *J. Integr. Bioinform*. 2023;20(4):20230012. doi 10.1515/jib-2023-0012

Charagh S., Hui S., Wang J., Raza A., Zhou L., Xu B., Zhang Y., Sheng Z., Tang S., Hu S., Hu P. Unveiling innovative approaches to mitigate metals/metalloids toxicity for sustainable agriculture. *Physiol. Plant*. 2024;176(2):e14226. doi 10.1111/ppl.14226

Chen K., Li G.J., Bressan R.A., Song C.P., Zhu J.K., Zhao Y. Abscisic acid dynamics, signaling, and functions in plants. *J. Integr. Plant Biol*. 2020;62(1):25-54. doi 10.1111/jipb.12899

Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A. ANDVisio: a new tool for graphic visualization and analysis of literature mined associative gene networks in the ANDSystem. *In Silico Biol*. 2011-2012;11(3-4):149-161. doi 10.3233/ISB-2012-0449

Diédhiou C.J., Popova O.V., Dietz K.J., Golldack D. The SNF1-type serine-threonine protein kinase SAPK4 regulates stress-responsive gene expression in rice. *BMC Plant Biol*. 2008;8:49. doi 10.1186/1471-2229-8-49

Domazet-Lošo T., Tautz D. A phylogenetically based transcriptome age index mirrors ontogenetic divergence patterns. *Nature*. 2010;468(7325):815-818. doi 10.1038/nature09632

Friis E.M., Pedersen K.R., Crane P.R. Araceae from the Early Cretaceous of Portugal: evidence on the emergence of monocotyledons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004;101(47):16565-16570. doi 10.1073/pnas.0407174101

Han G.Z. Origin and evolution of the plant immune system. *New Phytol*. 2019;222(1):70-83. doi 10.1111/nph.15596

Hückelhoven R. Cell wall-associated mechanisms of disease resistance and susceptibility. *Annu. Rev. Phytopathol*. 2007;45(1):101-127. doi 10.1146/annurev.phyto.45.062806.094325

Im J.H., Choi C., Park S.R., Hwang D.J. The OsWRKY6 transcriptional cascade functions in basal defense and Xa1-mediated defense of rice against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Planta*. 2022;255(2):47. doi 10.1007/s00425-022-03830-5

Im J.H., Choi C., Jung M.Y., Park S.R., Hwang D.J. The *OsICS1* is directly regulated by OsWRKY6 and increases resistance against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Planta*. 2024;259(6):124. doi 10.1007/s00425-024-04405-2

Ivanisenko V.A., Saik O.V., Ivanisenko N.V., Tiys E.S., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Kolchanov N.A. ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology. *BMC Syst. Biol*. 2015;9(Suppl.2):S2. doi 10.1186/1752-0509-9-S2-S2

Ivanisenko V.A., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Mishchenko E.L., Saik O.V. A new version of the ANDSystem tool for automatic extraction of knowledge from scientific publications with expanded functionality for reconstruction of associative gene networks by considering tissue-specific gene expression. *BMC Bioinformatics*. 2019;20(Suppl.1):34. doi 10.1186/s12859-018-2567-6

Ivanisenko V.A., Gaisler E.V., Basov N.V., Rogachev A.D., Cheresiz S.V., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Mishchenko E.L., Khripko O.P., Khripko Y.I., Voevoda S.M., Karpenko T.N., Velichko A.J., Voevoda M.I., Kolchanov N.A., Pokrovsky A.G. Plasma metabolomics and gene regulatory networks analysis reveal the role of non-structural SARS-CoV-2 viral proteins in metabolic dysregulation in COVID-19 patients. *Sci. Rep*. 2022;12(1):19977. doi 10.1038/s41598-022-24170-0

Javed T., Wang W., Yang B., Shen L., Sun T., Gao S.J., Zhang S. Pathogenesis related-1 proteins in plant defense: regulation and functional diversity. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2024;1-9. doi 10.1080/07388551.2024.2344583

Johnson L.Y.D., Major I.T., Chen Y., Yang C., Vanegas-Cano L.J., Howe G.A. Diversification of JAZ-MYC signaling function in immune metabolism. *New Phytol*. 2023;239(6):2277-2291. doi 10.1111/nph.19114

Junior A.T.D., Farias D.D., dos Santos R.S., do Amaral M.N., Arge L.W.P., Oliveira D.D.C., Silveira S.F.S., Sousa R.O., Braga E.J.B., Maia L.C., Oliveira A.C. The quest for more tolerant rice: How high concentrations of iron affect alternative splicing? *Transcriptomics*. 2015;3:2. doi 10.4172/2329-8936.1000122

Kumar K., Mandal S.N., Neelam K., de Los Reyes B.G. MicroRNA-mediated host defense mechanisms against pathogens and herbivores in rice: balancing gains from genetic resistance with trade-offs to productivity potential. *BMC Plant Biol*. 2022;22(1):351. doi 10.1186/s12870-022-03723-5

Kumar S., Shah S.H., Vimala Y., Jatav H.S., Ahmad P., Chen Y., Siddique K.H.M. Abscisic acid: metabolism, transport, crosstalk with other plant growth regulators, and its role in heavy metal stress mitigation. *Front. Plant Sci*. 2022;13:972856. doi 10.3389/fpls.2022.972856

Li Q.F., Lu J., Zhou Y., Wu F., Tong H.N., Wang J.D., Yu J.W., Zhang C.Q., Fan X.L., Liu Q.Q. Abscisic acid represses rice lamina joint inclination by antagonizing brassinosteroid biosynthesis and signaling. *Int. J. Mol. Sci*. 2019;20(19):4908. doi 10.3390/ijms20194908

Ogita N., Okushima Y., Tokizawa M., Yamamoto Y.Y., Tanaka M., Seki M., Makita Y., Matsui M., Okamoto-Yoshiyama K., Sakamoto T., Kurata T., Hiruma K., Saijo Y., Takahashi N., Umeda M. Identifying the target genes of SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE 1, a master transcription factor controlling DNA damage response in *Arabidopsis*. *Plant J*. 2018;94(3):439-453. doi 10.1111/tpj.13866

Rogachev A.D., Alemasov N.A., Ivanisenko V.A., Ivanisenko N.V., Gaisler E.V., Oleshko O.S., Cheresiz S.V., Mishinov S.V., Stupak V.V., Pokrovsky A.G. Correlation of metabolic profiles of plasma and cerebrospinal fluid of high-grade glioma patients. *Metabolites*. 2021;11(3):133. doi 10.3390/metabo11030133

Rose J.K.C., Catalá C., Gonzalez-Carranza Z.H., Roberts J.A. Cell wall disassembly. In: Annual Plant Reviews online. Vol. 8. The Plant Cell Wall. Wiley, 2018;264-324. doi 10.1002/9781119312994.apr0075

Saik O.V., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Ivanisenko V.A. Interactome of the hepatitis C virus: literature mining with ANDSystem. *Virus Res*. 2016;218:40-48. doi 10.1016/j.virusres.2015.12.003

Saik O.V., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Bragina E.Y., Freidin M.B., Dosenko V.E., Zolotareva O.I., Choynzonov E.L., Hofestaedt R., Ivanisenko V.A. Search for new candidate genes involved in the comorbidity of asthma and hypertension based on automatic analysis of scientific literature. *J. Integr. Bioinform*. 2018;15(4):20180054. doi 10.1515/jib-2018-0054

Saik O.V., Nimaev V.V., Usmonov D.B., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Lavrik I.N., Ivanisenko V.A. Prioritization of genes involved in endothelial cell apoptosis by their implication in lymphedema using an analysis of associative gene networks with ANDSystem. *BMC Med. Genomics*. 2019;12(Suppl.2):47. doi 10.1186/s12920-019-0492-9

Senapati M., Tiwari A., Sharma N., Chandra P., Bashyal B.M., Ellur R.K., Bhowmick P.K., Bollinedi H., Vinod K.K., Singh A.K., Krishnan S.G. *Rhizoctonia solani* Kühn pathophysiology: status and prospects of sheath blight disease management in rice. *Front. Plant Sci.* 2022;13:881116. doi 10.3389/fpls.2022.881116

Shen J., Wang X., Song H., Wang M., Niu T., Lei H., Qin C., Liu A. Physiology and transcriptomics highlight the underlying mechanism of sunflower responses to drought stress and rehydration. *iScience*. 2023;26(11):108112. doi 10.1016/j.isci.2023.108112

Shim J.S., Jung C., Lee S., Min K., Lee Y.W., Choi Y., Lee J.S., Song J.T., Kim J.K., Choi Y.D. AtMYB44 regulates *WRKY70* expression and modulates antagonistic interaction between salicylic acid and jasmonic acid signaling. *Plant J.* 2013;73(3):483-495. doi 10.1111/tpj.12051

Sircar S., Musaddi M., Parekh N. NetREx: Network-based Rice Expression Analysis Server for abiotic stress conditions. *Database* (*Oxford*). 2022;2022:baac060. doi 10.1093/database/baac060

Son S., An H.K., Seol Y.J., Park S.R., Im J.H. Rice transcription factor WRKY114 directly regulates the expression of *OsPR1a* and *Chitinase* to enhance resistance against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2020;533(4):1262-1268. doi 10.1016/j.bbrc.2020.09.141

Song H., Duan Z., Zhang J. WRKY transcription factors modulate flowering time and response to environmental changes. *Plant Physiol. Biochem*. 2024;210:108630. doi 10.1016/j.plaphy.2024.108630

Song L., Fang Y., Chen L., Wang J., Chen X. Role of non-coding RNAs in plant immunity. *Plant Commun*. 2021;2(3):100180. doi 10.1016/j.xplc.2021.100180

Song W.Y., Wang G.L., Chen L.L., Kim H.S., Pi L.Y., Holsten T., Gardner J., Wang B., Zhai W.X., Zhu L.H., Fauquet C., Ronald P. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21*. *Science*. 1995;270(5243):1804-1806. doi 10.1126/science.270.5243.1804

Song Y., Zhai Y., Li L., Yang Z., Ge X., Yang Z., Zhang C., Li F., Ren M. BIN2 negatively regulates plant defence against *Verticillium dahliae* in *Arabidopsis* and cotton. *Plant Biotechnol. J.* 2021;19(10):2097-2112. doi 10.1111/pbi.13640.

Statello L., Guo C.J., Chen L.L., Huarte M. Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2021;22(2):96-118. doi 10.1038/s41580-020-00315-9

Steber C.M., McCourt P. A role for brassinosteroids in germination in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2001;125(2):763-769. doi 10.1104/pp.125.2.763.

Sun H.L., Wang X.J., Ding W.H., Zhu S.Y., Zhao R., Zhang Y.X., Xin Q., Wang X.F., Zhang D.P. Identification of an important site for function of the type 2C protein phosphatase ABI2 in abscisic acid signalling in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot*. 2011;62(15):5713-5725. doi 10.1093/jxb/err274

Supriya P., Srividya G.K., Solanki M., Manvitha D., Prakasam V., Balakrishnan M., Neeraja C.N., Srinivasa Rao Ch, Sundaram R.M., Mangrauthia S.K. Identification and expression analysis of long non-coding RNAs of rice induced during interaction with *Rhizoctonia solani*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2024;134:102389. doi 10.1016/j.pmpp.2024.102389

Tong Y.-B., Shi M.-W., Qian S.H., Chen Y.-J., Luo Z.-H., Tu Y.-X., Xiong Y.-L., Geng Y.-J., Chen C., Chen Z.-X. GenOrigin: a comprehensive protein-coding gene origination database on the evolutionary timescale of life. *J. Genet. Genomics*. 2021;48(12):1122-1129. doi 10.1016/j.jgg.2021.03.018

van der Kooi C.J., Ollerton J. The origins of flowering plants and pollinators. *Science*. 2020;368(6497):1306-1308. doi 10.1126/science.aay3662

Vincentz M., Cara F.A., Okura V.K., da Silva F.R., Pedrosa G.L., Hemerly A.S., Capella A.N., Marins M., Ferreira P.C., França S.C., Grivet L., Vettore A.L., Kemper E.L., Burnquist W.L., Targon M.L., Siqueira W.J., Kuramae E.E., Marino C.L., Camargo L.E., Carrer H., Coutinho L.L., Furlan L.R., Lemos M.V., Nunes L.R., Gomes S.L., Santelli R.V., Goldman M.H., Bacci M. Jr, Giglioti E.A., Thiemann O.H., Silva F.H., Van Sluys M.A., Nobrega F.G., Arruda P., Menck C.F. Evaluation of monocot and eudicot divergence using the sugarcane transcriptome. *Plant Physiol*. 2004;134(3):951-959. doi 10.1104/pp.103.033878

Volyanskaya A.R., Antropova E.A., Zubairova U.S., Demenkov P.S., Venzel A.S., Orlov Y.L., Makarova A.A., Ivanisenko T.V., Gorshkova T.A., Aglyamova A.R., Kolchanov N.A., Chen M., Ivanisenko V.A. Reconstruction and analysis of the gene regulatory network for cell wall function in *Arabidopsis thaliana* L. leaves in response to water deficit. *Vavilov J. Genet. Breed*. 2023;27(8):1031-1041. doi 10.18699/VJGB-23-118

Wang F., Wang C., Liu P., Lei C., Hao W., Gao Y., Liu Y.G., Zhao K. Enhanced rice blast resistance by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the ERF transcription factor gene *OsERF922*. *PLoS One*. 2016;11(4):e0154027. doi 10.1371/journal.pone.0154027

Wang F., Yang F., Zhu D., Saniboere B., Zhou B., Peng D. MYB44 plays key roles in regulating plant responses to abiotic and biotic stress, metabolism, and development. *J. Plant Biochem. Biotechnol*. 2024;33(4):462-473. doi 10.1007/s13562-023-00864-y

Wang G.L., Song W.Y., Ruan D.L., Sideris S., Ronald P.C. The cloned gene, *Xa21*, confers resistance to multiple *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates in transgenic plants. *Mol. Plant-Microbe Interact*. 1996;9(9):850-855. doi 10.1094/mpmi-9-0850

Wang H., Tang J., Liu J., Hu J., Liu J., Chen Y., Cai Z., Wang X. Abscisic acid signaling inhibits brassinosteroid signaling through dampening the dephosphorylation of BIN2 by ABI1 and ABI2. *Mol. Plant*. 2018;11:315-325. doi 10.1016/j.molp.2017.12.013

Wang S., Durrant W.E., Song J., Spivey N.W., Dong X. *Arabidopsis* BRCA2 and RAD51 proteins are specifically involved in defense gene transcription during plant immune responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010;107(52):22716-22721. doi 10.1073/pnas.1005978107

Wang X., Wang Y., Piñeros M.A., Wang Z., Wang W., Li C., Wu Z., Kochian L.V., Wu P. Phosphate transporters OsPHT1;9 and OsPHT1;10 are involved in phosphate uptake in rice. *Plant Cell Environ*. 2014;37(5):1159-1170. doi 10.1111/pce.12224

Wolf Y.I., Novichkov P.S., Karev G.P., Koonin E.V., Lipman D.J. The universal distribution of evolutionary rates of genes and distinct characteristics of eukaryotic genes of different apparent ages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009;106(18):7273-7280. doi10.1073/pnas.0901808106

Xie K., Wu C., Xiong L. Genomic organization, differential expression, and interaction of SQUAMOSA promoter-binding-like transcription factors and microRNA156 in rice. *Plant Physiol.* 2006;142(1):280-293. doi 10.1104/pp.106.084475

Xing J., Cao X., Zhang M., Wei X., Zhang J., Wan X. Plant nitrogen availability and crosstalk with phytohormones signallings and their biotechnology breeding application in crops. *Plant Biotechnol. J*. 2023;21(7):1320-1342. doi 10.1111/pbi.13971

Xiong Q., Hu J., Wei H., Zhang H., Zhu J. Relationship between plant roots, rhizosphere microorganisms, and nitrogen and its special focus on rice. *Agriculture*. 2021;11(3):234. doi 10.3390/agriculture11030234

Yang J., Duan G., Li C., Liu L., Han G., Zhang Y., Wang C. The crosstalks between jasmonic acid and other plant hormone signaling highlight the involvement of jasmonic acid as a core component in plant response to biotic and abiotic stresses. *Front. Plant Sci*. 2019;10:1349. doi 10.3389/fpls.2019.01349

Yang Y.X., Ahammed G.J., Wu C., Fan S.Y., Zhou Y.H. Crosstalk among jasmonate, salicylate and ethylene signaling pathways in plant disease and immune responses. *Curr. Protein Pept. Sci.* 2015;16(5):450-461. doi 10.2174/1389203716666150330141638

Yokotani N., Tsuchida-Mayama T., Ichikawa H., Mitsuda N., Ohme-Takagi M., Kaku H., Minami E., Nishizawa Y. OsNAC111, a blast disease-responsive transcription factor in rice, positively regulates the expression of defense-related genes. *Mol. Plant-Microbe Interact*. 2014;27(10):1027-1034. doi 10.1094/MPMI-03-14-0065-R

Yoshiyama K.O., Kimura S. Ser-Gln sites of SOG1 are rapidly hyperphosphorylated in response to DNA double-strand breaks. *Plant Signal. Behav*. 2018;13(6):e1477904. doi 10.1080/15592324.2018.1477904

Zhang S., Su J., Ma S., Wang H., Wang X., He K., Wang H., Canfield D.E. Eukaryotic red and green algae populated the tropical ocean 1400 million years ago. *Precambrian Res*. 2021;357:106166. doi 10.1016/j.precamres.2021.106166

Zhang X., Zhao H., Gao S., Wang W.C., Katiyar-Agarwal S., Huang H.D., Raikhel N., Jin H. *Arabidopsis* Argonaute 2 regulates innate immunity via miRNA393*-mediated silencing of a Golgi-localized SNARE gene *MEMB12*. *Mol. Cell*. 2011;42(3):356-366. doi 10.1016/j.molcel.2011.04.010

Zhou X., Zha M., Huang J., Li L., Imran M., Zhang C. StMYB44 negatively regulates phosphate transport by suppressing expression of *PHOSPHATE1* in potato. *J. Exp. Bot.* 2017;68(5):1265-1281. doi 10.1093/jxb/erx026

Zolotareva O., Saik O.V., Königs C., Bragina E.Y., Goncharova I.A., Freidin M.B., Dosenko V.E., Ivanisenko V.A., Hofestädt R. Comorbidity of asthma and hypertension may be mediated by shared genetic dysregulation and drug side effects. *Sci. Rep.* 2019;9(1):16302. doi 10.1038/s41598-019-52762-w

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Поступила в редакцию 27.09.2024. После доработки 14.11.2024. Принята к публикации 14.11.2024.