

**Быкова Анастасия Владимировна**

**Структурно-функциональная характеристика генов, определяющих  
устойчивость картофеля к холодному стрессу**

Специальность: 1.5.7. – Генетика

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург  
2026

Работа выполнена в лаборатории системной биологии растений Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН).

**Научный руководитель:** **Кочиева Елена Зауровна**  
доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией системной биологии растений Института Биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва

**Официальные оппоненты:** **Матвеева Татьяна Валерьевна**  
Доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры генетики и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург

**Дивашук Михаил Георгиевич**  
кандидат биологических наук, заведующий лабораторией прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», г. Москва

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), г. Новосибирск

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 года в \_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 24.1.235.01, созданного на базе ФИЦ «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР), по адресу: 190031, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 44, телефон: 8 (812) 312-51-61; факс: 8 (812) 570-47-70.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова и на сайте института: [www.vir.nw.ru](http://www.vir.nw.ru).

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Рогозина Елена Вячеславовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность и степень разработанности темы исследования.** Картофель *Solanum tuberosum* L. – широко культивируемая сельскохозяйственная культура. Наличие крахмала в клубнях картофеля определяет его использование в качестве пищевой, кормовой и технической культуры. Хранение клубней картофеля при низких температурах является неотъемлемой частью послеуборочной обработки для продления срока хранения, уменьшения прорастания, ингибирования фитопатогенов. В условиях РФ картофель обычно хранится в картофелехранилище при температуре +3°C-+5°C до 6-8 месяцев, что определяется временем сбора клубней (сентябрь-октябрь) и посадки в следующем сезоне (апрель-май). При этом такое длительное холодное хранение вызывает накопление в клубнях редуцирующих сахаров (глюкозы и фруктозы), называемое холодным осахариванием (CIS), что значительно ухудшает товарные и питательные свойства клубней картофеля (Chen et al., 2012; Zhang et al., 2017). Большинство исследований изменений в клубнях картофеля при воздействии низких температур по продолжительности не превышало 4 месяцев (Menendez et al., 2002; Lin et al., 2019; Егорова и др., 2023; Zhang et al., 2024; Cui et al., 2025). Однако исследований молекулярно-генетических изменений, которые происходят в клубнях при более длительном хранении, соответствующем по длительности хранению в картофелехранилище, практически не проводилось. Отдельный интерес также представляет изучение влияния кратковременного холодного стресса на молодые растения картофеля, что часто происходит во время весенних возвратных похолоданий. Поэтому понимание молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе влияния холодного стресса, является важной научной и практической задачей. В связи с этим работа по структурно-функциональному анализу генов, определяющих устойчивость картофеля к холодному стрессу, является крайне актуальной.

**Целью работы** является комплексное исследование молекулярных механизмов адаптации картофеля к кратковременному и длительному холодному стрессу, включая структурно-функциональный анализ генов углеводного обмена и биосинтеза вторичных метаболитов (каротиноиды, антоцианы).

Для достижения данной цели были поставлены следующие **задачи**:

- провести транскрипционный анализ для определения основных групп генов, изменяющих экспрессию в клубнях картофеля в ответ на длительное холодное воздействие (+3°C, 6,5 месяцев);
- определить изменения содержания углеводов (крахмала, сахаров) и вторичных метаболитов (каротиноидов, антоцианов) в клубнях различных сортов картофеля при длительном холодном воздействии;
- определить изменения профилей экспрессии генов углеводного обмена и биосинтеза вторичных метаболитов в клубнях и листьях сортов картофеля в ответ на

длительный и кратковременный холодовой стресс; установить возможные корреляции между содержанием метаболитов и экспрессией генов, их кодирующих;

- провести структурно-функциональную характеристику генов амилаз и их ингибиторов, а также ключевых генов биосинтеза каротиноидов и антоцианов у видов и сортов картофеля.

**Научная новизна** работы заключается в том, что:

- впервые был проведен транскриптомный анализ клубней картофеля при длительном холодовом стрессе (+3°C, 3,5 и 6,5 месяцев);

- впервые было определено изменение содержания основных углеводов (крахмал, сахара) и вторичных метаболитов (каротиноиды, антоцианы) в клубнях картофеля при длительном холодовом стрессе (+3°C, 4 и 7 месяцев);

- впервые были определены паттерны экспрессии основных генов метаболизма крахмала и биосинтеза каротиноидов и антоцианов в клубнях и листьях картофеля при длительном (+3°C, 4 и 7 месяцев) и кратковременном (+3°C, 48ч) холодовом стрессе;

- впервые были охарактеризованы гены  $\alpha$ -амилаз и ингибиторов амилаз, генов фитоинсинтаз и генов биосинтеза антоцианов у видов и сортов картофеля.

**Теоретическая и практическая значимость** работы заключается в том, что в исследовании была проанализирована динамика содержания углеводов, каротиноидов и антоцианов в клубнях и листьях картофеля при воздействии длительного и кратковременного холодового стресса. Определены особенности транскрипции генов углеводного обмена и биосинтеза вторичных метаболитов при стрессовом воздействии, проведена их структурно-функциональная характеристика у видов и сортов картофеля. Результаты работы уточняют молекулярные механизмы адаптации картофеля к холодовому стрессу и позволяют выявить гены-кандидаты для создания молекулярных маркеров, определяющих устойчивость картофеля к холодовому осахариванию. Выявленные аллельные варианты (комбинация SNP) гена *StAI* могут быть использованы для молекулярной паспортизации сортов картофеля.

**Методология и методы исследования.** Методология исследования базируется на синтезе традиционных и современных методик биологических исследований, дополненных актуальными научными разработками, используемыми в современной науке.

**Положения, выносимые за защиту.**

- при длительном холодовом воздействии наиболее существенные изменения транскрипционной активности генов в клубнях картофеля происходят в период первых 3,5 месяцев;
- гены унипортеров SWEET (*SWEET10*, *12* и *15*), глюкан эндо-1,3- $\beta$ -глюкозидаз 8 и 13,  $\alpha$ -галактозидазы 3 (*AGAL3*), галактуронозил трансферазы 8 (*GAUT8*), фруктозо-1,6-бифосфатазы (*FBPase*), фосфоглюканфосфатазы (*DSP4*) участвуют в ответе на холодовой стресс в клубнях картофеля;

- последовательности гена ингибитора амилаз *AI* у образцов дикорастущих видов и сортов картофеля высоко вариабельны;
- транскрипция всех трех генов фитоинсинтаз *StPSY* активируется в листьях картофеля в ответ на кратковременный холодовой стресс;
- уровень транскриптов 16 генов биосинтеза каротиноидов в клубнях сортов картофеля в динамике длительного холодowego стресса резко снижается в период первых 3,5 месяцев стресса, что коррелирует с изменением содержания каротиноидов.

**Апробация результатов работы.** Результаты работы представлены на V и VI Вавиловской международной конференции (Санкт-Петербург, 2022, 2024), 26- и 28-ой Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология-наука XXI века» (Пущино, 2023, 2025), VII и VIII международных научных конференциях PlantGen (Казань, 2023, Новосибирск, 2025), VIII съезде ВОГиС (Саратов, 2024), научно-практической конференции «ГЕНЕТИКА 2025» (Москва, 2025).

**Публикации результатов исследований.** Результаты работы опубликованы в 7 научных статьях в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus и рекомендованных ВАК РФ.

**Личный вклад автора.** Результаты получены соискателем лично или при его непосредственном участии. Соискателем самостоятельно были проанализированы литературные данные по тематике проводимого исследования, проведены лабораторные исследования и обработка полученных результатов. Совместно с к.б.н. Дьяченко Е.А. проведены работы по секвенированию генов *AI* у видов картофеля. Под руководством научного руководителя осуществлялась постановка целей и задач, планирование эксперимента; обсуждение результатов осуществлялось совместно с руководителем и к.х.н. Щенниковой А.В.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 156 страницах, включая 4 таблицы и 44 рисунка. Состоит из введения, основной части, заключения, приложений, списка литературы (включает 310 источников).

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Глава 1. Обзор литературы**

В главе проведен анализ научной литературы, посвященной структуре и свойствам картофельного крахмала, метаболизму крахмала в запасующих органах растений и генам его контролирующим. Подробно описаны холодовой стресс и холодовое осахаривание клубней картофеля, молекулярно-генетические факторы, приводящие к гидролизу крахмала и накоплению редуцирующих сахаров. Детально охарактеризованы ключевые гены метаболизма крахмала.

## Глава 2. Материалы и методы

В работе использована коллекция из 56 образцов картофеля, включающая образцы дикорастущих видов, а также сорта *S. tuberosum*. Для приготовления библиотек мРНК использовали набор реагентов NEBNext mRNA Library Prep для Illumina. Полученные транскрипты картировали на геном *S. tuberosum* (SolTub\_3.0; GCF\_000226075.1). Дифференциальную экспрессию генов анализировали с помощью программы DESeq2 v.1.38.3. Анализы обогащения GO и KEGG проводили с помощью ShinyGO 0.82. Содержание углеводов в клубнях и листьях определяли наборами Enzytec™ Liquid Starch и Enzytec™ Liquid D-Glucose/D-Fructose (R-Biopharm AG, Германия) согласно методике производителя. Содержание общих каротиноидов и антоцианов определяли стандартными спектрофотометрическими методами (Solovchenko et al., 2001). Геномную ДНК выделяли согласно Puchooa et al., 2004. Продукты ПЦР были клонированы в векторы pDrive Cloning Vector и pGEM-T. Экспрессионный анализ выполняли методом ПЦР-РВ. Тотальную РНК выделяли набором RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Германия); кДНК синтезировали с помощью набора GoScript Reverse Transcription System (Promega, США) согласно методике производителя. Результаты ПЦР-РВ визуализированы и статистически обработаны в программе GraphPad Prism v.8.02. Выравнивание последовательностей, структурный и филогенетический анализ генов и белков проводили в программе MEGA 7.0. Влияние замещений аминокислотных остатков и вторичные/третичные структуры белка предсказаны в программах PROVEAN и Phyte2. Консервативные домены, сайты и мотивы анализировали в NCBI-CDD, UniProt и программе MEME 7.0.26. Для поиска регуляторных элементов использовали базы данных PlantCARE и PLACE.

## Глава 3. Результаты и обсуждение

### 1. Анализ транскриптомных изменений в клубнях картофеля при длительном воздействии холодового стресса.

Для характеристики изменений, происходящих в клубнях картофеля при длительном холодовом воздействии, имитирующем хранение в картофелехранилище (+3°C, 6,5 месяцев), проведен транскрипционный анализ клубней сорта Леди Клэр. Для характеристики изменений экспрессии генов были получены библиотеки и проведено секвенирование транскриптомов (MyGene Co. (Москва, Россия), платформа Illumina HiSeq 2500) шести полученных библиотек (два биологических повтора) образцов, отобранных в трех временных точках: до помещения на +3°C (0 мес.), через 3,5 месяца (3,5 мес.) и 6,5 месяцев (6,5 мес.) холодового хранения.

Секвенирование шести библиотек дало 19 436 490 (0 мес.), 21 677 357 (3,5 мес.) и 17 269 387 (6,5 мес.) чистых прочтений, что составляет приблизительно 4 ГБ данных о последовательностях для каждой временной точки. Всего идентифицировано 23 425 (0 мес.), 22 601 (3,5 мес.) и 22 576 (6,5 мес.) генов, что суммарно охватывает 24 957 из 32 873 аннотированных генов картофеля. 20 962 гена транскрибировались на всех трех

стадиях. Среди них 26,6%, 27,6% и 4,8% всех дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ) показали более чем двукратное изменение на 3,5 против 0 мес. (2394/4242 повышенная/пониженная транскрипция), 6,5 мес. против 0 мес. (2684/4207) и 6,5 мес. против 3,5 мес. (722/470), соответственно (рис. 1). Обнаруженные изменения в экспрессии были количественно схожи для пар 3,5 мес. против 0 мес. и 6,5 мес. против 0 мес., но в то же время были выше, чем для пар 6,5 мес. против 3,5 мес., что может свидетельствовать о том, что наиболее существенные изменения транскрипционной активности происходят в клубнях в период первых 3,5 месяцев холодового хранения.

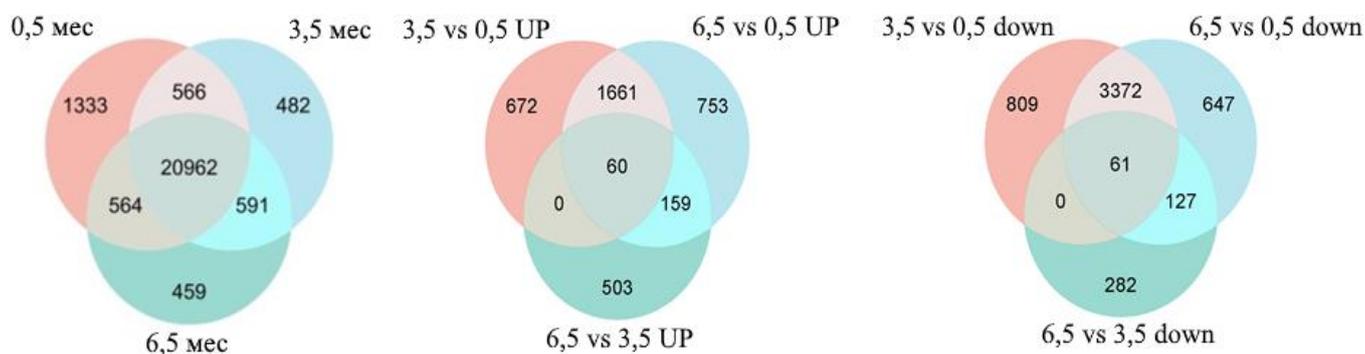


Рисунок 1 – Диаграммы Венна, отражающие количество общих и уникальных дифференциально экспрессируемых генов в клубнях Леди Клэр в трех анализируемых точках холодового стресса.

Наиболее распространенные процессы во время холодового хранения клубней (3,5/6,5 мес. против 0 мес.) были связаны с метаболизмом белков и углеводов. Также были обогащены категории, связанные с реакцией на стресс, включая «реакцию на холод». Данные по основным категориям ДЭГ были сходны с результатами ранее проведенного транскрипционного анализа клубней картофеля при кратковременном (до 1 месяца) холодовом стрессе, где также основной категорией ДЭГ были гены углеводного и белкового метаболизма (Lin et al., 2019; Cui et al., 2025).

Так как данная диссертационная работа была сфокусирована на изменениях активности генов углеводного, каротиноидного и антоцианового метаболизма в клубнях картофеля при длительном холодовом стрессе, то из полученного списка ДЭГ были выбраны гены данных метаболических путей, показавших максимальные изменения в процессе длительного хранения клубней при +3°C.

**Гены углеводного метаболизма.** Анализ транскриптомов клубней сорта Леди Клэр в процессе холодовой инкубации выявил 270 ДЭГ, связанных с углеводным метаболизмом, при этом для 37 ДЭГ было показано изменение экспрессии более чем в два раза. Через 3,5 месяца холодовой инкубации наблюдалась повышенная экспрессия *VAM7*, двух генов *GBSS-like*, ингибитора фруктозидазы 1 (LOC102586828), фруктокиназы (LOC102577816), а экспрессия *VAM1* и *VAM3* снижалась. Другие ДЭГ, связанные с гидролизом дисахаридов, были либо подавлены (*SPS4*, *CWINV1*, бета-галактозидазы 3 и 4), либо повышены (*SSI6*, щелочная/нейтральная инвертаза D, бета-

галактозидаза 16, альфа-галактозидаза 3). Помимо достаточно ожидаемых изменений в экспрессии генов амилаз, инвертаз, крахмал- и сахарозосинтаз и других известных генов углеводного обмена (Dharshini et al., 2016; Lin et al., 2019; Cui et al., 2025), для ряда генов *S. tuberosum*, таких как гены унипортеров семейства SWEET (*SWEET10*, *12*, *15*), глюкан эндо-1,3-β-глюкозидазы 8, 13, α-галактозидазы 3 (*AGAL3*), галактуронозилтрансферазы 8 (*GAUT8*), фосфоглюканфосфатазы (*DSP4*) фруктозо-1,6-бифосфатазы (*FBPase*) было впервые показано участие в ответе на холододовый стресс в клубнях, а для ряда генов (например, *SWEET12*, *15*) ранее их функция была неизвестна. При этом экспрессия этих генов изменялась в 3-7,5 раз (рис. 2).

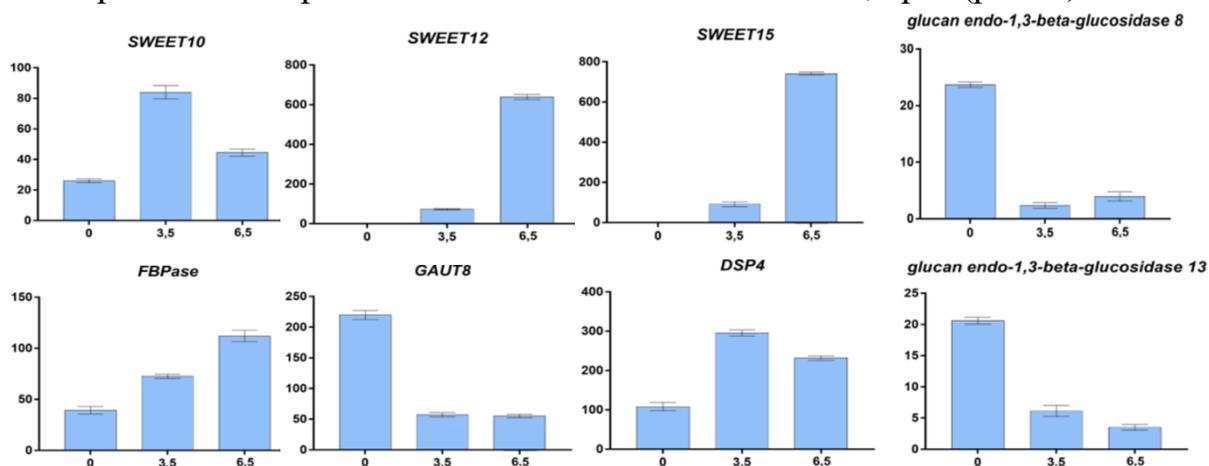


Рисунок 2 – Изменение экспрессии генов углеводного обмена в клубнях сорта Леди Клэр в ответ на длительный холододовый стресс. 0 мес. (20°C), 3,5 и 6,5 мес. при +3°C.

**Гены метаболизма каротиноидов.** Известно, что каротиноиды, как одни из основных антиоксидантов растений, участвуют в защите от стрессовых воздействий, в том числе и при холододовом стрессе (Uarotta et al., 2018, Wang et al., 2022). Анализ транскриптомов выявил 14 ДЭГ, связанных с синтезом каротиноидов. Для большинства этих генов было показано значительное уменьшение транскрипционной активности уже через 3,5 месяца хранения. Для ряда генов наблюдалось повышение транскрипции через 6,5 месяцев стресса, как, например, у гена *LCYB* (LOC102595971) с высокой экспрессией в сентябре, понижением транскрипции в 7,9 раз через 3,5 месяцев стресса и повышением в 2,8 раз в конце срока инкубации.

**Гены метаболизма флавоноидов.** Флавоноиды, включая антоцианы, также участвуют в антистрессорной защите растительных клеток. Анализ транскриптомов выявил 29 ДЭГ, связанных с синтезом флавоноидов. По профилю изменений экспрессии эти гены можно разделить на два кластера: первый включает 14 генов (в основном это гены ветвей синтеза флавонов и изофлавонов), для которых характерно резкое уменьшение уровней транскрипции уже через 3,5 месяца холододового стресса, сохраняющееся до 6,5 месяцев; второй включает 11 генов (в том числе гены ветви биосинтеза антоцианов), для которых показано увеличение экспрессии через 3,5 мес. и/или 6,5 мес. стресса.

## 2. Изменение содержания углеводов (крахмал, глюкоза, фруктоза) и динамики экспрессии генов углеводного обмена в клубнях сортов картофеля при длительном холододовом хранении.

Проведенный транскрипционный анализ позволил определить и ранжировать дифференциально экспрессирующиеся гены в клубнях картофеля сорта Леди Клэр в процессе длительного хранения клубней при +3°C. Однако представлялось важным определить, насколько выявленные закономерности являются общими для различных сортов картофеля. Для этого аналогичный эксперимент с длительным холододовым воздействием, имитирующим условия хранения в картофелехранилище (+3°C, 7 месяцев), проведен с использованием клубней пяти отечественных сортов картофеля (Барин, Красавчик, Утро, Северное сияние и Надежда), различающихся сроками созревания, содержанием в клубнях крахмала, каротиноидов и антоцианов.

Проведенный биохимический анализ динамики изменений анализируемых метаболитов в клубнях сортов картофеля показал уменьшение содержания крахмала и значительное увеличение количества глюкозы и фруктозы в феврале и апреле (4 месяца и 7 месяцев стресса) по отношению к дострессовому уровню в сентябре (рис. 3).

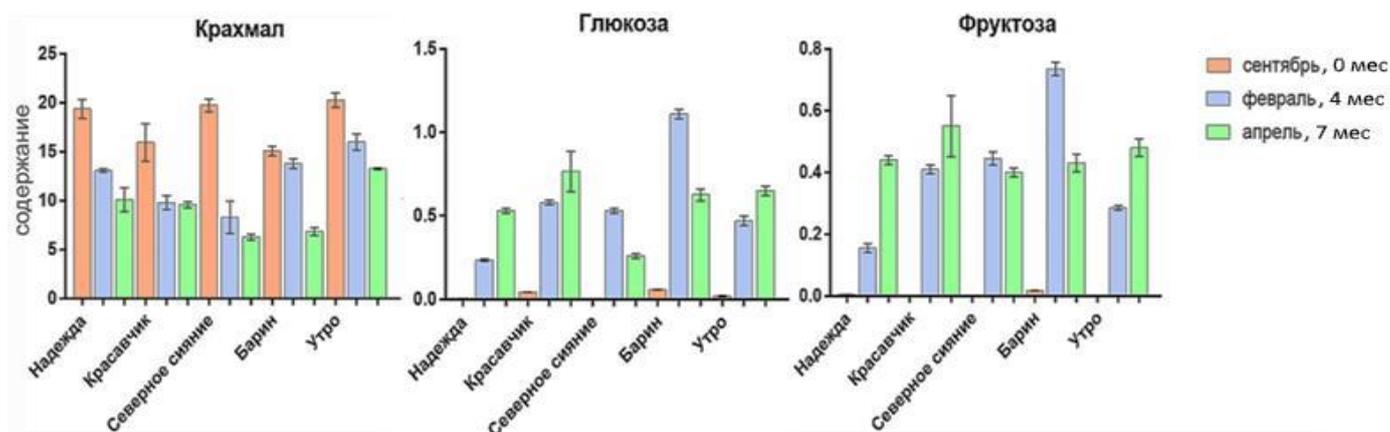


Рисунок 3 – Содержание крахмала и редуцирующих сахаров (мг/г свежей ткани) в клубнях картофеля пяти сортов в динамике длительного холододового хранения.

Содержание крахмала снижается в клубнях всех анализируемых сортов, но в разной степени. В то же время для всех образцов характерно повышение содержания редуцирующих сахаров с сентября по февраль, тогда как в апреле содержание не меняется в сравнении с февралем (сорт Красавчик), значительно снижается (сорта Северное сияние, Барин) или возрастает (сорта Надежда, Утро). Эти результаты подтвердили данные о том, что в клубнях картофеля к концу выхода из периода покоя происходит распад части крахмала с образованием глюкозы, необходимой для стимулирования роста побегов (Benkeblia et al., 2008; Hou et al., 2019; Tai et al., 2020).

Анализ транскрипции генов в клубнях пяти сортов картофеля показал сходство паттернов экспрессии для генов сахарозосинтазы *StSUS4*, гликан-водной дикиназы *StGWD*, амилаз *StAmy23*, *StBAM1*, *StBAM9* и ингибитора амилаз *StAI*. У всех сортов

наблюдались значительные изменения уровней экспрессии (повышение в случае *StSUS4*, *StGWD*, *StAmy23*, понижение в случае *StBAM1*, *StBAM9*, *StAI*) в клубнях после 7 месяцев холодого стресса (рис. 4). Паттерны экспрессии совпадали с данными анализа транскриптома сорта Леди Клэр.

В случае генов *StGBSS*, *StAGPaseS*, *PAIN-1* наблюдались сортоспецифичные паттерны, причем для некоторых сортов они были противоположны (например, сорта Барин и Надежда и гены *StGBSS* и *PAIN-1*) (рис. 4). Такая же специфичность ответа гена *PAIN-1* была показана ранее и для других сортов картофеля при 15- и 90-дневной инкубации при +3°C (Егорова и др., 2023). Различия в паттернах экспрессии в условиях холодого стресса в клубнях различных сортов картофеля были выявлены при анализе ряда других генов углеводного обмена (Oufir et al., 2008). Из этого следует, что выявленные различия паттерна экспрессии данных генов могут свидетельствовать о генотип-зависимой регуляции ответа на холодого стресс.

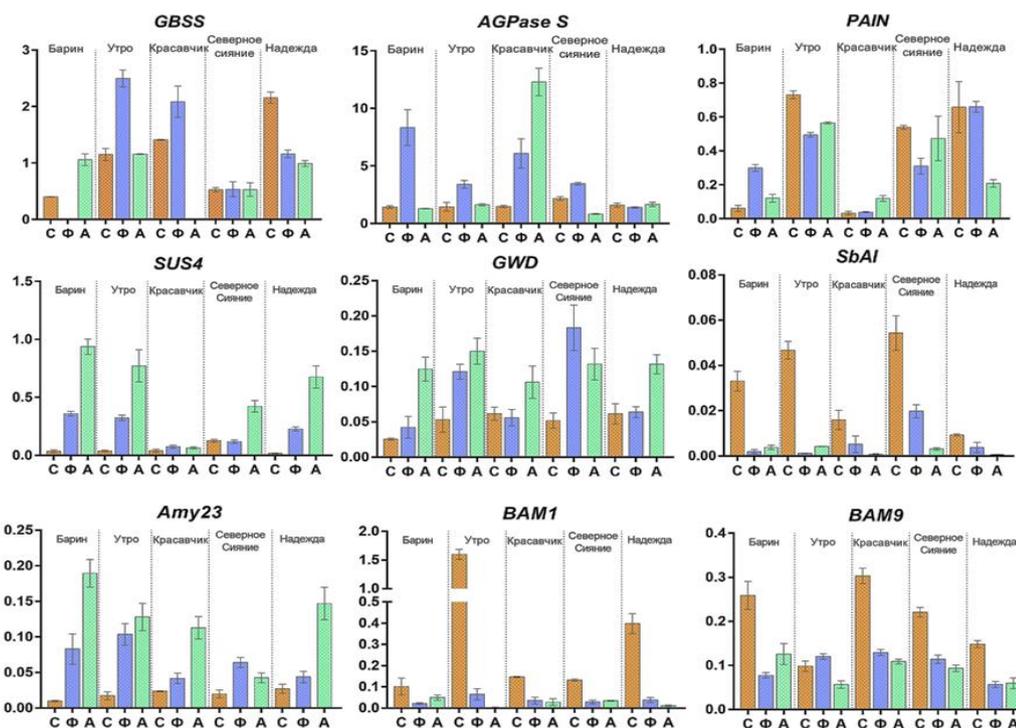


Рисунок 4 – Изменение экспрессии генов углеводного обмена пяти сортов картофеля в ответ на длительный холодого стресс (+3°C). С – сентябрь (20°C), Ф - февраль, 4 месяца стресса, А - апрель, 7 месяцев стресса (в качестве референсов использовались гены *Stsec3* и *Stef1*).

Был проведен поиск корреляций между уровнем экспрессии анализируемых генов и содержанием крахмала и редуцирующих сахаров. Проведенный анализ показал наличие достоверных корреляций для генов *StGWD*, *StAmy23*, *StBAM1*, *StBAM9*, *StAI*. Так, для генов *StAmy23* и *StAI* была показана корреляция со всеми тремя углеводами (крахмалом, глюкозой, фруктозой). При этом для гена  $\alpha$ -амилазы *StAmy23*, достаточно логично, наблюдалась отрицательная корреляция ( $p=0,0016$ ,  $r=-0,55$ ) с содержанием крахмала, а с моносахаридами – положительная ( $p<0,0001$ ,  $r=0,677$ ). При этом для гена ингибитора амилаз *StAI* наблюдалась обратная картина: отрицательная

корреляция с содержанием глюкозы и фруктозы, положительная с содержанием крахмала. Для генов *StGWD* и *StAmy23*, вовлеченных в деградацию крахмальных гранул, выявлена отрицательная корреляция с содержанием крахмала ( $p=0,0003$ ,  $r=-0,61$ ) и положительная – с содержанием фруктозы ( $p=0,005$ ,  $r=0,5$ ).

Таким образом, в условиях длительной холодной инкубации в клубнях пяти сортов картофеля, различающихся содержанием крахмала в клубнях, были определены паттерны экспрессии девяти генов углеводного обмена: *StGBSS*, *StSUS4*, *StAGPase*, *PAIN-1*, *StGWD*, *StAmy23*, *StBAM1*, *StBAM9*, *StAI*, связанные с метаболизмом крахмала и для которых ранее была показана связь с холодовым стрессом и/или устойчивостью к CIS. Для пяти генов, *StGWD*, *StAmy23*, *StBAM1*, *StBAM9*, *StAI*, показана значимая корреляция (положительная или отрицательная) с изменением содержания крахмала и моносахаридов.

### **3. Структурно-функциональная характеристика гена ингибитора амилаз видов картофеля секции *Petota*.**

Известно, что активность амилаз может контролироваться специфическими белками – ингибиторами амилаз (AI). Ранее была описана только последовательность кДНК гена ингибитора амилазы *SbAI* у клубнеобразующего вида *S. berthaultii* и показана важность *SbAI* в регуляции деградации крахмала в клубнях картофеля при CIS (Zhang et al., 2014; Слугина и др., 2020).

Нами была проведена идентификация и характеристика полногеномных последовательностей генов гомологов *AI* и их белковых последовательностей у образцов 12 клубнеобразующих дикорастущих и культивируемых видов картофеля, относящихся к различным сериям секции *Petota* (Hawkes, 1990; Hardigan et al., 2015). С использованием разработанных нами праймеров последовательности гомологов *AI* были амплифицированы, полученные фрагменты длиной 1700-1900 п.н., клонированы в вектор pGEM-T и секвенированы (3-5 клонов для каждого образца) (рис. 5). В результате впервые были получены последовательности гена *AI* у 12 видов картофеля, которые были депонированы в генбанк NCBI (MT074624-MT074659).

Последовательности гомологичных генов *AI* различались по длине: 1763 п. н. у *S. tuberosum ssp. andigena*, 2040 п.н. у *S. bulbocastanum*. При этом все гомологи *AI* имели 4 экзона (рис. 5). Анализ варибельности исследованных *AI* генов видов картофеля позволил выявить 449 SNPs (20,5% от всей последовательности), из которых 106 SNPs (16,2%) – в экзонах. Также в экзонах выявлены индели, в том числе и протяженные (9 и 24 п.н.) (рис. 5). Наиболее интересным и достаточно неожиданным оказался выявленный у анализируемых видов картофеля высокий уровень аллельного полиморфизма: было выявлено 42 аллельных варианта гена *AI*.

Кодирующие последовательности *AI* генов были транслированы, охарактеризованы их функциональные домены и третичные структуры белка. Аминокислотные последовательности отличались по длине (от 202 а.о. у *S. demissum*



*S. lycopersicum* имели в 2-10 раз больше аминокислотных замещений, чем *S. tuberosum*, но при этом все они носили нейтральный характер.

Анализ белковых последовательностей AI показал наличие двух консервативных доменов: LTP\_2 LTP\_2 ‘Tryp\_alpha\_amyI’ (в положении 16–102 а.о.) и super family PRK14971 (в положении 77–196 а.о.), характерных для всех ингибиторов амилаз растений (Marchler-Bauer et al., 2011; Zhang et al., 2014). У анализируемых видов секции *Rotata* отсутствовал мотив 7 (A<sub>133</sub>PTPSPSP<sub>140</sub>), присутствующий у видов секции *Stellata* и видов томата (рис. 5B). Впервые были смоделированы третичные структуры белка AI. Показано, что мотив 7 приходится на неструктурированную часть белка и его отсутствие потенциально не сказывается на структуре белка.

Таким образом, впервые проведенная для 12 видов картофеля характеристика доменов и мотивов AI-белков и их третичной структуры показала, что у клубнеобразующих и неклубнеобразующих видов картофеля домены и мотивы сохраняются, что указывает на то, что у всех анализируемых видов AI представляет собой функционально правильный белок; присутствие или отсутствие мотива 7 значительно не влияет на его функциональность. Состав и расположение мотивов в клубнеобразующих видах картофеля были аналогичны тем, что наблюдаются у неклубнеобразующего вида *S. etuberosum* и у видов томата. Такой консерватизм может указывать на важность данного белка для углеводного обмена растений.

**Характеристика вариабельности генных и белковых последовательностей и определение аллельных вариантов StAI у 36 сортов картофеля.** Впервые была определена полная последовательность гена *StAI* (амплифицирована, клонирована, секвенирована) у 36 сортов *S. tuberosum* отечественной селекции. Нуклеотидная последовательность *StAI* у сортов различалась по длине (1781-1872 п.н.) в основном за счет последовательностей интронов. Длина экзонов составила 621 п.н. и 630 п.н.; разница была обусловлена наличием у 17 сортов делеции GGTGCAWTT. Анализ полученных последовательностей *StAI* позволил выявить 530 SNPs (27,1%), из которых 134 SNPs (21,3%) были в экзонах. Для каждого сорта были секвенированы и проанализированы по пять клонов, что позволило выявить возможные аллельные варианты для каждого сорта. Всего для 36 сортов выявлено 70 аллельных вариантов гена; 26 сортов оказались гетерозиготными (рис. 6).

Полиморфизм аминокислотных последовательностей *StAI* был также крайне высок (33%). Из выявленных 69 аминокислотных замещений 11 были предсказаны как радикальные и могут приводить к изменению конформации белка. Длина белка *StAI* была 206 а.о. и 209 а.о., что обусловлено присутствием вставки GAI/F202 на С-конце.

Уровень вариабельности *StAI* был крайне высоким в целом для генов растений и для генов углеводного обмена в частности (Draffehn et al., 2010; Uitdewilligen et al., 2022).

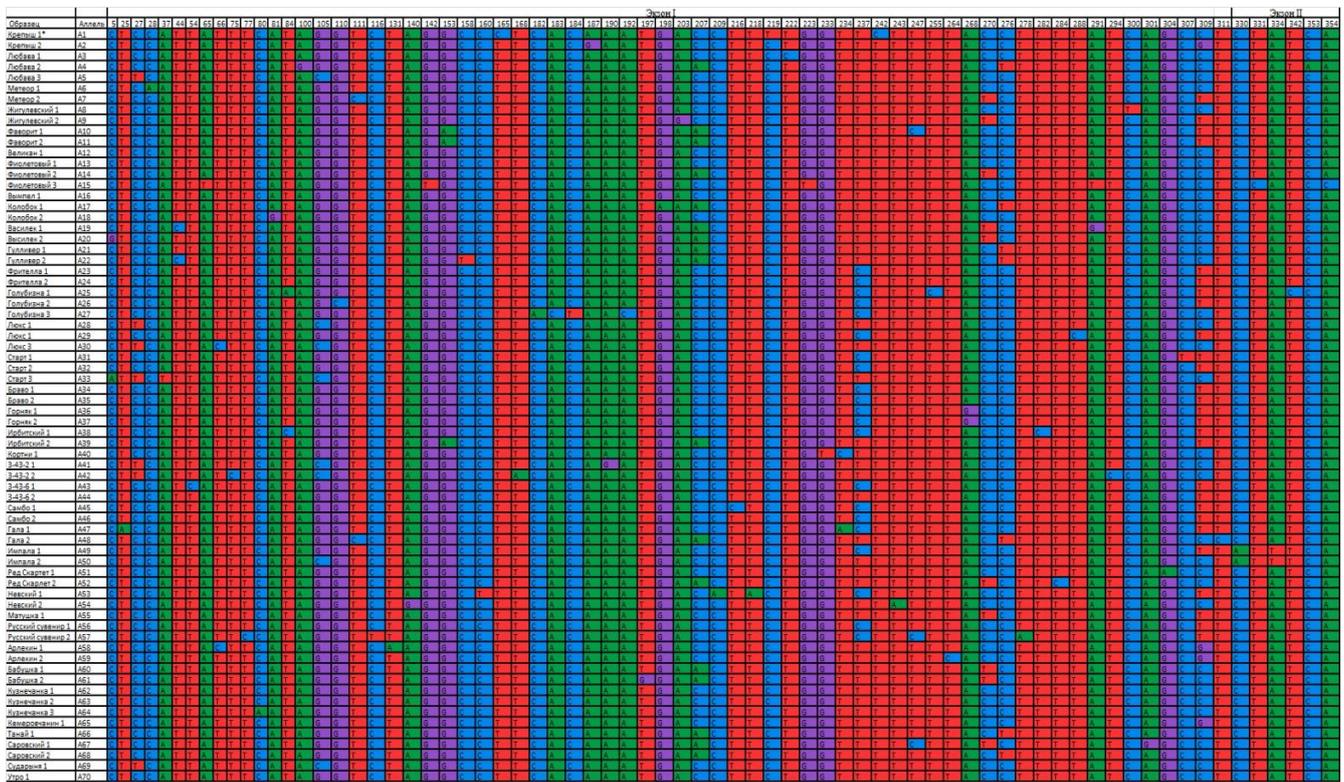


Рисунок 6 – Аллельные варианты гена *StAl* у сортов картофеля (приведен фрагмент).

#### 4. Определение содержания углеводов и анализ экспрессии гена $\alpha$ -амилазы *StAmy23* в органах и тканях растений сортов картофеля.

Ранее экспрессия гена *StAmy23* была определена только в листьях и клубнях сорта Solara (Zhang et al., 2014) и считалось, что ген экспрессируется преимущественно в клубнях и при прорастании клубней его транскрипция падает (Zhang et al., 2014; Hou et al., 2017). Для определения уровней транскрипции *StAmy23* в других органах растений картофеля (листья, стебли, плоды, столоны, корни и клубни (мякоть и кожура)) выбраны образцы трех сортов – Сатурна, Гала и Барин. Было определено содержание углеводов (крахмал, сахароза, глюкоза, фруктоза) в клубнях анализируемых сортов. В клубнях сортов Гала и Сатурна содержание крахмала было сходным (11,2%), и почти вдвое выше, чем в клубнях сорта Барин (6,3%). Анализ содержания моносахаридов показал, что в клубнях сорта Гала было в 4,5 и в 24,5 раза меньше глюкозы и фруктозы, чем в клубнях сортов Барин и Сатурна, соответственно.

Результаты ПЦР-РВ с разработанными экспрессионными праймерами показали достаточно высокий уровень экспрессии гена *StAmy23* во всех шести анализируемых органах и тканях трех сортов картофеля, за исключением кожуры клубня сорта Сатурна, где были детектированы лишь следовые количества мРНК гена (рис. 7).

Таким образом, показано, что *StAmy23* транскрибируется во всех анализируемых органах и не характеризуется преимущественной экспрессией в клубнях, как предполагалось ранее (Zhang et al., 2014; Hou et al., 2019). Высокий уровень транскриптов *StAmy23* в фотосинтезирующих тканях свидетельствует об участии фермента в регуляции метаболизма крахмала не только в клубнях, но также и в других

органах для поддержания процессов роста растения, а также в формировании ответа на абиотические стрессы. При этом как в вегетативных органах, так и в плодах, экспрессия *StAmy23* могла быть выше (в целом в 1,5-2,7 раза), чем в клубнях.

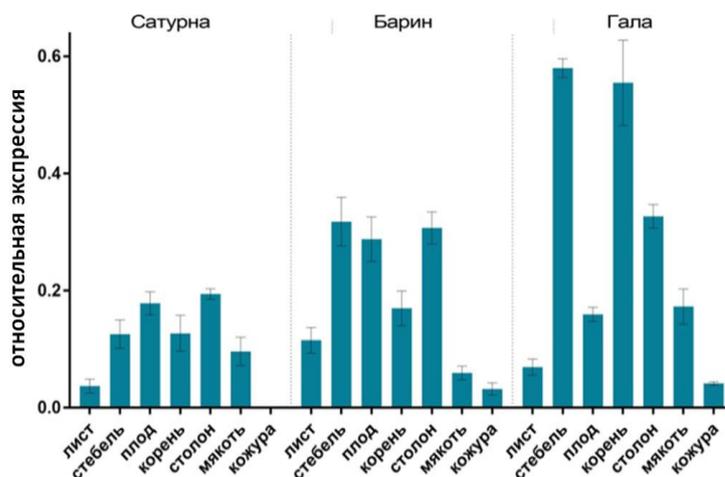


Рисунок 7 – Экспрессия *StAmy23* в органах и тканях растений трех сортов картофеля.

Поиск возможной взаимосвязи между уровнем экспрессии гена *StAmy23* и биохимическими показателями позволил выявить положительную корреляцию между уровнем транскрипции *StAmy23* и содержанием крахмала, но не содержанием редуцирующих сахаров, что может говорить о том, что активность  $\alpha$ -амилазы *StAmy23* может дополняться активностью  $\beta$ -амилаз и другими ферментами метаболизма крахмала, прежде всего, ингибиторами амилаз и различными инвертазами.

## 5. Изменение синтеза вторичных метаболитов и экспрессии кодирующих их генов у картофеля в условиях холодого стресса.

Считается, что синтез и накопление таких вторичных метаболитов как каротиноиды и антоцианы за счет их антиоксидантных свойств придает растениям устойчивость при холодогом стрессе (Hwang et al., 2017; Šamec et al., 2022; Li et al., 2023; Vulgakov et al., 2024). Для *S. tuberosum* исследования холодого стресса в контексте с изменениями содержания вторичных метаболитов крайне ограничены. Представлялось интересным изучить изменение содержания антоцианов и каротиноидов и реакции генов их кодирующих при действии кратковременного и долговременного холодого стресса в листьях и клубнях сортов *S. tuberosum*.

***Вариабельность генов биосинтеза каротиноидов и их экспрессия в листьях и клубнях сортов картофеля при кратковременном и долговременном холодогом стрессе.***

*Идентификация и характеристика генов и белковых последовательностей фитоинсинтазы S. tuberosum.* Фитоинсинтаза PSY, катализирующая первую стадию биосинтеза каротиноидов, считается ключевым ферментом каротиногенеза (Shumskaya et al., 2012; Stra et al., 2023). В результате *in silico* анализа генома картофеля (GCF\_000226075.1) были извлечены последовательности генов

фитоинсинтаз *StPSY1* (ID:102593756), *StPSY2* (ID:102589336) и *StPSY3* (ID:102603193). Выравнивание последовательностей подтвердило более высокую степень гомологии *StPSY1* и *StPSY2*, тогда как последовательность *StPSY3* отличалась от них значительно. Размеры генов составили 2794 п.н. для *StPSY1*, 2734 п.н. – *StPSY2*, 3440 п.н. – *StPSY3*; основные различия связаны с вариабельностью интронов. Все три гена включали шесть кодирующих экзонов, а также нетранслируемый экзон в 5'-UTR, что соответствовало структуре *PSY* генов у других видов растений (Li et al., 2008; Efremov et al., 2020; Lisboa et al., 2022). В промоторных и 5'-UTR областях обнаружено 30 (*StPSY1*), 40 (*StPSY2*) и 5 (*StPSY3*) *cis*-регуляторных сайтов, связанных с чувствительностью к свету, гормонам и со стрессовым ответом.

Сравнение белковых последовательностей выявило 79% сходства *StPSY1* и *StPSY2*, в то время как уровень сходства *StPSY1/StPSY2* с *StPSY3* не превышал 65%. Основные различия белков *StPSY1* и *StPSY2* связаны с присутствием на С-конце *StPSY2* мотивов FPSP и RQEWNFGFLNADLRYSL (рис. 8).

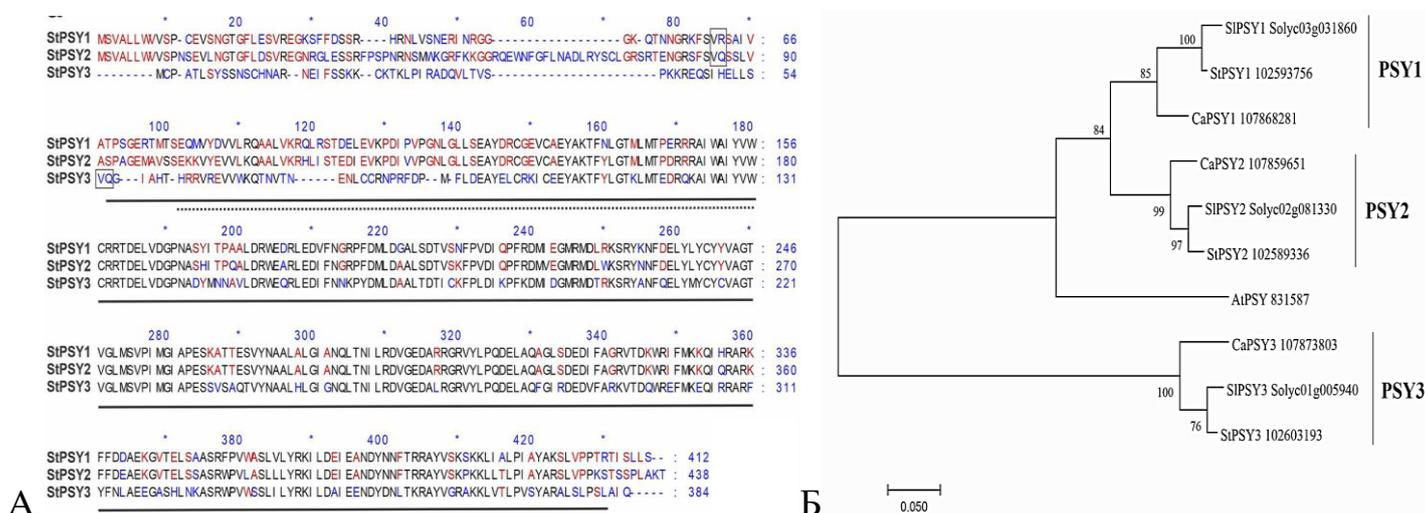


Рисунок 8 – (А) – полные аминокислотные последовательности *StPSY* (подчеркнут фитоинсинтазный домен, в рамке выделен сайт отщепления транзитного пептида); Б – дендрограмма белковых последовательностей фитоинсинтаз растений.

Анализ последовательностей фитоинсинтаз картофеля *StPSY* подтверждает данные о филогенетическом сходстве и эволюционной молодости *PSY1* и *PSY2* в сравнении с *PSY3* и возможном возникновении *PSY1* и *PSY2* в результате дупликации гена-предшественника с возможной последующей функциональной диверсификацией (Giorio et al., 2008; Li et al., 2008; Efremov et al., 2020; Lisboa et al., 2022).

**Характеристика вариабельности генов *StPSY* у сортов картофеля.** Анализ полиморфизма кодирующих последовательностей пяти сортов картофеля (Барин, Утро, Красавчик, Северное сияние и Надежда) выявил крайне низкую вариабельность нуклеотидных и аминокислотных последовательностей всех трех генов *StPSY* (рис. 9).

Сорт	AA	AT	TT	CT	CT	TAC	GG	TC	TC	CT	AT	TT	CT	GG	CT	ACT	CC	AT	CT	GG	GA	AC	GG	AC	CG	AT	GAC	AT	CG	GA	AC	CG	AT	GG	T
Barin	AA	AT	TT	CT	CT	TAC	GG	TC	TC	CT	AT	TT	CT	GG	CT	ACT	CC	AT	CT	GG	GA	AC	GG	AC	CG	AT	GAC	AT	CG	GA	AC	CG	AT	GG	T
Krasavchik	AA	AT	TT	CT	CT	TAC	GG	TC	TC	CT	AT	TT	CT	GG	CT	ACT	CC	AT	CT	GG	GA	AC	GG	AC	CG	AT	GAC	AT	CG	GA	AC	CG	AT	GG	T
Utro	AA	AT	TT	CT	CT	TAC	GG	TC	TC	CT	AT	TT	CT	GG	CT	ACT	CC	AT	CT	GG	GA	AC	GG	AC	CG	AT	GAC	AT	CG	GA	AC	CG	AT	GG	T
Nadezhda	AA	AT	TT	CT	CT	TAC	GG	TC	TC	CT	AT	TT	CT	GG	CT	ACT	CC	AT	CT	GG	GA	AC	GG	AC	CG	AT	GAC	AT	CG	GA	AC	CG	AT	GG	T
Severnoe siyanie	AA	AT	TT	CT	CT	TAC	GG	TC	TC	CT	AT	TT	CT	GG	CT	ACT	CC	AT	CT	GG	GA	AC	GG	AC	CG	AT	GAC	AT	CG	GA	AC	CG	AT	GG	T

Сорт	S	A	I	V	A	T	P	S	G	E	R	T	M	T	S	E	Q	M	V	Y	D	V	V	L	R	Q	A	A	L	V	K	R	Q	L	R	S	T	D	E	L	E	V	K	P	D	I	P	V	P	G	N	L	G	L	L	S	E	A	Y	D
Barin	S	A	I	V	A	T	P	S	G	E	R	T	M	T	S	E	Q	M	V	Y	D	V	V	L	R	Q	A	A	L	V	K	R	Q	L	R	S	T	D	E	L	E	V	K	P	D	I	P	V	P	G	N	L	G	L	L	S	E	A	Y	D
Krasavchik	S	A	I	V	A	T	P	S	G	E	R	T	M	T	S	E	Q	M	V	Y	D	V	V	L	R	Q	A	A	L	V	K	R	Q	L	R	S	T	D	E	L	E	V	K	P	D	I	P	V	P	G	N	L	G	L	L	S	E	A	Y	D
Utro	S	A	I	V	A	T	P	S	G	E	R	T	M	T	S	E	Q	M	V	Y	D	V	V	L	R	Q	A	A	L	V	K	R	Q	L	R	S	T	D	E	L	E	V	K	P	D	I	P	V	P	G	N	L	G	L	L	S	E	A	Y	D
Nadezhda	S	A	I	V	A	T	P	S	G	E	R	T	M	T	S	E	Q	M	V	Y	D	V	V	L	R	Q	A	A	L	V	K	R	Q	L	R	S	T	D	E	L	E	V	K	P	D	I	P	V	P	G	N	L	G	L	L	S	E	A	Y	D
Severnoe siyanie	S	A	I	V	A	T	P	S	G	E	R	T	M	T	S	E	Q	M	V	Y	D	V	V	L	R	Q	A	A	L	V	K	R	Q	L	R	S	T	D	E	L	E	V	K	P	D	I	P	V	P	G	N	L	G	L	L	S	E	A	Y	D

Рисунок 9 – Полиморфизм последовательностей *StPSY1* (А) и кодируемых белков (Б) у пяти сортов картофеля.

При анализе последовательностей выявлено отсутствие инделей и наличие только 9 SNPs, из которых 6 найдено в экзоне I. Только для сортов Красавчик и Надежда были выявлены специфичные аллельные варианты. Выявленные SNP не приводили к аминокислотным заменам, что говорит о консервативности *StPSY* у сортов картофеля.

Определение паттернов экспрессии генов фитоинсинтазы и содержания каротиноидов в листьях *S. tuberosum* при кратковременном холодовом стрессе (+3°C). Для модулирования кратковременного холодового стресса, имитирующего весеннее возвратное похолодание, растения сорта Леди Клэр выращивались в теплице при 21°C и затем создавали условия кратковременного холодового стресса в климатической камере (Sanyo, Япония) при +3°C (день/ночь 16ч/8ч). Листовые пробы отбирались в нескольких точках: 'к0' (контроль при 21°C), '6h', '24h', '48h' (стресс в динамике) и '12R' (восстановление после стресса, 21°C).

Проведенный биохимический анализ показал, что кратковременный холодовой стресс в целом приводит к незначительному повышению содержания каротиноидов в листьях картофеля в течение первых суток стресса (рис. 10).

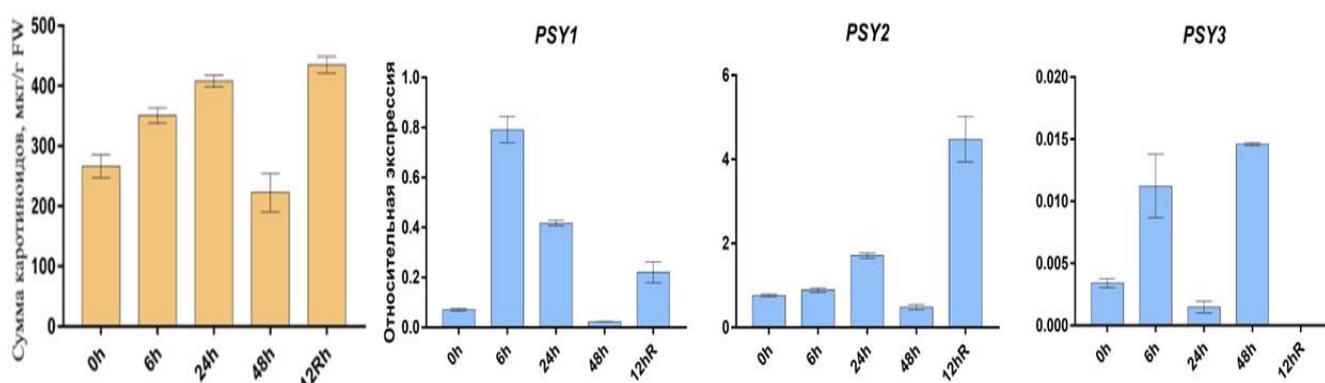


Рисунок 10 – Изменение содержания суммы каротиноидов и экспрессии генов *StPSY* в листьях в ответ на кратковременный холодовой стресс (+3°C).

Исходя из полученного паттерна экспрессии можно утверждать, что в ответ на кратковременный холодовой стресс в листьях картофеля активируется экспрессия всех трех генов фитоинсинтаз, но в разной степени: *StPSY1* – в значительно большей, чем

*StPSY2* и *StPSY3*. При этом разница в уровнях экспрессии в листьях картофеля между генами *StPSY2*, *StPSY1* и *StPSY3* на всем протяжении воздействия стресса составляет один и два порядка, соответственно (рис. 10), что соотносится с основополагающей функцией *PSY2* в биосинтезе каротиноидов в листьях (Welsch et al., 2008; Li et al., 2008). При этом ген *StPSY1* отвечает за «быстрый» ответ на действие стрессового фактора (6 ч), а *StPSY2* – за более «поздний» ответ при продолжающемся воздействии стресса (24 ч) (рис. 10). В результате, такое совместное изменение уровней транскрипции может привести к активному синтезу фитоина – предшественника всех каротиноидов, и, как следствие, защите клеток от стрессового воздействия. Выявленный впервые паттерн экспрессии *StPSY3* не повторял профили транскрипции двух других генов *PSY* и достаточно сильно изменялся при стрессе.

*Определение паттернов экспрессии 16 генов биосинтеза каротиноидов и содержания каротиноидов в клубнях пяти сортов при долговременном холодовом стрессе (+3°C, 7 месяцев).* В тех же пяти сортах картофеля, в клубнях которых определяли содержание углеводов и профили экспрессии генов углеводного метаболизма в ответ на длительный холодовой стресс, было определено содержание общих каротиноидов и экспрессия 16 генов, охватывающих весь путь каротиногенеза (рис. 11).

В отличие от различий в исходных экспрессионных уровнях, профили транскрипции всех анализируемых генов биосинтеза каротиноидов по мере хранения клубней демонстрировали значительное снижение уровней транскриптов в феврале (4 месяца стресса) в сравнении с дострессовым уровнем в сентябре, за некоторыми исключениями, которые включали незначительный рост экспрессионной активности в клубнях сорта Барин генов *StLCYE* и *StNCED1* и неизменным уровнем транскриптов генов *StCRTISO*, *StLCYB1* и *StNCED1* у сорта Северное сияние (рис. 11). В период с февраля по апрель экспрессия анализируемых генов каротиногенеза практически не менялась.

Достоверная корреляция между уровнем экспрессии гена и содержанием общих каротиноидов выявлена только в случае гена *StPDS* ( $p=0,047$ ,  $r=0,52$ ), который контролирует первые стадии модификации 15-*цис*-фитоина – предшественника всех нижестоящих каротиноидов (Rosas-Saavedra, Stange, 2006).

Таким образом, мы наблюдали, за некоторым исключением, общую для всех сортов тенденцию к снижению активности анализируемых генов каротиногенеза в период первых четырех месяцев низкотемпературного хранения (сбор урожая в сентябре – февраль), что отражает переход клубней в фазу физиологического покоя. Динамика общего содержания этих пигментов при длительном холодовом воздействии, по-видимому, зависит от генетических особенностей сорта, что подчеркивает роль генотипа в устойчивости метаболизма к внешним условиям.

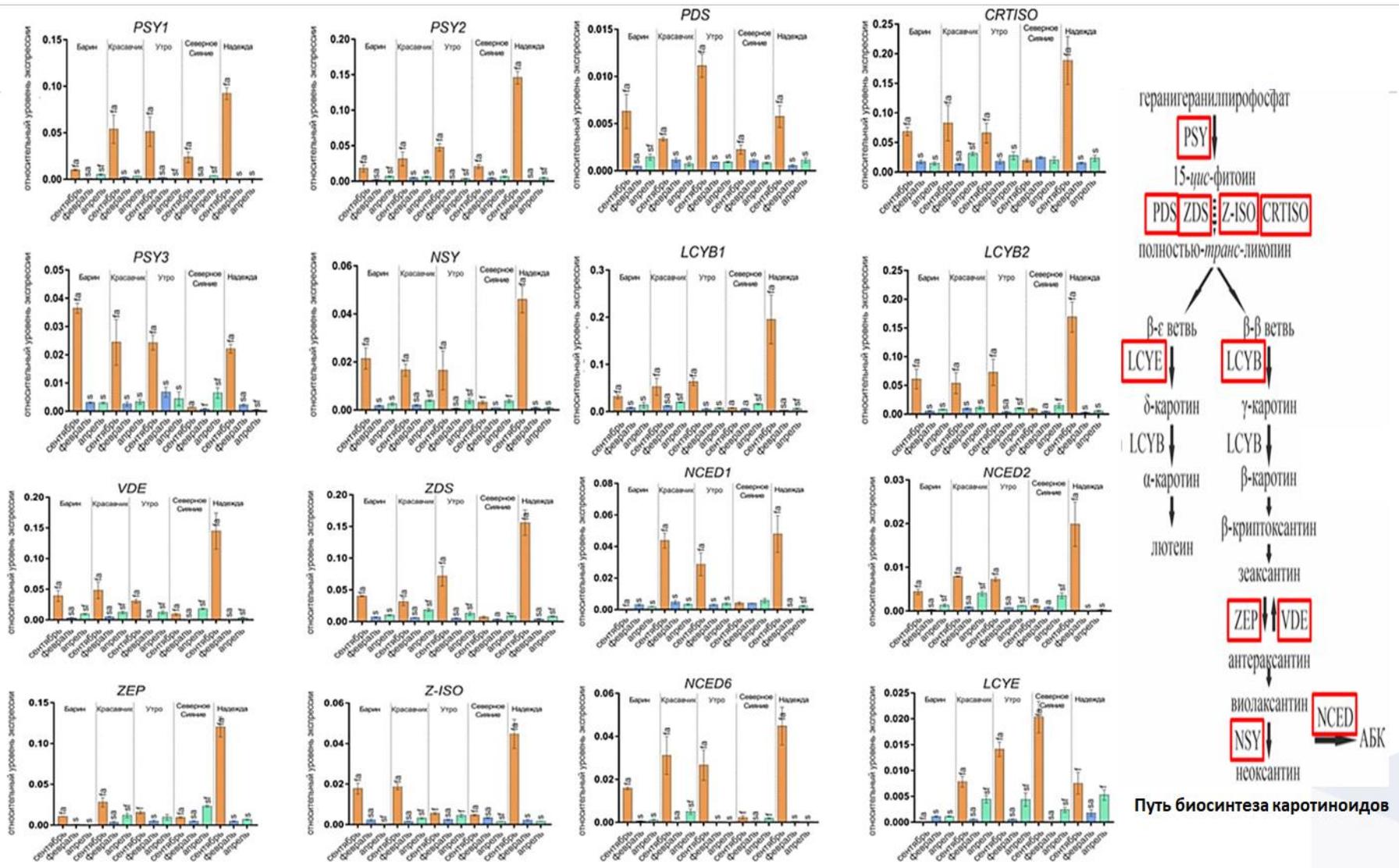


Рисунок 11 – Профили экспрессии 16 генов каротиногенеза в клубнях сортов Барин, Красавчик, Утро, Северное сияние и Надежда в динамике низкотемпературного хранения (сентябрь, февраль, апрель). Буквами s, f и a обозначено достоверное отличие ( $p < 0,05$ ) конкретного значения экспрессии гена от значений для двух других месяцев у каждого образца (s – сентябрь, f – февраль, a – апрель).

**Определение паттернов экспрессии генов биосинтеза антоцианов в листьях и клубнях *S. tuberosum* при кратковременном и долговременном холодовом стрессе.** Известно, что, как и все флавоноиды, антоцианы принимают активное участие в защите растения от воздействия различных температурных факторов (Fukumoto, Mazza, 2000; Bulgakov et al., 2024). Низкая температура стимулирует биосинтез антоцианов в листьях и экспрессию генов, регулирующих синтез антоциановых пигментов (Zhang et al., 2019).

**Определение содержания антоцианов и паттернов экспрессии генов их биосинтеза в клубнях сорта Северное сияние при долговременном холодовом стрессе (+3°C, 7 месяцев).** Были впервые определены изменения транскрипции двух генов биосинтеза антоцианов – «раннего» *StCHS2* и «позднего» *StDFR* в динамике длительного холодового стресса клубней сорта Северное сияние с фиолетовой окраской мякоти и кожуры клубня (рис. 12).

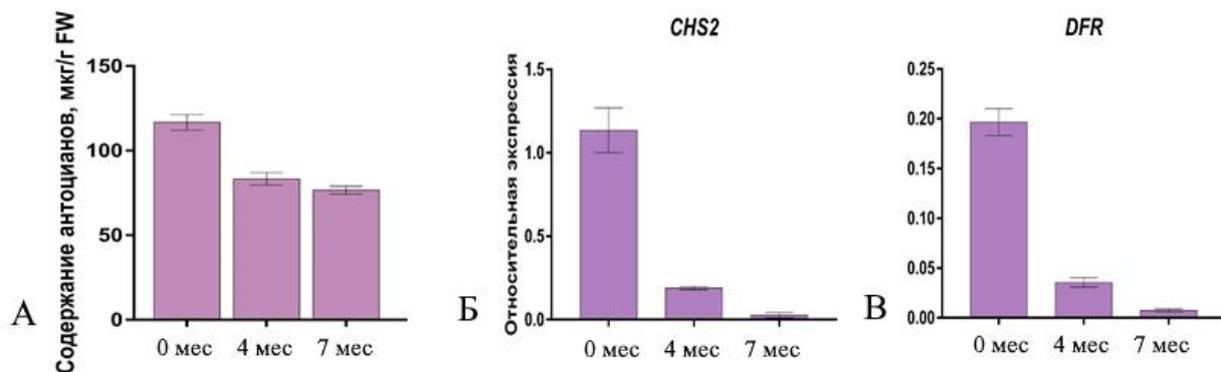


Рисунок 12 — Изменение содержания (мкг/г свежей ткани) антоцианов (А) и экспрессии генов *StCHS2* (Б) и *StDFR* (В) в клубнях сорта Северное сияние.

Биохимический анализ показал уменьшение содержания антоцианов в клубнях после 4 месяцев стресса (на 29%) с последующим незначительным сокращением (на 8,4%) после 7 месяцев стресса, что положительно коррелировало с изменением экспрессии генов *StCHS2* и *StDFR*.

**Определение содержания антоцианов и паттернов экспрессии структурных и регуляторных генов в листьях *S. tuberosum* при кратковременном холодовом стрессе (+3°C).** Для исследования были выбраны растения с зеленой (сорт Леди Клэр) и фиолетовой (линия Гибрид 1) окраской листовой пластины (рис. 13) при тех же условиях кратковременного холодового стресса (+3°C), что и для каротиноидов. Под действием холодового стресса в листьях проростков обоих сортов наблюдается увеличение содержания антоцианов (рис. 13). Показано, что в листьях картофеля, вне зависимости от содержания в них антоцианов, кратковременный холодовой стресс приводил к значительной активации транскрипции структурных (*StCHS2*, *StCHI*, *StF3H*, *StDFR*) и регуляторных (*StHY5*, *StJAF13*) генов пути: через 6 часов (в случае зеленолиственного растения) или через 24 часа (в случае фиолетоволиственного растения) стресса уровень транскриптов увеличивался в 2-5 раз и затем снижался.

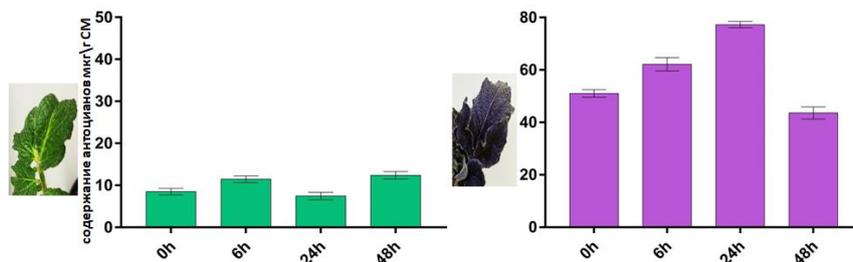


Рисунок 13 — Изменение содержания антоцианов в листьях проростков картофеля сорта Леди Клэр (А) и Гибрид 1 (Б) в ответ на кратковременный холодовой стресс (+3°C). 0h – контроль (20°C), 6h, 24h, 48h – холодовой стресс 6, 24, 48ч.

В обоих случаях выявлена корреляция между содержанием антоцианов и паттернами экспрессии генов их биосинтеза при кратковременном холодовом стрессе (рис. 14).

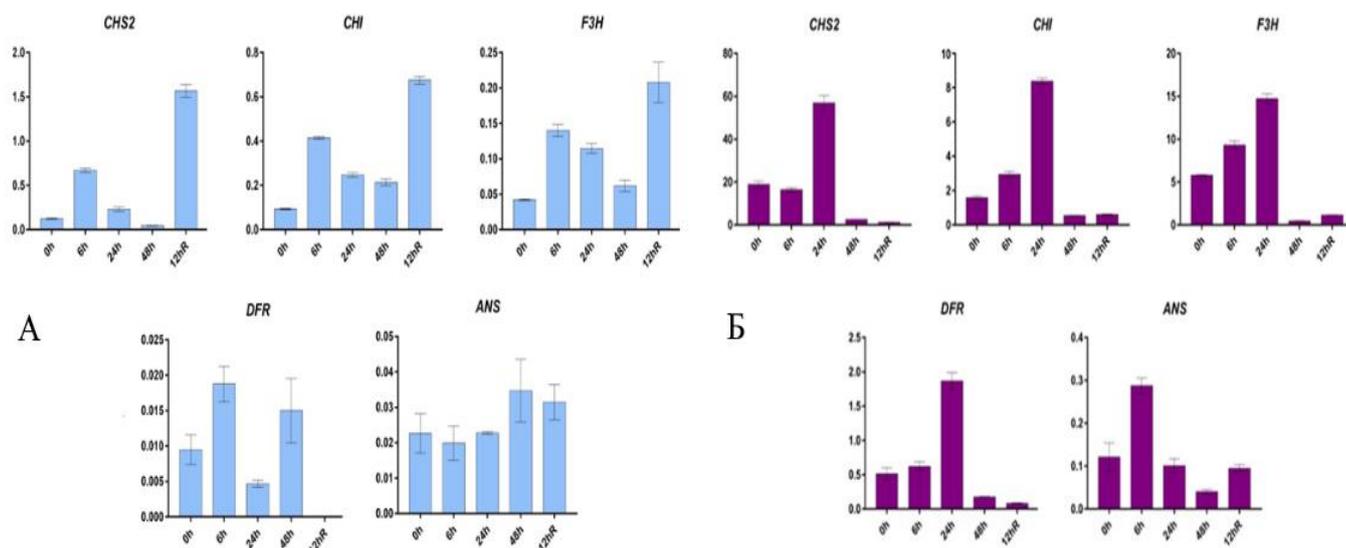


Рисунок 14 – Изменение транскрипции генов *StCHS2*, *StCHI*, *StF3H*, *StDFR* и *StANS* в листьях сорта Леди Клэр (А) и Гибрид 1 (Б) в ответ на кратковременный холодовой стресс.

В случае с фиолетоволиственными растениями Гибрида 1 уровень транскрипции всех анализируемых структурных генов, *StCHS2*, *StCHI*, *StF3H*, *StDFR* и *StANS*, в 7,5-100 раз превышал таковой в зеленых листьях сорта Леди Клэр. Это коррелировало с содержанием антоцианов в листьях, где содержание антоцианов у Гибрида 1 в 10 раз превосходило их количество в листьях сорта Леди Клэр.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования проведена комплексная оценка функциональной активности генов углеводного и вторичного метаболизмов в клубнях и листьях сортов и гибридов картофеля в ответ на длительный и кратковременный низкотемпературный стресс. Проведенный транскрипционный анализ клубней картофеля сорта Леди Клэр позволил определить гены, изменяющие экспрессию в ответ на длительный холодовой стресс. Для ряда генов углеводного обмена впервые

показано участие в ответе на холодовой стресс в клубнях картофеля. Для генов *StGWD*, *StAmy23*, *StBAM1*, *StBAM9*, *StAI* впервые показана корреляция с изменением содержания крахмала и моносахаров в клубнях в динамике длительного холодового стресса. Впервые были получены и охарактеризованы последовательности генов ингибиторов амилаз *AI* у образцов 12 видов и 36 сортов картофеля; показан высокий меж- и внутривидовой уровень полиморфизма. Впервые был охарактеризован профиль экспрессии гена  $\alpha$ -амилазы *StAmy23* в различных органах и тканях растений картофеля и выявлена положительная корреляция между уровнем транскрипции *StAmy23* и содержанием крахмала. Впервые показано, что при длительном холодовом стрессе в клубнях падает транскрипция 16 генов биосинтеза каротиноидов, что коррелирует с содержанием общих каротиноидов. Впервые выявлена активация экспрессии всех трех генов *StPSY* в листьях картофеля при кратковременном холодовом стрессе. Проведенный экспрессионный анализ в листьях двух сортов при кратковременном холодовом стрессе показал значительную активацию транскрипции семи генов биосинтеза антоцианов; выявлена корреляция между содержанием антоцианов и паттернами экспрессии генов их биосинтеза.

Полученные данные в дальнейшем будут использованы для разработки маркеров селекции на холодоустойчивость.

## ВЫВОДЫ

1. Проведен анализ транскриптомов клубней картофеля в процессе холодового хранения (+3°C) в течение 6,5 месяцев. Наиболее существенные изменения транскрипционной активности обнаружены в период первых 3,5 месяцев. Определены дифференциально экспрессирующиеся гены, связанные с углеводным обменом (37 ДЭГ), биосинтезом каротиноидов (14 ДЭГ) и флавоноидов (29 ДЭГ). Для ряда генов углеводного обмена (*SWEET*-унипортеров (*SWEET10*, *12* и *15*), глюкан эндо-1,3- $\beta$ -глюкозидаз 8 и 13,  $\alpha$ -галактозидазы 3 (*AGAL3*), галактуронозил трансферазы 8 (*GAUT8*), фруктозо-1,6-бифосфатазы (*FBPase*), фосфоглюканфосфатазы (*DSP4*)) впервые показано участие в ответ на холодовой стресс в клубнях картофеля. Гены *StSWEET12* и *StSWEET15* картофеля индуцируются холодным стрессом.
2. В ответ на длительный холодовой стресс в клубнях пяти сортов картофеля показаны значительные изменения экспрессии генов углеводного метаболизма: повышение (*StSUS4*, *StGWD*, *StAmy23*) или понижение (*StBAM1*, *StBAM9*, *StAI*) транскрипции в сравнении с предстрессовым уровнем; выявлена корреляция с содержанием крахмала и редуцирующих сахаров. Отличия в профилях экспрессии данных генов в клубнях различных сортов картофеля могут свидетельствовать о генотип-зависимой регуляции ответа на длительный холодовой стресс.
3. Идентифицирована (амплифицирована, клонирована, секвенирована) и охарактеризована последовательность гена ингибитора амилаз *AI* у образцов 12

дикорастущих видов картофеля и 36 сортов *S. tuberosum*. Показана высокая межвидовая вариабельность гена, а также крайне высокий полиморфизм, как нуклеотидный (21,3%), так и аминокислотный (33,0%) у сортов.

4. В ответ на длительный холодовой стресс в клубнях пяти сортов картофеля показано уменьшение содержания общих каротиноидов с характерным резким снижением через 4 месяца стресса. Изменения содержания антоцианов не имели общего паттерна и были сортоспецифичны.
5. Идентифицированы и охарактеризованы последовательности генов фитоинсинтаз *StPSY1*, *StPSY2* и *StPSY3*. Показана активация экспрессии всех трех генов в листьях картофеля в ответ на кратковременный холодовой стресс (+3°C, 48 ч). При этом *StPSY1* участвует в быстром ответе на стрессор (6 ч), *StPSY2* реагирует позднее (24 ч), тогда как *StPSY3* вовлечен и в ранний (6 ч), и наиболее поздний (48 ч) ответы на стресс.
6. Анализ экспрессии 16 генов биосинтеза каротиноидов в клубнях пяти сортов картофеля в динамике длительного холодowego хранения выявил общую для всех сортов тенденцию к резкому снижению уровня транскриптов генов в период первых 4 месяцев стресса, что коррелировало с изменением содержания каротиноидов.
7. Анализ экспрессии 7 генов биосинтеза антоцианов в листьях сортов картофеля с разным содержанием антоцианов при кратковременном холодовом стрессе (+3°C, 48 ч) показал значительную активацию транскрипции структурных (*StCHS2*, *StCHI*, *StF3H*, *StDFR*) и регуляторных (*StHY5*, *StJAF13*) генов пути: через 6 ч (зеленолистное растение) или 24 ч (фиолетоволистное растение) стресса уровень транскриптов повысился в 2-5 раз.

#### Список работ по теме диссертационной работы

1. Дьяченко Е.А. Ингибитор амилаз SbAI видов картофеля: вариабельность структуры и профиля экспрессии / Е.А. Дьяченко, **А.В. Кулакова**, А.А. Мелешин, А. В. Щенникова, Е. З. Кочиева // Генетика. – 2021. – Т. 57. – №. 1. – С. 44-55. DOI: 10.31857/S0016675821010045.
2. **Кулакова А.В.** Экспрессия гена  $\alpha$ -амилазы *StAMY23* в фотосинтезирующих и нефотосинтезирующих тканях растений у сортов картофеля *Solanum tuberosum* L. / **А.В. Кулакова**, А.А. Мелешин, А.В. Щенникова, Е.З. Кочиева // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – Т. 56. – №. 5. – С. 899-909. DOI: 10.15389/agrobiology.2021.5.899rus.
3. **Кулакова А.В.** Зависимость содержания крахмала и редуцирующих сахаров от уровня экспрессии генов  $\beta$ -амилаз *StBAM1* и *StBAM9* и ингибитора амилаз *StAI* при длительном низкотемпературном хранении клубней картофеля / **А.В. Кулакова**, Г.И. Ефремов, А.В. Щенникова, Е.З. Кочиева // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2022. – Т. 26. – №. 6. – С. 507-514. <https://doi.org/10.18699/VJGB-22-62>.

4. **Кулакова А.В.** Экспрессия генов биогенеза каротиноидов в процессе длительного холодового хранения клубней картофеля / **А.В. Кулакова**, **А.В. Щенникова**, **Е.З. Кочиева** // Генетика. – 2023. Т. 59. – № 8. – С. 914–928. DOI: 10.31857/S001667582308009X.
5. **Кулакова А.В.** Гены фитоинсинтаз (*StPSY1*, *StPSY2*, *StPSY3*) *Solanum tuberosum* L. участвуют в ответе растений картофеля на холодовой стресс / **А.В. Кулакова**, **А.В. Щенникова**, **Е.З. Кочиева** // Доклады Российской академии наук. – 2024. – Т. 516. – С. 3-9. DOI: 10.31857/S2686738924030019.
6. **Быкова А.В.** Влияние холодового стресса на содержание антоцианов и экспрессию генов пути биосинтеза антоцианов в листьях картофеля / **А.В. Быкова**, **А.А. Мелешин**, **А.В. Щенникова**, **Е.З. Кочиева** // Генетика. – 2025. Т. 61. – № 7. – С. 71-82. DOI: 10.31857/S0016675825070058.
7. Shchennikova A.V. Transcriptome Profiling of Cold-stored Potato Tubers Revealed Similarities in the Regulation of Bud Dormancy Release, Tuberization, and Flowering Initiation / A.V. Shchennikova, **A.V. Bykova**, E.Z. Kochieva // Horticulturae. – 2026. 12(2), 201. <https://doi.org/10.3390/horticulturae12020201>.

#### Тезисы конференций

1. **Кулакова А.В.**, **Щенникова А.В.**, **Кочиева Е.З.** Анализ изменения экспрессии генов деградации крахмала при длительном низкотемпературном хранении клубней картофеля //Сборник тезисов докладов V Вавиловской международной конференции к 135-летию со дня рождения Н.И. Вавилова, — Санкт-Петербург, 2022, С. 138-139.
2. **Кулакова А.В.** Экспрессия гена сахарозосинтазы *SUS/SSI6* у сортов картофеля в процессе длительного низкотемпературного хранения клубней //Сборник тезисов 26-ой Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология-наука XXI века» — Пущино, 2023, С. 39-40.
3. **Kulakova A.** Dynamics of changes in the expression of carbohydrate metabolism genes and carbohydrate content in potato tubers during long-term low-temperature storage //The 7th International Scientific Conference Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology (PlantGen2023) — Kazan, 2023. — P. 224.
4. **Кулакова А.В.** Профиль экспрессии генов биосинтеза антоцианов в клубнях сортов картофеля *Solanum tuberosum*, контрастных по окраске клубней //Международный Конгресс «VIII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 300-летию российской науки и высшей школы», — Саратов, 2024, С. 644.
5. **Быкова А.В.** Изменение экспрессии генов биосинтеза антоцианов в листьях растений *Solanum tuberosum* при кратковременном холодовом стрессе //Сборник тезисов 28-ой Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология-наука XXI века» — Пущино, 2025.— С. 24-25.
6. **Быкова А.В.**, **Е.З. Кочиева**, **А.В. Щенникова**. Транскриптомный профайлинг клубней картофеля в динамике длительного холодового хранения //VIII Международная научная конференция «Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений (PlantGen2025)» — Новосибирск, 2025. – С. 64.
7. **Кочиева Е.З.**, **Быкова А.В.**, **Щенникова А.В.** Влияние длительного холодового стресса на клубни картофеля: данные транскриптомного анализа //Научно-практическая конференция «ГЕНЕТИКА 2025», Москва, 2025.