

## Биотехнологические и геномные исследования плодовых и ягодных культур

И.В. Митрофанова<sup>1\*</sup>, О.И. Молканова<sup>1</sup>, М.В. Гладышева-Азгари<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup>Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

\* [irimitrofanova@yandex.ru](mailto:irimitrofanova@yandex.ru)

**Цель:** Разработка, модификация и объединение современных методов и подходов в исследовании перспективных видов, сортов и форм плодовых и ягодных культур для анализа и создания коллекций ценной генетической плазмы.

**Материалы и методы:** Биотехнологические методы были использованы в работе с перспективными сортами и формами дальневосточных видов актинидии (*Actinidia arguta*, *A. kolomikta* и *A. polygama*), жимолости синей (*Lonicera caerulea*) и хеномелиса (*Chaenomeles* sp.). Питательная среда: Quorin & Lepoivre (QL, 1977) и Murashige & Skoog (MS, 1964) с 30 г/л сахарозы, 6,8 г/л агары или 1,7 г/л Gelrite и 0,5, 0,8 и 1,0 мг/л БАП; 0,25 и 0,5 мг/л БАП, TDZ, mT и 2-ip. В качестве контроля использовали среду с добавлением 0,5 мг/л БАП. Экспланты культивировали при интенсивности освещения 3,0...3,5 Клк с 16-часовым фотопериодом при температуре 23±2 °С. По коэффициенту размножения сорта исследуемых видов были условно разделены на три группы: с наименьшими (от 3,4 до 5,9), средними (от 6,0 до 7,9) и наибольшими (от 8,0 до 9,9) значениями. Различия между средними значениями нескольких групп исследовали с помощью теста Дункана с множественными диапазонами. Исследовали различные морфо-анатомические показатели регенерантов как в условиях *in vitro*, так и *ex vitro*. Геномные и биоинформационные методы: из листьев актинидии дальневосточной была выделена ДНК и созданы библиотеки для секвенирования. Выравнивание и редактирование полученных последовательностей проводили с помощью программы BioEdit v.7.0.5.3. Для генотипирования коллекции актинидий использовали метод RAD-секвенирования. Анализ качества полученных нуклеотидных последовательностей был проведен в программе FASTQC. Для анализа структуры популяции были использованы параметрические методы, которые реализованы в программном обеспечении ADMIXTURE v. 1.3.0, использующие метод максимального правдоподобия, и Complot из пакета adegenet. Был выполнен поиск SNP, отличающих группу с опадаемыми и не опадаемыми при созревании плодами представителей *A. kolomikta*, который проводили с помощью метода дискриминантного анализа главных компонент (DAPC), реализованного в программном пакете adegenet.

**Результаты:** Впервые использованы различные биотехнологические подходы для размножения и сохранения изучаемых видов, сортов и форм актинидии дальневосточной, жимолости синей и хеномелиса. Выявлены особенности введения эксплантов в условия *in vitro*. Для получения максимального количества жизнеспособных регенерантов использовали апикальные почки и узлы побегов текущего года в фазе активного роста. Для расширения генетического разнообразия хеномелиса в качестве эксплантов использовали семена. Показано, что наибольшее влияние на коэффициент размножения оказывали сортовые особенности (50%), по сравнению с видовыми (34%) и случайным фактором (17%). Выявлено, что при использовании mT увеличивались число и высота микропобегов, и коэффициент размножения, по сравнению с 6-BAP и TDZ. Определены оптимальные концентрации ауксинов, тип и концентрация желирующих веществ, обеспечивающих индукцию корнеобразования у культивируемых микропобегов. Впервые проведены геномные исследования *Actinidia arguta*, *A. polygama*, *A. kolomikta* (женские и мужские растения), *A. purpurea* (женское растение), самоплодный сорт *A. kolomikta* 'Dr. Szymanowski'. Собраны *de novo* полные геномы хлоропластов 4 видов рода *Actinidia* (*A. arguta*, *A. polygama*, *A. kolomikta*, *A. purpurea*) и самоплодного сорта *A. kolomikta* cv. 'Dr. Szymanowski'. Собраны *de novo* драфты митохондриальных геномов 4 видов рода *Actinidia* (*A. arguta*, *A. polygama*, *A. kolomikta* сорт 'Dr. Szymanowski', *A. purpurea*). Для трех видов: *A. arguta*, *A. polygama*, *A. purpurea* – обнаружено 39 общих генов. Митохондриальная ДНК *A. kolomikta* сорта 'Dr. Szymanowski' отличалась от остальных исследованных видов на 30 генов, тогда как *A. arguta*, *A. polygama* и *A. purpurea* имели по 6, 7 и 9 уникальных генов соответственно. Секвенированы и собраны *de novo* драфты полных геномов трех видов рода *Actinidia* (*A. arguta*, *A. kolomikta* и *A. polygama*). Показано, что субпопуляции видов *A. kolomikta* и *A. polygama* оказались более близкими, в отличие от *A. arguta*, представители которого образовали отдельный кластер. Популяции представителей видов *A. kolomikta* и *A. polygama* сформировали четкие обособленные группы, а популяция *A. arguta* разделилась на две подгруппы. Проведен сравнительный анализ геномных данных двух подгрупп *A. kolomikta* с опадаемыми и неоппадаемыми плодами, обнаружены 73 различающих их SNP.

**Выводы:** Биотехнологические и геномные исследования раскрывают морфогенетический потенциал исследуемых видов и сортов, что в перспективе необходимо как для сохранения, так и размножения представителей плодовых и ягодных культур, обладающих прежде всего питательной ценностью. Полученные знания будут способствовать в дальнейшем созданию генобанка ценных видов, сортов и форм, а также получению новых функциональных продуктов питания.

**Финансирование:** Исследования, направленные на изучение хеномелиса, поддержано грантом РНФ № 25-16-00145. Результаты, полученные по жимолости и актинидии, выполняются при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (госзадание № 124030100058-4).