

РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННОЙ ТЕХНОЛОГИИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ СОРТИМЕНТА КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР

СеитмамUTOва Э.С.¹, Хватков П.А.¹, Тимербаев В.Р.^{1,2}, Жданова И.В.¹, Долгов С.В.^{1,2}

¹ Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение Науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад — Национальный научный центр РАН»

² Филиал Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН
edie.seitmamutova.97@bk.ru

Косточковые культуры — одна из ведущих групп многолетних плодовых растений, к основным представителям которых относят абрикос и персик, благодаря своим органолептическим свойствам и высокой пищевой ценности.

Основным препятствием для промышленного производства косточковых культур принято считать вирус оспы сливы (PPV), возбудитель болезни Шарка.

Получить полностью толерантные формы растений к этому заболеванию традиционными методами селекции невозможно. Технология интеграции кассеты РНК-интерференции к гену белка оболочки вируса в геном растения позволяет повысить устойчивость растений к PPV.

Методом генетической модификации получено 75 независимых трансгенных линий химерных растений абрикоса путем формирования корневой системы, экспрессирующей РНК-интерференционные последовательности к гену белка оболочки вируса Шарки с использованием вектора pCam-PPV-rolB-dsRed, с эффективностью трансформации 22,1% для сорта Киото, 46,8% для Крокуса, 13,0% для Искорки Тавриды и 28,2% для Южанина.

Из 75 полученных химерных линий 52 были проанализированы методом ПЦР. Из них 7 линий были контаминированы генами агробактериальной *vir* - группы, 46 линий содержали гетерологичную ДНК-вставку (ген *hptII*), а 41 линия содержала целевую последовательность aPPV - *pdk intron* - sPPV.

Для оценки устойчивости к вирусу PPV почки сливы, инфицированные штаммом Marcus, были привиты на однолетние химерные и контрольные растения абрикоса. Визуальные симптомы вирусной инфекции не отслеживались. Метод ОТ-ПЦР подтвердил наличие вирусной инфекции в листьях, и отсутствие в корневой системе, что свидетельствует об отсутствии транспорта малых интерферирующих РНК в надземные части растений.

Исследование выполнено за счет средств гранта Курчатковского геномного центра НБС-ННЦ № 075-15-2019-1670 на базе Уникальной научной установки «ФИТОБИОГЕН».

Ключевые слова: абрикос, косточковые культуры, РНК-интерференции, химеры, *in vitro*, PPV.

DEVELOPMENT OF INNOVATIVE TECHNOLOGY TO IMPROVE THE VARIETY OF STONE FRUIT CROPS

Seitmamutova E.S.¹, Khvatkov P.A.¹, Timerbaev V.R.^{1,2}, Zhdanova I.V.¹, Dolgov S.V.^{1,2}

¹ *Federal State Funded Institution of Science "The Labor Red Banner Order Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS"*

² *Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry*
edie.seitmamutova.97@bk.ru

Stone fruits are one of the leading groups of perennial fruit plants, the main representatives of which are apricot and peach, due to their organoleptic properties and high nutritional value.

Plum pox virus (PPV), the causative agent of Shark's disease, is considered to be the main obstacle for industrial production of stone fruit crops.

It is impossible to obtain fully tolerant plant forms to this disease by traditional breeding methods. The technology of integration of RNA interference cassette to the gene of virus envelope protein into the plant genome allows increasing plant resistance to PPV.

By the method of genetic modification, 75 independent transgenic lines of chimeric apricot plants were obtained by forming a root system expressing RNA interference sequences to the Sharkey virus envelope protein gene using the vector pCam-PPV-roIB-dsRed, with transformation efficiency of 22.1% for the variety Kioto, 46.8% for Krokus, 13.0% for Iskorka Tavrida, and 28.2% for Yuzhanin.

Of the 75 chimeric lines obtained, 52 were analyzed by PCR. Of these, 7 lines were contaminated with genes of the agrobacterial vir - group, 46 lines contained a heterologous DNA insert (hptII gene), and 41 lines contained the target sequence aPPV - pdk intron - sPPV.

To assess resistance to PPV, plum buds infected with the Marcus strain were inoculated onto annual chimeric and control apricot plants. Visual symptoms of virus infection were not monitored. The OT-PCR method confirmed the presence of virus infection in leaves and absence in the root system, indicating the absence of transport of small interfering RNAs to the aboveground parts of the plants.

The study was carried out at the expense of the grant of the Kurchatov Genomic Center NBS-NSC No. 075-15-2019-1670 on the basis of the Unique Scientific Facility "FITO BIOGEN".

Keywords: apricot, chimeras, *in vitro*, fruit crops, RNA -interference, PPV