

Генотипирование сортов винограда селекции Института «Магарач» на основе анализа аллельного полиморфизма SSR локусов

Светлана Михайловна Гориславец, канд. биол. наук, вед. науч. сотр., зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований, mgr.magarach@gmail.ru;

Виталий Александрович Володин, канд. с.-х. наук, науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований;

Геннадий Юрьевич Спотарь, мл. науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований, probud@mail.ru;

Валентина Ивановна Рисованная, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., mgr.magarach@gmail.com

Яков Игоревич Алексеев, ст. науч. сотр.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН», Россия, Республика Крым, 298600, г. Ялта, ул.Кирова, 31.

Обязательными условиями успешного сохранения и использования различных сортов сельскохозяйственных культур является идентификация и контроль генетической изменчивости сортов, для изучения которой используются различные методы, в том числе методы молекулярно-генетического анализа. В связи с быстрым развитием селекции, ежегодно появляются десятки новых сортов винограда, требующих паспортизации. Молекулярные маркеры могут способствовать подбору родительских пар для скрещивания, повышению точности и ускорению селекционного процесса, так как идентификация исходного материала с использованием молекулярных маркеров и анализ результатов скрещивания могут быть выполнены в достаточно короткий период. К наиболее информативным молекулярным маркерам относятся микросателлитные маркеры, основанные на анализе простых повторяющихся повторов (simple sequence repeats, SSR). Анализ полиморфизма SSR локусов позволяет изучить генетическую изменчивость сельскохозяйственных культур на уровне генома. Цель нашего исследования – генотипирование, оценка аллельного разнообразия и ДНК-паспортизация ряда сортов винограда селекции Института «Магарач» на основе SSR анализа. Основным методом, использованный в работе, – полимеразная цепная реакция (ПЦР) и фрагментный анализ продуктов ПЦР на генетическом анализаторе ABI 3130. В результате фрагментного анализа были генотипированы 8 селекционных сортов Института «Магарач» по 9 ядерным микросателлитным локусам (nSSR). Размеры аллелей оценены с помощью программы Gene Mapper v. 4.0. Полиморфизм микросателлитных локусов и генетическое разнообразие рассчитано с использованием программы Popgene (v. 1.32). Сравнительный анализ nSSR профилей ДНК изученных сортов позволил установить, что все сорта имеют уникальные профили. Всего идентифицировано 69 аллелей, среднее число аллелей – 7,67 аллелей/локус. На основании размеров аллелей составлены индивидуальные молекулярно-генетические паспорта в соответствии с международными стандартами.

Ключевые слова: виноград; микросателлитные локусы; nSSR; cpSSR; аллельный полиморфизм; молекулярно-генетические паспорта.

Как цитировать эту статью:

Гориславец С.М., Володин В.А., Спотарь Г.Ю., Рисованная В.И., Алексеев Я.И. Генотипирование сортов винограда селекции Института «Магарач» на основе анализа аллельного полиморфизма SSR локусов // «Магарач». Виноградарство и виноделие, 2019; 21(4); С. 289-293. DOI 10.35547/IM.2019.21.4.002

How to cite this article:

Gorislavets S.M., Volodin V.A., Spotar G.Yu., Risovannaya V.I., Alekseev Ya.I. Genotyping of grape varieties released by the Institute Magarach based on analysis of allelic polymorphism of SSR loci. Magarach. Viticulture and Winemaking, 2019; 21(4): 289-293. DOI 10.35547/IM.2019.21.4.002 (in Russian)

УДК:634.85:631.524/.527:57.082.261:577.213.3

Поступила 12.04.2019

Принята к публикации 18.11.2019

© Авторы, 2019

ORIGINAL RESEARCH

Genotyping of grape varieties released by the Institute Magarach based on analysis of allelic polymorphism of SSR loci

Svetlana Mikhailovna Gorislavets, Vitalii Aleksandrovich Volodin, Gennadii Yurievich Spotar, Valentina Ivanovna Risovannaya, Yakov Igorevich Alekseev

Federal State Budget Scientific Institution All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking Magarach of the RAS, 31 Kirova Str., 298600 Yalta, Republic of the Crimea, Russian Federation

Identification and control of genetic variation of different varieties of agricultural crops enter as prerequisites for their efficient conservation and use. Genetic variation is investigated by means of a wide set of methods, including those relying on molecular-genetic analysis. Every year, dozens of new breedings of grapevine come into being, and their passportization is necessary. Molecular markers can promote selection of parent pairs for crossing, improve efficiency of breeding and accelerate the process as enable both identification of the initial material and analysis of crossing results to be done in a sufficiently short period of time. The highest information value is associated with microsatellite markers consisting of simple sequence repeats (SSR). Analysis of polymorphism of SSR loci allows to investigate genetic variation of agricultural crops at the level of genome. The goals of the study were to conduct genotyping of a number of grape breedings developed by the Institute Magarach, to assess their allelic diversity and to achieve DNA passportization based on SSR analysis. Polymerase chain reaction (PCR) and fragment analysis of PCR products with the use of a genetic analyzer ABI 3130 were the main methods the study relied upon. As a result of the aforesaid analysis, eight new breedings of the Institute were genotyped for nine nuclear microsatellite loci (nSSR). The sizes of alleles were assessed using Gene Mapper v. 4.0 software. Popgene (v. 1.32) software was used to calculate polymorphism of microsatellite loci and genetic diversity. A comparative nSSR-analysis of DNA-profiles of the study varieties indicated that all of them had unique profiles. A total of 69 alleles were identified, with 7.67 alleles per locus on an average. Based on the sizes of the alleles, individual molecular-genetic passports of the varieties were made, in accordance with international standards.

Key words: grapevine; microsatellite loci; nSSR; cpSSR; allelic polymorphism; molecular-genetic passports.

Введение. Паспортизация сортов представляет собой метод получения генетически детерминированных характеристик с помощью морфологических или молекулярных маркеров. Виноград имеет очень продолжительный ювенильный период, исчисляемый годами. Для описания морфологических характеристик сортов необходимо несколько лет, чтобы растения сорта вступили в период плодоношения. Только на данной фазе развития создаются условия для оценки всех морфологических характеристик, используемых впоследствии для проведения апробационных мероприятий. Кроме того, для регистрации сорта необходимо его сравнение со стандартным сортом при тех же условиях выращивания. А в связи с быстрым развитием селекции,

ежегодно появляются десятки новых сортов винограда, требующих паспортизации. Проблемы идентификации могут быть решены применением для анализа молекулярных ДНК-маркеров. В отличие от морфологических признаков, которые характеризуются высокой фенотипической изменчивостью, ДНК-маркеры не зависят от влияния окружающей среды и отличаются высокой точностью, стабильностью и воспроизводимостью. В основе ДНК-типирования сортов лежит метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Метод ПЦР предполагает использование специфических праймеров и получение множественных копий ПЦР-продуктов (ампликонов) отдельных участков геномной ДНК. Большое количество родственных технологий построено на этом принципе. К наиболее информативным молекулярным маркерам относятся микросателлитные маркеры, основанные на анализе простых повторяющихся повторов (simple sequence repeats, SSR). По сравнению с другими молекулярными ДНК-маркерами, SSR-маркеры отличаются высоким уровнем полиморфизма и могут эффективно использоваться для дифференциации сортов и оценки индивидуальных генетических характеристик [1–4]. Применение данных маркеров для идентификации молодых сеянцев винограда в первый год развития позволяет не дожидаться начала плодоношения, так как они могут быть использованы на любой фазе развития растения. SSR-маркеры позволяют эффективно оценивать родитель–потомок в схемах скрещивания и ускорять селекционный процесс, так как идентификация исходного материала и анализ результатов скрещивания могут быть выполнены в достаточно короткий период [5–7]. Таким образом облегчается подбор родительских пар для скрещивания. ДНК-типирование селекционных сортов может обеспечить контроль за их происхождением, генетической однородностью при закладке маточных насаждений, за идентичностью посадочного материала. Наконец, молекулярная идентификация и паспортизация сортов и ценных форм винограда может расширить возможности системы защиты авторских прав селекционеров. Поэтому в мировой практике для индивидуальной генетической паспортизации сортов растений широко используют SSR-маркеры. На сегодняшний день проведение генетической паспортизации считается актуальной задачей современной селекции. Для генофонда сортов отечественной селекции, а именно сортов селекции Института «Магарач», такие исследования не проводились.

Цель работы – ДНК-паспортизация ряда сортов винограда селекции Института «Магарач» на основе анализа полиморфизма микросателлитных локусов.

Новизна исследования – генотипирование и паспортизация сортов винограда селекции ВНИИВиВ «Магарач» по молекулярным маркерам, изучение изменчивости селекционных генотипов на молекулярно-генетическом уровне. Научная новизна исследования состоит также в отсутствии в мировой и национальной научной практике экспериментальных данных о генетическом разнообразии отечественных сортов винограда селекции ВНИИВиВ «Магарач» и их исход-

ных форм, используемых в селекционных программах.

Материалы и методика исследований

Краткая характеристика растительного материала. В исследования включена группа сортов винограда селекции ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН» межвидового и внутривидового происхождения: Цитронный Магарача, Рислинг мускатный, Спартанец Магарача, Данко, Крымчанин. Эти сорта имеют техническое направление использования (для производства столовых, игристых, десертных вин и соков). Сорта Бессемянный Магарача, Кишмиш Магарача – столового направления использования. Сорта Данко, Спартанец Магарача и Цитронный Магарача включены в «Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию» (РФ). Образцы растительного материала сортов отобраны на национальной ампелографической коллекции ФГБУН «ВНИИВиВ "Магарач" РАН» (п. Вилино, Бахчисарайского района).

Методика исследований. SSR-ПЦР-анализ выполнен на базе лаборатории молекулярно-генетических исследований ФГБУН «ВНИИВиВ "Магарач" РАН». Геномная ДНК экстрагирована из ткани листа и молодого побега с помощью СТАБ буфера с использованием жидкого азота. ПЦР геномной ДНК со специфическими SSR-праймерами проведено на амплификаторе «Eppendorf» с последующим разделением продуктов амплификации на генетическом анализаторе «ABI 3130» (SSR-ПЦР). Для генотипирования сортов использовали 9 ядерных и 3 хлоропластных микросателлитных локуса (nSSR и cpSSR): VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62 и VrZAG79, ccmp3, ccmp5, ccmp10 в соответствии с методикой и рекомендациями [8–10]. В качестве контроля размеров аллелей использованы ДНК референсных сортов Саперави, Шардоне и Каберне-Совиньон. ПЦР ампликоны проанализированы методом фрагментного анализа на генетическом анализаторе ABI 3130. Размеры аллелей оценены с помощью программы Gene Mapper v. 4.0. Полиморфизм микросателлитных локусов и генетическое разнообразие рассчитано с использованием программы Rorgene (v. 1.32).

Результаты. В результате фрагментного анализа были получены микросателлитные профили 9 nSSR локусов сортов селекции Института «Магарач»: Рислинг мускатный, Спартанец Магарача, Данко, Цитронный Магарача, Крымчанин, а также родительских форм – Курган, Кировабадский столовый и Сверххранний бессемянный. Сравнительный анализ микросателлитных профилей ДНК изученных сортов позволил установить, что все сорта имеют уникальные профили, синонимов и омонимов не выявлено.

В нескольких локусах сила сигнала была очень слабой и не позволила точно интерпретировать полученный результат. Размеры аллелей в этих локусах обозначены как (0).

Полиморфизм SSR локусов проявляется в различных размерах аллелей, выраженный в парах нуклеотидов (п.н.). Для характеристики полиморфизма микросателлитных локусов были проанализированы сле-

дующие показатели: частота аллелей, среднее количество аллелей на локус, наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность и др. Уровень полиморфизма составил 100%. Всего в 9 микросателлитных локусах идентифицировано 69 аллелей, среднее число аллелей – 7,67 аллелей/локус, что соответствует аналогичным показателям среди европейских сортов (7,2 – 7,8 аллеля /локус).

Минимальное количество аллелей идентифицировано в локусе VVMD25 (5 аллелей), VVMD7 и VVMD27 (6 аллелей). Наиболее полиморфными были локусы VVMD5 и VVMD28 (10 и 11 аллелей, соответственно) (табл. 1).

С высокой частотой встречались генотипы, несущие аллели 133 п.н. в локусе VVS2 ($p=0,41$), 271 п.н. в локусе VVMD32 ($p=0,35$) и 188 п.н. в локусе VrZAG62 (табл. 2)

Эффективное число аллелей (N_e) является мерой генетического разнообразия. Среднее значение N_e – 5,72, максимальное – 8,34 (ssrVVMD28), минимальное – 4,10 (ssrVVS2). Ожидаемая гетерозиготность (H_e) составила 0,858, средняя гетерозиготность ($AveH_e$) – 0,82, которая варьировала в диапазоне от 0,76 (ssrVVS2) до 0,88 (ssrVVMD28). Среднее значение фактической гетерозиготности (H_o) было высоким и составило 0,864, что было выше, например, чем в выборках крымских и донских аборигенных сортов винограда (0,76, и 0,82, соответственно) и [4, 11]. Полученное значение H_o (0,864) почти совпадало с ожидаемой (0,858), т.е. отклонение от равновесия по Харди-Вайнбергу было незначительным. Индекс разнообразия Шеннона составил 1,86 (табл. 3).

На основе результатов генотипирования по 9 nSSR локусам созданы молекулярно-генетические паспорта сортов, которые по рекомендации [8] представлены как «n+x», где «n» – стандартный минимальный размер аллеля для

Таблица 1. Аллельное разнообразие 9 ядерных микросателлитных локусов (nSSR), полученное в данном исследовании

Table 1. Allelic diversity of 9 nuclear microsatellite loci (nSSR) as established in this study

| № | Локус | Количество аллелей | Размеры аллелей, п.н. |
|---|------------|--------------------|---|
| 1 | ssrVVS2 | 7 | 131, 133, 135, 141, 143, 149, 153 |
| 2 | ssrVVMD5 | 10 | 223, 225, 229, 232, 234, 236, 238, 242, 244, 248 |
| 3 | ssrVVMD7 | 6 | 239, 243, 245, 247, 249, 253 |
| 4 | ssrVVMD25 | 5 | 238, 240, 244, 248, 254 |
| 5 | ssrVVMD27 | 6 | 176, 178, 182, 184, 186, 191 |
| 6 | ssrVVMD28 | 11 | 216, 227, 233, 235, 239, 243, 247, 254, 257, 259, 267 |
| 7 | ssrVVMD32 | 7 | 239, 243, 249, 251, 255, 257, 271 |
| 8 | ssrVrZAG62 | 8 | 182, 186, 188, 190, 194, 196, 202, 204 |
| 9 | ssrVrZAG79 | 9 | 244, 245, 248, 250, 252, 253, 256, 258, 260 |

каждого локуса, а «x» – разница в размере аллеля данного локуса, идентифицированная в конкретном генотипе винограда. Полученные генетические паспорта сортов винограда на основе анализа микросателлитных профилей включены в банк данных (табл. 4)

Результаты генотипирования сортов по трем cpSSR локусам sstr3, sstr5, sstr10 выявили наличие четырёх гаплотипов по классификации Aggouo-Garcia и сотр.: D, H, G и C [10].

Выводы. SSR-маркеры, использованные в нашем исследовании, являются одной из наиболее эффективных ДНК-маркерных систем, используемых в селекции и генетике культурных растений для генотипирования, оценки уровня полиморфизма, изучения родословных и паспортизации сортов. Ранее, по результатам анализа аллельного полиморфизма данных SSR локусов оценены генетические отношения некоторых селекционных и аборигенных сортов винограда [4-6, 12]. В настоящем исследовании винограда получены микросателлитные профили сортов винограда селекции Института "Магарач", на основе которых составлены индивидуальные молекулярно-генетические паспорта в соответствии с международными стандартами. Анализ микросателлитных профилей ДНК изученных сортов позволил установить, что

Таблица 2. Частота аллелей nSSR в генотипах исследованных сортов винограда

Table 2. Allelic frequency (nSSR) of the study genotypes

| Аллели VVS2 | | Аллели VVMD5 | | Аллели VVMD7 | | Аллели VVMD25 | | Аллели VVMD27 | | Аллели VVMD28 | | Аллели VVMD32 | | Аллели VrZAG62 | | Аллели VrZAG79 | |
|-------------|-------------|--------------|------|--------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|-------------|----------------|-------------|----------------|------|
| п.н. | P | п.н. | P | п.н. | P | п.н. | P | п.н. | P | п.н. | P | п.н. | P | п.н. | P | п.н. | P |
| 131 | 0.14 | 223 | 0.05 | 239 | 0.23 | 238 | 0.28 | 176 | 0.15 | 216 | 0.09 | 239 | 0.10 | 182 | 0.13 | 244 | 0.18 |
| 133 | 0.41 | 225 | 0.20 | 243 | 0.09 | 240 | 0.17 | 178 | 0.20 | 227 | 0.05 | 243 | 0.10 | 186 | 0.06 | 245 | 0.09 |
| 135 | 0.05 | 229 | 0.10 | 245 | 0.09 | 244 | 0.11 | 182 | 0.30 | 233 | 0.09 | 249 | 0.10 | 188 | 0.38 | 248 | 0.14 |
| 141 | 0.18 | 232 | 0.25 | 247 | 0.23 | 248 | 0.17 | 184 | 0.05 | 235 | 0.05 | 251 | 0.10 | 190 | 0.06 | 250 | 0.09 |
| 143 | 0.05 | 234 | 0.05 | 249 | 0.18 | 254 | 0.28 | 186 | 0.20 | 239 | 0.05 | 255 | 0.20 | 194 | 0.13 | 252 | 0.09 |
| 149 | 0.14 | 236 | 0.10 | 253 | 0.18 | | | 191 | 0.10 | 243 | 0.14 | 257 | 0.05 | 196 | 0.06 | 253 | 0.05 |
| 153 | 0.05 | 238 | 0.10 | | | | | | | 245 | 0.05 | 271 | 0.35 | 202 | 0.06 | 256 | 0.18 |
| | | 242 | 0.05 | | | | | | | 247 | 0.05 | | | 204 | 0.13 | 258 | 0.14 |
| | | 244 | 0.05 | | | | | | | 254 | 0.05 | | | | | 260 | 0.05 |
| | | 248 | 0.05 | | | | | | | 257 | 0.23 | | | | | | |
| | | | | | | | | | | 259 | 0.14 | | | | | | |
| | | | | | | | | | | 267 | 0.05 | | | | | | |

п.н. – размер аллеля в парах нуклеотидов; P – частота встречаемости аллеля

Таблица 3. Характеристика полиморфизма микросателлитных локусов

Table 3. Characterization of polymorphism of microsatellite loci

| Локус | Na | Ne | Ho | He | AveHet | I |
|------------|------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ssrVVS2 | 7 | 4.1017 | 0.8182 | 0.7922 | 0.7562 | 1.6405 |
| ssrVVMD5 | 10 | 6.8966 | 0.8000 | 0.9000 | 0.8550 | 2.1082 |
| ssrVVMD7 | 6 | 5.3778 | 1.0000 | 0.8528 | 0.8140 | 1.7293 |
| ssrVVMD25 | 5 | 4.5000 | 0.7778 | 0.8235 | 0.7778 | 1.5530 |
| ssrVVMD27 | 6 | 4.8780 | 0.9000 | 0.8368 | 0.7950 | 1.6696 |
| ssrVVMD28 | 12 | 8.3448 | 0.9091 | 0.9221 | 0.8802 | 2.2996 |
| ssrVVMD32 | 7 | 4.8780 | 1.0000 | 0.8368 | 0.7950 | 1.7601 |
| ssrVrZAG62 | 8 | 4.9231 | 0.7500 | 0.8500 | 0.7969 | 1.8407 |
| ssrVrZAG79 | 9 | 7.5625 | 0.8182 | 0.9091 | 0.8678 | 2.0983 |
| Mean | 7.78 | 5.7181 | 0.8637 | 0.8582 | 0.8153 | 1.8555 |
| St. Dev | 2.22 | 1.4978 | 0.0929 | 0.0433 | 0.0427 | 0.2543 |

Na – общее число идентифицированных аллелей; Ne – эффективное число аллелей; Ho – фактическая гетерозиготность; He – ожидаемая гетерозиготность; AveHet – средняя гетерозиготность; I – индекс разнообразия Шеннона; Mean – средние; St. Dev – стандартное отклонение.

Таблица 4. Коды (молекулярные паспорта) генотипов сортов винограда селекции Института «Магарач»

Table 4. Codes (passports) of grape genotypes developed by the Institute Magarach

| Сорт | Молекулярно-генетические коды (паспорта сортов) |
|-------------------------|--|
| Рислинг мускатный | VVMD5 n+4/n+6 VVMD7 n+14/n+18 VVMD25 0 /0 VVMD27 0/ 0 VVMD28 n+12/n+30 VVMD32 n+17/n+37 VVS2 n+12/n+28 VrZAG62 n+8/n+8 VrZAG79 n+7/n+18 |
| Спартанец Магарача | VVMD5 n+12/n+24 VVMD7 n+8/n+18 VVMD25 n+4/n+20 VVMD27 n+6/n+10 VVMD28 n+2/n+32 VVMD32 n+5/n+17 VVS2 n+10/n+20 VrZAG62 n+22/n+30 VrZAG79 n+6/n+6 |
| Данко | VVMD5 n+6/n+16 VVMD7 n+8/n+18 VVMD25 n+4/n+14 VVMD27 n+12/n+14 VVMD28 n+20/n+42 VVMD32 n+15/n+23 VVS2 n+20/n+22 VrZAG62 0/6 VrZAG79 n+7/n+16 |
| Цитронный Магарача | VVMD5 n+6/n+22 VVMD7 n+8/n+16 VVMD25 n+6/n+20 VVMD27 n+4/n+4 VVMD28 n+2/n+44 VVMD32 n+21/n+37 VVS2 n+10/n+12 VrZAG62 n+16/n+30 VrZAG79 n+14/n+18 |
| Крымчанин | VVMD5 n+12/n+12 VVMD7 n+16/n+18 VVMD25 n+4/n+4 VVMD27 n+6/n+19 VVMD28 n+24/n+44 VVMD32 n+9/n+15 VVS2 n+12/n+14 VrZAG62 n+14/n+28 VrZAG79 n+18/n+18 |
| Бессемянный Магарача | VVMD5 n+6/n+10 VVMD7 n+16/n+22 VVMD25 n+20/n+20 VVMD27 n+6/n+10 VVMD28 n+28/n+42 VVMD32 n+21/n+37 VVS2 n+12/n+12 VrZAG62 n+12/n+14 VrZAG79 n+6/n+10 |
| Кишмиш Магарача | VVMD5 n+10/n+12 VVMD7 n+16/n+22 VVMD25 n+14/n+20 VVMD27 n+10/n+19 VVMD28 n+28/n+42 VVMD32 n+21/n+37 VVS2 n+12/n+28 VrZAG62 n+14/n+20 VrZAG79 n+12/n+20 |
| Катта Курган | VVMD5 n+18/n+18 VVMD7 n+12/n+22 VVMD25 n+10/n+14 VVMD27 n+4/n+10 VVMD28 n+18/n+18 VVMD32 n+21/n+37 VVS2 n+28/n+32 VrZAG62 n+14/n+14 VrZAG79 n+10/n+20 |
| Кировабадский столовый | VVMD5 n+12/n+16 VVMD7 n+8/n+14 VVMD25 n+4/n+6 VVMD27 n+10/n+14 VVMD28 n+42/n+44 VVMD32 n+9/n+37 VVS2 n+12/n+12 VrZAG62 0/0 VrZAG79 n+6/n+14 |
| Сверхранний бессемянный | VVMD5 0/0 VVMD7 n+16/n+22 VVMD25 0/0 VVMD27 n+6/n+14 VVMD28 n+28/n+42 VVMD32 0/0 VVS2 n+12/n+20 VrZAG62 0/0 VrZAG79 n+10/n+12 |

все сорта имеют уникальные профили, синонимов и омонимов не выявлено. Оценена генетическая изменчивость, а именно: уровень полиморфизма составил 100%. Всего в 9 микросателлитных локусах идентифицировано 69 аллелей, среднее число аллелей – 7,67 аллелей/локус, что соответствует аналогичным показателям среди европейских сортов (7,2 – 7,8 аллеля / локус). Эффективное число аллелей (Ne) составило 4.10 – 8.34/локус. Установлено, что с высокой частотой встречались селекционные генотипы, несущие аллели 133 п.н. в локусе VVS2 (p=0,41), 271 п.н. в локусе VVMD32 (p=0.35) и 188 п.н. в локусе VrZAG62. Среднее значение фактической гетерозиготности (Ho) было высоким и составило 0.864, что было выше, например, чем в выборках крымских и донских аборигенных сортов винограда.

Источники финансирования:

Работа выполнена в рамках ГЗ №0833-2015-0019

Financing source:

The work was conducted under public assignment №0833-2015-0019

Конфликт интересов

Не заявлен

Conflict of interests:

Not declared.

Список литературы/References

1. Maul E., Topfer R., Carka F. et al. 2015. Identification and characterization of grapevine genetic resources maintained in Eastern European Collections // Vitis (Special issue). 2015. Vol. 54. pp. 5-12.
2. Riaz S., Lorenzis G., Velasco D., Koehmstedt A., Maghradze D., Bobokashvili Z., Musayev M., Zdunic G., Laucou V.,

- Walker A., Failla O., Preece J., Aradhya M. and Arroyo-Garcia R. Genetic diversity analysis of cultivated and wild grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions around the Mediterranean basin and Central Asia. BMC Plant Biology (2018) 18:137 <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1351-0>
3. Sadiye Peral Eyduvan, Sezai Ercisli, Meleksen Akin & Ecevit Eyduvan. Genetic characterization of autochthonous grapevine cultivars from Eastern Turkey by simple sequence repeats (SSRs). Biotechnology & Biotechnological equipment, 2016 Vol. 30, № 1, pp. 26-31.
 4. Gorislavets S., Bacilieri R., Risovannaya V., Memetova E., Laucou V. Genetic diversity of ancient grape cultivars of the Crimea region. Vitis (Special issue). 2015. Vol. 54. pp. 37-41.
 5. Gorislavets S., Risovanna V., Bacilieri R., Hausman J.F. and Heuertz M. A Parentage Study of Closely Related Ukrainian Wine Grape Varieties using Microsatellite Markers. Cytology and Genetics. 2010. Vol. 44. №2. pp. 95-102.
 6. Гориславец С.М., Рисованная В.И. Генотипирование сорта винограда Бессемянный Магарача и анализ его происхождения с использованием SSR маркеров // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2018. – №4. С.19-21.
Gorislavets S.M., Risovannaya V.I., Spotar G.Yu., Volodin V.A. Genotyping of Bessemyannyi Magaracha grape variety and analysis of its origin using SSR markers. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2018. №4. pp. 19-21 (in Russian).
 7. Рисованная В.И., Гориславец С.М. К вопросу о генетическом родстве сортов винограда Джеват Кара и Буланий // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2018. – №2. – С. 4-6.
Risovannaya V.I., Gorislavets S.M. To the issue of genetic affinity of Gevat Kara and Bulanyi grapes. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2018. №2. pp. 4-6 (in Russian).
 8. This P. A. Jung, P. Voccacci [et al.] Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivar // Theor. Appl. Genet. 2004. Vol. 109 (7). pp. 1448-1458.
 9. Laucou V. T., Lacombe, F. Dechesne et al. High through put analysis of grape genetic diversity as a tool for germ plasm collection management // Theor. Appl. Genet. 2011. Vol.122. pp. 1233-1245.
 10. Arroyo-Garcia R. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp sativa) based on chloroplast DNA polymorphism. Arroyo-Garcia R, Ruiz-Garcia L., Bolling L., et al. Mol. Ecol. 2006. 15. pp. 3707-3714. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2006.03049.x
 11. 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. – Т.21., № 3 - С. 191-197.
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. Viticulture and Winemaking, 2019; 21(3): 191-197 (in Russian).
 12. Гориславец С.М., Меметова Э.Ш., Рисованная В.И. ДНК профилирование сортов винограда Манжил ал, Шабаш и Шабаш крупноягодный и уточнение их 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. DNA profiling of grape varieties Manzhil al, Shabash and Shabash krupnoiagodnyi and clarification of their genetic relationships using microsatellite loci. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2015, № 3, pp. 17-18 (in Russian).

ORCID ID:

Гориславец С.М.: 0000-0002-6749-8048
 Володин В.А.: 0000-0002-2842-6092
 Спотарь Г.Ю.: 0000-0001-6725-250X
 Рисованная В.И.: 0000-0003-2208-798X