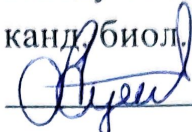



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ФГБОУ ВО «КубГУ»)

Факультет биологический
Кафедра генетики, микробиологии и биохимии

Допустить к защите
Заведующий кафедрой
канд. биол. наук, доцент
 А. А. Худокормов

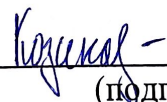
«12» мая 2022 г.

Руководитель ООП
д-р биол. наук, доцент
 С. Н. Щеглов

«12» мае 2022 г.


**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
(МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ)**

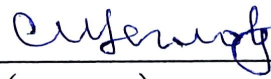
**ДНК-МАРКЕРНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛОКУСОВ УСТОЙЧИВОСТИ К
ОИДИУМУ В ГЕНОТИПАХ СТОЛОВЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА**

Работу выполнила  Т. Д. Козина
(подпись)

Направление подготовки 06.04.01 Биология
(код, наименование)

Направленность (профиль) Генетика

Научный руководитель
д-р биол. наук, профессор  В. В. Тюрин
(подпись)

Нормоконтролёр
д-р биол. наук, профессор  С. Н. Щеглов
(подпись)

Краснодар
2022

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа 63 с., 12 рис., 6 табл., 81 источник.
ДНК-МАРКИРОВАНИЕ, ВИНОГРАД, ОИДИУМ, ЛОКУСЫ
УСТОЙЧИВОСТИ К ОИДИУМУ, ЭКСТРАКЦИЯ ДНК, ПЦР,
ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ.

Объектом исследования являются 17 столовых сортов винограда.

Цель работы – ДНК-маркерное определение локусов устойчивости к оидиуму в генотипах столовых сортов винограда.

В процессе работы проводилось ДНК-маркерное исследование на определение аллелей устойчивости к оидиуму *Ren3* и *Ren9*. Методом ЦТАБ выделяли ДНК из листьев верхушек молодых побегов винограда, проводили ПЦР по ранее отработанным параметрам. Идентификацию аллелей устойчивости осуществляли тесно сцепленными микросателлитными маркерами: GF15-42, ScORGF15-02 и CenGen6. Методом капиллярного электрофореза производили разделение ПЦР-продуктов, проводилась оценка амплифицированных фрагментов. Далее проводился анализ родословной сортов, несущих аллели устойчивости.

В результате исследования были выделены сорта, несущие локусы устойчивости *Ren3* и *Ren9* к оидиуму. На основе полученных данных был проведен анализ родословной сортов, установлены доноры резистентности.

В результате работы было проведено сравнение сортов по комплексу хозяйственно-ценных признаков. Были выделены наиболее перспективные для дальнейшей селекции сорта: Викинг, Дубовский розовый, Оригинал, Кишмиш 342 и Памяти Смирнова.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ПЦР – полимеразная цепная реакция

RFLP – полиморфизм длины рестрикционных фрагментов

RAPD – случайно амплифицированная полиморфная ДНК

AFLP – полиморфизм длины амплифицированных фрагментов

ISSR – межмикросателлитный полиморфизм

SNP – однонуклеотидный полиморфизм

STR – короткий tandemный повтор

SSR – простые повторяющиеся последовательности (микросателлиты)

QTL – локус количественного признака

Taq – термостабильная ДНК-полимераза

ЦТАБ – цетилтриметил аммоний бромид

V – объем

Tm – температура отжига праймеров

MAS (marker assisted selection) – селекция при помощи маркеров

П. н. – пары нуклеотидов

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	5
1 Аналитический обзор	7
1.1 Виноград. Систематика. Биологические особенности	7
1.2 ДНК-маркеры: понятие и классификация.....	13
1.3 Основные типы ДНК–маркеров в генетике и селекции	16
1.4 Устойчивость винограда к болезням	24
2 Материал и методы исследования	28
2.1 Растительный материал.....	28
2.2 Выделение ДНК методом ЦТАБ (СТАВ)	32
2.3 ПЦР-анализ.....	34
2.4 Анализ амплифицированного продукта.....	36
3 ДНК-маркерное определение локусов устойчивости к оидиуму в генотипах столовых сортов винограда	37
3.1 ДНК – маркерный анализ генотипов винограда на наличие генов устойчивости к оидиуму <i>Ren3</i> и <i>Ren9</i>	38
3.2 Поиск доноров устойчивости к оидиуму среди исследуемых сортот винограда	43
3.3 Перспективность исследуемых сортот для дальнейшей селекции	46
Заключение	54
Список использованных источников.....	55

ВВЕДЕНИЕ

Виноград – одна из наиболее широко возделываемых и высокоценных садовых культур. Плоды используются для производства вина, столового винограда и изюма. Подавляющее большинство культивируемых сортов винограда представляют собой сорта *Vitis vinifera* L., которые считаются плодами самого высокого качества. Хотя эти сорта дают желаемые плоды, на их выращивание влияет широкий спектр вредителей и болезней.

Евразийский вид винограда, *Vitis vinifera*, который является преобладающим видом, используемым для производства вина, столового винограда и сушеного винограда во всем мире, восприимчив к многочисленным вредителям и патогенам, включая грибы, оомицеты, бактерии, вирусы, фитоплазмы, насекомых и паукообразных. Все части виноградной лозы подвержены поражению этими организмами, включая корни, ствол, побеги, листья, черешки и ягоды. Одна из причин восприимчивости сортов *V. vinifera* ко многим основным вредителям и патогенам заключается в том, что эти организмы не являются аборигенными для Евразии, и поэтому не было давления отбора, направленного на выработку устойчивости (Grape taxonomy and germplasm. Switzerland, 2019).

Оидиум (*Erysiphe necator*) – одно из наиболее распространенных и экономически значимых заболеваний винограда. В настоящее время для борьбы с *Erysiphe necator* используют фунгицидные обработки. Однако для столовых сортов это не всегда безопасно, так как есть риск накопления остатков вредных реагентов в ягодах, которые напрямую используются человеком в пищу. Поэтому важной задачей является интеграция генетической устойчивости к оидиуму в столовых сортах винограда, ведь это позволит снизить пестицидную нагрузку на виноградники.

Актуальность исследования обусловлена тем, что в настоящее время метод ДНК-маркирования активно используются в селекции и генетике

винограда для поиска доноров резистентности и последующего вовлечения их в процесс создания новых высокоустойчивых и качественных сортов.

Цель исследования – ДНК-маркерное определение локусов устойчивости к оидиуму в генотипах столовых сортов винограда.

Для достижения поставленной цели требовалось решить следующие задачи:

1. В изучаемой популяции винограда выделить сорта, несущие аллели устойчивости *Ren3* и *Ren9* к оидиуму;
2. Провести анализ родословной сортов, несущих аллели устойчивости, с целью установить источники доноров резистентности к оидиуму;
3. Выделить наиболее перспективные для дальнейшей селекции сорта по комплексу хозяйственно-ценных признаков.

РЕЦЕНЗИЯ

на выпускную квалификационную работу (магистерскую диссертацию) магистранта биологического факультета по направлению магистерской подготовки 06.04.01 Биология Козиной Татьяны Дмитриевны «ДНК-маркерное определение локусов устойчивости к оидиуму в генотипах столовых сортов винограда»

Выведение новых сортов сельскохозяйственных культур основано на использовании природного или созданного человеком генетического разнообразия растений. Для обнаружения, оценки и охраны этого разнообразия используют легко распознаваемые фенотипические проявления генов – маркеры. Такие маркеры отражают экспрессию либо самого гена, либо его ближайших соседей по хромосоме. Тема диссертации Козиной Т.Д. несомненно актуальна.

Козина Т.Д. установила, что при ДНК-анализе 17 столовых сортов винограда с использованием маркеров GF15-42, ScORGF15-02 и CenGen6, в 9 сортах были идентифицированы аллели устойчивости к оидиуму *Ren3* и *Ren9*. Это сорта Викинг, Дубовский розовый, Кодрянка, Молдова, Надежда АЗОС, Оригинал, Кишмиш Запорожский, Кишмиш 342 и Памяти Смирнова.

Поиск доноров устойчивости, основанный на результатах анализа родословной, показал, что во всех исследуемых сортах винограда, в которых нами обнаружены аллели устойчивости *Ren3* и *Ren9*, донором гена является исключительно Сейв Виллар 12-375.

Автором доказано, что изучение хозяйственно-ценных признаков и дегустационной оценки устойчивых к оидиуму сортов показало, что для дальнейшей селекционной можно выделить следующие наиболее перспективные сорта: столовые – Викинг, Дубовский розовый, Оригинал. Среди бессемянных сортов наиболее перспективными для селекции являются Кишмиш 342 и Памяти Смирнова.

Результаты магистерской диссертации Козиной Т.Д. представляют большой интерес и заслуживают положительной оценки.

Старший научный сотрудник лаборатории сортоизучения и селекции садовых культур ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», кандидат биологических наук

Подпись В.И. Лапшина заверяю
Начальник Отдела кадров



В.И. Лапшин

О.В. Будыльская

ОТЗЫВ

о выпускной квалификационной работе (магистерской диссертации) магистранта биологического факультета по направлению магистерской подготовки 06.04.01 Биология Козиной Татьяны Дмитриевны «ДНК-маркерное определение локусов устойчивости к оидиуму в генотипах столовых сортов винограда»

Из многих элементов, которые определяют продуктивность любой культуры, основное значение принадлежит биологическим свойствам выращивания растений. Задача селекции – выделить растение с заданными свойствами для конкретных районов выращивания. Для этого необходимо совершенствование методов отбора, разработки приемов, обеспечивающих ускоренное выделение лучших сортов.

Целью выпускной квалификационной работы Козиной Т.Д. было ДНК-маркерное определение локусов устойчивости к оидиуму в генотипах столовых сортов винограда.

В период выполнения выпускной квалификационной работы Козина Т.Д. показала хорошую подготовку и работоспособность. Ей пришлось анализировать довольно большой по объему экспериментальный материал. Она его систематизировала и подготовила к обработке на ПЭВМ, освоила ряд генетико-статистических методов. В ходе выполнения выпускной квалификационной работы Козина Т.Д. применила современные методы ДНК-маркирования, которые помогли ей разобраться в поставленной проблеме.

В период работы Козина Т.Д. проявила целеустремленность и трудолюбие. Показала способность к самостоятельной работе.

Выпускная квалификационная работа Козиной Т.Д. соответствует предъявляемым требованиям и может быть представлена к защите.

Научный руководитель,
профессор кафедры генетики,
микробиологии и биохимии
КубГУ, д-р биол. наук



В.В. Тюрин

Отчет о проверке на заимствования №1

Козина



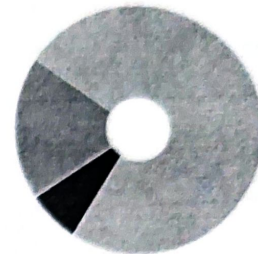
Автор: Козина Т. Д.
 Проверяющий: user 0 7
 Организация: Кубанский Государственный университет
 Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат» - <http://kubsu.antiplagiat.ru>

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 1173
 Начало загрузки: 08.06.2022 12:47:44
 Длительность загрузки: 00:00:09
 Имя исходного файла: Диссертация.
 Козина.docx
 Название документа: Козина Т.Д. ДНК-маркерное определение локусов устойчивости к оидиуму в генотипах столовых сортов винограда
 Размер текста: 93 кБ
 Тип документа: Магистерская диссертация
 Символов в тексте: 95735
 Слов в тексте: 11602
 Число предложений: 1627

ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Начало проверки: 08.06.2022 12:47:54
 Длительность проверки: 00:01:23
 Комментарии: не указано
 Поиск с учетом редактирования: да
 Модули поиска: Перефразирования по коллекции издательства Wiley, Переводные заимствования издательства Wiley (RuEn), Издательство Wiley, Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu), Переводные заимствования по Интернету (EnRu), Медицина, Интернет Плюс, Сводная коллекция ЭБС, Перефразирования по eLIBRARY.RU, Перефразирования по Интернету, Шаблонные фразы, Библиография, ИПС Адилет, Сводная коллекция РГБ, Переводные заимствования (RuEn), Диссертации НББ, СПС ГАРАНТ, Кольцо вузов, Патенты СССР, РФ, СНГ, eLIBRARY.RU, Цитирование, Переводные заимствования, СМИ России и СНГ, Модуль поиска "КубГУ"



ЗАИМСТВОВАНИЯ
6,68%

САМОЦИТИРОВАНИЯ
0%

ЦИТИРОВАНИЯ
18,7%

ОРИГИНАЛЬНОСТЬ
74,62%

Заимствования — доля всех найденных текстовых пересечений, за исключением тех, которые система отнесла к цитированиям, по отношению к общему объему документа.
 Самоцитирование — доля фрагментов текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника, автором или соавтором которого является автор проверяемого документа, по отношению к общему объему документа.
 Цитирование — доля текстовых пересечений, которые не являются авторскими, но система посчитала их использование корректным, по отношению к общему объему документа. Сюда относятся оформленные по ГОСТУ цитаты; общеупотребительные выражения; фрагменты текста, найденные в источниках из коллекций нормативно-правовой документации.
 Текстовое пересечение — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.
 Источник — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.
 Оригинальность — доля фрагментов текста проверяемого документа, не обнаруженных ни в одном источнике, по которым шла проверка, по отношению к общему объему документа.
 Заимствования, самоцитирования, цитирования и оригинальность являются отдельными показателями и в сумме дают 100%, что соответствует всему тексту проверяемого документа.
 Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые пересечения проверяемого документа с проиндексированными в системе текстовыми источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности заимствований или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

№	Доля в отчете	Доля в тексте	Источник	Актуален на	Модуль поиска	Блоков в отчете	Блоков в тексте	Комментарии
[01]	17,81%	17,81%	не указано	13 Янв 2022	Библиография	1	1	
[02]	0,05%	2,6%	Genetics And Mechanisms Of Powdery Mildew Resistance In Vitis Rupestris B38 And Vitis Vinifera X18Chardonnay' https://core.ac.uk	25 Мая 2022	Интернет Плюс	1	37	
[03]	0%	2,41%	Identification of two novel powdery mildew resistance loci, Ren6 and Ren7, from the wild Chinese grape species Vitis piasezkii https://core.ac.uk	10 Дек 2021	Интернет Плюс	0	29	
[04]	0,21%	2,05%	Etude de l'efficacité des défenses de différents génotypes de Vitis induites par élicitation face à la diversité génétique de bioagresseurs (Plasmopara viticola et Erysiphe necator) : du gène au champ; Study of the effectiveness of different genotypes o... http://theses.fr	10 Дек 2021	Интернет Плюс	5	36	
[05]	0,01%	2,03%	Recombinaison génétique et transmission de caractères morphologiques, phénologiques et métaboliques dans les hybrides interspécifiques entre Vitis	14 Авр 2019	Интернет Плюс	1	30	