

# Генетический полиморфизм редких и малораспространенных аборигенных донских генотипов *Vitis vinifera* L.

Елена Тарасовна Ильницкая<sup>1</sup>, канд. биол. наук, зав. лабораторией сортоизучения и селекции винограда, [ilnitskaya79@mail.ru](mailto:ilnitskaya79@mail.ru);

Людмила Георгиевна Наумова<sup>2</sup>, канд. с.-х. наук, вед. научн. сотр. лаборатории ампелографии, [lgnaumova@yandex.ru](mailto:lgnaumova@yandex.ru);

Валентина Алексеевна Ганич<sup>2</sup>, канд. с.-х. наук, вед. научн. сотр. лаборатории ампелографии, [ganich1970@yandex.ru](mailto:ganich1970@yandex.ru);

Сергей Вячеславович Токмаков<sup>1</sup>, канд. биол. наук, научн. сотр. лаборатории генетики и микробиологии;

Марина Викторовна Макаркина<sup>1</sup>, аспирант, мл. научн. сотр. лаборатории сортоизучения и селекции винограда, [kones\\_citatu@mail.ru](mailto:kones_citatu@mail.ru)

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», Россия, 350901, г. Краснодар, ул. им. 40-летия Победы, 39

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия имени Я.И. Потапенко – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный Ростовский аграрный научный центр», Россия, 346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, пр. Баклановский, 166

История виноградарства на Дону насчитывает несколько веков, местные сорта винограда многообразны и специфичны. Микросателлитные маркеры широко используются для генотипирования сортов и подвоев винограда, при изучении происхождения сортов и анализе их родословной. Целью исследования было изучение выборки редких и малораспространенных автохтонных донских сортов и сравнение их с другими аборигенными донскими генотипами на основе данных ДНК-анализа. В исследовании включены 23 стародавних донских сорта. Генотипирование проводили методом микросателлитного профилирования. В исследовании использовали микросателлитные маркеры (SSR), рекомендованные в качестве основного минимального набора для ДНК-паспортизации сортов вида *Vitis vinifera* L.: VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62 и VrZAG79. По результатам проведенного анализа все изученные образцы показали сорт-специфическую комбинацию аллелей в идентифицированных ДНК-профилях. Количество выявленных аллелей составило в среднем 8 аллелей/локус. Наибольший полиморфизм в исследовании этой группы донских сортов был обнаружен в локусе VVMD5: идентифицировано 10 аллелей на локус, наименьшее - в локусе VrZAG62: 6 аллелей/локус. Основываясь на данных SSR-анализа, степень генетического сходства сортов оценивали с использованием метода UPGMA. Кластерный анализ матрицы генетических дистанций, созданный на основе выявленных значений аллелей в шести микросателлитных локусах исследуемых сортов, определил несколько групп генотипов. Сорт Красностоп золотовский выделился в отдельную ветвь, что указывает на различия между этим генотипом и другими сортами исследуемой выборки. Наивысший уровень генетического сходства наблюдался между следующими парами сортов: Крестовский и Бургундский, Шилохвостый и Мушкетный, Кумшацкий черный и Ефремовский.

**Ключевые слова:** *Vitis vinifera* L.; аборигенные донские сорта винограда; SSR-маркеры; генетический полиморфизм.

## ORIGINAL RESEARCH

# Genetic polymorphism of rare and less common autochthonous Don grapevine varieties *Vitis vinifera* L.

Elena Tarasovna Ilnitskaya<sup>1</sup>, Lyudmila Georgievna Naumova<sup>2</sup>, Valentina Alekseevna Ganich<sup>2</sup>, Sergey Vyacheslavovich Tokmakov<sup>1</sup>, Marina Victorovna Makarkina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal State Budget Scientific Institution North-Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Winemaking, 39, 40-letiya Pobedy Str., 360901, Krasnodar, Russia

<sup>2</sup>All-Russian Research Institute for Viticulture and Winemaking named after Ya.I. Potapenko – branch of Federal State Budget Scientific Institution Federal Rostov Agricultural Research Center, 166, Baklanovsky avenue, 346421, Novochechassk, Rostov region, Russia

The history of viticulture on the Don goes back several centuries. Local grapevine varieties are diverse and peculiar. Microsatellite markers are widely used in genotyping grapevine cultivars and rootstocks, in grapevine origin and breeding background analysis. Our study aimed to examine samples of rare and less common autochthonous Don varieties, and compare them with the other aboriginal Don genotypes using DNA data. The study involved 23 traditional Don varieties. The genotyping was done by microsatellite profiling. The study used microsatellite (SSR) markers recommended as the basic minimum set for DNA-certification of the genotypes of *Vitis vinifera* L.: VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62 and VrZAG79. Based on the findings, all the studied samples demonstrated variety-specific combination of alleles in the identified DNA profiles. The number of detected alleles on average was 8 alleles/locus. The greatest polymorphism in the studied group of Don varieties was detected in VVMD5 locus: 10 alleles per locus were identified, the smallest in VrZAG62 locus: 6 alleles/locus. UPGMA method was used to assess the extent of genetic similarity of the varieties based on SSR-genotyping data. Based on determined allele values of the studied varieties, cluster analysis of the genetic distances matrix determined several groups of genotypes. 'Krasnostop zolotovskiy' variety stood out as a separate branch, which indicates the difference between this genotype and the other varieties of the studied sampling. The highest level of genetic similarity was observed between the following pairs of varieties: 'Krestovskiy' and 'Burgundskiy', 'Shilohvostiy' and 'Mushketnyi', 'Kumshatskiy chorniy' and 'Efremovskiy'.

**Key words:** *Vitis vinifera* L.; Don aboriginal grapevine cultivars; SSR-markers; genetic polymorphism.

### Как цитировать эту статью:

Ильницкая Е.Т., Наумова Л.Г., Ганич В.А., Токмаков С.В., Макаркина М.В. Генетический полиморфизм редких и малораспространенных аборигенных донских генотипов *Vitis vinifera* L. // «Магарач». Виноградарство и виноделие, 2019; 21(3); С. 191-197. DOI 10.35547/IM.2019.21.3.002

### How to cite this article:

Ilnitskaya E.T., Naumova L.G., Ganich V.A., Tokmakov S.V., Makarkina M.V. Genetic polymorphism of rare and less common autochthonous Don grapevine varieties *Vitis vinifera* L. *Magarach. Vinogradarstvo i vinodelie* = *Magarach. Viticulture and Winemaking*, 2019; 21(3):191-197. DOI 10.35547/IM.2019.21.3.002 (in Russian)

УДК 634.8:575.174.015.3:577.21

Поступила 13.04.2019

Принята к публикации 20.08.2019

© Авторы, 2019

**В**ведение. Генетические ресурсы культурных растений являются базовыми компонентами, определяющими продовольственную и экологическую безопасность каждого суверенного государства, в том числе России. Трудно переоценить значимость генетических коллекций в целом для науки и для развития сельского хозяйства. Особую актуальность и стратегическую значимость в настоящее время они приобрели в связи с нарастающими темпами генетической эрозии и исчезновением многих сортов, даже видов и родов растений. Генетическое разнообразие, природное и созданное человеком, является основой для выведения новых сортов возделываемых культур, в том числе и винограда.

Местные сорта и дикорастущие виды часто ценны для селекции гены, которые могут быть востребованными на определённом этапе [1]. Н.И. Вавилов писал: «Начиная практическую селекцию, необходимо, прежде всего, хорошо знать местный асортимент. Он должен служить исходным материалом для дальнейшего улучшения сортов» [2]. Анализируя признаки и свойства местных сортов отдельных виноградных районов, А.М. Негруль установил определённую закономерность в географическом распространении и различия по морфологическим и хозяйственно ценным признакам, выделив три основные эколого-географические группы. Разработанная им эколого-географическая классификация сортов винограда *Vitis vinifera* L. является общепризнанной в мире и имеет не только систематическое, но также теоретическое и практическое значение в селекции [3, 4].

По вопросу происхождения донских автохтонных сортов мнения сходились на том, что родиной их предположительно является Европа: одни сорта могли быть завезены из Франции, Германии, другие – с Балканского полуострова [5]. Некоторые сорта были завезены из Крыма и получили на Дону местные названия: Ладанный (Мускат белый), Дурман (Мускат константинопольский), Буланный (Джеват кара), Долгий (Кокур белый). Из завезённых сортов распространение получили наиболее адаптированные к местным условиям. Ряд сортов появился путем отбора из самовсходов в результате свободного опыления. На старинных донских виноградниках насчитывалось более 40 различных сортов винограда. Лишь о немногих из них можно сказать более или менее определенно, когда и при каких обстоятельствах они начали культивироваться на Дону [6].

Сорта винограда под условным названием Бессергеновские (Бессергеновский 1, Бессергеновский 2, Бессергеновский 3 и т.д.) были обнаружены в 1949 г. при обследовании старых виноградных насаждений в станице Бессергеновской Ростовской области. Некоторые из них оказались уже ранее известными сортами, так Бессергеновский 2 – это сорт Махроватчик.

Общее происхождение ряда дагестанских и донских сортов было доказано исследованиями морфологических признаков [6, 7]. Давние взаимосвязи между этими регионами подтверждаются историческими сведениями. Так, к донским сортам цимлянкой группы относят по морфотипу и некоторые сорта Дагеста-

на (Чингири кара, Бор кара, Гок ала).

Происхождение многих древних сортов неизвестно, при этом сохранение имеющегося генофонда и уточнение его родословной – актуальная задача. Молекулярно-генетическая идентификация генотипов ампелографической коллекции позволяет не только узнать её биологическое разнообразие, но также установить сортосоответствие в сравнении с другими известными мировыми коллекциями.

Внедрение в естественно научную практику молекулярно-генетических подходов привело к ускоренному изменению и развитию теории эволюции, уточнению систематики живых организмов, а также к появлению новых технологий в селекции [8]. На современном этапе изучения генетических ресурсов винограда, ДНК-профили дополняют традиционные ампелографические описания и агробиологические характеристики, служат основой для достоверной идентификации генотипов. Наиболее часто для генотипирования образцов винограда используют микросателлитные маркеры, которые позволяют идентифицировать сорта, изучать их происхождение, выявлять синонимы, омонимы и примеси в коллекциях. Ранние работы по генотипированию сортов винограда включали различные наборы SSR-маркеров, что затрудняло сопоставление и анализ результатов разных научных центров. В результате исследования This и др. было выделено шесть наиболее информативных, полиморфных микросателлитных локусов, которые были рекомендованы для изучения генотипов вида *Vitis vinifera* L. и составили основной минимальный набор для ДНК-паспортизации сортов винограда [9]. В результатах этой же работы был представлен референсный список аллелей наиболее распространенных и известных сортов винограда (Каберне-Совиньон, Шардоне, Пино нуар, Мерло и др.).

Множество работ по молекулярно-генетическому исследованию сортов винограда посвящено изучению именно аборигенного генофонда различных регионов виноградарства в мире [10-18]. Так, результаты генотипирования по 21 микросателлитному локусу 33 стародавних сортов Словении позволили выявить несколько форм-синонимов, и при этом опровергнуть ранее предполагаемое близкое родство некоторых генотипов с сортами винограда из соседних стран [12].

Среди 55 сортов из шести разных провинций Южной Анатолии в Турции с помощью SSR-маркерного анализа был определён один пример синонимов и четыре сорта-омонима в изучаемой выборке [14]. Таким образом, исследование местного генофонда на молекулярно-генетическом уровне позволяет уточнить происхождение сортов, определить их генетическое сходство как внутри автохтонного материала, так и с сортами других регионов.

По изучению ряда стародавних южнороссийских сортов винограда также были проведены молекулярно-генетические исследования [19-25]. Из коллекции Института «Магарач» прогенотипированы 76 образцов крымских автохтонных сортов винограда с использованием 22 ядерных и 3-х хлоропластных микросателлитных локусов [21].

Среди донских аборигенных сортов есть как ши-

роко известные и достаточно распространённые сорта – Красностоп золотовский, Цимлянский черный, Сибирьковский, Пухляковский, так и малораспространенные – Крестовский, Кумшацкий черный; редкие – Брусковатенький, Ефремовский, группа Бессергеновские и даже встречающиеся единичными экземплярами – Белобуланый, Сильняк, Шампанчик 2, Шампанчик константиновский, Шилохвостый. И если распространённые автохтоны можно отнести к достаточно изученным сортам, то происхождение редких сортов, их генетическая близость к тем или иным группам сортов – открытый вопрос. Создание ДНК-профилей сортов и их сравнение позволяет устанавливать родство между генотипами, выделить более близкие и отдалённые формы.

**Новизна представляемого исследования** – ДНК-паспортизация редких донских аборигенных генотипов и изучение на молекулярно-генетическом уровне их сходства, в том числе и с другими автохтонными сортами, генотипирование которых было проведено нами ранее [26, 27].

**Цель исследования** – ДНК-фингерпринтинг и изучение генетического полиморфизма автохтонных донских сортов винограда на основе данных микросателлитного генотипирования, сравнение результатов исследований с данными других авторов о происхождении сортов.

**Материалы и методы исследований.** В исследование включены 23 стародавних донских генотипа *Vitis vinifera* L. Среди них редкие, малораспространенные и встречающиеся единичными кустами сорта: Белобуланый, Бессергеновский 1, Бессергеновский 5, Бессергеновский 8, Бессергеновский 10, Брусковатенький, Бургундский, Бурый, Дурман, Ефремовский, Крестовский, Кумшацкий черный, Мушкетный, Светлолистный, Слитной, Сильняк, Шампанчик 2, Шампанчик константиновский, Шампанчик цимлянский, Шилохвостый, а также широко распространенные и включенные в Реестр РФ сорта – Красностоп золотовский, Варюшкин, Кумшацкий белый, произрастающие на «Донской ампелографической коллекции им. Я.И. Потапенко» (г. Новочеркасск). В данной выборке, согласно эколого-географической классификации А.М. Негруля [3], присутствуют сорта бассейна Черного моря (*proles pontica* Negr.) – Бессергеновский 5, Варюшкин, Дурман, Красностоп золотовский, Кумшацкий белый, Кумшацкий черный, Шампанчик константиновский; восточной эколого-географической группы (*proles orientalis* Negr.) – Белобуланый, Бессергеновский 1, Бессергеновский 10, Брусковатенький, Сильняк, Слитной, Бурый, Крестовский, Светлолистный; естественные сеянцы западно-европейских сортов винограда (*proles occidentalis* Negr.) – Бургундский, Шампанчик цимлянский; естественные гибриды аборигенных и восточных столовых сортов – Ефремовский, Мушкетный, Шилохвостый [7].

Образцы ДНК для анализа выделяли из смеси растительного материала верхушечных листьев молодых побегов 3–5 типичных растений изучаемого сорта. Экстракцию ДНК проводили методом ЦТАБ [28]. Генотипирование осуществляли методом микро-

сателлитного профилирования. В исследовании использовали микросателлитные (SSR) маркеры – VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 и VrZAG79, рекомендованные как основной минимальный набор для ДНК-паспортизации генотипов *Vitis vinifera* L. [9]. Анализ проводили маркерными парами: VVS2 + VVMD7; VVMD27 + VVMD5; VrZAG62 + VrZAG79. Указанные пары SSR-маркеров были сформированы и апробированы нами ранее с учетом температуры отжига праймерных пар и литературных данных о диапазонах размеров амплифицируемых фрагментов по конкретным локусам; в одном наборе использовали два различных флуоресцентных красителя праймеров (FAM, TAMRA, ROX или R6G), что позволяет идентифицировать ПЦР-продукт по каждому конкретному маркеру [23]. Использование мультиплексных пар при ДНК-анализе позволяет оптимизировать время и расход реактивов, необходимых для работы.

Проводили ПЦР в конечном объеме смеси 25 мкл, содержащей порядка 50 нг геномной ДНК, 1,5 единицы Tag-полимеразы, 1xTag-полимеразного буфера, 2мМ MgCl<sub>2</sub>, дезоксинуклеотидтрифосфаты по 0,2 мМ и 200 мкМ каждого из праймеров. В работе использовали реактивы производства компании «СибЭнзим» (Россия); праймерные пары синтезированы в ООО «Синтол» (Россия). Амплификацию осуществляли прибором Eppendorf Mastercycler gradient (Германия) при ранее отработанных оптимальных условиях [24]. Разделение продуктов реакции методом капиллярного электрофореза и оценка результатов проведена с использованием автоматического генетического анализатора ABI Prism 3130 и специального программного обеспечения GeneMapper и PeakScanner. Для уточнения размеров амплифицированных фрагментов в работе использовали ДНК сортов Шардоне и Каберне-Совиньон, которые несут референсные аллели исследуемых SSR-локусов.

При оценке результатов микросателлитного анализа матрица генетических дистанций была построена с использованием коэффициентов (индексов) подобия по М. Nei и W. Li [29]. Кластерный анализ по результатам микросателлитного генотипирования выполнен методом попарного внутригруппового невзвешенного среднего (UPGMA), с использованием FreeTreeApplication 0.9.1.50 (ZDAT v.o.s.). Графическое построение дендрограммы проведено в программе TreeView (Win32) 1.6.6. Ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность была рассчитана с использованием расширения GenAlEx 6.503 для Microsoft Office Excel.

При выполнении исследования использовано оборудование ЦКП «Геномные и постгеномные технологии» Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия.

**Результаты и обсуждение.** По результатам микросателлитного профилирования все изученные автохтонные сорта показали сорт-специфическую комбинацию аллелей в идентифицированных ДНК-профилях (табл. 1). Таким образом, используемый в работе набор микросателлитных маркеров показал свою эффективность для ДНК-паспортизации исследуемой выборки сортов.

**Таблица 1.** ДНК-профили донских сортов винограда по шести микросателлитным локусам  
**Table 1.** DNA profiles of Don grapevine varieties by six microsatellite loci

Сорт	Микросателлитный локус					
	VVS2	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VrZAG62	VrZAG79
Каберне-Совиньон*	139:151	239:239	176:190	234:242	188:194	248:248
Шардоне*	137:143	239:243	182:190	236:240	188:196	244:246
Белобуланый	133:145	239:239	180:184	240:242	188:204	240:252
Бессергеновский 1	143:145	239:249	184:186	238:242	188:200	240:252
Бессергеновский 3	143:143	239:239	180:180	240:242	188:204	252:252
Бессергеновский 5	143:145	247:249	195:195	238:242	202:204	258:258
Бессергеновский 8	133:149	239:247	182:195	230:242	194:204	250:260
Бессергеновский 10	137:143	249:249	182:195	230:238	200:204	244:252
Брусковатенький	135:145	243:249	182:190	236:242	202:202	238:260
Бургундский	135:145	245:249	195:195	230:242	194:202	252:258
Бурый	135:137	245:249	186:195	230:238	200:202	252:252
Варюшкин	133:143	245:245	186:195	238:240	196:204	252:252
Дурман	135:143	239:239	195:195	230:234	188:196	250:252
Ефремовский	137:145	239:245	195:195	232:242	188:202	252:258
Красноstop золотовский	133:145	239:265	190:190	225:248	188:196	244:256
Крестовский	135:145	245:249	193:195	230:236	200:202	252:258
Кумшацкий белый	135:145	239:249	188:195	230:242	188:200	252:252
Кумшацкий черный	135:145	239:245	195:195	230:238	188:202	252:258
Мушкетный	133:135	247:249	180:195	230:248	200:204	238:252
Неизвестный донской	143:143	239:239	180:180	240:242	188:204	252:252
Светлолистый	143:153	249:255	180:182	230:240	202:204	256:260
Сильняк	145:153	239:239	180:190	230:242	188:194	252:252
Слитной	143:143	249:253	182:182	230:236	202:204	244:258
Шампанчик 2	143:153	239:239	182:186	236:242	194:194	250:252
Шампанчик константиновский	141:143	235:239	182:188	252:252	188:202	250:252
Шампанчик цимаянский	143:143	239:245	190:190	234:240	194:202	252:256
Шилохвостый	133:145	247:249	186:195	232:248	200:204	252:252

Примечание: \* – референсные сорта

Количество идентифицированных аллелей по изученным SSR-локусам составило в среднем 8 аллелей на локус (табл. 2). Наибольший полиморфизм при исследовании данной группы сортов Дона выявлен по SSR-локусу VVMD5: идентифицировано 10 аллелей/локус, наименьший – в VrZAG62: 6 аллелей/локус. Интересно, что, напри-

мер, при изучении 39 сортов винограда Турции, наибольший полиморфизм был определен по локусу VrZAG62: 21 аллель/локус, а VVMD5 и VVMD7 показали наименьшее значение – по 10 аллелей/локус [11]. При генотипировании 25 сортов винограда Южной Америки (Перу и Аргентины) по локусу VVMD5 было определено наименьшее количество аллелей – 6, наибольший полиморфизм идентифицирован в локусах VrZAG79 и VrZAG62: 13 и 12 аллелей/локус, соответственно [10]. При этом изучение 21 генотипа винограда Палестины выявило наибольшее количество аллелей по локусу VVMD5 – 10, как и в анализируемой нами выборке; наименьшее – по локусу VrZAG79: 5 аллелей/локус [17].

Ожидаемая гетерозиготность изменялась по локусам в небольшом диапазоне: от 0,724 (VrZAG79) до 0,842 (VVMD5); фактическая гетерозиготность – более значительно: от 0,652 (VVMD27) до 0,957 (VVMD5) (табл. 2).

Отношение фактической гетерозиготности к ожидаемой характеризует уровень генетической полиморфности локусов внутри исследуемой группы сортов. Среднее значение фактической гетерозиготности (0,819) превышает среднее значение ожидаемой гетерозиготности (0,787), что говорит о гетерогенности изученной выборки, полиморфности исследуемой генплазмы. Например, при изучении сортов винограда Болгарии средняя фактическая гетерозиготность была ниже значения ожидаемой гетерозиготности: 0,68 и 0,78 соответственно [13].

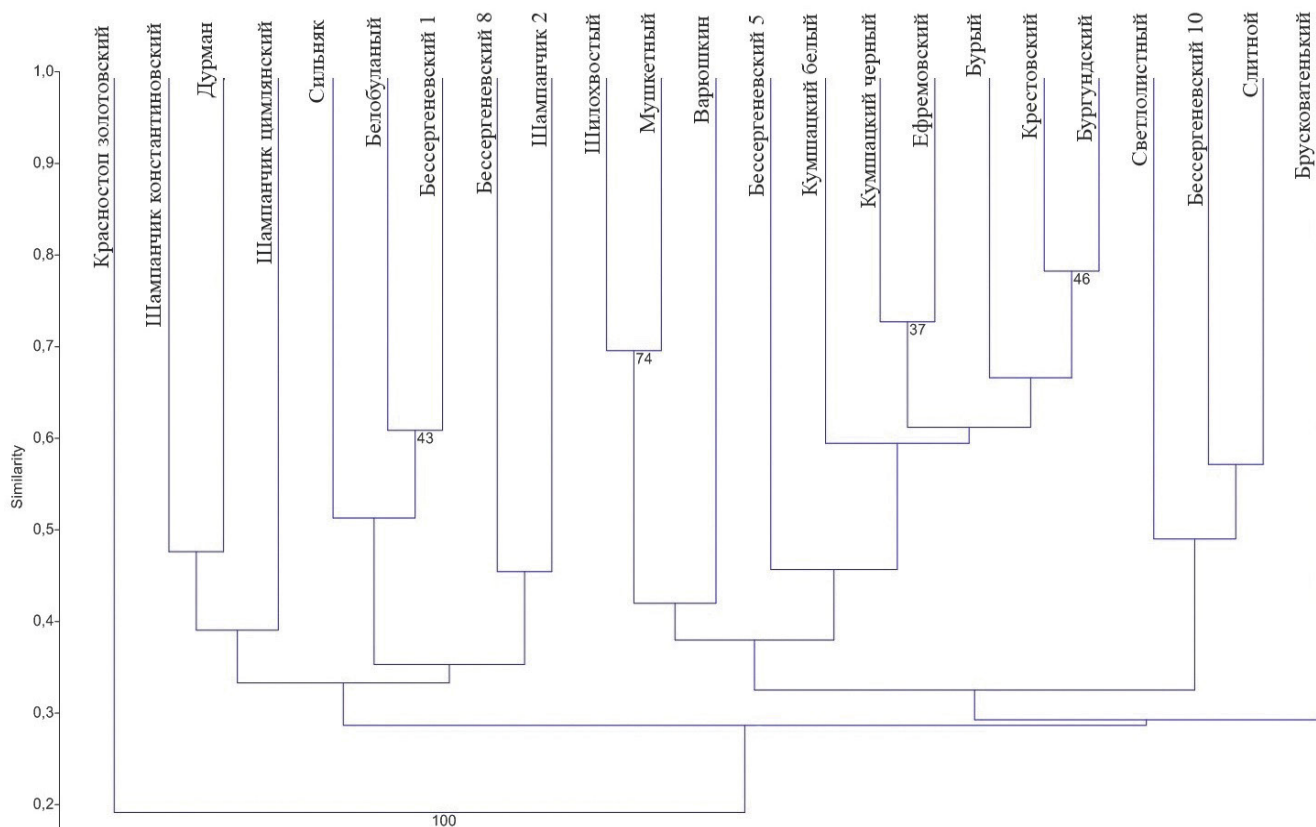
Оценка степени генетического сходства сортов по данным SSR-генотипирования проведена с применением метода попарного невзвешенного кластерирования с арифметическим усреднением (UPGMA). Кластерный анализ матрицы генетических дистанций, созданной на основе выявленных значений аллелей исследуемых сортов по шести микросателлитным локусам, разделили генотипы на несколько групп (рис. ).

Следует отметить, что сорт вино-

**Таблица 2.** Характеристика изученной выборки донских сортов по SSR-локусам  
**Table 2.** Characteristic of the studied sampling of Don varieties by SSR-loci

Показатель	VVS2	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VrZAG62	VrZAG79	Среднее
Общее число выявленных аллелей	8	9	8	10	6	8	8,167
Фактическая гетерозиготность	0,913	0,739	0,652	0,957	0,913	0,739	0,819
Ожидаемая гетерозиготность	0,807	0,759	0,776	0,842	0,811	0,724	0,787





**Рис.** Дендрограмма генетического сходства донских аборигенных сортов винограда  
**Fig.** Genetic similarity dendrogram of the Don native grapevine varieties

града Красностоп золотовский выделился в отдельную ветвь, что говорит об отличии данного генотипа от остальных сортов исследуемой выборки. Красностоп золотовский – стародавний донской сорт, который вызывает интерес французских виноделов по причине его большого сходства с французским сортом Кариньян. Ранее даже предполагалось, что это может быть один и тот же сорт винограда, однако это предположение не подтвердилось [7]. А.И. Потапенко отмечал значительное сходство дагестанского сорта Гимра и Красностопа золотовского по листьям и другим вегетативным признакам [5]. По результатам молекулярно-генетических исследований Тёпфер Р. и др. было выдвинуто предположение о близости сорта Красностоп золотовский и *Vitis silvestris* Северо-Кавказского региона [22].

Наиболее высокий уровень генетического сходства отмечен между следующими парами сортов: Крестовский и Бургундский, Шилохвостый и Мушкетный, Кумшацкий черный и Ефремовский (рис.). Сорта Мушкетный и Шилохвостый, согласно эколого-географической классификации А.М. Негруля, отнесены к группе естественных гибридов аборигенных и восточных столовых сортов. Генотипы Крестовский и Бургундский, Кумшацкий черный и Ефремовский по результатам микросателлитного профилирования близки друг другу, хотя по морфологическим признакам они были отнесены к разным классификационным группам (по А.М. Негрулю). Полученные данные не идут вразрез с существующими знаниями о генетической структуре эколого-географических групп: в разных группах вполне могут быть обнаружены достаточно близкие генотипы винограда [26]. По ли-

тературным данным, происхождение сорта Бургундский не установлено. Исследования на уровне ДНК позволяют получать более глубокие знания как о генетике самого сорта, так и о степени сходства конкретного генотипа с другими сортами.

Достаточно близки друг другу по результатам микросателлитного анализа сорта Белобуланый и Бессергеновский 1; сорта Кумшацкий белый, Кумшацкий черный, Ефремовский, Бурый, Крестовский, Бургундский (рис.). Сорта Бурый и Крестовский относят к восточным сортам; Кумшацкий белый и Кумшацкий черный – к группе сортов бассейна Черного моря; Ефремовский – по внешним признакам классифицирован как естественный гибрид аборигенных и восточных столовых сортов; Бургундский – предположительно естественный сеянец западно-европейских сортов винограда. На основе полученных результатов, можно предположить, что сорта Ефремовский и Бургундский, как сеянцы от свободного опыления, могут иметь предков среди аборигенных генотипов, близких к сортам Кумшацкий белый и Кумшацкий черный, с одной стороны, а также к сортам Бурый и Крестовский, что объясняет объединение данных сортов (восточная группа, сорта бассейна Черного моря, сеянцы восточных и сеянцы западных сортов) в один подкластер.

Генетическое сходство малораспространенных сортов Белобуланый и Бессергеновский 1 подтверждается и ампелографическими признаками – их относят к каспийской группе восточных винных и универсальных сортов. Этим двум генотипам близок по результатам кластерного анализа и редкий сорт Сильняк, который также входит в каспийскую группу восточных

винных и универсальных сортов.

Один крупный кластер включает сорта Шампанчик константиновский, Дурман, Шампанчик цимлянский, Белобуланый, Бессергеновский 1, Сильняк, Бессергеновский 8, Шампанчик 2. Так как о происхождении донских сортов Бессергеновский 8 и Шампанчик 2 практически ничего не известно, полученные данные могут быть полезны в изучении родословной данных сортов.

**Выводы.** 23 автохтонных донских сорта винограда исследованы по шести микросателлитным локусам. Все генотипы показали сорт-специфическую комбинацию аллелей. Количество идентифицированных аллелей по изученным SSR-локусам варьировало от 6 (VrZAG62) до 10 (VVMD5) и в среднем составило 8 аллелей на локус. Среднее значение фактической гетерозиготности (0,819) выше среднего значения ожидаемой гетерозиготности (0,787), что говорит о гетерогенности изученной выборки сортов. Оценка генетического сходства аборигенных сортов проведена методом попарного внутригруппового невзвешенного среднего (UPGMA). Кластерный анализ матрицы генетических дистанций, созданной на основе выявленных значений аллелей исследуемых сортов по шести микросателлитным локусам, выделил сорт Красностоп золотовский в отдельную ветвь, что указывает на отличие данного генотипа от других сортов в исследуемой группе. Наиболее высокий уровень генетического сходства отмечен между следующими парами сортов: Крестовский и Бургундский, Шилохвостый и Мушкетный, Кумшацкий черный и Ефремовский. Полученные результаты вносят вклад в изучение истории возникновения аборигенных донских сортов винограда, их происхождения и в целом расширяют знания о культуре виноградарства на Дону.

#### Источник финансирования

Не указан.

#### Конфликт интересов

Не заявлен.

#### Conflict of interests

Not declared.

#### Список литературы/ References

1. Дзюбенко Н.И. Генетические ресурсы культурных растений - основа продовольственной и экологической безопасности России // Вестник российской академии наук. 2015. № 85(1). С. 3-8. DOI: 10.7868/S0869587315010041
- [Dzyubenko N.I. *Geneticheskiye resursy kulturnyh rasteniy - osnova prodovol'stvennoy i ekologicheskoy bezopasnosti Rossii* [Cultivated plants genetic resources - the basis of food and environmental security of Russia]. *Vestnik rossiiskoi akademii nauk* [Bulletin of the Russian Academy of Sciences]. 2015. № 85(1). pp. 3-8. DOI: 10.7868/S0869587315010041 (in Russian)]
2. Вавилов Н.И. Генетика и селекция. Избранные сочинения. М.: Колос, 1966. [Vavilov N.I. *Genetika i selektsiya* [Genetics and selection]. *Izbrannyye sochineniya*. М.: Kolos; 1966. (in Russian)]
3. Негруль А.М. Происхождение культурного винограда и его классификация. Ампеелография СССР. - М.: Пищепромиздат, 1946. - С. 159-216. [Negrul' A.M. *Proiskhozhdenie kul'turnogo vinograda i ego klassifikatsiya* [The origin of cultivated grapes and their classification]. *Ampelografiya SSSR*. - М.: Pishchepromizdat, 1946. pp. 159-216. (in Russian)]
4. Губин Л.Е., Губин Е.Н. Модели создания сортов винограда ученых МСХА / Интерактивная ампеелография и селекция винограда: Мат. межд. симпозиума. - Краснодар, 2012. - С. 54-61. [Gubin L.E., Gubin E.N. *Modeli sozdaniya sortov vinograda uchenykh MSkHA. Interaktivnaya ampelografiya i selektsiya vinograda: Mat. mezhd. simpoziuma* [Models for the creation of grape varieties by scientists at the Moscow Agricultural Academy Interactive ampelography and selection of grapes: Materials int. symposium] - Krasnodar, 2012. pp. 54-61. (in Russian)]
5. Потапенко А.И. Старожил земли русской. Ростов-на-Дону: Ростовское книжное изд-во, 1976. - 96 с. [Potapenko A.I. *Starozhil zemli russkoi* [Old-timer of the Russian land]. Rostov-na-Donu: Rostovskoe knizhnoe izd-vo; 1976. - 96 p. (in Russian)]
6. Потапенко А.И. О происхождении донских сортов винограда // Русский виноград: сборник статей. - Новочеркасск, 1972. № 4(13). С. 14-24. [Potapenko A.I. *O proiskhozhdenii donskikh sortov vinograda* [On the origin of the Don grape varieties]. *Russkii vinograd* [Russian grapes]: collection of papers. Novocheerkassk, 1972. № 4(13). pp. 14-24. (in Russian)]
7. Алиев А.М., Кравченко Л.В., Наумова Л.Г., Ганич В.А. Донские аборигенные сорта винограда. Новочеркасск, 2006. - 84 с. [Aliev A.M., Kravchenko L.V., Naumova L.G., Ganich V.A. *Donskie aborigennyye sorta vinograda* [Don aboriginal grape varieties]. Novocheerkassk, 2006. - 84 p. (in Russian)]
8. Halász G., Veres A., Kozma P. et al. Microsatellite fingerprinting of grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties of the Carpathian Basin. *Vitis*. 2005;44(4):173-180.
9. This P., Jung A., Boccacci P. et al. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 2004;(109):1448-1458. DOI:10.1007/s00122-004-1760-3.
10. Martinez L.E, Cavagnaro P.F, Masuelli R.W, Zuniga M. SSR-based assessment of genetic diversity in South American *Vitis vinifera* varieties. *Plant Sci.* 2006;(170):1036-1044.
11. Karatas H., Degirmenci D., Velasco R. et al. Microsatellite fingerprinting of homonymous grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties in neighboring regions of South-East Turkey. *Scientia Horticulturae*. 2007;(114):164-169. DOI 10.1016/j.scienta.2007.07.001.
12. Stajneri N, Korosec-Korusa Z, Rusjan D, Javornic B. Microsatellite genotyping of old Slovenian grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.) of the Primorje (coastal) winegrowing region. *Vitis*. 2008;47(4):201-204.
13. Dzhambazova T., Tsvetkov I., Atanassov I. et al. Genetic diversity in native Bulgarian grapevine germplasm (*Vitis vinifera* L.) based on nuclear and chloroplast microsatellite polymorphisms. *Vitis*. 2009;48(3):115-121.
14. Boz Y., Bakir M., Çelikkol B.P. et al. Genetic characterization of grape (*Vitis vinifera* L.) germplasm from Southeast Anatolia by SSR-markers. *Vitis*. 2011;50(3):99-106.
15. Волкова С.А., Милованов А.В., Трошин Л.П. Использование ДНК-маркеров в селекции винограда сорта Совиньон белый / Интерактивная ампеелография и селекция винограда: Мат. межд. симпозиума. - Краснодар, 2012. - С. 10-13. [Volkova S.A., Milovanov A.V, Troshin L.P. *Ispol'zovanie DNK-markerov v selektsii vinograda sorta Sovin'on belyi* [The use of DNA-markers in the breeding of white Sauvignon grapes]. *Interaktivnaya ampelografiya i selektsiya vinograda*:

- Mat. mezhd. simpoziuma. - Krasnodar, 2012. pp. 10-13. (in Russian)]
16. Guo DL, Zhang Q, Zhang GH. Characterization of grape cultivars from China using microsatellite markers. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 2013;(49):164-170.
  17. Basheer-Salimia R., Lorenzi S., Batarseh F. et al. Molecular identification and genetic relationships of Palestinian grapevine cultivars. *Molecular biotechnology.* 2014;56(6):546-556.
  18. Maul E., Töpfer R., Carka F. et al. Identification and characterization of grapevine genetic resources maintained in eastern european collections. *Vitis*, 2015,54(1):5-12.
  19. Рисованная В.И. Изменчивость столовых и технических сортов *V. vinifera* L. западноевропейской и восточной эколого-географических групп по аллозимным локусам // Магарач. Виноградарство и виноделие. 2010. № 1. С.2-5.
  - [Risovannaya V.I. *Izmenchivost' stolovykh i tekhnicheskikh sortov V. vinifera L. zapadnoevropeiskoi i vostochnoi ekologo-geograficheskikh grupp po allozimnym lokusam* [Variability of table and technical varieties of *V. vinifera* L. of Western European and Eastern ecological-geographical groups by allozyme loci]. *Magarach. Vinogradarstvo i vinodelie.* [Magarach. Viticulture and winemaking]. 2010. № 1. pp. 2-5. (in Russian)]
  20. Гориславец С.М., Меметова Э.Ш., Рисованная В.И. ДНК-профилерование сортов винограда Манжил ал, Шабаш и Шабаш крупноягодный и уточнение из генетических взаимосвязей на основе анализа микросателлитных локусов // Магарач. Виноградарство и виноделие. 2015. №3. С. 17-18.
  - [Gorislavets S.M, Memetova E.Sh, Risovannaya V.I. *DNK-profilirovanie sortov vinograda Manzhil al, Shabash i Shabash krupnoyagodnyi i utochnenie iz geneticheskikh vzaimosvyazei na osnove analiza mikrosatellitnykh lokusov* [DNA - profiling of Mangil al, Shabash and Shabash grapes varieties, large-scale and refinement from genetic relationships based on analysis of microsatellite loci]. *Magarach. Vinogradarstvo i vinodelie* [Magarach. Viticulture and winemaking]. 2015. № 3. pp. 17-18. (in Russian)]
  21. Goryslavets S, Risovannaya V, Memetova E. et al. Genetic diversity of ancient grape cultivars of the Crimea region. *Vitis - Journal of Grapevine Research.* 2015; 54(1):37-41.
  22. Тёпфер Р., Мауль Э., Милованов А.В. и др. Изучение генетического разнообразия генофонда винограда Северного Кавказа // Научный журнал КубГАУ. 2016. № 119(5). - С. 1337-1355. [Tepfer R, Maul' E, Milovanov AV. et al. *Izuchenie geneticheskogo raznoobraziya genofonda vinograda Severnogo Kavkaza* [The study of the genetic diversity of the gene pool of grapes of the North Caucasus]. *Nauchnyi zhurnal KubGAU.* [Scientific journal of the Kuban State Agrarian University]. 2016. № 119(5). pp.1337-1355. (in Russian)]
  23. Ильницкая Е.Т., Токмаков С.В., Супрун И.И. и др. Изучение генетического сходства донских аборигенных сортов винограда с применением SSR-анализа и по основным ампелографическим признакам листа // Сельскохозяйственная биология. 2016. № 51(1). С. 60-67. DOI: 10.15389/agrobiologi.2016.1.60rus
  - [Il'nitskaya E.T, Tokmakov S.V., Suprun I.I. et al. *Izuchenie geneticheskogo skhodstva donskih aborigennykh sortov vinograda s primeneniem SSR-analiza i po osnovnym ampelograficheskimi priznakami lista* [Genetic similarity of the autochthonous grapevine varieties from Don region revealed by SSR-analysis and main leaf ampelographic traits]. *Sel'skhozaystvennaya biologiya* [Agricultural Biology]. 2016. № 51(1). pp. 60-67. DOI: 10.15389/agrobiologi.2016.1.60rus (in Russian)]
  24. Ильницкая Е.Т., Супрун И.И., Наумова Л.Г. и др. Характеристика некоторых аборигенных дагестанских сортов винограда, методом SSR-анализа и по основным ампелографическим признакам листьев // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. № 21(6). С. 617-622. DOI:10.18699/VJ17.277.
  - [Il'nitskaya E.T., Suprun I.I., Naumova L.G. et al. *Kharakteristika nekotorykh aborigennykh dagestanskikh sortov vinograda, metodom SSR-analiza i po osnovnym ampelograficheskimi priznakami list'ev* [Characterization of native Dagestan grape cultivars using SSR-analysis and the main ampelographic features of the leaves]. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii* [Vavilov Journal of Genetics and Breeding]. 2017. № 21(6). pp. 617-622. DOI:10.18699/VJ17.277. (in Russian)]
  25. Volodin V.A, Gorislavets S.M, Risovannaya V.I. Analysis of aboriginal varieties Ekim kara, Kefessia, Gevat kara and Krona by morphometric parameters of the leaf and microsatellite loci. *Systems Biology and Bioinformatics: the Ninth International Young Scientists School SBB-2017. Abstracts.* Compilers: O. Petrovskaya, Y. Orlov, S. Zubova. Novosibirsk; 2017:76.
  26. Ильницкая Е.Т., Токмаков С.В., Супрун И.И. Микросателлитное генотипирование донских аборигенных сортов винограда (*Vitis vinifera* L.) // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014. № 18(3). С. 523-529.
  - [Il'nitskaya E.T, Tokmakov S.V., Suprun I.I. *Mikrosatellitnoe genotipirovanie donskih aborigennykh sortov vinograda (Vitis vinifera L.)* [Microsatellite genotyping of Don local grape (*Vitis vinifera* L.) varieties]. *Vavilovskij zhurnal genetiki i seleksii* [Vavilov Journal of Genetics and Breeding]. 2014. № 18(3). pp. 523-529. (in Russian)]
  27. Ильницкая Е.Т., Токмаков С.В., Супрун И.И. ДНК-паспортизация донских аборигенных сортов винограда методом SSR-анализа // Наука Кубани. 2014. № 4. С. 11-14. [Il'nitskaya E.T, Tokmakov S.V., Suprun I.I. *DNK-pasportizatsiya donskih aborigennykh sortov vinograda metodom SSR-analiza* [DNA certification of Don native grape varieties by SSR-analysis]. *Nauka Kubani* [Kuban science]. 2014. № 4. pp. 11-14 (in Russian)]
  28. Rogers S.O, Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology.* 1985;19(1):69-76. DOI:10.1007/bf00020088.
  29. Nei M, Li W.-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1979;(76):5269-5273.