

Thus, the use of biological preparations based on yeast is a promising method for improving the safety of table grape varieties and improving their quality.

**Key words:** grape varieties, biological protection, yeast strains, pathogen, weight loss, biochemical analysis, storage.

GTAMP 68.35.55

DOI <https://doi.org/10.37884/4-2024/24>

Л.А. Ажитаева<sup>1,2</sup>, К.П. Аубакирова<sup>\*3</sup>, С.Ж. Казыбаева<sup>2</sup>, С.Б. Корабаева<sup>2</sup>,  
А.А. Айтенов<sup>2</sup>, Л.С. Ерболова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> «Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы, Қазақстан,  
[lako\\_1992@mail.ru](mailto:lako_1992@mail.ru)

<sup>2</sup> «Қазақ жеміс-көкөніс шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты», Алматы, Қазақстан, [saule\\_5\\_67@mail.ru](mailto:saule_5_67@mail.ru), [korabayeva\\_saule@mail.ru](mailto:korabayeva_saule@mail.ru), [Asilbek\\_zero@mail.ru](mailto:Asilbek_zero@mail.ru)

<sup>3</sup> М. А. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институты, Алматы қ., Қазақстан, [karla\\_78@mail.ru](mailto:karla_78@mail.ru)\*, [yerbolova.laura7@gmail.com](mailto:yerbolova.laura7@gmail.com)

## ДНҚ МАРКЕРЛЕРМЕН ҚАЗАҚСТАНДЫҚ СЕЛЕКЦИЯНЫҢ ЖҮЗІМ СОРТТАРЫ МЕН ГИБРИДТЕРІНІҢ МИЛДЬЮ АУРУЫНА (*Plasmopara viticola*) ТӨЗІМДІ ГЕНДЕРІН АНЫҚТАУ

### Аңдатпа

Жүзім Қазақстанда маңызды жеміс дақылы болып табылады. Жалған ақ ұнтақ (милдью) - *Plasmopara viticola* тудыратын ең көп таралған жүзім саңырауқұлақ ауруларының бірі. Қоздырғыштың таралуын бақылаудың тиімді әдісі – бұл төзімді сорттарды өсіру. *Vitis Vinifera* сорттары жоғары сапалы жүзім шаруашылығының негізі болып саналады, бірақ *P. viticola*-ға сезімтал болып келеді. Тұрақтылық донорларын іздеу - бұл селекцияның маңызды кезеңі. Бұл жұмыста Rpv10, Rpv12 және Rpv3 локустары бойынша жалған ақ ұнтаққа төзімділік гендерімен байланысқан 5 (GF18-08, GF18-06, GF09-46, GF09-48, GF14-28) ДНҚ маркерлерін қолдана отырып, қазақстандық селекциясының таңдалған жүзім сорттары мен гибридтеріне ПТР әдісімен зерттеулер жүргіздік. Реакция өнімдерін бөлу 3500 автоматты генетикалық ДНҚ анализаторын қолдана отырып, капиллярлық электрофорез әдісімен жүзеге асырылды. Талдаулар зерттелетін үлгілердің тұқымына сәйкес мақсатты аллельдерді анықтау мүмкіндігіне сәйкес жүргізілді. Милдьюға төзімділік локустарының болуын молекулалық-генетикалық зерттеу нәтижесінде оң аллельдері бар 7 сорт (16-дан) және 9 гибрид (29-дан) анықталды. Сонымен милдьюға төзімді Rpv3 гені бар алты гибридті генотиптерде және төрт сортта анықталды. Ал Rpv10 локусы бойынша – Алмалы, Береке және Фиолетовый ранний сорттарында екі маркерде (GF09-46, GF09-48) және үш жүзім гибридінде анықталды. Rpv12 төзімділік гендері табылмады. Бақылау ретінде тұрақтылықпен корреляцияланған тізбектердің тұқым қуалауын растау үшін кейбір бастапқы ата-аналық сорттар пайдаланылды.

**Кілт сөздер:** жүзім; милдью; жалған ақ ұнтаққа төзімділік; ДНҚ маркерлер; Rpv3; Rpv10; Rpv12

### Кіріспе

Жүзім шаруашылығы Қазақстанның аграрлық-өнеркәсіптік кешені салаларының бірі ретінде үлкен әлеуметтік мәнге ие және экономикада маңызды рөл атқарады. Қазақстанның табиғи жағдайлары жүзімнің пісетін уақыты мен өнімді пайдалану бағыты бойынша алуан түрлі жоғары өнімін өсіру үшін өте қолайлы. Құнарлы топырақтар, ұзақ вегетациялық кезең-мұның бәрі өнімділікті одан әрі көтеруге, құнды асханалық және техникалық сорттардың екпелерінің астындағы аумақтарды кеңейтуге және жүзімнің жалпы түсімін арттыруға кең перспективалар ашады. Республиканың оңтүстік аймағында шілде айында асханалық

жүзімнің өте ерте өнімдерін алуға болады [1]. Қазіргі кезеңде жүзім өсірудегі негізгі міндеттер-жоғары және тұрақты өнімділігі бар биотикалық (аяз, құрғақшылық) және биотикалық (патогендер, зиянкестер) қоршаған орта факторларына төзімді қысқа вегетациялық кезеңі бар жүзім сорттарын құру. Әсіресе, өте ерте және ерте пісетін, үлкен және орташа талғампаз кластерлері бар, ерекше формасы мен әдемі жидек түсімен ерекшеленетін, жоғары дәмімен, сондай-ақ кишмиш сорттарымен сипатталатын асханалық жүзім сорттарына үлкен қажеттілік бар. Аталған параметрлер бойынша жаңа піскен жүзімді сатудың жоғары бағасы қалыптасады [2].

Дүние жүзіндегі жүзім шаруашылығының ең маңызды проблемасы жүзімнің ауру тудыратын микроорганизмдерге сезімталдығы болып табылады, бұл айтарлықтай экономикалық залалға, соның ішінде өнімнің азаюына және пестицидтердің жанама теріс әсерлеріне әкеледі. Саңырауқұлақ аурулары жүзім дақылдарының сапасын едәуір нашарлатады және мөлшерін, көшеттердің шығуын және жүзім бұталарының беріктігін төмендетеді. Әлемде өсірілетін жүзім сорттарының көпшілігі *Vitis Vinifera* тұқымдасына жатады және саңырауқұлақ қоздырғыштарына, ең алдымен, жалған ақ ұнтаққа (қоздырғыш Оомицет *Plasmopara viticola*, милдью), ақ ұнтақты зеңге (қоздырғыш Аскомицет *Uncinula necator*, оидиум синоним *Erysiphe necator*), сұр шірікке (қоздырғыш аскомицет *Botrytis cinerea*) [3,4] сезімтал болып келеді. 19 ғасырдың ортасында Солтүстік Америкадан Еуропаға отырғызу материалымен әкелінген бұл қоздырғыштар жүзім өсірудің барлық салаларына таралды. Милдью мен оидиумымен және сұр шірікпен күресу үшін әртүрлі типтегі фунгицидтермен емдеу қолданылады. Еуропалық Одақтың мәліметтері бойынша жүзім өсіруде қолданылатын пестицидтердің 85% - дан астамы фунгицидтерден келеді [5]. Фунгицидтердің қоршаған ортаға теріс әсерінен басқа, олар патогендерге төзімділіктің дамуын тудырады [6]. Бұл ауруларға төзімділіктің генетикалық көздерін, сондай-ақ егістік жағдайында осы төзімділіктің тұқым қуалаушылық пен тұрақтылығын анықтау бойынша халықаралық жұмыстар жүргізілуде [7]. Мысалы, милдью мен оидиумға төзімділігі әртүрлі қазақстандық және кейбір ата-аналық сорттарды сипаттау үшін сәйкес локустарда (RUN1, REN1, REN3, Rpv3, Rpv10 және Rpv12) төзімділікке байланысты аллельдердің 11 маркері пайдалана отырып зерттеулер жүргізілді [8]. Кейбір жағдайларда орталық Азиядан келген жүзімде, соның ішінде өзбек сұрыптары Кишмиш Ваткана мен Қара Джанджал, REN1 локусында негізгі R-гені анықталды. Run1-ге қарағанда тиімділігі төмен болғанымен, әлі де сезімтал *V. vinifera* сорттарында РМ өсуін және споралануын айтарлықтай шектей алады [9-11]. Сонымен қатар, жалған ақ ұнтаққа төзімді Regent сорты ұзақ мерзімді селекцияның нәтижесі болып табылады және *Vitis* түрлерінің "кешені" болып табылады, олардың ішінде: *V. rupestris*, *V. aestivalis*, *V. riparia*, *V. labrusca*, *V. cinerea* [12]. "Бианка" сортында жалған ақ ұнтаққа төзімділіктің екі сандық белгісі анықталды, олардың бірі Шығыс Азияның жабайы түрі *Vitis amurensis*-тен әкелінді [13]. Микроскопиялық және морфологиялық бақылауларға негізделген жалған ақ ұнтаққа төзімділікті бағалау 6 *V. amurensis*, 3 *V. rotundifolia* және он қытай сорттарын 5 төзімділік/сезімталдық деңгейіне бөлуге мүмкіндік берді [14].

Зерттеулерге [15] сәйкес жүзім түрлерінің өкілдері қазіргі уақытта *Erysiphe necator*-ға төзімділіктің мынадай негізгі локустарын анықтады: RUN1, RUN2, REN1, REN2, REN3, REN4, REN5, REN6, REN7. Қазақстанда өсірілетін төзімділіктің молекулалық алғышарттарын, сондай-ақ перспективті отандық және шетелдік сорттарды анықтау үшін әлемдік ғылымда әзірленіп жатқан жалған ақ ұнтаққа (*Plasmopara viticola*) және ақ ұнтаққа (*Erysiphe necator*) төзімділіктің сандық белгілерінің локустарына молекулалық маркерлерді игеру және пайдалану қажет. Бірқатар локустар үшін маркерлерді бір уақытта пайдалану бір генотипте бірнеше локустарды анықтауға мүмкіндік береді. Гендердің тіркесімі бір және тіпті бірнеше қоздырғыштарға төзімділікті сақтаудың тиімділігі мен ұзақтығын арттырады (пирамидалық әсер).

#### **Әдістер мен материалдар**

Жүзімнің жалған ақ ұнтаққа төзімділігін (*Plasmopara viticola*) бағалау үшін 9 отандық, 7 шетелдік сорт және Қазақ жеміс-көкөніс шаруашылығы институтының коллекциясынан 29

гибрид пайдаланылды. Талдау М. А. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институтының зертханасында жүргізілді. Жүзім жапырақтарынан геномдық ДНҚ (Doyle and Doyle, 1990) хаттамасына сәйкес шамалы өзгертулермен оңтайландырылған әдіспен бөлініп алынды [16,17]. Бөлініп алынған ДНҚ сапасы мен мөлшерін тексеру 1 x Тае буферіндегі 1.4% агарозды геледе электрофорез арқылы жүргізілді (0.04 М-Трис HCl, 0.02 MCH<sub>3</sub>COONa, 0.01 M EDTA, PH 8.0). Ал концентрациясы NanoDrop 2000 C (Thermo Scientific) спектрофотометрімен өлшенді. Алынған ДНҚ препараттарының тазалығы 260 және 280 нм (және 260/280) толқын ұзындығындағы сіңіру қатынасымен анықталды. Таза ДНҚ үшін 260/280 қатынасы 1.7-ден 1.9-ға дейінгі препарат қарастырылды.

Отандық сорттар мен будандарда жалған ақ ұнтаққа төзімділікті бағалау үшін 5 молекулалық маркер қолданылды (Кесте 1). Жүзім сорттарының сәйкес сипаттамалары үшін 1-кестеде 3 локуста қолданылатын 5 микросателлиттік маркерлердің тізбегі көрсетілген: Rpv3-GF18-08, GF18-06; Rpv10- GF09-46, GF09-48; Rpv12- GF14-28 (Кесте 2).

**Кесте 1** Зерттеуде қолданылған маркерлердің сипаттамасы

Маркер	Төзімділік	локус	Хромо сома	Аллель	Төзімділік көзі	Референс
GF18-08	милдью	Rpv3	18	399	Регент	Schwander (2010)
GF18-06	милдью	Rpv3	18	389	Регент	Schwander (2010)
GF09-46	милдью	Rpv10	09	416	Солярис	Schwander (2010)
GF09-48	милдью	Rpv10	09	359	Солярис	Schwander (2010)
GF14-28	милдью	Rpv12	14	150	V. amurensis	Schwander (2011)

**Кесте 2** Жалған ақ ұнтаққа төзімділік локустарын анықтау үшін пайдаланылатын олигонуклеотидтер тізбегі

Маркер	Тура праймер	Кері праймер	Өлшемі
GF18-08	GACAATAGCGAGAGAGAATGGG	AGTTGGCTAAAACCCTAGAGGC	399
GF09-46	GAGAGATTTGAGGGATTGTTGG	ATCCACGTTTGTAGCCTTTTGT	416
GF09-48	TCTGGAAAGCACAGTAGAGAAGTG	ATGGAAGGAACCAATGCTAAGA	359
GF14-28	TTGGTTCATGGTTGATGCTTAC	ACCACATGCAGACAGGTTAGTG	150
GF18-06	GGTCTCCTAGAAAGCCAAGCAA	TCCSTTTTCCCCTTGTTCTCG	389

ПТР мультиплексі 2,5 мкл QIAGEN Master Mix, 0,01 мкл (100 pmol/мкл) қолданылатын маркердің тікелей және кері олигонуклеотидтері (1-кесте), 1,38 мкл деонизацияланған стерильді су және 1 мкл ДНҚ бар 5 мкл көлемінде жүргізілді. Геномдық ДНҚ концентрациясы 1 нг / мкл болды. Бұл жағдайда маркерлер 2 топқа бөлінді: бірінші топта 2 маркер болды (GF 18-08, GF 14-28), екінші 3 (GF 18-06, GF 09-46, GF 09-48.). Амплификация келесі бағдарлама бойынша жүргізілді: бір цикл 15 мин.95°C кезінде; келесі кезеңдерден тұратын 30 цикл – 30 сек. 94°C кезінде, 1,5 мин. 60°C кезінде және 1 мин. 72°C кезінде; және 1 циклдің соңында 30 мин. 72°C кезінде. ПТР аяқталғаннан кейін өнім екі рет сұйылтылып, 2 мкл алынды, LIZ (Size standard 500 Liz Applied Biology) бояумен белгіленген стандартты өлшемдермен араластырылды, қоспаның жалпы көлемі 14,5 мкл болды. ПТР капиллярлық электрофорез өнімдері 3500 автоматты генетикалық ДНҚ анализаторында (Applied Biosystems) жүргізілді. Алынған ПТР фрагменттерін талдау үшін GeneMapper 4.0 бағдарламасы қолданылды. Деректерді өңдеу MS Excel бағдарламасында қолмен жүргізілді.

#### **Нәтижелер және талқылау**

Үлгілер Талғарда Қазақ жеміс-көкөніс шаруашылығы ғылыми зерттеу институтының помологиялық бағында жиналды: Алма–Ата, Айсұлу, Қызыл таң, Кара көз, Тайфи розовый, Мускат Казахстанский; Жемчуг саба, Мускат Узбекистанский, Ризамат. Илийский, Самал, Береке, Алмалы; Рислинг, Фиолетовый ранний, Сапери сорттары. Гибридтер: 1 - Молдова x

Кызыл Тан; 2 - Дорой белый х Илийский; 3 - Илийский х Самал; 4 -Июльский х Мускат Венгерский; 5 - Кызыл Тан х Юб. Молдова; 6-Дорой белый х Приусадебный; 7-Молдова х Кишмиш Казахстанский; 8-Молдова х Кызыл Тант; 9-Молдова х Кызыл Тан; 10-Июльский х Мускат Венгерский; 11-Молдова х Кишмиш Казахстанский; 12-Молдова х Кызыл Тан; 13-Июльский х Мускат Венгерский; 14-Алмалы х Мускат Венгерский; 15-Июльский х Мускат Венгерский; 16-Молдова х Крымский Жемчуг; 17-Молдова х Крымский Жемчуг; 18-Молдова х Крымский Жемчуг; 19-Алмалы х Мускат Венгерский; 20-Кызыл Тан х Юбил. Молдова; 21 - Молдова х Кишмиш; 22-Дорой белый х Приусадебный; 23-Молдова х Муромец; 24-Дорой белый х Приусадебный; 25-Кызыл Тан х Юбил. Молдова; 26-Дорой белый х Приусадебный; 27-Молдова х Муромец; 28-Дорой белый х Приусадебный; 29-Алмалы х Мускат Венгерский.

Зерттеуге алынған қазақстандық жүзім сорттары мен гибридтерге молекулярлық-генетикалық талдау нәтижесінде жалған ақ ұнтаққа (ЛМР, милдью) төзімділік локустарының болуына оң аллельдері бар 7 сорт және 9 гибридтер анықталды. Бақылау ретінде тұрақтылықпен корреляцияланған тізбектердің тұқым қуалауын растау үшін кейбір бастапқы ата-аналық сорттар пайдаланылды (кесте 3). Rpv10 (9-хромосомасындағы) жалған ақ ұнтаққа (ЖАҰ, милдью) ('Solaris' туралы *V. amurensis*) [18] сияқты төзімділігі бар locus Алмалы, Береке, Фиолетовый ранний сорттарында анықталды. Алмалы сорты ерте-орташа пісетін [19] мәліметтері бойынша, ол ЖАҰ милдью және оидиум сияқты ауруларға салыстырмалы түрде далалық төзімділікпен ерекшеленеді және пайдаланудың техникалық бағыты болып табылады. Біздің зерттеу нәтижелеріміз бойынша 3-кестеде Алмалы сортында Rpv10 locus бойынша жалған ақ ұнтаққа төзімді екі аллель анықталды (GF09-46 – 416 н.т., GF09-48 – 359 н. т.). "Алмалы" сортының ата-анасы Фиолетовый ранний сорты болып саналады, ал оның ата-анасы-ресейлік "Северный" сорты, соңғысы *vitis Amurensis* жүзімінің жабайы түрінен төзімділікке ие болды, оны Rpv10 locus бойынша төзімділік аллелінің тұқым қуалауынан байқауға болады (416 нт). Алмалы сортынан басқа, Rpv10 locus-ындағы екі аллель бойынша жалған ақ ұнтаққа төзімділік Береке сортында анықталды, оның төзімділігі де "Северный" сортынан шыққан. Береке милдью мен оидиумға өте төзімді қасиетімен ерекшеленеді.

**Кесте 3** Қазақстандық жүзім сорттарындағы микросателлиттік маркерлермен байланысты және жалған ақ ұнтаққа төзімділікпен корреляцияланатын өлшемдер

Жалған ақ ұнтақ (милдью)										
Локус	Rpv3				Rpv10				Rpv12	
Маркер	GF18-08		GF18-06		GF09-46		GF09-48		GF14-28	
Төзімділік аллелдері	399		389		416		359		150	
Алмалы	387	391	382	397	396	<b>416</b>	348	<b>359</b>	165	180
Алма - ата	389	393	382	<b>389</b>	424	424	348	348	170	180
Айсулу	385	386	382	387	396	424	348	348	180	180
Береке	386	387	385	397	<b>416</b>	424	348	<b>359</b>	180	180
Илийский	386	392	383	386	396	424	349	349	172	180
Жемчуг саба	386	386	382	<b>389</b>	396	424	348	348	180	180
Кызыл тан	385	386	382	400	424	424	348	348	166	180
Кара коз	387	387	376	376	423	423	348	348	168	180
Мускат Узб-й	386	393	381	391	423	423	348	348	180	180
Мускат Каз-й	385	391	387	400	424	424	348	348	160	162
Рислинг	386	392	382	385	424	426	348	348	169	171
Ризамат	385	389	<b>389</b>	400	424	424	348	348	170	180
Саперави	387	391	382	385	396	396	348	348	180	180
Самал	386	387	385	397	424	424	348	348	162	180
Тайфи розовый	385	389	<b>389</b>	400	395	424	347	348	164	180
Фиолетовый ранний	387	393	391	397	<b>416</b>	424	348	<b>359</b>	162	165

Ескерту - оң аллельдер кою шрифтімен белгіленген (+/- 1 аллель).

Rpv10 жалған ақ ұнтаққа (милдью) төзімділік локусынан басқа, сәйкесінше 18 және 14-ші хромосомаларда локализацияланған локустар үшін Rpv3 және Rpv12 маркерлері пайдаланылды [20]. Қазақстандық Береке, Самал және Алмалы сорттарындағы патогендерге төзімділік *V. amurensis* (rpv10 локусы) тұқым қуалағаны анық. Береке және Самал сорттарының милдью патогеніне төзімділігін ескере отырып, әрбір патогенге төзімділіктің жаңа болжамды локустары үшін жаңа маркерлерді әзірлеу үшін қосымша зерттеулер қажет. Бұрын төзімділікпен байланысты Орталық Азияның жабайы және мәдени жүзіміндегі REN1 локус аллельдері төрт SSR маркеріне негізделген [21]. Алайда, 40 V үлгісінің екі өкілі *Vinifera subsp.* сильвестрлер далалық сынақтарда тұрақты деп анықталды, олардың біріншісінде төрт аллель, ал екіншісінде тек екеуі болды. Зерттеушілер рекомбинация нәтижесінде басқа маркерлер бойынша аллельдер жоғалған деп болжайды. Басқа жағдайларда төзімділікпен байланысты аллельдің болуы мөлшері бойынша гомоплазиямен байланысты болуы мүмкін. Осылайша, қызығушылық тудыратын аллельдер болса да, маркерлерді талдау үлгілерді дала скринингі кезінде тексерілуі қажет ықтимал тұрақты үлгілер ретінде анықтауға мүмкіндік береді. Сондай-ақ, гибридтердің генетикалық талдауы төзімділіктің "негізінен тұқым қуалайтынын, бірақ төзімділік дәрежесі полигендік әсерлермен анықталатынын" көрсетті.

Rpv12 локусы бойынша зерттелген сорттардың ешқайсысы оң нәтиже берген жоқ. Ал төрт сорт - Алма ата, Жемчуг саба, Ризамат және Тайфи розовый жүргізілген зерттеуден Rpv3 локусында оң нәтиже көрсетті, оң аллель -389 нт (3-кестені қараңыз). Отандық Алма-Ата сорты-орташа пісетін асханалық сорты. Жалған ақ ұнтаққа төзімділігі орташа. Жемчуг саба мен Тайфи розовый екі сорттарда да Rpv 3 төзімділік локустары анықталды.

#### Жүзім гибридтерінің жалған ақ ұнтаққа төзімділік локустарын анықтау

Жүзім сорттарымен қатар саңырауқұлақ ауруларына төзімділігі бар сорттардан алынған гибридтер үлгілеріне де жалған ақ ұнтаққа (милдью) төзімділік локустарының бар болуына жүргізілген молекулалық-генетикалық зерттеу жүргізілді. Нәтижесінде 1 - 3 локус бойынша төзімділігі бар оң аллельдер 9 линиялардан (29-дан) анықталды (№4 кесте).

**Кесте 4** Жүзім гибридтеріндегі микросателлиттік маркерлермен байланыстырылған және жалған ақ ұнтаққа (милдью) төзімділікпен байланысты аллелдер өлшемдері.

Жалған ақ ұнтақ (милдью)										
Локус	Rpv3				Rpv10				Rpv12	
Маркер	GF18-08		GF18-06		GF09-46		GF09-48		GF14-28	
Үлгілер \Төзімділік аллелдері	<b>399</b>		<b>389</b>		<b>416</b>		<b>359</b>		<b>150</b>	
1	386	386	368	380	408	408	337	349	159	166
2	387	387	374	397	<b>416</b>	423	349	<b>359</b>	166	180
3	391	391	381	381	395	423	349	349	172	180
4	386	386	374	380	423	423	349	349	170	180
5	385	387	374	400	423	423	349	349	166	180
6	387	387	374	380	394	423	349	349	170	180
7	386	397	380	387	424	424	348	348	166	170
8	386	397	380	387	408	424	336	348	158	164
9	384	384	380	400	408	423	336	349	158	170
10	391	391	379	387	<b>416</b>	423	349	<b>359</b>	170	180
11	386	397	380	<b>389</b>	408	423	336	349	158	164
12	386	397	380	<b>389</b>	423	423	349	349	166	170
13	377	391	378	386	423	423	349	349	170	180
14	387	387	374	380	423	423	349	349	170	180
15	387	391	381	387	423	423	349	349	160	180
16	385	385	380	401	408	423	336	349	158	158
17	385	397	<b>389</b>	400	423	423	349	349	164	166
18	385	385	400	400	408	423	336	349	158	158
19	386	386	375	380	423	423	349	349	170	180
20	386	397	380	388	423	423	349	349	166	180

21	385	397	<b>389</b>	400	408	423	336	349	166	170
22	386	397	380	386	423	423	349	349	170	180
23	386	393	385	388	408	423	336	349	164	166
24	386	397	385	391	423	423	349	349	166	170
25	384	386	380	<b>389</b>	423	423	349	349	166	180
26	386	397	386	<b>389</b>	423	423	349	<b>359</b>	170	180
27	386	393	385	<b>389</b>	408	423	336	349	164	166
28	386	386	380	391	423	423	349	349	166	180
29	386	397	374	380	423	423	348	348	170	180

*Ескерту:* Гибридтердің нөмірлері - 1 - Молдова х Кызыл Тан; 2 - Дорой белый х Илийский; 3 - Илийский х Самал; 4 -Июльский х Мускат Венгерский; 5 - Кызыл Тан х Юб. Молдова; 6-Дорой белый х Приусадебный; 7-Молдова х Кишмиш Казахстанский; 8-Молдова х Кызыл Тан; 9-Молдова х Кызыл Тан ; 10-Июльский х Мускат Венгерский; 11-Молдова х Кишмиш Казахстанский; 12-Молдова х Кызыл Тан; 13-Июльский х Мускат Венгерский; 14-Алмалы х Мускат Венгерский; 15-Июльский х Мускат Венгерский; 16-Молдова х Крымский Жемчуг; 17-Молдова х Крымский Жемчуг; 18- Молдова х Крымский Жемчуг; 19-Алмалы х Мускат Венгерский; 20-Кызыл Тан х Юбил. Молдова; 21 -Молдова х Кишмиш; 22-Дорой белый х Приусадебный; 23-Молдова х Муромец; 24-Дорой белый х Приусадебный; 25-Кызыл Тан х Юбил. Молдова; 26-Дорой белый х Приусадебный; 27-Молдова х Муромец; 28-Дорой белый х Приусадебный; 29-Алмалы х Мускат Венгерский.

*Оң аллельдер қою шрифтімен белгіленген.*

Зерттеулер нәтижесінде 4-ші кестеде берілген Rpv10 (9-хромосома) жалған ақ ұнтаққа төзімділік локусы мынандай гибридтерде анықталды: №2- Дорой белый х Илийский және №10- Июльский х Мускат Венгерский Rpv10 локусы бойынша екі төзімділік аллель анықталды (GF09-46 - 416 н. т. және GF09 - 48-359 н.т.). Ал №26-Дорой белый х Приусадебный гибридінде тек 1 локуста (GF09-48 – 359 н.т.) оң аллель анықталды. Rpv10 локусынан басқа, сәйкесінше 18 және 14-ші хромосомаларда локализацияланған локустар үшін Rpv3 және Rpv12 маркерлері пайдаланылды [20]. Гибридтердің жеті линиясында төзімділік аллельдері анықталды: №11-Молдова х Кишмиш Казахстанский; №12-Молдова х Кызыл Тан; №17- Молдова х Крымский Жемчуг; №21 -Молдова х Кишмиш; №25-Кызыл Тан х Юбил. Молдова; №26-Дорой белый х Приусадебный және №27-Молдова х Муромец жүргізілген зерттеуден Rpv3 локусы бойынша оң нәтиже көрсетті, оң аллель -389 н.п. (4-кестені қараңыз). Rpv12 локусы бойынша зерттелген гибридтік линиялардың ешқайсысы оң нәтиже берген жоқ.

### **Қорытынды**

Осылайша, Қазақстандық селекция сорттары мен гибридтерінде үш локус бойынша 5 молекулалық маркердің көмегімен жалған ақ ұнтаққа (милдью) төзімділік гендерінің тасымалдаушылары оң аллельдері бар 7 сорт және 9 гибридтер анықталды: Сорттар - Алмалы, Береке, Алма - ата, Жемчуг саба, Ризамат, Тайфи розовый, Фиолетовый ранний. Гибридтер: №2 - Дорой белый х Илийский; №10-Июльский х Мускат Венгерский; №11-Молдова х Кишмиш Казахстанский; 12-Молдова х Кызыл Тан; 17-Молдова х Крымский Жемчуг; №21 - Молдова х Кишмиш; 26-Дорой белый х Приусадебный; 27-Молдова х Муромец. Жоғары өнімділік маркері үшін өзгерістерге төзімді жүзім сорттарын таңдауға, «мінсіз» түрлерін табуға көмектесу генетикалық маркерлер ресми нұсқаулық болып табылады. Алынған деректер саңырауқұлақ ауруларына төзімділігі жоғары жаңа жүзім сорттарын жасау үшін селекция процесінде дәлелденген ата-аналық формаларды пайдалануға мүмкіндік береді. Олар - Алмалы, Береке және Фиолетовый ранний сорттарында милдьюға төзімді екі локус гендері бар екендігі дәлелденді.

**Алғыс:** Мақала МҚБ жобасының қаражатымен жарияланды (ИРН BR22884599) «Заманауи әдістемені қолдана отырып белгіленген параметрлермен жеміс-жидек дақылдары мен жүзімнің жаңа сорттарын жасау және жоғары өнімді бақтарға аймақтық технологияларын әзірлеу» және (ИРН BR22885418) Қазақстан Республикасында ауыл шаруашылығы өнімінің органикалық өндірісінің технологиялық дамуын ғылыми қамтамасыз ету.

### Қолданылған әдебиеттер

1. Г.О. Кантуреева, Б.А. Мурзабаев, Б.О. Раисов Изучение биологической и пищевой ценности сухофруктов из сортов винограда, произрастающего на юге Казахстана // Исследования, результаты -2023 г. - №4. - С. 277-285. <https://doi.org/10.37884/4-2023/30>
2. Nakhforoosh, A. Dissection of drought response of modern and underutilized wheat varieties according to Passioura's yield-water framework / AlirezaNakhforoosh, Hein-rich Grausgruber, Hans-Peter Kaul and Gernot Bodner // Plant Sci. Publishedonline 2015 Jul 23. doi: 10.3389/fpls.2015.00570
3. Armijo G, Schlechter R, Agurto M, Muñoz D, et al. (2016). Grapevine Pathogenic Microorganisms: Understanding Infection Strategies and Host Response Scenarios. *Front. Plant Sci.* 7: 1-18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00382>.
4. Blasi P, Schnee S, Wiedemann-Merdinoglu S et al. Genetic analysis of the resistance to downy and powdery mildews derived from cultivar // Bronner. In: 6th international workshop of grapevine downy and powdery mildew. – 2010. – P. 282-289.
5. F. Massi, S.F. Torriani, L. Borghi, S.L. Toffolatti Fungicide resistance evolution and detection in plant pathogens: plasmopara viticola as a case study *Microorganisms*, 9 (2021), p. 119
6. This P., Lacombe T., Thomas M. Historical origin and genetic diversity of wine grapes // *Trends in Genetics*. – 2006. – Vol. 22. – P. 511-519.
7. Inés Hernández, Salvador Gutiérrez, Javier Tardaguila Image analysis with deep learning for early detection of downy mildew in grapevine // *Scientia Horticulturae* Volume 331, 1 May 2024, 113155. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113155>
8. A.S. Pozharskiy, K.P. Aubakirova, D.A. Gritsenko, N.I. Tlevlesov, N.Zh. Karimov, N.N. Galiakparov and N.A. Ryabushkina Genotyping and morphometric analysis of Kazakhstani grapevine cultivars versus Asian and European cultivars // *Genetics and Molecular Research*. – 2020. – Vol. 19 (1). – P. 18482.
9. Hofmann S., Di Gaspero G., Kovács L., Howard S., Kiss E., Galbács Z., Testolin R., Kozma P. Resistance to *Erysiphe necator* in the grapevine ‘Kishmish vatkana’ is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth // *Theoretical Applied Genetics* . – 2008. – Vol. 116. – P. 427-438.
10. Coleman C, Copetti D, Cipriani G, Hoffmann S, et al. (2009). The powdery mildew resistance gene REN1 co-segregates with an NBS-LRR gene cluster in two Central Asian grapevines. *BMC Genet.* 10: 89. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-10-89>.
11. Agurto M, Schlechter RO, Armijo G, Solano E, et al. (2017). RUN1 and REN1 pyramiding in grapevine (*Vitis vinifera* cv. Crimson seedless) displays an improved defense response leading to enhanced resistance to powdery mildew (*Erysiphe necator*). *Front. Plant Sci.* 8: 758. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00758>.
12. Töpfer, R., H Ausmann, L., Harst, M., Maul, E., Zyprian, E., Eibach R. New horizons for grapevine breeding // In: H. Flachowski, M. V. Hanke (Eds): *Methods in temperate fruit breeding*, 79-100. – Global Science Books. – 2011. – P. 79-100
13. Schmitt A., Rex M., Ebert S., Friedt W., Töpfer R., Zyprian E. Marker Development for Important Grapevine Traits by Genetic Diversity Studies and Investigation of Differential Gene Expression // In: S. Delrot et al. (eds.), *Methodologies and Results in Grapevine Research*, Springer Science+Business Media B. – 2010. – Ch. 27. – P. 375-487.
14. Eibach R., Töpfer R. Success in resistance breeding: „Regent“ and its steps into the market // *Proceedings of the VIIIth International Conference on rape Genetics and Breeding*. – Kecskemét, Hungary. – 2003. – P. 687-692.
15. Blanc S., Wiedemann-Merdinoglu S., Dumas V., Mestre P., Merdinoglu D. A reference genetic map of *Muscadinia rotundifolia* and identification of Ren5, a new major locus for resistance to grapevine powdery mildew // *Theor Appl Genet.* –2012. – Vol. 125. – P. 1663-1675.
16. Doyle JJ and Doyle JL (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 12: 13-15.

17. Aubakirova K., Omasheva M., Ryabushkina N., Tazhibaev T., Kampitova G., Galiakparov N. Evaluation of five protocols for DNA extraction from leaves of *Malus sieversii*, *Vitis vinifera* and *Armeniaca vulgaris* // Genetics and Molecular Research. – 2014. – Vol. 13 (1). – P. 1278-1287.
18. Bisson J. Essai de classement des cepages francais en ecogeogroupes phenotypiques // International des Sciences de la Vigne et du Vin. – 1999. – Vol. 33. P. 105-110
19. Казахский научно-исследовательский институт плодоводства и виноградарства / Районированные и перспективные сорта плодовых, ягодных культур и винограда для Юга и Юго-Востока Казахстана // Алматы. – 2008г. – 46 с.
20. Di Gaspero G., Copetti D., Coleman C., Castellarin S.D., Eibach R., Kozma P., Lacombe T., Gambetta G., Zvyagin A., Cindri P., Kovács L., Morgante M., Testolin R. Selective sweep at the Rpv3 locus during grapevine breeding for downy mildew resistance // Theoretical Applied Genetics. – 2012. – Vol. 124. – P. 277-286.
21. Riaz S, Boursiquot JM, Dangl GS, Lacombe T, et al. (2013). Identification of mildew resistance in wild and cultivated Central Asian grape germplasm. BMC Plant Biol. 13: 149. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-149>

### References

1. G.O. Kantureeva, B.A. Murzabaev, B.O. Raisov Izuchenie biologicheskoy i pishhevoj tsennosti sukhofruktov iz sortov vinograda, proizrastayushhego na yuge Kazakhstana // Issledovaniya, rezul'taty -2023 g. - №4. - S. 277-285. . <https://doi.org/10.37884/4-2023/30>
2. Nakhforoosh, A. Dissection of drought response of modern and underutilized wheat varieties according to Passioura's yield-water framework / AlirezaNakhforoosh, Hein-rich Grausgruber, Hans-Peter Kaul and Gernot Bodner // Plant Sci. Publishedonline 2015 Jul 23. doi: 10.3389/fpls.2015.00570
3. Armijo G, Schlechter R, Agurto M, Muñoz D, et al. (2016). Grapevine Pathogenic Microorganisms: Understanding Infection Strategies and Host Response Scenarios. *Front. Plant Sci.* 7: 1-18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00382>.
4. Blasi P, Schnee S, Wiedemann-Merdinoglu S et al. Genetic analysis of the resistance to downy and powdery mildews derived from cultivar // Bronner. In: 6th international workshop of grapevine downy and powdery mildew. – 2010. – P. 282-289.
5. F. Massi, S.F. Torriani, L. Borghi, S.L. Toffolatti Fungicide resistance evolution and detection in plant pathogens: plasmopara viticola as a case study *Microorganisms*, 9 (2021), p. 119
6. This P., Lacombe T., Thomas M. Historical origin and genetic diversity of wine grapes // Trends in Genetics. – 2006. – Vol. 22. – P. 511-519.
7. Inés Hernández, Salvador Gutiérrez, Javier Tardaguila Image analysis with deep learning for early detection of downy mildew in grapevine // [Scientia Horticulturae Volume 331](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113155), 1 May 2024, 113155. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113155>
8. A.S. Pozharskiy, K.P. Aubakirova, D.A. Gritsenko, N.I. Tlevlesov, N.Zh. Karimov, N.N. Galiakparov and N.A. Ryabushkina Genotyping and morphometric analysis of Kazakhstani grapevine cultivars versus Asian and European cultivars // Genetics and Molecular Research. – 2020. – Vol. 19 (1). – P. 18482.
9. Hofmann S., Di Gaspero G., Kovács L., Howard S., Kiss E., Galbács Z., Testolin R., Kozma P. Resistance to Erysiphe necator in the grapevine ‘Kishmish vatkana’ is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth // Theoretical Applied Genetics . – 2008. – Vol. 116. – P. 427-438.
10. Coleman C, Copetti D, Cipriani G, Hoffmann S, et al. (2009). The powdery mildew resistance gene REN1 co-segregates with an NBS-LRR gene cluster in two Central Asian grapevines. BMC Genet. 10: 89. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-10-89>.
11. Agurto M, Schlechter RO, Armijo G, Solano E, et al. (2017). RUN1 and REN1 pyramiding in grapevine (*Vitis vinifera* cv. Crimson seedless) displays an improved defense response leading to enhanced resistance to powdery mildew (*Erysiphe necator*). *Front. Plant Sci.* 8: 758. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00758>.

12. Töpfer, R., H Ausmann, L., Harst, M., Maul, E., Zyprian, E., Eibach R. New horizons for grapevine breeding // In: H. Flachowski, M. V. Hanke (Eds): Methods in temperate fruit breeding, 79-100. – Global Science Books. – 2011. – P. 79-100
13. Schmitt A., Rex M., Ebert S., Friedt W., Töpfer R., Zyprian E. Marker Development for Important Grapevine Traits by Genetic Diversity Studies and Investigation of Differential Gene Expression // In: S. Delrot et al. (eds.), Methodologies and Results in Grapevine Research, Springer Science+Business Media B. – 2010. – Ch. 27. – P. 375-487.
14. Eibach R., Töpfer R. Success in resistance breeding: „Regent“ and its steps into the market // Proceedings of the VIIIth International Conference on rape Genetics and Breeding. – Kecskemét, Hungary. – 2003. – P. 687-692.
15. Blanc S., Wiedemann-Merdinoglu S., Dumas V., Mestre P., Merdinoglu D. A reference genetic map of *Muscadinia rotundifolia* and identification of Ren5, a new major locus for resistance to grapevine powdery mildew // *Theor Appl Genet.* –2012. – Vol. 125. – P. 1663-1675.
16. Doyle JJ and Doyle JL (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 12: 13-15.
17. Aubakirova K., Omasheva M., Ryabushkina N., Tazhibaev T., Kampitova G., Galiakparov N. Evaluation of five protocols for DNA extraction from leaves of *Malus sieversii*, *Vitis vinifera* and *Armeniaca vulgaris* // *Genetics and Molecular Research.* – 2014. – Vol. 13 (1). – P. 1278-1287.
18. Schwander F, Eibach R, Fechter I, Hausmann L, et al. (2011). *Rpv10*: a new locus from the Asian *Vitis* gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine. *Theor Appl Genet.* 124: 163-176. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1695-4>.
19. Kazakhskij nauchno-issledovatel'skij institut plodovodstva i vinogradarstva / Rajonirovannye i perspektivnye sorta plodovykh, yagodnykh kul'tur i vinograda dlya YUga i YUgo-Vostoka Kazakhstana // *Almaty.* – 2008 g. – 46 s.
20. Di Gaspero G., Copetti D., Coleman C., Castellarin S.D., Eibach R., Kozma P., Lacombe T., Gambetta G., Zvyagin A., Cindri P., Kovács L., Morgante M., Testolin R. Selective sweep at the *Rpv3* locus during grapevine breeding for downy mildew resistance // *Theoretical Applied Genetics.* – 2012. – Vol. 124. – P. 277-286.
21. Riaz S, Boursiquot JM, Dangl GS, Lacombe T, et al. (2013). Identification of mildew resistance in wild and cultivated Central Asian grape germplasm. *BMC Plant Biol.* 13: 149. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-149>

**Л.А. Ажитаева<sup>1,2</sup>, К.П. Аубакирова<sup>\*3</sup>, С.Ж. Казыбаева<sup>2</sup>, С.Б. Корбаева<sup>2</sup>,  
А.А. Айтенов<sup>2</sup>, Л.С. Ерболова<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> *Казакский национальный аграрный исследовательский университет, г. Алматы, Казахстан, [Lako\\_1992@mail.ru](mailto:Lako_1992@mail.ru)*

<sup>2</sup> *«Казакский научно-исследовательский институт плодовоовощеводства», г.Алматы, Казахстан, [saule\\_5\\_67@mail.ru](mailto:saule_5_67@mail.ru), [korabayeva\\_saule@mail.ru](mailto:korabayeva_saule@mail.ru), [Asilbek\\_zero@mail.ru](mailto:Asilbek_zero@mail.ru)*

<sup>3</sup> *Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина, г. Алматы, Казахстан, [karla\\_78@mail.ru](mailto:karla_78@mail.ru)\*, [yerbolova.laura7@gmail.com](mailto:yerbolova.laura7@gmail.com)*

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ ВИНОГРАДА И ГИБРИДОВ КАЗАХСТАНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ К БОЛЕЗНИ МИЛДЬЮ (*PLASMOPARA VITICOLA*) С ДНК-МАРКЕРАМИ**

### **Аннотация**

Виноград является важной плодовой культурой в Казахстане. Милдью (ложная мучнистая роса) – одно из наиболее распространенных грибных заболеваний винограда, вызываемое возбудителем *Plasmopara viticola*. Эффективный способ борьбы с распространением патогена является - возделывание устойчивых сортов. Сорты *Vitis vinifera* считаются основой высококачественного виноградарства, но восприимчивы к *P. viticola*. Поиск доноров устойчивости – важный этап в селекции. В данной работе нами были проведены исследования методом ПЦР выбранных сортов винограда и гибридов

казахстанской селекции с использованием 5 ДНК-маркеров (GF18-08, GF18-06, GF09-46, GF09-48, GF14-28), связанных с генами устойчивости к милдью по 3 локусам Rpv10, Rpv12 и Rpv3. В результате проведенного молекулярно-генетического исследования на наличие локусов устойчивости к милдью ложной мучнистой росе (ЛМР) были определены 7 сортов (из 16) и 9 гибридов (из 29) с положительными аллелями. Из них по локусу Rpv3 – 6 гибридов и 4 сорта, по локусу Rpv10 – в трех сортах Алмалы, Береке и Фиолетовый ранний и 3 гибрида были выявлены два аллеля (маркеры GF09-46, GF09-48). Гены устойчивости Rpv12 не обнаружены. В качестве контроля были использованы некоторые исходные родительские сорта для подтверждения наследования последовательностей, коррелирующих с устойчивостью.

**Ключевые слова:** виноград; милдью; устойчивость к ложной мучнистой росе; ДНК-маркеры; Rpv3; Rpv10; Rpv12;

**L.A. Azhitayeva<sup>1,2</sup>, K.P. Aubakirova \*<sup>3</sup>, S.Zh. Kazybayeva<sup>2</sup>, S.B. Korabaeva<sup>2</sup>,  
A.A. Aitenov<sup>2</sup>, L.S. Yerbolova<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Kazakhstan, [lako\\_1992@mail.ru](mailto:lako_1992@mail.ru)

<sup>2</sup> «Kazakh Fruit and Vegetable Research Institute», Almaty, Kazakhstan,  
[saule\\_5\\_67@mail.ru](mailto:saule_5_67@mail.ru), [korabayeva\\_saule@mail.ru](mailto:korabayeva_saule@mail.ru), [Asilbek\\_zero@mail.ru](mailto:Asilbek_zero@mail.ru)

<sup>3</sup> Institute of Molecular Biology and Biochemistry named after M.A. Aitkhozhin, Almaty,  
Kazakhstan, [karla\\_78@mail.ru](mailto:karla_78@mail.ru)\*, [yerbolova.laura7@gmail.com](mailto:yerbolova.laura7@gmail.com),

#### **DETERMINATION OF GENES OF RESISTANCE TO DOWNY MILDEW (*Plasmopara viticola*) IN KAZAKHSTAN-BREEDED GRAPE VARIETIES AND HYBRIDS USING DNA MARKERS**

##### **Abstract**

Grapes are an important fruit crop in Kazakhstan. Downy mildew is one of the most common fungal diseases of grapes caused by *Plasmopara viticola*. An effective way to control the spread of the pathogen is the cultivation of resistant varieties. *Vitis Vinifera* varieties are considered the basis of high-quality viticulture, but are susceptible to *P. viticola*. The search for sustainability donors is an important stage of breeding. In this work, we conducted PCR studies on selected grape varieties and hybrids of Kazakhstani selection using 5 DNA markers (GF18-08, GF18-06, GF09-46, GF09-48, GF14-28) linked to downy mildew resistance genes at the Rpv10, Rpv12 and Rpv3 loci. The separation of reaction products was carried out by the method of capillary electrophoresis using the 3500 (Applied Biosystems) automatic genetic analyzer. The analyzes were carried out according to the possibility of identifying target alleles according to the breed of the samples under study. The Rpv3 gene for powdery mildew resistance was detected in six hybrid genotypes and four varieties. At the Rpv10 locus, it was detected in two markers (GF09-46, GF09-48) in the Almaly, Bereke, and Fioletovy ranny varieties and in three grape hybrids. No Rpv12 resistance genes were found.

**Keywords:** grapes; mildew; downy mildew resistance; DNA markers; Rpv3; Rpv10; Rpv12;