

Генетические исследования сомаклонов винограда и их исходных форм с применением SSR-маркеров

Спотарь Г.Ю.[✉], Зленко Е.А., Мироненко А.А., Клименко В.П., Спотарь Е.Н., Пахомова Е.П.

Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач»
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Ялта, Россия

[✉]molgenet_lab@magarach-institut.ru

Аннотация. Получение сортов винограда с высокими хозяйственными качествами и устойчивостью к агроклиматическим условиям Российской Федерации с использованием биотехнологических методов в настоящее время является одним из актуальных направлений развития для обеспечения продовольственной безопасности и импортозамещения. Выполнено поисковое исследование генетической изменчивости сомаклонов сортов винограда Рута и Кишмиш Е342, регенерировавших из колхицинированных клеток суспензионных культур путем соматического эмбриогенеза. Для генотипирования был использован стандартизированный набор из 9 ядерных SSR-маркеров, применяемый для идентификации сортов винограда. При известной вариабельности SSR-маркеров различий в полученных генотипах сомаклонов и исходных сортов не выявлено – генотипы исходных сортов и сомаклонов идентичны. Ранее проводимые исследования установили достоверные отклики между сомаклонами сортов Рута и Кишмиш Е-342 по приросту и вызреванию лозы. Для обнаружения возможных мутаций в нуклеотидной последовательности под воздействием примененного мутагена необходимо выполнение полногеномного секвенирования генотипов сомаклонов и их родительских форм. На основе полученных генетических профилей было установлено происхождение сортов винограда, использованных для получения сомаклонов с помощью суспензионных культур. Опираясь на профили из созданной генетической базы Института «Магарач», были подтверждены селекционные сведения о родительских формах сорта Рута: сорта Талисман и Кишмиш лучистый. Также подтвердилось происхождение межвидового гибрида – сорта Кишмиш Е342 от родительских форм Вилар Блан и Перлеть согласно профилям генетической базы каталога сортов винограда VIVC.

Ключевые слова: соматический эмбриогенез, сомаклональная изменчивость; вариабельность SSR-маркеров; генетический профиль; происхождение.

Для цитирования: Спотарь Г.Ю., Зленко Е.А., Мироненко А.А., Клименко В.П., Спотарь Е.Н., Пахомова Е.П. Генетические исследования сомаклонов винограда и их исходных форм с применением SSR-маркеров // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2025;27(4):290-296. EDN FOYUNI.

ORIGINAL RESEARCH

Genetic studies of grape somaclones and their original forms using SSR markers

Spotar G.Yu.[✉], Zlenko V.A., Mironenko A.A., Klimenko V.P., Spotar E.N., Pakhomova E.P.

All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking "Magarach" of the National Research Centre "Kurchatov Institute", Yalta, Russia

[✉]molgenet_lab@magarach-institut.ru

Abstract. Obtaining grape varieties with high agronomic traits and resilience to agroclimatic conditions of the Russian Federation using biotechnological methods is currently a pressing objective for ensuring food security and import substitution. An exploratory investigation of genetic variability of somaclones of 'Ruta' and 'Kishmish E-342' grape cultivars, regenerated from colchicine-treated suspension culture cells via somatic embryogenesis, was conducted. Genotyping was performed using a standardized set of 9 nuclear SSR markers employed for grape cultivar identification. Despite the known variability of SSR markers, no differences were detected between the genotypes of somaclones and original cultivars – the genotypes were identical. Previous studies had established reliable differences between the somaclones of 'Ruta' and 'Kishmish E-342' cultivars in shoot growth and vine ripening. In order to identify potential mutations in the nucleotide sequence induced by the mutagenic treatment, whole-genome sequencing of somaclone genotypes and their parental forms is required. The genetic profiles obtained were used to verify the origin of grape cultivars utilized for somaclone production via suspension cultures. Based on the profiles from the Institute Magarach genetic database, the breeding records regarding the parentage of 'Ruta' cultivar – the cultivars 'Talisman' and 'Kishmish Luchisty' – were confirmed. Furthermore, the parentage of interspecific hybrid cultivar 'Kishmish E-342', derived from the parental forms 'Villard Blanc' and 'Perlette', was corroborated using genetic profiles from the Vitis International Variety Catalogue (VIVC) database.

Key words: somatic embryogenesis; somaclonal variability; variability of SSR markers; genetic profile; origin.

For citation: Spotar G.Yu., Zlenko E.A., Mironenko A.A., Klimenko V.P., Spotar E.N., Pakhomova E.P. Genetic studies of grape somaclones and their original forms using SSR markers. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2025;27(4):290-296. EDN FOYUNI (in Russian).

Введение

Создание новых сортов винограда с высокими хозяйственными качествами и устойчивостью к агроклиматическим стресс-факторам Российской Федерации с использованием биотехнологических методов в настоящее время является

одним из актуальных направлений развития виноградарско-винодельческой отрасли для расширения сортимента, обеспечения продовольственной безопасности и импортозамещения. Клеточные технологии, основанные на культивировании тканей растений *in vitro*, облегчают и ускоряют традиционный процесс создания новых сортов и эффективно используются для сохранения генетических ресурсов растений [1].

Используемый в биотехнологии соматический эмбриогенез – это процесс формирования из не-зиготической клетки эмбриона, который проходит через характерные стадии эмбрионального развития и в итоге формирует новое растение. Явление соматического эмбриогенеза широко используется для генетической трансформации растений, а также для получения полиплоидных форм винограда. В Институте «Магарач» разработаны методики соматического эмбриогенеза из клеток сусpenзионных культур сортов винограда и получены сомаклоны сортов, регенерировавшие из колхицинированных клеток сусpenзионных культур путем соматического эмбриогенеза. С целью продолжения изучения сомаклональной изменчивости проведено генотипирование полученных сомаклонов и их исходных форм [2–4].

Для генотипирования и идентификации сортов и форм винограда применяют ДНК-маркеры, среди которых микросателлитные маркеры (SSR-маркеры) являются наиболее значимыми и доступными в применении при идентификации сортов винограда. Микросателлиты (SSR, simple sequence repeat; простые повторяющиеся последовательности) – участки ДНК, состоящие из коротких тандемных повторов: моно-, ди-, три-, тетра- или пента-нуклеотидов. Естественными причинами разнообразия количества тандемных повторов микросателлитов в геноме являются «проскальзывание» (slippage) полимеразы в ходе репликации ДНК, и/или несоответствующий кроссинговер, несовпадение/восстановление повреждений двойной нити ДНК, а также перемещения ретротранспозонов. Эти изменения приводят к полиморфизму длин участков микросателлитных последовательностей. Данный тип генетических маркеров приобрел большую значимость благодаря комплексу свойств: гипервариабельность, мультиаллерельность, кодоминантное наследование, высокая воспроизводимость, повсеместное распределение по геному [5].

Используемые для генотипирования винограда SSR-маркеры включают в себя короткие тандемные повторы длиной 2 пары нуклеотидов. Европейскими научными учреждениями в проектах «GenRes 081» и «GrapeGen06» был разработан и стандартизирован набор из 9 ядерных полиморфных SSR-маркеров, который широко применяется в мировой практике для идентификации сортов винограда. 9 SSR-маркеров были включены в качестве дескрипторов винограда в «OIV Descriptor list of grape vine varieties and Vitis species» (3-rd edition). Полученные знания о генотипах сортов были обработаны и собраны в базах европейских стран, таких как находящийся в открытом доступе Международный каталог сортов винограда

«Vitis International Variety Catalogue» (VIVC), где представлены генетические профили сортов по 9-ти стандартным ядерным SSR-локусам. Данные 9 SSR-маркеров расположены в вариабельных за счет тандемных повторов, не кодирующих участках следующих хромосом: VVMD28 – Chr 3; VVMD32 – Chr 4; VVMD27 – Chr 5; VrZAG79 – Chr 5; VVMD7 – Chr 7; VrZAG62 – Chr 7; VVS2 – Chr 11; VVMD25 – Chr 11; VVMD5 – Chr 16 [6–8].

Исследования на случайной выборке из 90 образцов винограда (40 сортов), не подвергавшихся влиянию особых мутагенных факторов, показали 0,74 % аллелей с отклонением в размере от референсного значения из базы генотипов VIVC [9].

Практическая ценность работы заключается в подтверждении родительских форм исходных сортов Рута и Кишмиш Е-342 для анализа унаследованных сортом хозяйствственно ценных признаков и обеспечения возможности успешных скрещиваний с целью получения аналогичных комбинаций признаков у потомков.

Научной новизной в данном исследовании является проверка результативности использования 9 SSR-маркеров для анализа сомаклональной изменчивости.

Цель исследования – изучить генетическую изменчивость генотипов полученных сомаклонов в сравнении с исходными формами и подтвердить происхождение сортов с помощью стандартизированного набора из 9 SSR-маркеров.

Материалы и методы исследования

Для исследований были использованы столовые сорта Рута и Кишмиш Е-342.

Сорт Рута (Украина) по селекционным данным получен от скрещивания сортов Талисман и Кишмиш лучистый. Хозяйственно ценные качества сорта для промышленного выращивания в агроклиматических условиях России: ранний срок созревания, устойчивость к милдью, оидиуму – 3,5-4,0 балла, морозоустойчивость до –21 °С.

Сорт Кишмиш Е-342 (Венгрия) по селекционным данным получен от скрещивания сортов Виллар блан и Перлтт. Хозяйственно ценные качества сорта для промышленного выращивания в агроклиматических условиях России: очень ранний срок созревания, 3 категория бессемянности, повышенная устойчивость к грибным заболеваниям (2,5-3,0 балла), морозоустойчивость до –24–26 °С. Родительский сорт Перлтт унаследовал фенотип бессемянности от сорта Кишмиш белый овальный (Султанина).

Сомаклоны винограда получены в лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда.

Растительный материал и индукция развития проэмбриогенного каллуса. Вызревшую лозу двух

генотипов винограда заготавливали на ампелографической коллекции и селекционном участке Института «Магарач» и проращивали в сосудах с водой для развития на них зеленых побегов. Зеленые листья, черешки листьев и междуузлия дезинфицировали в течение 10–15 с в 96%-ном этиловом спирте и 10 мин, в растворе диоцида (1,86 мМ $C_{21}H_{38}C_1N \cdot H_2O$; 1,25 мМ $C_2H_5N \cdot gCl$) в воде. Затем их промывали дистиллированной стерильной водой несколько раз в течение 20–30 мин, нарезали на экспланты, удаляя поврежденные при дезинфекции части. Экспланты высаживали в жидкую среду NN с добавкой как 1 мг/л ВАР (6-бензи-ламинопурин) (для сорта Рута), так и 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксикусная кислота) и ВАР по 1 мг/л (для сорта Кишмиш Е-342).

После двух месяцев культивирования экспланты с образующимся каллусом (среда NN с 1 мг/л 2,4-Д и 1 мг/л ВАР) или с меристематическими бугорками (среда NN и 1 мг/л ВАР) субкультивировали на твердую или жидкую среду NN с добавками 2,4-Д (1 и 2 мг/л), ВАР (1 и 2 мг/л), TDZ (тидизурон; 0,5 и 1 мг/л), NOA (β -нафтилоксикусная кислота; 1 мг/л), FA (D,L-фенилаланин; 5 мг/л) и PVP (поливинилпиролидон м.в. 40000; 5 г/л) в зависимости от генотипа.

Суспензия проэмбриогенных клеток. Образовавшиеся в жидких или твердых средах каллусы отделяли пинцетом от эксплантов, экспланты удаляли, а каллусные ткани размельчали в жидкой среде для проэмбриогенных суспензий. Для разных генотипов использовали различные концентрации 2,4-Д (1 и 2 мг/л) и ВАР (0,2 и 1 мг/л), добавки FA (5 мг/л) и PVP (5 г/л). Проэмбриогенный каллус гибридной формы Е-342, образовавшийся на твердой модифицированной среде NN, отделяли от эксплантов и сразу переносили в жидкую среду для обработки колхицином, измельчая агрегаты каллуса пинцетом в этой среде.

Обработка колхицином проэмбриогенных клеток. После двух месяцев культивирования клеточные суспензии отстаивали, сливали жидкую среду и к оставшемуся осадку клеток с жидкой средой добавляли такой же объем в два раза более концентрированного раствора колхицина. Растворы колхицина и DMSO (диметилсульфоксид) дезинфицировали путем фильтрования через мелкопористый фильтр. Для улучшения деления в суспензии клеток с колхицином (0,02% в общем объеме) и DMSO (0,02%; 1%), были добавлены ВАР (0,5; 1 мг/л), сахароза (20 г/л) или жидккая среда NN. Суспензии клеток с добавленным раствором колхицина выдерживали при температуре +27... +30 °C 1 или 2 суток. Суспензии клеток с раствором колхицина отстаивали, сливали раствор, к осадку клеток добавляли стерильную воду, снова отстаивали

и сливали воду для отмычки клеток от колхицина. К осадку клеток добавляли различные варианты жидких сред для развития из них глобулярных эмбриоидов.

Развитие соматических эмбриоидов из колхицинированных клеток суспензионных культур и регенерация из них растений сомаклонов. Для развития глобулярных и сердцевидных эмбриоидов использовали основы сред NN и PG (plant growth) с добавками ВАР, TDZ, FA и PVP в зависимости от генотипа. У гибридной формы Е-342 на этом этапе также образовывались и торпедовидные эмбриоиды. Для массового превращения сердцевидных эмбриоидов в торпедовидные суспензии со смесью глобулярных и сердцевидных эмбриоидов субкультивировали в жидкую среду PG с добавкой 0,1 мг/л IAA (β -индолилуксусная кислота), 30 мг/л гумата Na и 5 мг/л FA, культивировали 2-3 месяца. Суспензии с торпедовидными эмбриоидами размером 1–3 мм (обычно в суспензиях находились также глобулярные 0,1–0,4 мм и сердцевидные 0,5–0,9 мм эмбриоиды) в 20 мл жидкой среды инокулировали в жидкую среду PG с добавкой ВАР и GA3 (гипберелловая кислота, по 0,2 мг/л) и культивировали 2-3 месяца до превращения торпедовидных эмбриоидов в проростки размером 5–10 мм с зелеными гипокотилями и семядолями. Затем их брали пинцетом в жидкой среде и высаживали на твердую среду MS [10] с 0,5 мг/л ВАР, на которой у проростков развивались побеги.

Адаптация растений-сомаклонов из *in vitro* к условиям *in vivo* и их выращивание в условиях открытого грунта. Развившиеся из проростков побеги нарезали на экспланты с двумя листьями, нижний лист удаляли, оставляя две почки на остатке побега на проростке и этот проросток с остатком побега и нарезанные на нем 2-глазковые экспланты высаживали на твердую среду PG с добавкой 30 мг/л гумата Na и 0,1 мг/л IAA для их укоренения и развития растений в культуре *in vitro*. Перед пересадкой растений в условия открытого грунта проводили их предадаптацию в культуре *in vitro*. После одного месяца культивирования на твердой среде PG с добавкой 30 мг/л гумата Na на культуральных сосудах заменяли в ламинарном боксе крышки из фольги на стерильную целлофановую пленку, которая пропускает пары H_2O , CO_2 и O_2 , а также ультрафиолетовое излучение и выдерживали в течение двух недель в тени. Затем растения пересаживали из *in vitro* в условия *in vivo*, в субстрат. На первом этапе их накрывали сверху полизтиленовой пленкой на высоте 40–50 см и создавали частичное притенение от прямых солнечных лучей.

Молекулярно-генетические исследования. Молекулярно-генетическое изучение сомаклональной

изменчивости проведено лабораторией молекулярно-генетических исследований на базе испытательной лаборатории генетического контроля посадочного материала винограда.

Выделение ДНК из отобранных образцов в виде молодых листьев винограда осуществляли модифицированным методом выделения нуклеиновых кислот на основе СТАВ (2 % *cetyltrimethylammonium bromide*) [11]. Количество и чистоту выделенной ДНК определяли на спектрофотометре BioPhotometer plus (Eppendorf, США). Значения коэффициентов, характеризующих чистоту ДНК: A₂₆₀/A₂₈₀ > 1,6; A₂₆₀/A₂₃₀ > 1,4 обеспечивали необходимое качество генотипирования. Для генотипирования сортов использовали стандартный набор из 9 ядерных (nSSR) маркеров: VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62 и VrZAG79 [6, 7].

ПЦР проводили на амплификаторе T100 (BIO-RAD, США) при следующих условиях: 1 – денатурация при 95 °C – 5 мин.; 2 – 35 циклов: при 95 °C – 30 с (денатурация); 58 °C – 30 с (отжиг); 72 °C – 45 с (элонгация); 3 – при 72 °C – 15 мин. (окончательная элонгация). Каждый прямой праймер SSR-маркера был помечен на 5'-конце флуоресцентной меткой (6-FAM, 6-TAMRA или 5-R6G). Использовалась мультиплексная ПЦР с внесением в реакционный объем от 0,5 до 3 пкмоль каждого праймера (в зависимости от интенсивности

сигнала). Амплификация была проведена в общем реакционном объеме 15 мкл с использованием 2,5-кратной реакционной смеси (ООО «Синтол») и внесением 20 нг ДНК.

Разделение продуктов амплификации выполняли методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems, США). Определение длины аллелей проводили в программном приложении GeneMapper (Version 4.0) с использованием размерного стандарта СД-450 (ООО «Синтол»). Стандартизация размеров аллелей была выполнена с применением распространенных референсных сортов согласно рекомендациям VIVC [8].

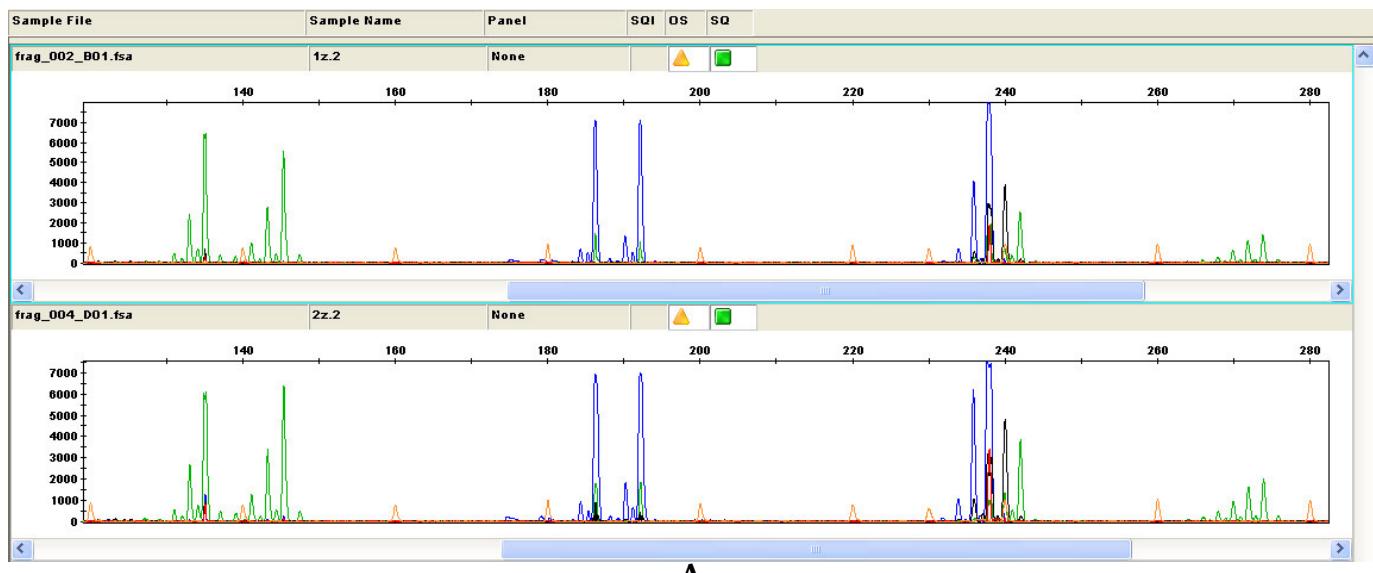
Исследования проводились согласно «Методике определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров (SSR-маркеров)», прошедшей метрологическую экспертизу ФГБУ «ВГНКИ» (экспертного заключения от 17.07.24 г. №МЭ 1/0102) в двух повторностях по каждому образцу.

Результаты и их обсуждение

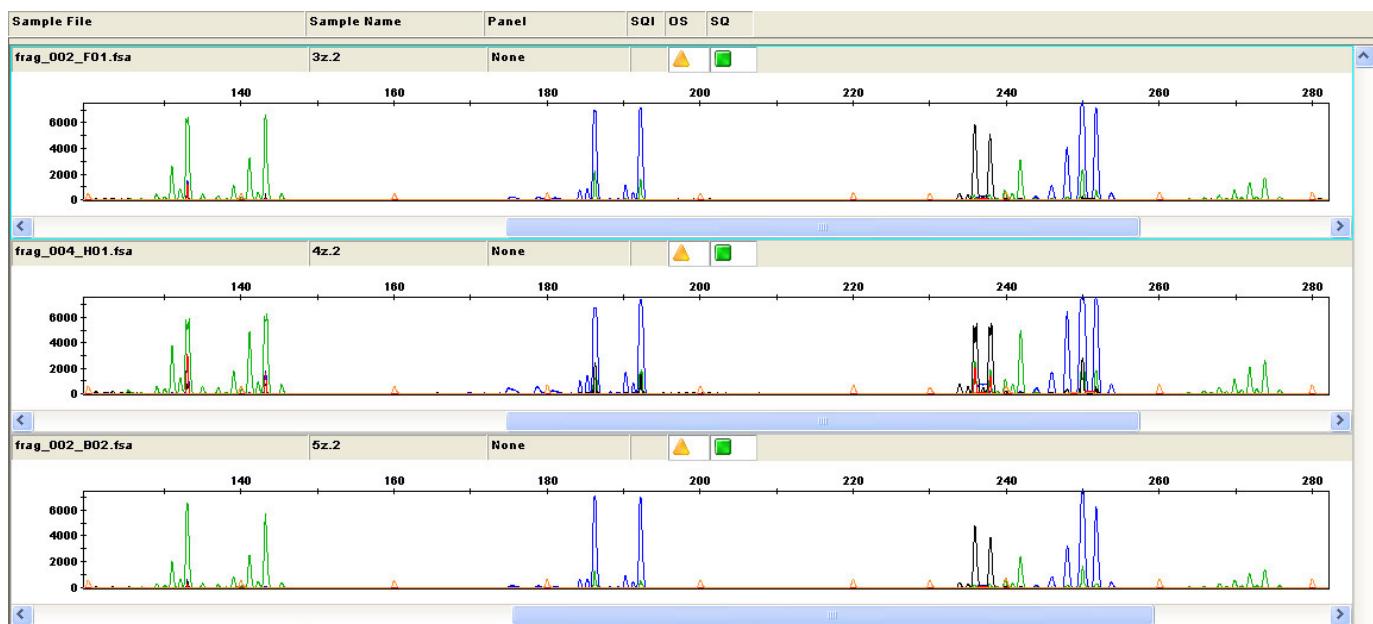
Выполнено генотипирование с использованием 9 SSR-маркеров полученных растений-сомаклонов №49, №67 сорта Рута и №91, №95, №97 сорта Кишмиш Е-342, регенерировавших из колхицинированных клеток супензационных культур путем соматического эмбриогенеза, а также проведено генотипирование исходных сортов (табл.).

Таблица. Генотипы сомаклонов и исходных сортов Рута и Кишмиш Е-342, а также их родительских форм
Table. Genotypes of somaclones and original varieties 'Ruta' and 'Kishmish E-342', as well as their parental forms

| Наименование сортов и форм винограда | VVS2 | | VVMD5 | | VVMD7 | | VVMD25 | | VVMD27 | | VVMD28 | | VVMD32 | | VrZAG62 | | VrZAG79 | |
|---|------|-----|-------|-----|-------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|---------|-----|---------|-----|
| | A1 | A2 | A1 | A2 | A1 | A2 | A1 | A2 | A1 | A2 | A1 | A2 | A1 | A2 | A1 | A2 | A1 | A2 |
| Генотипы сомаклонов и исходного сорта Рута, его родительских форм | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Сомаклон сорта Рута №49 | 135 | 145 | 238 | 240 | 239 | 239 | 239 | 255 | 186 | 195 | 218 | 258 | 240 | 272 | 188 | 194 | 251 | 259 |
| Сомаклон сорта Рута №67 | 135 | 145 | 238 | 240 | 239 | 239 | 239 | 255 | 186 | 195 | 218 | 258 | 240 | 272 | 188 | 194 | 251 | 259 |
| Сорт Рута | 135 | 145 | 238 | 240 | 239 | 239 | 239 | 255 | 186 | 195 | 218 | 258 | 240 | 272 | 188 | 194 | 251 | 259 |
| Сорт Талисман (из базы института «Магарач») | 135 | 149 | 228 | 240 | 239 | 239 | 249 | 255 | 184 | 186 | 258 | 258 | 240 | 252 | 188 | 194 | 247 | 251 |
| Сорт Кишмиш лучистый (из базы института «Магарач») | 135 | 145 | 236 | 238 | 239 | 249 | 239 | 255 | 186 | 195 | 218 | 268 | 250 | 272 | 186 | 188 | 251 | 259 |
| Генотипы сомаклонов и исходного сорта Кишмиш Е-342, его родительских форм | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Сомаклон сорта Кишмиш Е-342 №91 | 133 | 143 | 236 | 238 | 251 | 253 | 241 | 255 | 182 | 182 | 234 | 234 | 240 | 272 | 188 | 194 | 247 | 255 |
| Сомаклон сорта Кишмиш Е-342 №95 | 133 | 143 | 236 | 238 | 251 | 253 | 241 | 255 | 182 | 182 | 234 | 234 | 240 | 272 | 188 | 194 | 247 | 255 |
| Сомаклон сорта Кишмиш Е-342 №97 | 133 | 143 | 236 | 238 | 251 | 253 | 241 | 255 | 182 | 182 | 234 | 234 | 240 | 272 | 188 | 194 | 247 | 255 |
| Сорт Кишмиш Е-342 | 133 | 143 | 236 | 238 | 251 | 253 | 241 | 255 | 182 | 182 | 234 | 234 | 240 | 272 | 188 | 194 | 247 | 255 |
| Сорт Перлетт (из базы VIVC) | 133 | 145 | 236 | 238 | 247 | 253 | 239 | 241 | 180 | 182 | 234 | 244 | 250 | 272 | 188 | 204 | 247 | 255 |
| Сорт Виллар Блан (из базы VIVC) | 133 | 143 | 234 | 238 | 237 | 251 | 241 | 255 | 182 | 190 | 234 | 236 | 240 | 256 | 180 | 194 | 255 | 261 |



A



B

Рис. Фореграммы сомаклонов №49, №67 сорта Рута (А) и сомаклонов №91, №95, №97 сорта Кишмиш E-342 (Б) по 5 SSR-маркерам в программном приложении GeneMapper v.4.0.

Fig. Foreograms of somaclones No.49, No.67 of 'Ruta' variety (A), as well as somaclones No.91, No.95, No.97 of 'Kishmish E-342' variety (B) in accordance with 5 SSR markers in the GeneMapper v.4.0 program software.

При известной вариабельности SSR-маркеров различий в полученных генотипах сомаклонов и исходных сортов не выявлено – полученные генотипы исходных сортов и сомаклонов идентичны.

На рисунке представлены фореграммы сомаклонов №49, №67 сорта Рута и сомаклонов №91, №95, №97 сорта Кишмиш E-342 по 5 SSR-маркерам, где наглядно видно, что генотипы сомаклонов от общих исходных форм идентичны.

Ранее проводимые исследования показали, что полученные растения-сомаклоны, регенерировавшие из колхицинированных клеток сусpenзионных культур, различаются широким спектром сомаклональной изменчивости по генетически определяемым признакам прироста (длина и толщина)

и вызревания лозы [2]. В результате исследования у 5-ти генотипированных сомаклонов и исходных форм Рута и Кишмиш E-342 с применением 9 SSR-маркеров различий в длине аллелей, несмотря на вариабельность маркеров, обнаружено не было. Для выявления возможных мутаций в нуклеотидной последовательности под воздействием примененного мутагена (колхицин) необходимо выполнение полногеномного секвенирования генотипов сомаклонов и их родительских форм либо значительное увеличение числа используемых маркеров.

На основе генетических профилей исходных форм, использованных для получения сомаклонов с помощью сусpenзионных культур, было установ-

лено происхождение данных сортов винограда. Генетические профили родительских форм сорта Рута, согласно селекционным сведениям, сортов Талисман и Кишмиш лучистый были взяты из базы генотипов Института «Магарач» (Спотарь Г.Ю., Лиховской В.В., Спотарь Е.Н., Мироненко А.А., Полулях А.А. «База молекулярно-генетических паспортов (генотипов) бессемянных сортов ампелографической коллекции «Магарач». Свидетельство о регистрации базы данных RU 2024622920, 03.07.2024. Заявка № 2024622475 от 14.06.2024). На основе кодоминантного принципа наследования SSR-маркеров указанные родительские формы были подтверждены (табл.), так как в каждом из 9 маркеров сорта Рута имеется аллель, полученный от материнской формы (сорт Талисман) и отцовской формы (сорт Кишмиш лучистый) (полученные аллели от родительских форм подчеркнуты). Также подтвердилось происхождение межвидового гибрида – сорта Кишмиш Е-342 от родительских форм Вилар Блан и Перлетт согласно профилям из генетической базы каталога сортов винограда VIVC (табл.) [8]. Подтверждавшееся происхождение обосновывает унаследованные сортами хозяйствственно ценные признаки: ранние сроки созревания, устойчивость к фитопатогенам, морозоустойчивость.

Выводы

В результате исследований с применением 9 SSR-маркеров генетической изменчивости генотипов сомаклонов №49, №67 сорта Рута и сомаклонов №91, №95, №97 сорта Кишмиш Е-342, регенерировавших из колхицинированных клеток супензионных культур, при известной вариабельности SSR-маркеров и установленном отличии между сомаклонами по приросту и вызреванию лозы, различий в генетических профилях полученных сомаклонов между собой и в сравнении с исходными формами не выявлено. Для обнаружения возможных мутаций в нуклеотидной последовательности под воздействием примененного мутагена (колхицин) необходимо выполнение полногеномного секвенирования генотипов сомаклонов и их родительских форм.

На основе полученных генетических профилей исходных форм и профилей базы Института «Магарач», VIVC были подтверждены селекционные сведения о родительских формах сорта Рута – сортах Талисман и Кишмиш лучистый, и сорта Кишмиш Е-342 – сортах Вилар Блан и Перлетт.

Источник финансирования

Работа выполнена в рамках государственного задания № FNZM-2022-0008.

Financing source

The work was conducted under public assignment

No. FNZM-2022-0008.

Конфликт интересов

Не заявлен.

Conflict of interests

Not declared.

Список литературы / References

- Клименко В. П., Павлова И. А. Генетические основы создания сортов винограда при участии источников ценных признаков с низкой фертильностью. «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2015;3:47-49. Klimenko V.P., Pavlova I.A. Genetic basis of creating grape varieties with the use of low fertile sources of valuable traits. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2015;3:47-49 (in Russian).
- Зленко В.А., Клименко В.П., Павлова И.А., Лущай Е.А., Петухова А.В., Абдураширова А.С., Лиховской В.В. Сомаклональная изменчивость растений винограда, регенерировавших из колхицинированных клеток супензионных культур. «Магарача». Виноградарство и виноделие. 2020;22(3):190-195. DOI 10.35547/IM.2020.22.3.001. Zlenko V.A., Klimenko V.P., Pavlova I. A., Lushchay E.A., Petyuhova A.V., Abdurashitova A.S., Likhovskoi V.V. Somaclonal variation of grape plants regenerated from colchicinated cells of suspension cultures. Magarach. Viticulture and Winemaking, 2020;22(3):190-195. DOI 10.35547/IM.2020.22.3.001 (in Russian).
- Лиховской В.В., Зленко В.А., Хватков П.А., Малетич Г.К., Спотарь Г.Ю., Лущай Е.А., Клименко В.П. Биотехнологические и молекулярно-генетические методы в селекции винограда. Садоводство и виноградарство. 2022;6:5-15. DOI 10.31676/0235-2591-2022-6-5-15. Likhovskoi V.V., Zlenko V.A., Khvatkov P.A., Maletich G.K., Spotar G.Yu., Lushchay E.A., Klimenko V.P. Biotechnological and molecular genetic methods in grape breeding. Horticulture and Viticulture. 2022;6:5-15. DOI 10.31676/0235-2591-2022-6-5-15 (in Russian).
- Зленко В.А., Лиховской В.В., Волынкин В.А., Хватков П.А., Васылык И.А., Долгов С.В. Индукция соматического эмбриогенеза в культуре *in vitro* винограда (*Vitis vinifera* L.) отечественной и зарубежной селекции. Биотехнология. 2017;33(5):35-44. DOI 10.21511/0234-2758-2017-33-5-35-44. Zlenko V.A., Likhovskoi V.V., Volynkin V.A., Khvatkov P.A., Vasylyk I.A., Dolgov S.V. Induction of somatic embryogenesis in the *in vitro* culture of grapes (*Vitis vinifera* L.) of domestic and foreign selection. Biotechnology. 2017;33(5):35-44 (in Russian).
- Омашева М.Е., Аубакирова К.П., Рябушкина Н.А. Молекулярные маркеры. Причины и последствия ошибок генотипирования. Биотехнология. Теория и практика. 2013;4:20-28. DOI 10.11134/btp.4.2013.3. Omasheva M.Ye., Aubakirova K.P., Ryabushkina N.A. Molecular markers. Causes and consequences of genotyping errors. Biotechnology Theory and Practice. 2013;4:20-28. DOI 10.11134/btp.4.2013.3 (in Russian).
- This P., Jung A., Boccacci P., Borrego J., Botta R., Costantini L., Crespan M., Dangl G.S., Eisenheld C., Ferreira-Monteiro F., Grando S., Ibáñez J., Lacombe T., Laucou V., Magalhães R., Meredith C.P., Milani N., Peterlunger E., Regner F., Zulini L., Maul E. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivar. Theoretical and Applied Genetics. 2004;109(7):1448-1458. DOI 10.1007/s00122-004-1760-3.

7. International Organisation of Vine and Wine (OIV). Publication of the 3rd edition of «OIV Descriptor list of grape vine varieties and *Vitis* species». 2023. Access mode: <https://www.oiv.int/node/3028> (date of access: 10.11.2025).
8. Vitis International Variety Catalogue VIVC. Julius Kuhn Institute. Access mode: <http://www.vivc.de/index.php> (date of access: 10.11.2025).
9. Спотарь Г.Ю., Мироненко А.А., Спотарь Е.Н., Пахомова Е.П., Авидзба А.М. Результаты идентификации сортовой принадлежности винограда с использованием SSR-маркеров для хозяйств Крыма в 2024 г. «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2025;27(3):216-220.
- Spotar G.Yu., Mironenko A.A., Spotar E.N., Pakhomova E.P., Avidzba A.M. The results of grapevine varietal identification using SSR markers for Crimean vineyards in 2024. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2025;27(3):216-220 (*in Russian*).
10. Murashige T., Skoog F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473-497. DOI 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
11. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology*. 1985;5(2):69-76.

Информация об авторах

Геннадий Юрьевич Спотарь, науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований; е-мейл: molgenet_lab@magarach-institut.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6725-250X>;

Валерий Анатольевич Зленко, канд. с.-х. наук, доцент, вед. науч. сотр. лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда, е-мейл: vazlenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3363-8292>;

Анна Алексеевна Мироненко, вед. инженер лаб. молекулярно-генетических исследований; е-мейл: annushka.shikhova@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0001-2947-6462>;

Виктор Павлович Клименко, д-р с.-х. наук, ст. науч. сотр., глав. науч. сотр., зав. лабораторией генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда; е-мейл: vikklim@rambler.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7452-0776>;

Елена Николаевна Спотарь, мл. науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических исследований; е-мейл: elen_persic@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3050-8505>;

Евгения Павловна Пахомова, вед. инженер лаб. молекулярно-генетических исследований; е-мейл: dublinstar@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0009-6085-0780>.

Information about the authors

Gennadiy Yu. Spotar, Staff Scientist, Laboratory of Molecular Genetic Research; e-mail: molgenet_lab@magarach-institut.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6725-250X>;

Valery A. Zlenko, Cand. Agric. Sci., Associate Professor, Leading Staff Scientist, Laboratory of Genetics, Biotechnologies of Grape Breeding and Propagation; e-mail: vazlenko@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3363-8292>;

Anna A. Mironenko, Leading Engineer, Laboratory of Molecular Genetic Research; e-mail: annushka.shikhova@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0001-2947-6462>;

Viktor P. Klimenko, Dr. Agric. Sci., Senior Staff Scientist, Chief Staff Scientist, Head of the Laboratory of Genetics, Biotechnologies of Grape Breeding and Propagation; e-mail: vikklim@magarach-institut.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7452-0776>;

Elena N. Spotar, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular Genetic Research; e-mail: elen_persic@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3050-8505>;

Evgeniya P. Pakhomova, Leading Engineer, Laboratory of Molecular Genetic Research; e-mail: dublinstar@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0009-6085-0780>.

Статья поступила в редакцию 17.11.2025, одобрена после рецензии 19.11.2025, принята к публикации 19.11.2025.