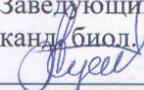


МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ФГБОУ ВО «КубГУ»)

Факультет биологический

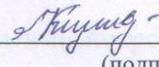
Кафедра генетики, микробиологии и биохимии

Допустить к защите
Заведующий кафедрой
канд. биол. наук, доцент
 А. А. Худокормов
« 05 » июня 2020 г.

Руководитель ООП
д-р биол. наук, профессор
С. Н. Щеглов
« 05 » июня 2020 г.

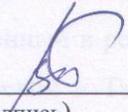
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
(МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ)

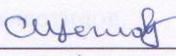
ДНК-МАРКЕРНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К
МИЛДЬЮ В СОРТАХ ВИНОГРАДА

Работу выполнила  К. А. Шушкова
(подпись)

Направленность (профиль) 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

2020

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа (магистерская диссертация) 63 с., 3 гл., 14 рис., 5 табл., 70 источников.

ВИНОГРАД, ГИБРИДНЫЕ ФОРМЫ, УСТОЙЧИВОСТЬ К МИЛДЬЮ, МИКРОСАТЕЛИТНЫЕ МАРКЕРЫ, ЦЕЛЕВЫЕ АЛЛЕЛИ, МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ.

Объект исследования – сорта и гибриды винограда винограда *V. vinifera*.

Цель работы – с помощью ДНК-маркирования определить гены устойчивости к милдью в сортах и межсортных гибридах винограда.

В процессе работы проводилась идентификация генов устойчивости у 9 сортов винограда и 11 межсортных гибридов.

В результате исследований были установлены сорта и гибриды, несущие гены *Rpv3* и *Rpv10*, детерминирующие устойчивость винограда к милдью.

В результате работы были получены данные об идентифицированных аллелях для каждого гена по ДНК-маркерам в виде пар нуклеотидов. Целевые аллели гена *Rpv3*, идентифицированные с помощью маркеров UDV 305 и UDV 737 выявлены для семи гибридов. Исключение составил гибрид Тана 39, полученный от родителей сортов Варусет x Гранатовый. Из нецелевых фрагментов были определены ПЦР-продукты 257, 283, 285, 295 и 297 п.н.

Оба гибрида Тана 43/1, полученный в результате скрещивания сортов Саперави северный x Мускат кубанский и Тана 40 (Саперави северный x Гимра) несут в себе целевые аллели гена *Rpv3* устойчивости к милдью размерами 395, 408, 395, 419 пар нуклеотидов.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
1 Аналитический обзор.....	6
1.1 История появления, распространения и вредоносности милдью винограда	6
1.2 Признаки болезни.....	9
1.3 Систематическое положение. Возбудитель болезни	12
1.4 Устойчивость винограда к болезням.....	15
1.5 Открытие генов устойчивости винограда.....	19
1.6 Литические ДНК - маркеры винограда.....	21
2 Материал и методы исследования	24
3 ДНК-маркерное определение генов устойчивости к милдью в сортах винограда	28
3.1 Анализ гибридных форм на присутствие генов устойчивости к милдью <i>Rpv 3</i> и <i>Rpv 10</i>	28
3.2 Морфологическое описание гибридных сортов винограда.....	33
Заключение.....	54
Список использованной литературы.....	55

ВВЕДЕНИЕ

Из большого множества заболеваний винограда, наиболее вредоносным является милдью, которое вызывается грибом *Plasmopara viticola* из класса Оомицетов. Благоприятными условиями для данного заболевания является повышенная температура и влажность, которые характерны для южных регионов России, что требует выведения новых сортов, резистентных к милдью.

В условиях Краснодарского края эпифитотийное развитие данного грибного заболевания наблюдается 3–5 раз за 10 лет, нанося значительный урон урожаю винограда и его качеству. Возделывание устойчивых сортов является наиболее эффективным элементом контроля распространения заболевания. Генотипы европейского винограда *V. vinifera* неустойчивы или малоустойчивы к милдью. Источниками устойчивости в основном являются североамериканские виды, а также *V. amurensis*. По этой причине межвидовая гибридизация является для селекции основой для устойчивых сортов. За счет большого множества современных технологий в сфере молекулярной биологии и генетики расширяются возможности исследований. Для выведения устойчивых к милдью сортов винограда необходимо найти донора, затем изучить механизмы устойчивости и наладить селекционный процесс. Для определения локусов устойчивости QTL используют технологии ДНК-маркирования. Также, данную методику применяют в селекции для объединения в одном генотипе сразу нескольких генов устойчивости. На данный момент определено и картировано около 15 различных размеров локусов устойчивости винограда к милдью *P. viticola*. Идентифицирован ряд ДНК-маркеров, сцепленных с локусами устойчивости. Наработки ученых в данном направлении из мировых научных центров могут быть применены для изучения накопленного отечественного генофонда винограда, что позволит расширить знания о генетическом

разнообразии генофонда, выделить доноры устойчивости, совершенствовать селекционный процесс.

Данная тема актуальна тем, что решающий метод борьбы с милдью – выведение генетически устойчивых сортов винограда. Это очень трудная задача селекции, которая заключается в создании сортов с комплексной устойчивостью к данному заболеванию. Для этих целей используется природный иммунитет винограда.

Виноград (Vitis vinifera L.) – многолетнее растение, которое принадлежит к семейству Виноградные (Vitaceae). Виноград имеет очень разнообразную историю. Впервые он был упомянут в Библии, где говорится о том, что виноград был одним из первых культурных растений, выращенных человеком. Виноград был известен в древности, и его плоды использовались для приготовления вина. Виноград был завезен в Европу из Азии в 1000 году нашей эры [1].

Одна из первых культур, которую выращивал человек, является виноград. Он был известен в древности, и его плоды использовались для приготовления вина. Виноград был завезен в Европу из Азии в 1000 году нашей эры [2]. Виноград был известен в древности, и его плоды использовались для приготовления вина. Виноград был завезен в Европу из Азии в 1000 году нашей эры [3].

Виноград был известен в древности, и его плоды использовались для приготовления вина. Виноград был завезен в Европу из Азии в 1000 году нашей эры [4]. Виноград был известен в древности, и его плоды использовались для приготовления вина. Виноград был завезен в Европу из Азии в 1000 году нашей эры [5].

Виноград был известен в древности, и его плоды использовались для приготовления вина. Виноград был завезен в Европу из Азии в 1000 году нашей эры [6]. Виноград был известен в древности, и его плоды использовались для приготовления вина. Виноград был завезен в Европу из Азии в 1000 году нашей эры [7].

Виноград был известен в древности, и его плоды использовались для приготовления вина. Виноград был завезен в Европу из Азии в 1000 году нашей эры [8]. Виноград был известен в древности, и его плоды использовались для приготовления вина. Виноград был завезен в Европу из Азии в 1000 году нашей эры [9].

Отчет о проверке на заимствования №1



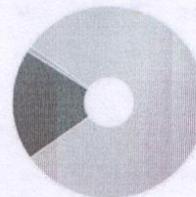
Автор: user 0 7 genetic@bio.kubsu.ru / ID: 179
 Проверяющий: user 0 7 (genetic@bio.kubsu.ru / ID: 179)
 Организация: Кубанский Государственный университет
 Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат»- <http://kubsu.antiplagiat.ru>

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 883
 Начало загрузки: 17.06.2020 11:22:12
 Длительность загрузки: 00:00:16
 Имя исходного файла: Шушкова магистерская правка.docx
 Название документа: Шушкова К.А. ДНК-маркерное определение генов устойчивости к милдью в сортах винограда
 Размер текста: 1 кБ
 Тип документа: Магистерская диссертация
 Символов в тексте: 62861
 Слов в тексте: 7690
 Число предложений: 1103

ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Последний готовый отчет (ред.)
 Начало проверки: 17.06.2020 11:22:28
 Длительность проверки: 00:00:22
 Корректировка от 17.06.2020 11:23:06
 Комментарий: [Автосохраненная версия]
 Модули поиска: Коллекция eLIBRARY.RU, Модуль поиска общеупотребительных выражений, Модуль поиска перефразирований Интернет, Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU, Модуль поиска Интернет, Сводная коллекция ЭБС, Коллекция РГБ, Кольцо вузов, Модуль поиска ИПС "Адилет", Модуль выделения библиографических записей, Модуль поиска переводных заимствований, Модуль поиска переводных заимствований по eLibrary (EnRu), Модуль поиска переводных заимствований по интернет (EnRu), Коллекция ГАРАНТ, Модуль поиска "КубГУ", Коллекция Медицина, Коллекция Патенты



ЗАИМСТВОВАНИЯ	САМОЦИТИРОВАНИЯ	ЦИТИРОВАНИЯ	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ
18,55%	0%	0,62%	80,83%

Заимствования — доля всех найденных текстовых пересечений, за исключением тех, которые система отнесла к цитированиям, по отношению к общему объему документа.
 Самоцитирования — 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.
 Цитирования — 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	Ссылка	Актуален на	Модуль поиска	Блоков в отчете	Блоков в тексте
[01]	0%	24,18%	не указано	не указано	раньше 2011	Модуль выделения библиографических записей	0	1
[02]	2,1%	4,27%	Е.Т. Ильницкая , М.В. Мака...	http://bionet.nsc.ru	08 Дек 2017	Модуль поиска Интернет	15	26
[03]	0,9%	4,07%	Breeding for grapevine down...	https://doi.org	11 Мая 2018	Модуль поиска Интернет	12	30
[04]	0,45%	3,84%	Molekulare Untersuchung vo...	https://d-nb.info	15 Авг 2019	Модуль поиска Интернет	2	22
[05]	0,32%	3,36%	Detection of downy and pow...	https://doi.org	16 Окт 2019	Модуль поиска Интернет	3	23
[06]	0,25%	2,75%	Recombinaison génétique et t...	https://publication-theses.unistr	14 Авг 2019	Модуль поиска Интернет	1	16
[07]	1,66%	2,72%	phd_unimi_R10684.pdf	https://air.unimi.it	15 Июл 2017	Модуль поиска Интернет	8	15
[08]	2,08%	2,49%	ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ ГИБРИД...	http://elibrary.ru	08 Окт 2018	Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU	7	8
[09]	1,63%	2,37%	ДНК-МАРКЕРНОЕ ОПРЕДЕЛ...	http://elibrary.ru	16 Июл 2018	Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU	5	6
[10]	1,47%	2,09%	Молекулярно-генетическая ...	https://knowledge.allbest.ru	08 Фев 2019	Модуль поиска Интернет	1	5
[11]	0%	2,01%	Молекулярно-генетическая ...	https://bibliofond.ru	08 Фев 2019	Модуль поиска Интернет	0	7
[12]	0%	2%	Скачать	http://ksu.edu.kz	27 Ноя 2018	Модуль поиска Интернет	0	5
[13]	0%	1,92%	Курсовая исправ	не указано	16 Мая 2019	Кольцо вузов	0	5

ОТЗЫВ

о выпускной квалификационной работе (магистерской диссертации)

Шушковой Кристины Андреевны

«ДНК-маркерное определение генов устойчивости к милдью в сортах
винограда»

Из большого множества заболеваний винограда, наиболее вредоносным является милдью, которое вызывается грибом *Plasmopara viticola* из класса Оомицетов. Для выведения устойчивых к милдью сортов винограда необходимо найти донора, затем изучить механизмы устойчивости и наладить селекционный процесс. Для определения локусов устойчивости QTL используют технологии ДНК-маркирования.

Задачу определения генов устойчивости винограда к милдью решала Шушкова К.А. вместе с сотрудниками Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. Ей удалось изучить генетическую изменчивость ряда межсортных гибридов винограда и провести их классификацию.

Считаю, что цели и задачи, поставленные в дипломной работе, были успешно решены. Дипломницей был составлен аналитический обзор литературы, отражающий современное состояние проблемы устойчивости винограда к заболеваниям. Выделены гибриды, обладающие необходимым генетическим материалом для дальнейшей селекции.

Шушкова К.А. очень ответственно отнеслась к сбору материала в период практик в Северо-Кавказском федеральном научном центре садоводства, виноградарства, виноделия и к процедуре написания дипломной работы.

Дипломная работа удовлетворяет всем необходимым требованиям и может быть представлена к защите.

Научный руководитель,
д-р. биол. наук, доцент



В.В. Тюрин

РЕЦЕНЗИЯ

на выпускную квалификационную работу (магистерскую диссертацию) Шушковой Кристины Андреевны студентки 2 курса магистратуры биологического факультета Кубанского государственного университета направления 06.04.01 на тему: «ДНК-маркерное определение генов устойчивости к милдью в сортах винограда»

Для выведения устойчивых к милдью сортов винограда необходимо найти донора, несущего соответствующие гены. Для определения локусов устойчивости QTL используют технологии ДНК-маркирования. В данной работе исследовались гибридные формы Анапской ампелографической коллекции.

Для выявления доноров устойчивости были применены микросателлитные ДНК-маркеры UDV 305 и UDV 737, сцепленными с геном *Rpv3* и ДНК-маркер *Rpv10*, сцепленный с геном *Rpv10*.

Целевые аллели, идентифицированные с помощью маркеров UDV 305 и UDV 737 выявлены для девяти гибридов из десяти. была проведена классификация гибридных форм с учетом идентифицированного аллельного состава генотипов. В результаты были выделены кластеры гибридных форм, отличающихся аллельным составом.

Кроме молекулярных исследований была изучена изменчивость морфологических признаков гибридных форм.

Результаты выпускной квалификационной работы могут быть использованы в селекционных исследованиях винограда, а сама работа заслуживает положительной оценки.

Доцент кафедры биотехнологии,
биохимии и биофизики ФГБОУ
ВО Кубанский ГАУ, канд. биол. наук



С.А. Волкова