

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР «ІНСТИТУТ ВІНОГРАДАРСТВА
І ВІНОРОБСТВА імені В. Є. ТАЇРОВА»

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА
ГЕНОМІКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КАРАСТАН ОЛЬГА МИХАЙЛІВНА

УДК 575:584.36:631.52

ДИСЕРТАЦІЯ
МІКРОСАТЕЛІТНІ МАРКЕРИ В ДОСЛІДЖЕННІ
ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ ТА СЕЛЕКЦІЇ ВІНОГРАДУ
VITIS VINIFERA L.

03.00.22 – молекулярна генетика

091 – біологічні науки

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ О. М. Карастан

Науковий керівник: Мулюкіна Ніна Анатоліївна, доктор
сільськогосподарських наук

Одеса – 2020

АНОТАЦІЯ

***Карастан О. М.* Мікросателітні маркери в дослідженні генетичних ресурсів та селекції винограду *Vitis vinifera* L. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика. – Національний науковий центр «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова». – Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Київ, 2020.

В дисертаційній роботі проаналізовано та узагальнено можливі напрямки застосування мікросателітних маркерів ДНК у дослідженні генетичних ресурсів та селекції винограду в Україні.

У першому розділі досліджено «Молекулярно-генетичний поліморфізм мікросателітних локусів сортів та форм винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» шляхом використання «стандартного ряду» (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, ZAG62, ZAG79, VVMD32, VVMD36, VVMD25) мікросателітних маркерів, рекомендованих дослідниками в рамках загальноєвропейських проектів Genres081 та GrapeGen06 для ідентифікації зразків винограду.

Вперше визначено повні алельні профілі 54-х сортів та форм винограду української і 26 сортів закордонної селекції.

Для верифікації надійності отриманих даних виявлені генотипи зразків порівняно з деякими аналогічними, вже розміщеними у Міжнародному каталозі сортів винограду «VIVC», та встановлене повне співпадіння їхнього алельного складу. Це свідчить про можливість використання отриманих нами алельних профілів спільно із профілями будь-яких сортів, розміщених у «VIVC» або інших інформаційних джерелах для аналізу ідентичності та походження сортів та форм винограду, визначення зразків із некоректними найменуваннями, відстежування успадкування окремих алелів тощо.

На прикладі сортів Северний, Одеський стійкий та Декоративний розглянуто використання методу реконструкції генотипів наразі фізично відсутніх сортів та форм шляхом аналізу мікросателітних профілів їх нащадків.

Так, для сорту Северний визначено повний алельний склад 8 локусів; для сорту Одеський стійкий – 5 локусів та сорту Декоративний – також 8 локусів. Подальше порівняння отриманих профілів (за виключенням сорту Северний, для якого наразі відсутня інформація щодо родоводу) з генотипами ймовірних батьківських форм показало можливість походження сорту Одеський стійкий від лише від сорту Бабяска нягре та сорту Декоративний лише від сорту Северний. Другі батьківські форми були відхилені через відмінність складу локусів.

Таким чином, мікросателітне профілювання у винограду є потужними інструментом, що дозволяє отримати широкий пласт початкових даних у вигляді алельних характеристик, та в подальшому використовувати його для досліджень винограду у різних напрямках.

Другий розділ «Мікросателітний аналіз родоводів сортів та форм винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВІВ імені В. Є. Таїрова» висвітлює застосування методу верифікації родоводу на основі порівняння складу генотипів зразків винограду та їх ймовірних батьківських форм із наступним вирахуванням статистичної ймовірності родинних зв'язків.

Порівняльний аналіз складу мікросателітних профілів, виявив повний збіг алельних характеристик і, відповідно, можливість походження від обох заявлених батьківських форм для 51 зразку з 80 досліджених.

Для зразків Приморський, Белградський безнасіневий та Роднічок одна з двох ймовірних батьківських форм відхилена через неспівпадіння алельного складу, причому в подальшому для форми Приморський був визначений справжній батьківський сорт. Зразок «Сірануш» виявлений як «невірне найменування», оскільки його мікросателітний профіль відрізнявся від батьківських сортів Катта курган та Кишмиш рожевий. Родовід трьох

зразків (Агат донський, Афуз Алі та Восторг) не аналізувався через відсутність будь-якої інформації щодо складу батьківської пари.

Родоводи 22 зразків, батьківські форми яких наразі недоступні для дослідження або даних щодо складу їх генотипів немає, перевірено шляхом використання профілів їх прабатьківських форм, як запропоновано деякими вченими. Більшість проаналізованих генотипів показали, як мінімум, наявність подібних алелів у «нащадків» та «прабатьків». В деяких випадках порівняння дозволило відхилити ймовірних «прабатьків», які не показали наявність таких алелів.

Подальша оцінка статистичної ймовірності на основі показника «відношення правдоподібності» 51 зразка винограду показала, що всі вони демонстрували більшу вірогідність походження саме від визначеної на попередньому етапі пари батьків, ніж від будь-яких випадкових сортів, що не брали участь в дослідженні. Причому показник «відношення правдоподібності» був прямо пропорційний рівню гетерогенності складу генотипів та, в даному дослідженні, склав найвищі величини у нащадків міжвидових гібридів – сортів Голубок, Подарунок селекціонера, Інтерлейкін, Ромулус та ін.

В третьому розділі «Аналіз генетичної різноманітності ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» вираховані та обговорені на фоні аналогічних досліджень інших авторів основні параметри оцінки генетичного різноманіття – загальна та ефективна кількості алелів, очікувана та наявна гетерозиготності, вірогідність нульового алеля, ймовірність ідентичності, число гомо-та гетерозигот та індекс фіксації Райта. У 9 локусах визначено загалом 108 алелів (в середньому 12 алелів на локус), причому найбільш поліморфним виявився локус VVMD28 (18 алелів), а найменш поліморфним – VVMD25 (8 алелів).

Визначено, що попри входження до складу вибірки декількох груп близькоспоріднених сортів, які мають спільного родоначальника або спільних близьких родичів (наприклад, в склад досліджуваної вибірки сорту

входить 13 зразків сорту Дат'є де Сен Вальє та 8 – сорту Чауш рожевий), величини розглянутих показників генетичного різноманіття загалом вищі, ніж в аналогічних дослідженнях досить великих закордонних ампелографічних колекцій. Зроблено припущення щодо впливу на гетерогенність вибірки наявності значної кількості прямих нащадків азійських сортів Чауш рожевий, Султаніна, Кишмиш чорний, Афуз Алі та ін., та зразків винограду міжвидового походження з *V. amurensis* Rupr. у складі геному.

В роботі також розглянуто та обговорено алельне різноманіття кожного з дев'яти досліджуваних мікросателітних локусів та можливі джерела рідкісних алелів, які допомагають зрозуміти напрямок еволюції сортименту винограду та будуть корисними для дослідження родоводів сортів невідомого походження.

Четвертий розділ «Маркер-супутній добір за ознакою безнасінності у винограду» окреслює основні засади маркер-супутнього добору у винограду. В якості маркера обрано інтрагенний мікросателітний локус p3_VvAGL11, алель 198 п. н. якого, за літературними даними, пов'язаний із проявом ознаки безнасінності. На вибірці 45 сортів ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» досліджено генетичну варіабельність даного локусу (виявлено 10 алелів, 2 з яких – вперше) та визначений рівень поліморфності, цілком зіставний із поліморфізмом інших мікросателітних локусів, що широко застосовуються для оцінки внутрішньої сортової мінливості у винограду.

В нашій роботі алель 198 п. н. локусу p3_VvAGL11 виявлено у всіх безнасінних сортів вибірки та у деяких сортів із насінним фенотипом. Зроблено припущення щодо існування у природному різноманітті винограду двох алельних варіантів: пов'язаного та не пов'язаного із ознакою безнасінності у винограду, які позначено відповідно 198⁺ та 198⁻. На підставі аналізу родоводів зразків дослідженої вибірки, що містили алель 198 п. н. у складі власних даних, та інформації, отриманої від закордонних

колег і з відкритих джерел, було зроблено висновок, що донором варіанту 198⁺ п. н. являються сорти Султаніна та Кишмиш чорний, а варіанту 198⁻ п. н. – здебільшого сорт Чауш білий, і, додатково, інші азійські сорти – Васарга чорна, Катта курган та Ічкімар. Присутність варіанту 198⁻ п. н. в алельному різноманітті локусу p3_VvAGL11 буде дещо зменшувати ефективність маркер-супутнього добору із використанням даного маркера, тому гібридизації обов'язково має передувати детальне та максимально можливе вивчення родоводів сортів-кандидатів.

Зважаючи на те, що ефективність маркерних систем може відрізнятись в залежності від походження гібридних популяцій, в дисертаційній роботі перевірена діагностична придатність маркера p3_VvAGL11 для добору рослин-носіїв ознаки безнасіньності у гібридній популяції Кобзар × Русалка 3, де батьківський сорт Русалка 3 є безнасіньним.

Серед проаналізованих 23 гібридних зразків, виявлено чотири сіянці, що не належать даній популяції та 12 сіянців-носіїв алеля 198 п. н. Серед цих сіянців лише чотири, які мають гомозиготні генотипи 198:198 беззаперечно будуть проявляти безнасіньний фенотип, оскільки батьківський сорт Кобзар походить сорту Катта курган та є донором фальш-позитивного алеля 198⁻ п. н.

Добір серед інших 8 гібридних зразків із гетерозиготними генотипами -:198 можливий лише за результатами фенотипування після вступу у фазу плодоношення.

Загалом, незважаючи на існування фальш-позитивного алеля 198 п. н., локус p3_VvAGL11 є зручним маркером, який дозволяє за мінімальних втрат коштів та часу, проводити лабораторну діагностику та вилучення рослин без ознаки інтересу перед їх розміщенням у теплицях та насадженнях.

Ключові слова: мікосателіт, родовід, походження, генетичне різноманіття, маркер-супутній добір, виноград, *Vitis vinifera* L.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові статті:

1. **Карастан О. М.** Реконструкція генотипів та аналіз походження сортів винограду Северний, Одеський стійкий та Декоративний. *Вісник Одеського національного університету. Біологія*. 2015. Т. 20. Вип. 1. № 36. С. 82–91. DOI: 10.18524/2077-1746.2015.1(36).56673. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
2. **Karastan O.,** Mulukina N., Papina O., Gerus L., Kovalyova I. Microsatellite characteristics of grapevine cultivars included to Ukrainian state register of plant varieties [Електронний ресурс]. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України*. 2015. № 3. Режим доступу: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&IMAGE_FILE_DOWNLOAD=1&Image_file_name=PDF/Nd_2015_3_15.pdf Заголовок з екрана. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
3. **Карастан О.,** Мулюкіна Н., Папіна О., Плачинда Г. Поліморфізм інтрагенного мікросателітного маркера p3_VvAGL11, зчепеного із ознакою безнасінності у винограду (*V. vinifera* L.). *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2015. Вип. 70. С. 90–99. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
4. **Карастан О. М.** Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С., Ковальова І. А. Оцінка генетичної подібності безнасінневих сортів винограду ампелографічної колекції Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» та їх ймовірних батьківських форм. *Вісник Київського національного*

- університету імені Тараса Шевченка. Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2015. Вип. 1(18). С. 60–64. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
5. **Карастан О.**, Мулюкіна Н., Папіна О. Молекулярно-генетичний аналіз батьківських та прабадьківських форм для верифікації походження зразків винограду *V. vinifera* L. *Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. Серія: Біологічні науки.* 2017. Вип. 13 (362). С. 15–20. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
 6. **Карастан О.**, Мулюкіна Н., Папіна О., Плачинда Г. Оцінка генетичного різноманіття винограду (*Vitis vinifera* L.) з використанням мікросателітних маркерів. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна.* 2018. Вип. 77. С. 53–61. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
 7. **Karastan O. M.**, Muliukina N. A., Papina O. S. Verification of Grape Pedigree by Microsatellite Analysis. *Cytology and Genetics.* 2018. Vol. 52. № 5. P. 331–342. DOI: 10.3103/S0095452718050031. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
 8. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С. Ідентифікація та походження безнасінневих сортів винограду колекції ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова». *Збірник наукових праць СГІ–НЦНС.* 2014. Вип. 24. № 64. С. 76–84. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
 9. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С., Ковальова І. А., Герус Л. В. Маркер-супутній добір за ознакою

- безнасіненності у винограду у гібридній популяції Кобзар × Русалка 3. *Аграрний вісник Причорномор'я. Біологічні науки*. 2014. Вип. 73. С. 49–57. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
10. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Папіна О. С. Мікросателітні профілі сортів та форм винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова». *Збірник наукових праць СГІ-НЦНС*. 2017. Вип. 29. № 69. С. 107–116. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
11. Мулюкіна Н. А., Ковалева І. А., Герус Л. В., **Карастан О. М.**, Небиш А. А., Маргарян К. С., Мелян Г. Г., Арутюнян Р. М. Фенотипическая и генотипическая характеристика межвидовых сортов винограда Опаловый и Бурмунк для получения перспективных гибридных форм. *Биологический журнал Армении*. 2014. Вып. 66. № 1. С. 103–107. *Особистий внесок – проведення мікросателітного аналізу матеріалу, формулювання висновків.*
12. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С., Герус Л. В., Ковальова І. А. Мікросателітний аналіз походження сортів та форм винограду селекції ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова». *Виноградарство і виноробство : міжвідом. тематич. наук. зб.* Одеса : ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова», 2014. Вип. 51. С. 139–144. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
13. Власов В. В., Мулюкіна Н. А., Джабурия Л. В. [и др.]. Ампелографический атлас сортов и форм винограда селекции Национального научного центра «Институт виноградарства и виноделия им. В. Е. Таирова». К. : Аграр. наука, 2014. 136 с. *Особистий внесок – експериментальні дослідження, аналіз результатів.*

14. Мулюкина Н. А., **Карастан О. М.**, Папина Е. С. ДНК-технологии в изучении винограда. *Виноград* : монография / под. ред. В. В. Власова. Одесса : Астропринт, 2018. С. 421-440. *Особистий внесок – експериментальні дослідження, аналіз результатів.*

Тези:

15. **Карастан О. М.**, Папина Е. С., Росохатая Т. И., Плачинда Г. В. Маркерсопутствующий отбор бессемянных генотипов в селекции винограда. *Современные тенденции в сельском хозяйстве : тез. док. II Междунар. науч. Интернет-конференции*. Т. 1 (Казань, 10–11 октября 2013 года). Казань, 2013. С. 82–84.
16. **Карастан О. М.**, Мулюкина Н. А., Папина Е. С., Росохатая Т. И., Плачинда Г. В. Происхождение некоторых форм винограда селекции ННЦ «ИВиВ им. В. Е. Таирова». *Агротехнологии XXI века : концепции устойчивого развития : материалы междунар. конф., посвящ. 100-летию кафедры ботаники, защиты растений, биохимии и микробиологии (Воронеж, 17–18 апреля 2014 г.) : тезисы докл.* Воронеж, 2014. С. 341–346.
17. **Карастан О.**, Мулюкина Н., Папина Е. Оценка аллельного разнообразия микросателлитных локусов в исследовании генетических ресурсов винограда. *Генетика, физиология и селекция растений : сб. док. IV Междунар. конф. (Кишинев, 9–10 октября 2017 г.)*. Кишинев, 2017. Т. 1. С. 114–117.
18. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Папіна О. С. Сучасний дизайн сортів винограду *V. vinifera* L. за допомогою молекулярних маркерів. *Сучасна біологія рослин. Теоретичні та прикладні аспекти* : IV Міжнар. наук. конф. (Україна, Харків 9–10 жовтня 2018). Харків, 2018. С. 87–88.

ABSTRACT

Karastan O. M. Microsatellite markers in the study of genetic resources and grapes breeding of *Vitis vinifera* L. – Qualification scientific paper, manuscript.

Thesis Candidate of Biological Sciences on a speciality 03.00.22 – Molecular Genetics. – NSC «Institute of viticulture and wine-making named after V. Ye. Tairov». – Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2020.

In this thesis study, feasible application directions of DNA microsatellite markers in the research of genetic resources and grape breeding in Ukraine were analyzed and summarized.

The first section explores «Molecular-genetic polymorphism of microsatellite loci of grape varieties and hybrid forms in the ampelographic collection of NSC «IViV named after V. Ya. Tairov» using «the standard set» (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, ZAG62, ZAG79, VVMD32, VVMD36, VVMD25) of microsatellite markers recommended by European researchers for grape sample identification. Full allele profiles of 54 Ukrainian varieties and hybrid forms and 26 foreign cultivars were determined. For reliability verification of obtained data sample genotypes were compared to the same ones, already placed in the «Vitis» International Variety Catalogue. It was determined that their allele profiles fully match. It proves the possibility of using obtained allelic profiles along with profiles of any varieties placed in «Vitis» or other sources for genealogy analysis, identification of specimens with incorrect names, tracking inheritance of individual alleles, etc., provided that these sources will be thoroughly checked.

Using Severnyi, Odesskii ustoichivi and Dekorativnyi varieties as an example, application of the method of genotype reconstruction for physically absent varieties and hybrid forms by performing analysis of microsatellite profiles

of their descendants was considered. For Severnyi, Odesskii ustoichivi and Dekorativnyi cultivars complete allele profiles of 8, 5, and 8 loci, respectively, were determined. Comparison of variety data profiles (except Severnyi variety, for which there is currently no genealogy information) with probable parent forms showed the possibility that Odesskii ustoichivi and Dekorativnyi varieties derived from Babeaska Neagra and Severnyi varieties, respectively. Thus, microsatellite profiling in grapes is a powerful tool that allows obtaining a wide pool of initial data in the form of allelic characteristics, and use it for further grape studies of various directions.

The second section «Microsatellite analysis of the genealogy of grape varieties and hybrid forms in the ampelographic collection of NSC «IViV named after V. Ye. Tairov» highlights the usage of the method of pedigree verification via comparison genotype composition of descendants and probable parents and further estimation of the statistical probability of these family relationships.

Comparative analysis of microsatellite profiles showed a complete match of allelic characteristics and, therefore, the possibility that 51 studied samples derived from two claimed parent forms.

Pedigree of 22 samples, parent forms of which are currently not available for research and there is no data regarding the composition of their genotypes, was checked by using profiles of their ancestral forms, as suggested by some scientists. Most analyzed genotypes showed at least the presence of similar alleles in «descendants» and «ancestors». In some cases, such comparison allowed to exclude probable «ancestors» which did not possess such alleles.

For Primorskij, Beogradska besemena and Rodnichok samples one of two probable parent forms was rejected because of a discrepancy in allelic composition. «Siranush» specimen was defined as «the wrong name», since its microsatellite profile was different from Katta kurgan (in 2 of 9 loci) and Kishmish rozovyi (in 2 of 9 loci) parent varieties.

Further estimation of statistical probability based on the «likelihood ratio» of 51 grape samples showed that they all demonstrated a greater genealogy

probability from the proposed pair of parents than from any random varieties that were not included in this study. Moreover, «the likelihood ratio» is straightforward proportional to the heterogeneity level of genotype composition and in the current research was the highest in descendants of interspecific hybrids (Golubok, Podarok selektsionera, Interlaken, Romulus varieties and others).

In *the third section* «Analysis of genetic diversity in the ampelographic collection of NSC «IViV named after V. Ye. Tairov» main parameters of genetic diversity evaluation (total and effective number of alleles, expected and observed heterozygosity, probability of a null allele, probability of similarity, the number of homo- and heterozygotes, and Wright's fixation index) were estimated and discussed in comparison with similar studies of other authors. A total of 108 alleles were identified in 9 loci. The most polymorphic locus was VVMD28 (18 alleles), and the least polymorphous one was VVMD25 (8 alleles) with an average of 12 alleles per locus.

It was determined that, despite studying several groups of closely related varieties that have a common ancestor or common close relatives (for example, 13 specimens of the studied samples are relatives of Dattier de St. Vallier and 8 – of the Chaouch rozovyi variety) above mentioned parameters of genetic diversity were generally higher than in similar studies of larger foreign ampelographic collections. It was assumed that the presence of a significant number of direct descendants of Asian varieties (Chaouch rozovyi, Sultanina, Kishmish chernyi, Afus Ali and others) and grape samples of an interspecific pedigree with *V. amurensis* Rupr., present in a genome, influences sample heterogeneity.

In the current research allele diversity of each of nine studied microsatellite loci and possible sources of rare alleles that help to understand the evolution direction of the grape assortment and will be useful for studying pedigree of varieties with an unknown origin were also reviewed and discussed.

The fourth section «Marker-assisted selection of grape seedlessness trait» outlines the basic principles of marker-assisted selection in grapes. p3_VvAGL11 intragenic microsatellite locus is chosen as a marker, since its 198 b. p. allele is

associated with the manifestation of seedlessness trait, according to scientific studies. 45 varieties from the ampelographic collection of NSC «IVIV named after V. Ye. Tairov» were used to investigate genetic variability of this locus (10 alleles were identified, 2 of them were found at first). Also polymorphism level was determined to be comparable to polymorphism of other microsatellite loci, which are widely used for evaluation of intravarietal variability in grapes.

In this study, 198 b. p. allele of p3_VvAGL11 locus was found in all seedless varieties and some seeded cultivars. It was assumed that two allele variants (associated and non-associated with grape seedlessness trait) are present in natural grape diversity. They were marked as 198⁺ and 198⁻, respectively. Having analyzed sample pedigrees which contained 198 b. p. allele in own obtained data and information received from foreign colleagues and open sources, it was concluded that source of 198⁺ b. p. variant were inherited Sultanina and Kishmish chernyi varieties. While donors of 198⁻ b. p. variant were derived mostly from Chaouch blanc variety, and, to some extent, other Asian varieties (Vasarga chernaya, Katta kurgan and Ichkimar). The presence of 198⁻ b. p. variant in allele variety of p3_VvAGL11 locus will decrease the efficiency of marker-assisted selection using this marker, therefore, a detailed and widely accessible investigation of each variety pedigree must precede hybridization.

Considering that efficiency of marker systems may be different depending on pedigree of hybrid populations, in this thesis a possibility of using p3_VvAGL11 marker as a diagnostic tool for validation was checked by a selection of seedlessness plants, in hybrid combination Kobzar x Rusalka 3 (Rusalka 3 is seedless). Among 23 analyzed hybrid samples, 12 seedlings carriers of 198 b. p. allele and four seedlings, which did not belong to this population, were found. As Kobzar cultivar is a descendant of Katta kurgan and, thus, has a false-positive 198⁻ b. p. allele, in this study we can say that four seedlings with homozygous genotypes 198:198 will undoubtedly have the seedless phenotype. Selection among hybrid samples with heterozygous genotypes -:198 can be performed according to phenotype results only after entering the ripening phase.

Key words: microsatellite, pedigree, parentage, genetic diversity, marker-assisted selection, grapes, *Vitis vinifera* L.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	19
ВСТУП	20
РОЗДІЛ 1 МІКРОСАТЕЛІТНІ МАРКЕРНІ СИСТЕМИ У ДОСЛІДЖЕННІ ТА ВИКОРИСТАННІ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ ВІНОГРАДУ (огляд літератури)	28
1.1. Внутрішньо- та міжвидова ідентифікація винограду	31
1.2. Верифікація походження сортів та форм винограду	37
1.3. Оцінка генетичного різноманіття винограду з метою ревізії, збереження та використання	41
1.4. Маркер-супутній добір в селекції винограду	44
1.4.1. Ранній скринінг за ознакою стійкості у винограду	46
1.4.2. Добір за ознакою безнасінності у винограду	48
1.4.3. Асоціація мікросателітного маркера p3_VvAGL11 з ознакою безнасінності у винограду	50
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	54
2.1. Матеріали досліджень	54
2.2. Фенотипова оцінка за ознакою «формування насіння»	55
2.3. Виділення ДНК	55
2.4. Полімеразна ланцюгова реакція з використанням мікросателітних маркерів	55
2.4.1. Ампліфікація ДНК зразків винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова»	55
2.4.2. Ампліфікація ДНК гібридних форм та їхніх батьківських сортів	58
2.5. Візуалізація продуктів ампліфікації	59
2.5.1. Капілярний електрофорез продуктів ПЛР сортів та форм винограду ...	59
2.5.2. Електрофорез продуктів ампліфікації в агарозному та поліакриламідному гелях	59
2.6. Статистичний аналіз даних	60

РОЗДІЛ 3 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ МІКРОСАТЕЛІТНИХ ЛОКУСІВ СОРТІВ ТА ФОРМ ВИНОГРАДУ АМПЕЛОГРАФІЧНОЇ КОЛЕКЦІЇ ННЦ «ІВІВ імені В. Є. ТАЇРОВА»	61
3.1. Ідентифікація генотипів сортів та форм винограду української селекції	61
3.2. Визначення мікросателітних профілів сортів винограду закордонної селекції	65
3.3. Реконструкція генотипів сортів Северний, Одеський стійкий та Декоративний	69
РОЗДІЛ 4 МІКРОСАТЕЛІТНИЙ АНАЛІЗ РОДОВОДІВ СОРТІВ ТА ФОРМ ВИНОГРАДУ АМПЕЛОГРАФІЧНОЇ КОЛЕКЦІЇ ННЦ «ІВІВ імені В. Є. ТАЇРОВА».....	79
4.1. Порівняльний аналіз алельних профілів сортів та форм винограду з генотипами їх ймовірних батьківських сортів	79
4.2. Визначення за допомогою мікросателітних профілів батьківського компоненту в геномі сортів та форм, отриманих в результаті запилення сумішшю пилку	99
4.3. Оцінка статистичної ймовірності походження сортів та форм винограду від батьківських сортів, підтверджених порівняльним аналізом генотипів .	104
РОЗДІЛ 5 АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ РІЗНОМАНІТНОСТІ АМПЕЛОГРАФІЧНОЇ КОЛЕКЦІЇ ННЦ «ІВІВ імені В. Є. ТАЇРОВА».....	109
5.1. Визначення основних параметрів генетичного різноманіття.....	109
5.2. Алельне різноманіття та джерела рідкісних алелів	115
РОЗДІЛ 6 МАРКЕР-СУПУТНІЙ ДОБІР ЗА ОЗНАКОЮ БЕЗНАСІННЄВОСТІ У ВИНОГРАДУ.....	136
6.1. Визначення поліморфізму інтрагенного мікросателітного локусу p3_VvAGL11, зчепленого із ознакою безнасіненності у винограду.....	136
6.2. Ранній скринінг за допомогою маркера p3_VvAGL11 у гібридній популяції Кобзар × Русалка 3	148
УЗАГАЛЬНЕННЯ	155
ВИСНОВКИ.....	163

СПИСОК ОСНОВНИХ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	165
Додаток А.....	188
Додаток Б	192
Додаток В.....	196
Додаток Г	197
Додаток Д.....	202
Додаток Е	205

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

AFLP	(Amplified Fragment Length Polymorphism) – поліморфізм довжини ампліфікованих фрагментів.
RAPD	(Random Amplification Of Polymorphic DNA) – довільна ампліфікація поліморфної ДНК.
SSR	(Simple Sequence Repeats) – послідовності простих повторів.
SNP	(Single Nucleotide Polymorphism) – однонуклеотидний поліморфізм.
<i>V. amurensis</i>	вид <i>Vitis amurensis</i> Rupr.
<i>V. vinifera</i>	вид <i>Vitis vinifera</i> L.
<i>V. silvestris</i>	вид <i>Vitis vinifera</i> L. підвид <i>silvestris (sylvestris)</i> Gmel.
<i>V. sativa</i>	вид <i>Vitis vinifera</i> L. підвид <i>sativa (vinifera)</i> D. C.
VIVC	Vitis International Variety Catalogue – міжнародний каталог сортів «VIVC».
В. дикий	вид Виноград дикий (<i>Vitis vinifera</i> L. ssp. <i>silvestris</i> Gmel.).
В. культурний	вид Виноград культурний (<i>Vitis vinifera</i> L. ssp. <i>sativa</i>)
ПЛР	полімеразна ланцюгова реакція.
п. н.	пари нуклеотидів ДНК.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Виноград (*Vitis vinifera* L.) – одна з найбільш цінних багаторічних культур, дослідженню якої приділяється велика увага у виноградарських країнах світу.

При цьому в селекції винограду існує безліч питань, чітка відповідь на які неможлива без використання молекулярних маркерів, що все частіше застосовуються у селекційних програмах.

Серед молекулярних методів мікросателітні (англ. SSR – Simple Sequences Repeats) маркери ДНК стали найбільш широко використовуваним типом маркерів, тому що їх властивості та інформативність відкривають досить широкий спектр застосування, від дискримінації сортів винограду [3, 6, 7, 96, 108, 142, 160, 205] до маркер-супутнього добору [41, 42, 145, 119, 120, 162, 207]. Вони є найбільш поширеним інструментом для ідентифікації організмів, аналізу походження, ревізій колекцій, популяційно-генетичних досліджень тощо [45, 67, 89, 92, 110, 126, 150, 171, 187, 189, 195].

Безумовною перевагою використання цього інструменту є одноразове отримання даних в результаті молекулярно-генетичного аналізу та можливість подальшого їх використання в зазначених напрямках досліджень. Визначення генотипів мікросталітних локусів батьківських пар дозволяють визначити їх генетичну спорідненість, оцінити ступінь гетерозиготності їх спадкового матеріалу та підтвердити або спростувати походження від них отриманих гібридних форм. Крім того, дані щодо мікросателітних профілів нащадків надають можливість встановити склад мікросателітних локусів батьківських сортів, навіть при їх фізичній відсутності у насадженнях.

Першочерговим завданням серед цих напрямків є чітка ідентифікація сортів, і будь-яка наукова програма генетичного поліпшення культури або збереження цілісності генетичних ресурсів повинна розглядати задачу ідентифікації рослин на рівні сорту або клону [79]. Для культури винограду це є дуже актуальним, оскільки давня історія культивування, міграція

різними регіонами та навіть континентами, призвели до формування складного комплексу з назв сортів, їх синонімів та омонімів [67, 187, 196].

Створення нових сортів винограду як і усіх інших багаторічних плодкових культур, представляє значні труднощі насамперед через тривалий біологічний цикл [38]. Залучення до селекційного процесу молекулярних методів оцінки генетичного різноманіття вихідного матеріалу та безпосереднє використання маркерів ДНК для раннього добору рослин-носіїв ознак інтересу дозволить скоротити тривалість та кошовність, а також підвищити ефективність процесу виведення нових сортів винограду.

Молекулярні технології роботи з ДНК використовуються в програмах селекції винограду з метою оптимізації та покращення добору і виведення нових сортів, отримання яких іншим шляхом практично не можливе.

Основними перевагами добору за генотипом є відсутність впливу агротехнічних прийомів культивування та умов навколишнього середовища на прояв ознаки інтересу, незалежність від віку рослин та їх статі, можливість вирізняти гомо- та гетерозиготні форми, проводити спрямовану гібридизацію та прогнозувати кінцеві результати.

Маркер-супутній добір, MAS (англ. Marker Assisted Selection – добір за допомогою молекулярних маркерів) – технологія, що дає можливість оцінювати гібридний матеріал та відбирати бажані генотипи на стадіях ювенільного розвитку рослин, економлячи при цьому від 2 до 4 років у процесі виведення сорту [115].

Результати використання мікросателітних маркерів в селекції винограду протягом останнього десятиріччя беззаперечно демонструють підвищення ефективності селекційного процесу [41, 42, 73, 90, 162].

В Україні застосування мікросателітних маркерів для ідентифікації сортів у селекції винограду дотепер стосувалося невеликої вибірки аборигенних сортів Криму [106] та незначної кількості сортів української селекції [5, 6, 53].

Найчастіше ідентифікація сортів винограду в Україні виконується ампелографічними методами, які через вплив умов навколишнього середовища на фенотиповий прояв ознак не можуть бути точними. З огляду на те, що кількість сортів, які культивуються в Україні та підтримуються у колекціях різних типів, сягає мінімум 3-х – 4-х тисяч, ефективна ревізія цього генофонду є неможливою без допомоги молекулярних маркерів.

Не використовується українськими селекціонерами реконструювання родоводів за допомогою маркерів SSR, що надає важливу інформацію щодо зв'язків між сортами винограду та відтворює хронологічний порядок їх виникнення [125], тим самим сприяє розумінню еволюції та природи існуючого світового ампелографічного асортименту та є корисним для дослідження генетичної основи цінних ознак.

Менеджмент зародкової плазми *Vitis* та її стале використання потребують економічно ефективних і раціональних селекційних програм, які включають скринінг генотипів молекулярними маркерами. Проте маркер-супутній добір в селекції винограду в Україні не використовується, хоча зусиллями селекціонерів Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні (далі Реєстр сортів рослин) постійно поповнюється новими сортами.

Таким чином, актуальність запланованих досліджень визначається високою ефективністю використання мікросателітних маркерів в селекції винограду та практичною відсутністю даного інструменту в програмах селекції винограду в Україні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано в відділі молекулярної генетики та фітопатології, селекційній експериментальній базі відділу генетики, селекції та ампелографії Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» (далі ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова») та в лабораторії молекулярної генетики АгроБіоІнституту (AgroBioInstitute, м. Софія, Болгарія). Дослідження проводили протягом 2011-2015 рр. в рамках виконання завдання

21.00.01.01.Ф «Дослідити характер генетичного різноманіття ознак та властивостей генотипів винограду різного походження та визначити напрямки адаптаційної мінливості» ПНД НААН «Виноградарство» (№ державної реєстрації 0111U003735) та двостороннього українсько-болгарського проекту «Оцінка генетичного різноманіття винограду України та Болгарії за допомогою молекулярних маркерів».

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було проведення молекулярно-генетичного аналізу мікросателітних локусів ДНК винограду та оцінка напрямків використання мікросателітних маркерів в дослідженні генетичних ресурсів та селекції винограду.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

1. Дослідити поліморфізм дев'яти мікросателітних локусів та оцінити придатність для диференціювання сортів та форм винограду селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова»;
2. Проаналізувати походження зразків досліджуваної вибірки від заявлених батьківських форм;
3. Визначити батьківський сорт у зразків винограду, отриманих в результаті запилення материнської форми сумішшю пилку;
4. Оцінити основні показники генетичного різноманіття вибірки зразків колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова»;
5. Провести аналіз частот алелів мікросателітних локусів, визначити джерела рідкісних алелів у досліджуваних сортів та форм винограду;
6. Оцінити поліморфізм мікросателітного маркера *p3_VvAGL11*, зчепленого із ознакою безнасінності у винограду;
7. Провести молекулярно-генетичне тестування гібридної популяції Кобзар × Русалка 3 інтрагенним мікросателітним маркером *p3_VvAGL11* для визначення рослин-носіїв безнасінного фенотипу.

Об'єкт дослідження: мінливість геному винограду.

Предмет дослідження: молекулярно-генетичний поліморфізм мікросателітних локусів ДНК.

Методи дослідження: молекулярно-генетичні методи (екстракція геномної ДНК, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), гель-електрофорез продуктів ампліфікації), елементи ампелографічного аналізу (візуальна оцінка ступеня безнасінності відповідно до 241 дескриптора, OIV); біоінформатичні методи (оцінка основних параметрів генетичного різноманіття (кількість алелів N_a , очікувана H_e та наявна гетерозиготності H_o , ймовірність виникнення нульових алелів r_s), визначення частот алелів); статистичні (вирахування вірогідності ідентичності PI (Probability of Identity), стандартного відхилення та відношення правдоподібності (Likelyhood Ratio)).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше визначено повний алельний склад мікросателітних локусів (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, ZAG62, ZAG79, VVMD32, VVMD36, VVMD25) 54 сортів та перспективних форм селекції ННЦ «IBiB імені В. Є. Таїрова», а також сортів Кишмиш ОСГІ, Ромулус, Плевен устійчивий, Агат донський. Показана придатність методу реконструкції генотипів сортів винограду шляхом використання генотипів нащадків для визначення алельного складу генотипу та аналізу походження сорту. Вперше молекулярно-генетичним аналізом верифіковано походження 54 сортів та перспективних форм селекції ННЦ «IBiB імені В. Є. Таїрова», а також деяких сортів закордонної селекції. Показана можливість використання мікросателітних маркерів для визначення батьківського компонента в геномі сортів та форм винограду, отриманих шляхом запилення материнської форми сумішшю пилку декількох сортів винограду. Вперше проведений аналіз генетичного різноманіття вибірки зразків колекції ННЦ «IBiB імені В. Є. Таїрова» та визначені джерела рідкісних алелів мікросателітних локусів винограду. На вибірці сортів та форм селекції ННЦ «IBiB імені В. Є. Таїрова» оцінений поліморфізм та визначено нові межі варіювання алельних розмірів мікросателітного маркера $r3_VvAGL11$, зчепленого із ознакою безнасінності у винограду. Показана придатність мікросателітного маркера $r3_VvAGL11$ для

раннього добору безнасіненних рослин у гібридних популяціях за умов попереднього тестування батьківських сортів.

Практичне значення одержаних результатів для селекції винограду полягає у створенні на основі алейних характеристик мікросателітних локусів ДНК паспортів сортів та форм селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» з метою включення до міжнародних баз даних світових генетичних ресурсів винограду, зокрема в Міжнародний каталог сортів «VIVC», та захисту прав інтелектуальної власності на сорти винограду.

Відділу селекції, генетики та ампелографії передано інформацію щодо верифікації походження 54-х сортів та перспективних форм селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова», в тому числі 6 сортів та форм, отриманих шляхом запилення материнської форми сумішшю пилку різних сортів винограду.

Мікросателітний маркер p3_VvAGL11 рекомендовано для раннього добору рослин у гібридних популяціях та використано в оцінці рослин гібридної комбінації F₁ (Кобзар × Русалка 3) на наявність або відсутність ознаки безнасіненності, таким чином, до методичних засад селекції винограду в Україні вперше включено елементи маркерної селекції.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем спільно з науковим керівником обрано ідею та тему дослідження, сформульовано основну мету і завдання роботи, та інтерпретовано отримані результати. Здобувачем особисто проаналізовано дані літератури за темою дисертації, виконано експериментальні дослідження та опубліковано отримані результати.

Апробація матеріалів дисертації. Результати досліджень представлено на VII Міжнародній конференції молодих вчених «Біологія: від молекули до біосфери» (Харків, Україна, 2012 р.); на II Міжнародній науковій Інтернет-конференції «Сучасні тенденції у сільському господарстві» (Казань, РФ, 2013 р.); на Першій міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 10-ій річниці від Дня утворення Українського інституту експертизи сортів рослин «Стан і перспективи формування сортових рослинних ресурсів в Україні» (Київ, Україна, 2012 р.); на Міжнародній конференції, присвяченій 100-річчю

кафедри ботаніки, захисту рослин, біохімії і мікробіології Воронежського державного аграрного університету імені імператора Петра I «Агротехнології XXI сторіччя: концепції стійкого розвитку» (Воронеж, РФ, 2014 р.); на Міжнародних «Таїровських читаннях» за темою «Законодавчі, нормативні та технологічні основи розвитку виноградарсько-виноробної галузі», присвячених 110-річчю заснування ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» (Одеса, Таїрове, 2014 р.); на засіданні відділення рослинництва НААН України та Президії НААН в ході проведення конкурсу на здобуття премії «За кращу наукову доповідь молодого ученого НААН з фундаментальних та прикладних досліджень» (Київ, 2014 р.); на Міжнародних «Таїровських читаннях» за темою «Проблеми інтеграції виноградарства і виноробства України до світового наукового та економічного простору», присвячених 110-річчю заснування ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» (Одеса, Таїрове, 2015); на Міжнародній конференції «Генетика, фізіологія та селекція» (Кишинів, Молдова, 2017); Міжнародній науковій конференції «Сучасна біологія рослин: теоретичні та прикладні аспекти» (Харків, 2018).

Публікації. Результати дисертаційної роботи викладено в 12 статтях (дві з яких входять до Thomson Scientific Master Journal List, одна – до бази даних Scopus); в розділі монографії; в ампелографічному атласі сортів винограду селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова», а також у тезах чотирьох доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, шести розділів основної частини, висновків, узагальнення, 6 додатків та списку використаних джерел. Дисертацію викладено на 207 сторінках друкованого тексту, включає 31 таблиць та 25 рисунків. Список літератури складається із 207 джерел, з них – 171 іншомовних.

Здобувач висловлює подяку за планування дисертаційної роботи, аналіз, обговорення, а також підготовку публікацій до друку заступнику директора ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» з наукової роботи д. с.-г. н. Мулюкiній Н. А., члену-кореспонденту НААН України, зав. кафедрою генетики та молекулярної біології ОНУ імені І. І. Мечникова Чеботар С. В.; за надання матеріалу для дослідів завідувачу відділу селекції, генетики та ампелографії к. с.-г. н. Ковальовій І. А.; за консультації в галузі ампелографії та селекції к. с.-г. н. Герус Л. І.

РОЗДІЛ 1

МІКРОСАТЕЛІТНІ МАРКЕРНІ СИСТЕМИ У ДОСЛІДЖЕННІ ТА ВИКОРИСТАННІ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ ВИНОГРАДУ (огляд літератури)

Мікросателітні маркерні системи, що представляють собою різноманітні комбінації маркерів, які підбираються залежно від мети дослідження, використовують вже близько 20 років [84, 128, 172, 194], але вони й досі залишаються актуальними [14, 43, 190].

Існування в ядерних геномах рослин послідовностей з простими повторами було показано М. Delseny у 1983 р. [77], проте корисним інструментом для досліджень в генетиці рослин вони стали лише після відкриття полімеразної ланцюгової реакції [146, 165]. Виявилось [175], що саме мікросателітні послідовності відповідали більшості вимог для ідеальних молекулярних маркерів, а саме: характеризувалися високою поліморфністю; селективною нейтральністю; кодомінантним типом успадкування, що дозволяє диференціювати гомо- та гетерозиготи; чисельністю та довільною поширеністю у геномі; високою відтворюваністю результатів; простим та зручним способом використання; доступною вартістю аналізу одного зразка.

Підвищення ефективності маркерних систем за рахунок автоматизації процесу генотипування, поліпшення роздільної здатності до 1 п. н., створення можливості для мультиплексування значно пришвидшило аналіз та скоротило витрати на ідентифікацію одного зразка, тому на сьогоднішній день дослідження з використанням мікросателітного аналізу стають все більш доступними та поширеними.

Мікросателіти – це частина тандемно повторюваних послідовностей у геномі, де специфічний коровий мотив повторюється декілька раз.

U. Lagercrantz із співавт. [123] було показано що середня відстань між мікросателітами складає приблизно 50 Кб, а найбільш частими дінуклеотидними повторами в рослинних об'єктах є мотиви (AT)_n, що

складають 74% від загальної кількості виявлених мікросателітів. Серед тринуклеотидних повторів найбільш чисельними виявилися мотиви (TAT)_n та (TCT)_n із частотою 27,5 та 25 %, відповідно.

Мікросателіти, окрім некодуючих послідовностей, зустрічаються в генах, являючись складовою частиною промоторів, UTR (англ. Untranslated Region – регіон, що не транлюється), інтронів та навіть кодуючих послідовностей [139]. Проте вони рідко пов'язані із функціональними генами, що дозволяє накопичувати мутації із відносно високою швидкістю та забезпечує поліморфізм, достатній для диференціювання особин [49].

Монолокусне розміщення мікросателітів у геномі та кодомінантний тип успадкування спрощують аналіз та полегшують створення на основі аналізу різних схрещувань [1, 95, 167, 194] генетичних карт.

Проковзування (англ. Slippage) ДНК-полімерази під час реплікації, невідповідний кросинговер, неспівпадіння або відновлення пошкоджень подвійного ланцюга ДНК, переміщення ретротранспозонів, зміни архітектури та фланкуючих регіонів тощо, призводить до варіювання числа повторів корового мотиву та, відповідно, поліморфізму між окремими індивідами [91, 92, 105, 114].

Завдяки економічному та культурному значенню, а також відносно невеликому розміру (467,5 Мб) геному, виноград став однією із перших сільськогосподарських культур, послідовність ядерного геному яких була визначена та опублікована у відкритому доступі.

Сиквенування геному винограду сорту Піно нуар виявило існування 30434 генів, що склали біля 43 % ДНК, при цьому значущі послідовності становлять лише 6,3% (33,6 Мб) [111, 192].

Серед повторюваних послідовностей були знайдені 73853 мікросателіта з розміром мотиву від 2 до 8 п. н., що склали 1,8 Мб ядерного генома винограду. Незважаючи на значну кількість мікросателітних локусів, більшість з них не відповідають нормам [80] щодо властивостей мікросателітних маркерів та непридатні для створення праймерних пар.

Вперше мікросателіти були використані в якості маркерів для ідентифікації сортів європейського винограду австралійськими дослідниками, які виявили, що праймерні пари до мікросателітних локусів залишаються незмінними та придатними для диференціації також інших видів роду *Vitis* [188].

Відтоді для генотипування винограду були розроблені сотні мікросателітних маркерів [39, 46, 62, 66, 80, 141, 174, 186, 188], праймерні пари яких наразі знаходяться у відкритому доступі та широко застосовуються у дослідженні столових, технічних та підщепних сортів винограду в напрямку їх ідентифікації, характеристики генетичних ресурсів та оцінки генетичного різноманіття, виявлення синонімів та омонімів серед сортів винограду, аналізу батьківських пар, картування геному, картування локусів важливих агрономічних ознак та стійкості до хвороб.

Ряд з шести (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, ZAG62, ZAG79) згодом розширений до дев'яти (додатково VVMD32, VVMD36, VVMD25) мікросателітних локусів був запропонований дослідниками [186] в якості стандартного ряду для генотипування винограду та дослідження генетичної мінливості у популяціях винограду.

Процес створення мікросателітних маркерів та визначення їх інформативності є трудомістким та коштовним через необхідність створення та скринінгу численних геномних бібліотек.

Проте на сьогоднішній день вже створена достатня кількість маркерів, що цілком задовольняють потреби щодо ідентифікації сортів та ревізії колекцій винограду, дослідження родинних зв'язків та походження сортів, оцінки параметрів популяційної генетики тощо [67].

Актуальними досі залишаються питання пошуку та оцінки мікросателітних маркерів, зчеплених із окремими агробіологічно важливими показниками через складний характер прояву більшості кількісних ознак та виявлення генетичних змін послідовностей ДНК, що придатні для диференціації клонів у межах сорту.

1.1. Внутрішньо- та міжвидова ідентифікація винограду

Євразійський виноград (*Vitis vinifera* L.), що культивується у всьому світі від помірнього до тропічного клімату – одна з найбільш давніх культур, тісно пов'язаних з історією людства [187].

За різними оцінками [38, 44, 153] в світі нараховують від 10 до 16 тисяч найменувань сортів винограду, серед яких приблизно 5-6 тисяч, власне, є сортами [187].

Тривалий історичний розвиток культивування винограду, його міграція по різних регіонах, континентах та мовні особливості регіонів культивування призвели до відмінностей у найменуваннях та існування великої кількості синонімів та омонімів [122, 187, 196].

Чітка ідентифікація сортозразків є базовою вимогою для раціонального керування та використання зародкової плазми, тому виявленню синонімів, омонімів, визначенню зразків із невідомими назвами або з невірними найменуваннями приділяється значна увага в усіх 130 існуючих у світі колекціях зародкової плазми [79].

Традиційно сорти винограду ідентифікуються та описуються за стандартними ампелографічними методами шляхом визначення та порівняння основних морфологічних ознак листків, верхівки пагона, грона та ягоди [16].

Перша система характеристики сортів винограду на основі морфологічних ознак була створена Міжнародним ампелографічним комітетом у 1873 році. На сьогоднішній день міжнародними організаціями OIV (Office International de la Vigne et du Vin – Міжнародна організація винограду і вина), UPOV (Union International pour la Protection des Obtentions Végétales – Міжнародний союз захисту нових рослин) та IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources – Міжнародна рада з питань генетичних ресурсів рослин) узгоджена загальноприйнята методологія [78] ампелографічного опису за 150 дескрипторами сортів винограду, що може використовуватися для характеристики та оцінки сортів з метою їх

ідентифікації, характеризування ознак, захисту авторських прав, розміщення сортів у колекціях тощо.

Слід зазначити, що ампелографічна експертиза має ряд суттєвих недоліків та обмежень. Найперше це колосальний сортимент винограду та обмежена кількість фахівців з ампелографії, які частіше за все достовірно визначають лише сорти свого регіону [186, 189] та не володіють повною інформацією щодо світових сортів винограду, оскільки весь світовий асортимент не представлений у жодній з існуючих колекцій винограду [175].

Крім того, на прояв морфологічних ознак істотно впливають чинники навколишнього середовища, біологія, санітарний стан та історія життя окремої рослини [193], а в ювенільних стадіях розвитку не завжди виявляються типові морфологічні риси [186]. В окремих випадках на фенотипові позначається взаємодія між прищепами та підщепами [175, 198] та ознак одне з одним [131].

Генетична подібність сортів винограду внаслідок близькоспоріднених схрещувань обумовлює морфологічну схожість [45, 189]. Водночас клони одного сорту, отримані в результаті клонової селекції, можуть значно відрізнятися за фенотипами, навіть якщо вони мають практично однакові профілі ДНК [159, 168].

Всі ці фактори додатково ускладнюють диференціацію сортів винограду шляхом ампелографічної оцінки, тому з метою усунення вищенаведених обмежень у 90-х роках минулого століття у методологію досліджень були впроваджені молекулярні маркери ДНК.

У багатьох виноградарських країнах світу були розроблені та визнані придатними для генотипування винограду різні типи маркерів: RAPD (англ. Random Amplification of Polymorphic DNA – довільна ампліфікація поліморфної ДНК), AFLP (англ. Amplified Fragment Length Polymorphism – поліморфізм довжин ампліфікованих фрагментів), ISSR (англ. Inter Simple Sequence Repeats – послідовності між простими мікросателітними

повторами), SSR та SNP (англ. Single Nucleotide Polymorphism – поліморфізм одного нуклеотиду).

Так, D. Merdinoglu із співавт. [140] констатували, що маркери RAPD, SSR і AFLP спроможні розрізнити сім груп сортів винограду, проте маркери SSR краще відображають генетичні зв'язки між групами за їхнім географічним походженням.

При генотипуванні за допомогою маркерів RAPD та SSR португальських сортів винограду [154] була визначена перевага мікросателітів у можливості порівняння результатів, отриманих різними лабораторіями.

При дослідженні бразильських сортів [126] відмічено, що маркери RAPD придатні для диференціації усіх зразків, включно із клонами сортів, в той час як мікросателіти здатні розрізнити лише сорти. Попри успішні випадки використання маркерів типу RAPD, вони не отримали широкого вжитку через труднощі стандартизації процедури генотипування.

Мікросателітні маркери завдяки значному рівню поліморфізму, відтворюваності результатів та кодомінантній природі успадкування [175] виявилися найбільш зручними та надійними маркерами для ідентифікації сортів, оцінки генетичних ресурсів та дослідження родоводів [167, 191].

Властивості мікросателітних маркерів та успішне здійснення двох європейських проєктів (Genres081 [97] та GrapeGen06 [100]) з інвентаризації генетичних ресурсів винограду за ампелографічними та мікросателітними характеристиками, обумовили стрімке проникнення молекулярно-генетичного аналізу у різні напрямки дослідження винограду в багатьох країнах світу, оскільки результати цих проєктів були оформлені у вигляді Європейського каталогу сортів винограду (Vitis International Variety Catalogue, VIVC) [196] із відкритим доступом у мережі Інтернет, що надало можливість порівнювати результати роботи різних лабораторій, та навіть використовувати дані, отримані іншими дослідницькими групами.

Ідентифікація п'ятьма, максимум десятьма, мікросателітними маркерами вибірок, що склалися з кількох десятків зразків [45, 195, 108, 152] переросла у масштабні проекти з генотипування сотень та навіть тисяч зразків винограду, десятками мікросателітних маркерів [67, 74, 134-136, 152, 160, 168, 189].

Так, наприклад, V. Lacom із співавт. оцінили рівень генетичного різноманіття 4370 зразків винограду колекції зародкової плазми «Domaine de Vassal» (м. Монпельє, Франція) 20 мікросателітними маркерами та показали придатність ряду з дев'яти маркерів (VVIp31, VVMD28, VVMD5, VVS2, VVIv37, VMC1b11, VVMD27 та VVMD32) для розрізнення між собою усіх досліджуваних зразків винограду [124].

В 2013 р. A. Uradhuay із співавт. [189] ідентифікували за допомогою 25 мікросателітних маркерів 317 зразків з Національної колекції гермоплазми (м. Пун, Індія), серед яких було виявлено 254 унікальних генотипів; інші зразки представляли собою дуплікації – синоніми та клони сортів. Авторами зазначено, що видаленню дуплікацій з колекції мають передувати детальні ампелографічний та розширений молекулярний аналізи. Серед дослідного матеріалу авторами були виявлені зразки із невірними назвами: замість сорту Мерло був представлений один з нащадків сорту Cinsaut, сорту з назвою «Зінфандел» відповідав генотип сорту Сіра, зразок «Азабелла» виявився сортом американського походження – Ізабелла.

B. Zarouri із співав. [205] провели повногеномний скринінг за допомогою 249 мікросателітних маркерів у 207 сортів винограду, та показали, що мультиплексування праймерних пар дозволяє отримати значний пласт інформації за мінімальних втрат коштів та часу.

M. Dallakyan із співав. [74] провели дослідження 175 зразків сортів, клонів та аборигенів та диких форм винограду, зібраних на території Вірменії. За допомогою 20 мікросателітних маркерів було визначено 71 генотип, виявлено випадки синонімії, омонімії та невідповідності найменувань. Вчені наголосили на необхідності збереження унікальних

генотипів рідкісних, здичавілих сортів та диких форм винограду, оскільки вони добре адаптовані до умов навколишнього середовища та знаходяться на межі зникнення.

На сьогоднішній день розроблено близько 400 праймерних пар до мікросателітних локусів винограду.

Кількість залучених у дослідження маркерів залежить від особливостей самих маркерів та мети роботи. Так, маркери, що близько зчеплені з генами, які відповідають за господарсько-цінні ознаки, такі як безнасінність, ранні строки дозрівання, стійкість до грибних хвороб тощо використовуються у маркер-супутньому доборі рослин-носіїв ознак інтересу. Селективно-нейтральні маркери використовуються переважно для ідентифікації сортів винограду.

Кількість маркерів, достатніх для надійного визначення сортів залежить від характеру і розпізнавальної потужності кожного з них [185]. Здебільшого шість пар праймерів є достатніми для диференціації генотипів [186], тому з метою уніфікації результатів досліджень різних лабораторій було запропоновано генотипування зразків винограду з використанням стандартного ряду з шести мікросателітних маркерів (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, ZAG62 та ZAG79) [186].

Необхідною умовою для порівняння даних, отриманих в різних лабораторіях, є використання референтних сортів, оскільки різні системи електрофорезу частіше за все демонструють різницю (так званий «зсув відносного розміру алеля») у розмірі алелів будь-якого локусу одного і того ж сорту. Тому існує необхідність генотипування декількох поширених еталонних сортів (наприклад, Каберне Совіньйон, Шардоне, Султаніна тощо) для виявлення розміру «зсуву» по кожному локусу та подальшого стандартизування з урахуванням розміру «зсуву» отриманих алельних характеристик.

Розмір зсуву або «фактор конверсії» [3] для кожного локусу визначається шляхом вирахування різниці між отриманими в експерименті та

опублікованими розмірами алелів. Фактори конверсії також дозволяють привести алельні характеристики окремих локусів, отримані експериментальним способом в різних лабораторіях до їх дійсних розмірів, визначених шляхом клонування та аналізу нуклеотидних послідовностей.

Найбільш зручним у роботі, за нашою думкою, є вирахування фактору конверсії саме для даних окремих баз та публікацій, оскільки дозволяє проводити порівняння одразу після отримання власних результатів.

Конвертування експериментальних даних у дійсні розміри алелів вимагатиме повторного вираховування фактору конверсії в розміри, у вигляді яких представлена інформація в тому чи іншому джерелі.

Стандартизація алельних розмірів може виконуватися ручним способом або шляхом використання відповідної опції (рис. 1.1) відкритих баз даних (наприклад, шведської [180], італійської [99]), які надають можливість ідентифікації сортів за алельними характеристиками користувача.

Пошуковий рядок

Фактор конверсії

Алельний профіль референсного сорту Каберне Совінйон (розміщений у базі даних)

Алельний профіль референсного сорту Каберне Совінйон, (дані користувача)

Italian Vitis Data Base

login

Variety search by standardized microsatellite profile

generic | by microsatellite profile | **by standardized microsatellite profile** | by ampelographic profile | by ampelometric profile

Step 3 - risultati della ricerca effettuata

Variety selected for comparison Cabernet sauvignon

SSR locus:	VVVS1		VVMD5		VVMD7		VVMD27		VrZAG62		VrZAG79		VVMD25		VVMD28		VVMD32	
allele:	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2
size:	139	151	231	239	239	239	175	189	188	194	247	247	240	250	237	239	241	241
Your SSR																		
locus size for Cabernet sauvignon:	141	153	235	243	241	241	172	186	190	196	250	250	242	252	240	242	240	240
deviation of allele lengths in base pairs	-2	-2	-4	-4	-2	-2	3	3	-2	-2	-3	-3	-2	-2	-3	-3	1	1
profile of the variety to be	135	145	239	239	249	251	182	188	202	208	252	262	244	258	240	272	240	276

Рис. 1.1 Опція автоматичного вираховування фактору конверсії за алельними профілями референсних сортів у Італійській базі даних

Слід взяти до уваги, що дискримінація близькоспоріднених сортів винограду може потребувати використання дещо більшої, ніж шість, кількості маркерів [142].

В Україні ідентифікація генетичних ресурсів винограду у вигляді сортів, форм та клонів була розпочата, в першу чергу, з метою захисту прав інтелектуальної власності оригінаторів [106]. Наразі, через поживлення євроінтеграційних процесів, чітка дискримінація сортів та клонів винограду стає однією з першочергових задач для науковців та виробників посадкового матеріалу [16].

1.2. Верифікація походження сортів та форм винограду

Багато так званих «стародавніх» сортів винограду, таких, як Каберне Совіньйон, Мускат гамбурзький, Шардоне, Жемчуг Саба та ін. були виведені у 19 сторіччі і відомості щодо їх походження не збереглися. Поширена практика використання прийому запилення сумішшю пилку у селекції винограду республік колишнього СРСР є ще одним джерелом відсутності точної інформації щодо родоводів окремих сортів та форм.

В окремих випадках визначення походження необхідно для вірного дублювання успішних схрещувань з метою досягнення аналогічних комбінацій ознак у нащадків [49], детектування локусів кількісних ознак [47, 203, 84], зворотного відстежування походження алелів інтересу [84].

Ідентифікація та підтвердження родоводів усіх наразі існуючих сортів та форм винограду можливі за умови збереження батьківських форм на промислових насадженнях або у колекціях [59, 76].

Дослідження походження сортів методами ампелографії практично не можливе якщо рослини не володіють такими особливими ознаками, як наприклад, пласка форма ягоди у сорту Альфонс Лавалле, «надламана» центральна жилка листа у сорту Тельтікурук, «пальчатість» поверхні

листової пластинки у сорту Восторг, повстяне опушення нижньої поверхні листової пластинки у *Vitis labrusca* L. тощо [24].

Так, наприклад, в роботі J. Bautista із співав. [49], попри подібність листа, грона, смаку, кольору та форми ягоди сорту Canadis до сорту Delaver, аналіз їхніх мікросателітних профілів виявив повну несумісність та продемонстрував зв'язки «нащадок-батьківський сорт» між сортами Canadis та Himrod.

Численні дослідження [40, 60, 61, 67, 70, 76, 189, 191, 205] показали, що мікросателітні маркери ДНК є найбільш зручним та ефективним інструментом для ідентифікації сортів винограду та підтвердження чи спростування наявності родинних зв'язків.

Так, M. Labra із співавт. [121] за допомогою аналізу 12 мікросателітних локусів спростовано припущення щодо клонового походження сортів Хюмань руж та Корналін від сорту Петіт руж та виявлена суттєва відмінність їх генотипів.

Монолокусний характер мікросателітних маркерів надає можливість проводити для підтвердження отриманих результатів простий статистичний аналіз [112], що ліг в основу спеціальних пакетів програмного забезпечення для тестування батьківства, таких як Parente [65], Cervus [137], Famoz [98] та ін. або був включений у перелік опцій програм для оцінки показників генетичного різноманіття (наприклад, програми Identity [200]).

Використання мікросателітних генотипів в аналізі батьківства також дозволяє виявити можливі помилки у літературних даних та визначити родоводи сортів невідомого походження [191].

T. Lacombe із співавт. [122] проаналізували 2344 сорти *V. vinifera* L. та виявили 33 % родоводів за селекційними записами частково або повністю помилковими, не залежно від конкретних селекціонерів, країни або періоду отримання сортів. Серед основних причин помилкового походження авторами були позначені, у більшості випадків – забруднення при штучному запиленні чужорідним (стороннім) пилом; невірне визначення або синонімія

в назвах родоначальників; «бажання деяких селекціонерів приховати склад гібридизаційної комбінації або узурпувати популярність даного родоначальника».

Також авторами були виправлені раніше опубліковані родоводи 32 сортів, помилково визначені молекулярними маркерами через невірне найменування сортів, відсутність одного з батьків у вибірці або недостатню кількість та поліморфізм використаних мікросателітів.

Кодомінантність мікросателітних локусів та успадкування за законами Г. Менделя обумовлюють наявність одного батьківського алеля у кожному локусі у нащадків, та не менш ніж 50 % однакових алелів у генотипах батьківських сортів та нащадків диплоїдних організмів.

Для спростування існування відносин «нащадок – батьківський сорт» достатньо невеликого ряду (від 2 до 10 мікросателітних локусів, залежно від ступеня генетичного споріднення сортів). При цьому підтвердження прямих родинних зв'язків може вимагати дослідження значно більшої кількості мікросателітних локусів для уникнення ймовірності помилкових висновків [49], особливо за відсутності будь-якої інформації щодо батьків досліджуваної особини.

Деякі автори вважають [175], що для пошуку батьківських форм рослин із невідомим походженням необхідна ідентифікація щонайменше ніж 25 маркерами через ймовірність випадкового успадкування однакових алелів.

В дослідженні Т. Lacombe із співавт. також було показано, що ряд з 20 розсіяних по геному винограду мікросателітних маркерів (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD21, VVMD24, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VMC1b11, VMC4f3, VVIn16, VVIn73, VVIp31, VVIb01, VVIp60, VVIq52, VVIv37, VVIv67, VVIh54) на розширеному наборі з 2344 сортів винограду дозволив визначити родоводи значної кількості зразків та підтвердити батьківські форми сортів з відомим походженням. При цьому автори наголошують, що, не зважаючи на поширеність аналізу походження сортів за допомогою 20 мікросателітів, така кількість маркерів також може бути

недостатньою через істотну спорідненість, характерну для сортів винограду, та обмеженість розміру вибірки, що скорочує число сортів придатних до тестування ймовірного батьківства. Тому в дослідженні родинних зв'язків рекомендується приділяти увагу не лише кількості маркерів, але і їх інформаційному змісту, тобто числу визначених у них алелів.

Деякими авторами [67, 175] запропоновано збільшити кількість локусів SSR до 30 для посилення «статистичної потужності» при дослідженні родоводів.

На нашу думку, незважаючи на коштовність аналізу походження зразків винограду через використання великої кількості мікросателітних маркерів, даний процес буде одноразовим і важливість його результатів цілком співставна із витратами на його проведення.

Часто визначення батьківства за допомогою мікросателітного генотипування супроводжується аналізом алелів хлоропластних мікросателітів та визначенням гаплотипу, що дозволяє достеменно встановити материнський сорт [122, 191].

Так для сорту Кардинал, історичного вихідця зі штату Каліфорнія (США), було зазначено виведення в 1939 р. в результаті схрещування сортів Ахмар бу ахмар, більш відомого як «Пламя Токая», та Риб'є (синонім назви «Альфонс Лавалле»). А. Аккак із співавт. [40] за допомогою аналізу 31 ядерного мікросателітного локусу та 4 хлоропластних, підтвердили батьківство лише сорту Альфонс Лавалле [23].

Аналогічними прийомами було встановлено походження сортів винограду Каберне Совіньйон [60], Шардоне, Гамай [61], Жемчуг саба [96, 104], Мускат гамбурзьський [70] та ін.

Запропонований дослідниками [186] та прийнятий міжнародною спільнотою ряд з шести маркерів SSR дозволив створити велику базу даних генотипів світових ресурсів винограду – VIVC [196], що надає можливість порівняння мікросателітних профілів і забезпечує початкову основу для аналізу потенційних зв'язків «нащадок-батьківський сорт».

Також для точної верифікації походження рекомендується проводити порівняння між мікросателітними профілями досліджуваних зразків і генотипами сортів «еталонної» колекції винограду м. Монпельє (Франція) [199].

У деяких випадках при фізичній відсутності батьківських форм для аналізу родоводу особин можуть бути використані прабатьківські генотипи [49], а для вирішення суперечливого батьківства маркерами SSR можуть комбінувати з маркерами SNP [92, 96]. Іноді молекулярні дані щодо походження окремих сортів винограду розглядаються сукупно із окремими фенотиповими ознаками, такими, як наприклад, мускатний аромат та щільність грона [191].

Дослідження родоводів українських сортів та форм винограду з використанням молекулярних маркерів досі не проводились та є затребуваними, оскільки дозволяють провести інвентаризацію існуючого генетичного пулу винограду, запобігати залученню близькоспоріднених сортів до селекційного процесу та визначити носіїв важливих агрономічних ознак, таких як, наприклад, ознаки пов'язані із гроном, смаковими якостями та стійкістю до найбільш поширених захворювань винограду.

1.3. Оцінка генетичного різноманіття винограду з метою ревізії, збереження та використання

Генетична мінливість живих організмів, зокрема винограду, існує в природі у вигляді генетичних ресурсів.

Конвенція ООН «Про охорону біологічного різноманіття» від 1992 р. (ратифіковано державою Україна у Законі «Про ратифікацію Конвенції про охорону біологічного різноманіття» N 257/94-ВР від 29.11.94) дає визначення [69] «генетичним ресурсам» як «будь-якому матеріалу, що містить функціональні одиниці спадковості та представляє фактичну або потенційну цінність» [19].

Генетичними ресурсами рослин вважаються [13] гермоплазма (живі рослини та життєздатний насіннєвий (посадковий) матеріал) та органи вегетативного розмноження.

Робота з генетичними ресурсами ведеться у напрямках дослідження існуючого генетичного фонду та збереження генетичного різноманіття у складі біологічного різноманіття для збільшення стійкості біоценозів [118].

Генетичні ресурси винограду включають представників сімейства *Vitaceae* (Lindl.) Juss., серед яких найвагоміше господарське значення має рід *Vitis* (Tournef.) L. [31], який включає підвиди *V. vinifera* L. ssp. *sativa* та *V. vinifera* L. ssp. *silvestris* Gmel.

До підвиду *V. vinifera* L. ssp. *sativa* (далі *V. sativa*) входять стародавні та сучасні сорти, а також клони сортів винограду; підвид *V. vinifera* L. ssp. *silvestris* Gmel. (*V. silvestris*) включає представників винограду лісового [33].

Серед існуючих приблизно 5-6 тисяч сортів винограду *V. sativa*, менш ніж 400 мають комерційне значення [179, 184, 187] і культивуються у промислових насадженнях та домогосподарствах. Тому переважна частина нині існуючих генетичних ресурсів *V. sativa* представлена лише у колекціях зародкової плазми [186], базовою концепцією яких є підтримка максимального рівня генетичного різноманіття при мінімальній кількості зразків [75].

Поширення завезених із Америки філоксери та мілдью у дев'ятнадцятому сторіччі, винищення значної частини виноградних насаджень протягом Другої світової війни і винний маркетинг на основі декількох сортів із світовим ім'ям у двадцятому сторіччі істотно скоротили існуюче генетичне різноманіття винограду [55, 67]. Подальші закладки, оновлення та збільшення площ виноградників призвели в ряді країн до заміни традиційних регіональних та місцевих сортів винограду на нові закордонні сорти. Так за даними А. Vouquet [57] у 2004 році п'ять сортів (Каберне Совіньйон, Шардоне, Мерло, Совіньйон та Сира) представляли 53%

насаджень у Франції, в той час як більше ніж 200 сортів винограду є сертифікованими для культивування у цій країні.

Через культивування обмеженої кількості сортів винограду, спостерігається генетична ерозія зародкової плазми, що становить небезпеку втрати значної кількості генетичного матеріалу, який формувався протягом багатьох століть у вигляді регіональних та локальних сортів.

Більшість важливих сільськогосподарських ознак винограду має складний тип успадкування та є результатом взаємодії великого числа генів, через це кожен сорт винограду представляє собою унікальний та складний генний комплекс, що формує неповторні особливості сорту, і в тому числі характеристики вина, яке виробляється з нього [55].

Всі ці фактори обумовлюють зростання інтересу до інвентаризації, дослідження походження та збереження генетичного різноманіття зародкової плазми [67].

Проблеми довгострокових наслідків «генетичної ерозії» винограду досі ретельно не досліджені, проте вже були анонсовані вплив кліматичних змін та глобального потепління на географічний розподіл виноградників і стійкість якості вина [113], а також на зміну взаємодій «господар-патоген» [166].

В штучних популяціях більшість факторів популяційної динаміки не працює, тому існуючі колекції гермоплазми винограду майже не демонструють характеристик популяцій, що еволюціонують природним шляхом [172].

Оцінка різноманіття існуючих генетичних ресурсів дуже важлива для визначення основних стратегій їх збереження та використання, наприклад, в генетичній трансформації або селекції рослин [152]. Можливість прогнозування кількісних генетичних параметрів, таких як гетерозис та варіабельність нащадків, збільшить ефективність селекційних програм шляхом створення найбільш перспективних гібридизаційних комбінацій [54].

На сьогоднішній день більшість виноробних країн світу приєдналась до ініціативи інвентаризації існуючих та заснування нових ампелографічних колекцій з метою накопичення, оцінки, збереження та використання генетичних ресурсів винограду [3, 5, 43, 52, 61, 82, 88, 93, 109, 127, 129, 133, 167, 168, 172, 177, 178, 181, 182, 189].

Генетичне різноманіття винограду в основному розповсюджується у вигляді саджанців та чубуків, але в деяких випадках може мати місце обмін пилом та насінням між науковцями [101]. Помилки на етапі розмноження призводять до відповідних наслідків при розміщенні в колекціях сортів винограду, де приблизно 5% назв сортів не відповідають дійсності [175]. Крім того, велику проблему становлять синонімічні та омонімічні назви сортів.

Зберігання гермоплазми винограду *ex-situ* у вигляді польових колекцій потребує значних ресурсів, тому чітка ідентифікація є необхідною умовою для запобігання «надлишковості» в ампелографічних колекціях у вигляді синонімів, дуплікацій, клонових варіантів тощо [189].

Генетичні ресурси винограду в Україні, головним чином, зосереджені в ампелографічних колекціях ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» та Інституту винограду і вина «Магарач» і потребують ретельної інвентаризації, в першу чергу, для збереження цінних генотипів, та оцінки генетичного різноманіття з метою його подальшого продуктивного використання.

1.4. Маркер-супутній добір в селекції винограду

Маркер-супутній добір (англ. Marker-assisted selection, MAS) є одним з методів сучасної селекції, що передбачає залучення до процесу виведення нових сортів молекулярних маркерів ДНК [31].

Основні засади маркер-супутнього добору (так званий метод «сигналів») вперше були сформульовані та теоретично обґрунтовані А. С. Серебровським [32] на основі хромосомної теорії успадкування

Т. Моргана. Проте через обмеженість методів аналізу, недостатню дослідженість геному вищих тварин, невелике число ознак із чітким фенотиповим проявом, які успадковуються за законами Г. Менделя, метод «сигналів» не отримав практичного застосування в селекції тварин.

Добір за генотипами у порівнянні з методами класичної селекції має ряд основних переваг, завдяки яким, на думку Хльосткіної Е. К., 2014, молекулярні маркери стали невід'ємною частиною селекційного процесу в багатьох країнах світу. До цих переваг зараховують [31, 51, 145, 183] придатність до часткової або повної автоматизації, що скорочує тривалість та коштовність селекційного процесу; відсутність впливу умов навколишнього середовища та прийомів агротехніки; можливість розрізнити гомо- та гетерозиготні форми; незалежність від віку та статі рослин; можливість проведення цілеспрямованої гібридизації для інтрогресії важливих ознак та прогнозування кінцевих результатів.

Маркер-супутній добір завжди потребує інформації щодо локалізації генів, які контролюють ознаки інтересу, наявності близько зчеплених із ними маркерів та є більш ефективним при моно- та олігогенному контролі ознак [31].

В якості маркерів частіше за все застосовуються мікросателітні послідовності [51, 145, 163] та однонуклеотидні поліморфізми (SNP) [132, 134].

Придатність маркерів до прогнозування бажаних генотипів залежить від їх розташування: інтрагенна локалізація обумовлює 100 % ймовірність добору бажаної ознаки, фланкуюча – від 95 (один маркер) до 99,6 % (два маркера) [51].

Відзначено [31, 51] особливу ефективність добору з використанням молекулярних маркерів у лінійній та беккросній селекції, створенні пірамід генів, оцінці селекційного матеріалу та доборі на ранніх стадіях розвитку.

При цьому практичному використанню молекулярних маркерів має передувати оцінка на широкому наборі сортів, ізогенних ліній, популяцій

тощо, оскільки виявлення маркера у конкретній популяції не гарантує його придатності для діагностики ознаки інтересу на іншому наборі сортів [204]. Так, наприклад, маркер *stkVa011* асоційований в популяції *Horizon* × *Illinois 547-1* із стійкістю до мілдью [133], не показав поліморфності у досліджених у роботі Р. А. Tantasawat із співавт. [183] сприйнятливих та резистентних сортів винограду.

Розширений огляд напрямків використання маркер-супутнього добору, можливі причини не високої ефективності у селекції деяких культур, вимоги до характеристик маркерів, що використовуються у ранньому доборі детально розглядаються в роботах [31, 51, 204].

1.4.1. Ранній скринінг за ознакою стійкості у винограду

Ряд досліджень, проведених за останнє десятиріччя, сприяв виявленню та картуванню багатьох генів, які впливають на прояв ознак інтересу у винограду, а також зчеплених з ними маркерів різних типів.

Повідомлено про асоціацію молекулярних маркерів з ознаками моногенного (колір ягоди [185], розвиток мезокарпу [94], гермафродитизм квітки [1, 161]) та полігенного (безнасінність, маса та розмір ягоди [84, 173], склад терпеноїдів [48, 86], стійкість до мілдью *Plasmopara viticola* та оїдіуму *Uncinula necator* [95, 133, 201], хвороби Пірса [158, 161], антракнозу *Gloeosporium ampelophagum* та нематоди *Xiphinema index* [203]) контролю прояву.

Проте, кількість опублікованих робіт, присвячених використанню маркер-супутнього добору в селекції сортів, як винограду, так і інших сільськогосподарських культур, залишається незначною. В якості причин цього явища розглядаються [121] нерозголошення результатів для збереження комерційної тайни в рамках конкуренції між оригінаторами сортів, обмеженість поліморфізму окремих маркерів на різноманітному

селекційному матеріалі та коштовність добору за генотипами для деяких ознак.

Актуальність проблеми стійкості сортів до збудників основних захворювань винограду обумовила масштабне залучення маркер-супутнього добору за ознаками стійкості до селекційного процесу.

Ефективність маркер-супутнього добору за ознакою стійкості до оїдіуму з використанням маркерів RAPD та AFLP була проаналізована в гібридних популяціях Horizon × Ш. 547-1, NY88.0514.03 × Traminette, NY88.0514.03 × NY73.0136.17 та J. S. 23-416 × Ш. 547-1 [73]. Використані маркери показали асоціацію із ознакою стійкості у всіх досліджених популяціях, проте ефективність добору була найвищою у гібридних сім'ях із найбільшими відхиленнями від розщеплення генотипів, очікуваного за законами Г. Менделя. На думку авторів, проведення добору на основі молекулярних маркерів може суттєво знизити відсоток сприйнятливих рослин в гібридних популяціях.

S. Molnar із співавт. [145] були використані маркери типу RFLP (GLP1-12P1-P3) та SSR (VMC4f3.1, VMC8g9) в дослідженні представників гібридної сім'ї {(*M. rotundifolia* × *V. vinifera* L.) BC4} × Кардинал. Оцінка придатності мікросателітних маркерів для добору за генотипами в один етап виявила, що алелі 186 п. н. та 160 п. н. маркерів VMC4f3.1 та VMC8g9 відповідно, асоційовані із ознакою стійкості до оїдіуму. За висновками авторів вони можуть успішно застосуватися для маркер-супутнього добору, при якому 90-99% обраних рослин будуть містити ген стійкості до оїдіуму *Run1*.

Практичне використання пірамідкування генів стійкості за допомогою молекулярних маркерів було досліджено R. Eibach із співавт. [90] в гібридній популяції VHR 3082-1-42 × Regent, що включала 119 особин. Серед 20 сіянців, не уражених мілдью та оїдіумом, чотири містили у генотипі всі алелі використаних молекулярних маркерів, пов'язаних із генами стійкості до цих

хвороб, що підтвердило ефективність комбінації генів стійкості, успадкованих від батьківських форм.

Виявлення унікальних алельних варіантів мікросателітних маркерів VVIP26 (146 п. н.), ctg1026876 (126 п. н.) та VMC2a5 (168 п. н.), асоційованих із проявом ознаки стійкості до хвороби Пірса (*Xylella fastidiosa*), дозволило S. Riaz із співавторами [162] створити ефективну гібридну популяцію за рахунок видалення сіянців, які не містили зазначені алелі в генотипі, скоротивши таким чином кількість рослин з 4321 до 1683.

В роботі угорських дослідників [120] були використані мікросателітні маркери (VMC8g9, VMC1g3.2) в мультиплексній ПЛР для маркер-супутнього добору генотипів, які одночасно комбінували гени стійкості до мілдью (*Rpv1+*) та оїдіуму (*Run1+*, *Ren1+*) в популяції гібридних сіянців VHR 3082-1-42 × Кишмиш Ваткана та показана придатність використаного методу для раннього скринінгу рослин із генотипами *Run1+/Ren1+*.

В подальшому зазначені автори застосували [33] маркер-супутній добір для ідентифікації генотипів *Run1+/Ren1+* серед сіянців, отриманих від схрещування форм BC4 (*M. rotundifolia* Mich. Small × *V. vinifera* L.), який містить гени *Run1* і *Rpv1*, та сорту Кишмиш Ваткана, що є джерелом гена *Ren1*. Показана придатність мікросателітних локусів, зчеплених з *Run1* (VMC8g9, VMC4f3.1), *Rpv1* (VMC1g3.2) та *Ren1* (UDV020a, VMC9h4.2, VMCNg4e10.1) для пірамидування зазначених генів та виявлення на рівні ДНК носіїв ознаки стійкості до оїдіуму.

1.4.2. Добір за ознакою безнасінності у винограду

Завдяки популярності у кінцевого споживача, безнасінність поряд із стійкістю до захворювань стала однією із перших ознак, за якими був проведений маркер-супутній добір у винограду.

Асоційовані із ознакою безнасінності у винограду маркери SCAR (SCC8, SCF27) та SSR (VMC7f2) були залучені [41, 42] для підвищення

ефективності виведення безнасінневих сортів винограду шляхом маркер-супутнього добору в гібридних популяціях Альфонс Лавалле × Султаніна (372 сіянця) та Мускат гамбурзький × Султаніна (314 сіянців). В результаті ранньої діагностики молекулярними маркерами на другий рік культивування були збережені у першій та другій гібридних сім'ях, відповідно, 46,8 % та 60,5 % сіянців, які містили асоційовані з ознакою безнасінневості алелі мінімум одного з досліджених маркерів. Завдяки комбінуванню у складі генотипу алелів інтересу усіх трьох маркерів 5,4 % та 4,1 % рослин у кожній гібридній сім'ї були визначені в якості цінного генетичного ресурсу для подальшої селекції безнасінневих сортів винограду.

Проведений Е. Karagac із співавт. [115], маркер-супутній добір за ознакою безнасінневості у 1012 гібридів восьми різних комбінацій схрещування показав можливість скорочення кількості гібридних сіянців до 54 % при залученні для раннього добору мікросателітного маркера VMC7f2.

L. Zhiqian із співавт. [207] використали молекулярні маркери типу SCAR (SCC8, SCF27 та GSLP1) для аналізу батьківських форм та гібридних сіянців 13 комбінацій схрещування «безнасінневий × безнасінневий», отриманих за технологією *embryo rescue*. Присутність алеля 569 п. н. маркера GSLP1 лише у безнасінневих рослин, обумовило його рекомендацію авторами в якості ефективного інструмента в селекції безнасінневих сортів винограду.

В селекції винограду ключовим фактором є велика гібридна популяція, представники якої демонструють різноманітні поєднання ознак. Тривалість ювенільної фази розвитку винограду та витрати ресурсів на багаторічне культивування рослин обумовлюють коштовність та низьку ефективність такого процесу. Ранній скринінг молекулярними маркерами може забезпечити скорочення чисельності гібридних сіянців та створити популяцію рослин, які обов'язково володіють ознакою інтересу.

Незважаючи на активне проведення маркер-супутнього добору, в основному, за ознаками стійкості та безнасінневості, важливим аспектом

залишається робота із іншими ознаками, наприклад, колір та форма ягоди, архітектура грона, мускатний аромат тощо.

1.4.3. Асоціація мікросателітного маркера p3_VvAGL11 з ознакою безнасінності у винограду

Безнасінність є надзвичайно популярною властивістю столового винограду у споживачів [50].

Вважається, що ознака безнасінності виникла як мутація у азійського сорту Султаніна та була успадкована від нього більшістю наразі існуючих безнасінних сортів винограду [56].

Серед генетичного різноманіття винограду розглядають два типи безнасінності: партенокарпію, обумовлену розростанням зав'язі квітки без процесів запилення та запліднення, та стеноспермокарпію, яка виникає в результаті припинення розвитку насіння у 2-4 тижні після запліднення яйцеклітин [33, 115]. Ягоди стеноспермокарпічних сортів містять «сліди», тобто рудименти насіння різного ступеню розвитку, які практично не відчуються при споживанні свіжого винограду.

К. Смірновим у 1987 році запропоновано класифікувати стеноспермокарпічні безнасінні сорти винограду за розміром рудиментів насіння та ступенем їх розвитку [33]. Перша категорія – сорти із дрібними (до 6 мг) рудиментами насіння (наприклад, Султаніна, Кишмиш чорний); друга – сорти із рудиментами вагою 6,1 – 10 мг (Аскері, Бедона); третя – із великими рудиментами вагою від 10,1 до 14 мг (Кишмиш люнда).

В сучасній літературі [50] відокремлюють так звані «класи або рівні безнасінності» (англ. Seedless Class/Level): перший – повна відсутність насіння; другий – сліди абортваного насіння; третій – не повністю лігніфіковані насінини; четвертий – повністю лігніфіковані насінини [18].

Слід зауважити, що безнасінні ягоди апріорі не можуть містити повністю лігніфіковані насінини, які продукують лише насінні сорти, тому,

на нашу думку [18], «класи безнасінності», скоріш за все, характеризують «рівні розвитку насіння», де перший – це відсутність розвитку, другий та третій – частковий розвиток, четвертий – повний розвиток.

A. Vouque із співавт. [56] запропонували гіпотезу генетичного контролю ознаки стеноспермокарпічної безнасінності комплексом трьох незалежних комплементарних генів, які регулюються доміантним алелем локусу, названим авторами «інгібітор розвитку насіння» (англ. Seedless Development Inhibitor, SDI).

Існування такого локусу у 18 групі зчеплення винограду було доведено дослідженнями по картуванню генів, що контролюють прояв деяких ознак у винограду [138].

Пізніше, завдяки локалізації та гомології із генами, що впливають на розвиток яйцеклітини та насіння, в якості гена-кандидата «інгібітор розвитку насіння» був запропонований *AGAMOUS-LIKE11* (*VvAGL11*), який входить до складу родини генів *MADS-box* [139].

В 2018 р. С. Rojo із співавт. [164] довели, що мутація, яка викликає заміщення аргініну на лейцин (Arg-197-Leu) в екзоні 7 регуляторного гена *AGAMOUS-LIKE11*, повністю зчеплена із стеноспермокарпією та є причиною безнасінності переважної більшості безнасінних сортів винограду.

У промоторній ділянці цього гена виявлено [139] мікросателітний локус *p3_VvAGL11*, один з алелів якого (198 п. н.) зчеплений з доміантним алелем гена і, відповідно, проявом ознаки безнасінності у фенотипі, та зроблено припущення щодо можливості використання даного локусу в якості маркера при ранньому доборі безнасінних рослин у гібридних популяціях.

Дослідження маркера *p3_VvAGL11* на довільній вибірці сортів та гібридних сіянців підтвердило [139] кореляцію алеля 198 п. н. (значення показника Крускала-Волліса дорівнювало 66,3 при $P < 0,0001$) із ознакою безнасінності винограду та показало придатність для раннього добору за умови попередньої оцінки даного локусу.

Так, для визначення діапазону варіабельності та «діагностичної потужності» (англ. Diagnostic Power) маркера p3_VvAGL11, С. Bergamini із співавт. [50] проаналізували генотипи 475 зразків винограду та виявили вісім алелів (176, 178, 184, 188, 190, 192, 196, 198 п. н.). Всі безнасінневі рослини у складі вибірки мали у складі генотипу алель 198 п. н.

Ідентифікація за допомогою локусу p3_VvAGL11, проведена в роботі У. У. Нур та співавт. [107] також підтвердила наявність алелю 198 п. н. в усіх 18 досліджених безнасінневих сортах винограду (здебільшого американського походження), що є нащадками сортів Султаніна та Кишмиш чорний.

Інтрагенне розташуванні маркера p3_VvAGL11 мало би обумовити 100 % асоціацію алеля 198 п. н. із безнасінневим фенотипом. Проте, в роботі С. Bergamini із співавт. [50] виявлено вісім «фальш-позитивних» рослин, які поєднували наявність алеля 198 п. н. у складі генотипу та насінневий фенотип. Причини цього явища не аналізувалися.

Н. Osarez із співавт. [149] розробили SSR-маркер 5U_VvAGL11 та SNP-маркер e7_VvAGL11 і разом з p3_VvAGL11 протестували їх на великій вибірці зразків, що містила сорти винограду, гібриди, представників різних видів роду *Vitis* та навіть, чотири зразки інших родів сімейства *Vitaceae*. 100% діагностичну придатність для розрізнення безнасінневих зразків виявив лише маркер SNP e7_VvAGL11. Мікросателіт 5U_VvAGL11 показав аналогічні p3_VvAGL11 результати – наявність такої ж самої кількості фальш-позитивних випадків, проте, на відміну від p3_VvAGL11, володів більшим алельним різноманіттям (19 алелів) та практично не продукував неспецифічних продуктів.

На нашу думку, при використанні для ранньої діагностики безнасінневих рослин мікросателітні маркери 5U_VvAGL11 та p3_VvAGL11 є рівноцінними, оскільки метою є визначення наявності конкретного алеля, асоційованого із ознакою інтересу, безвідносно до величини алельного різноманіття маркерного локусу. Проте при використанні зазначених

маркерів з метою ідентифікації – 5U_VvAGL11 матиме перевагу через більшу поліморфність та може слугувати додатковим інструментом до мікросателітів, що зазвичай використовуються для дискримінації зразків винограду.

Незважаючи на виявлений дослідниками незначний відсоток фальш-позитивних випадків, на сьогоднішній день завдяки відсутності нульових алелів, інтрагенному розташуванню, невеликій коштовності та відтворюваності результатів маркери p3_VvAGL11 та 5U_VvAGL11, є одними з найбільш оптимальних для проведення раннього виявлення безнасінневих рослин.

З огляду на вищезначене питанням дослідження, збереження та подальшого плідного використання генетичних ресурсів винограду у світі приділяється велика увага.

Забезпечення продовольчої безпеки та екологічної орієнтованості виробництв вимагає виходу на світовий ринок нових високопродуктивних сортів, з поліпшеними властивостями та значною стійкістю до основних збудників захворювань винограду. Створення таких сортів можливе за допомогою методів генетичної трансформації або класичної селекції, якій передуватиме пошук та визначення джерел цінних ознак в наявному генетичному пулі.

При цьому необхідно відмітити, що генетичні ресурси українських ампелографічних колекцій, особливо, сорти української селекції, в сфері верифікації ідентичності, підтвердження походження, оцінки основних показників генетичного різноманіття та дослідження можливості використання у маркер-супутньому доборі, є практично недослідженими чому, власне, і присвячено дану дисертаційну роботу.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідницьку роботу проводили протягом 2012 - 2015 років у секторі молекулярної генетики винограду ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова», спільно з відділом генетики, селекції і ампелографії ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова».

Фенотипову оцінку гібридних сіянців виконували на селекційних ділянках ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова».

Молекулярно-генетичні аналізи проводили в лабораторіях молекулярної генетики ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» та АгроБіоінституту (м. Софія, Болгарія) при виконанні українсько-болгарського проекту «Оцінка генетичного різноманіття винограду України та Болгарії за допомогою молекулярних маркерів».

2.1. Матеріали досліджень

В якості матеріалу для досліджень використані:

- гібридні сіянці (23 зразки) комбінації схрещування Кобзар × Русалка 3, які у 2013-2014 рр. вступили у плодоношення;
- сорти колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» та форми винограду (80 зразків), серед яких 52 зразки селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» та 42 (столові, технічні, підщепні) сорти винограду, що входять до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні [10] (назви досліджуваних зразків винограду здебільшого наведені згідно з VIVC).

Загальні відомості щодо досліджуваних сортів та форм винограду наведені у Додатку 1.

Зразки сортів та форм були відібрані з кількох рослин (від 2 до 5, залежно від їх наявності) на насадженнях та в ампелографічній колекції

сортів ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова»; зразки гібридних сіянців відібрані у гібридному розсаднику.

Листовий матеріал зразків був заморожений при -20°C для подальшого виділення ДНК.

2.2. Фенотипова оцінка за ознакою «формування насіння»

Фенотипування за ознакою «формування насіння» проводили протягом 2013-2015 рр. шляхом візуальної оцінки ступеня безнасінності відповідно до 241 дескриптора, запропонованого Міжнародною організацією винограду і вина (OIV): 1-й ступінь – повна відсутність насіння, 2-й ступінь – рудименти насіння, 3-й ступінь – наявність насіння.

2.3. Виділення ДНК

ДНК виділяли із замороженого (-20°C) листового матеріалу з використанням комерційного набору DNA Plant Kit (Qiagen, Нідерланди) за методикою виробника.

Концентрацію та якість ДНК визначали методом електрофорезу у 0,8%-ому агарозному гелі (який містив інтеркалюючий барвник етидій бромід) разом з еталонною ДНК відомої концентрації в ультрафіолетовому світлі за допомогою за допомогою комп'ютерної програми відкритого доступу – «GelAnalyzer».

2.4. Полімеразна ланцюгова реакція з використанням мікросателітних маркерів

2.4.1. Ампліфікація ДНК зразків винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова»

Використаний стандартний ряд з шести та додатково трьох мікросателітних маркерів, рекомендованих в рамках європейських проектів Genres081, GrapeGen06 в якості мінімального набору для ідентифікації сортів винограду: VVS2, ZAG62, ZAG79, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, а також маркер p3_VvAGL11, асоційований із ознакою безнасінності у винограду.

Основні характеристики мікросателітних локусів та праймерних пар наведені у табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Основні характеристики праймерних пар до досліджуваних мікросателітних локусів винограду

Назва локусу	Мікросателітний мотив	Група зчеплення ¹	Послідовність праймерів (F – прямий, R – зворотній)	Діапазон алельних розмірів ² у п. н. .	Розробники
VVS2	(CT) _n	11	F: AAATTCAAAAATTCTAATTCAA R: CAGCCCGTAAATATATCCATC	123-179	[177]
ZAG62	(CT) _n	7	F: GGTGAAATGGGCACCGAACACACGC R: CCATGTCTCTCCTCAGCTTCTCAGC	174-222	[109]
VVMD7	(CT) _n	7	F: AGAGTTGCGGAGAACAGGAT R: CGAACCTTCACACGCTTGAT	183-273	[113]
VVMD27	(CT) _n	5	F: GTACCAGATATGAATACATCCGTAAGT R: ACGGGTATAGAGCAAACGGTG	166-216	[113]
VVMD5	(CT) _x AT(CT) _y ATA G(AT) _z	16	F: CTAGAGCTACGCCAATCCAA R: TATACCAAAAATCATATTCCTAAA	215-277	[113]
VVMD25	(CT) _n	11	F: TTCCGTAAAGCAAAAGAAAAAGG R: TTGGATTTGAAATTTATTGAGGGG	228-274	[113]
VVMD28	(CT) _n	3	F: AACAAATCAATGAAAAGAGAGAGAGAGA R: TCATCAATTTTCGTATCTCTATTTGCTG	216-298	[50]
ZAG79	GA	5	F: AGATTGTGGAGGAGGGAACAAACCG R: TGCCCCATTTTCAAACACTCCCTTCC	234-274	[109]
VVMD32	(CT) _n	4	F: TATGATTTTTTAGGGGGGTGAGG R: GGAAAGATGGGATGACTCGC	228-290	[50]
p3_VvAGL11	(GAGA) _n	18	F: CTCCCTTTCCCTCTCCCTCT R: AAACGCGTATCCCAATGAAG	176-198	[145]

Примітка: 1 – групи зчеплення відповідно до генетичної карти [83]; 2 – діапазон алельних розмірів відповідно до італійської бази даних [99].

ПЛР проводили в термоциклері QB-96 LKB PCR (Quanta Biotech, Велика Британія) шляхом мультиплексування праймерних пар до мікросателітних локусів: VVS2 + ZAG62 + VVMD7; VVMD5 + VVMD25 + VVMD27; VVMD28 + VVMD32 + ZAG79.

Реакційна суміш для проведення ПЛР (кінцевий обсяг – 10 мкл) включала комерційну суміш компонентів для ПЛР (MyTaq HS Mix 2x, Bioline), 100 мкМ кожного дНТФ, 0,66 мкМ прямих та 0,66 мкМ мічених флуоресцентними фарбниками (FAM – синій, ROX – червоний, HEX – зелений, TAMPRА – чорний) зворотних праймерів та 10 нг ДНК.

Температурний режим складався з наступних етапів: початковий - 10 хв основний – при 94 °С; 1 хв при 94 °С, 1 хв при 55 °С, 1 хв при 72 °С (35 циклів); кінцевий - 1 хв при 72 °С.

Після завершення ПЛР продукти розводили у два етапи: на першому – у 10 разів (2 мкл продукта ПЛР, 18 мкл H₂O), на другому – у 450 разів (2 мкл розведеного у 10 разів продукта ПЛР, 90 мкл H₂O).

Після розведення продукти ПЛР змішували із формаїдом та стандартом розмірів LIZ (Applied Biosystems, США), міченим флуоресцентним барвником (1 мкл продукта ПЛР, 9 мкл формаїда, 0,5 мкл LIZ). Суміш денатурували (94 °С, 2 хв), охолоджували на льоду протягом 4 хв. та завантажували у фрагментний аналізатор ABI Prizm 310 (Applied Biosystems, США).

2.4.2. Ампліфікація ДНК гібридних форм та їхніх батьківських сортів

В дослідженні сіянців та батьківських форм гібридної популяції Кобзар × Русалка 3 мікросателітні маркери використані для підтвердження ідентичності (VVS2, ZAG62, VVMD7) та скринінгу рослин-носіїв ознаки безнасінності (p3_VvAGL11).

Реакційна суміш для проведення полімеразної ланцюгової реакції (загальний обсяг 25 мкл) включала: буфер для ПЛР (Bioneer, Корея), 20 нг

геномної ДНК, 200 мкМ кожного дНТФ (Bioneer, Корея), 1,5 – 2,5 мМ MgCl₂ (Promega, США) (залежно від типу праймерів), 1 од. Таq-полімерази (Bioneer, Корея), 0,2 мкМ кожного праймера (Biomers, Німеччина).

Ампліфікацію проводили на термоциклері «Терцик» («ДНК-технологія», РФ) за режимом: початковий цикл – 5 хв. при 94° С; основний етап (35 циклів) – 30 с при 94° С, 30 с при 64° С, 30 с при 72° С; кінцевий етап – 10 хв. при 72° С; зберігання при 4° С.

2.5. Візуалізація продуктів ампліфікації

2.5.1. Капілярний електрофорез продуктів ПЛР сортів та форм винограду

Для візуалізації продуктів ампліфікації здійснювали капілярний електрофорез на фрагментному аналізаторі ДНК ABI Prizm 310 (Applied Biosystems, США) з використанням 36 см капіляра, заповненого полімером POP7.

Розміри алелів мікросателітних фрагментів встановлювали за допомогою комп'ютерної програми Gene Mapper 4.0.

2.5.2. Електрофорез продуктів ампліфікації в агарозному та поліакриламідному гелях

Для попередньої оцінки наявності продуктів ампліфікації використовували електрофорез (30 хв при напрузі 110 V, буфер – 1xТБЕ) у 1,5 % агарозному гелі (15 × 20 см), що включав приблизно 20 мкл (0,5 мкг/мл) флуоресціюючого барвника етидід броміду .

Гелі фотографували в ультрафіолетовому світлі на відеосистемі гелъ-документації Bioimaging Systems EC3 (UVP, Велика Британія).

Для фрагментного аналізу використовували 8 % нативні поліакриламідні гелі (30 % розчин акриламіду та бісакриламіду (29 : 1),

5 × ТБЕ, 3 % APS і TEMED). Електрофорез проводили на форезному блоці SE600-15-1 (Hoefler, США) під напругою 450 V.

Візуалізацію отриманих ампліфікатів проводили шляхом забарвлення поліакриламідних гелів у розчині 0,012 М аргентум нітрату [151].

Документували отримані дані за допомогою відеосистеми Bioimaging Systems EC3 (UVP, Велика Британія). Розмір фрагментів ДНК визначали за допомогою комп'ютерної програми «Launch Vision WorksLS» згідно маркера молекулярної маси pBR 322 DNA / Bsu R1 (Hae III) (Fermentas, США).

2.6. Статистичний аналіз даних

Кількість алелів N_a , очікувана гетерозиготність H_e [148], наявна гетерозиготність H_o , ймовірність виникнення нульових алелів r , вірогідність ідентичності PI [150] та відношення правдоподібності (Likelihood Ratio) вираховані за допомогою комп'ютерної програми Identity 4.0 [200] (відкритий доступ). Дана програма також придатна для виявлення ідентичних генотипів та можливих родинних зв'язків між особинами у вибірці.

Ефективна кількість алелів N_e , індекс фіксації Райта F_{is} [202], кількість гомо- та гетерозигот обчислені ручним способом.

РОЗДІЛ 3
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ
МІКРОСАТЕЛІТНИХ ЛОКУСІВ СОРТІВ ТА ФОРМ ВИНОГРАДУ
АМПЕЛОГРАФІЧНОЇ КОЛЕКЦІЇ ННЦ «ІВІВ імені В. Є. ТАЇРОВА»

3.1. Ідентифікація генотипів сортів та форм винограду української селекції

Для отримання алельних характеристик досліджувані зразки (сортів та селекційні форми) винограду проаналізовані дев'ятьма мікросателітними маркерами – VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, ZAG62 та ZAG79, шість з яких (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, ZAG62 та ZAG79) входять до стандартного ряду, рекомендованого для дискримінації та аналізу походження зразків в рамках європейського проекту Genres081 [97].

Локуси VVMD25, VVMD28 та VVMD32 є розширенням складу стандартного ряду та використовуються додатково при необхідності аналізу зразків із значною подібністю складу генотипів, наприклад, близькоспоріднених сортів [16].

В результаті проведених досліджень вперше визначені алельні характеристики розширеного стандартного ряду мікросателітних локусів 54 сортів та форм винограду селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» (рис. 3.1, 3.2, табл. 3.1).

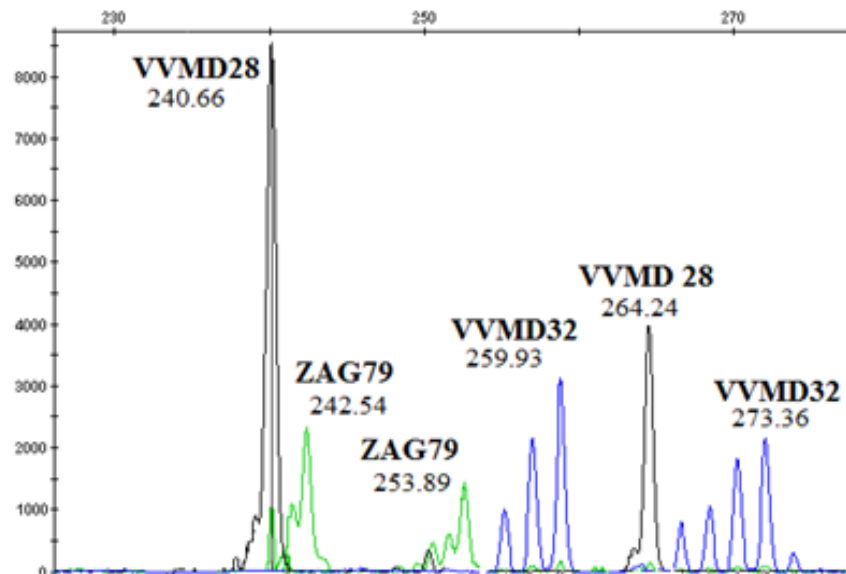


Рис. 3.1. Розподіл продуктів ампліфікації мікросателітних локусів VVMD28, ZAG79 та VVMD32 ДНК форми винограду Рум'яний. Тут та в подальших аналогічних рисунках числами показано розміри фрагментів у п. н., вісь абсцис – довжина алелів мікросателітних локусів у п. н., вісь ординат – концентрація продукту ампліфікації у пробі.

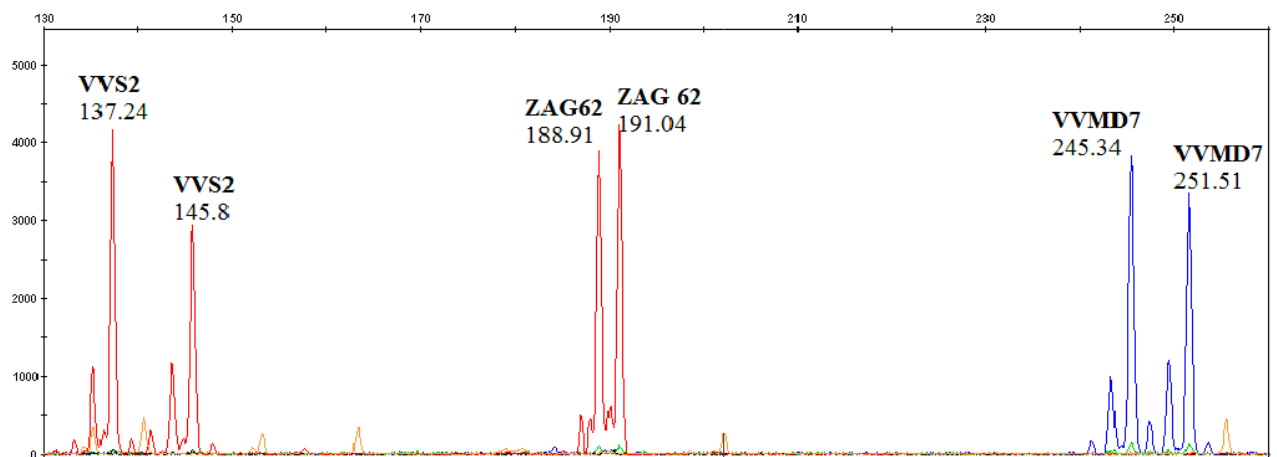


Рис. 3.2. Розподіл продуктів ампліфікації мікросателітних локусів VVS2, ZAG62 та VVMD7 ДНК сорту винограду Огоньок таїровський.

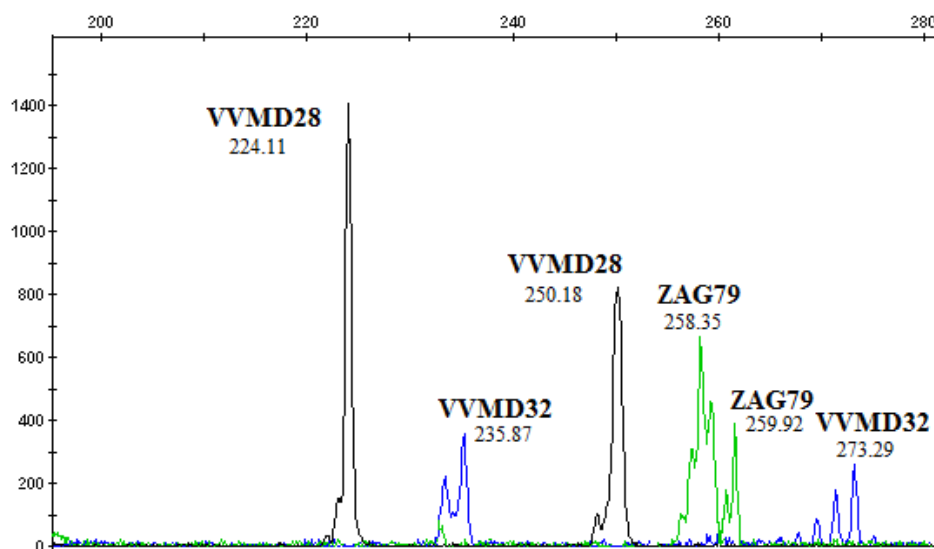


Рис. 3.3. Розподіл продуктів ампліфікації мікросателітних локусів VVMD28, ZAG79 та VVMD32 ДНК сорту винограду Золотистий устійчивий.

Таблиця 3.1

Алельні характеристики (п. н.) мікросателітних локусів сортів та форм винограду української селекції

№ з/п	Сорт	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
1	Агат таїровський	127:153	188:196	251:253	176:191	233:239	252:252	240:274	248:258	274:274
2	Айваз	135:137	188:196	251:253	178:182	239:243	244:258	242:274	254:258	254:258
3	Аркадія	137:137	188:190	245:251	176:191	239:239	258:0	242:274	258:258	254:258
4	Ароматний	127:135	196:206	249:254	182:186	231:241	244:244	250:252	250:264	242:242
5	Восток	135:153	188:198	249:251	176:191	231:235	244:252	250:250	258:260	266:274
6	Геркулес	135:153	188:190	245:251	186:191	227:231	244:252	250:274	260:262	266:274
7	Голубок	131:135	186:190	241:243	178:180	239:249	240:242	250:258	258:262	242:274
8	Дністровський рожевий	135:153	196:198	241:249	178:186	231:237	252:252	250:274	260:262	236:242
9	Добриня	139:153	190:198	241:259	186:204	243:271	240:252	226:242	250:266	242:242
10	Етюд	135:145	186:196	243:253	176:182	231:241	244:258	242:250	242:250	242:258
11	Загадка	135:137	188:190	245:251	182:191	231:241	252:258	240:250	242:260	258:274
12	Загрей	127:139	196:206	241:249	176:180	231:239	242:252	234:250	246:258	240:274
13	Золотистий устійчивий	137:153	198:206	249:249	178:186	231:237	252:258	224:250	258:260	236:274
14	Ідилія мускатна	145:153	196:202	251:253	182:186	235:239	252:258	242:274	248:254	242:276
15	Лічівський ранній	137:145	186:190	243:245	180:191	239:241	252:258	250:258	248:258	242:274
16	Іскорка	135:137	190:206	245:249	178:186	229:239	244:258	224:274	254:264	252:276
17	Кардишак	135:137	188:196	241:251	176:182	229:239	252:258	240:274	254:258	242:254
18	Кишмиш ОСГІ*	137:153	190:190	251:255	176:191	237:241	252:258	224:240	252:254	52:266
19	Кобзар	137:157	190:196	245:253	178:191	239:243	248:258	242:0	260:262	258:258

Продовж. табл. 3.1

№ з/п	Сорт	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
20	Комета	137:139	190:204	237:249	176:182	231:239	244:258	250:250	254:262	252:274
21	Королева таїровська	137:143	188:190	251:255	176:182	239:243	258:258	240:250	252:258	258:274
23	Ланка	131:135	190:196	245:253	176:186	239:239	244:258	240:250	250:264	242:274
22	Ланжерон	145:157	190:196	241:253	176:178	243:243	248:252	242:242	254:262	258:266
24	Мечта*	137:153	198:204	251:251	176:178	237:249	252:258	240:252	250:254	252:274
25	Мускат жемчужний	135:137	188:190	249:251	176:176	239:241	244:258	224:264	252:258	266:274
26	Овідіопольський	127:131	190:206	245:249	178:180	239:241	252:258	240:250	258:260	240:252
27	Огоньок таїровський	137:145	188:190	245:251	178:186	239:239	258:258	240:250	262:264	242:258
28	Одеський сувенір	137:139	194:202	249:251	176:176	235:239	244:258	240:242	242:0	258:274
29	Одеський чорний	135:153	190:190	241:245	186:191	229:235	244:252	242:250	250:260	242:274
30	Одисей	137:151	188:198	249:251	176:191	229:231	252:258	240:264	258:260	258:260
31	Опаловий	135:147	188:190	245:251	176:191	241:241	244:258	240:264	248:258	258:274
32	Оригінал	135:145	190:196	251:253	176:182	239:241	244:258	240:264	242:252	274:274
33	Оригінал білий	137:153	190:196	251:253	176:182	239:241	252:258	240:264	242:250	258:274
34	Персей	135:145	196:196	241:253	176:178	229:243	252:258	242:274	258:262	242:258
35	Подарунок селекціонера	137:157	190:206	245:249	191:191	243:243	248:272	248:0	254:260	252:258
36	Призер	147:153	196:196	253:259	186:191	235:241	252:258	240:242	248:248	258:274
37	Приморський	135:135	188:206	251:257	182:182	229:229	242:252	250:264	252:254	274:274
38	Рішельє	137:137	188:196	251:253	186:191	239:243	252:258	242:250	258:260	258:274
39	Роднічок	137:153	186:190	241:243	178:191	239:247	252:258	250:266	248:250	252:252
40	Рубін таїровський	127:147	190:190	245:245	186:191	235:241	252:258	240:240	248:264	258:274
41	Рум'яний	145:151	190:196	241:251	176:182	239:243	252:258	240:264	242:254	260:274
42	Селена	135:153	196:206	249:253	182:186	235:239	244:252	240:274	248:254	240:242
43	Смена	137:145	186:188	243:251	178:186	239:241	258:258	240:250	262:264	258:260
44	Сухолиманський білий	135:145	198:206	241:251	178:182	237:249	242:258	224:254	246:254	242:254
45	Таїр	135:139	190:196	249:253	176:182	239:239	244:244	240:250	242:254	258:274
46	Таїрян	137:137	190:196	241:251	176:182	239:243	258:258	240:264	242:254	242:274
47	Український 85	145:157	198:206	251:251	176:178	239:249	244:252	264:274	252:254	252:274
48	Стійкий Докучаєвої	135:135	190:196	245:253	182:191	227:241	244:244	242:274	242:260	258:274
49	Флора	137:143	190:190	245:255	182:191	239:241	252:258	250:250	252:252	274:274
50	Чарівний	145:153	188:190	245:251	176:191	237:239	252:258	250:274	258:268	242:250
51	Шкода	137:147	188:190	245:251	176:186	235:241	258:258	240:264	258:264	274:274
52	Янтар таїровський	137:151	188:198	249:251	182:191	229:241	252:258	250:250	258:260	242:258
53	Ярило	137:145	190:206	241:249	176:178	229:239	244:258	244:266	250:258	252:258
54	40 лет Октября	135:147	190:190	241:241	178:178	241:249	242:244	234:250	246:262	254:274

Примітка: * – сорти селекції Одеського аграрного університету (колишній ОСГУ), решта – сорти та форми селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова»; 0 – нульовий алель.

В попередніх роботах співробітників сектору молекулярної генетики відділу молекулярної генетики та фітопатології ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» алельний склад деяких мікросателітних локусів (VVMS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, ZAG62, ZAG79, VMC2h4, VMC2b3, VVMD28, VVMD36, VVIv70, VVIp37, VVIb66 та VMC6e10) був встановлений для незначної кількості – 18 сортів та селекційних форм винограду селекції інституту [6, 7].

Проведені нами дослідження істотно збільшили кількість сортів ампелографічної колекції із визначеним алельним складом мікросателітних локусів, що дозволяє надати алельні характеристики для завантаження у Європейський каталог сортів винограду VIVC або створити власну – українську – базу даних з відкритим або обмеженим доступом у мережі Інтернет.

3.2. Визначення мікросателітних профілів сортів винограду закордонної селекції

В ході дослідження також отримано повні алельні профілі дев'яти мікросателітних локусів 26 інтродукованих сортів винограду (рис. 3.4, 3.5; табл. 3.2).

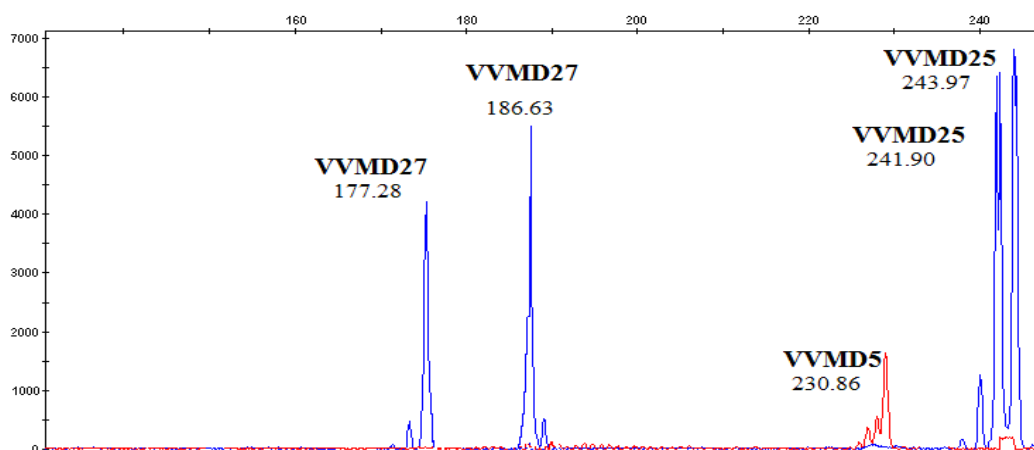


Рис. 3.4. Розподіл продуктів ампліфікації мікросателітних локусів VVMD27, VVMD5 та VVMD25 ДНК сорту винограду Марсельський ранній

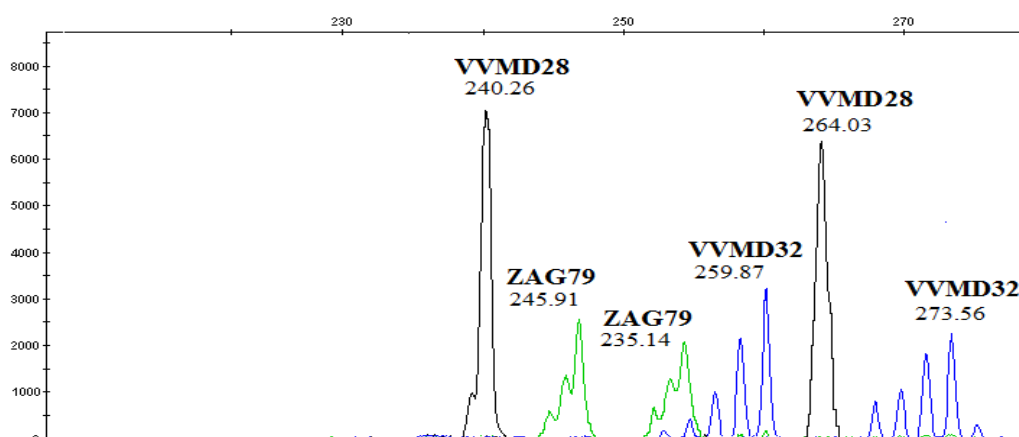


Рис. 3.5. Розподіл продуктів ампліфікації мікросателітних локусів VVMD28, ZAG79 та VVMD32 ДНК сорту винограду Афуз Алі

Таблиця 3.2

**Алельні характеристики (п. н.) мікросателітних локусів сортів
закордонної селекції**

№ з/п	Сорт	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
1	Афуз Алі	135:137	188:190	241:251	182:182	229:235	252:258	240:264	246:254	260:274
2	Агат донський	137:153	204:206	249:251	178:191	237:243	252:272	224:248	254:256	244:252
3	Аліготе	135:139	196:198	241:241	176:186	231:243	242:242	234:242	246:248	242:274
4	Альфонс Лавалле	135:137	188:206	251:257	182:182	229:241	242:258	250:250	242:254	254:274
5	Біанка	135:153	196:196	245:253	182:186	231:239	244:252	224:242	242:264	258:274
6	Белградський безнасінневий	135:137	190:204	251:251	178:182	229:237	244:258	224:240	250:254	252:274
7	Восторг	137:151	196:198	241:249	176:182	229:243	252:258	250:264	254:258	242:260
8	Жемчуг Саба	135:157	188:206	249:251	176:178	239:239	244:244	224:274	258:262	274:274
9	Інтерлейкін	125:153	190:206	249:255	178:182	237:241	244:252	232:250	250:268	252:252
10	Іршаї Олівер	137:157	206:206	249:251	176:178	229:239	244:258	224:274	254:258	252:274
11	Каберне Совіньйон	141:153	190:196	241:241	172:186	235:243	242:252	240:242	250:250	242:242
12	Кардинал	137:137	188:188	251:251	176:182	229:239	258:258	250:272	254:258	254:274
13	Кишмиш ВІРа	153:153	190:204	251:251	176:191	231:237	242:252	252:264	250:252	252:274
14	Королева виноградників	135:137	188:206	249:251	176:182	229:239	244:258	240:274	254:258	274:274
15	Марсельський ранній	135:139	188:190	245:251	176:186	231:231	242:244	224:264	248:258	254:274
16	Мерло	141:153	196:196	241:249	186:188	229:239	242:252	234:240	260:260	242:242
17	Молдова	135:137	190:196	245:253	178:191	239:243	244:0	234:242	250:258	254:258
18	Мускат гамбурзький	137:151	188:194	249:251	176:182	235:241	252:258	242:250	242:258	274:274
19	Плевен устойчивий	135:145	182:188	239:251	186:191	239:239	244:258	240:250	260:264	258:274
20	Ромулус	127:153	190:206	241:249	178:182	237:241	244:252	236:250	250:250	242:252
21	Русалка 1	135:157	202:206	249:251	176:182	237:239	242:244	250:264	246:258	252:274
22	Русалка 3	147:157	190:202	251:255	176:191	241:243	242:248	242:250	258:260	252:274

Продовж. табл. 3.2

№ з/п	Сорт	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
23	Рушакі	153:153	190:190	241:249	176:178	237:241	252:252	224:242	250:262	252:274
24	Flame seedless	135:153	190:190	241:255	178:182	237:239	244:252	250:250	250:254	252:274
25	Чауш рожевий	137:145	190:198	241:251	176:176	241:249	252:258	240:264	252:254	266:274
26	Шардоне	139:145	190:198	241:245	178:186	237:241	242:258	224:234	246:248	242:274

Досліджені інтродуковані сорти (Аліготе, Біанка, Жемчуг Саба, Каберне Совіньйон, Марсельський ранній, Мерло, Мускат гамбурзький, Шардоне, Русалка 1, Русалка 3 тощо) здебільшого представляють результати європейської селекційної роботи різних часів. Значно менша частка американських (Інтерлейкін, Ромулус, Flame seedless), середньо-азійських (Афуз Алі, Рушакі, Чауш рожевий) та «радянських» (Молдова, Восторг, Сірануш) сортів винограду.

Для зручності порівняння отриманих молекулярних профілів інтродукованих сортів із опублікованими у відкритому доступі генотипами, для кожного локусу визначений фактор конверсії (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

**Визначення фактору конверсії для мікросателітних локусів,
опублікованих у VIVC**

Алельні характеристики (п. н.) мікросателітних локусів									
Сорти	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
Каберне Совіньйон ¹	141:153	190:196	241:241	172:186	235:243	242:252	240:242	250:250	242:242
Каберне Совіньйон ²	139:151	188:194	239:239	176:190	234:242	239:249	234:236	247:247	240:240
Різниця	-2	-2	-2	+4	-1	-3	-6	-3	+2
Шардоне ¹	139:145	190:198	241:245	178:186	237:241	242:258	224:234	246:248	242:274
Шардоне ²	137:143	188:196	239:243	182:190	236:240	239:255	218:228	243:245	240:272
Різниця	-2	-2	-2	+4	-1	-3	-6	-3	+2
Мерло ¹	141:153	196:196	241:249	186:188	229:239	242:252	234:240	260:260	242:242
Мерло ²	139:151	194:194	239:247	190:192	228:238	239:249	228:234	259:259	240:240
Різниця	-2	-2	-2	+4	-1	-3	-6	-3	+2
Фактор конверсії	-2	-2	-2	+4	-1	-3	-6	-3	+2

Примітка: алельний склад генотипів зразків винограду, 1 – отриманий у власних дослідженнях; 2 – опублікований у VIVC.

За абсолютний розмір були прийняті розміри алелів європейських сортів винограду [147]. Поширені та стародавні сорти – Каберне Совіньйон, Шардоне і Мерло – були використані в якості референтних.

Алельні профілі інтродукованих сортів у складі дослідженої вибірки, крім сортів Белградський безнасіньвий, Молдова, Русалка 1, Русалка 3, генотипи яких не опубліковані у VIVC, виявилися ідентичними мікросателітним профілям, розміщеним у Європейському каталозі сортів винограду. Це свідчить про можливість використання отриманих в роботі алельних профілів сортів винограду спільно із мікросателітними профілями сортів, розміщених у VIVC для аналізу походження, визначення найменувань сортів з невірними назвами, відстеження успадкування окремих алелів тощо [16].

При порівнянні отриманих алельних характеристик із розміщеними у базах даних та літературних джерелах, слід брати до уваги можливість неспівпадіння розмірів в 1-2 локусах через різні способи округлення отриманих первинних даних [186].

Крім того, під назвами сортів можуть бути досліджені та опубліковані не відповідні генотипи [16]. Так, наприклад, опублікований D. Katula-Debreceni [118] генотип сорту Рупестрис дю Ло відрізняється від розміщеного у VIVC та визначеного іншими дослідниками [87, 122, 171].

Тому перед використанням опублікованих алельних характеристик мікросателітних локусів сортів необхідне додаткове їх порівняння з аналогічними даними інших лабораторій та генотипами батьківських сортів [16].

Проведений аналіз вибірки з 80 зразків винограду показав високу поліморфність досліджених мікросателітних локусів: загалом було виявлено 108 алелів у дев'яти локусах. При цьому використаний ряд мікросателітних маркерів виявився придатним для розрізнення навіть близькоспоріднених зразків із значною подібністю алельного складу генотипу [16].

3.3. Реконструкція генотипів сортів Сєверний, Одеський стійкий та Декоративний

Ефективність процесу гібридизації в програмах селекції винограду залежить від ступеню «різноманітності» батьківських форм. На фенотиповому рівні різноманітність виражається у контрастності ознак, за якими ведеться добір. На рівні спадкового матеріалу вона проявляється в гетерозиготності локусів, що відповідають за прояв ознак [25].

Вплив умов навколишнього середовища на фенотиповий прояв ознак, а також доступність надійних інструментів аналізу на рівні послідовностей ДНК обумовлюють вибір дослідниками саме молекулярно-генетичних методів оцінки сортів та їх батьківських форм.

Сорти винограду Сєверний, Одеський стійкий та Декоративний активно використовувалися у селекційному процесі в колишньому СРСР протягом ХХ ст.

Наразі вони відсутні в ампелографічних колекціях та насадженнях винограду на території України і отримання матеріалу (сортів Сєверний та Декоративний) з установи-оригіатора (інститут Виноградарства і виноробства імені Я. І. Потапенка, м. Новочеркаськ, РФ) та ампелографічної колекції Національного інституту винограду і вина «Магарач» практично неможливе.

Крім того, аналізуючи доступний опублікований матеріал з генотипування сортів винограду, ми звернули увагу, що іноді в колекціях, скоріш за все через значну морфологічну подібність, сорти-нащадки можуть зберігатися під назвою батьківських сортів.

Так, наприклад, в вищезазначеній роботі D. Katula-Debreceni [118], під назвою «Катта курган» ймовірно опублікований генотип його прямого нащадку, оскільки при порівнянні з генотипом сорту Катта курган, розміщеному у VIVC, нами виявлено неспівпадіння алельних характеристик.

Опублікування невірних мікросателітних профілів не є поширеним явищем; зазвичай дослідники верифікують отримані генотипи із розміщеними у базах даних та, в залежності від мети роботи, або не публікують їх або вказують на помилковість даних.

Так, М. R. Schuck із співавт. [168] в результаті проведення молекулярно-генетичного аналізу зразків винограду колекції Санта-Катарина (Бразилія), виявили, що сім зразків не відповідають критерію «true-to-type» та надали в статті їх мікросателітні профілі.

Невідповідність назви досліджуваному зразку винограду легко виявляється молекулярно-генетичними методами, проте в окремих випадках існує необхідність еталонного генотипу для порівняння.

Реконструйований алельний склад генотипу, за умов ретельної перевірки вихідних даних, може бути використаний в якості еталона для точної ідентифікації сортів та їх нащадків.

Метод реконструкції генотипу запропонований [144] для визначення складу генотипу невідомої батьківської форми з використанням генотипів нащадків та відомої *a priori* другої батьківської форми, може бути також застосований для встановлення складу генотипу відомих батьківських форм за відсутності можливості їх генотипування, в першу чергу, через недоступність матеріалу.

Для реконструювання генотипів та подальшого аналізу походження сортів Сєверний, Одеський стійкий та Декоративний, мікросателітні профілі сортів Фіолетовий ранній, Маленгр ранній, Берекє, Самал, Іллійський, Рупестрис дю Ло, Бабяска нягре, Датьє де Сен Вальє та Сапераві були залучені з відкритих літературних джерел (Додаток В), а генотипи сортів 40 лет Октября, Голубок, Іллічівський ранній та Рубін таїровський були визначені в нашому дослідженні.

Сорт Сєверний (синонім «Сєверний мускат 7») – це столовий сорт винограду; морозостійкий, із дуже ранніми строками дозрівання [88].

Виведений у 1936 році, Северний активно використовувався в процесі створення нових сортів у колишньому СРСР (понад 30 нащадків) та деяких країнах нині Європейського союзу – Чеській республіці (сорт Амос), Угорщині (сорт Галубок) та Німеччині (сорт Гайзенхайм 6493, Гайзенхайм 6493-2, Гайзенхайм 6493-3) [25]. За інформацією VIVC Северний є батьківською формою 37 сортів.

Слід зазначити, що VIVC наразі є найбільшою, але ще не завершеною базою даних, тому нащадків сорту Северний може бути значно більше, оскільки він входить до складу ампелографічних колекцій наукових установ Австралії, Австрії, Болгарії, Грузії, Канади, Німеччини, Росії та США [25].

В ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» сорт Северний використовувався при схрещуваннях, за результатами яких отримані сорти Голубок, Іллічівський ранній, Іллічівський, Овідіопольський.

Для реконструкції генотипу сорту Северний використані алельні профілі сортів Береке, Голубок, Самал та Фіолетовий ранній (табл. 3.4).

Генотипи сортів Іллічівський ранній та Овідіопольський не були використані для реконструкції через відсутність алельних профілів другого батьківського сорту Одеський стійкий.

Алельний склад восьми локусів (VVMS2, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, ZAG62 та ZAG79) сорту Северний був відновлений повністю.

В двох локусах (VVMD5 та VVMD28) був визначений один з двох наявних алелів. У локусі VVMD5 всі шість нащадків сорту Северний (табл. 3.4, табл. 3.5) успадкували алель 239 п. н., тому цілком ймовірно, що він є гомозиготним за цим локусом.

В результаті реконструкції генотипу сорту Северний ми зробили спробу проаналізувати його походження.

За доступною інформацією [8, 196] сорт Северний був отриманий у 1936 р. в результаті схрещування Сеянец Малленгра та Виноград амурський (*V. amurensis* Rupr.).

Таблиця 3.4

**Розміри мікросателітних послідовностей (п. н.) у нащадків сорту
Северний та ймовірний генотип сорту Северний за зазначеними
маркерами**

Сорти	Мікросателітні локуси								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	ZAG79	VVMD32	VVMD28
♀ 40 лет Октября	135:147	190:190	241:241	178:178	241:249	242:244	246:262	254:274	234:250
♂ <i>Северний</i> Голубок	131:135	186:190	241: 243	178: 180	239:249	240:242	258:262	242:274	250: 258
♀ Мускат гамбурзький	137:151	188:194	249:251	176:182	235:241	252:258	242:250	242:258	274:274
♂ <i>Северний</i> Фіолетовий ранній	131:151	186:188	243:251	176: 178	235: 239	240:258	258:262	242:274	-
♀ Ілійський	145:147	190:196	241:259	186:189	229:243	244:258	246:262	252:274	-
♂ <i>Северний</i> Береке	131:145	196: 206	249:259	180:189	229: 239	240:258	258:262	242:274	-
Самал	137:147	196: 206	249:259	180:189	239:243	244: 258	258:262	240:274	-
Северний (відтворений)	131:137	186:206	243:249	178:180	239: -	240:258	258:262	240:242	240*:258

Примітка: * – розмір алеля визначений в результаті реконструкції генотипу сорту Одеський стійкий; у сортів-нащадків виділеним шрифтом відмічено алелі, успадковані від сорту Северний; курсивом позначено назву сорту, генотип якого реконструюється.

В літературних джерелах нами виявлені генотипи лише прабацьківського для сорту Северний та батьківського для сорту Сеянец Малленгра – сорту Маленгр ранній, який показав три однакових алеля у восьми проаналізованих локусах (дані не наведені) із сортом Северний. Враховуючи непрямі батьківські зв'язки, можливість високої гетерозиготності сорту Сеянец Малленгра та невелику кількість досліджених локусів такий результат може бути цілком ймовірним [25].

За даними Смирнова К. В. [33] Виноград амурський є досить поліморфним видом і ряд його представників активно використовувався в селекційній практиці на початку ХХ ст.

Так, дослідники на чолі з S. Riaz [160] у 2013 р. проаналізували за допомогою мікросателітних маркерів вибірку з 380 сортів та виявили сім різних генотипів *V. amurensis* Rupr. (далі *V. amurensis*), жоден з яких при

порівнянні нами із сортом Северний не показав необхідних 50 % однакових алелів у генотипі [25].

Таким чином, наразі не можливо достеменно встановити походження сорту Северний.

Білоягідний винний сорт Одеський стійкий є міжвидовим гібридом із високою стійкістю до низьких температур та захворюванню мілдью [8, 196]. Європейський каталог сортів VIVC надає інформацію щодо існування трьох нащадків сорту Одеський стійкий (Іллічівський ранній, Овідіопольський та Рубін таїровський) і входження його до колекцій наукових установ Болгарії та Молдови.

При реконструюванні генотипу Одеський стійкий через невелику кількість його сортів-нащадків та обмежену інформативність генотипу сорту Северний ми змогли визначити повний алельний склад лише п'яти локусів (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Відтворення алельного складу генотипу сорту Одеський стійкий за алельними характеристиками (п. н.) його нащадків

Сорти	Мікросателітні локуси								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
♀ Северний (відтворений)	131:137	186:206	243:249	178:180	239:-	240:258	240*:258	258:262	240:242
♂ Одеський стійкий									
Іллічівський ранній	137: 145	186: 190	243: 245	180: 191	239: 241	252 :258	250 :258	248 :258	242: 274
Овідіопольський	127 :131	190 :206	245 :249	178: 180	239: 241	252 :258	240: 250	258: 260	240: 252
♂ Varousset	135:147	190:196	245:253	178:186	229:235	244:258	240:258	246:264	258:274
♀ Одеський стійкий									
Рубін таїровський	127 :147	190 :190	245 :245	186: 191	235: 241	252 :258	240 :240	248 :264	258:274
Одеський стійкий (відтворений)	127:145	190:-	245:-	180:191	241:-	252:-	240:250	248:260	252:274

Примітка: ризикою позначено відсутні алельні характеристики; у сортів-нащадків виділеним шрифтом відмічені алелі, успадковані від сорту Одеський стійкий; курсивом позначено назву сорту, генотип якого реконструюється.

В локусах ZAG62, VVMD7 та VVMD5 всі нащадки Одеського стійкого успадкували лише алелі 190 п. н., 245 п. н. та 241 п. н., відповідно [25]. Можливо дані локуси є гомозиготними.

В генотипі сорту Рубін таїровський у локусі VVMD28 виявлені два алеля 240 п. н.; один з них міг бути отриманий від сорту Одеський стійкий за умови відсутності нульового алеля в цьому локусі.

В генотипі іншого нащадка – сорта Овідіопольський – алель 240 п. н. міг бути успадкований від сорту Северний, алель 250 п. н. – від сорту Одеський стійкий.

За даними відкритих інформаційних джерел [8, 9, 196] сорт Одеський стійкий походить від гібридизаційної пари Бабяска нягре-Рупестрис дю Ло, проте, при порівняльному аналізі генотипів, сорт Одеський стійкий виявив однакові алелі в восьми досліджених локусах (табл. 3.6) із сортом Бабяска негре, та ні одного – із генотипом Рупестрис дю Ло.

Таблиця 3.6

Аналіз походження сорту Одеський стійкий

Сорти	Мікросателітні локуси								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
Рупестрис дю Ло	139:139	198:198	259:263	202:204	239:271	240:240	226:248	262:266	238:240
Бабяска нягре	145: 145	190 :204	251:255	178: 191	239: 241	252 :258	234: 240	260 :262	258: 274
Одеський стійкий (відтворений)	125:145	190 : -	245 : -	180:191	241 : -	252 : -	240:250	248:260	252:274

Примітка: виділеним шрифтом позначено спільні із сортом Одеський стійкий алелі.

Таким чином, можна говорити про відсутність родинних зв'язків між сортами Одеський стійкий та Рупестрис дю Ло.

Столовий сорт раннього строку дозрівання Декоративний був виведений селекціонерами у колишньому СРСР та активно залучався до гібридизаційного процесу в ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» [25].

За інформацією VIVC сорт не є дуже поширеним та наразі входить до колекцій сортів наукових установ України, США та Росії. В якості нащадків вказані лише сорти Ланка та Смена. Проте в колекції сортів винограду ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» існують ще два нащадки сорту Декоративний – це Огоньок таїровський та Етюд. Всі чотири сорти походять від однієї гібридизаційної пари – Декоративний × Датъє де Сен Вальє [25].

Мікросателітний аналіз сортів-нащадків та залучення алельних характеристик сорту Датъє де Сен Вальє, надали можливість більш повного, у порівнянні з попереднім сортом, відтворення генотипу сорту Декоративний (табл. 3.7) [25].

Таблиця 3.7

Відтворення генотипу сорту Декоративний за генотипами його нащадків

Сорти	Мікросателітні локуси								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
♀ Датъє де Сен Вальє	135:137	188:196	251:253	182:186	239:241	244:258	240:250	242:264	258:274
♂ Декоративний									
Ланка	131:135	190:196	245:253	176:186	239:239	244:258	240:250	250:264	242:274
Огоньок таїровський	137: 145	188: 190	245:251	178:186	239:239	258:258	240:250	262:264	242:258
Смена	137: 145	186:188	243:251	178:186	239:241	258:258	240:250	262:264	258:260
Етюд	135: 145	186:196	243:253	176:182	231:241	244:258	242:250	262:264	242:258
Декоративний (відтворений)	131:145	186:190	243:245	176:178	231:239	-:258	242:250	250:262	242:260

Примітка: у сортів-нащадків виділеним шрифтом відмічені алелі, успадковані від сорту Декоративний.

Так для восьми локусів (VVS2, ZAG62, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD28, ZAG79, VVMD32) був відтворений повний алельний склад; в локусі VVMD25 був визначений один алель.

Вважається [8, 9, 196], що сорт Декоративний є результатом схрещування сортів Сапераві та Сєверний. Реконструювання генотипу сорту Сєверний та залучення алельних профілів сорту Сапераві надало можливість проаналізувати ймовірне походження сорту Декоративний (табл. 3.8).

**Співставлення реконструйованого генотипу сорту Декоративний із
генотипами ймовірних батьківських сортів**

Сорт/локуси	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
♂Сапераві	135:147	190:202	241:241	186:189	227:243	242:244	240: 250	246: 262	246:252
♀ Северний (відтворений)	131:137	186:206	243:249	178:180	239: -	240: 258	240*:258	258: 262	240: 242
Декоративний (відтворений)	131:145	186:190	243:245	176:178	231:239	 -:258	242:250	250:26 2	242:260

Примітка: виділеним шрифтом відмічені однакові із сортом Декоративний алелі.

Порівняння алельних характеристик сортів Декоративний та Северний показало однакові алелі у восьми з дев'яти досліджених локусів.

У локусі VVMD28 реконструйовані генотипи сортів Декоративний (242:250) та Северний (240:258) виявили розбіжність розмірів в одному алелі у 2 п. н., яка може бути результатом інерції/делеції у сорту Декоративний або сорту Етюд, за яким відтворювався генотип сорту Декоративний [25].

Сорт Сапераві показав відсутність однакових алелів у шести з дев'яти локусів із сортом Декоративний, що дозволяє достеменно стверджувати про відсутність зв'язків на кшталт «нащадок-батьківський сорт» у сортів Декоративний та Сапераві.

Таким чином, шляхом відтворення генотипів сортів Северний, Декоративний та Одеський стійкий із використанням даних їхніх ймовірних батьків, продемонстровано можливість реконструкції генотипів мікросателітних локусів при фактичній відсутності або недоступності для аналізу сортів винограду [25].

Представлені в розділі 3 результати досліджень, детальніше висвітлені в публікаціях:

1. **Карастан О. М.** Реконструкція генотипів та аналіз походження сортів винограду Северний, Одеський стійкий та Декоративний. *Вісник Одеського*

національного університету. *Біологія*. 2015. Т. 20. Вип. 1. № 36. С. 82–91. DOI: 10.18524/2077-1746.2015.1(36).56673. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*

2. **Karastan O.**, Mulukina N., Papina O., Gerus L., Kovalyova I. Microsatellite characteristics of grapevine cultivars included to Ukrainian state register of plant varieties [Електронний ресурс]. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України*. 2015. № 3. Режим доступу: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&IMAGE_FILE_DOWNLOAD=1&Image_file_name=PDF/Nd_2015_3_15.pdf Заголовок з екрана. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*

3. **Карастан О. М.** Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С., Ковальова І. А. Оцінка генетичної подібності безнасінневих сортів винограду ампелографічної колекції Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» та їх ймовірних батьківських форм. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій*. 2015. Вип. 1(18). С. 60–64. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*

4. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С. Ідентифікація та походження безнасінневих сортів винограду колекції ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова». *Збірник наукових праць СГІ-НЦНС*. 2014. Вип. 24. № 64. С. 76–84. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*

5. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Папіна О. С. Мікросателітні профілі сортів та форм винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова». *Збірник наукових праць СГІ-НЦНС*. 2017. Вип. 29. № 69. С. 107–116. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
6. Мулюкіна Н. А, Ковалева І. А, Герус Л. В, **Карастан О. М**, Небиш А. А., Маргарян К. С., Мелян Г. Г., Арутюнян Р. М. Фенотипическая и генотипическая характеристика межвидовых сортов винограда Опаловый и Бурмунк для получения перспективных гибридных форм. *Биологический журнал Армении*. 2014. Вип. 66. №1. С. 103-107. *Особистий внесок – проведення мікросателітного аналізу матеріалу, формулювання висновків.*
6. Власов В. В., Мулюкіна Н. А., Джабурия Л. В. [и др.]. Ампелографический атлас сортов и форм винограда селекции Национального научного центра «Институт виноградарства и виноделия им. В. Е. Таирова». К. : Аграр. наука, 2014. 136 с. *Особистий внесок – експериментальні дослідження, аналіз результатів.*

РОЗДІЛ 4
МІКРОСАТЕЛІТНИЙ АНАЛІЗ РОДОВОДІВ СОРТІВ ТА ФОРМ
ВИНОГРАДУ АМПЕЛОГРАФІЧНОЇ КОЛЕКЦІЇ
ННЦ «ІВІВ імені В. Є. ТАЇРОВА»

4.1. Порівняльний аналіз алейних профілів сортів та форм винограду з генотипами їх ймовірних батьківських сортів

Проблема визначення походження сортів охоплює кілька важливих напрямків дослідження винограду.

Виявлення батьків для сортів з невідомим походженням та підтвердження батьківства сучасних сортів є необхідною умовою для порядкування матеріалу в колекціях винограду, забезпечення можливості повторення успішних гібридизаційних комбінацій та аналізу успадкування окремих ознак (рис. 4.1).

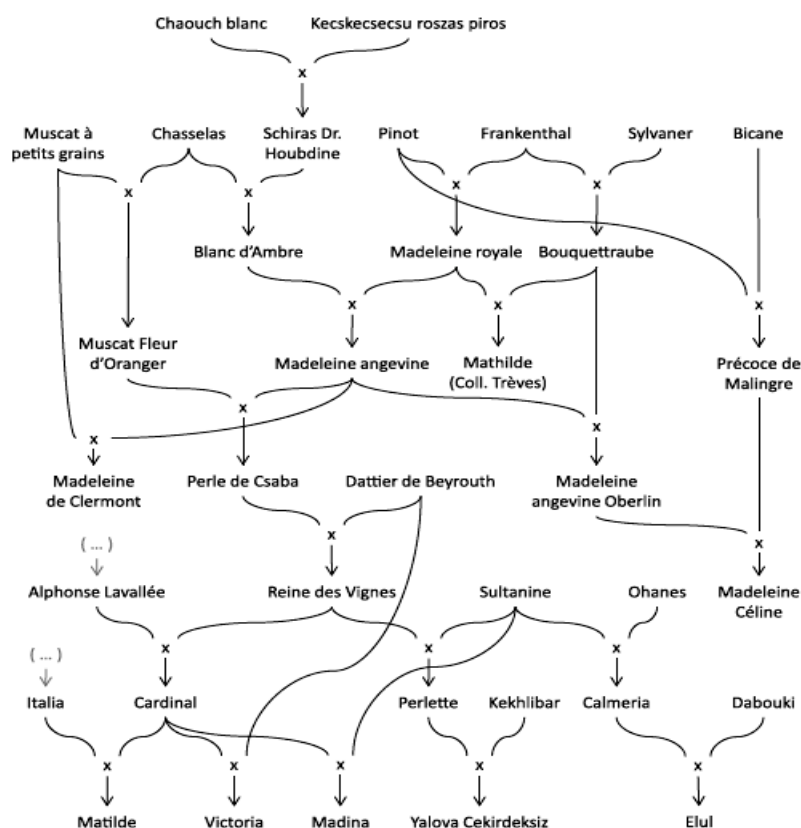


Рис. 4.1. Успадкування ознаки «ранні строки дозрівання» у сортів *Vitis vinifera* L. за даними [122]

Дослідження наявності прямих родинних зв'язків між сортами винограду, зазвичай, включає два етапи.

На першому порівнюються генотипи «нащадків» та «батьків» для верифікації наявності однакових алелів у кожному локусі.

Даний етап дозволяє відкинути комбінації «нащадки-батьки», алельні характеристики яких відрізняються між собою більш ніж у двох локусах. Невідповідність у двох локусах допускається через можливість помилок округлення первинних даних, виникнення нульових алелів або мутацій [49, 58, 67], в результаті чого нащадок демонструє однаковий алель у даному локусі лише з одним із батьківських сортів.

Для комбінацій «нащадки-батьки», мікросателітні профілі яких співпали, на другому етапі вираховується статистична ймовірність батьківства запропонованих сортів.

Ймовірність помилкового підтвердження родинних зв'язків за їх відсутності при тестуванні стандартним рядом інформативних маркерів SSR дуже незначна [186], тому в нашому дослідженні збіг алельних характеристик, тобто наявність однакових алелів у дев'яти досліджуваних локусах генотипів нащадків та їх ймовірних батьків, розглянуто як перший етап підтвердження батьківства, аналогічно до [49].

Для верифікації родоводу 80 досліджуваних зразків додатково до отриманих алельних характеристик, з урахуванням зсувів розміру алелів у досліджуваних локусах, були залучені з джерел з відкритим доступом алельні профілі можливих батьківських сортів (Додаток В).

Перший етап аналізу походження був проведений шляхом порівняння генотипів досліджуваних мікросателітних локусів нащадків та їх ймовірних батьківських сортів, як представлено в табл. 4.1.

Сорти Аліготе, Овідіопольський та Загрей, показали один спільний алель у кожному дослідженому локусі, що характерно для особин, які перебувають у прямих родинних зв'язках.

Таблиця 4.1.

Приклад верифікації походження досліджуваних сортів винограду

Алельні характеристики (п. н.) мікросателітних локусів									
Сорт	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD7	VVMD 5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
Загрей	127:139	196:206	241:249	176:180	231:239	242:252	234:250	246:258	240:274
♀Аліготе	135:139	196:198	241:241	176:186	231:243	242:242	234:242	246:248	242:274
♂ Овідіопольський	127:131	190:206	245:249	178:180	239:241	252:258	240:250	258:260	240:252
Роднічок	137:153	186:190	241:243	178:191	239:247	252:258	250:266	248:250	252:0
♀ Віллар блан	135:145	182:196	239:253	178:186	235:239	244:258	240:242	258:264	242:258
♂ Ілічівський	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітка: виділеним шрифтом відмічені алелі, успадковані від ймовірних батьків сортами Загрей та Роднічок; рискою позначено відсутні дані; 0 – нульовий алель.

При цьому спостерігали неспівпадіння у шести локусах алельних характеристик сортів Роднічок та Віллар блан, що вказує на неможливість зв'язків типу «нащадок-батьківський сорт».

За результатами порівняльного аналізу генотипів досліджуваної вибірки на першому етапі обидві батьківські форми були підтверджені в походженні 51 зразку (Додаток Г, схема 4.1), переважну більшість яких представляють сорти та форми селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова».

До цієї ж групи увійшли поширені західноєвропейські сорти (Аліготе, Альфонс Лавалле, Каберне Совіньйон, Королева виноградників, Марсельський чорний, Мерло, Мускат гамбурзький, Шардоне), родоводи яких аналізувалися окремими дослідниками та отримали додаткове підтвердження нашими результатами.

Запропонований [49] прийом використання прабатьківських генотипів в аналізі родоводу при відсутності батьківських був використаний на першому етапі дослідження родоводів 22 зразків у складі вибірки сортів та форм ампелографічної колекції інституту (схема 4.1, табл. 4.2-4.21).

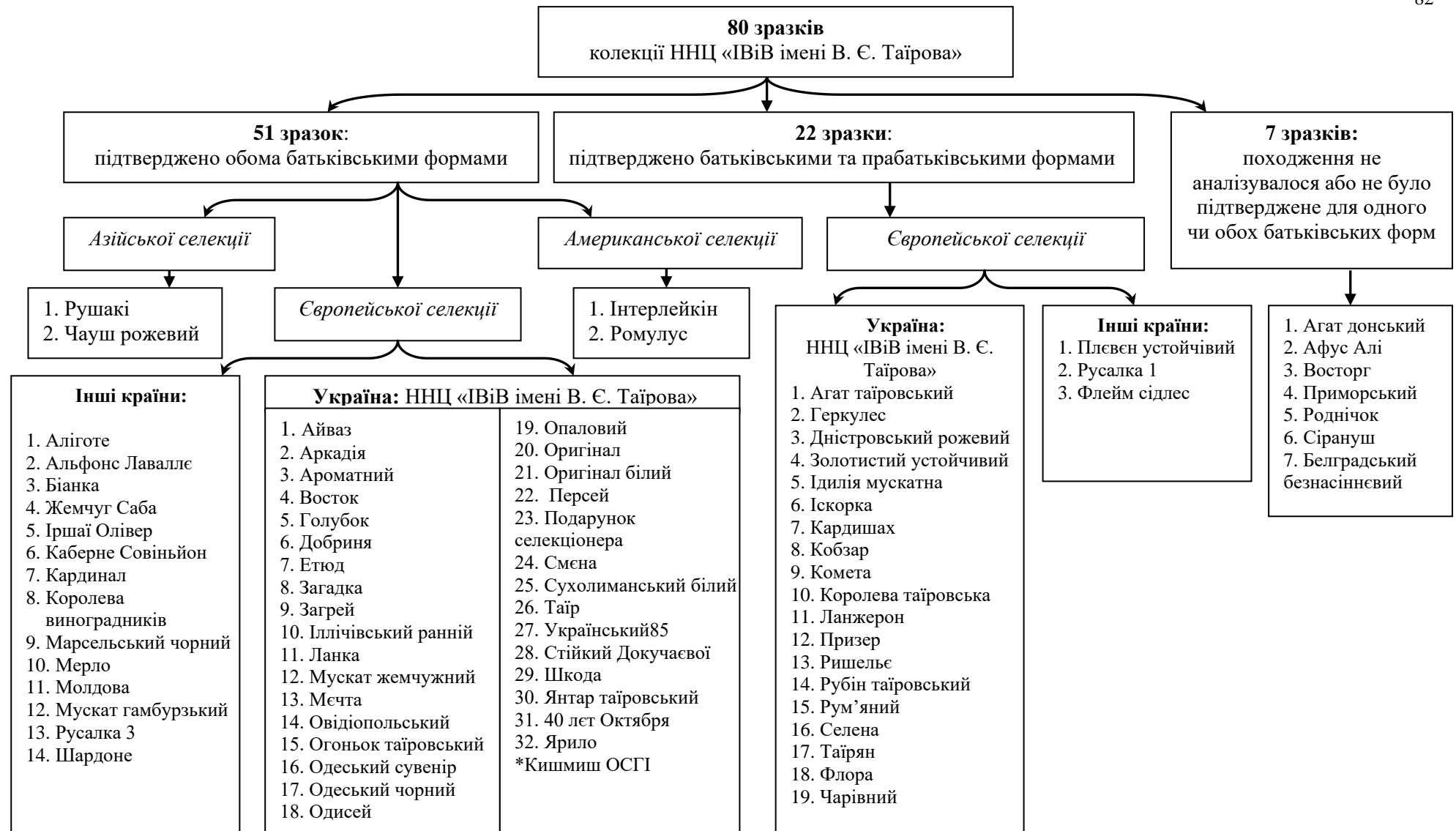


Рис 4.1. Схема узагальнення результатів батьківського аналізу за допомогою дев'яти мікросателітних маркерів 80 зразків винограду. * – Кишмиш ОСГІ був виведений у Одеському аграрному університеті (колишній ОСГІ).

Сорт Агат таїровський (табл. 4.2) був отриманий [9] в результаті гібридизації сортів Естафета та Пересвет, які на сьогоднішній день відсутні в насадженнях та ампелографічній колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова».

Таблиця 4.2

Алельні характеристики сорту Агат таїровський та його ймовірних батьківських та прабатьківських сортів

Сорт /форма	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Агат таїровський</i>	127:153	188:196	251:253	176:191	233:239	252:252	240:274	248:258	274:274
♀ Естафета:									
Одеський стійкий	127:145	190:-	245:-	180: 191	241:-	252:-	240:250	248:260	252:274
Varousset	135:147	190: 196	245: 253	178:186	229:235	244:258	240:258	246:264	258:274
♂ Пересвет:									
Каберне Совіньйон	141: 153	190:196	241:241	172:186	235:243	242: 252	240:242	250:250	242:242
Жемчуг Саба	135:157	188:206	249: 251	176:178	239:239	244:244	224: 274	258:262	274:274

Агат таїровський = Естафета × Пересвет

Примітка: в даній, а також усіх нижченаведених таблицях розділу - рискою позначено відсутні дані; виділенням шрифтом позначено алелі, успадковані сортом або формою, що аналізується в таблиці; генотипи сортів Северний, Декоративний та Одеський стійкий були отримані в результаті реконструювання з використанням генотипів їх нащадків.

Використані для аналізу педігрі генотипи прабатьківських сортів – Одеський стійкий, Varousset, Каберне Совіньйон та Жемчуг Саба – показали наявність усіх алелів, характерних генотипу для сорту Агат таїровський. Це дозволяє говорити про можливість прямих родинних зв'язків між сортами Агат таїровський, Естафета та Пересвет [17].

Сорт Дністровський рожевий був отриманий [9] при схрещуванні форми ВІРа П 35-20 із сортом Матяш Янош (табл. 4.3).

Порівняльний аналіз генотипів показав однакові алелі з ймовірним батьківським сортом Матяш Янош в усіх локусах, а з прабатьківським сортом Німранг – у семи з дев'яти досліджених локусах.

Таблиця 4.3

**Алельні характеристики сорту Дністровський рожевий та його
ймовірних батьківських та прабатьківських сортів**

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD2 7	VVMD 5	VVMD2 5	VVMD2 8	ZAG79	VVMD3 2
<i>Дністровський рожевий</i>	135:153	196:198	241:249	178:186	231:237	252:252	250:274	260:262	236:242
♀ ВІРа П 35-20:									
Німранг	145:153	190:198	245:249	182:191	231:237	252:258	240:250	254:260	252:274
<i>V. amurensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
♂ Матяш Янош	135:135	188:196	241:251	176:186	231:235	244:252	250:274	258:262	242:266
	Дністровський рожевий = ВІРа П 35-20 × Матяш Янош								

Генотип *V. amurensis* до порівняльного аналізу не залучався через відсутність інформації щодо представника цього виду, який брав участь у гібридизації з отриманням форми ВІРа П 35-20 [17].

Сорт Золотистий устійчивий, отриманий [9] в результаті вільного запилення форми ВІРа П 35-20 продемонстрував наявність однакових алелів у восьми з дев'яти локусах із прабатьківським сортом Німранг (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

**Алельні характеристики сорту Золотистий устійчивий та його
ймовірного прабатьківського сорту Німранг**

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Золотистий устійчивий</i>	137:153	198:206	249:249	178:186	231:237	252:258	224:250	258:260	236:274
♀ ВІРа П 35-20:									
Німранг	145:153	190:198	245:249	182:191	231:237	252:258	240:250	254:260	252:274
<i>V. amurensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
♂ вільне запилення									
	Золотистий устійчивий = ВІРа П 35-20 × ?								

Слід зазначити, що генотипи сортів Золотистий устійчивий та Дністровський рожевий мають однакові алелі у восьми з дев'яти досліджених локусах, що характерно для особин, які перебувають у близьких родинних зв'язках. Даний факт свідчить про можливість їх походження від форми ВІРа П 35-20 [17].

В дослідженні педігрі сортів-сібсів – Ідилія мускатна та Селена через відсутність генотипу ймовірного батьківського сорту Ритон, були використані прабатьківські – Віллар блан і Трамінер рожевий (табл. 4.5), генотипи яких показали наявність однакових алелів у всіх 9 локусах із обома ймовірними нащадками [17].

Генотип запропонованого [9] батьківського сорту Мускат одеський виявив однакові алелі у кожному із восьми досліджених локусів.

Таблиця 4.5

Алельні характеристики перспективних форм Ідилія мускатна й Селена та їх ймовірних батьківських та прабатьківських сортів

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Ідилія мускатна</i>	145:153	196:202	251:253	182:186	235:239	252:258	242:274	248:254	242:276
<i>Селена</i>	135:153	196:206	249:253	182:186	235:239	244:252	240:274	248:254	240:242
♀ Ритон:									
Віллар блан	135:145	182: 196	239: 253	178: 186	235:239	244:258	240:242	258:264	242:258
Трамінер рожевий	153: 153	190: 196	245:259	186: 186	235:241	252: 252	240:242	248:254	242:274
♂ Мускат одеський	135: 145	202:206	249:251	182:186	-	244:258	240: 274	254:264	240:276
	Ідилія мускатна = Ритон × Мускат одеський								
	Селена = Ритон × Мускат одеський								

Таким чином можна говорити про можливість походження сортів Ідилія мускатна та Селена від заявлених батьківських форм.

Порівняльний аналіз генотипу сорту раннього строку дозрівання – Кардишах із ймовірним батьківським сортом Кардинал, показав наявність однакових алелів у кожному з дев'яти досліджених локусів (табл. 4.6), що вказує на можливість зв'язків «нащадок – батьківський сорт».

Відсутність генотипу сорту Шасла северная обумовило використання генотипів його батьківських форм – сортів Северний та Шасла біла, які також виявили спільні алелі із сортом Кардишах в усіх локусах, крім VVMD25 [17].

Таблиця 4.6

**Алельні характеристики сорту Кардишах та його батьківських і
прабатьківських сортів**

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Кардишах</i>	135:137	188:196	241:251	176:182	229:239	252:258	240:274	254:258	242:254
♀ Кардинал	137:137	188:188	251:251	176:182	229:239	258:258	250:274	254:258	254:274
♂ Шасла северная:									
Северний	131:137	186:206	243:249	178:180	239: -	240:258	240:258	258:262	240:242
Шасла біла	135:145	196:206	241:249	182:186	231:239	244:258	224:274	254:262	242:242

Кардишах = Кардинал × Шасла северная

Дослідження родоводу сорту Кобзар виявило можливість прямих родинних зв'язків із сортом Катта курган та однакові алелі із генотипами розглянутих прабатьківських сортів – Дат'є де Сен Вальє та Декоративний (табл. 4.7) [17].

Таблиця 4.7

**Алельні характеристики сорту Кобзар та його ймовірних батьківських і
прабатьківських сортів**

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Кобзар</i>	137:157	190:196	245:253	178:191	239:243	248:258	242:0	260:262	258:258
♀ Катта Курган	153:157	190:190	245:255	176:191	243:243	248:252	240:244	250:260	258:274
♂ форма:									
Дат'є де Сен Вальє	135:137	188:196	251:253	182:186	239:241	244:258	240:250	242:264	258:274
Декоративний	131:145	186:190	243:245	176:178	231:239	-:258	242:250	250:262	242:260

Кобзар = Катта курган × форма (Дат'є де Сен Вальє × Декоративний)

За даними селекціонерів [9], родовід сорту Комета включає сорти Таїр та Буревестник. При порівнянні алельних характеристик сортів Комета та Таїр були виявлені однакові алелі у всіх дев'яти досліджених локусах (табл. 4.8).

Батьківський сорт Буревестник був отриманий в результаті запилення сорту Фердинанд де Лесепс (у пострадянському просторі відомий як сорт

«Ананасний») сумішшю пилку сортів Декоративний, Ілійський та Фіолетовий ранній.

Таблиця 4.8

Алельні характеристики сорту Комета та його ймовірних батьківських та прабатьківських сортів

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD2 7	VVMD5	VVMD2 5	VVMD2 8	ZAG79	VVMD3 2
<i>Комета</i>	137:139	190:204	237:249	176:182	231:239	244:258	250:250	254:262	252:274
♀ Таїр	135:139	190:196	249:253	176:182	239:239	244:244	240:250	242:254	258:274
♂ Буревістник: Фердинанд де Лесепс суміш пилку:	151:153	188:204	237:251	176:176	235:235	252:252	232:250	240:258	274:274
Декоративний	131:145	186:190	243:245	176:178	231:239	-:258	242:250	250:262	242:260
Ілійський	145:147	190:196	241:259	186:189	229:243	244:258	-	246:262	252:274
Фіолетовий ранній	131:151	186:188	243:251	176:178	235:239	240:258	-	258:262	242:274

Комета = Таїр × ?

Відсутність генотипу сорту Буревістник обумовило використання в батьківському аналізі генотипів його ймовірних батьківських сортів – Фердинанд де Лесепс, Декоративний, Ілійський, Фіолетовий ранній, мікросателітні профілі яких у восьми локусах виявили алелі, характерні для генотипу сорту Комета. При цьому виявлений ряд розбіжностей: у локусі VVS2 немає жодного алеля, характерного для генотипу сорту Комета; в локусі VVMD5 алель 231 п. н. входить лише до генотипу сорту Декоративний, але в той же час, у локусі VVMD32 алель 252 п. н. міг бути отриманий лише від сорту Ілійський. Зазначені факти можуть вказувати на хибність припущення щодо походження сорту Комета від сорту Буревістник, або сорту Буревістник від зазначених батьківських форм [17].

Таким чином, наразі сорт Комета може розглядатися як нащадок лише сорту Таїр.

Сорт Королева таїровська був отриманий внаслідок запилення сорту Одеський медовий (Мускат Оттонель × Королева виноградників) сумішшю пилку сортів Езендарі та Халілі білий (табл. 4.9) [9].

Алельні характеристики сорту Королева таїровська та його ймовірних батьківських та прабатьківських сортів

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Королева таїровська</i>	137:143	188:190	251:255	176:182	239:243	258:258	240:250	252:258	258:274
♀ Одеський медовий:									
Мускат Отгонель	135:145	190:196	241:245	176:186	229:231	252:258	264:274	258:262	242: 274
Королева Виноградникі	135:137	188:206	249:251	176:182	229:239	244:258	240:274	254:258	274:274
♂ Суміш пилку:									
Езендарі	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Халілі білий	127:137	196:198	237:251	176:182	237:243	242:244	250:264	254:260	252:264

Королева таїровська = Одеський медовий × ?

Дослідження родоводу показало можливість батьківства сорту Одеський медовий, батьківські сорти якого виявили в генотипах усі алелі, характерні для профілю сорту Королева таїровська.

Порівняльний аналіз також показав неможливість батьківства сорту Халілі білий через неспівпадіння алельних характеристик із сортом Королева таїровська у п'яти з дев'яти досліджуваних локусах. Проте відсутність мікросателітного профілю сорту Езендарі не дозволяє говорити про його батьківство.

Крім того, вказана у селекційних записах назва «Езендарі» за даними VIVC існує у декількох варіантах – «Езендарі» (синонім сорту Дизмар), «Езендарі білий» (синонім сорту Сатені білий) та «Езендарі білий» (синонім сорту Араксені білий), «Езендарі чорний» (синонім сорту Араксені чорний) які представляють окремі сорти. Наразі у VIVC опублікований лише генотип сортів Араксені білий та Араксені чорний, алелі яких у більшості не співпадають із генотипом сорту Королева таїровська. Таким чином, питання щодо другої батьківської форми сорту Королева таїровська залишається відкритим [17].

Аналіз походження сорту Плевен устійчивий (синонім Августін) (Плевен × Віллар блан [9, 196]), був проведений з використанням алельних характеристик сорту Віллар блан та батьків сорту Плевен – сортів Італія та Янтар (табл. 4.10).

Таблиця 4.10

Алельні характеристики сорту Плевен устійчивий та його батьківських і прабатьківських сортів

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
Плевен устійчивий	135:145	182:188	239:251	186:191	239:239	244:258	240:250	260:264	258:274
♀ Плевен:									
Італія	135:151	194:206	245:249	176: 191	235:241	242:252	240: 250	258: 260	254: 274
Янтар	135:137	188:188	251: 251	176:182	235: 239	244:258	264:272	-	260: 274
♂ Віллар блан	135: 145	182:196	239:253	178: 186	235: 239	244:258	240:242	258: 264	242: 258
Плевен устійчивий = Плевен × Віллар блан									

Наявність однакових алелів у всіх досліджуваних локусах було виявлено у сортів Плевен устійчивий та Віллар блан. Алелі, представлені в генотипі сорту Плевен устійчивий також були виявлені у складі генотипів сортів Італія та Янтар [17].

Форма Призер була отримана в результаті гібридизації сортів Естафета і Трамінер рожевий [9]. Порівняльний аналіз генотипів батьківського та прабатьківських сортів показав можливість прямих родинних зв'язків між формою Призер та сортом Трамінер рожевий (табл. 4.11).

Відсутність генотипу сорту Естафета обумовила використання його батьківських сортів, в локусах яких були виявлені всі алелі, характерні генотипу форми Призер.

Таблиця 4.11

Алельні характеристики форми Призер та її ймовірних батьківських і прабатьківських сортів

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
Призер	147:153	196:196	253:259	186:191	235:241	252:258	240:242	248:248	258:274
♀ Естафета:									
Одеський стійкий	127:145	190:-	245:-	180: 191	241:-	252:-	240:250	248:260	252:274
Varousset	135: 147	190: 196	245: 253	178:186	229: 235	244: 258	240:258	246:264	258:274
♂ Трамінер рожевий	153: 153	190: 196	245: 259	186:186	235:241	252:252	240:242	248:254	242: 274
Призер = Естафета × Трамінер рожевий									

При аналізі походження форми Ришельє (Страшенській × Кодрянк) сорт Кодрянк було підтверджено в якості батьківського. Відсутність даних щодо алельного складу сорту Страшенській (Катта курган × Додреліабі) × Мускат де Сен Вальє) обумовило використання генотипів його батьків та прабатьків, які, в цілому, показали наявність у складі генотипів усіх алелів, що характерні для мікросателітного профілю форми Ришельє (табл. 4.12) [17].

Таблиця 4.12

Алельні характеристики форми Ришельє та його прабатьківських сортів

	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Ришельє</i>	137:137	188:196	251:253	186:191	239:243	252:258	242:250	258:260	258:274
♀ Страшенській									
Катта курган	153:157	190:190	245:255	176:191	243: 243	248: 252	240:244	250: 260	258: 274
Додреліабі	135: 137	206:206	249:257	176:182	229: 239	242:258	234: 250	254:254	254: 274
Мускат де Сен Вальє	137:151	188:190	241: 251	176: 186	235:241	252: 252	252:252	258:262	258: 274
♂ Кодрянк	137: 137	188: 196	251: 253	182: 191	239:243	258: 258	242:250	258:258	254: 258

Ришельє = Страшенській × Кодрянк

Сорт технічного напрямку використання Рубін таїровський був виведений при схрещуванні сортів Одеський стійкий та Varousset (Зейбель 4668 × Subereux) [9].

Мікросателітні профілі сортів Рубін таїровський, Одеський стійкий та Varousset показали наявність однакових алелів у кожному з дев'яти досліджених локусів (табл. 4.13), що характерно для особин, які перебувають у зв'язках «нащадок-батьківський сорт».

Таблиця 4.13

Алельні характеристики сорту Рубін таїровський та його батьківських прабатьківських сортів

	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Рубін таїровський</i>	127:147	190:190	245:245	186:191	235:241	252:258	240:240	248:264	258:274
♀ Одеський стійкий	127:145	190:-	245:-	180:191	241:-	252:-	240:250	248:260	252:274
♂ Varousset:	135: 147	190:196	245:253	178: 186	229: 235	244: 258	240:258	246: 264	258:274

Рубін таїровський = Одеський стійкий × Varousset

Таким чином, можна говорити про можливість походження сорту Рубін таїровський від вищеназваних батьківських форм.

Походження сортів-сібсів Рум'яний та Таїрян зазначено [9] від форми 45-35-31 (Оригінал × Кобзар) та сорту Восторг.

Отриманий у нашому дослідженні мікросателітний профіль зразку Восторг був перевірений у каталозі VIVC на відповідність сорту Восторг та порівняний із генотипами його ймовірних сортів-нащадків.

У кожному з дев'яти досліджених локусів у сортів Восторг, Рум'яний і Таїрян було виявлено однакові алелі (табл. 4.14).

Таблиця 4.14

Алельні характеристики сортів-сібсів Рум'яний і Таїрян та їх ймовірних батьківських і прабатьківських сортів

	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Рум'яний</i>	145:151	190:196	241:251	176:182	239:243	252:258	240:264	242:254	260:274
<i>Таїрян</i>	137:137	190:196	241:251	176:182	239:243	258:258	240:264	242:254	242:274
♀ форма 45-35-31:									
Оригінал	135:145	190:196	251:253	176:182	239:241	244:258	240:264	242:252	274:274
Кобзар	137:157	190:196	245:253	178:191	239:243	248:258	242:0	260:262	258:258
♂ Восторг	137:151	196:198	241:249	176:182	229:243	252:258	250:264	254:258	242:260
	Рум'яний = (Оригінал × Кобзар) × Восторг								
	Таїрян = (Оригінал × Кобзар) × Восторг								

Аналогічно, однакові алелі були виявлені й у складі генотипів прабатьківських сортів – Оригінал та Кобзар, що свідчить про можливість отримання сортів Рум'яний та Таїрян від заявлених батьківських форм [17].

Безнасіньвий сорт Русалка 1 має складне походження, проте порівняльний аналіз генотипів показав можливість прямих родинних зв'язків з донором пилку – безнасіньвим сортом Недельчев Магватлана, та наявність однакових алелів із батьківськими сортами (Чауш білий та Італія) прабатьківської форми, що брала участь у гібридизації (табл. 4.15) [17].

Таблиця 4.15

Алельні характеристики сорту Русалка 1 та його батьківських і прабатьківських сортів

	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Русалка 1</i>	135:157	202:206	249:251	176:182	237:239	242:244	250:264	246:258	252:274
♀ форма:									
форма:	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Чауш білий	137:153	190:206	249:251	176:180	231:241	252:258	264:264	252:254	254:274
Італія	135:151	194:206	245:249	176:191	235:241	242:252	240:250	258:260	254:274
♂ Недельчев Магватлана	135:147	194:202	249:251	176:178	237:241	242:242	250:250	-	252:274
Русалка 1 = форма (форма × Чауш білий × Італія) × Недельчев Магватлана									

В дослідженні родоводу безнасінного сорту Flame seedless, що має складне походження, були використані генотипи лише прабатьківських сортів (табл. 4.16).

Таблиця 4.16

Алельні характеристики сорту Flame seedless та його ймовірних прабатьківських сортів

	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Flame seedless</i>	135:153	190:190	241:255	178:182	237:239	244:252	250:250	250:254	252:274
Султаніна	147:153	190:190	241:255	178:191	237:237	242:252	224:250	250:262	252:252
Кардинал	137:137	188:188	251:251	176:182	229:239	258:258	250:272	254:258	254:274
Мускат александрійський	135:151	188:206	251:253	176:191	231:235	252:252	250:274	242:262	266:274
Молінера	139:147	190:206	245:251	178:191	237:241	244:258	240:264	250:260	254:274
Тіфафіхі ахмер	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flame seedless = (Кардинал × Султаніна) × ((Молінера × Тіфафіхі Ахмер) × (Мускат александрійський × Султаніна))									

Порівняння мікросателітних характеристик показали наявність у прабатьківських форм усіх алелів, що складають алельну комбінацію генотипу сорту Flame seedless

Сорт столового напрямку використання Флора був отриманий [9] в результаті гібридизації форми (Мускат де Сен Вальє × суміш пилку Хусайне білий та Мускат гамбурзький) × Королева таїровська.

Алельні профілі сортів Флора та Королева таїровська показали наявність однакового алеля у кожному дослідженому локусі (табл. 4.17).

Таблиця 4.17

Алельні характеристики сорту Флора та його батьківських і прабатьківських сортів

	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
Флора	137:143	190:190	245:255	182:191	239:241	252:258	250:250	252:252	274:274
♀ форма:									
Мускат де Сен Вальє	137:151	188:190	241:251	176:186	235:241	252:252	252:252	258:262	258:274
суміш пилку:									
Хусайне білий	149:157	190:198	245:245	191:191	227:237	248:258	250:264	252:254	252:274
Мускат гамбурзький	137:151	188:194	249:251	176:182	235:241	252:258	242:250	242:258	274:274
♂ Королева таїровська	137:143	188:190	251:255	176:182	239:243	258:258	240:250	252:258	258:274
	(Мускат де Сен Вальє × Хусайне білий) × Королева таїровська								

При порівняльному аналізі мікросателітних профілів сорту Флора та її прабатьківського сорту Мускат де Сен Вальє було виявлено однакові алелі у чотирьох з восьми досліджених локусах. При цьому, з суміші пилку джерелом батьківського компоненту у геномі батьківської форми міг бути сорт Хусайне білий, оскільки успадковані сортом Флора алелі 245 п. н., 191 п. н. та 252 п. н., відповідно, в локусах VVMD27, VVMD5, ZAG79, присутні лише в генотипі сорту Хусайне білий [17].

Таким чином, можна говорити про велику ймовірність походження сорту Флора від гібридизаційної комбінації (Мускат де Сен Вальє × Хусайне білий) × Королева таїровська.

Родовід форми Чарівний (Рубін дністровський × Пересвет) аналізувався лише за прабатьківськими формами сорту Пересвет – сортами Каберне Совіньйон та Жемчуг Саба, генотипи яких виявили однакові алелі із генотипом форми Чарівний (табл. 4.18).

Таблиця 4.18

Алельні характеристики форми Чарівний та її прабатьківських сортів

	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
Чарівний	145:153	188:190	245:251	176:191	237:239	252:258	250:274	258:268	242:250
♀ Рубін дністровський	-	-	-	-	-	-	-	-	-
♂ Пересвет:									
Каберне Совіньйон	141:153	190:196	241:241	172:186	235:243	242:252	240:242	250:250	242:242
Жемчуг Саба	135:157	188:206	249:251	176:178	239:239	244:244	224:274	258:262	274:274
	Чарівний = ? × Пересвет								

Цікаво відмітити, що алельний склад генотипів обох нащадків сорту Пересвет – форм Чарівний та Агат таїровський, показали наявність однакових алелів у кожному з дев'яти досліджуваних локусів, що може слугувати додатковим непрямим підтвердженням походження зазначених форм від сорту Пересвет [17].

В подальшому батьківство окремих сортів (Естафета, Пересвет, Ритон, Мускат одеський та ін.) буде додатково проаналізовано при отриманні алельних характеристик їх генотипів.

Батьківство селекційних форм, наразі відсутніх у виноградних насадженнях, буде прийняте за результатами проведеного непрямого аналізу з використанням їх батьківських, та, прабатьківських сортів.

В родоводі чотирьох зразків (Геркулес, Приморський, Белградський безнасіневий, Роднічок) один з ймовірних батьків був відхилений через неспівпадіння алельних профілів (табл. 4.19).

Для сорту Геркулес в якості батьків зазначені [9] сорти Матяш Янош та Хаттал баар. Аналіз їх мікросателітних профілів показав наявність спільного алеля у кожному локусі лише у сортів Геркулес та Матяш Янош (табл. 4.19). Генотип зразку «Хаттал баар» виявив розбіжність із сортом Геркулес у семи з дев'яти локусах. З одного боку, даний факт може свідчити про неможливість батьківства сорту Хаттал баар. Проте, пропонуючи генотип зразку «Хаттал баар», VIVC посилається всього лише на два джерела – Болгарську базу даних [63] відкритого доступу в мережі Інтернет та Анапську зональну

дослідну станцію виноградарства та виноробства (Росія), як установу (рис. 4.2.).

Home / Passport data / Microsatellite data of varieties

Microsatellite data of varieties EXCEL Document

Prime name: **KHATAL BAAR N**
Variety number VIVC: **6166**

Showing 1-2 of 2 items.

Source of SSR-marker data				
Show rows: 100				
Source code	Bibliography, Web microsatellite databases and grapevine collections	Page	Name in bibliography, database or DEU098	Remarks to the name in bibliography, database or DEU098
40667	ANONYMOUS Bulgarian Vitis Database AgroBioInstitute, Sofia, Bulgaria (http://www.bulvitis-db.com/) 2016		<u>KHATAL BAAR</u>	
RUS 02	Anapskaia Zonalnaya Opytnaya Stantsiya Vinogradarstva i Vinodelya SKZNIISIV (AZOS) 353410 G. Anapa RUSSIAN FEDERATION		<u>KHATAL BAAR</u>	true name

Рис. 4.2. Джерела мікросателітних характеристик сорту Хаттал баар згідно VIVC.

При цьому, генотип сорту Хаттал баар фактично надає лише один ресурс – Болгарська база даних (рис. 4.3), що не є достатнім для визнання відповідності даного генотипу дійсно сорту Хаттал баар та достеменного ствердження неможливості походження від нього сорту Геркулес.

← → ↻ www.bulvitis-db.com/cgi-bin/webdata_BVD.pl?fid=1484430955.10999&query=Genotype%3DKhatal%2B%26VVS2%3D

The allele sizes of two reference grape cultivars, Cabernet Sauvignon and Merlot are provided for calibration

Reference genotypes	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VrZAG62	VrZAG79
CABERNET SAUVIGNON	141 153	235 243	241 241	242 252	172 186	240 242	242 242	190 196	249 249
MERLOT	141 153	229 239	241 249	242 252	186 188	234 240	242 242	196 196	261 261

Genotype	<u>KHATAL BAAR</u>
VVS2	145 147
VVMD5	243 243
VVMD7	241 247
VVMD25	244 258
VVMD27	186 189
VVMD28	242 256
VVMD32	254 264
VrZAG62	204 204
VrZAG79	241 245

[Back to Search Results](#) [Search Again](#) [Return to Homepage](#)

Рис. 4.3. Мікросателітний профіль сорту Хаттал баар, представлений у Болгарській базі даних.

Згідно селекційних записів [9], Приморський отриманий внаслідок гібридизації сортів Альфонс Лавалле та Італія рання. Його генотип продемонстрував один спільний алель у кожному дослідженому локусі лише із сортом Альфонс Лавалле (табл. 4.19) [23].

Неспівпадіння профілів у 4 з 9 досліджених локусах форми Приморський та сорту Італія, обумовило пошук батьківського сорту, в першу чергу, серед зразків, що входять у склад досліджуваної вибірки. Сорт Афуз Алі показав наявність однакових алелів із формою Приморський у восьми з дев'яти локусах. Неспівпадіння у 2 п. н. в локусі ZAG79 є припустимим, тому сорт Афуз Алі на першому етапі дослідження було розглянуто як батьківський для форми Приморський [23].

Таблиця 4.19

Мікросателітні профілі зразків винограду, для яких не було підтверджено запропоноване походження

Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)									
Сорт (форма)	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Геркулес</i>	135:153	188:190	245:251	186:191	227:231	244:252	250:274	260:262	266:274
♀ Матяш Янош	135:135	188:196	241:251	176:186	231:235	244:252	250:274	258:262	242:266
♂ Хаттал баар	145:147	204:204	241:247	186:189	243:243	244:258	242:254	242:246	254:264
Геркулес = Матяш Янош × ?									
Приморський	135:135	188:206	251:257	182:182	229:229	242:252	250:264	252:254	274:274
♀ Альфонс Лавалле	135:137	188:206	251:257	182:182	229:241	242:258	250:250	242:254	254:274
♂ Італія	135:151	194: 206	245:249	176:191	235:241	242:252	240:250	258:260	254:274
♂ Афуз Алі*	135:137	188:190	241: 251	182:182	229:235	252:258	240:264	246:254	260:274
Приморський = Альфонс Лавалле × Афуз Алі									
<i>Белградський безнасінневий</i>	135:137	190:204	251:251	178:182	229:237	244:258	224:240	250:254	252:274
♀ ?									
♂ Дим'ят	145:145	190:206	241: 251	176: 178	243:249	252: 258	240:252	240:262	252:266
♂ Мечта*	137:153	198: 204	251: 251	176: 178	237:249	252: 258	240:252	250:254	252:274
Белградський безнасінневий = ? × Мечта									
<i>Роднічок</i>	137:153	186:190	241:243	178:191	239:247	252:258	250:266	248:250	252:252
♀ Віллар блан	135:145	182:196	239:253	178:186	235: 239	244:258	240:242	258:264	242:258
♂ Іллічівський:	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Роднічок = ? × ?									
<i>Сірануш</i>	153:153	190:204	251:251	176:191	231:237	252:252	252:264	250:252	252:274
♀ Катта Курган	153:157	190:190	245:255	176:191	243:243	248: 252	240:244	250:260	258:274
♂ Султаніна	147: 153	190:190	241:258	178:191	237:237	242:252	224:250	250:262	252:252
♀ Чауш білий*	137:153	190:206	249:251	176:180	231:241	252:258	264:264	252:254	254:274
♂ Кишмиш чорний*	153:157	190:204	251:255	178:191	237:237	248:252	224:252	250:254	252:252
«Сірануш» = Чауш білий × Кишмиш чорний									

Примітка: зірочкою позначено сорти, які можуть бути батьківськими для досліджуваних зразків винограду.

Пряме порівняння мікросателітних профілів сортів Белградський безнасіневий та Дим'ят показав відсутність спільних алелів у трьох (VVS2, VVMD5, ZAG79) з дев'яти досліджених локусах, що дозволяє говорити про відсутність родинних зв'язків між зазначеними сортами.

Разом із тим, Белградський безнасіневий виявив спільні алелі у кожному з дев'яти досліджених локусів із сортом української селекції Мечта [22].

Відповідно до європейського каталогу сортів VIVC, рік гібридизації батьківських форм сорту Белградський безнасіневий – 1972, а сорту Мечта – 1959, що свідчить про можливість походження сорту Белградський безнасіневий від сорту Мечта. В подальшому для підтвердження або спростування наявності прямих родинних зв'язків цих сортів будуть отримані та проаналізовані алельні характеристики за розширеною панеллю мікросателітних локусів (загалом до 30 маркерів) [22].

Сорт технічного напрямку використання – Роднічок, був виведений [9] при схрещуванні сортів Віллар блан та Іллічівський.

Порівняльний аналіз генотипів зразків Роднічок та Віллар блан виявив неспівпадіння у шести з дев'яти досліджених локусах. Даний факт дозволяє достеменно стверджувати про відсутність прямих родинних зв'язків між зазначеними сортами [23].

Безнасіневий сорт Сірануш був отриманий [130] в результаті схрещування сортів Катта курган та Кишмиш рожевий.

Окремими дослідниками [58, 75] сорт Кишмиш рожевий розглядався як клон – брунькова мутація за кольором ягоди – сорту Султаніна, оскільки була показана ідентичність генотипів їх мікросателітних локусів.

Проте, пізніше турецькими дослідниками [182] був опублікований під назвою «Pembe sekerdeksiz» (тур. рожевий безнасіневий), що є однією із синонімічних назв сорту Кишмиш рожевий, генотип, який показав у кожному локусі наявність однакових алелів із генотипом сорту Султаніна.

Даний факт міг означати, що Кишмиш рожевий є індивідуальним відмінним від сорту Султаніна сортом, або під назвою «Pembe sekerdeksiz» наданий генотип одного з нащадків сорту Султаніна або «Pembe sekerdeksiz» та Султаніна є нащадками щонайменш одного батьківського сорту.

Визначений дослідниками [118] генотип сорту Кишмиш молдавський, який також зазначається [196] нащадком сорту Кишмиш рожевий, при порівнянні не показав однакові алелі у кожному локусі із сортом «Pembe sekerdeksiz», проте мав спільний алель у кожному дослідженому локусі із сортом Султаніна.

Пізніше у VIVC було опубліковано генотип зразку Кишмиш рожевий в якості синоніма сорту Султаніна.

Таким чином, сорт Кишмиш рожевий не є індивідуальним сортом, що відповідає ствердженню вищезазначених дослідників, а турецький сорт «Pembe sekerdeksiz», скоріш за все, являється одним із нащадків сорту Султаніна.

В аналізі походження сорту Сірануш були використані алельні характеристики сортів Катта курган та Султаніна. Проте, відповідних прямих родинних зв'язків виявлено не було: генотип сорту Сірануш показав відмінності із генотипом сорту Катта курган у трьох досліджених локусах, а з сортом Султаніна – у двох.

При цьому генотип сорту Сірануш демонстрував значну подібність до генотипу сорту Кишмиш чорний – було виявлено один однаковий алель у кожному з дев'яти досліджених локусів.

За інформацією європейського каталогу сортів VIVC Кишмиш чорний використовувався в гібридизаційних комбінаціях із сортами Німранг, Катта курган, Чауш білий, Онтаріо, Победа та Мадлен Анжеві.

Порівняльний аналіз їх генотипів із сортом Сірануш показав можливе батьківство насінневого саме сорту Чауш білий, оскільки було виявлено 50 % однакових алелів. Таким чином зразок із невірним найменуванням «Сірануш» може бути нащадком сортів Чауш білий та Кишмиш чорний.

У каталозі сортів VIVC розміщена інформація лише щодо трьох нащадків даної гібридизаційної комбінації – сортів Ранній ВіРа, Безсемянний Мельніка та Кібрайський.

Сорт Ранній ВіРа – насіннєвий.

Опубліковані [106, 160] мікросателітні профілі сортів Кібрайський та Безсемянний Мельніка, суттєво відрізняються від профілю зразку «Сірануш». Можливо, в подальшому розширення інформації у VIVC дозволить виявити сорт, якому відповідає генотип зразку «Сірануш».

Походження трьох сортів вибірки – Агат донський, Восторг, Афуз Алі не аналізувалося через відсутність інформації щодо складу мікросателітних локусів батьківських та прабатьківських сортів.

4.2. Визначення за допомогою мікросателітних профілів батьківського компоненту в геномі сортів та форм, отриманих в результаті запилення сумішшю пилку

Змішане запилення (англ. – Mixed Pollination) як один з селекційних прийомів, передбачає запилення материнської рослини сумішшю пилку двох або більше батьківських рослин, з метою подолання несхрещуваності між деякими видами та сортами рослин.

На початку минулого століття даний прийом був запропонований І. В. Мічурінін [30] на основі припущення, що ефірні масла та деякі інші речовини чужорідного пилку здатні подразнювати рильце маточки квітки рослини, і, таким чином, стимулювати сприйняття цього пилку.

В минулі десятиріччя в ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» шляхом змішаного запилення були отримані деякі цінні сорти та форми винограду: Кишмиш таїровський, Український 85, Вересень, Опаловий, Шкода, Іскорка, Ланжерон, Королева таїровська, Голубок та ін. [23].

Відсутність точної інформації щодо чоловічого компоненту у складі їх геному може обумовити складнощі при плануванні ефективних схрещувань та запобігання близькоспорідненої гібридизації за участі цих сортів та форм.

Для рослин, отриманих в результаті вільного запилення або запилення сумішшю пилку батьківський компонент може бути виявлений шляхом аналізу генотипів з пулу кандидатів для пошуку співпадіння алелів у локусах. Такий підхід називається «строгий виняток» (англ. Strict Exclusion) та часто використовується для аналізу результатів запилення [47] при штучній гібридизації. При цьому слід брати до уваги, що нульові алелі, помилки генотипування та виникнення мутацій можуть призводити до хибних виключень батьківського компоненту [110, 171].

Для столового сорту Український 85 вказано походження [166] в результаті запилення материнського сорту Чауш рожевий сумішшю пилку угорських сортів винограду Жемчуг Саба та Іршаї Олівер.

Отримані в ході нашого дослідження алельні профілі ймовірних батьківських сортів підтвердили припущення щодо батьківства сортів Чауш рожевий та Іршаї Олівер [23] (табл. 4.20).

Так, сорт Іршаї Олівер показав спільні алелі у кожному дослідженому локусі із сортом Український 85, на відміну від сорту Жемчуг Саба, який продемонстрував розбіжність алелів у локусі ZAG79.

Зазвичай, такого роду розбіжність не береться до уваги через можливість виникнення мутації у високоваріабельних мікросателітів. Проте, сорти Іршаї Олівер (Жемчуг Саба × Пожоні білий) та Жемчуг Саба мають прямі родинні зв'язки, що обумовило суттєву генетичну подібність між ними, тому виявлена розбіжність була прийнята нами для припущення батьківства саме сорту Іршаї Олівер [23].

Перспективна форма змішаного (столово-технічного) напрямку використання Шкода була виведена шляхом запилення сорту Рубін таїровський сумішшю пилку сортів Мускат жемчужний та Жемчуг Саба.

Таблиця 4.20

Встановлення батьківської форми для зразків винограду змішаного та столового напрямку використання

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
Український 85	145:157	198:206	251:251	176:178	239:249	244:252	264:274	252:254	252:274
♀ Чауш рожевий	137: 145	190: 198	251: 251	176: 176	241: 249	252 :258	240: 264	252 :254	266: 274
♂ Іршаї Олівер	137: 157	206: 206	249: 251	176: 178	229: 239	244 :258	224: 274	254 :258	252 :274
♂ Жемчуг Саба	135: 157	188: 206	249: 251	176: 178	239: 239	244 :244	224: 274	258:262	274:274
Український 85 = Чауш рожевий × Іршаї Олівер									
Шкода	137:147	188:190	245:251	176:186	235:241	258:258	240:264	258:264	274:274
♀ Рубін таїровський	127: 147	190: 190	245: 245	186 :191	235 :241	252: 258	240 :240	248: 264	258: 274
♂ Мускат жемчужний	135: 137	188 :190	249: 251	176 :176	239: 241	244 : 258	224: 264	250: 258	266: 274
♂ Жемчуг Саба	135:157	188 :206	249: 251	176 :178	239:239	244:244	224:274	258 :262	274 :274
Шкода = Рубін таїровський × Мускат жемчужний									
Опаловий	135:147	188:190	245:251	176:191	241:241	244:258	240:264	248:258	258:274
♀ Рубін таїровський	127: 147	190 :190	245 :245	186 : 191	235 : 241	252: 258	240 :240	248 :264	258:274
♂ Мускат жемчужний	135 :137	188 :190	249: 251	176 :176	239: 241	244 :258	224: 264	250: 258	266: 274
♂ Жемчуг Саба	135:157	188 :206	249: 251	176 :178	239:239	244 :244	224:274	258 :262	274 :274
Опаловий = Рубін таїровський × Мускат жемчужний									
Ланжерон	145:157	190:196	241:253	176:178	243:243	248:252	242:242	254:262	258:266
♀ 37-19-22	-	-	-	-	-	-	-	-	-
♂ Восторг	137:151	196 :198	241 :249	176 :182	229: 243	252 :258	250:264	254 :258	242:260
♂ Агат донський	137:153	204:206	249:251	178 :191	237: 243	252 :272	224:248	254 :256	244:252
♂ Кобзар	137: 157	190 : 196	245: 253	178 :191	239: 243	248 :258	242 :0	260: 262	258 :258
♂ Аркадія	137:137	188: 190	245:251	176 :191	239:239	258:0	242:274	258:258	254: 258
♂ Кодрянка	137:137	188: 196	251: 253	182:191	239: 243	258:258	242 :250	258:258	254: 258
Ланжерон = 37-19-22 × Кобзар									

Примітка: виділеним шрифтом відмічені однакові алелі у досліджуваних нащадків та їх ймовірних батьківських сортів.

Порівняння алельного складу генотипів показало, що форма Шкода має спільні алелі в усіх досліджених локусах із сортами Рубін таїровський та Мускат жемчужний. Сорт Жемчуг Саба виявив розбіжності в чотирьох з дев'яти досліджених локусів, тому він не може перебувати в прямих родинних зв'язках із формою Шкода [14].

Форма Опаловий походить зі спільної з формою Шкода гібридної комбінації. Порівняльний аналіз алельних характеристик показав аналогічне

походження форми Опаловий від сортів Рубін таїровський та Мускат жемчужний [14].

Гібридна форма Ланжерон була виведена [9] в результаті запилення форми 37-19-22 сумішшю пилку п'яти сортів винограду – Агат донський, Аркадія, Восторг, Кодрянка та Кобзар.

В ході дослідження нами були отримані алельні характеристики сортів-донорів пилку (окрім сорту Кодрянка, склад генотипу якого був взятий з VIVC). Материнська форма на насадженнях була відсутня, тому не аналізувалася.

Серед ймовірних батьківських сортів лише сорт Кобзар показав однакові із формою Ланжерон алелі в усіх досліджених локусах. Інші ймовірні батьки виявили розбіжність у трьох (сорт Восторг), чотирьох (Кодрянка) та п'яти локусах (сорт Агат донський та Аркадія) [15].

Сорт технічного напрямку використання Голубок був отриманий в результаті запилення сорту Северний сумішшю пилку сортів 40 лет Октября, Одеський ранній та форми 1-17-54.

В аналізі походження сорту Голубок були використані мікросателітний профіль сорту 40 лет Октября, отриманий в нашому дослідженні, та генотип сорту Одеський ранній, визначений авторами [106] (табл. 4.21). Форма 1-17-54 на виноградних насадженнях не була збережена, тому в аналізі педігрі були використані її батьківські сорти – Алікант Буше та Каберне Совіньйон, як рекомендовано [72]. Генотип материнського сорту Северний був отриманий шляхом реконструкції з використанням генотипів його нащадків, як описано вище. Порівняльний аналіз мікросателітних профілів показав наявність спільного алеля у кожному з досліджених локусів (табл. 4.21) між сортами Голубок, 40 лет Октября та Северний [23].

Для аналізу походження сорту Іскорка, генотипи донорів пилку та одного з батьків форми 17-21-68 – сорту Піно чорний, були залучені з VIVC. Мікросателітний профіль сорту Іршаї Олівер був отриманий в рамках нашого дослідження.

Таблиця 4.21

**Визначення батьківського компоненту у геномі технічних сортів
винограду**

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Голубок</i>	131:135	186:190	241:243	178:180	239:249	240:242	250:258	258:262	242:274
♀ Северний	131:137	186:206	243:249	178:180	239: -	240:258	240:258	258:262	240:242
♂ форма 1-17-54:									
Алікант Буше	135:147	190:190	241:245	178:191	229:241	244:244	250:266	246:260	252:274
Каберне Совінйон	141:153	190:196	241:241	172:186	235:243	242:252	240:242	250:250	242:242
♂ 40 лет Октября	135:147	190:190	241:241	178:178	241: 249	242:244	234: 250	246:262	254:274
♂ Одеський ранній	137:151	188:190	251:251	176:176	239:241	-	-	252:258	-
Голубок = Северний × 40 лет Октября									
<i>Іскорка</i>	135:137	190:206	245:249	178:186	229:239	244:258	224:274	254:264	252:276
♀ форма 17-21-68:	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Піно чорний	139:155	190:196	241: 245	182:186	231:241	242:252	224:242	242:248	242:274
Іршаї Олівер	137:157	206:206	249:251	176: 178	229:239	244:258	224:274	254:258	252:274
♂ Zala Gyoengye	135:157	188:196	239:251	178:186	229:239	244:244	224:242	262: 264	274:274
♂ Мускат одеський	135:145	202:206	249:251	182: 186	-	244:258	240:274	254:264	240:276
Іскорка = 17-21-68 × Мускат одеський									

Примітка: виділеним шрифтом наведено однакові алелі у досліджуваних нащадків та їх ймовірних батьківських сортів.

Генотип сорту Іскорка показав однакові алелі із генотипом сорту Мускат одеський в усіх досліджених локусах. Неспівпадіння алельних характеристик сортів Zala Gyoengye та Іскорка у трьох локусах дозволяє відхилити можливість прямих родинних зв'язків між ними. Через відсутність в колекції форми 17-21-68, що представляла материнську особину, для аналізу родоводу були використані її батьківські сорти – Піно чорний та Іршаї Олівер, генотипи яких показали наявність однакових алелів із генотипом сорту Іскорка [23].

Підсумовуючи вище викладені результати роботи з дослідження родоводів сортів та форм, отриманих шляхом запилення сумішню пилку, а також сортів та форм ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова», в цілому, слід зазначити, що інформація, отримана порівняльним аналізом генотипів лише дозволяє говорити про те, що загалом батьківство

запропонованих сортів та форм у походженні досліджуваних зразків не виключене [11].

4.3. Оцінка статистичної ймовірності походження сортів та форм винограду від батьківських сортів, підтверджених порівняльним аналізом генотипів

Враховуючи факт того, що «будь-який випадок підтвердження батьківства незалежно від кількості досліджених локусів не є логічно неспростовним, оскільки завжди існує ймовірність випадкового співпадіння алелів у зразках, що порівнюються» [12], тому виникає необхідність використання методів математичної статистики та теорій ймовірностей.

Серед таких методів стандартними вважаються обчислення умовної ймовірності на основі формули Байєса, комбінований індекс батьківства (англ. Combined Paternity Index, CPI), що вираховується для кількох локусів у цілому, та індекс батьківства (англ. Paternity Index, PI), який обчислюється, як для окремих локусів так і для панелі локусів, та оперує поняттям «відношення правдоподібності».

Аналогічно до численних досліджень родоводів окремих сортів винограду [58, 170, 191, 199] індекс батьківства на основі «відношення правдоподібності» було використано для статистичного підтвердження батьківських комбінацій, отриманих за результатами порівняльного аналізу генотипів.

Локуси окремих сортів, які містили нульові алелі або невідповідності у розмірі алелів, були помічені як «відсутня інформація» та не залучалися до обчислення «відношення правдоподібності», аналогічно до J. F. Vouillamaoz із співавт. [199], які зазначають, що рівень невідповідності у 2 % між розмірами алелів нащадків та ймовірних батьків є досить поширеним, та може бути обумовленим соматичними мутаціями.

Відношення правдоподібності (англ. Likelihood Ratio, LR) – це величина, що стандартно обчислюється [103] для комбінацій генотипів нащадка та заявлених батьків окремо для кожного локусу та демонструє у скільки разів більш ймовірно, що збіг алелів, який спостерігається у нащадка та заявлених батьківських сортів, обумовлений батьківством саме цих сортів, а не будь-яких інших, що не брали участь в аналізі родоводу [12, 191].

В даній роботі для 52 зразків, ймовірність походження яких було підтверджена порівняльним аналізом їх генотипів та можливих батьків (Додаток 3), за допомогою комп'ютерної програми Identity 4.0 була обчислена величина «відношення правдоподібності» походження від заявлених батьківських форм (Додаток Д).

Так, всі проаналізовані зразки демонстрували більшу вірогідність походження саме від запропонованої пари батьків (XxY), ніж від будь-яких випадкових сортів, що не брали участь в дослідженні ((1xX) та (2xX)), або близького родича іншого батьківського сорту ((rel(2)x(1) та (rel(1)x(2))) [14], аналогічно до результатів [191].

Показник XxY варіював у межах від 10^3 до 10^{12} , що означає: «участь запропонованих батьків в 10^3 (у сорту Загадка) та 10^{12} (у сорту Добриня) раз більш ймовірна ніж комбінація будь-яких двох інших сортів». Необхідно відмітити, що величини 10^3 та 10^{12} були виявлені в одному випадку, і обумовлені, скоріш за все, у сорту Загадка – подібністю генотипів її батьків між собою (сорт Геркулес та Датьє де Сен Вальє мають однакові алелі у семи з дев'яти досліджених локусах), а у сорту Добриня – різноякісністю генотипів батьків (сорт Каберне Совіньйон та Рупестрис дю Ло не мають однакових алелів у жодному з досліджених мікросателітних локусів) [14].

Даний факт ілюструє залежність показника «відношення правдоподібності» від гетерогенності складу генотипів ймовірних батьків і, тому, в даному дослідженні він демонстрував значні величини здебільшого у нащадків міжвидових гібридів (сорт Голубок, Подарунок селекціонера, Інтерлейкін, Ромулус).

Необхідно також відмітити вплив кількості досліджених локусів на величину параметра «відношення правдоподібності». Так, в дослідженні походження сорту Мерло від сортів Magdeleine noire des Charentes та Каберне фран [58], він склав $5,33 \times 10^{20}$ (дослідники проаналізували 20 мікросателітних локусів), в той час як в нашій роботі – $5,03 \times 10^8$ (9 мікросателітних локусів) [14].

Аналогічне явище простежується при аналізі походження сорту Мускат гамбурзький [9]. Автори вираховували значення «відношення правдоподібності» – $5,93 \times 10^{16}$ (розглядалися 30 мікросателітних локусів); ми отримали значення – $1,88 \times 10^5$ [14].

Проте, в дослідженні родоводу сорту Каберне Совіньон, нами визначено «відношення правдоподібності» в розмірі $1,57 \times 10^7$, яке перевищило аналогічного величину ($4,2 \times 10^6$), отриману на основі даних алейного складу 14 мікросателітних локусів в роботі Bovers et al. [8]. Зазначений факт вказує на вплив величини показника «відношення правдоподібності» не тільки кількості використовуваних мікросателітних локусів, а й ступеня їх поліморфності [14].

Для зразків Голубок, Опаловий, Шкода, Український 85, отриманих в результаті використання прийому «запилення сумішшю пилку» була протестована статистичну ймовірність походження від визначених порівняльним аналізом генотипів батьківських форм.

Відношення правдоподібності (показник ХхУ) для сортів Голубок-Северний-40 лет Октября склало $1,13 \times 10^9$, для сортів Опаловий-Рубін таїровський-Мускат жемчужний – $2,58 \times 10^5$, Шкода-Рубін таїровський-Мускат жемчужний – $6,41 \times 10^5$, Український 85-Чауш рожевий-Іршаї Олівер – $2,47 \times 10^6$ (Додаток 4) [14].

Сорти та форми, склад родоводу яких був відхилений за результатами порівняльного аналізу мікросателітних профілів, також були включені до тестування правдоподібності походження і показали очікувані результати: суттєву ймовірність походження форми Приморський від сортів Альфонс

Лавалле та Афуз Алі ($7,1 \times 10^8$) та зразку «Сірануш» від сортів Чауш білий та Кишмиш чорний ($3,65 \times 10^6$) [14].

Для сорту Белградський безнасіненний ймовірність походження від сорту Мечта не була обчислена, оскільки комп'ютерна програма Identity 4.0 не адаптована для тестування одного батьківського сорту.

Як наголошують автори [122], навіть якщо виявлені за допомогою мікросателітних маркерів прямі родинні зв'язки, в подальшому вимагатимуть підтвердження додатковими маркерами, вони вже повинні розглядатися як чіткі індикатори близької спорідненості досліджених сортів, оскільки значна схожість складу генотипів, виникає, частіше за все, внаслідок існування родинних зв'язків між досліджуваними зразками.

Підсумки аналізу походження 80 досліджуваних зразків винограду узагальнені та наведені у Додатку Е.

Таким чином, шляхом порівняння алельного складу генотипів «нащадків» та «батьківських сортів» для верифікації наявності однакових алелів у кожному дослідженому локусі та наступного вирахування статистичної ймовірності батьківства досліджених сортів було визначено обидва батьківських сорти в родоводі 51 зразка (33-х – селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова», 1-го – селекції ОСГІ, 13-ти – селекції європейських країн, 2-х – американської селекції та 2-х – азійської селекції); для 23 зразків (19-ти – селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» та 4-х – селекції інших країн) походження було підтверджено батьківськими та прабатьківськими формами. Для трьох зразків ймовірне походження було відхилено. Один зразок був визначений як «зразок із невірним найменуванням».

Представлені в розділі 4 результати досліджень, детальніше висвітлені в публікаціях:

1. **Карастан О.**, Мулюкіна Н., Папіна О. Молекулярно-генетичний аналіз батьківських та прабатьківських форм для верифікації походження зразків винограду *V. vinifera* L. *Науковий вісник Східноєвропейського національного*

університету імені Лесі Українки. 2017. Вип. 13 (362). С. 15–20. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*

2. **Karastan O. M.**, Muliukina N. A., Papina O. S. Verification of Grape Pedigree by Microsatellite Analysis. *Cytology and Genetics*. 2018. Vol. 52. № 5. P. 331–342. DOI: 10.3103/S0095452718050031. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*

3. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С. Ідентифікація та походження безнасінневих сортів винограду колекції ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова». *Зб. наук. праць СГП–НЦНС*. 2014. Вип. 24. № 64. С. 76–84. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*

4. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С., Герус Л. В., Ковальова І. А. Мікросателітний аналіз походження сортів та форм винограду селекції ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова». *Виноградарство і виноробство : міжвідом. тематич. наук. зб.* Одеса : ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова», 2014. Вип. 51. С. 139–144. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*

5. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Папіна Е. С., Росохатая Т. И., Плачинда Г. В. Происхождение некоторых форм винограда селекции ННЦ «ИВиВ им. В. Е. Таирова». *Агротехнологии XXI века : концепции устойчивого развития : материалы междунар. конф., посвящ. 100-летию кафедры ботаники, защиты растений, биохимии и микробиологии (Воронеж, 17–18 апреля 2014 г.) : тезисы докл.* Воронеж, 2014. С. 341–346.

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ РІЗНОМАНІТНОСТІ АМПЕЛОГРАФІЧНОЇ КОЛЕКЦІЇ ННЦ «ІВіВ імені В. Є. ТАЇРОВА»

5.1. Визначення основних параметрів генетичного різноманіття

В роботі проаналізоване генетичне різноманіття вибірки 80 сортів та форм винограду на рівні алелів, локусів та популяції в цілому.

Генотипи локусів, у складі яких виявлений нульовий алель, розглядалися як гетерозиготні, замість гомозиготних.

Загалом 108 алелів виявлені в дев'яти досліджуваних мікросателітних локусах.

Серед проаналізованих сортів та форм винограду подібно до [144, 182] найбільшу кількість алелів спостерігали в локусі VVMD28 (18 алелів), найменшу – в локусі VVMD25 (8 алелів) (табл. 5.1) [19].

Таблиця 5.1

Параметри оцінки генетичного різноманіття досліджуваної вибірки зразків винограду за дев'ятьма мікросателітними локусами

Локус	N _a	N _e	H _e	H _o	r	PI	Число гомозигот	Число гетерозигот	F
VVS2	13	6,17	0,838	0,900	-0,034	0,045	8	72	-0,074
ZAG62	10	5,13	0,805	0,838	-0,018	0,063	12	68	-0,040
VVMD7	11	5,40	0,815	0,863	-0,026	0,058	11	69	-0,058
VVMD27	9	5,19	0,808	0,900	-0,051	0,065	7	73	-0,115
VVMD5	12	6,29	0,841	0,863	-0,012	0,042	11	69	-0,026
VVMD25	8	3,90	0,744	0,823	-0,040	0,109	14	66	-0,106
VVMD28	18	6,75	0,852	0,900	-0,013	0,038	8	72	-0,056
ZAG79	14	8,57	0,883	0,925	-0,016	0,024	6	74	-0,047
VVMD32	13	4,90	0,796	0,828	-0,009	0,065	14	66	-0,040
Загальна:	108					2,94x10 ⁻¹²	91	629	
Середня:	12	5,81	0,820	0,871	-0,024	0,057			-0,063
							Загалом 720 генотипів		

Примітка: N_a – кількість алелів; N_e – ефективна кількість алелів; H_e – очікувана гетерозиготність; r – ймовірність нульового алеля; H_o – наявна гетерозиготність; PI – ймовірність ідентичності; F_{IS} – індекс фіксації Райта.

Середнє число алелів у дев'яти досліджених локусах склало 12, що виявилось значно більшим (8,6 у 116 сортів) ніж в роботі Z. Galbacs із співавт. [96]. Величина даного показника залежить від розміру вибірки, тому, на думку авторів [109], при аналізі генетичного різноманіття окремої популяції або порівнянні генетичного варіювання між різними популяціями, більш інформативним є показник ефективної кількості алелів на локус.

Ефективна кількість алелів (N_e) – це число алелів, при однаковій частоті яких в популяції очікувана гетерозиготність буде дорівнювати наявній [1].

У дослідженій нами вибірці сортів середнє значення даного показника склало 5,81.

Деякі автори відмічають, що практично в усіх досліджених популяціях тварин та рослин значення N_e нижче ніж абсолютне число алелів (N_a) на локус [34].

Дійсно, в підтвердження даної тези, у більшості проаналізованих нами опублікованих досліджень винограду [66, 85, 89, 102, 133], які включали оцінку популяційно-генетичних параметрів, середня величина N_e завжди складала приблизно половину від середньої величини N_a .

Проте, при оцінці Т. Джамбазовою із співавт. [9] основних параметрів генетичного різноманіття 26 болгарських сортів винограду, які включали 11 стародавніх рідкісних місцевих сортів – середня величина N_e (5,45) склала більше ніж 50 % від середньої величини N_a (8,85). Аналогічне явище спостерігалось в роботі словацьких дослідників [82] при аналізі 51 традиційного європейського сорту.

На цьому фоні викликає інтерес робота дослідників [122], які проаналізували 2275 зразків винограду за допомогою 10 мікросателітних маркерів. Було виявлено всього лише 1085 окремих генотипів, а середнє значення ефективної кількості алелів склало 6,19 при середній абсолютній кількості алелів – 22,68. Даний факт був пояснений авторами «зависокими та

занизькими частотами алелів», що обумовили таке «помірне значення ефективної кількості алелів».

Проте, на нашу думку, причиною може бути близька генетична спорідненість значної частини досліджених зразків, оскільки вирахований авторами індекс фіксації Райта, що оцінює наслідки інбридингу, виявив надлишок гомозигот (від 10,4 до 12,4 % від кількості проаналізованих зразків) серед зразків підщеп та дикого винограду (які склали чверть об'єму вибірки). На відміну, у зразків *V. vinifera* L. та міжвидових гібридів, значення індексу фіксації коливалося від 1 до 2 %.

В нашому дослідженні [19] очікувана гетерозиготність H_e за дев'ятьма мікросателітними локусами варіювала від 0,744 (у локусі VVMD25) до 0,883 (у локусі ZAG79), що склало дещо більші значення у порівнянні з даними аналізу K. Sefc із співавт. (0,667-0,819) європейських сортів винограду [172] та Z. Galbacs із співавт. [96] (0,696-0,888) угорських сортів винограду.

Даний факт може пояснюватися гетерогенністю досліджуваної вибірки, до якої входить значна кількість прямих нащадків азійських сортів – Афуз Алі, Султаніна, Катта курган, Кишмиш чорний, Чауш рожевий та ін. (це, наприклад, сорти Український 85, Мускат жемчужний, Оригінал, Кобзар тощо) та зразки винограду міжвидового походження з *V. amurensis* у складі геному (як, наприклад, сорти Голубок, Овідіопольський, Агат донський, Восторг, Дністровський рожевий та ін.) [19].

З іншого боку, отримані нами значення очікуваної гетерозиготності H_e досліджуваних зразків винограду можуть бути дещо заниженими через входження у склад вибірки кількох груп близькоспоріднених сортів.

Одну з таких груп представляє гібридна сім'я (англ. Kingroup) сорту Датсь де Сен Вальє. Сорти Ланка, Огоньок таїровський, Етюд та Смена є сібсами гібридизаційної комбінації Датсь де Сен Вальє × Декоративний (Додаток Е). П'ять сортів винограду (Оригінал, Оригінал білий, Загадка, Стійкий Докучаєвої, Таїр) являються прямими нащадками сорту Датсь де

Сен Вальє. Для зразків Таїрян, Одисей, Кобзар та Рум'яний сорт Дат'є де Сен Вальє є прабатьківським.

Іншу групу спорідненості формує сорт Чауш рожевий та його прямі нащадки – сорти Український 85, Оригінал, Кишмиш ОСГІ, Мечта та Мускат жемчужний. Для зразків Опаловий Оригінал білий, та Шкода сорт Чауш рожевий є прабатьківським.

В якості ще однієї групи пов'язаних родинними зв'язками сортів можна говорити про сорт Жемчуг Саба та про його прямих (Мускат жемчужний, Іршаї Олівер, Королева виноградників) та непрямих (Український 85, Шкода, Опаловий, Кардинал) нащадків.

У трьох локусах (VVMD25, VVMD28 та ZAG79) п'яти зразків в рамках вибірки виявлені [19] нульові алелі (табл. 3.1), тобто алелі, що не ампліфікуються через ймовірну мутацію у сайті праймування [84]. Для двох таких алелів була характерна спадкоємність.

Як зазначають автори [67, 110, 169], навіть локуси із позитивним показником r не обов'язково містять нульовий алель, оскільки даний показник ϵ , скоріш, індикатором надлишку гомозигот.

В локусі VVMD25 нульовий алель був успадкований сортом Аркадія від сорту Молдова, а в локусі VVMD28 сорт Подарунок селекціонера отримав нульовий алель від сорту Кобзар (схема 5.1) [19].

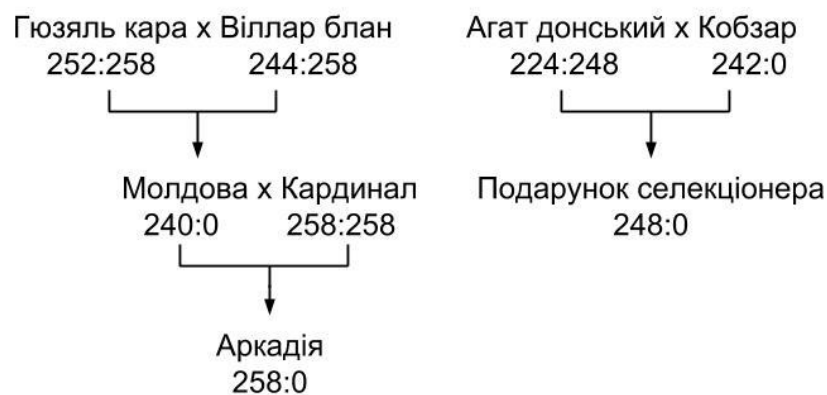


Рис. 5.1 Схема успадкування сортами Аркадія та Подарунок селекціонера нульових алелів від їх батьківських сортів; цифрами позначено розміри алелів у п. н.; 0 – нульовий алель.

Нульовий алель в генотипі локусу ZAG79 сорту Одеський сувенір, можливо є мутацією саме цього сорту, оскільки його батьківські сорти Coarna neagra та Мускат гамбурзький гетерозиготні в даному локусі [19].

При цьому визначений в рамках вибірки показник ймовірності нульового алеля r у всіх локусах показав негативні значення, що свідчить про низьку вірогідність існування нульових алелів [19].

Зразки з нульовим алелем у генотипах, навіть за відсутності мутації, що могла призвести до виникнення даного алеля, все одно мали б гетерозиготний генотип, оскільки їх батьківські форми є гетерозиготними у даних локусах. Тому, на нашу думку, урахування локусів із нульовими алелями гетерозиготними замість гомозиготних, не чинило суттєвого впливу на показники різноманітності, визначені на основі алельних характеристик досліджуваних зразків винограду.

Середнє значення величини очікуваної гетерозиготності склало 0,820 [19], що дещо нижче, ніж отримані в дослідженнях P. C. D. S. Leao із співавт. [53] (0,848), проте перевищує аналогічний показник, вирахований в інших роботах – 0,749 [182]; 0,76 [93]; 0,78 [108]; 0,785 [144]; 0,786 [109]; 0,795 [155].

Наявна гетерозиготність H_o коливалась між величинами 0,823 (локус VVMD25) та 0,925 (локус ZAG79) із середнім значенням 0,871 [19], що виявилось значно вище ніж у [182] (0,743) при генотипуванні 59 сортів 14 маркерами SSR; [198] (0,796) при аналізі 116 сортів 12 маркерами; [92] (0,74) при дослідженні 1085 зразків винограду 10 маркерами; [144] (0,773) при генотипуванні 489 зразків винограду 9 маркерами; [108] (0,77) при аналізі 74 сортів 9 маркерами; [43] (0,785) при профілюванні 50 сортів 19 маркерами.

В усіх досліджених локусах розрахункова величина наявної гетерозиготності виявилася вищою за очікувану гетерозиготність.

Параметр ймовірності ідентичності (англ. Probability of Identical Genotypes, PI) представляє середню ймовірність виявлення однакового мультилокусного генотипу у двох неспоріднених особин однієї популяції

[150] та використовується для оцінки придатності вибраного ряду маркерів дискримінувати сорти у рамках досліджуваного генетичного пулу [129].

В нашому дослідженні [19] найбільш інформативним за цим показником виявився локус ZAG79 із $PI=0,024 \times 10^{-12}$, аналогічно даним [125] та [108] ($PI = 0,06 \times 10^{-12}$), в той час як найменш інформативним був локус VVMD25 ($PI = 0,109 \times 10^{-12}$).

Сумарне значення вірогідності ідентичності склало $2,95 \times 10^{-12}$ [19], подібно до [198] ($1,67 \times 10^{-12}$) та [144] ($6,93 \times 10^{-12}$), що, з одного боку є свідченням високого рівня поліморфізму використаних в дослідженні мікросателітних локусів, а з іншого, як відмічають автори [189], є наслідком завідомого обрання високополіморфних маркерів для роботи.

Найбільш гомозиготними виявилися локуси VVMD32 та VVMD25, в яких виявлено по 14 гомозиготних генотипів. Привертає увагу, що локус VVMD32 є високополіморфним, і у рамках досліджуваної вибірки виявив 13 алелів, у порівнянні з локусом VVMD25, який показав лише 8 алелів.

Істотна кількість гомозигот у локусі VVMD32, попри значну поліморфність, може бути наслідком домінування певних алелів в різних регіонах культивування, як було відмічено [130, 172, 177].

Найменша гомозиготність спостерігалася у локусі ZAG79 (шість генотипів). Відповідно, максимальну кількість гетерозигот виявлено у локусі ZAG79 (74 генотипи), мінімальну – VVMD32 та VVMD25 (66 генотипів).

Загалом, серед 720 виявлених генотипів мікросателітних локусів, 91 був гомозиготний, 629 – гетерозиготні [19].

Для оцінки міри генетичних наслідків інбридингу особини відносно досліджуваної вибірки сортів, був визначений показник інбридингу F_{is} [202], який показує ймовірність того, що особина є гомозиготною та обидва (однакових) алеля ідентичні за походженням, тобто успадковані від однієї прабаб'яківської форми деякого попереднього покоління.

В нашому дослідженні величина F_{is} варіювала в межах від -0,115 (в локусі VVMD27) до -0,026 (в локусі VVMD5) із середнім значенням -0,063.

Від'ємне значення показника інбридингу говорить про 6,3 % надлишок гетерозигот в даній вибірці сортів, і, відповідно, відсутність суттєвого впливу інбридингу на генетичну структуру особин у складі вибірки [19].

Таким чином, вираховані показники генетичного різноманіття досліджуваної вибірки, незважаючи на наявність кількох груп близькоспоріднених зразків винограду, в цілому відповідали параметрам, вирахованим в аналогічних дослідженнях.

5.2. Алельне різноманіття та джерела рідкісних алелів

Склад та частоти алелів відображають специфіку популяції, її походження та зв'язок із іншими популяціями [4].

Генетичний потенціал популяції прямо пропорційно залежить від числа представлених алелів та рівномірності їх розподілення [36], що є, особливо важливим для штучних популяцій на зразок виноградних колекцій, в яких через відсутність панміксії показники генетичного різноманіття відрізняються від тих, що характерні для більшості природних популяцій.

Аналіз частот мікросателітних локусів досліджених зразків винограду підтвердив високу поліморфність використаних мікросателітних маркерів. Так, у всіх локусах частота будь-якого алеля не перевищувала 95% або 99% [2] (табл. 5.2).

Для кращої візуалізації домінування певних алелів у досліджуваній вибірці зразків винограду, нами були побудовані гістограми (рис. 5.1-5.3).

Найбільш поширеним у вибірці виявився алель 274 п. н. у локусі VVMD32 із частотою 35,8 % (рис. 5.1).

Близькі до нього значення склали алелі 258 п. н. (частота 34,0 %), 251 п. н. (частота 30,6 %), 190 п. н. (частота 31,9 %) у локусах VVMD25, VVMD7 та ZAG62, відповідно (рис. 5.2).

Таблиця 5.2

Частоти алелів досліджуваних мікросателітних локусів

Мікросателітні локуси														
VV2			VVMD5			VVMD7			VVMD27			VVMD25		
Алель (п. н.)	Частота (%)	СВ (%)	Алель (п. н.)	Частота (%)	СВ (%)	Алель (п. н.)	Частота (%)	СВ (%)	Алель (п. н.)	Частота (%)	СВ (%)	Алель (п. н.)	Частота (%)	СВ (%)
125	0,6	0,6	227	1,3	0,9	237	0,6	0,6	172	0,6	0,6	0	1,3	0,6
127	3,8	1,5	229	10,6	2,4	239	0,6	0,6	176	26,3	3,5	240	1,3	0,9
131	1,9	1,1	231	9,4	2,3	241	16,3	2,9	178	17,5	3,0	242	8,8	2,2
135	22,5	3,3	233	0,6	0,6	243	3,1	1,4	180	2,5	1,2	244	22,0	3,3
137	25,6	3,5	235	6,9	2,0	245	13,8	2,7	182	21,3	3,2	248	2,5	1,2
139	5,0	1,7	237	9,4	2,3	249	17,5	3,0	186	14,4	2,8	252	28,9	3,6
141	1,3	0,9	239	28,8	3,6	251	30,6	3,6	188	0,6	0,6	258	34,0	3,8
143	1,3	0,9	241	16,9	3,0	253	11,3	2,5	191	16,3	2,9	272	1,3	0,9
145	10,0	2,4	243	11,3	2,5	255	3,8	1,5	204	0,6	0,6			
147	3,8	1,5	247	0,6	0,6	257	1,3	0,9						
151	3,1	1,4	249	3,8	1,5	259	1,3	0,9						
153	16,3	2,9	271	0,6	0,6									
157	5,0	1,7												

Продовж. табл. 5.2

Мікросателітні локуси											
VVMD28			ZAG79			VVMD32			ZAG62		
Алель (п. н.)	Частота (%)	СВ (%)	Алель (п. н.)	Частота (%)	СВ (%)	Алель (п. н.)	Частота (%)	СВ (%)	Алель (п. н.)	Частота (%)	СВ (%)
0	1,3	0,9	0	0,6	0,6	236	1,3	0,9	182	0,6	0,6
224	8,1	2,2	242	7,5	2,1	240	1,9	1,1	186	3,1	1,4
226	0,6	0,6	246	4,4	1,6	242	16,4	2,9	188	17,5	3,0
232	0,6	0,6	248	7,5	2,1	244	0,6	0,6	190	31,9	3,7
234	3,8	1,5	250	11,9	2,6	250	0,6	0,6	194	1,3	0,9
236	0,6	0,6	252	6,3	1,9	252	13,2	2,7	196	19,4	3,1
240	19,4	3,1	254	16,3	2,9	254	5,7	1,8	198	8,1	2,2
242	12,5	2,6	256	0,6	0,6	258	16,4	2,9	202	3,1	1,4
244	0,6	0,6	258	20,0	3,2	260	3,1	1,4	204	2,5	1,2
248	1,3	0,9	260	10,0	2,4	266	3,8	1,5	206	12,5	2,6
250	25,6	3,5	262	7,5	2,1	274	35,8	3,8			
252	1,9	1,1	264	5,6	1,8	276	1,3	0,9			
254	0,6	0,6	266	0,6	0,6						
258	1,3	0,9	268	1,3	0,9						
264	10,0	2,4									
266	1,3	0,9									
272	10,0	2,4									
274	0,6	0,6									

Примітка: виділеним шрифтом відмічено найбільш поширений алель у досліджених зразків винограду; СВ – стандартне відхилення; 0 – нульовий алель.

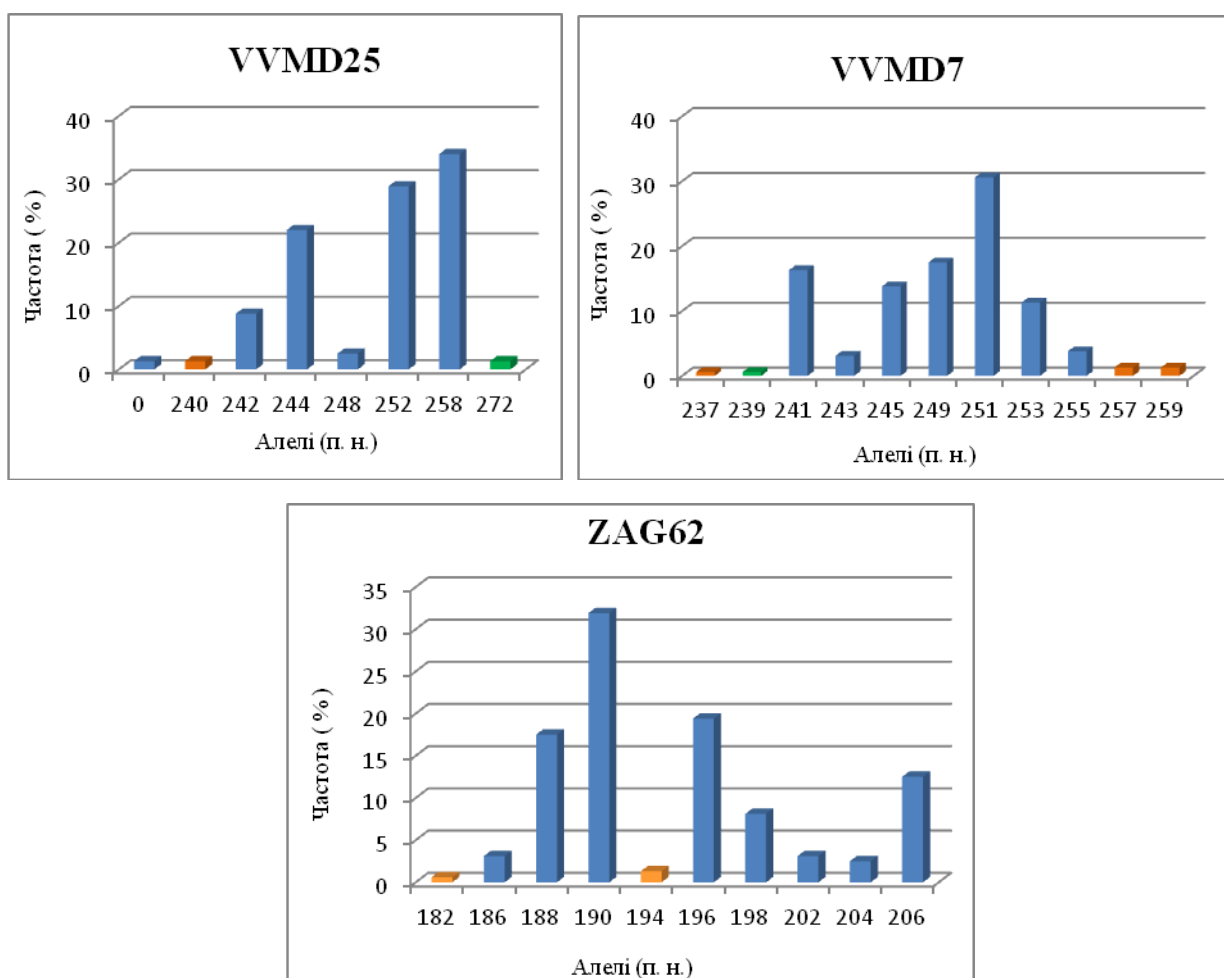


Рис. 5.1. Розподіл частот алелів у локусах VVMD25, VVMD7 та ZAG62 досліджуваних зразків винограду. Тут та в наступних гістограмах помаранчевим кольором помічені рідкісні в рамках досліджуваної вибірки алелі; зеленим – алелі, рідкісні в масштабах світового алельного різноманіття; синім – поширені алелів

У п'яти інших локусах максимальну частоту виявили такі алелі: 137 п. н. (25,6 %) – у локусі VVS2; 239 п. н. (28,8 %) – у локусі VVMD5; 176 п. н. – (26,3 %) у локусі VVMD27; 250 п. н. (25,6 %) – у локусі VVMD28; 258 п. н. (20,0 %) – у локусі ZAG79 (рис. 5.2-5.3).

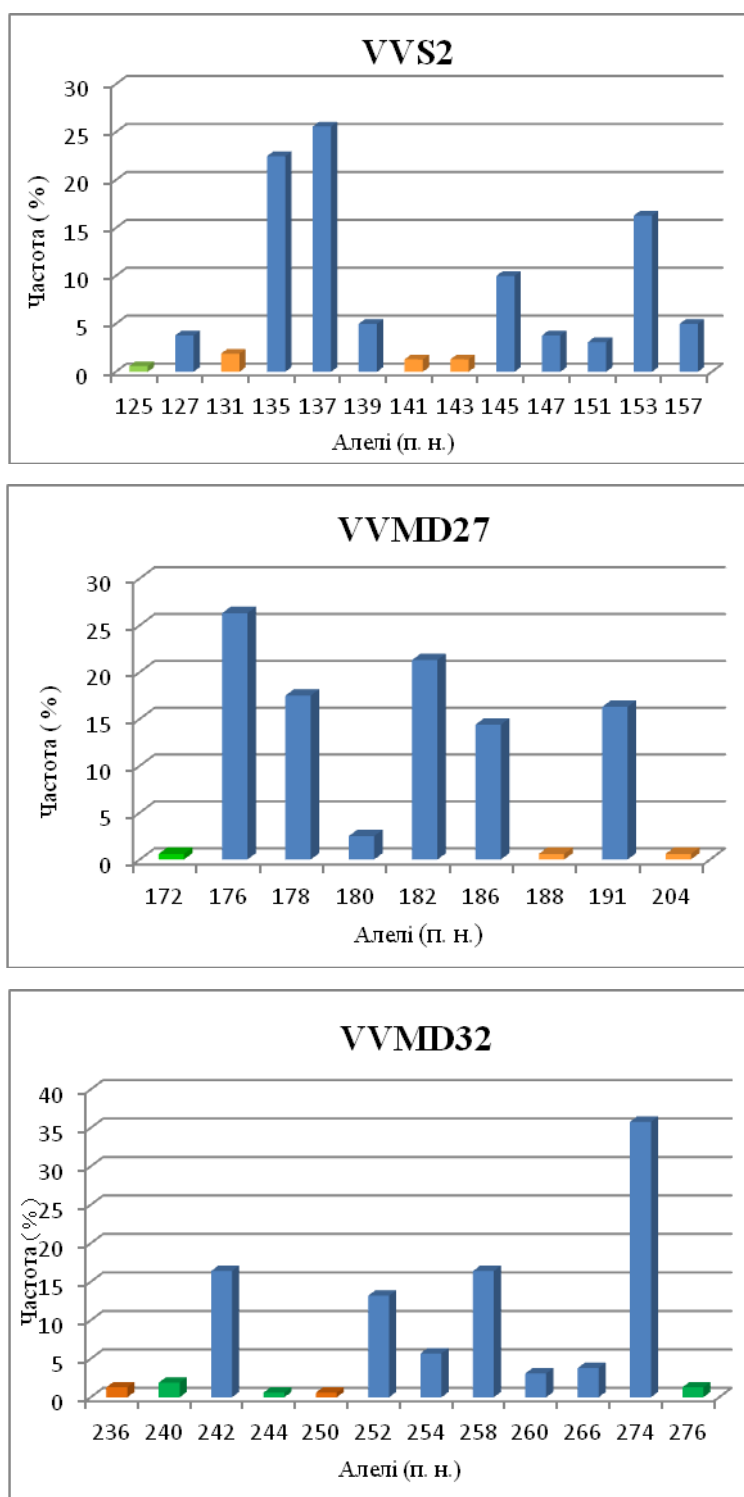


Рис. 5.2. Розподіл частот алелів у локусах VVS2, VVMD27 та VVMD32 серед досліджуваних зразків винограду

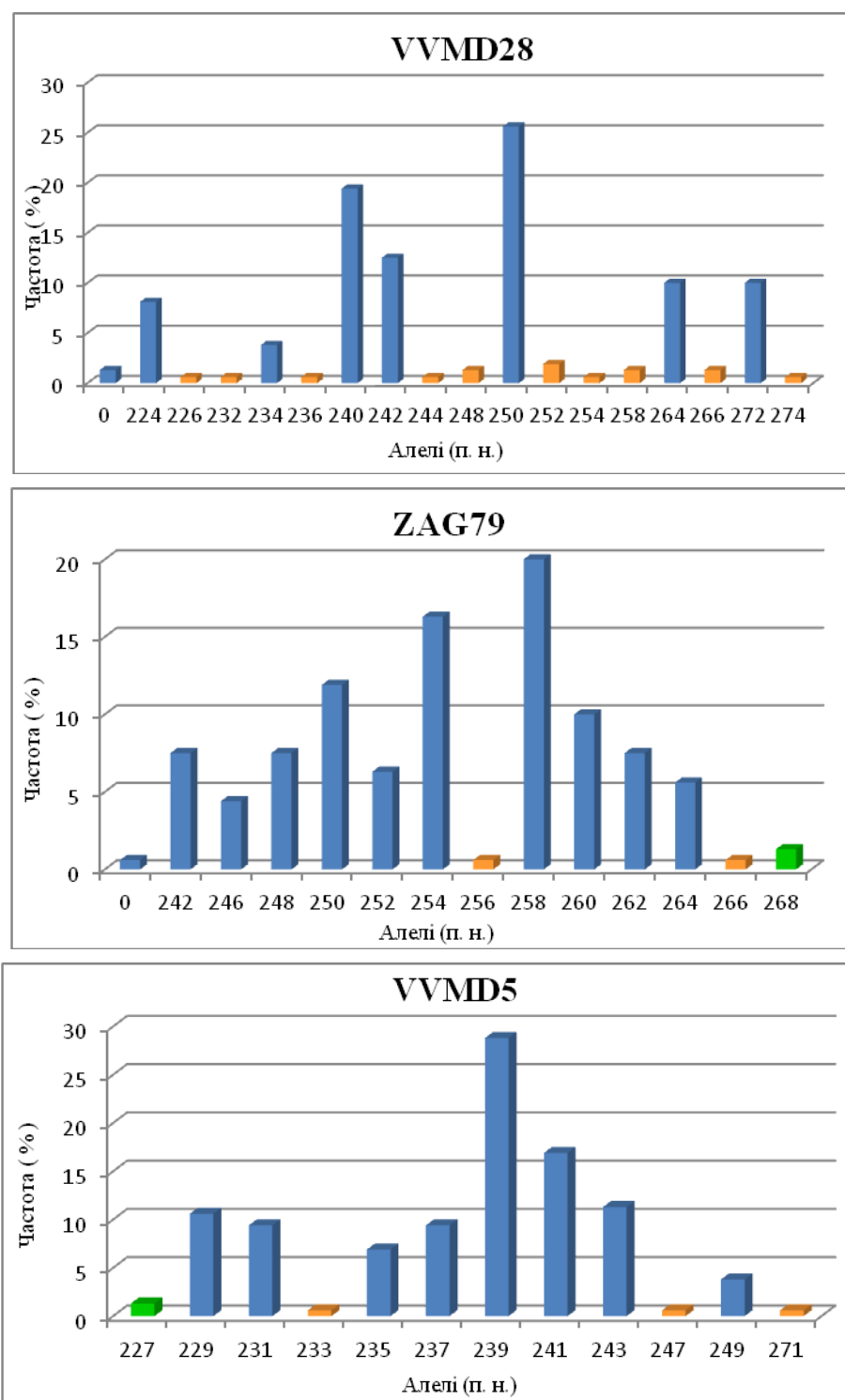


Рис. 5.3. Розподіл частот алелів у локусах VVMD28, ZAG79 та VVMD5 серед досліджуваних зразків винограду

Мінімальна частота алелів у локусах складала 0,6 %, при наявності алеля в одному екземплярі.

Певний алельний склад генотипу сорту та частоти окремих алелів у популяції обумовлені, перш за все, географічним походженням сортів.

Наприклад, підщепні сорти американського походження демонструють унікальні алелі, які на сьогоднішній день не виявлені у сортів *V. vinifera* L. та часто містять групи алелів меншого (як, наприклад, у локусі ZAG62) або більшого розміру (у локусах VVMD5 та VVMD27) [186].

Мікросателітне профілювання сортів в рамках нашої роботи виявило поширені алелі, які, зазвичай, виявляються у європейських сортів та їх нащадках, а також рідкісні алелі, які вказують на приналежність до сортів американського, амурського походження або похідних від них гібридів [88].

Для перевірки можливості порівняння результатів мікросателітного аналізу різних лабораторій та відтворюваності отриманих даних, Р. This із співавт. [186] запропоновано використання «стандартного ряду мікросателітних референсних алелів», виявлених в шести локусах 46 поширених сортів винограду всіх напрямків використання (табл. 5.3). Динуклеотидний тип мотиву використаних дослідниками мікросателітів (окрім локусу VVMD5, що має складний тип мотиву), обумовив розмір «шагу» між алелями одного локусу у 2 п. н. Проте у локусах VVMD27 и ZAG62 також були виявлені алелі із розміром шагу в 1 п. н., виникнення яких, на думку авторів, може бути результатом «заїкання» ДНК-полімерази.

Пізніше V. Laucou із співавт. [124] за допомогою 20 мікросателітних маркерів проаналізовано генетичне різноманіття найбільшої на сьогоднішній день вибірки з колекції зародкової плазми «Domaine de Vassal» (Франція), яка включала 4370 зразків (сорта *V. sativa*, представники *V. silvestris* та підщепи), серед яких виявлено 2836 (64 %) унікальних профілів ДНК.

Встановлені авторами розміри та частоти алелів, на нашу думку, можуть в значній мірі віддзеркалювати стан світових генетичних ресурсів винограду, оскільки з існуючих 15000 найменувань, реальна кількість сортів винограду (за виключенням клонів, синонімів та дуплікацій у колекціях) складає приблизно 6 000, тобто лише 40 %, а при урахуванні представників дикого винограду та підщеп, ця цифра може наблизитись до 60%.

В рамках нашого дослідження ми порівняли виявлене алельне різноманіття мікросателітних локусів зразків колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» із опублікованим у двох вищенаведених роботах (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Алельне різноманіття мікросателітних локусів зразків винограду колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» в порівнянні із даними літературних джерел

Мікросателітні локуси														
VVS2			VVMD5			VVMD7			VVMD27			ZAG62		
1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
125	125	125		221		233	233		172	172	172	176	-	
127	127	127		223		235	235			174		177	-	
129	129			224		237	237	237	176	176	176	182	-	182
131	131	131	225	225		239	239	239	178	178	178	184	-	
133	133			227	227	241	241	241	180	180	180	186	-	186
135	135	135	229	229	229		243	243	182	182	182	188	-	188
137	137	137		230		245	245	245		183		190	-	190
139	139	139	231	231	231	247	247		184	184		192	-	
141	141	141	233	233	233	249	249	249	186	186	186	194	-	194
143	143	143	235	235	235	251	251	251	188	188	188	196	-	196
145	145	145	237	237	237	253	253	253		189		198	-	198
147	147	147	239	239	239	255	255	255	190	190		202	-	202
149	149		241	241	241	257	257	257	191	191	191	204	-	204
151	151	151		242		259	259	259	192	192		206	-	206
153	153	153	243	243	243	261	261		194	194		212	-	
155	155			245		263	263			196		216	-	
157	157	157		246		265	265		198	198		222	-	
159	159		247	247	247	267	267		200	200				
	161		249	249	249		269		202	202				
163	163			250					204	204	204			
	165			251					206	206				
	167			253					208	208				
	169		255	255					210	210				
			259	259					212	212				
				261					214	214				
				263					216	216				
			265	265						218				
			267	267										
			269	269										
			271	271	271									
				293										
Загальна кількість виявлених алелів у локусах														
19	23	13	17	31	12	17	19	11	22	27	9	17	-	10
Частка виявлених нами алелів (% від даних [186] та [124], відповідно)														
68,4	56,5		70,6	38,7		64,7	57,9		40,9	33,3		58,8	-	

Продовж. табл. 5.3

Мікросателітні локуси											
VVMD25			VVMD28			ZAG79			VVMD32		
1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
-	238		-	222		240	-		-	220	
-	240	240	-	224	224	242	-	242	-	226	
-	241		-	226	226	246	-	246	-	230	
-	242	242	-	228		248	-	248	-	236	236
-	243		-	232	232	250	-	250	-	238	
-	244	244	-	234	234	252	-	252	-	240	240
-	245		-	236	236	254	-	254	-	241	242
-	246		-	238		256	-	256	-	242	244
-	248	248	-	240	240	258	-	258	-	244	
-	250		-	242	242	260	-	260	-	246	
-	251		-	243		262	-	262	-	247	
-	252	252	-	244	244	264	-	264	-	248	
-	253		-	246		266	-	266	-	250	250
-	254		-	248	248			268		252	252
-	256		-	250	250					254	254
-	258	258	-	252	252					256	
-	259		-	254	254					258	258
-	260		-	256						260	260
-	261		-	258	258					261	
-	262		-	260						262	
-	264		-	262						264	
-	265		-	264	264					266	266
-	266		-	266	266					268	
-	270		-	268						270	
-	272	272	-	270						272	
-	273		-	272	272					274	274
-	274		-	274	274					276	276
-	276		-	276						278	
			-	278						280	
			-	282						288	
			-	284						290	
			-	288						292	
			-	290							
Загальна кількість алелів у локусах											
-	28	7	-	33	17	13	-	13	-	32	12
Частка виявлених нами алелів (% від даних [64] та [105], відповідно)											
	25,0			51,5		100				37,5	

Примітка: результати досліджень – 1 [186], кількість зразків – 46; 2 – [124], кількість зразків – 2836; 3 – результати нашого дослідження, кількість зразків – 80; рисою позначена відсутня інформація; виділеним шрифтом відмічені рідкісні алелі із частотою менше 2 %.

Вибірка сортів V. Lauson із співавт., звичайно, є більш презентабельною, але інформація за локусами ZAG62 та ZAG97 відсутня. Проте, разом із результатами досліджень шести мікросателітних локусів (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, ZAG62, ZAG79) This P. із співавт. дозволяють оцінити алельне різноманіття зразків колекції ННЦ «ІВіВ імені

В. Є. Таїрова» в світлі вже виявленого різноманіття алелофонду світових ресурсів винограду.

Алельне різноманіття сортів нашої вибірки показало від 40 до 100 % подібності до результатів роботи P. This із співав., що в середньому у шести локусах склало 67 %.

В деяких локусах нами знайдені алелі, не зустрічались у вибірках зазначених дослідників (наприклад, алелі 227 п. н., 243 п. н. та 268 п. н. у локусах VVMD5, VVMD7 та ZAG79, відповідно) (табл. 5.3).

Результати роботи V. Laucou із співавт. представляють значно більший інтерес з точки зору розміру вибірки та виявлених нових меж варіювання алельних характеристик досліджуваних мікросателітних локусів.

Зразки дослідженої нами вибірки, які представляють лише 2,8 % від кількості сортів, проаналізованих V. Laucou із співавт., показали в середньому 43 % алельного різноманіття, виявленого французькими дослідниками. Даний факт наглядно ілюструє тезу, що значна кількість поширених світових сортів винограду мають обмежений рівень алельного різноманіття, в першу чергу, завдяки близькій генетичній спорідненості. Дійсно, в роботі [122] показано, що лише 34 сорти винограду є родоначальниками 828 сортів, походження яких перевірено та підтверджено молекулярно-генетичними методами.

При цьому, необхідно зазначити, що вибірка V. Laucou із співавт. включала 72 зразки *V. silvestris*, 306 міжвидових гібридів та 135 зразків підщеп, що значно підвищило вираховані авторами показники алельного різноманіття досліджених семи локусів.

Так, в деяких локусах виявлені алелі та групи алелів, відсутні у представників *V. vinifera* L. та, здебільшого, представлені у зразках підщепного винограду. Наприклад, група алелів діапазону 192-218 п. н. в локусі VVMD27, 280-292 п. н. у локусі VVMD32, 253-293 п. н. у локусі VVMD5.

Всі алелі *V. silvestris* крім 246 п. н. – у локусі VVMD5 та 269 п. н. – у VVMD7, також виявлені дослідниками у сортів *V. sativa*, що підтверджує загальновідому гіпотезу походження існуючих сортів винограду безпосередньо від *V. silvestris* та в результаті міжвидової гібридизації із його представниками.

Оскільки рідкісні алелі є зручним інструментом, який дозволяє звузити коло пошуку батьківських форм зразків винограду із невідомим походженням, на фоні даних, отриманих *V. Lauson* із співавт. ми проаналізували можливі джерела рідкісних алелів зразків нашої вибірки.

За визначенням [132], рідкісний алель у поліморфних генних системах – це алель, частота якого менша за 2 %.

В нашій вибірці рідкісними були алелі, виявлені в кількості від одного до трьох із частотою від 0,6 до 1,9 %.

В алельному різноманітті локусу VVS2 виявлено чотири рідкісних алеля:

- 125 п. н. – успадкований сортом Інтерлейкін від сорту американського походження Онтаріо; в гібридних сортах його частота складає приблизно 2,64 % (тут та далі в тексті у відсотках наводиться частота певного алеля від усіх відомих алелів даного локусу); у *V. vinifera* L. – не виявлений; в підщепних зразках складає 0,75 %.

- 131 п. н. – в нашій вибірці виявлений у сортів Голубок та Ланка, які успадкували його від сорту Северний [178] – нащадка одного з представників *V. amurensis*; в світовому алельному різноманітті алель 131 п. н. представлений в найбільшій кількості у міжвидових гібридів – 2,15 %; у сортів *V. sativa* його частота складає приблизно 0,04 %.

- 141 п. н. – успадкований сортами Каберне Совіньйон та Мерло від сорту Каберне фран; його частота складає 2,9 %, 4,64 % та 7,84 % в сортах *V. sativa*, міжвидових гібридах та підщепних зразках, відповідно. Виявлений у нашому дослідженні лише у двох екземплярах, алель 141 п. н. не є рідкісним в масштабах світового генетичного різноманіття винограду.

- 143 п. н. – виявлений у сортів Королева таїровська та Флора; здебільшого представлений в алельному різноманітті представників підщеп – 8,58 % та *V. silvestris* – 4,17 % від загальної кількості визначених у локусі VVS2 алелів; у *V. sativa* його частота складає приблизно 1,1 %, у міжвидових гібридів – 1,82 %.

Серед виявлених у локусі VVMD27 алельних варіантів, три були визначені як рідкісні:

- 172 п. н. – отриманий сортом Каберне Совіньйон від сорту Совіньйон блан; в зразках *V. silvestris* не представлений; у сортах *V. sativa* зустрічається із частотою 1,4 % та найбільш характерний для північноафриканських сортів винограду; в міжвидових гібридах та представниках підщеп є непоширеним із частотами 0,5 % та 1 %, відповідно.

- 188 п. н. – визначений у сорту Мерло; займає значну частку (18,75 %) в алельному різноманітті локусу VVMD27 представників *V. silvestris*; в підщепних сортах складає 7,52 %; в гібридних сортах та сортах *V. sativa* є непоширеним із частотою, відповідно, 1,33% та 1,77 %, причому серед представників *V. sativa* найчастіше зустрічається в сортах східно-європейського, центрально-європейського, українського, молдавського та російського походження.

- 204 п. н. – виявлений у підщепного сорту Добриня, алель присутній лише у міжвидових гібридах та представниках підщеп із частотою 3,5 % та 14,29 %, відповідно.

В алельному різноманітті локусу VVMD7 виявлено чотири рідкісних алеля:

- 237 п. н. – успадкований сортом Комета ймовірно від сорту Буревісник, що є нащадком *V. amurensis*; найбільша частота виявлена у міжвидових гібридів – 8,22 %; у сортах Винограду культурного (далі В. культурний) аналогічний показник складає 0,13 %, дещо більше у представників Винограду лісового (далі В. лісовий) (0,7 %) та зразків підщеп (1,14 %).

- 239 п. н. – отриманий сортом Плевен устойчивий від сорту Віллар блан, який успадкував даний алель від сорту Subereux (синонім Seibel 6905); привертає увагу, що даний алель не знайдений у представників *V. silvestris* та підщеп; серед сортів *V. sativa* (частота приблизно 0,04%) алель представлений лише у тих, що походять з Близького і Дальнього Сходу, Центральної та Східної Європи.

- 257 п. н. – виявлений у форми Приморський (прямий нащадок сорту Альфонс Лавалле) та у сорту Альфонс Лавалле, який успадкував його від сорту Dodrelyabi, який, в свою чергу, отримав даний алель від сорту Kadarka kek; алель є рідкісним для сортів *V. sativa* (1,21 %) та представників *V. silvestris* (0,7 %); у представників підщеп (2,65 %) та міжвидових гібридів (4,19 %) алель є дещо більш поширеним.

- 259 п. н. – в рамках нашої вибірки виявлений у підщепного сорту Добриня та технічного сорту Призер, який успадкував даний алель від сорту Трамінер рожевий. В світовому розмаїтті алелів локусу VVMD7 алель 259 п. н. не є рідкісним та має майже однакові частоти у *V.* культурного і *V.* лісового – 3,44 % та 3,52 %, відповідно; у представників підщеп алель 259 п. н. складає 4,55 %, у гібридах – 2,01 % від представленого алельного різноманіття локусу.

Алельні характеристики локусу VVMD5 включали такі рідкісні варіанти:

- 227 п. н. – виявлений у сортів Стійкий Докучаєвої (Геркулес × Датське Сен Вальє) та Геркулес; ймовірно успадковується від сорту Хаттал баар, заявленого [9] в якості батьківської форми сорту Геркулес. Алель є рідкісним в масштабі світового алелофонду: не виявлений у міжвидових гібридах та підщепах; у представників *V.* лісового його частота складає – 0,7 %, а у сортів *V.* культурного – 0,24 %.

- 233 п. н. – знайдений у сорту Агат таїровський; у сортів *V. sativa* займає 0,13 % алельного різноманіття даного локусу, причому алель представлений лише у вихідців з Балканського (0,13 %) та Італійського

півостровів (0,15 %), Східної та Центральної Європи (разом 0,27 %). У *V. silvestris* зустрічальність цього алеля складає приблизно 2,11 %, у зразків підщеп – 0,75 %. В гібридах міжвидового походження зазначений алель не виявлений.

- 247 п. н. – встановлений у сорту Роднічок та ймовірно отриманий від прабатьківської форми – представника виду *V. amurensis*. Алель є дуже рідкісним для сортів В. культурного (частота складає 0,02 %), причому входить до складу генотипів лише східноєвропейських та центральноєвропейських сортів. Алель не виявлений у представників *V. silvestris* та підщеп, проте входить до складу генотипу міжвидових гібридів (5,43 %) – ймовірно, також нащадків амурського винограду.

- 271 п. н. – виявлений в рамках нашої вибірки у сорту Добриня. Алель є характерним для зразків підщеп (8,65 %) та непоширеним (0,16 %) у міжвидових гібридів.

Алельне різноманіття локусу VVMD25 показало два рідкісних алеля:

- 240 п. н. – знайдений у сортів Голубок та Добриня; входить лише до складу генотипів підщеп (частота 22,93 %) та міжвидових гібридів (частота 9,8 %).

- 272 п. н. – визначений у сортів Подарунок селекціонера (Агат донський × Кобзар) та Агат донський. Алель є непоширеним у представників культурного (0,06 %) та лісового (1,41 %) винограду; у підщепах та міжвидових гібридах відсутній. Ймовірно даний алель виник у *V. silvestris* та в результаті трансгресії увійшов до складу геному окремих сортів *V. sativa*.

Алельне різноманіття локусу VVMD28 показало найбільшу кількість рідкісних алелів:

- 226 п. н. – алель знайдений у сорту Добриня. Представникам В. культурного та В. лісового даний алель не був характерний. Найбільша його частота була виявлена у підщепах – 6,15 %. В складі генотипів міжвидових гібридів алель 226 п. н. був представлений несуттєво – 0,34 %.

- 232 п. н. – успадкований сортом Інтерлейкін від сорту американського походження – Онтаріо. Даний алель характерний для підщеп (частота 0,38 %) та міжвидових гібридів (частота 3,22 %), можливо також американського походження.

- 236 п. н. – виявлений у сорту Ромулус, який є прямим нащадком сорту Онтаріо. Здебільшого зустрічається у міжвидових гібридах із частотою 4,58 %; у представників підщеп (0,38 %) та В. культурного (0,02 %) алель є непоширеним. V. Lascou із співавт. вказують на присутність даного алеля лише у сортів *V. sativa*, які походять з Балканського півострова.

- 244 п. н. – знайдений у сорту Ярило, який успадкував його від угорського сорту Goeeseji zamatos. Даний алель не виявлений серед проаналізованих представників В. лісового; для сортів *V. sativa* виявився рідкісним (частота 0,15 %). В алельному різноманітті локусу його частота у гібридів складає 7,8 %, у представників підщеп – 2,69 %.

- 248 п. н. – виявлений у сортів Агат донський та Агат таїровський. Алель не характерний для *V. sativa* та представників *V. silvestris*, проте складає істотний відсоток (11,92 %) алельного різноманіття локусу VVMD28 у зразків підщеп. В генотипах міжвидових гібридів представляє 4,41 % від виявлених у локусі алелів.

- 252 п. н. – успадкований сортами Кишмиш ВІРа та Мечта від сорту Кишмиш чорний. Алель не є рідкісним для *V. sativa* (5,46 %), міжвидових гібридів (6,10 %) та підщеп (4,23 %), проте відсутній у *V. silvestris*.

- 254 п. н. – отриманий сортом Сухолиманський білий від молдавського сорту Плавай, який в свою чергу успадкував його від сорту болгарської селекції – Бяла дебела. Аналогічно до попереднього, даний алель не виявлений у В. лісового. Найбільша частота – 9,09 % визначена у сортів *V. sativa*, дещо менша – у міжвидових гібридів (3,56 %) та підщеп (7,69 %).

- 258 п. н. – визначений у сортів Голубок та Ілічівський ранній, які є прямими нащадками сорту Северний, що походить від *V. amurensis*. Алель

більш характерний для підщеп (6,92 %) та міжвидових гібридів (7,12%). Серед представників В. культурного (0,11 %) та В. лісового (0,7 %) алель є непоширеним.

- 266 п. н. – виявлений у сортів Роднічок та Ярило (Роднічок × *Goesseji zamatos*), ймовірно був успадкований від сорту Іллічівський, що є нащадком сорту Северний, та, відповідно *V. amurensis*. Алель присутній в усіх чотирьох групах зразків винограду; рідкісним є лише для представників В. лісового (0,7 %). В алельному різноманітті локусу складає 3,19 % у В. культурного, 4,41 % – в сортах міжвидового походження та 2,31 % – у зразках підщеп.

- 274 п. н. – встановлений у сортів Жемчуг Саба та Іршаї Олівер (Жемчуг Саба × Пожоні білий). Алель отриманий сортом Жемчуг Саба від одного з батьківських сортів (Шасла біла або *Muscat fleur d'oranger*), в генотипі яких він присутній. У представників підщеп та В. лісового алель є непоширеним та складає 0,77 % та 1,41 %, відповідно. Частота алеля 274 п. н. у міжвидових гібридів – 2,88 %, у В. культурного – 5,38 %. Авторами зазначено, що серед сортів *V. vinifera* L. найвища частота даного алеля виявлена у сортів, що походять із Східного Середземномор'я та Кавказу (разом 10,13 %).

Алельне різноманіття локусу *VVMD32* показало наявність п'яти рідкісних алелів:

- 236 п. н. – виявлений у нащадків форми ВІР П-35-20 (Німранг × *V. amurensis*) – сортів Золотистий устійчивий та Дністровський рожевий. Даний алель ймовірно успадковується від представників *V. amurensis*, оскільки він відсутній у генотипі середньоазійського сорту Німранг. За матеріалами *V. Laouou* із співавт. алель не зустрічається у представників *V. sativa* та *V. silvestris*, а також є непоширеним у міжвидових гібридів (1,05 %) та підщеп (3,51 %).

- 240 п. н. – знайдений у сортів Овідіопольський (Северний × Одеський стійкий), Селена (Ритон × Мускат одеський) та Загрей

(Аліготе × Овідіопольський); успадковується від сорту Северний та, можливо, сорту П'єрель, який є батьківським для сорту Мускат одеський. Алель показав у представників *V. культурного* (0,09 %) та міжвидових гібридів (0,53 %). В генотипах представників підщеп та *V. лісового* – не виявлений, що може опосередковано вказувати на успадкування да ного алеля від *V. amurensis*, один з представників якого є батьківською формою сорту Северний. Автори зазначають, що серед сортів *V. sativa*, даний алель зустрічається лише в генотипах, що походять з Балканського півострова, Кавказу та Східного Середземномор'я.

- 244 п. н. – виявлений у сорту Агат донський – є рідкісним у масштабі світового різноманіття винограду; не зустрічається в генотипах підщеп, в сортах *V. культурного* частота його зустрічальності складає приблизно 0,04 %, в міжвидових гібридах – 0,35 %, у представників *V. дикого* – 0,69 % .

- 250 п. н. – успадкований сортом Чарівний (Пересвет × Рубін дністровський) вірогідно від сорту Рубін дністровський ((Бабяска нягре × *V. amurensis*) × Трамінер рожевий), оскільки у генотипах локусу VVMD32 батьківських форм сорту Пересвет (Жемчуг Саба × Каберне Совіньйон) даний алель не представлений. За даними *V. Laucou* із співавт. алель більш характерний для міжвидових гібридів (частота – 2,11 %), але також визначений у представників *V. sativa* (0,48 %), *V. silvestris* (1.39 %) та підщечах (0,88 %).

- 276 п. н. – виявлений у сортів Іскорка (форма 17-21-68 × Мускат одеський) та Ідилія мускатна (Ритон × Мускат одеський), які отримали його від батьківського сорту Мускат одеський (Синій ранній × П'єрель), котрий, скоріш за все успадкував його від сорту П'єрель, оскільки батьківські форми сорту Синій ранній не містять цього алеля. Цікаво зазначити, що алель 276 п. н. є характерним лише для *V. sativa* (0,74 %) та зразків підщепного винограду (0,88 %). Відсутність алеля у міжвидових гібридах може свідчити про окреме виникнення у генотипах вище зазначених груп, де, наприклад, у

представників *V. vinifera* L. він міг з'явитися в результаті мутації найбільш поширеного алеля 274 п. н., частота якого дорівнює приблизно 30,89 %.

Через відсутність даних в роботі V. Laucou із співавт., представленість рідкісних алелів локусів ZAG62 та ZAG79 досліджена на фоні розміщених у VIVC приблизно 3886 сортів (станом на жовтень 2019 р.) з опублікованим мікросателітним профілем за допомогою опції Європейського каталогу сортів – «Пошук за мікросателітним профілем» (англ. «Microsatellites by Profile»).


В алельному різноманітті локусу ZAG62 в рамках досліджуваної вибірки виявлені такі рідкісні алелі:

- 182 п. н. – успадкований сортом Плевен устойчивий від сорту Віллар блан, який отримав його від батьківської форми Subereux.


За інформацією VIVC (рис. 5.4), алель представлений здебільшого у міжвидових гібридів, виведених у Франції (сорта Kolobel, Kuderker 17, Kuderker 3306, Seyval, Сейв Віллар 12-327 тощо), Сполучених Штатах Америки (Horizon, Leik Emerald, Tailor, Manson) та Угорщині (Goecseji zamatos, Poeloeske muskotaly, Reflex).

- 194 п. н. – виявлений у сортів Мускат гамбурзький, Одеський сувенір (Мускат гамбурзький × Coarna neagra), що отримали його від сорту Schiava grossa. В масштабі світового генетичного різноманіття алель не є рідкісним: він характерний для 220 з 3888 сортів з опублікованими у VIVC генотипами, що складає приблизно 5,66 %.

← → ↻ ① Не захищено | www.vivc.de/index.php?EvaAnalysisMikrosatellitenVivcSearch%5BVVS2A1%5D=&EvaAnalysisMikrosatellitenVivcSearch%5BVVS2A2%5D=&EvaAnalysis...



Julius Kühn-Institut
Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Federal Research Centre for Cultivated Plants



VIVC

Vitis International Variety Catalogue VIVC

Home

About VIVC

Database search

Search

Species

Cultivar name

Photos

Pedigree

Holding institutions

Area by countries

Bibliography

History of prime name changes

Advanced search

Passport data

Resistance data

Microsatellites by profile

Microsatellites by varieties

Microsatellites by bibliography

Relationships based on nine microsatellites

Statistical information

Descriptors

Genetic resources monitoring

Data on breeding and genetics

Resistance loci/varieties

Markers

Home / Microsatellites by profile

Microsatellites by profile

Note

- The microsatellite search by profiles for identification purposes is based on the nine SSR-markers displayed below.
- Applied and approved within two European projects Genres081 and GrapeGen06, they are considered as a minimal standard marker set.
- The allele sizes of the SSR-markers were taken from bibliographical sources; SSR-marker databases freely available on the web and from mainly unpublished data generated by the Institute for Grapevine Breeding Geilweilerhof and funded by the BÖLN-project.
- Microsatellite data from the European Vitis Database were consulted to confirm identities (Bacilieri R. and This P. 2010: GrapeGen06, an European project for the management and conservation of grapevine genetic resources - <http://www1.montpellier.inra.fr/grapegen06/>).
- To find matching profiles you need to adapt your allele sizes according to those of the four reference varieties given below or according to variety-profiles located in 'Microsatellites by varieties'.

Background color explanation:


- light blue: more than one data source
- light green: one data source
- rose: genetic profile generated at the Institute for Grapevine Breeding Geilweilerhof

Genetic profiles of 3888 cultivars are available.

Source of SSR-marker data	VVS2		VVMDS		VVMHD7		VVMHD25		VVMHD27		VVMHD28		VVMHD32		VrZAG62		VrZAG79		Source of data
Reference variety	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
CABERNET SAUVIGNON	139	151	234	242	239	239	239	249	176	190	234	236	240	240	188	194	247	247	view
CHARDONNAY BLANC	137	143	236	240	239	243	239	255	182	190	218	228	240	272	188	196	243	245	view
MUSCAT A PETTIS GRAINS BLANCS	133	133	230	238	233	249	241	249	180	195	246	268	264	272	186	196	251	255	view
PINOT NOIR	137	151	230	240	239	243	239	249	186	190	218	236	240	272	188	194	239	245	view
Insert your profile: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="button" value="Reset"/>																			

Showing 1-51 of 51 items. [EXCEL Document](#)

Show rows: 100 ▼



Vitis International Variety Catalogue (VIVC)
ZR Geilweilerhof © 2007

Search result : 17 from 1614 recorded prime name profiles were found (1 -- 17)

Prime name	Color of berry skin	Variety number VIVC (access to data)	Utilization	Country of origin of the variety	Species	Source of data
COLOBEL	NOIR	2768	WINE GRAPE	FRANCE	INTERSPECIFIC CROSSING	view
COUDERC 17	NOIR	2913	WINE GRAPE	FRANCE	INTERSPECIFIC CROSSING	view
COUDERC 3306		3157	ROOTSTOCK	FRANCE	INTERSPECIFIC CROSSING	view
GOECSEJI ZAMATOS	BLANC	4843	WINE GRAPE TABLE GRAPE	HUNGARY	INTERSPECIFIC CROSSING	view
HORIZON	BLANC	5424	WINE GRAPE	UNITED STATES	INTERSPECIFIC CROSSING	view
LAKE EMERALD	BLANC	6673	WINE GRAPE TABLE GRAPE	UNITED STATES	INTERSPECIFIC CROSSING	view
MARECHAL FOCH	NOIR	7388	WINE GRAPE	FRANCE	INTERSPECIFIC CROSSING	view
MUNSON	NOIR	8169	TABLE GRAPE	UNITED STATES	INTERSPECIFIC CROSSING	view
MUSCAT BLEU	NOIR	16002	TABLE GRAPE	SWITZERLAND	INTERSPECIFIC CROSSING	view
PALAVA	ROSE	8875	WINE GRAPE	CZECH REPUBLIC	VITIS VINIFERA LINNÉ SUBSP. VINIFERA	view
POELOSKE MUSKOTALY	BLANC	8207	WINE GRAPE TABLE GRAPE	HUNGARY	INTERSPECIFIC CROSSING	view
REFLEX	BLANC	9984	TABLE GRAPE	HUNGARY	INTERSPECIFIC CROSSING	view
SEYVAL	BLANC	11558	WINE GRAPE	FRANCE	INTERSPECIFIC CROSSING	view
SEYVE VILLARD 12- 327	NOIR	11583	WINE GRAPE	FRANCE	INTERSPECIFIC CROSSING	view
SEYVE VILLARD 18- 307	NOIR	11618	WINE GRAPE	FRANCE	INTERSPECIFIC CROSSING	view
TAYLOR	BLANC	12289	WINE GRAPE ROOTSTOCK	UNITED STATES	INTERSPECIFIC CROSSING	view
VILLARD BLANC	BLANC	13081	WINE GRAPE	FRANCE	INTERSPECIFIC CROSSING	view

[Back to search form](#) [Previous page](#)

Рис 5.4. Скріншоти результатів пошуку «За мікросателітним профілем» у VIVC сортів винограду, що містять у локусі ZAG62 алель 182 п. н.

Оцінка алельного різноманіття локусу ZAG79 виявила три рідкісних алеля:

- 256 п. н. – визначений у сорту Агат донський. За інформацією VIVC алель виявлений у 29 сортів: Схавері (Грузія), Kunbarat та Sukorsoeloe (Угорщина), Nieddu Polchinu (Італія), Tortozona tinta та Miguel de Arco

(Іспанія), Vital (Португалія), Мічурінський (колишній СРСР), Weichun (Китай), Kunleany (Угорщина) та ін.

При цьому, 8 з них, аналогічно до сорту Агат донський, походять від *V. amurensis*; для 12 зразків інформації щодо їхніх батьківських форм відсутня; три зразки містять в родоводі сорт невідомого походження Neben.

Слід зауважити, що близько половини зразків із невідомим родоводом є вихідцями із країн колишнього СРСР (Angur siekh kalon – Таджикистан; Арої Khagog, Карманний, Tzeni – Вірменія; Shavbarda – Грузія), в якому *V. amurensis* активно використовувався при гібридизації, тому ми вважаємо, що значною є вірогідність успадкування алеля 256 п. н. саме від нього або його нащадків.

- 266 п. н. – виявлений у підщепного сорту Добриня, який успадкував його від сорту Рупестрис дю Ло. У Європейському каталозі VIVC алель представлений лише у восьми підщепних зразків винограду (Castel 216-3, Golia, Paulsen 775, Paulsen 1103, Paulsen 1447, Richter 55, Richter 99, Рупестрис дю Ло) та 3 сортів (Мускат одеський, Cassano, Guarnaccia bianca).

- 268 п. н. – отриманий сортом Interlaken від батьківської форми – Онтаріо та сортом Чарівний (Пересвет × Рубін дністровський) – ймовірніше за все від батьківської форми Рубін дністровський, оскільки батьки сорту Пересвет (сорт Каберне Совіньйон та Жемчуг Саба) його не містять.

Серед 23 зразків, розміщених у VIVC, алель зустрічається здебільшого в генотипі нащадків сорту Онтаріо (Alden, Canadis, Himrod, Glenora, Venus, Каюга біла тощо) та деяких інших сортів (Elvira, Veerport, Ventura тощо) які також походять від *V. labrusca* L.

Таким чином, нами були визначені 10 алелів (VVMD7 – 234 п. н.; VVMD25 – 272 п. н.; VVMD27 – 172 п. н.; VVMD32 – 240, 244, 276 п. н.; ZAG62 – 182 п. н.; ZAG79 – 256, 266, 268 п. н.), що є рідкісними не лише в рамках нашої вибірки, а й світового алелофонду досліджуваних мікросателітних локусів винограду.

Інші рідкісні у нашій вибірці алелі (наприклад, алель 194 п. н. локусу ZAG62, алель 141 п. н. локусу VVS2, алель 252 п. н. локусу VVMD28), в рамках світового алельного різноманіття виявили вищі за 2 % частоти зустрічальності, тобто не були рідкісними за визначенням.

Окремі алелі були рідкісними для одних груп зразків винограду, досліджених V. Laucou із співавторами та одночасно поширеними для інших груп зразків (наприклад, алель 248 п. н. локусу VVMD28, характерний для генотипів зразків підщеп та міжвидових гібридів та не виявлений у *V. sativa* та *V. silvestris*).

У генотипах зразків дослідженої вибірки рідкісні алелі склали 34,3 % (37 з 108) від загальної кількості виявлених алелів. Це значення виявилось дещо нижчим за отримане (48,3%) бразильськими дослідниками [125] в результаті аналізу 60 сортів банку гермоплазми Embrapa Semiarido (Бразилія), оскільки поширеність алелів авторами оцінювалось за 5 % критерієм частоти.

Переважає більшість виявлених нами рідкісних алелів в межах досліджуваної вибірки були унікальними (з частотою – 0,6 %).

Найбільша кількість рідкісних алелів визначена у підщепного сорту Добриня та нащадків міжвидових гібридів (Голубок, Іллічівський ранній та ін.), аналогічно до результатів авторів [189].

Таким чином, можна зробити висновок, що завдяки активному залученню до гібридизації представників *V. amurensis* сорти селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» володіють значною кількістю рідкісних алелів, які можуть бути використані у пошуку батьків сортів та селекційних форм із невідомим походженням. Проте, враховуючи високу частоту мутацій у мікросателітних послідовностях, що іноді призводять до хибних висновків, до аналізу необхідно залучати додаткові локуси.

Представлені в розділі 5 результати досліджень, детальніше висвітлені в публікаціях:

1. **Карастан О.,** Мулюкіна Н., Папіна Е. Оцінка аллельного різноманіття мікросателітних локусів в дослідженні генетических ресурсів винограда. *Генетика, фізіологія і селекція рослин: сб. док. IV Міжнарод. конф. (Кишинев, 9–10 жовтня 2017 р.).* Кишинев, 2017. Т. 1. С. 114–117.
2. **Карастан О.,** Мулюкіна Н., Папіна О., Плачинда Г. Оцінка генетичного різноманіття винограду (*Vitis vinifera* L.) з використанням мікросателітних маркерів. *Вісник Львівського університету.* 2018. Вип. 77. С. 53–61. *Серія біологічна. Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*

РОЗДІЛ 6

МАРКЕР-СУПУТНИЙ ДОБІР ЗА ОЗНАКОЮ БЕЗНАСІННЄВОСТІ У ВИНОГРАДУ

6.1. Визначення поліморфізму інтрагенного мікросателітного локусу p3_VvAGL11, зчепленого із ознакою безнасінності у винограду

Результати аналізу мікросателітного локусу p3_VvAGL11 45 сортів винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» висвітлені на рисунках 6.1.-6.2. та в таблиці 6.1 [18].

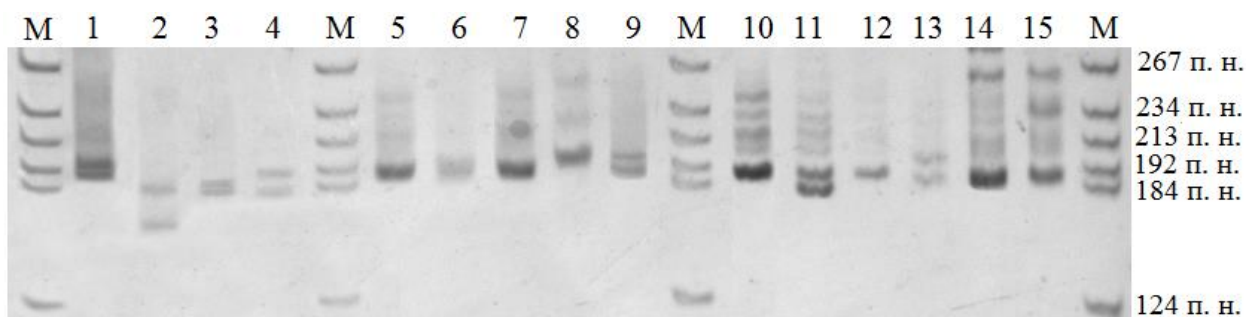


Рис. 6.1. Розподіл продуктів ампліфікації ДНК насінневих сортів винограду за мікросателітним локусом p3_VvAGL11 (М – маркер молекулярної маси pBR 322 DNA / Bsu R1 (Hae III); 1 – Каберне Совін'йон, 2 – СО4, 3 – Огоньок таїровський, 4 – Ркацителі, 5 – Шасла біла, 6 – Дністровський рожевий, 7 – Кардинал, 8 – Мускат жемчужний, 9 – Чауш рожевий, 10 – Піно чорний, 11 – Шардоне, 12 – Геркулес, 13 – Опаловий, 14 – Смена, 15 – Таїр).

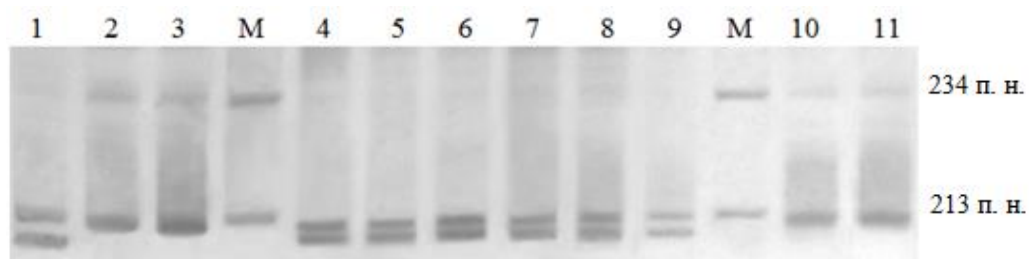


Рис. 6.2. Розподіл продуктів ампліфікації ДНК безнасінневих сортів винограду за мікросателітним локусом p3_VvAGL11 (М – маркер

молекулярної маси pBR 322 DNA / Bsu R1 (Hae III); 1 – Сірануш, 2 – Ромулус, 3 – Мечта, 4 – Кишмиш ВІРа, 5 – Белградський безнасіньвий, 6 – Кишмиш лучистий, 7 – Русалка 3, 8 – Flame seedless, 9 – Рушакі, 10 – Jupiter, 11 – Інтерлейкін).

Таблиця 6.1

Алельні характеристики (п. н.) локусу p3_VvAGL11 сортів винограду

Безнасіньві сорти		Насіньві сорти			
Назва сорту	p3_VvAGL11	Назва сорту	p3_VvAGL11	Назва сорту	p3_VvAGL11
Белградський безнасіньвий	188:198 ⁺	Плевен устійчивий	186:188	Королева виноградників	188:198 ⁻
Ваткана	198 ⁺ :198 ⁻	Айваз	188:188	Мускат гамбурзький	176:188
Інтерлейкін	198 ⁺ :198 ⁻	Аліготе	178:188	Мускат жемчужний	198 ⁻ :198 ⁻
Кишмиш ВІРа	188:198 ⁺	Альфонт Лавалле	176:188	Огоньок таїровський	184:186
Кишмиш лучистий	188:198 ⁺	Аркадія	186:188	Одеський чорний	184:188
Кишмиш ОСП	198 ⁺ :198 ⁻	Восток	178:188	Опаловий	188:198 ⁻
Кишмиш Таїровський	188:198 ⁺	Геркулес	190:190	Піно чорний	188:188
Мечта	198 ⁺ :198 ⁻	Дністровський рожевий	188:188	Ркацітели	180:190
Ромулус	198 ⁺ :198 ⁻	Етюд	186:186	Смена	186:186
Русалка 1	188:198 ⁺	Жемчуг Саба	188:198 ⁻	СО4	164:184
Русалка 3	188:198 ⁺	Загрей	188:188	Таїр	190:190
Рушакі	188:198 ⁺	Кардинал	188:188	Флора	190:190
Сірануш	180:198 ⁺	Кобзар	188:198 ⁻	Чауш рожевий	188:198 ⁻
Jupiter	198 ⁺ :198 ⁻	Каберне Совіньйон	188:196	Шардоне	178:188
Flame seedless	188:198 ⁺	Карабурну	180:188	Шасла біла	188:188

Примітка: символами «+» та «-» позначено варіанти алеля 198 п. н.

(детальне пояснення надано в подальшому тексті).

Сорти Аліготе, Шардоне, Шасла біла, Піно чорний, Flame seedless використані в якості референтних.

Дослідження виявило 10 алелів локусу p3_VvAGL11 (табл. 6.2), в той час як у літературних джерелах [50, 68, 205] наведено лише вісім з них. Алелі 164 та 186 п. н. вперше виявлені у нашому дослідженні, можливо через

наявність у складі вибірки підщепного сорту CO4 та нащадків *V. amurensis* – сортів Етюд та Смена (рис. 6.1) [18].

Аналогічно результатам авторів [50, 107, 205], показано, що найчастіше у вибірці зустрічається алель 188 п. н. (табл. 6.2). Найменші частоти мали алелі 164 та 196 п. н., виявлені в єдиному екземплярі.

Таблиця 6.2

Частоти алелів локусу *p3_VvAGL11* у досліджуваних сортів винограду

Алель (п. н.)	164	176	178	180	184	186	188	190	196	198
Частота	0,011	0,022	0,033	0,033	0,044	0,078	0,389	0,078	0,011	0,311
Стандартне відхилення	0,011	0,016	0,019	0,019	0,021	0,028	0,051	0,028	0,011	0,049

Основні параметри генетичного різноманіття локусу *p3_VvAGL11*, визначені в рамках нашої роботи [18], в цілому, відповідали значенням, раніше опублікованим різними дослідницькими групами (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

Показники різноманіття локусу *p3_VvAGL11*

Виконані дослідження	N_a	H_e	H_o	r	Кількість гетерозигот	Кількість гомозигот
Наше дослідження	10	0,743	0,600	0,082	27	18
Zarouri B. із співавт., 2014 [205]	8	0,593	0,609	-0,030	252	81
Hur Y. Y. із співавт. 2014 [107]	5	0,844	0,592	-0,166	17	3
Bergamini C. із співавт. 2013 [50]	8	0,637	0,663	-0,016	-	-
Mejia N. із співавт., 2011 [139]	6	-	-	-	-	-
Conner P. із співавт., 2018 [68]	9*	-	-	-	-	0

Примітка: N_a – число алелів; H_e – очікувана гетерозиготність; H_o – наявна гетерозиготність; r – розрахункова частота нульових алелів; рискою позначено не опубліковані дані. * – в даному дослідженні автори вважають існування нульового алеля в алельному різноманітті локусу *p3_VvAGL11*.

Очікувана гетерозиготність H_e в нашому дослідженні склала дещо більшу за наявну гетерозиготність H_o величину, подібно до Y. Y. Hur., 2014.

Розрахункова частота r при цьому виявилася позитивною [18] на відміну від результатів попередніх досліджень авторів. Слід зауважити, що позитивне значення нульового алеля не обов'язково означає присутність нульового алеля, а, скоріш, вказує на надлишок гомозигот [66].

Дійсно, відсоток гомозигот в нашій вибірці склав 40 %, що значно більше за опубліковані результати. На нашу думку, це може пояснюватися особливостями складу вибірки та гомозиготністю близько половини з усіх досліджених безнасінневих сортів (рис. 6.2).

В цілому, для локусу $p3_VvAGL11$ виявлений [18] достатній рівень поліморфізму, цілком співставний із основними показниками поліморфності інших мікросателітних локусів [205], що широко застосовуються для ідентифікації внутрішньосортової мінливості винограду.

Серед алельного різноманіття мікросателітного локусу $p3_VvAGL11$ алель 198 п. н. представляє значний інтерес завдяки асоціації із ознакою безнасінневості у винограду.

В даному дослідженні цей алель виявлений у всіх безнасінневих сортів та деяких сортах із насінневим фенотипом (табл. 6.1) [18].

Насінневі рослини-носії алеля 198 п. н. (так звані «фальш-позитивні» випадки) були виявлені також іншими дослідниками [50, 138]. Проте причини цього явища детально не розглядалися.

На нашу думку, в природному різноманітті винограду існують два варіанти алеля 198 п. н., котрі мають різну асоціацію із ознакою безнасінневості [18], подібно до виявлених авторами [115] варіантів алеля 198 п. н. мікросателітного локусу $VMC7F2$, з яких лише один був пов'язаний із проявом ознаки безнасінневості у винограду.

Для обґрунтування нашого припущення ми детально проаналізували наведені у європейському каталозі сортів VIVC родоводи досліджених нами та опублікованих авторами [50, 68, 107, 205] зразків винограду, які містили алель 198 п. н.

Символом «+» ми позначили асоційований із проявом ознаки безнасінності варіант алеля 198 п. н. локусу $p3_VvAGL11$, символом «-» – не пов'язаний із даною ознакою [18]. Алельні варіанти розрізняли за фенотипом рослин, у яких вони були виявлені.

Імовірний спосіб успадкування обох алельних варіантів 198 п. н. у досліджуваних зразків винограду показаний на рисунках 6.3 та 6.4 [18].

В рамках досліджуваної вибірки, варіант 198^+ п. н. виявлений у всіх безнасінних сортах винограду, більшість з яких походить [196] від сорту Султаніна (рис 6.3). Деякі з них (Белградський безнасінний, Мечта Кишмиш ВІРа та Кишмиш ОСГІ) є нащадками сорту Кишмиш чорний [196].

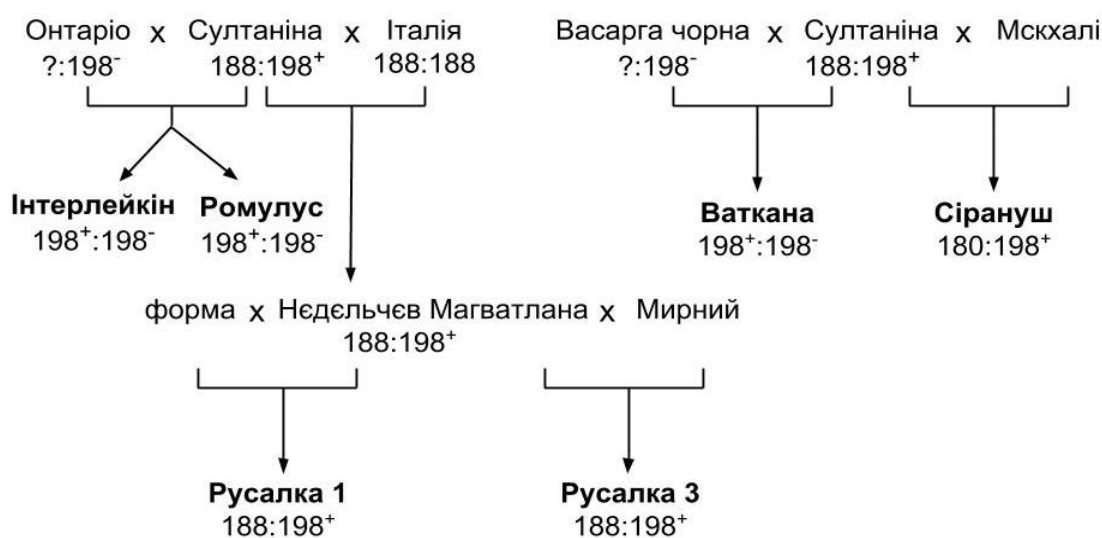


Рис 6.3. Схема успадкування від сорту Султаніна досліджуваними безнасінними сортами винограду алеля 198^+ п. н. локусу $p3_VvAGL11$. Алельні характеристики сортів Султаніна, Італія, Недельчев Магватлана наведені згідно даних [205]. Виділеним шрифтом позначено сорти досліджуваної вибірки.

Султаніна та Кишмиш чорний – це стародавні азійські сорти невідомого походження. Суттєва подібність їх генотипів, які демонструють наявність однакового алеля у кожному з дев'яти локусів стандартного ряду,

може свідчити про близькі родинні зв'язки на кшталт «нащадок – батьківський сорт». Також вони можуть бути сібсами або напівсібсами.

В роботі Y. Y. Nur із співавт. [107] зазначені сорти розглядалися в якості двох окремих джерел успадкування алеля 198 п. н. локусу *p3_VvAGL11*.

Варіант 198⁻ п. н., не пов'язаний із впливом на розвиток повноцінного насіння.

Наявність у генотипі рослин варіанту 198⁻ п. н. обумовлює фальш-позитивні випадки (гетерозиготи -:198⁻) та гомозиготний стан (198⁺:198⁻ або 198⁻:198⁻) локусу *p3_VvAGL11* [18].

Незначний відсоток фальш-позитивних рослин (1,68 %), виявлених Бергаміні із співавт. у вибірці з 475 генотипів, на нашу думку [18], може свідчити про непоширеність у різноманітті сортів винограду даного алельного варіанта.

Проте P. Conner із спів. [68] доповіли про «9,7% (9 з 93 рослин)» фальш-позитивних випадків при тестуванні маркером *p3_VvAGL11* шести гібридних популяцій схрещування представників підродів *Euvitis* x *Muscadinia*. При цьому в їхній публікації наводяться результати генотипування 565 сіянців та 12 батьківських форм, що загалом складає 577 рослин. Цифра 93, про яку говорять автори, – це кількість рослин, що вступили у фазу плодоношення, а 9 – це кількість фальш-позитивних рослин, які вдалося профенотипувати та виявити насіння. З цього випливає, що 9,7 % фальш-позитивних випадків – це некоректна величина. На нашу думку, реальний відсоток фальш-позитивних рослин в цьому дослідженні складає 8,14% (47 з 577 рослин). Відсоток теж значний, але необхідно брати до уваги той факт, що досліджувана вибірка (на відміну від вибірки Бергаміні із співавт.) складається в основному з гібридних сіянців, причому дві з шести популяцій (87 з 577 рослин) – це гібридні сім'ї, що мають в якості родоначальників безнасінневі сорти Jupiter та Concord seedless, які на нашу

думку є донорами фальш-позитивного алеля 198⁻ п. н. (обговорюється нижче за текстом).

В досліджуваній нами вибірці фальш-позитивні випадки із гетерозиготним станом локусу *p3_VvAGL11* (188:198⁻), представлені [18] сортами Чауш рожевий, Опаловий, Жемчуг Саба, Мускат жемчужний, Королева виноградників та Кобзар, які (окрім сорту Кобзар) є нащадками сорту Чауш білий (Рис. 2). Сорт Кобзар (188:198⁻) виведений від схрещування сорту Катта курган та форми Датьє де Сен Вальє × Декоративний.

Фальш-позитивні рослини, виявлені Бергаміні із співавт. – це сорти *Duca di Magenta*, *Martellata*, *Prosperi 105*, *Pirovano 77* та *Pizutello bianco*, а також гібридні сіянці від комбінацій схрещування Альфонс Лавалле × *Perlette*, Італія × *Pirobela* та Італія × *Perlette*.

Проаналізувавши походження сорту *Duca di Magenta* (родовід інших чотирьох сортів не представлений у VIVC) ми виявили цікаву особливість: він отриманий від схрещування сортів *Schiras Dr. Houdbine* × Шасла біла, а *Schiras Dr. Houdbine* є прямим нащадком сорту Чауш білий [18].

Безнасіневий сорт *Perlette* (Королева виноградників × Султаніна), який також виявився непрямим нащадком сорту *Schiras Dr. Houdbine*, може характеризуватися гомозиготним станом локусу *p3_VvAGL11*, поєднуючи в генотипі варіанти 198⁺ та 198⁻ п. н.

Джерелом варіанту 198⁻ п. н. у генотипі сорту *Pirobela* (Піровано 15 × Ізабела) також є сорт *Schiras Dr. Houdbine*, оскільки Піровано 15 отриманий від сорту Мадлен Анжеві, прабацьківський сорт якого – *Schiras Dr. Houdbine* [196].

Таким чином, фальш-позитивні випадки, описані в роботі Бергаміні із співавт. представлені нащадками сорту Чауш білий.

Наявність алеля 198 п. н. в генотипі сорту Чауш білий підтверджено Zarouri із співавт. [205].

N. Osarez із співавт. [149], посилаючись на нашу роботу [18] та свої результати, говорять про те, що сорт Чауш білий є можливим джерелом рекомбінації, що «відключає відстежування безнасінневого фенотипу SSR-маркерами p3_VvAGL11 або 5U_VvAGL11», тобто у нащадків цього сорту певні розміри алелів мікросателітних маркерів p3_VvAGL11 або 5U_VvAGL11 не завжди асоціюються із безнасінністю.

В дослідженні В. Zagouri із співавт. [205] носії алеля 198 п. н., здебільшого походять від сорту Султаніна; деякі з них (Black Alicante, Black Monukka, Pirovano 166A) є непрямыми нащадками узбекистанського сорту Ічкімар.

Підсумовуючи вищевикладене, можна говорити, що переважна більшість розглянутих фальш-позитивних випадків успадкувала алельний варіанту 198⁻ п. н. від сорту Чауш білий (рис. 6.4), інші – від сортів Ічкімар та, можливо, Катта курган.



Рис. 6.4. Схема успадкування сортами винограду алельного варіанту 198⁻ п. н. від сорту Чауш білий. Виділеним шрифтом відмічені сорти

досліджуваної вибірки. Алельний склад сортів Чауш білий, Schiras Dr. Houdbine, Duca di Magenta наведені згідно даних [50, 205].

Гомозиготний генотип за алелем 198 п. н. виникає, здебільшого в результаті поєднання обох варіантів – 198⁺ та 198⁻ п. н., оскільки гібридизація безнасіньових батьківських форм не призводить до отримання потомства і унеможлиблює сполучення двох варіантів 198⁺ п. н. в межах одного генотипу [18].

Проте, започаткування використання технології «відновлення зародку» (англ. Embryo Rescue) в умовах *in vitro*, яка дозволяє стимулювати розвиток повноцінних рослин з незрілих зародків безнасіньових ягід, отриманих від схрещування безнасіньових батьківських форм [207]. Цілком очікувано, що найближчим часом, в світовому асортименті винограду з'являться безнасіньові сорти, що поєднують два варіанти 198⁺ п. н. у складі свого генотипу. Про на думку деяких авторів [68] це призведе до інбредної депресії та збіднення генофонду винограду, тому, на нашу думку, не стане поширеним явищем у селекції безнасіньових сортів винограду.

С. Vergamini із співавт. [50] розглядали три гіпотези виникнення гомозиготного стану локусу *p3_VvAGL11*: успадкування другого алеля 198 п. н. від батьківської форми; успадкування або виникнення нульового алеля; соматична мутація, яка призвела до зміни розміру вихідного алеля.

У складі нашої вибірки гомозиготними 198:198 виявилися безнасіньові сорти, Кишимиш ОСГІ, Мечта, Jupiter, Ваткана Інтерлейкін та Ромулус, а також насінньовий сорт Мускат жемчужний.

Сорти Кишимиш ОСГІ, Мечта та Jupiter є сібсами від схрещування сортів Чауш рожевий (донор алельного варіанту 198⁻ п. н.) та Кишимиш чорний (джерело варіанту 198⁺ п. н.) (рис. 6.4).

В 2018 р. Р. Conner із співавт. [68] опублікували генотипи безнасіньових сортів Jupiter та Concord seedless, позначивши їх як гетерозиготні з нульовим алелем – 0:198 п. н., оскільки «a single peak

corresponding to 214 bp was produced» («отримано єдиний пік, що відповідає 214 п. о.»). 214 п. н. – це нестандартизований розмір алеля, що збігається з 198 п. н. у нашому та інших вищенаведених дослідженнях.

Автори розглянули навіть сегрегацію «нульового алеля» у гібридній популяції, але не зробили жодного припущення щодо причин «наявності» цього алеля у сортів Jupiter та Concord seedless, хоча наші роботи [18, 22], в яких детально розглядаються можливі причини цього явища, вже були на той момент викладені у відкритому доступі в мережі Інтернет.

На нашу думку, генотипи сортів Jupiter та Concord seedless є саме гомозиготними із станом 198:198 п. н. локусу p3_VvAGL11.

Сорти Ромулус та Інтерлейкін отримані в результаті гібридизації сортів Онтаріо та Султаніна.

У. У. Нур із співавт. [107] виявили гомозиготними 198:198 сорти Nimrod (Онтаріо × Султаніна) та Suffolk red (Fredonia × Кишмиш чорний). Скоріш за все, алельний варіант 198⁻ п. н. був успадкований ними від сортів Онтаріо та Fredonia, які мають сорт Concord спільним родоначальником. Таким чином, можна говорити, що варіант 198⁻ п. н. існує у генотипі сорту Concord та міг бути переданий будь-яким його нащадкам, до числа яких належать сорти Онтаріо та Fredonia.

За даними Європейського каталогу сортів сам Concord є міжвидовим гібридом *Vitis labrusca* L. × *V. vinifera* L. та нащадком насінневого французького сорту Semillon (*V. vinifera* L.) [196]. Наразі Каталог не містить інформації щодо родоводу сорту Semillon та року гібридизації, проте ми не виключаємо можливість носійства алеля 198⁻ п. н. та походження від одного з насінневих сортів-донорів даного алельного варіанту, про які викладено нижче.

Цікавим є факт, що Р. Conner із співавт. [68], визначивши генотип сорту Concord seedless як «0:198 п. н.» (на нашу думку – це гомозигота 198⁺:198⁻ п. н.), наголошують, що даний сорт, ніяк «не пов'язаний із сортом Concord, проте, схоже, містить *V. labrusca* L. в своєму родоводі» та

посилаються на роботу Reisch із співавт. [157], в якій говориться не про Concord саме про сорт Concord seedless.

Щодо походження Concord seedless – наразі у VIVC розміщена лише інформація, що за бібліографічними даними він є мутацією сорту Concord та виведений 1939 р. у США.

Ми вважаємо, що наявність алеля 198⁻ п. н. у Concord та Concord seedless з великою ймовірністю свідчить про їх генетичну спорідненість, оскільки алельний варіант 198⁻ п. н. є дуже специфічним та непоширеним в алельному різноманітті локусу p3_VvAGL11.

Гомозиготність сорту Ваткана (Васарга чорна × Султаніна) може свідчити про наявність алельного варіанту 198⁻ п. н. у сорту Васарга чорна [18].

В. Zaroui із співавт. [205] виявили гомозиготний стан (198:198) у сортів Black Monissa (Ічкімар × Султаніна) та Lungyen (походження невідоме).

Насінневий сорт Мускат жемчужний, що також виявився гомозиготним, ймовірніше за все, комбінує у генотипі два однакових алельних варіанти 198⁻ п. н., успадкованих від сортів Чауш рожевий та Жемчуг Саба.

Таким чином, проаналізувавши усіх наявних носіїв 198 п. н. (включно із даними інших авторів), гомозиготні (198⁺:198⁻, 198⁻:198⁻) та гетерозиготні (- :198⁺, -:198⁻) у локусі p3_VvAGL11 сорти із відомими родоводами, для яких на сьогоднішній день опубліковані алельні характеристики, ми виявили, що вони здебільшого походять від азійських сортів Султаніна, Кишмиш чорний, Чауш білий, Ічкімар, Васарга чорна та, можливо, Катта курган [18].

За даними VIVC Катта курган, Васарга чорна та Ічкімар, були виведені в Узбекистані, а Чауш білий – в Туреччині. Точних даних щодо їх походження наразі немає. Проте наявність в їхніх генотипах варіанту 198⁻ п. н. може вказувати на наявність близьких родинних зв'язків [18].

Останніми дослідженнями С. Rojo із співавт. [164] достеменно встановлено, що головною причиною виникнення стеноспермокарпічної безнасінності у винограду є мутація у гені VvAGL11, яка призводить до заміщення аргініну на лейцин (SNP [G/T] Arg-197-Leu). Отже в генетичному різноманітті винограду існують доміантний алель гена VvAGL11 дикого типу (насіньвий фенотип), який містить алель 198 п. н. мікросателітного локусу p3_VvAGL11, позначений нами як 198⁻ п. н. та мутантний алель гена VvAGL11 (безнасінний фенотип) із алелем 198 п. н. мікросателітного локусу p3_VvAGL11, позначений нами як 198⁺ п. н. Даний факт може означати, що родоначальник більшості безнасінних сортів винограду сорт Султаніна є нащадком насінневого сорту Чауш білий, і саме тому, алель 198 п. н. маркера p3_VvAGL11 набув поширення саме у вигляді алельного варіанту 198⁺ п. н.

Таким чином, дослідження варіабельності мікросателітного маркера p3_VvAGL11 виявило 10 алелів, серед яких два – 164 та 186 п. н. визначені вперше. Показники різноманіття даного локусу співставні із відповідними параметрами, визначеними в роботах інших дослідників. В ході аналізу поліморфізму зазначеного маркера встановлено існування алеля 198 п. н. у двох варіантах: 198⁺ (асоційований із ознакою безнасінності) та 198⁻ (не пов'язаний із формуванням насіння у винограду).

Алельний варіант 198⁺ характерний для усіх безнасінних сортів винограду та успадковується від сортів Султаніна і Кишмиш чорний.

Алельний варіант 198⁻ виявлений у деяких насінних і безнасінних зразків винограду та успадковується здебільшого від сорту Чауш білий.

Наявність у складі генотипу варіанту 198⁻ п. н., з одного боку, спричинить складнощі при ранньому доборі рослин за ознакою безнасінності, а з іншого боку, буде корисним в дослідженні родоводів, сортів невідомого походженням.

6.2. Ранній скринінг за допомогою маркера p3_VvAGL11 у гібридній популяції Кобзар × Русалка 3

Участь людського фактору у штучній гібридизації вимагає перевірки її результатів молекулярно-генетичними методами та є розповсюдженою практикою сучасної селекції.

На першому етапі маркер-супутнього добору ідентифікація гібридних сіянців для підтвердження їх походження від заявленої пари сортів є обов'язковою умовою [22].

В нашому дослідженні було проведено ідентифікацію за чотирма мікросателітними локусами (VVS2, ZAG62, VVMD28, p3_VvAGL11) гібридної родини Кобзар × Русалка 3, представники якої вже вступили у стадію плодоношення.

Результати мікросателітного профілювання батьківських форм та 23 сіянців гібридної комбінації Кобзар × Русалка 3 представлені на рис. 6.5 – 6.9 та в табл. 6.4 [22].

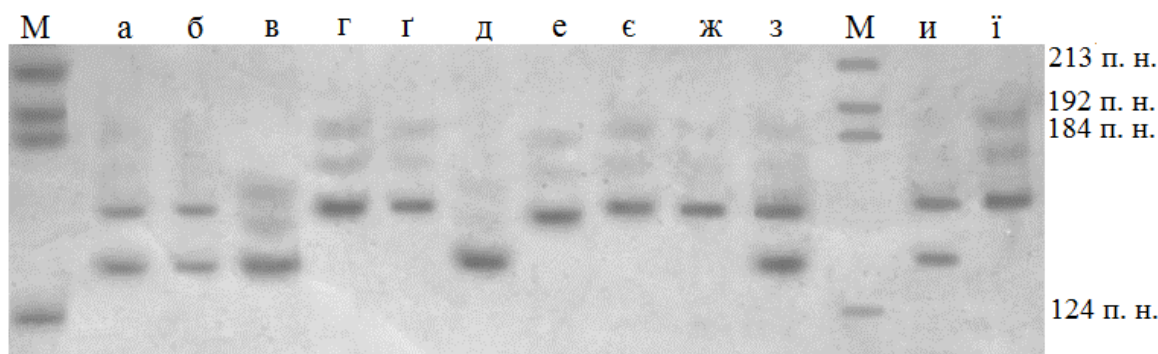


Рис. 6.5. Розподіл продуктів ампліфікації ДНК зразків гібридних сіянців за локусом VVS2 (М – маркер молекулярної маси pBR 322 DNA / Bsu R1 (Hae III), а – 2, б – 3, в – 6, г – 4, г – 5, д – 21, е – 8, є – 9, ж – 19, з – 20, и – 17, і – 19).

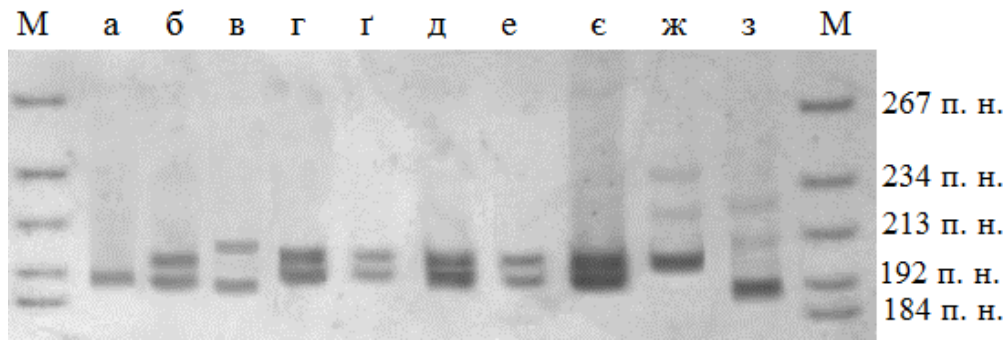


Рис. 6.6. Розподіл продуктів ампліфікації ДНК зразків гібридних сіянців за локусом ZAG62; М – маркер молекулярної маси pBR 322 DNA / Bsu R1 (Hae III); цифрами наведені номери гібридних зразків: а – 4, б – 1, в – 3, г – 2, г – 5, д – 9, е – 11, є – 21, ж – 15, з – 19).

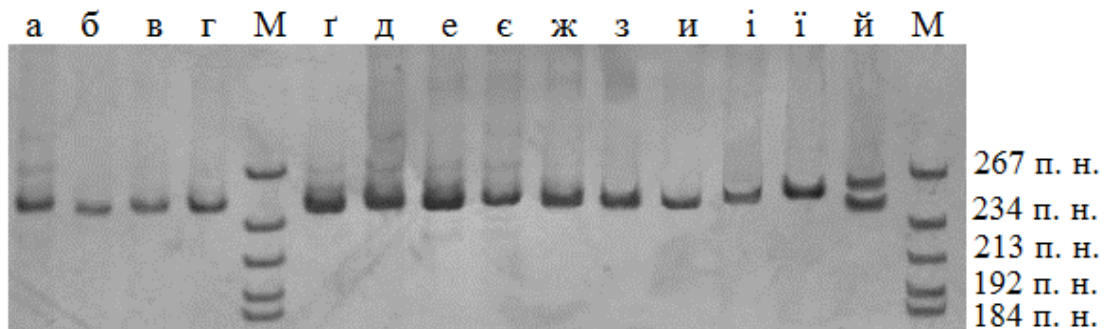


Рис. 6.7. Розподіл продуктів ампліфікації ДНК зразків гібридних сіянців за локусом VVMD28; М – маркер молекулярної маси pBR 322 DNA / Bsu R1 (Hae III); цифрами наведені номери гібридних зразків: а – 1, б – 2, в – 4, г – 5, г – 6, д – 8, е – 9, є – 10, ж – 11, з – 14, и – 16, і – 12, ї – 7, й – 3).

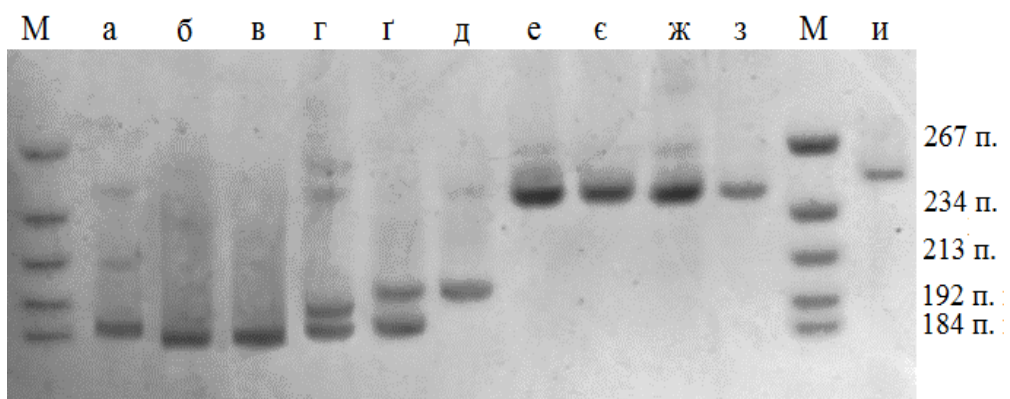


Рис. 6.8. Розподіл продуктів ампліфікації ДНК зразків гібридних сіянців за локусами p3_VvAGL11; М – маркер молекулярної маси pBR 322 DNA / Bsu

R1 (Hae III); цифрами наведені номери гібридних зразків: а – 4, б – 6, в – 12, г – 7, г – 11, д – 14) та VVMD28 (е – 16, є – 18, ж – 20, з – 21, и – 15).

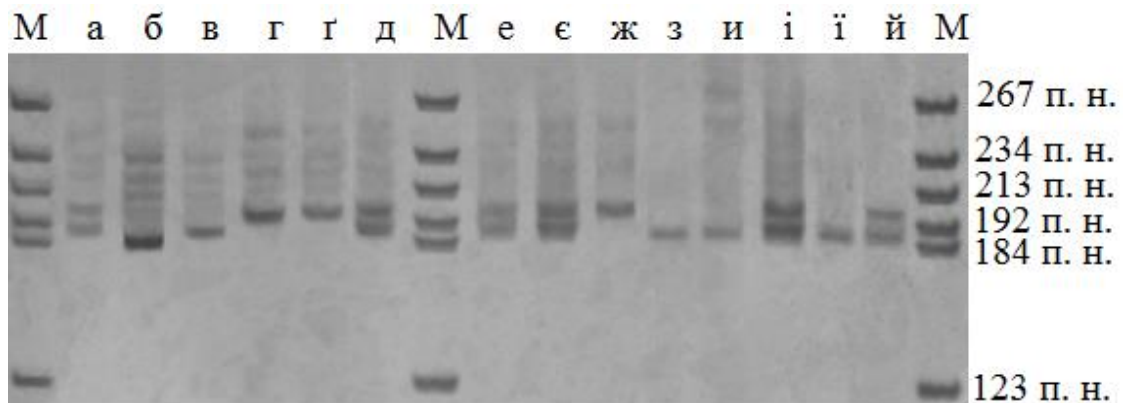


Рис. 6.9. Розподіл продуктів ампліфікації ДНК зразків гібридних сіянців за локусом p3_VvAGL11; М – маркер молекулярної маси pBR 322 DNA / Bsu R1 (Hae III); цифрами наведені номери гібридних зразків: а – 1, б – 15, в – 5, г – 10, г – 18, д – 2, е – 8, є – 16, ж – 10, з – 9, и – 13, і – 19, ї – 21, й – 20).

Таблиця 6.4.

Мікросателітні профілі та фенотипи за ознакою безнасінності гібридних форм та їх батьківських сортів

Батьківські сорти:	Алелі мікросателітних локусів, п. н.				Фенотип
	VVS2	ZAG62	VVMD28	p3_VVAGL11	
♀ Кобзар	137:157	190:196	242:242	188:198	насінневий
♂ Русалка 3	147:157	190:202	242:250	188:198	безнасінневий
Гібридні сіянці:					
1	137:157	190:196	242:242	188:198	-
2	137:157	190:196	242:242	188:198	насінневий
3	137:137	190:202	242:250	188:198	-
4	157:157	190:190	242:242	188:188	насінневий
5	157:157	190:196	242:242	188:188	насінневий
6	137:137	190:190	242:242	186:186	-
7	150:162	190:198	246:246	188:192	насінневий
8	157:157	190:190	242:242	188:198	насінневий
9	157:157	190:196	242:242	188:188	насінневий
10	137:157	190:202	242:242	198:198	безнасінневий
11	137:157	190:196	242:242	188:198	-
12	139:139	190:196	244:244	186:186	-

Батьківські сорти:	Алелі мікросателітних локусів, п. н.				Фенотип
	VVS2	ZAG62	VVMD28	p3_VVAGL11	
13	157:157	190:190	242:250	188:188	насі́ннєвий
14	137:157	190:190	242:242	198:198	-
15	137:157	190:198	244:244	184:184	-
16	147:157	190:190	242:242	188:198	-
17	137:157	196:202	242:250	188:188	насі́ннєвий
18	137:147	190:202	242:242	198:198	-
19	157:157	190:190	242:250	188:198	-
20	137:157	196:202	242:242	188:198	-
21	137:137	190:196	242:242	188:188	-
22	137:147	190:196	242:250	188:188	-
23	157:157	190:202	242:242	198:198	-

Примітка: рисою позначено відсутність даних щодо фенотипу.

При порівнянні із генотипами батьківських сортів серед 23 гібридних сіянців чотири зразки (а саме 6, 7, 12, 15) виключені з дослідження через невідповідність алельного складу [22]. На думку деяких авторів даний факт може бути пов'язаний із забрудненням стороннім пилом при штучній гібридизації та помилками при переміщенні гібридних сіянців до місць постійного культивування [132, 168].

На другому етап маркер-супутнього добору досліджувані зразки аналізуються за допомогою маркера (або кількох маркерів), зчепленого із ознакою інтересу.

Мікросателітний маркер p3_VvAGL11 використаний для встановлення наявності у гібридів алельного варіанту 198⁺ п. н., асоційованого із проявом ознаки безнасі́ннєвості у винограду (рис. 6.6 – 6.7).

Аналогічно до вибірки сортів ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» в гібридній популяції Кобзар × Русалка 3 також були виявлені обидва алельні варіанти маркера p3_VvAGL11.

Варіант 198⁻ п. н. входив до складу генотипу насіннєвого батьківського сорту Кобзар, що обумовило виявлення «фальш-позитивних» рослин серед гібридних форм [22].

В алельних профілях 12 з 19 гібридних зразків (63,2 %) був визначений алель 198 п. н., що приблизно відповідає розщепленню генотипів у

гібридному потомстві за законами Г. Менделя, характерне для схрещування гетерозигот. Відхилення в меншу сторону від менделівського розщеплення може бути пов'язано із низькою життєздатністю нащадків комбінацій схрещування «насіньвий × безнасіньвий» [22].

З 12 генотипів-носіїв алеля 198 п. н. фальш-позитивними, буде певна кількість гетерозигот, проте точне їх число може бути визначене лише за результатами фенотипування.

З 19 гібридних сіянців Кобзар × Русалка 3 у фазі плодоношення знаходилися вісім зразків, серед яких сім рослин показали насіньвий фенотип, а одна рослина – безнасіньвий. Подібні результати спостерігали автори [142] при схрещуванні сортів Black Monissa (безнасіньвий) та Альфонс Лавалле (насіньвий): з 19 сіянців лише один мав безнасіньвий фенотип [22].

Очікувано генотипи насіньвих сіянців були представлені варіантами: 188:188 п. н. та 188:198⁻ п. н.

Генотип безнасіньвої рослини був гомозиготним (198⁺:198⁻ п. н.).

Інші гомозиготні гібридні сіянці 10, 14, 18 та 23, з великою ймовірністю також будуть мати безнасіньві фенотипи [22].

В цілому, згідно з менделівським розщепленням, приблизно половина зразків з генотипом 188:198 п. н. можуть бути носіями безнасіньвого фенотипу (рис 6.10).

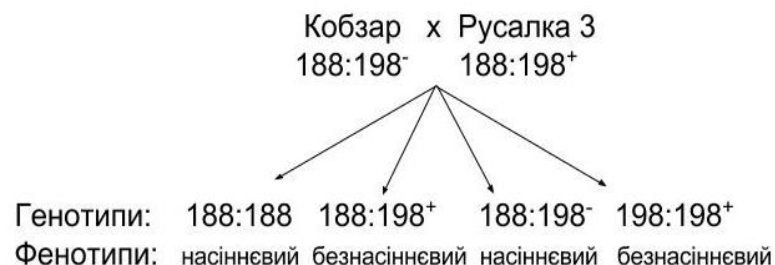


Рис. 6.10. Схема розщеплення за генотиповими та фенотиповими класами гібридних сіянців комбінації схрещування Кобзар × Русалка 3

Таким чином, проведення маркер-супутнього добору на ранніх стадіях розвитку рослин, в першу чергу, надасть змогу скоротити від 25 (при наявності у одного з батьківських форм алельного варіанта 198⁺ п. н.) до 50 % (за відсутності у батьків фальш-позитивного алеля) кількість гібридних рослин, і відповідно, площі гібридних розсадників та видатки на культивування, що є особливо актуальним при масштабних селекційних програмах із залученням сотень гібридних сіянців комбінацій схрещувань «насі́нне́вий × безнасі́нне́вий» [22].

По-друге, як вважають автори [115], молекулярний скринінг на ранніх стадіях розвитку дозволяє створити велику ефективну популяцію гібридних сіянців та зменшити тривалість процесу виведення безнасі́нне́вих сортів від 2 до 4 років.

Проте, незважаючи на перспективність застосування зазначеного маркера, слід брати до уваги, що при наявності в генотипах гібридизаційної пари фальш-позитивного алельного варіанту 198⁺ п. н. ефективність раннього добору безнасі́нне́вих рослин маркером *r3_VvAGL11*, суттєво зменшиться [22], тому попереднє тестування батьківських форм є обов'язковою умовою використання даного маркера.

Представлені в розділі 6 результати досліджень, детальніше висвітлені в публікаціях:

1. **Карастан О.**, Мулюкіна Н., Папіна О., Плачинда Г. Поліморфізм інтрагенного мікросателітного маркера *r3_VvAGL11*, зчепленого із ознакою безнасі́нне́вості у винограду (*V. vinifera* L.). *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2015. Вип. 70. С. 90–99. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
2. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С., Ковальова І. А., Герус Л. В. Маркер-супутній добір за ознакою безнасі́нне́вості у винограду у гібридній популяції Кобзар × Русалка 3.

Аграрний вісник Причорномор'я. Біологічні науки. 2014. Вип. 73. С. 49–57.
Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.

3. **Карастан О. М.,** Папина Е. С., Росохатая Т. И., Плачинда Г. В. Маркер-сопутствующий отбор бессемянных генотипов в селекции винограда. *Современные тенденции в сельском хозяйстве: тез. док. II Междунар. науч. Интернет-конференции.* Т. 1 (Казань, 10–11 октября 2013 года). Казань, 2013. С. 82–84.

4. **Карастан О. М.,** Мулюкіна Н. А., Папіна О. С. Сучасний дизайн сортів винограду *V. vinifera* L. за допомогою молекулярних маркерів. *Сучасна біологія рослин. Теоретичні та прикладні аспекти»: IV Міжнар. наук. конф. (Україна, Харків 9–10 жовтня 2018).* Харків, 2018. С. 87–88.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

Сучасні селекційні програми створення нових сортів винограду широко використовують можливості молекулярних маркерів ДНК. Напрямки їх використання включають як отримання відомостей щодо конкретного генотипу (його ідентифікація, наявність тієї чи іншої ознаки), так і характеристик, що стосуються групи генотипів (уточнення походження та встановлення родоводів, тощо) та є потужним інструментом дослідження генетичних ресурсів винограду у виноградарських країнах, в тому числі в Україні.

Ідентифікація генотипів сортів та селекційних форм винограду за допомогою мікросателітних маркерів стала свого часу чи не найважливішим напрямком застосування мікросателітних маркерів в селекції винограду.

Наразі цей напрямок у світових виноградарських країнах стосується переважно сортів нового покоління селекції та селекційних форм, що знаходяться на різних стадіях випробування та оцінки, поповнюючи бази даних окремих установ та міжнародних банків даних, в тому числі Європейського каталогу сортів винограду із відкритим доступом у мережі Інтернет, що надало можливість порівнювати результати роботи різних лабораторій, та навіть використовувати дані, отримані іншими дослідницькими групами.

Проведене нами дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму мікросателітних локусів сортів та форм винограду стосувалося блоку ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова», зразки якого були представлені, головним чином, сортами та формами української селекції (всього 54 зразки). До цієї вибірки увійшли також 26 сортів закордонної селекції, найчастіше ті, що перебували у різному ступені родинних зв'язків із сортами та формами вітчизняної селекції.

Ідентифікацію зазначених генотипів було проведено шляхом використання «стандартного ряду» (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27,

ZAG62, ZAG79, VVMD32, VVMD36, VVMD25) мікросателітних маркерів, інформація щодо рекомендації використання яких із цією метою з'явилася в результаті виконання загальноєвропейських проектів Genres081 та GrapeGen06.

Таким чином, вперше було отримано повні алельні профілі для 80-ти генотипів, переважно української селекції, які завдяки резистентності до біотичних та абіотичних чинників довкілля пристосовані для культивування в умовах реалізації сценаріїв глобальних кліматичних змін. Важливість проведеної роботи визначається також поживленням євроінтеграційних процесів та глобальними ринковими змінами, що актуалізує необхідність ідентифікації та дискримінації сортів винограду, які поступово проникають у сортимент європейських країн в обхід авторських прав українських селекціонерів. Крім того, проведені нами дослідження дозволяють надати алельні профілі для розміщення у Європейський каталог сортів винограду VIVC, створити українську базу даних у мережі Інтернет.

Надійність отриманих нами даних була підтверджена шляхом порівняння отриманих даних з даними щодо деяких аналогічних генотипів, які представлені у Міжнародному каталозі сортів винограду «VIVC», оскільки при цьому було встановлене повне співпадіння їх алельного складу. Ці результати свідчать, що отримані нами алельні профілі можна використовувати разом із профілями численних сортів, представлених у базі даних «VIVC» або аналогічних джерелах, що містять подібну інформацію, з метою оцінки ідентичності сортів та селекційних форм винограду, визначення їх походження некоректних найменувань та аналізу і простеження успадкування окремих алелів тощо.

Актуальність проблеми визначення походження сортів винограду пояснюється не лише необхідністю порядкування матеріалу в ампелографічних колекціях винограду, але й забезпеченням повторного застосування вдалих гібридизаційних комбінацій та можливістю аналізу успадкування окремих ознак.

З використанням отриманих нами алельних характеристик вибірки було розглянуто використання методу реконструкції генотипів сортів та форм, які наразі фізично відсутні у доступних нам ампелографічних колекціях та генетичних респозиторіях шляхом проведення аналізу мікросателітних профілів їх нащадків на прикладі сортів Сєверний, Одеський стійкий та Декоративний.

Так, для сортів Сєверний та Декоративний визначено повний алельний склад 8 локусів та для сорту Одеський стійкий – 5 локусів.

Оскільки для сорту Сєверний не вдалося знайти інформацію щодо його родоводу, подальше порівняння отриманих таким способом профілів для нього не проводилося. В той же час для сортів Одеський стійкий та Декоративний порівняння отриманих алельних профілів із генотипами ймовірних батьківських форм показало однозначну ймовірність походження сорту Одеський стійкий від сорту Бабяска нягра та сорту Декоративний – від сорту Сєверний. Через відмінність складу локусів нами було відхилено припущення щодо можливості батьківства других батьківських форм у даних сортів.

Таким чином, проведене нами мікросателітне профілювання сортів та селекційних форм винограду дозволило отримати їх індивідуальні алельні характеристики та застосувати їх на ряді напрямків, в тому числі для реконструкції генотипів.

Початкова база даних алельних характеристик надалі була використана для порівняння складу генотипів зразків винограду та складу генотипів їх ймовірних батьківських форм, тобто для мікросателітного аналізу родоводів сортів та форм винограду використаної нами вибірки з ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» із наступним вирахуванням статистичної ймовірності родинних зв'язків.

Дослідження родоводів українських сортів та форм винограду з використанням молекулярних маркерів дозволила провести інвентаризацію існуючого генетичного пулу винограду, буде запобігати залученню

близькоспоріднених сортів до селекційного процесу та визначити носіїв важливих агробіологічних ознак, в першу чергу стійкості до найбільш поширених захворювань винограду.

Проведений аналіз показав повний збіг алельних характеристик для 51 зразку з 80 досліджених, що підтверджує можливість походження цих зразків від обох заявлених батьківських форм.

Для шести зразків, отриманих в результаті запилення материнської рослини сумішшю пилку був визначений батьківський сорт: для зразка Український 85 – сорт Іршаї Олівер, для зразків Шкода та Опаловий – сорт Мускат жемчужний, для форми Ланжерон – сорт Кобзар, для зразка Голубок – сорт 40 лет Октября, для зразка Іскорка – сорт Мускат одеський.

Для зразків Приморський, Белградський безнасінневий та Роднічок одна з двох ймовірних батьківських форм відхилена через неспівпадіння алельного складу із подальшим встановлення справжнього батьківського сорту. Зразок «Сірануш» є некоректним найменуванням, оскільки його мікросателітний профіль відрізняється від заявлених батьківських сортів Катта курган та Кишмиш рожевий.

Родоводи 22 зразків, батьківські форми яких наразі фізично недоступні для дослідження або дані щодо складу їх генотипів відсутні, були перевірені аналізом профілів їх прабатьківських форм, як запропоновано деякими вченими. Більшість проаналізованих генотипів показали, щонайменше, наявність подібних алелів у «нащадків» та «прабатьків», проте у деяких випадках ймовірне «прабатьківство» було відхилене через відсутність таких подібних алелів.

Для оцінки статистичної ймовірності отриманих даних було використано показник «відношення правдоподібності». Використання цього показника для 51 зразка винограду показало що вірогідність походження від визначеної на попередньому етапі пари батьків є вищою, ніж походження від будь-яких інших сортів, що не були включені у дослідну вибірку. Значення показнику «відношення правдоподібності» виявилось прямо пропорційним

рівню гетерогенності складу генотипів та мав найвищі величини у нащадків міжвидових гібридів – сортів Голубок, Подарунок селекціонера, Інтерлейкін, Ромулус та ін.

Генетичні ресурси винограду в Україні переважно невідомі в світових виноградарських країнах, хоча вони є цінними через тривалий період (понад 30 – 40 років) проведення селекції на стійкість до основних хвороб винограду грибного походження. Тому для їх подальшого ефективного використання вони потребують ретельної інвентаризації та оцінки генетичного різноманіття.

Аналіз генетичної різноманітності ампелографічних колекцій та генетичних респозиторіїв проводиться із використанням таких основних параметрів оцінки генетичного різноманіття, як загальна та ефективна кількості алелів, очікувана та наявна гетерозиготність, вірогідність нульового алеля, ймовірність ідентичності, число гомо-та гетерозигот та індекс фіксації Райта.

У дослідженій нами за дев'ятьма локусами визначено загалом 108 алелів, тобто на 1 локус припадало в середньому 12 алелів. Було встановлено, що найбільш поліморфним був локус VVMD28, а найменш поліморфним – VVMD25 (18 та 8 алелів на локус, відповідно).

Визначено, що використані у дослідженні показники генетичного різноманіття загалом мають вищі значення, ніж в аналогічних дослідженнях проведених із використанням зразків досить великих закордонних ампелографічних колекцій, хоча входження до нашої вибірки представників декількох груп близькоспоріднених сортів (наявність спільного родоначальника або спільних близьких родичів – гібридна сім'я сорту Датъе де Сен Валье – 13 зразків, гібридна сім'я сорту Чауш рожевий – 8), на нашу думку, могло викликати зменшення цих значень. Тому для пояснення цього факту нами зроблено припущення щодо впливу на гетерогенність вибірки наявності значної кількості прямих нащадків азійських сортів Чауш рожевий,

Султаніна, Кишмиш чорний, Афуз Алі та ін., та зразків винограду міжвидового походження з *V. amurensis* Rupr. у складі геному.

Нами також проаналізовано алельне різноманіття кожного з дев'яти досліджуваних мікросателітних локусів та обговорено можливі джерела рідкісних алелів, які допомагають селекціонерам зрозуміти напрямок еволюції сортименту винограду та будуть корисними для дослідження родоводів сортів невідомого походження.

На нашу думку, джерелами рідкісних алелів мікросателітних локусів досліджуваної вибірки здебільшого є нащадки представників *V. amurensis* (сорта та форми, що походять від сорту Северний – зразки Іллічівський, Голубок, Загрей, Овідіопольський, Одеський стійкий, Декоративний тощо), *V. labrusca* L. (сорта, отримані від сорту Онтаріо – Інтерлейкін, Ромулус) та *V. rupestris* Scheele (сорт Рупестрис дю Ло). Деякі рідкісні алелі успадковуються від азійських (Кишмиш чорний, Хатгал баар) та європейських сортів (Subereux, Goeceji zamatos, Kadarka kek тощо).

Маркер-супутній добір впевнено займає провідні позиції серед молекулярних інструментів, які використовуються у селекції винограду. Серед ознак, які зараз можливо оцінити зазначеним методом, нами було обрано ознаку безнасінності, тому що пріоритетом селекційних програм ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» є селекція столових сортів винограду (серед виведених в інституті понад 130 сортів близько 70 % відносяться до столової групи). В свою чергу, вподобання споживачів щодо столового винограду стосуються чи не в першу чергу, ознаки безнасінності.

В якості маркера нами було обрано інтрагенний мікросателітний локус p3_VvAGL11, алель 198 п. н. якого, за літературними даними, пов'язаний із проявом ознаки безнасінності. Генетичну варіабельність даного локусу (виявлено 10 алелів, 2 з яких – вперше) було оцінено на вибірці 45 сортів ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова». Визначений рівень поліморфності цілком був відповідним поліморфізму ряду інших

мікросателітних локусів, що наразі широко застосовуються для оцінки внутрішньої сортової мінливості у винограду.

У всіх досліджених безнасінневих сортів вибірки та у деяких сортів із насіннєвим фенотипом в локусі *p3_VvAGL11* виявлено алель 198 п. н. Зроблено припущення щодо існування у природному різноманітті винограду двох алельних варіантів: пов'язаного та не пов'язаного із ознакою безнасінневості у винограду, які позначено відповідно 198⁺ та 198⁻. На підставі аналізу родоводів зразків дослідженої вибірки, що містили алель 198 п. н. та інформації, отриманої як від закордонних колег, так і з відкритих джерел, було зроблено висновок щодо потенційних донорів варіанту 198⁺ п. н. та варіанту 198⁻ п. н.). Алельний варіант 198⁺ характерний для усіх безнасінневих сортів винограду успадковується від сортів Султаніна і Кишмиш чорний. Алельний варіант 198⁻ виявлений у деяких насіннєвих зразків винограду та успадковується здебільшого від сорту Чауш білий (інколи – від сорту Concord). Слід зазначити, що, хоча алельний варіант 198⁻ п. н. у складі генотипу, з одного боку, буде дещо зменшувати ефективність раннього маркер-супутнього добору за ознакою безнасінневості та потребувати ретельного вивчення родоводів батьківських сортів, проте він буде корисним в аналізі родоводів, особливо для сортів із невідомим походженням.

Зважаючи на те, що ефективність маркерних систем може відрізнятися в залежності від походження гібридних популяцій, в дисертаційному дослідженні було перевірено діагностичну придатність маркера *p3_VvAGL11* для добору рослин-носіїв ознаки безнасінневості у гібридній популяції Кобзар × Русалка 3 (безнасіннєвим є батьківський сорт Русалка 3).

Серед проаналізованих 23 гібридних зразків, виявлено чотири сіянці, що не відносяться до даної популяції та 12 сіянців, які є носіями алеля 198 п. н. Серед цих останніх сіянців лише чотири, що мають гомозиготні генотипи 198:198 беззаперечно будуть проявляти безнасіннєвий фенотип,

оскільки батьківський сорт Кобзар походить від сорту Катта курган та є донором фальш-позитивного алеля 198 п. н.

Серед інших 8 гібридних зразків із гетерозиготними генотипами -:198 ефективний добір можливий лише за результатами фенотипування після вступу у фазу плодоношення.

Таким чином, нами зроблено висновок, що, незважаючи на існування фальш-позитивного алеля 198 п. н., локус р3_VvAGL11 є зручним маркером, який дозволяє за мінімальних втрат коштів та часу проводити лабораторний скринінг представників гібридних комбінацій та виключення рослин-носіїв без ознаки інтересу з подальшого вивчення.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі наведені результати досліджень молекулярно-генетичного поліморфізму сортів та форм винограду; розглянута можливість походження зразків від запропонованих батьківських форм; визначені величини основних показників генетичного різноманіття; досліджений поліморфізм мікросателітного маркера p3_VVAGL11 та оцінена його придатність для використання в маркер-супутньому доборі винограду.

1. Використані мікросателітні маркери стандартного ряду (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, ZAG62, ZAG79) показали високу поліморфність та придатність для диференціювання навіть близькоспоріднених зразків винограду. Отримано мікросателітні профілі 80 зразків ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова».

2. Порівняння мікросателітних генотипів нащадків та ймовірних батьківських сортів при наявності спільного алеля у кожному дослідженому локусі показало істотну статистичну ймовірність можливості походження досліджуваних зразків саме від цих батьківських сортів. Серед 80 зразків досліджуваної вибірки родовід 51 зразка підтверджено генотипами обох батьківських форм, для 22 зразків підтверджено з використанням батьківських та прабатьківських генотипів; родоводи трьох зразків не були підтверджені; один зразок був визначений як «зразок із невірним найменуванням».

3. Для шести зразків, отриманих в результаті запилення материнської рослини сумішшю пилку був визначений донор пилку: для зразка Український 85 – це сорт Іршаї Олівер, для зразків Шкода та Опаловий – сорт Мускат жемчужний, для форми Ланжерон – сорт Кобзар, для зразка Голубок – сорт 40 лет Октября, для зразка Іскорка – сорт Мускат одеський.

4. Визначені величини основних показників генетичного різноманіття вибірки, попри наявність кількох груп близькоспоріднених

зразків, свідчать про значну генетичну гетерогенність та відсутність впливу інбридингу на генетичну структуру досліджуваних особин.

5. Аналіз частот алелів мікросателітних локусів виявив, що джерелами рідкісних алелів в досліджуваній вибірці є здебільшого нащадки представників *V. amurensis* (Іллічівський, Голубок, Загрей, Овідіопольський, Одеський стійкий, Декоративний тощо), *V. labrusca* L. (Інтерлейкін, Ромулус) та *V. rupestris* Scheele (Рупестрис дю Ло). Деякі рідкісні алелі успадковуються від азійських (Кишмиш чорний, Хаттал баар) та європейських сортів (Subereux, Goecseji zamatos, Kadarka kek тощо).

6. Дослідження поліморфізму мікросателітного маркера p3_VvAGL11 додатково до восьми відомих в літературі, виявило два нових алеля – 164 та 186 п. н. Зроблено припущення щодо існування алеля 198 п. н. даного маркера у двох варіантах – зчеплений із ознакою безнасінності винограду (позначено як 198⁺ п. н.) та не пов'язаний із даною ознакою (позначено як 198⁻ п. н.). Джерелами варіанту 198⁺ визначено сорти Султаніна та Кишмиш чорний, 198⁻ п. н. – сорти Чауш білий, Concord, Ічкімар, Катта курган та Васарга чорна.

7. Сіянци та батьківські форми гібридної комбінації Кобзар × Русалка 3 оцінено мікросателітним маркером p3_VvAGL11 та обрано чотири гібридні рослин-носія алеля 198⁺ п. н., асоційованого із проявом ознаки безнасінності у винограду.

СПИСОК ОСНОВНИХ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Айала Ф., Кайгер Д. Современная генетика : в 3-х т. / пер. с англ. Москва : Мир, 1988. Т. 3. 335 с.
2. Арефьев В. А., Лисовенко Л. А. Англо-русский толковый словарь генетических терминов. Москва : Изд-во ВНИРО, 1995. 535 с.
3. Аубакирова К. П. Молекулярно-генетическая характеристика отечественных и зарубежных сортов винограда возделываемых в Казахстане : дисс. ... докт. философии PhD: спец. 6D080900 «Плодоовощеводство». Алматы, 2014. 124 с.
4. Боринская С. А., Янковский Н. К. Генетика и геномика человека. Популяции и этносы в пространстве и времени: эволюционные и медицинские аспекты. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013. Т. 17. № 4/2. С. 930–941.
5. Бочарова В. Р. Генетико-морфологічний поліморфізм рослин винограду як показник диференціації для використання в селекції : дисс. ... канд. с.-г. наук : спец. 03.00.15 «Генетика». Одеса, 2011. 204 с.
6. Бочарова В. Р., Задорожна Є. В., Мулюкіна Н. А. [та ін.]. Ідентифікація генотипів сортів винограду колекції ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова». *Виноградарство і виноробство : міжвідом. тематич. наук. зб.* Одеса : ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова», 2010. Вип. 47. С. 13–19.
7. Бочарова В. Р., Задорожна К. В., Росохата Т. І., Карастан О. М. Молекулярно-генетичне дослідження столових сортів винограду селекції ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова». *Біологія : від молекули до біосфери : тез. доп. VI Міжнар. наук. конф. молодих науковців (Харків, 22–25 листопада 2011 р.)*. Харків, 2011. С. 232–233.
8. Виноград [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://vinograd.info/>
9. Власов В. В., Мулюкіна Н. А., Джабурия Л. В. [и др.]. Ампелографический атлас сортов и форм винограда селекции Национального научного центра «Институт виноградарства и виноделия им. В. Е. Таирова». К. : Аграрна наука, 2014. 135 с.

10. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні у 2015 році [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://www.vet.gov.ua/sites/default/files/Reestr-29_07_2015.pdf
11. Ефремов И. А., Серегин Ю. А. Расчеты индекса и вероятности отцовства в судебно-медицинских экспертизах случаев спорного родства. *Одеський медичний журнал*. 2002. Вып. 4. № 72. С. 11–16.
12. Ефремов И. А., Серегин Ю. А. Компьютерная программа для численной оценки результатов судебно-медицинских генетических экспертиз случаев спорного отцовства. *Альманах судебной медицины*. 2003. Вып. 4. С. 77–81.
13. Кадыров М. А., Горелик В. В. Организационные основы работы с генетическими ресурсами растений в Европе и Беларуси. *Генетические основы селекции растений : в 4 т.* Минск : Беларус. навука, 2012.
Т. 3. Биотехнология в селекции растений. Клеточная инженерия / науч. ред. А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. 2012. 489 с.
14. Карастан О., Мулюкина Н., Папина Е. Оценка аллельного разнообразия микросателлитных локусов в исследовании генетических ресурсов винограда. *Генетика, физиология и селекция растений : материалы IV Междунар. конф. (Кишинев, 9–10 октября 2017 г.)*. Кишинев, 2017. С. 114–117.
15. **Карастан О. М.**, Мулюкина Н. А., Папина Е. С., Росохатая Т. И., Плачинда Г. В. Происхождение некоторых форм винограда селекции ННЦ «ИВиВ им. В. Е. Таирова». *Агротехнологии XXI века : концепции устойчивого развития : материалы междунар. конф., посвящ. 100-летию кафедры ботаники, защиты растений, биохимии и микробиологии (Воронеж, 17–18 апреля 2014 г.) : тезисы докл.* Воронеж, 2014. С. 341–346.
16. Карастан О. М., Мулюкіна Н. А., Папіна О. С. Мікросателітні профілі сортів та форм винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ ім. В. Е. Таїрова». *Збірник наукових праць СГІ-НЦНС*. 2017. Вып. 29. № 69. С. 107–116.

17. **Карастан О.,** Мулюкіна Н., Папіна О. Молекулярно-генетичний аналіз батьківських та прабатьківських форм для верифікації походження зразків винограду *V. vinifera* L. *Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. Серія: Біологічні науки.* 2017. Вип. 13 (362). С. 15–20.
18. Карастан О. М., Мулюкіна Н. А., Папіна О. С., Плачинда Г. В. Поліморфізм інтрагенного мікросателітного маркера p3_VvAGL11, зчепленого із ознакою безнасінності у винограду (*V. vinifera* L.). *Вісник Львівського університету. Серія біологічна.* 2015. Вип. 70. С. 90–99.
19. Карастан О., Мулюкіна Н., Папіна О., Плачинда Г. Оцінка генетичного різноманіття винограду (*Vitis vinifera* L.) з використанням мікросателітних маркерів. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна.* 2018. Вип. 77.
20. **Карастан О. М.,** Мулюкіна Н. А., Папіна О. С. Сучасний дизайн сортів винограду *V. vinifera* L. за допомогою молекулярних маркерів. *Сучасна біологія рослин. Теоретичні та прикладні аспекти* : IV Міжнар. наук. конф. (Україна, Харків 9–10 жовтня 2018). Харків, 2018. С. 87–88.
21. Карастан О. М., Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С. Ідентифікація та походження безнасінних сортів винограду колекції ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова». *Збірник наукових праць СГІ–НЦНС.* 2014. Вип. 24. № 64. С. 76–84.
22. Карастан О. М., Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В. [та ін.]. Маркер-сопутній добір за ознакою безнасінності у винограду у гібридній популяції Кобзар × Русалка 3. *Аграрний вісник Причорномор'я. Біологічні науки.* 2014. Вип. 73. С. 43–57.
23. Карастан О. М., Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В. [та ін.]. Мікросателітний аналіз походження сортів та форм винограду селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова». *Виноградарство і виноробство : міжвідом. темат. наук. зб.* Одеса : ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова», 2014. Вип. 51. С. 139–144.

24. Карастан О. М., Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В. [та ін.]. Оцінка генетичної подібності безнасінневих сортів винограду ампелографічної колекції навчально-наукового центру «Інститут виноградарства та виноробства ім. В. Є. Таїрова» та їх ймовірних батьківських форм. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія Проблеми регуляції фізіологічних функцій*. 2015. Вип. 1. № 18. С. 60–64.
25. **Карастан О. М.**, Папина Е. С., Росохатая Т. И., Плачинда Г. В. Маркер-сопутствующий отбор бессемянных генотипов в селекции винограда. *Современные тенденции в сельском хозяйстве : тез. док. II Междунар. науч. Интернет-конференции*. Т. 1 (Казань, 10–11 октября 2013 года). Казань, 2013. С. 82–84.
26. Карастан О. М. Реконструкція генотипів та аналіз походження сортів винограду Сєверний, Одеський стійкий та Декоративний. *Вісник ОНУ Одеського національного університету. Біологія*. 2015. Т. 20. Вип. 1(36). С. 82–91.
27. Леонова И. Н. Молекулярные маркеры: использование в селекции зерновых культур для идентификации, интрогрессии и пирамидирования генов. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013. Т. 17. № 2. С. 314–325.
28. Мулюкіна Н. А., Ковалева И. А., Герус Л. В. [и др.] Фенотипическая и генотипическая характеристика межвидовых сортов винограда Опаловый и Бурмунк для получения перспективных гибридных форм. *Биологический журнал Армении*. 2014. Вып. 66. № 1. С. 103–107.
29. Мулюкіна Н. А., Карастан О. М., Папина Е. С. ДНК-технологии в изучении винограда. Виноград : монография / под. ред. В. В. Власова. Одесса : Астропринт, 2018. С. 421-440. *Особистий внесок – експериментальні дослідження, аналіз результатів*.
30. Мичурин И. В. Сочинения : в 4-х т. – 2-е изд. Москва : Сельхозгиз, 1948.

31. Носульчак В. А., Трошин Л. П. Краткий анализ мирового генофонда винограда и принципы формирования ампелографической коллекции России. *Виноград и вино России*. 1998. Спец. вып. С. 11–14.
32. Серебровский А. С. Генетический анализ. Москва : Наука, 1970. 342 с.
33. Смирнов К. В., Калмыкова Т. И., Морозова Г. С. Виноградарство / под ред. К. В. Смирнова. М: Агропромиздат, 1987. – 367 с.
34. Столповский Ю. А., Шимиит Л. В., Кол Н. В. [и др.]. Анализ генетической изменчивости и филогенетических связей у популяций тувинской короткожирнохвостой овцы с использованием ISSR-маркеров. *Сельскохозяйственная биология*. 2009. № 6. С. 34–43.
35. Хлесткина Е. К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013. Т. 17. № 4/2. С. 1044–1054.
36. Храброва Л. А., Зайцев А. М., Зайцева М. А. Метод оценки генетического разнообразия и степени генотипического сходства лошадей заводских и местных пород. Дивово, 2011. 25 с.
37. Dalbo M. A, Ye G. N., Weeden N. F. [et al.]. A gene controlling sex in grapevines placed on a molecular marker-based genetic map. *Genome*. 2000. Vol. 43. № 2. P. 333–340.
38. Adam-Blondon A. F., Adam-Blondon F. , Martinez-Zapater J. M., Kole C. *Genetics, Genomics, and Breeding of Grapes*. CRC Press, 2011.
39. Adam–Blondon A. F., Roux C., Claux D. [et al.]. Mapping 245 SSR markers on the *Vitis vinifera* genome: a tool for grape genetics. *Theor. Appl. Genet.* 2004. Vol. 109. № 5. P. 1017–1027.
40. Akkac A., Voccacci P., Botta R. Cardinal grape parentage: a case of a breeding mistake. *Genome*. 2007. Vol. 50. № 3. P. 325–328.
41. Akkurt M., Çakır A., Shidfar M. [et al.]. Using SCC8, SCF27 and VMC7f2 markers in grapevine breeding for seedlessness via marker assisted selection. *Genet. Mol. Res.* 2012. Vol. 11. № 3. P. 2288–2294.

42. Akkurt M., Cakir A., Shidfar M. [et al.]. Using seedlessness-related molecular markers in grapevine breeding for seedlessness via marker-assisted selection into Muscat of Hamburg × Sultani progeny. *Turk. J. Biol.* 2013. Vol. 37. P. 101–105.
43. Aliquo G., Torres R., Lacombe T. [et. al]. Identity and parentage of some South American grapevine cultivars present in Argentina. *Australian journal of grape and wine research.* 2017. Vol. 23. №. 3. P. 452–460.
44. Alleweldt G., Dettweiler E. The genetic resources of *Vitis*: world list of grapevine collections, 2nd edn. *BAZ IRZ Geilweilerhof*. Siebeldingen, 1994.
45. Aradhya M. K., Dangl G. S., Prins B. H. [et al]. Genetic structure and differentiation in cultivated grape *Vitis vinifera* L. *Genet. Res. (Cambridge)*. 2003. Vol. 81. P. 179–192.
46. Arroyo-Garcia R., Martinez-Zapater J. M. Development and characterization of new microsatellite markers for grape. *Vitis*. 2004. Vol. 43. № 4. P. 175–178.
47. Ashley M. V. Plant parentage, pollination and dispersal : how DNA microsatellites have altered the landscape. *Crit. Rev. Plant Sci.* 2010. Vol. 29. № 3. P. 148–161.
48. Battilana J., Costantini L., Emanuelli F. [et al.]. The 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase gene co-localizes with a major QTL affecting monoterpene content in grapevine. *Theor. Appl. Genet.* 2009. Vol. 118. № 4. P. 653–669.
49. Bautista J., Dangl G. S., Yang J. [et al.]. Use of genetic markers to assess pedigrees of grape cultivars and breeding program selections. *Am. J. Enol. Viticult.* 2008. Vol. 59. № 3. P. 248–254.
50. Bergamini C., Cardone M. F., Anaclerio A. [et al.]. Validation assay of p3_VvAGL11 marker in a wide range of genetic background for early selection of stenospermocarpy in *Vitis vinifera* L. *Mol. Biotechnol.* 2013. Vol. 54. № 3. P. 1021–1030.
51. Bertrand C., Collard Y., Mackill D. J. Marker-assisted selection : an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philos Tr. R. Soc. B.* 2008. Vol. 363. № 1491. P. 557–572.

52. Bešlić Z., Todić S., Korać N. [et al.]. Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Serbia. *Vitis*. 2012. Vol. 51. 4. P. 183–189.
53. Bocharova V., Mulukina N., Kovaliova I. [et al.]. Differentiation and identification of grapevine accessions of Ukraine by means of molecular markers. *Mitteilungen Klosterneuburg*. 2012. Vol. 62. № 4. P. 154–160.
54. Bohn M., Utz H. F., Melchinger A. E. Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs and SSRs and their use for predicting progeny variance. *Crop Science*. 1999. Vol. 39. P. 228–237.
55. Bouquet A. Grapevines and Viticulture. *Adam–Blondon, F. Martinez-Zapater, J. M. Kole C. (ed.). Genetics, Genomics, and Breeding of Grapes*. CRC Press, 2011.
56. Bouquet A., Danglot Y. Inheritance of seedlessness in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*. 1996. Vol. 35. P. 35–42.
57. Bouquet A. The vine and its genetic diversity (a review). *Proc. 29th Int. Congr. Vine and Wine, 25–30 June 2006*. Logroño, Spain. *Progr Agri Vitic* 125: 91–102 (in French with English summary), 2008.
58. Boursiquot J. M., Lacombe T., Laucou V. [et al.]. Parentage of Merlot and related winegrape cultivars of southwestern France: discovery of the missing link. *Aust. J. Grape Wine R.* 2009. Vol. 15. P. 144–155.
59. Bowers J. E., Dangi G. S., Meredith C. P. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. *Am. J. Enol. Viticult.* 1999. Vol. 50. № 3. P. 243–246.
60. Bowers J. E., Meredith C. P. The parentage of a classic wine grape Cabernet Sauvignon. *Nature genetics*. 1997. Vol. 16. № 1. P. 84–87.
61. Bowers J., Boursiquot J. M., This P. [et al.]. Historical genetics: the parentage of Chardonnay, Gamay and other wine grapes of northeastern France. *Sci*. 1999. Vol. 285. № 5433. P. 1562–1565.

62. Bowers J. E., Dangl G. S., Vignani R., Meredith C. P. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). *Genome*. 1996. Vol. 39. P. 628–633.
63. Bulgarian Vitis Database [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.bulvitis-db.com/cgi-bin/webdata_BVD.pl?cgifunction=user
64. Cabezas J. A., Cervera M. T., Ruiz-Garcia L. [et al.]. A genetic analysis of seed and berry weight in grapevine. *Genome*. 2006. Vol. 49. № 12. P. 1572–1585.
65. Cercueil A., Bellemain E., Manel S. Parente: computer program for parentage analysis. *J. Hered.* 2002. Vol. 93. № 6. P. 458–459.
66. Cipriani G., Marrazzo M. T., Di Gaspero G. [et al.]. A set of microsatellite markers with long core repeat optimized for grape (*Vitis* spp.) genotyping [Электронный ресурс]. *BMC Plant Biology*. 2008. Vol. 8. Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/8/127>
67. Cipriani G., Spadotto A., Jurman L. [et al.]. The SSR-based molecular profile of 1005 grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions uncovers new synonymy and parentages, and reveals a large admixture amongst varieties of different geographic origin. *Theor. Appl. Genet.* 2010. Vol. 121. № 8. P. 1569–1585.
68. Conner P., Gunawan G., Clark J. Characterization of the p3_VvAGL11 marker for stenospermocarpic seedlessness in *Euvitis* × *Muscadinia* grape hybrid progenies. *J Amer Soc Hort Sci.* 2018. Vol. 143. P. 167–172.
69. Convention on Biological Diversity [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.cbd.int/convention/text/default.shtml>
70. Crespan M. The parentage of Muscat of Hamburg. *Vitis*. 2003. Vol. 42. № 4. P. 193–197.
71. Crespan M., Coletta A., Crupi P. [et al.]. Malvasia nera di Brindisi/Lecce'grapevine cultivar (*Vitis vinifera* L.) originated from «Negroamaro» and «Malvasia bianca lunga». *Vitis*. 2008. Vol. 47. № 4. P. 205–212.

72. Crespan M., Crespan G., Giannetto S. [et al.]. «Vitouska» is the progeny of «Prosecco tondo» and «Malvasia bianca lunga». *Vitis*. 2007. Vol. 46. № 4. P. 192–194.
73. Dalbo M. A., Ye G. N., Weeden N. F. [et al.]. Marker-assisted selection for powdery mildew resistance in grapes. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 2001. Vol. 26. № 1. P. 83–89.
74. Dallakyan M., Esoyan S., Gasparyan B. [et al.]. Genetic diversity and traditional uses of aboriginal grape (*Vitis vinifera* L.) varieties from the main viticultural regions of Armenia. *Genet Resour Crop Evol.* 2020. P. 1–26.
75. Dangl G. S., Mendum M. L., Prins B. H. [et al.]. Simple sequence repeat analysis of a clonally propagated species: a tool for managing a grape germplasm collection. *Genome*. 2001. Vol. 44. № 3. P. 432–438.
76. De Lorenzis G., Imazio S., Biagini B. [et al.]. Pedigree reconstruction of the Italian grapevine Aglianico (*Vitis vinifera* L.) from Campania. *Mol. biotechnol.* 2013. Vol. 54. № 2. P. 634–642.
77. Delseny M., Laroche M., Penon P. Delseny M. Detection of sequences with Z-DNA forming potential in higher plants. *Biochem. Bioph. Res. Co.* 1983. Vol. 116. № 1. P. 113–120.
78. Descripteurs de la Vigne (*Vitis* spp.). Union internationale pour la protection des obtentions végétales, Genève, Suisse / Office International de la Vigne et du Vin, Paris, France, Institut international des ressources phylogénétiques. Rome, Italie, 1997. P. 62.
79. Dettweiler E., Jung A., Zyprian E., Topfer R. Grapevine cultivar Mueller-Thurgau and its true-to-type descent. *Vitis*. 2000. Vol. 39. № 2. P. 63–65.
80. Di Gaspero G., Cipriani G., Marrazzo M. T. [et al.]. Isolation of (AC)_n-microsatellites in *Vitis vinifera* L. and analysis of genetic background in grapevines under marker assisted selection. *Mol. Breeding*. 2005. Vol. 15. № 1. P. 11–20.
81. Di Gaspero G., Copetti D., Coleman C. [et al.]. Selective sweep at the *Rpv3* locus during grapevine breeding for downy mildew resistance. *Theor. Appl. Genet.* 2012. Vol. 124. № 2. P. 277–286.

82. Dokupilova I., Migliaro D., Mihalik D. [et al.]. Genotyping of *Vitis vinifera* L. within the Slovak national collection of genetic resources. *Open Life Sciences*. 2014. Vol. 9. № 8. P. 761–767.
83. Doligez A., Adam–Blondon A. F., Cipriani G. [et al.]. An integrated SSR map of grapevine based on five mapping populations. *Theor. Appl. Genet.* 2006. Vol. 113. № 3. P. 369–382.
84. Doligez A., Bouquet A., Danglot Y. [et al.]. Genetic mapping of grapevine (*Vitis vinifera* L.) applied to the detection of QTLs for seedlessness and berry weight. *Theor. Appl. Genet.* 2002. Vol. 105. № 5. P. 780–795.
85. Doulati-Baneh H., Mohammadi S. A., Labra M. Genetic structure and diversity analysis in *Vitis vinifera* L. cultivars from Iran using SSR markers. *Sci. Hortic.* 2013. Vol. 160. P. 29–36.
86. Duchene E., Butterlin G., Claudel P. [et al.]. A grapevine (*Vitis vinifera* L.) deoxy–D–xylulose synthase gene colocalizes with a major quantitative trait loci for terpenol content. *Theor. Appl. Genet.* 2009. Vol. 118. № 3. P. 541.
87. Dzhambazova T., Hvarleva T., Hadjinicoli A. [et al.]. Characterization of grapevine rootstocks using microsatellite markers. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 2007. Vol. 21. № 1. P. 58–62.
88. Dzhambazova T., Tsvetkov A., I. Simeonov [et al.]. Genetic diversity and relationships of indigenous and newly bred Bulgarian grape cultivars assessed by nuclear and chloroplast markers. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 2012. Vol. 46. № 2. P. 113–121.
89. 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. Vol. 48. № 3. P. 115–121.
90. Eibach R., Zyprian E., Welter L. [et al.]. The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. *Vitis*. 2007. Vol. 46. № 3. P. 120–126.

91. Eisen J. A. Mechanistic basis of microsatellite instability. *D. B. Goldstein, C. Schlotterer editors. Microsatellites: Evolution and Applications*. Oxford : Oxford University Press, 1999.
92. Emanuelli F., Lorenzi S., Grzeskowiak L. [et al.]. Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grape. *BMC Plant Biol.* 2013. Vol. 13. № 39. РЕЖИМ ДОСТУПУ: <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/13/39>
93. Fatahi R., Ebadi A., Bassil N. [et al.]. Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers. *Vitis*. 2003. Vol. 42. № 4. P. 185–192.
94. Fernandez L., Doligez A., Lopez G. [et al.]. Somatic chimerism, genetic inheritance, and mapping of the fleshless berry (flb) mutation in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Genome*. 2006. Vol. 49. № 7. P. 721–728.
95. Fischer B. M., Salakhutdinov I., Akkurt M. [et al.]. Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine. *Theor. Appl. Genet.* 2004. Vol. 108. № 3. P. 501–515.
96. Galbacs Z., Molnar S., Halasz G. [et al.]. Identification of grapevine cultivars using microsatellite-based DNA barcodes. *Vitis*. 2009. Vol. 48. № 1. P. 17–24.
97. Genres081. РЕЖИМ ДОСТУПУ: <http://www.genres.de/>
98. Gerber S., Chabrier P., Kremer O. Famos: a software for parentage analysis using dominant, codominant and uniparentally inherited markers. *Mol. Ecol. Notes*. 2003. Vol. 3. № 3. P. 479–481.
99. Grape Microsatellite Collection. РЕЖИМ ДОСТУПУ: <http://meteo.iasma.it/genetica/gmc.html>
100. GrapeGen06. РЕЖИМ ДОСТУПУ: <http://www1.montpellier.inra.fr/grapegen06/>
101. Grimplet J., Dickerson J., Adam-Blondon F., Cramer G. Bioinformatics tools in grapevine genomics. *Genetics, Genomics, and Breeding of Grapes*. Adam-Blondon, A. F., Martinez-Zapater, J. M., Kole C. (ed.). CRC Press, 2011.

102. Hadadinejad M., Ebadi A., Naghavi M. R., Nikkhah R. Genealogy and molecular diversity of Iranian grapevine progenies. *J. Agric. Sci. Technol.* 2011. Vol. 13. P. 1147–1161.
103. Hagelberg E., Gray I. C., Jeffreys A. J. Identification of the skeletal remains of a murder victim by DNA analysis. *Nature.* 1991. Vol. 352. P. 427–429.
104. Hajdu E. Magyar szőlőfajták (Varieties of Hungarian Grapes). Mezőgazda Kiadó, Budapest, 2003.
105. Hancock J. M. Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. *D. B. Goldstein, C. Schlotterer editors. Microsatellites: Evolution and Applications.* Oxford: Oxford University Press, 1999. P. 1–9.
106. Heuertz M., Goryslavets S., Hausman J. F., Risovanna V. Characterization of grapevine accessions from Ukraine using microsatellite markers. *Am. J. Enol. Viticult.* 2008. Vol. 59. № 2. P. 169–178.
107. Hur Y. Y., Jung C. J., Noh J. H., Jung S. M. Analysis of genetic relationship of seedless germplasm and validation assay of the p3_VvAGL11 marker linked to seedlessness in grapevines. *Korean Journal of Breeding Science.* 2014. Vol. 46. № 1. P. 28–36.
108. Hvarleva T., Rusanov K., Lefort F. [et al.]. Genotyping of Bulgarian *Vitis vinifera* L. cultivars by microsatellite analysis. *Vitis.* 2004. Vol. 43. № 1. P. 27
109. Imazio S., Maghradze D., De Lorenzis G. [et al.]. From the cradle of grapevine domestication : molecular overview and description of Georgian grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm. *Tree Genet. Genomes.* 2013. Vol. 9. P. 641–658.
110. Isci B., Altındisli A., Söylemezoglu G. [et al.]. Genome mapping in F1 population of crossbred Italia and Mercan grape varieties: Establishment of AFLP and SSR linkage groups towards significant morphological characters and fungal diseases. *Afr. J. Biotechnol.* 2010. Vol. 9. № 36. P. 5879–5886.

111. Jaillon O., Aury J. M., Noel B. [et al.]. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature*. 2007. Vol. 449. P. 463–467.
112. Jones A., Ardren W. R. Methods of parentage analysis in natural populations. *Molecular ecology*. 2003. Vol. 12. № 10. P. 2511–2523.
113. Jones G. V., White M. A., Cooper O. R., Storchmann K. Climate change and global wine quality. *Climat Change*. 2005. Vol. 73. P. 319–343.
114. Kalia R. K., Rai M. K., Kalia S. [et al.]. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica*. 2011. Vol. 77. P. 309–334.
115. Karaagac E., Vargas A., De Andres M. T. [et al.]. Marker assisted selection for seedlessness in table grape breeding. *Tree Genet. Genomes*. 2012. Vol. 8. № 5. P. 1003–1015.
116. Karastan O., Mulukina N., Papina O. [et al.]. Microsatellite characteristics of grapevine cultivars included to Ukrainian state register of plant varieties. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України*. 2015. № 3. Режим доступу: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&IMAGE_FILE_DOWNLOAD=1&Image_file_name=PDF/Nd_2015_3_15.pdf
117. Karastan O. M., Muliukina N. A., Papina O. S. Verification of Grape Pedigree by Microsatellite Analysis. *Cytol Genet*. 2018. Vol. 52. № 5. P. 331–342.
118. Katula-Debreceni D. Molecular identification of fungi resistant grape genotypes: PhD Thesis. Gödöllő, 2011. 29 p.
119. Katula-Debreceni D., Lencses K., Szokea A. [et al.]. Marker-assisted selection for two dominant powdery mildew resistance genes introgressed into a hybrid grape population. *Sci. Hortic*. 2010. Vol. 126. № 4. P. 448–453.
120. Katula-Debreceni D., Kiss E., K. Lencses A. [et al.]. Marker assisted selection for powdery and downy mildew resistance genes of different origin in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Proceedings Workshop on the role of Marker Assisted Selection in breeding varieties for organic agriculture (Wageningen, NL, 25–27 February, 2009)*. Wageningen, 2009. P. 57.

121. Labra M., Moriondo G., Schneider A. [et al.]. Biodiversity of grapevines (*Vitis vinifera* L.) grown in the Aosta Valley. *Vitis*. 2015. Vol. 41. № 2. P. 89–92.
122. Lacombe T., Michel J., Laucou B. V. [et al.]. Large-scale parentage analysis in an extended set of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2013. Vol. 126. № 2. P. 401–414.
123. Lagercrantz U., Ellegren H., Andersson L. The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. *Nucleic Acids Research*. 1993. Vol. 21. № 5. P. 1111–1115.
124. Laucou V., Lacombe T., Dechesne F. [et al.]. High throughput analysis of grape genetic diversity as a tool for germplasm collection management. *Theor. Appl. Genet.* 2011. Vol. 122. № 6. P. 1233–1245.
125. Leao P. C., Cruz C. D., Motoike S. Y. Diversity and genetic relatedness among genotypes of *Vitis* spp. using microsatellite molecular markers. *Rev. Bras. Frutic.* 2013. Vol. 35. № 3. P. 799–808.
126. Leao P. C. de S., Motoike S. Y. Genetic diversity in table grapes based on RAPD and microsatellite markers. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 2011. Vol. 46. № 9. P. 1035–1044.
127. Leão P. C. S. Recursos genéticos de videira (*Vitis* spp.) : análise da diversidade e caracterização da coleção de germoplasma da Embrapa semi-árido: PhD Thesis. *Tese (Doutorado): Universidade Federal de Viçosa*, 2008. 115 p.
128. Litt M., Luty J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac-muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.* 1989. Vol. 44. № 3. P. 397–401.
129. Lopes M. S., dos Santos M. R., Dias J. E. [et al.]. Discrimination of Portuguese grapevines based on microsatellite markers. *J. Biotechnol.* 2006. Vol. 127. № 1. P. 34–44.
130. Lopes M. S., Sefc K. M., Dias E. E. [et al.]. The use of microsatellites for germplasm management in a Portuguese grapevine collection. *Theor. Appl. Genet.* 1999. Vol. 99. № 3–4. P. 733–739.

131. Lopez-Miranda S., Yuste J. Influence of flowers per cluster, fruit-set and berry weight on cluster weight in Verdejo grapevine (*V. vinifera* L.). *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 2004. Vol. 38. P. 41–47.
132. Lords H., Wenzel G. Molecular marker systems in plant breeding and crop improvement. 2005. XXII. 476 p. Режим доступа: <http://www.springer.com/978-3-540-20689-7>
133. Mahanil S., Reisch B. I., Owens C. L. [et al.]. Resistance gene analogs from *Vitis cinerea*, *Vitis rupestris* and *Vitis* hybrid Horizon. *Am. J. Enol. Viticult.* 2007. Vol. 58. № 4. P. 484–493.
134. Marrano A., Grzeskowiak L., Moreno Sanz P., Lorenzi S. [et al.]. Genetic diversity and relationships in the grapevine germplasm collection from Central Asia. *Vitis*. 2015. Vol. 54. P. 233–237.
135. Marsal G., Bota J., Martorell A. [et al.]. Local cultivars of *Vitis vinifera* L. in Spanish islands: Balearic Archipelago. *Scientia Horticulturae*. 2017. Vol. 226. P. 122–132.
136. Marsal G., Mateo-Sanz J., Canals J. [et al.]. SSR analysis of 338 accessions planted in Penedes (Spain) reveals 28 unreported molecular profiles of *Vitis vinifera* L. *Am. J. Enol. Viticult.* 2016. Vol. 67. P. 466–470.
137. Marshall T. C., Slate J., Kruuk L., Pemberton J. M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* 1998. Vol. 7. № 10. P. 639–655.
138. Mejia N., Gebauer M., Munoz L. [et al.]. Identification of QTLs for seedlessness, berry size, and ripening date in a seedless x seedless table grape progeny. *Am. J. Enol. Viticult.* 2007. Vol. 58. № 4. P. 499–507.
139. Mejia N., Soto B., Guerrero M. [et al.]. Molecular, genetic and transcriptional evidence for a role of VvAGL11 in stenospermocarpic seedlessness in grapevine. *BMC Plant Biol.* 2011. Vol. 11. № 57. Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/11/57>

140. Merdinoglu D., Butterlin G., Baur C., Balthazard J. Comparison of RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for genetic diversity analysis in *Vitis vinifera* L. *Acta Hort.* 1998. Vol. 528. P. 193–195.
141. Merdinoglu D., Butterlin G., Bevilacqua L. [et al.]. Development and characterization of a large set of microsatellite markers in grapevine (*Vitis vinifera* L.) suitable for multiplex PCR. *Mol. Breeding*. 2005. Vol. 15. № 4. P. 349–666.
142. Meredith C. P., Bowers J. E., Riaz S. [et al.]. The identity and parentage of the variety known in California as Petite Sirah. *Am. J. Enol. Viticult.* 1999. Vol. 50. P. 236–242.
143. Merkouropoulos G., Ganopoulos I., Argiriou A. [et al.]. Ampelographic description, berry oenological traits, and molecular characterisation of grapevine varieties grown in northern Greece. *Ampelos: 3rd International Symposium, 30–31 May 2013: proceedings of conference*. Santorini Island, Greece, 2013. – Режим доступа:
http://ampelos2013.conferences.gr/fileadmin/ampelos2013/Papers/Ampelos_2013_Nikolaou.pdf
144. Ibanez J., Velez M. D., de Andrés M. T. [et al.]. Molecular markers for establishing distinctness in vegetatively propagated crops: a case study in grapevine. *Theor. Appl. Genet.* 2009. Vol. 119. № 7. P. 1213–1222.
145. Molnar S., Galbacs Z., Halasz G. [et al.]. Marker assisted selection (MAS) for powdery mildew resistance in a grapevine hybrid family. *Vitis*. 2007. Vol. 46. № 4. P. 212–213..
146. Morgante M., Olivieri A. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *The Plant journal: for cell and molecular biology*. 1993. Vol. 3. № 1. P. 175–182.
147. National Center for Biotechnology Information. Режим доступа:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
148. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 1978. Vol. 89. № 3. С. 583–590.

149. Ocares N., Jimenez N., Nunez R. [et al.]. Unraveling the deep genetic architecture for seedlessness in grapevine and the development and validation of a new set of markers for *VviAGL11*-based gene-assisted selection. *Genes (Basel)*. 2020. Vol. 11. № 2. P. 1–35.
150. Paetkau D., Calvert W., Stirling I., Strobeck C. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol. Ecol.* 1995. Vol. 4. № 3. P. 347–354.
151. Paneva G. E., Zacharieva S. I., Yaneva J. N. A simplified procedure for DNA silver staining in polyacrylamide gels. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*. 2000. Vol. 53. № 10. P. 10–95.
152. Pellerone F. I., Edwards K. J., Thomas M. R. Grapevine microsatellite repeats: isolation, characterisation and use for genotyping of grape germplasm from Southern Italy. *Vitis*. 2001. Vol. 40. № 4. P. 179–186.
153. Pelsy F. Molecular and cellular mechanisms of diversity within grapevine varieties. *Heredity*. 2010. Vol. 104. № 4. P. 331–340.
154. Pinto-Carnide O., Martin J. P., Leal F. [et al.]. Characterization of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars from Northern Portugal using RAPD and microsatellite markers. *Vitis*. 2003. Vol. 42. № 1. P. 23–25.
155. Ramezani A., Haddad R., Dorostkar M. [et al.]. Evaluation of genetic diversity of Iranian grapevine accessions using microsatellite markers. *Vitis*. 2009. Vol. 48. № 3. P. 151–152.
156. Regner F., Wiedeck E., Stadlbauer A. Differentiation and identification of White Riesling clones by genetic markers. *Vitis*. 2000. Vol. 39. № 3. P. 103–107.
157. Reisch B., Peterson D., Pool R. [et al.]. Table grape varieties for cool climates. *Cornell Info. Bul.* 1993. P. 234.
158. Riaz S., Tenscher C., Rubin J. [et al.]. Fine-scale genetic mapping of two Pierce's disease resistance loci and a major segregation distortion region on chromosome 14 of grape. *Theor. Appl. Genet.* 2008. Vol. 117. № 5. P. 671–681.

159. Riaz S., Garrison K. E., Dangl J. [et al.]. Genetic divergence and chimerism within ancient asexually propagated winegrape cultivars. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 2002. Vol. 127. № 4. P. 508–514.
160. Riaz S., Boursiquot J. M., Dangl G. S. [et al.]. Identification of mildew resistance in wild and cultivated Central Asian grape germplasm. *BMC Plant Biol.* 2013. Vol. 13. № 149. Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/13/149/>
161. Riaz S., Krivanek F., Xu K., Walker M. A. Refined mapping of the Pierce's disease resistance locus, PdR1, and sex on the extended genetic map of *Vitis rupestris* x *V. Arizonica*. *Theor. Appl. Genet.* 2006. Vol. 113. № 7. P. 1317–1329.
162. Riaz S., Tenschler A. C., Graziani R. [et al.]. Using marker-assisted selection to breed Pierce's disease-resistant grapes. *Am. J. Enol. Viticult.* 2009. Vol. 60. № 2. P. 199–207.
163. Ribaut J. M., Hoisington D. A. Marker-assisted selection: new tools and strategies. *Trends Plant Sci.* 1998. Vol. 3. № 6. P. 236–239.
164. Royo C., Torres-Perez R., Mauri N. [et al.]. The major origin of seedless grapes is associated with a missense mutation in the MADS-box gene *VviAGL11*. *Plant Physiology.* 2018. Vol. 177. № 3. P. 1234–1253.
165. Saiki R. K., Scharf S., Faloona F. [et al.]. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Sci.* 1985. Vol. 230. № 4732. P. 1350–1354.
166. Salinari F., Giosue S., Tubiello F. N. [et al.]. Downy mildew (*Plasmopara viticola*) epidemics on grapevine under climate change. *Global Change Biol.* 2006. Vol. 12. P. 1299–1307.
167. Santana J. C., Heuertz M., Arranz C. [et al.]. Genetic structure, origins and relationships of grapevine cultivars from the Castilian plateau of Spain. *Am. J. Enol. Viticult.* 2010. Vol. 61. № 2. P. 214–224.
168. Schuck M. R., Moreira F. M., Guerra M. P. [et al.]. Molecular characterization of grapevine from Santa Catarina, Brazil, using microsatellite markers. *Pesquisa Agropecuária Brasileira.* 2009. Vol. 44. № 5. P. 487–495.

169. Schuck M. R., Biasi L. A., Moreira F. M. [et al.]. Use of microsatellite markers to assess the identity and genetic diversity of *Vitis labrusca* and *Vitis rotundifolia* cultivars. *Acta Sci.-Agron.* 2014. Vol. 36. № 3. P. 301–308.
170. Sefc K. M., Steinkellner H., Wagner H. W. [et al.]. Application of microsatellite markers to parentage studies in grapevine. *Vitis.* 1997. Vol. 36. № 4. P. 179–183.
171. Sefc K. M., Regner F., Glössl J., Steinkellner H. Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. *Vitis.* 1998. Vol. 37. № 1. P. 15–20.
172. Sefc K. M., Lopes M. S., Lefort F. [et al.]. Microsatellite variability in grapevine cultivars from different European regions and evaluation of assignment testing to assess the geographic origin of cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 2000. Vol. 100. P. 498–505.
173. Sefc K. M., Steinkellner H., Glöss J. [et al.]. Reconstruction of a grapevine pedigree by microsatellite analysis. *Theor. Appl. Genet.* 1998. Vol. 97. № 1–2. P. 227–231.
174. Sefc K. M., Regner F. J., Turetschek E. [et al.]. Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. *Genome.* 1999. Vol. 42. № 3. P. 367–373.
175. Sefc K. M., Lefort F., Grando S. Microsatellite markers for grapevine: A state of the art. *K. A. Roubelakis-Angelakis editor.* Amsterdam : Kluwer Publishers, 2001. P. 433–463.
176. Slavov G. T., Howe G. T., Gyaourova A. V. [et al.]. Estimating pollen flow using SSR markers and paternity exclusion: accounting for mistyping. *Mol. Ecol.* 2005. Vol. 14. № 10. P. 3109–3121.
177. Stajner N., Rusjan D., Korosec-Koruza Z., Javornik B. Genetic characterization of old slovenian grapevine varieties of *Vitis vinifera* L. by microsatellite genotyping. *Am. J. Enol. Viticult.* 2011. Vol. 62. № 2. P. 250–255.

178. Štajner N., Tomić L., Ivanišević D. [et al.]. Microsatellite inferred genetic diversity and structure of Western Balkan grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Tree Genet. Genomes*. 2014. Vol. 10. № 1. P. 127–140.
179. Stover E., Aradhya M., Yang J. [et al.]. Investigations into the origin of «Norton» grape using SSR markers. *Proceedings of the Florida State Horticulture Society*. 2009. Vol. 122. P. 19–24.
180. Swiss Vitis microsatellite database. Режим доступа: <http://www1.unine.ch/svmd/>
181. Szülő-utód kapcsolatok elemzése Seibel, Seyvevillard eredetű magyar nemesítésű szőlő fajtákban (Parentage analysis in Hungarian grape cultivars of Seibel, Seyve-Villars origin). Режим доступа: http://www.tankonyvtar.hu/en/tartalom/tamop422b/2010-0011_doktori_iskola_reszegysegek_hetedik_kotet_ntdi_toth-lencses_andrea_kitti_2013/publikacio_186.pdf
182. Tangolar S. G., Soydam S., Bakir M. [et al.]. Genetic analysis of grapevine cultivars from the eastern Mediterranean region of Turkey, based on SSR markers. *Tarim Bilim Derg.* 2009. Vol. 15. № 1. P. 1–8.
183. Tantasawat P. A., Poolsawat O., Prajongjai T. [et al.]. Association of RGA-SSCP markers with resistance to downy mildew and anthracnose in grapevines. *Genet. Mol. Res.* 2012. Vol. 11. № 3. P. 1799–1809.
184. Tassie L. Vine identification – knowing what you have. *Editor G.a.W.R.a.D. Corporation*, 2010. Режим доступа: <http://research.wineaustralia.com/wp-content/uploads/2012/09/2010-08-FS-Vine-Identification.pdf>
185. Tessier C., David J., This P. [et al.]. Optimization of the choice of molecular markers for varietal identification in *Vitis vinifera* L. *Theor. Appl. Genet.* 1999. Vol. 98. P. 171–177.
186. This P., Jung A., Voccacci P. [et al.]. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 2004. Vol. 109. № 7. P. 1448–1458.

187. This P., Lacombe T., Thomas M. R. Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genet.* 2006. Vol. 22. № 9. P. 511–519.
188. Thomas M. R., Scott N. S. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphism when analyzed as sequence-tagged sites (STSs). *Theor. Appl. Genet.* 1993. Vol. 86. P. 985–990.
189. Upadhyay A., Aher L. B., Shinde M. P. [et al.]. Microsatellite analysis to rationalize grape germplasm in India and development of a molecular database. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization.* 2013. Vol. 11. № 3. P. 225–233.
190. Vafae Y. Ghader N., Khadivi A. Morphological variation and marker-fruit trait associations in a collection of grape (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae.* 2017. Vol. 225. P. 771–782.
191. Vargas A. M., Andrés M. T., Borrego J., Ibáñez J. Pedigrees of fifty table-grape cultivars. *Am. J. Enol. Viticult.* 2009. Vol. 60. № 4. P. 525–532.
192. Velasco R., Zharkikh A., Troggio M. [et al.]. A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety [Электронный ресурс]. *Plos One.* 2007. Vol. 2. № 12. Режим доступа: <http://www.biomedsearch.com/attachments/00/18/09/47/18094749/pone.0001326.pdf>
193. Veloso M. M., Almandanim M. C., Baleiras-Couto M. [et al.]. Microsatellite database of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars used for wine production in Portugal. *Cienc. Tec. Vitivinic.* 2010. Vol. 25. № 2. P. 53–61.
194. Vezzulli S., Troggio M., Coppola G. [et al.]. A reference integrated map for cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.) from three crosses, based on 283 SSR and 501 SNP-based markers. *Theor. Appl. Genet.* 2008. Vol. 117. № 4. P. 499–511
195. Vignani R., Scali M., Masi E., Cresti M. Genomic variability in *Vitis vinifera* L. «Sangiovese» assessed by microsatellite and non-radioactive AFLP test. *Electron. J. Biotechnol.* 2002. Vol. 5. № 1. Режим доступа: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-34582002000100007

196. Vitis International Variety Catalogue. Режим доступа: <http://www.vivc.de/>
197. Vouillamaoz J. F., Monaco A., Constantini L. [et al.]. The parentage of «Sangiovese», the most important Italian wine grape. *Vitis*. 2007. Vol. 46. № 1. P. 19–22.
198. Vouillamaoz J. F., McGovern P. E., Ergul A. [et al.]. Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia. *Plant Genetic Resources : characterization and utilization*. 2006. Vol. 4. № 2. P. 144–158.
199. Vouillamaoz J. F., Arnold C. Microsatellite pedigree reconstruction provides evidence that «Müller-Thurgau» is a grandson of «Pinot» and «Schiava Grossa». *Vitis*. 2010. Vol. 49. № 2. P. 63–65.
200. Wagner H. W., Sefc K. M. Identity 4.0. Centre for applied genetics. *Vienna: University of Agricultural Sciences*, 1999.
201. Welter L. J., Göktürk-Baydar N., Akkurt M. [et al.]. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Mol. Breeding*. 2007. Vol. 20. № 4. P. 359–374.
202. Wright S. Evolution and the genetics of population. Variability within and among natural populations. Chicago, Illinois: University Chicago Press, 1978. 580 c.
203. Xu K., Riaz S., Roncoroni N. C. [et al.]. Genetic and QTL analysis of resistance to *Xiphinema index* in a grapevine cross. *Theor. Appl. Genet.* 2008. Vol. 116. P. 305–311.
204. Xu Yu. Crouch J. H. Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice. *Crop Sci.* 2008. Vol. 48. P. 391–407.
205. Zarouri B., Vargas A. M., Gaforio L. [et al.]. Whole-genome genotyping of grape using a panel of microsatellite multiplex PCRs. *Tree Genet. Genomes*. 2015. Vol. 11. № 17. P. 1–15.

206. Zhang X. K., Walker R. R., Stevens R. M., Prior L. D. Yield-salinity relationships of different grapevine (*V. vinifera* L.) scion-rootstock combinations. *J. Grape Wine R.* 2002. Vol. 8. № 3. P. 150–156.
207. Zhiqian L. Tiemei L. Breeding new seedless grapes using in ovulo embryo rescue and marker-assisted selection. *In Vitro Cell. Dev.-Plant.* 2015. Vol. 51. № 3. P. 241–248.

Додаток А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові статті:

1. **Карастан О. М.** Реконструкція генотипів та аналіз походження сортів винограду Северний, Одеський стійкий та Декоративний. *Вісник Одеського національного університету. Біологія*. 2015. Т. 20. Вип. 1. № 36. С. 82–91. DOI: 10.18524/2077-1746.2015.1(36).56673. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
2. **Karastan O.**, Mulukina N., Papina O., Gerus L., Kovalyova I. Microsatellite characteristics of grapevine cultivars included to Ukrainian state register of plant varieties [Електронний ресурс]. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України*. 2015. № 3. Режим доступу: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&IMAGE_FILE_DOWNLOAD=1&Image_file_name=PDF/Nd_2015_3_15.pdf Заголовок з екрана. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
3. **Карастан О.**, Мулюкіна Н., Папіна О., Плачинда Г. Поліморфізм інтрагенного мікросателітного маркера p3_VvAGL11, зчепленого із ознакою безнасінності у винограду (*V. vinifera* L.). *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2015. Вип. 70. С. 90–99. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
4. **Карастан О. М.** Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С., Ковальова І. А. Оцінка генетичної подібності безнасінних сортів винограду ампелографічної колекції Національного наукового центру

- «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» та їх ймовірних батьківських форм. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій*. 2015. Вип. 1(18). С. 60–64. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
5. **Карастан О.**, Мулюкіна Н., Папіна О. Молекулярно-генетичний аналіз батьківських та прабатьківських форм для верифікації походження зразків винограду *V. vinifera* L. *Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. Серія: Біологічні науки*. 2017. Вип. 13 (362). С. 15–20. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
 6. **Карастан О.**, Мулюкіна Н., Папіна О., Плачинда Г. Оцінка генетичного різноманіття винограду (*Vitis vinifera* L.) з використанням мікросателітних маркерів. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2018. Вип. 77. С. 53–61. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
 7. **Karastan O. M.**, Muliukina N. A., Papina O. S. Verification of Grape Pedigree by Microsatellite Analysis. *Cytology and Genetics*. 2018. Vol. 52. № 5. P. 331–342. DOI: 10.3103/S0095452718050031. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
 8. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С. Ідентифікація та походження безнасінневих сортів винограду колекції ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова». *Збірник наукових праць СГІ–НЦНС*. 2014. Вип. 24. № 64. С. 76–84. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*

9. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С., Ковальова І. А., Герус Л. В. Маркер-супутній добір за ознакою безнасіненності у винограду у гібридній популяції Кобзар × Русалка 3. *Аграрний вісник Причорномор'я. Біологічні науки*. 2014. Вип. 73. С. 49–57. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
10. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Папіна О. С. Мікросателітні профілі сортів та форм винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова». *Збірник наукових праць СГІ-НЦНС*. 2017. Вип. 29. № 69. С. 107–116. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
11. Мулюкіна Н. А., Ковалева І. А., Герус Л. В., **Карастан О. М.**, Небиш А. А., Маргарян К. С., Мелян Г. Г., Арутюнян Р. М. Фенотипическая и генотипическая характеристика межвидовых сортов винограда Опаловый и Бурмунк для получения перспективных гибридных форм. *Биологический журнал Армении*. 2014. Вып. 66. № 1. С. 103–107. *Особистий внесок – проведення мікросателітного аналізу матеріалу, формулювання висновків.*
12. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Плачинда Г. В., Папіна О. С., Герус Л. В., Ковальова І. А. Мікросателітний аналіз походження сортів та форм винограду селекції ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова». *Виноградарство і виноробство : міжвідом. тематич. наук. зб.* Одеса : ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова», 2014. Вип. 51. С. 139–144. *Особистий внесок – планування роботи, експериментальні дослідження, аналіз результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*
13. Власов В. В., Мулюкіна Н. А., Джабурия Л. В. [и др.]. Ампелографический атлас сортов и форм винограда селекции Национального научного центра «Институт виноградарства и виноделия

им. В. Е. Таирова». К. : Аграр. наука, 2014. 136 с. *Особистий внесок – експериментальні дослідження, аналіз результатів.*

14. Мулюкіна Н. А., **Карастан О. М.**, Папіна Е. С. ДНК-технології в изученні винограда. *Виноград* : монографія / под. ред. В. В. Власова. Одеса : Астропринт, 2018. С. 421-440. *Особистий внесок – експериментальні дослідження, аналіз результатів.*

Тези:

15. **Карастан О. М.**, Папіна Е. С., Росохатая Т. И., Плачинда Г. В. Маркерсопутствующий отбор бессемянных генотипов в селекции винограда. *Современные тенденции в сельском хозяйстве : тез. док. II Междунар. науч. Интернет-конференции*. Т. 1 (Казань, 10–11 октября 2013 года). Казань, 2013. С. 82–84.
16. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Папіна Е. С., Росохатая Т. И., Плачинда Г. В. Происхождение некоторых форм винограда селекции ННЦ «ИВиВ им. В. Е. Таирова». *Агротехнологии XXI века : концепции устойчивого развития : материалы междунар. конф., посвящ. 100-летию кафедры ботаники, защиты растений, биохимии и микробиологии (Воронеж, 17–18 апреля 2014 г.) : тезисы докл.* Воронеж, 2014. С. 341–346.
17. **Карастан О.**, Мулюкіна Н., Папіна Е. Оценка аллельного разнообразия микросателлитных локусов в исследовании генетических ресурсов винограда. *Генетика, физиология и селекция растений : сб. док. IV Междунар. конф. (Кишинев, 9–10 октября 2017 г.)*. Кишинев, 2017. Т. 1. С. 114–117.
18. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Папіна О. С. Сучасний дизайн сортів винограду *V. vinifera* L. за допомогою молекулярних маркерів. *Сучасна біологія рослин. Теоретичні та прикладні аспекти* : IV Міжнар. наук. конф. (Україна, Харків 9–10 жовтня 2018). Харків, 2018. С. 87–88.

Додаток Б

Загальні характеристики досліджуваних зразків винограду

№	Зразок (сорт/форма)	Напрямок використання	Колір ягоди	Формування насіння	Оригігатор	Входження до державного Реєстру сортів України
1	Агат донський	Технічний	Чорний	так	ВНИИВиВ им. Потапенко.	ні
2	Агат таїровський	Технічний	Чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
3	Айваз	Столовий	Чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
4	Аліготе	Технічний	Зелений	так	Франція	так
5	Альфонс Лавалле	Столовий	Чорний	так	Франція	ні
6	Аркадія	Столовий	Зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
7	Ароматний	Технічний	Зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
8	Афуз Алі	Столовий	Чорний	так	Невідомий	ні
9	Біанка	Столовий	Зелений	так	Дослідна станція виноградарства та виноробства університету сільського господарства та харчової промисловості Kölyuktető, Угорщина	так
10	Белградський безнасінневий	Столовий	зелений	ні	Дослідна станція виноградарства "Радміловац", Югославія	ні
11	Восток	Столовий	червоний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
12	Восторг	Столовий	зелений	так	ВНИИВиВ им. Потапенко.	так
13	Геркулес	Столовий	червоний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
14	Голубок	Технічний	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
15	Дністровський рожевий	універсальний	червоний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
16	Добриня	Підщепний	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
17	Жемчуг Саба	Столовий	зелений	так	А.Старк та М. Янош, Угорщина	ні
18	Етюд	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так

Продовж. дод. Б.

№	Зразок (сорт/форма)	Напрямок використання	Колір ягоди	Формування насіння	Оригінатор	Входження до державного Реєстру сортів України
19	Загадка	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
20	Загрей	Технічний	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
21	Золотистий устійчивий	універсальний	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
22	Ідилія мускатна	Технічний	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
23	Ілічівський ранній	Технічний	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
24	Interlaken	Столовий	зелений	ні	Сільськогосподарська експериментальна станція та ботанічний сад, Нью Йорк, США	ні
25	Іскорка	Технічний	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
26	Іршаї Олівер	Столовий	зелений	так	П. Кочиш, Угорщина	так
27	Каберне Совіньйон	Технічний	чорний	так	Франція	так
28	Кардинал	Столовий	чорний	так	Е. Снайдер, Каліфорнія, США	ні
29	Кардишах	Столовий	червоний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
30	Кишмиш ОСГІ	Столовий	зелений	ні	Одеський сільсько-господарський інститут (ОСГІ), Україна	ні
31	«Сірануш»	Столовий	зелений	ні	ВНИИР імені Н. І. Вавилова	ні
32	Кобзар	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
33	Комета	Столовий	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
34	Королева виноградників	Столовий	зелений	так	М. Янош, Угорщина	так
35	Королева таїровська	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
36	Ланжерон	Столовий	червоний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
37	Ланка	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
38	Марсельський чорний	Технічний	чорний	так	А. Бессон, Франція	так
39	Мечта	Столовий	зелений	ні	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні

Продовж. дод. Б.

№	Зразок (сорт/форма)	Напрямок використання	Колір ягоди	Формування насіння	Оригіна́тор	Входження до державного Реєстру сортів України
40	Мерло	Технічний	чорний	так	Франція	так
41	Молдова	Столовий	чорний	так	Науково-виробниче підприємство "Віерул", Молдова	так
42	Мускат гамбурзький	Столовий	чорний	так	Р. Сноу, Великобританія	так
43	Мускат жемчужний	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
44	Овідіопольський	Технічний	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
45	Огоньок таїровський	Столовий	червоний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
46	Одеський сувенір	Столовий	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
47	Одеський чорний	Технічний	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
48	Одисей	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
49	Опаловий	Технічний	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
50	Оригінал	Столовий	червоний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
51	Оригінал білий	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
52	Персей	Столовий	червоний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
53	Плевен устійчивий	Столовий	зелений	так	Інститут виноградарства та виноробства, м. Плевен, Болгарія	ні
54	Подарок селекціонера	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
55	Призер	Технічний	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
56	Приморський	Столовий	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
57	Ришельє	Столовий	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
58	Роднічок	Технічний	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
59	Ромулус	Столовий	зелений	ні	Сільськогосподарська експериментальна станція та ботанічний сад, Нью Йорк, США	ні
60	Рубін таїровський	Технічний	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
61	Рум'яний	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні

Продовж. дод. Б.

№	Зразок (сорт/форма)	Напрямок використання	Колір ягоди	Формування насіння	Оригінатор	Входження до державного Реєстру сортів України
62	Русалка 1	Столовий	зелений	ні	Інститут виноградарства та виноробства, м. Плевен, Болгарія	ні
63	Русалка 3	Столовий	чорний	ні	Інститут виноградарства та виноробства, м. Плевен, Болгарія	ні
64	Рушакі	Столовий	зелений	ні	НИИВВиП, Вірменія	ні
65	Селена	Технічний	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
66	Смена	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
67	Стійкий Докучаєвої	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
68	Сухолиманський білий	Технічний	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
69	Таїр	Столовий	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
70	Таїрян	Столовий	червоний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
71	Український 85	Столовий	червоний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
72	Flame seedless	Столовий	зелений	ні	Дж. Вейнбергер, Ф. Хармон, США	ні
73	Флора	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	так
74	Чарівний	Технічний	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
75	Чауш рожевий	Столовий	червоний	так	Туреччина	ні
76	Шардоне	Технічний	зелений	так	Франція	ні
77	Шкода	Універсальний	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
78	Янтар таїровський	Столовий	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
79	Ярило	Технічний	зелений	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні
80	40 лет Октября	Технічний	чорний	так	ННЦ "ІВіВ імені В. Є. Таїрова", Україна	ні

Додаток В

Перелік сортів винограду, алельні характеристики яких були залучені з відкритих літературних джерел для аналізу походження досліджуваних зразків винограду

Сорт	Джерело	Сорт	Джерело
Алікант Буше	[122, 196]	Фіолетовий ранній	[3]
Бабяска неагре	[122]	Шасла біла	[177, 171, 96, 191, 196]
Барбера	[119]	Чауш білий	[89, 160, 122, 178, 196]
Береке	[3]	Coarna neagra	[88, 196]
Бювье	[122, 181, 142]	Goecseji zamatos	[181]
Віллар блан	[181, 196]	Zala Gyoengye	[196]
Восторг	[196]	Heunisch weiss	[96, 122, 181, 196]
Вертеш Чіляга	[181]	Magdeleine noire des Charentes	[122]
Гузаль кара	[196]	Muscat rouge de Madere	[122]
Датье де Сен Вальє	[122]	Muscat fleur d'oranger	[122, 196]
Дим'ят	[40, 154, 198, 199]	Schiava grossa	[122, 191, 196]
Додреліабі	[196]	Varousset	[196]
Заграва	[неопубліковані дані]		
Ллійський	[3]		
Італія	[122, 127, 196]		
Ізабела	[127]		
Каберне фран	[122, 171, 196]		
Катта Курган	[122, 160, 196]		
Кишмиш чорний	[49, 122, 160, 191, 196]		
Кодрянка	[196]		
Коптчак	[122]		
Мадлен Анжеві	[96, 191, 196]		
Маленгр ранній	[122, 191, 196]		
Матяш Янош	[122, 191, 196]		
Мирний	[122]		
Мускат одеський	[53]		
Мускат александрійський	[96, 122, 191, 196]		
Мускат де Сен Вальє	[122]		
Мскхалі	[122, 198]		
Німранг	[96, 160, 196]		
Недельчев Магватлана	[122]		
Одеський ранній	[106]		
Онтаріо	[49, 196]		
Пехліван кара	[49, 196]		
Піно чорний	[96, 118, 179, 196]		
Плавай	[122, 179]		
Рупестріс ду Ло	[87, 122, 171]		
Самал	[3]		
Сапераві	[122, 198]		
Совіньйон білий	[122, 127, 171, 196]		
Султаніна	[118, 122, 127, 160, 196]		
Трамінер рожевий	[127, 171, 196]		
Пожоні білий	[122, 196]		

Додаток Г

Верифікація походження сортів

Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)									
Сорт (форма)	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Айваз</i>	135:137	188:196	251:253	178:182	239:243	244:258	242:274	254:258	254:258
♀ Молдова	135:137	190:196	245:253	178:191	239:243	244:0	234:242	250:258	254:258
♂ Кардинал	137:137	188:188	251:251	176:182	229:239	258:258	250:274	254:258	254:274
Айваз = Молдова × Кардинал									
<i>Аліготе</i>	135:139	196:198	241:241	176:186	231:243	242:242	234:242	246:248	242:274
♀ Heunisch weiss	135:145	198:206	241:251	176:178	237:243	242:258	234:252	240:246	252:274
♂ Піно чорний	139:155	190:196	241:245	182:186	231:241	242:252	224:242	242:248	242:274
Аліготе = Heunisch weiss × Піно чорний									
<i>Альфонс Лавалле</i>	135:137	188:206	251:257	182:182	229:241	242:258	250:250	242:254	254:274
♀ Мускат гамбурзький	137:151	188:194	249:251	176:182	235:241	252:258	242:250	242:258	274:274
♂ Додреліабі	135:137	206:206	249:257	176:182	229:238	242:258	234:250	254:254	254:274
Альфонс Лавалле = Мускат гамбурзький × Додреліабі									
<i>Аркадія</i>	137:137	188:190	245:251	176:191	239:239	258:0	242:274	258:258	254:258
♀ Молдова	135:137	190:196	245:253	178:191	239:243	244:0	234:242	250:258	254:258
♂ Кардинал	137:137	188:188	251:251	176:182	229:239	258:258	250:274	254:258	254:274
Аркадія = Молдова × Кардинал									
<i>Ароматний</i>	127:135	196:206	249:254	182:186	231:241	244:244	250:252	250:264	242:242
♀ Вертеш Чіляга	135:135	196:206	249:253	182:186	231:235	244:244	252:264	254:264	242:266
♂ Ромулус	127:153	190:206	241:249	178:182	237:241	244:252	236:250	250:250	242:252
Ароматний = Вертеш Чіляга × Ромулус									
<i>Біанка</i>	135:153	196:196	245:253	182:186	231:239	244:252	224:242	242:264	258:274
♀ Віллар блан	135:145	182:196	239:253	178:186	235:239	244:258	240:242	258:264	242:258
♂ Бюв'є	135:153	196:198	235:245	182:191	231:231	252:252	224:274	242:254	274:274
Біанка = Егер 2 × Бюв'є									
<i>Восток</i>	135:153	188:198	249:251	176:191	231:235	244:252	250:250	258:260	266:274
♀ Німранг	145:153	190:198	245:249	182:191	231:237	252:258	240:250	254:260	252:274
♂ Матяш Янош	135:135	188:196	241:251	176:186	231:235	244:252	250:274	252:258	242:266
Восток = Матяш Янош × Німранг									
<i>Добриня</i>	139:153	190:198	241:259	186:204	243:271	240:252	226:242	250:266	242:242
♀ Каберне Совіньйон	141:153	190:196	241:241	172:186	235:243	242:252	240:242	250:250	242:242
♂ Рупестрис дю Ло	139:139	198:198	259:263	202:204	239:271	240:240	226:248	262:266	236:238
Добриня = Каберне Совіньйон × Рупестрис дю Ло									
<i>Етюд</i>	135:145	186:196	243:253	176:182	231:241	244:258	242:250	242:250	242:258
♀ Датьє де Сен Вальє	135:137	188:196	251:253	182:186	239:241	244:258	240:250	242:264	258:274
♂ Декоративний	131:145	186:190	243:245	176:178	231:239	-:258	242:250	250:262	242:260
Етюд = Датьє де Сен Вальє × Декоративний									
<i>Жемчуг Саба</i>	135:157	188:206	249:251	176:178	239:239	244:244	224:274	258:262	274:274
♀ Мадлен Анжеві	137:157	196:206	249:249	178:191	239:243	244:258	224:250	252:262	242:274
♂ Muscat fleur d'oranger	135:135	188:206	249:251	176:182	231:239	244:252	224:274	254:258	242:274
Жемчуг Саба = Мадлен Анжеві × Muscat fleur d'oranger									

Продовж. дод. Г.

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Загадка</i>	135:137	188:190	245:251	182:191	231:241	252:258	240:250	242:260	258:274
♀ Геркулес	135:153	188:190	245:251	186:191	227:231	244:252	250:274	260:262	266:274
♂ Датъє де Сен Вальє	135: 137	188:196	251:253	182:186	239:241	244:258	240:250	242:264	258:274
Загадка = Геркулес × Датъє де Сен Вальє									
<i>Загрей</i>	127:139	196:206	241:249	176:180	231:239	242:252	234:250	246:258	240:274
♀ Аліготе	135: 139	196:198	241:241	176:186	231:243	242:242	234:242	246:248	242:274
♂ Овідіопольський	127:131	190:206	245:249	178:180	239:241	252:258	240:250	258:260	240:252
Загрей = Аліготе × Овідіопольський									
<i>Іллічівський ранній</i>	137:145	186:190	243:245	180:191	239:241	252:258	250:258	248:258	242:274
♀ Северний	131: 137	186:206	243:249	178:180	239:-	240:258	240:258	258:262	240:242
♂ Одеський стійкий	127: 145	190:-	245:-	180:191	241:-	252:-	240:250	248:260	252:274
Іллічівський ранній = Северний × Одеський стійкий									
<i>Interlaken</i>	125:153	190:206	249:255	178:182	237:241	244:252	232:250	250:268	252:252
♀ Онтаріо	125:127	204:206	237:249	182:182	241:241	244:0	232:236	250:268	242:252
♂ Султаніна	147: 153	190:190	241:255	178:191	237:237	242:252	224:250	250:262	252:252
Interlaken = Онтаріо × Султаніна									
<i>Іршаї Олівер</i>	137:157	206:206	249:251	176:178	229:239	244:258	224:274	254:258	252:274
♀ Пожоні білий	137:155	206:206	251:257	178:191	229:237	244:258	274:283	254:254	252:274
♂ Жемчуг Саба	135: 157	188:206	249:251	176:178	239:239	244:244	224:274	258:262	274:274
Іршаї Олівер = Пожоні білий × Жемчуг Саба									
<i>Каберне Совіньйон</i>	141:153	190:196	241:241	172:186	235:243	242:252	240:242	250:250	242:242
♀ Каберне фран	141:149	196:206	241:264	178:186	229:243	242:258	234:242	250:262	242:260
♂ Совіньйон білий	135: 153	190:196	241:259	172:186	231:235	244:252	240:242	248:250	242:258
Каберне Совіньйон = Каберне фран × Совіньйон блан									
<i>Кардинал</i>	137:137	188:188	251:251	176:182	229:239	258:258	250:274	254:258	254:274
♀ Альфонс Лавалле	135: 137	188:206	251:257	182:182	229:241	242:258	250:250	242:254	254:274
♂ Королева виноградикив	135: 137	188:206	249:251	176:182	229:239	244:258	240:274	254:258	274:274
Кардинал = Альфонс Лавалле × Королева виноградикив									
<i>Кишмиш ОСГІ</i>	137:153	190:190	251:255	176:191	237:241	252:258	224:240	252:254	252:266
♀ Чауш рожевий	137:145	190:198	241:251	176:176	241:249	252:258	240:264	252:254	266:274
♂ Кишмиш чорний	153:157	190:204	251:255	178:191	237:237	248:252	224:252	250:254	252:252
Кишмиш ОСГІ = Чауш рожевий × Кишмиш чорний									
<i>Королева виноградикив</i>	135:137	188:206	249:251	176:182	229:239	244:258	240:274	254:258	274:274
♀ Афуз Алі	135: 137	188:190	241:251	182:182	229:235	252:258	240:264	246:254	260:274
♂ Жемчуг Саба	135:157	188:206	249:251	176:178	239:239	244:244	224:274	258:262	274:274
Королева виноградикив = Афуз Алі × Жемчуг Саба									
<i>Ланка</i>	131:135	190:196	245:253	176:186	239:239	244:258	240:250	250:264	242:274
♀ Датъє де Сен Вальє	135:137	188:196	251:253	182:186	239:241	244:258	240:250	242:264	258:274
♂ Декоративний	131:145	186:190	243:245	176:178	231:239	-:258	242:250	250:262	242:260
Ланка = Датъє де Сен Вальє × Декоративний									
<i>Марсельський ранній</i>	135:139	188:190	245:251	176:186	231:231	242:244	224:264	248:258	254:274
♀ Muscat rouge de Madere	135:135	188:206	249:251	176:180	229:231	244:252	252:264	248:258	254:274
♂ Піно чорний	139:155	190:196	241:245	182:186	231:241	242:252	224:242	242:248	242:274
Марсельський ранній = Muscat rouge de Madere × Піно чорний									

Продовж. дод. Г.

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Мерло</i>	141:153	196:196	241:249	186:188	229:239	242:252	234:240	262:262	242:242
♀ Magdeleine noire des Charentes	153:153	-	241:249	178:188	231:239	252:252	240:242	-	242:274
♂ Каберне фран	141:149	196:206	241:264	178:186	229:243	242:258	234:242	250:262	242:260
Мерло = Magdeleine noire des Charentes × Каберне фран									
<i>Мечта</i>	137:153	198:204	251:251	176:178	237:249	252:258	240:252	250:254	252:274
♀ Чауш рожевий	137:145	190:198	241:251	176:176	241:249	252:258	240:264	252:254	266:274
♂ Кишмиш чорний	153:157	190:204	251:255	178:191	237:237	248:252	224:252	250:254	252:252
Мечта = Чауш рожевий × Кишмиш чорний									
<i>Молдова</i>	135:137	190:196	245:253	178:191	239:243	244:0	234:242	250:258	254:258
♀ Гюзяль кара	137:153	190:206	245:249	182:191	229:243	252:258	234:240	250:254	254:274
♂ Віллар блан	135:145	182:196	239:253	178:186	235:239	244:258	240:242	258:264	242:258
Молдова = Гюзяль кара × Віллар блан									
<i>Мускат гамбурзький</i>	137:151	188:194	249:251	176:182	235:241	252:258	242:250	242:258	274:274
♀ Schiava grossa	137:157	194:196	249:249	178:182	239:241	244:258	242:250	250:258	254:274
♂ Мускат александрійський	135:151	188:206	251:253	176:191	231:235	252:252	250:274	242:262	266:274
Мускат гамбурзький = Мускат Александрійський × Schiava grossa									
<i>Мускат жемчужний</i>	135:137	188:190	249:251	176:176	239:241	244:258	224:264	252:258	266:274
♀ Чауш рожевий	137:145	190:198	241:251	176:176	241:249	252:258	240:264	252:254	266:274
♂ Жемчуг Саба	135:157	188:206	249:251	176:178	239:239	244:244	224:274	258:262	274:274
Мускат жемчужний = Чауш рожевий × Жемчуг Саба									
<i>Овідіопольський</i>	127:131	190:206	245:249	178:180	239:241	252:258	240:250	258:260	240:252
♀ Северний	131:137	186:206	243:249	178:180	239:-	240:258	240:258	258:262	240:242
♂ Одеський стійкий	127:145	190:-	245:-	180:191	241:-	252:-	240:250	248:260	252:274
Овідіопольський = Северний × Одеський стійкий									
<i>Огоньок таїровський</i>	137:145	188:190	245:251	178:186	239:239	258:258	240:250	262:264	242:258
♀ Датъе де Сен Вальє	135:137	188:196	251:253	182:186	239:241	244:258	240:250	242:264	258:274
♂ Декоративний	131:145	186:190	243:245	176:178	231:239	-:258	242:250	250:262	242:260
Огоньок таїровський = Датъе де Сен Вальє × Декоративний									
<i>Одеський сувенір</i>	137:139	194:202	249:251	176:176	235:239	244:258	240:242	242:0	258:274
♀ Коарна негра	139:145	190:202	249:251	176:182	239:239	244:252	240:250	250:254	258:274
♂ Мускат гамбурзький	137:151	188:194	249:251	176:182	235:241	252:258	242:250	242:258	274:274
Одеський сувенір = Коарна негра × Мускат гамбурзький									
<i>Одеський чорний</i>	135:153	190:190	241:245	186:191	229:235	244:252	242:250	250:260	242:274
♀ Алікант Буше	135:147	190:190	241:245	178:191	229:241	244:244	250:266	246:260	252:274
♂ Каберне Совіньон	141:153	190:196	241:241	172:186	235:243	242:252	240:242	250:250	242:242
Одеський чорний = Алікант Буше × Каберне Совіньон									
Одисей	137:151	188:198	249:251	176:191	229:231	252:258	240:264	258:260	258:260
♀ Загадка	135:137	188:190	245:251	182:191	231:241	252:258	240:250	242:260	258:274
♂ Восторг	137:151	196:198	241:249	176:182	229:243	252:258	250:264	254:258	242:260
Одисей = Загадка × Восторг									
Опаловий	135:147	188:190	245:251	176:191	241:241	244:258	240:264	248:258	258:274
♀ Рубін таїровський	127:147	190:190	245:245	186:191	235:241	252:258	240:240	248:264	258:274
♂ Мускат жемчужний	135:137	188:190	249:251	176:176	239:241	244:258	224:264	250:258	266:274
Опаловий = Рубін таїровський × Мускат жемчужний									

Продовж. дод. Г.

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Оригінал</i>	135:145	190:196	251:253	176:182	239:241	244:258	240:264	242:252	274:274
♀ Чауш рожевий	137: 145	190 :198	241: 251	176 :176	241 :249	252: 258	240: 264	252 :254	266: 274
♂ Датсь де Сен Вальє	135 :137	188: 196	251: 253	182 :186	239 :241	244 :258	240 :250	242 :264	258 :274
Оригінал = Датсь де Сен Вальє × Чауш рожевий									
<i>Оригінал білий</i>	137:153	190:196	251:253	176:182	239:241	252:258	240:264	242:250	258:274
♀ Чауш білий	137: 153	190 :206	249: 251	176 :180	231: 241	252: 258	264: 264	252:254	254: 274
♂ Датсь де Сен Вальє	135: 137	188: 196	251: 253	182 :186	239 :241	244: 258	240 :250	242 :264	258 :274
Оригінал білий = Чауш білий × Датсь де Сен Вальє									
<i>Персей</i>	135:145	196:196	241:253	176:178	229:243	252:258	242:274	258:262	242:258
♀ Заграва	137: 145	190: 196	251: 253	176: 178	- : 243	258: 258	242 :264	242: 262	258 :274
♂ Кардишах	135 :137	188: 196	241 :251	176 :182	229 :239	252 :258	240: 274	254: 258	242 :254
Персей = Заграва × Кардишах									
<i>Подарунок селекціонера</i>	137:157	190:206	245:249	191:191	243:243	248:272	248:0	254:260	252:258
♀ Агат донський	137 :153	204: 206	249 :251	178: 191	237: 243	252: 272	224: 248	254 :256	244: 252
♂ Кобзар	137: 157	190 :196	245 :253	178: 191	239: 243	248 :258	242: 0	260 :262	258 :258
Подарунок селекціонера = Агат донський × Кобзар									
<i>Ромулус</i>	127:153	190:206	241:249	178:182	237:241	244:252	236:250	250:250	242:252
♀ Онтаріо	125: 127	204: 206	237: 249	182 :182	241: 241	244 :0	232: 236	250 :268	242 :252
♂ Султаніна	147: 153	190 :190	241 :255	178 :191	237 :237	242: 252	224: 250	250 :262	252 :252
Ромулус = Онтаріо × Султаніна									
<i>Русалка 3</i>	147:157	190:202	251:255	176:191	241:243	242:248	242:250	258:260	252:274
♀ Мирний	137: 157	-	249: 255	182: 191	239: 243	248 :252	240: 242	-	274: 274
♂ Недельчев Магватлана	135: 147	194: 202	249: 251	176 :178	237: 241	242 :242	250 :250	-	252: 274
Русалка 3 = Мирний × Недельчев Магватлана									
<i>Рушакі</i>	153:153	190:190	241:249	176:178	237:241	252:252	224:242	250:262	252:274
♀ Мскхалі	137: 153	190 :202	249 :251	176 :191	241 :249	252 :258	242 :254	250 :250	258: 274
♂ Султаніна	147: 153	190 :190	241 :255	178 :191	237 :237	242: 252	224 :250	250: 262	252: 252
Рушакі = Мскхалі × Султаніна									
<i>Смена</i>	137:145	186:188	243:251	178:186	239:241	258:258	240:250	262:264	258:260
♀ Датсь де Сен Вальє	135: 137	188 :196	251 :253	182: 186	239: 241	244: 258	240 :250	242: 264	258 :274
♂ Декоративний	131: 145	186 :190	243 :245	176: 178	231: 239	- : 258	242: 250	250: 262	242: 260
Смена = Декоративний × Датсь де Сен Вальє									
<i>Стійкий Докучасвої</i>	135:135	190:196	245:253	182:191	227:241	244:244	242:274	242:260	258:274
♀ Геркулес	135 :153	188: 190	245 :251	186: 191	227 :231	244 :252	250: 274	260 :262	266: 274
♂ Датсь де Сен Вальє	135 :137	188: 196	251: 253	182 :186	239: 241	244 :258	240:250	242 :264	258 :274
Стійкий Докучасвої = Геркулес × Датсь де Сен Вальє									
<i>Сухолиманський білий</i>	135:145	198:206	241:251	178:182	237:249	242:258	224:254	246:254	242:254
♀ Шардоне	139: 145	190: 198	241 :245	178 :186	237 :241	242: 258	224 :234	246 :248	242 :274
♂ Плавай	135 :135	206: 206	249: 251	176: 182	231: 249	242 :242	254 :266	240: 254	254: 274
Сухолиманський білий = Шардоне × Плавай									
<i>Таїр</i>	135:139	190:196	249:253	176:182	239:239	244:244	240:250	242:254	258:274
♀ Соарна неагра	139 :145	190 :202	249 :251	176 :182	239: 239	244 :252	240: 250	250: 254	258: 274
♂ Датсь де Сен Вальє	135 :137	188: 196	251: 253	182 :186	239 :241	244 :258	240 :250	242 :264	258 :274
Таїр = Датсь де Сен Вальє × Коарна негра									

Продовж. дод. Г.

Сорт (форма)	Мікросателітні локуси (розміри алелів у п. н.)								
	VVS2	ZAG62	VVMD7	VVMD27	VVMD5	VVMD25	VVMD28	ZAG79	VVMD32
<i>Чауш рожевий</i>	137:145	190:198	241:251	176:176	241:249	252:258	240:264	252:254	266:274
♀ Чауш білий	137:153	190:206	249:251	176:180	231:241	252:258	264:264	252:254	254:274
♂ Пехліван кара	135: 145	-	241:241	176:191	243:249	242:252	240:240	252:254	258:266
Чауш рожевий × Чауш білий × Пехліван кара									
<i>Шардоне</i>	139:145	190:198	241:245	178:186	237:241	242:258	224:234	246:248	242:274
♀ Heunisch weiss	135: 145	198:206	241:251	176:178	237:243	242:258	234:252	240:246	252:274
♂ Піно чорний	139:155	190:196	241:245	182:186	231:241	242:252	224:242	242:248	242:274
Шардоне = Heunisch weiss × Піно чорний									
<i>Янтар тайровський</i>	137:151	188:198	249:251	182:191	229:241	252:258	250:250	258:260	242:258
♀ Загадка	135: 137	188:190	245:251	182:191	231:241	252:258	240:250	242:260	258:274
♂ Восторг	137: 151	196:198	241:249	176:182	229:243	252:258	250:264	254:258	242:260
Янтар тайровський = Загадка × Восторг									
<i>Ярило</i>	137:145	190:206	241:249	176:178	229:239	244:258	244:266	250:258	252:258
♀ Goeceşji zamatos	135: 145	180:206	239:249	176:178	229:239	244:244	244:252	258:258	242:258
♂ Роднічок	137:153	186:190	241:243	178:191	239:247	252:258	250:266	248:250	252:0
Ярило = Роднічок × Goeceşji zamatos									
<i>40 лет Октября</i>	135:147	190:190	241:241	178:178	241:249	242:244	234:250	246:262	254:274
♀ Коптчак	135:145	190:204	241:251	178:191	241:249	242:252	234:254	252:262	254:274
♂ Алікант Буше	135: 147	190:190	241:245	178:191	229:241	244:244	250:266	246:260	252:274
40 лет Октября = Алікант Буше × Коптчак									

Примітка: в тестуванні батьківства окремих зразків винограду були використані реконструйовані генотипи сортів Северний, Одеський стійкий та Декоративний; 0 – нульовий алель.

Додаток Д

Відношення правдоподібності (за верхнім 95 % довірчим інтервалом) для дев'яти мікросателітних локусів між досліджуваними сортами та їх ймовірними батьками

Нащадок	Гібридаційна комбінація		XxY	Відношення правдоподібності			
	Материнський сорт	Батьківський сорт		(1)xX	rel(2)x(1)	(2)xX	rel(1)x(2)
Айваз	Молдова	Кардинал	3.26E+05	2.98E+03	2.04E+01	3.19E+03	1.93E+01
Аліготе	Neunisch weiss	Піно чорний	5.71E+06	1.46E+04	2.41E+01	3.27E+04	4.02E+01
Альфонс Лавалле	Мускат гамбурзький	Додреліабі	7.16E+05	9.46E+04	4.26E+01	2.63E+02	8.47E+00
Аркадія	Молдова	Кардинал	1.02E+09	4.64E+04	2.40E+01	2.47E+05	3.55E+01
Ароматний	Вертеш Чіляга	Ромулус	5.89E+06	1.01E+05	5.01E+01	1.40E+03	1.26E+01
Біанка	Віллар блан	Бюв'є	3.27E+04	1.26E+05	2.36E+01	3.17E+03	1.83E+01
Восток	Німранг	Матяш Янош	4.77E+04	7.39E+02	1.16E+01	5.40E+03	2.21E+01
Голубок	Северний	40 лет Октября	1.13E+09	3.00E+07	1.13E+02	5.75E+03	2.12E+01
Добриня	Каберне Совіньйон	Рупестріс дю Ло	3.45E+12	8.40E+10	2.94E+02	2.10E+04	3.23E+01
Етюд	Дат'є де Сен Вальє	Декоративний	2.65E+05	1.42E+04	2.35E+01	2.35E+03	1.93E+01
Жемчуг Саба	Мадлен Анжеві	Muscat fleur d'oranger	2.13E+05	1.98E+03	1.49E+01	1.15E+03	1.36E+01
Загадка	Геркулес	Дат'є де Сен Вальє	1.92E+03	3.06E+02	9.02E+00	1.51E+02	6.21E+00
Загрей	Аліготе	Овідіопольський	9.60E+06	3.47E+04	2.84E+01	1.42E+05	4.40E+01
Іллічівський ранній	Северний	Одеський стійкий	1.92E+07	1.10E+05	3.64E+01	1.99E+04	3.14E+01
Interlaken	Онтаріо	Султаніна	6.74E+08	2.97E+04	3.28E+01	4.89E+06	7.61E+01
Іршаї Олівер	Пожоні білий	Жемчуг Саба	1.19E+06	5.55E+03	1.54E+01	4.20E+03	2.14E+01
Каберне Совіньйон	Каберне фран	Совіньйон блан	1.57E+07	1.83E+04	2.58E+01	8.17E+03	1.96E+01
Кардинал	Альфонс Лавалле	Королева виноградників	1.29E+05	5.96E+02	1.25E+01	4.06E+02	9.87E+00
Кишмиш ОСГІ	Чауш рожевий	Кишмиш чорний	1.09E+06	1.33E+04	2.10E+01	5.81E+03	2.22E+01
Королева виноградників	Афуз Алі	Жемчуг Саба	1.34E+04	2.05E+03	1.70E+01	2.29E+02	8.02E+00
Ланка	Дат'є де Сен Вальє	Декоративний	3.35E+04	1.46E+03	1.28E+01	1.44E+03	1.51E+01
Марсельський ранній	Muscat rouge de Madere	Піно чорний	4.38E+05	5.49E+03	2.08E+01	5.21E+03	2.37E+01
Мерло	Magdeleine noire des Charentes	Каберне фран	5.03E+08	1.75E+05	4.35E+01	8.16E+04	3.76E+01
Мечта	Чауш рожевий	Кишмиш чорний	2.03E+06	4.99E+04	2.79E+01	2.80E+03	1.70E+01
Молдова	Гузаль кара	Віллар блан	3.42E+07	2.63E+05	4.23E+01	3.34E+04	2.67E+01

Продовж. дод. Д.

Нащадок	Гібридаційна комбінація		XxY	Відношення правдоподібності			
	Материнський сорт	Батьківський сорт		(1)xX	rel(2)x(1)	(2)xX	rel(1)x(2)
Мускат гамбурзький	Schiava grossa	Мускат александрійський	1.88E+05	4.98E+03	1.91E+01	5.99E+03	1.87E+01
Мускат жемчужний	Чауш рожевий	Жемчуг Саба	2.19E+05	7.36E+03	2.31E+01	3.64E+03	2.23E+01
Овідіопольський	Северний	Одеський стійкий	2.03E+07	1.37E+04	2.07E+01	6.91E+04	4.32E+01
Огоньок таїровський	Датьє де Сен Вальє	Декоративний	2.90E+04	1.23E+03	1.49E+01	1.67E+03	1.65E+01
Одеський сувенір	Coarna neagra	Мускат гамбурзький	4.27E+08	1.95E+05	3.67E+01	9.37E+04	2.69E+01
Одеський чорний	Алікант Буше	Каберне Совіньйон	4.45E+05	3.67E+03	2.14E+01	1.76E+04	3.10E+01
Одисей	Загадка	Восторг	4.50E+05	1.56E+03	1.71E+01	6.23E+04	3.63E+01
Опаловий	Рубін таїровський	Мускат жемчужний	2.58E+05	2.19E+04	2.70E+01	7.32E+02	1.24E+01
Оригінал	Чауш рожевий	Датьє де Сен Вальє	1.48E+04	6.06E+02	1.20E+01	6.43E+02	9.67E+00
Оригінал білий	Чауш білий	Датьє де Сен Вальє	8.48E+05	2.62E+03	8.17E+00	4.73E+03	1.19E+01
Персей	Заграва	Кардиншах	2.32E+05	1.55E+04	3.13E+01	1.10E+03	1.42E+01
Приморський	Альфонс Лавалле	Афуз Алі	7.10E+08	4.18E+05	4.18E+01	1.15E+04	1.62E+01
Подарунок селекціонера	Агат донський	Кобзар	2.18E+10	4.08E+06	6.52E+01	2.63E+05	3.58E+01
Ромулус	Онтаріо	Султаніна	1.48E+07	5.22E+03	2.34E+01	3.32E+05	5.38E+01
Русалка 3	Мирний	Недельчев Магватлана	1.43E+08	2.04E+04	2.92E+01	2.48E+06	7.57E+01
Рушакі	Мскхалі	Султаніна	5.26E+05	3.78E+04	3.78E+01	5.03E+02	1.20E+01
"Сірануш"	Чауш білий	Кишмиш чорний	3.65E+06	1.85E+03	1.42E+01	1.09E+05	4.07E+01
Смена	Датьє де Сен Вальє	Декоративний	1.44E+06	4.95E+04	2.73E+01	2.46E+03	1.88E+01
Стійкий Докучаєвої	Геркулес	Датьє де Сен Вальє	1.33E+08	6.57E+04	3.09E+01	8.84E+04	2.20E+01
Сухолиманський білий	Шардоне	Плавай	4.54E+09	3.68E+07	7.15E+01	6.32E+04	4.22E+01
Таїр	Coarna neagra	Датьє де Сен Вальє	5.63E+04	1.22E+03	1.50E+01	5.82E+02	1.13E+01
Український 85	Чауш рожевий	Іршаї Олівер	2.47E+06	1.46E+04	2.51E+01	1.15E+04	2.40E+01
Чауш рожевий	Чауш білий	Пехліван кара	1.50E+06	7.16E+02	1.15E+01	1.13E+05	3.61E+01
Шардоне	Heunisch weiss	Піно чорний	1.55E+06	8.68E+03	1.98E+01	9.89E+03	2.45E+01
Шкода	Рубін таїровський	Мускат жемчужний	6.41E+05	5.70E+04	3.52E+01	6.19E+02	1.23E+01
Янтар таїровський	Загадка	Восторг	7.51E+04	9.68E+02	1.48E+01	4.54E+03	1.86E+01
Ярило	Goesseji zamatos	Роднічок	9.22E+05	7.24E+04	3.91E+01	1.97E+03	1.20E+01
40 лет Октября	Коптчак	Алікант Буше	8.41E+06	2.86E+04	3.24E+01	9.10E+03	2.25E+01

Продовж. дод. Д.

Примітка: $X \times Y$ – відношення правдоподібності, що запропоновані батьки обумовили склад генотипу нащадків, в порівнянні з ймовірністю того, що дві сторонні особини призвели до саме такого складу генотипу нащадків, тобто «запропоновані батьки» в порівнянні з «два випадкових сорти»; $(1) \times X$ – відношення правдоподібності комбінації «запропоновані батьки» в порівнянні з «запропонований батьківський сорт 1 на випадкова особина»; $rel(2) \times (1)$ – відношення правдоподібності комбінації «запропоновані батьки» в порівнянні з «близький родич запропонованого батьківського сорту 2 на запропонований батьківський сорт 1»; $(2) \times X$ – відношення правдоподібності комбінації «запропоновані батьки» у порівнянні з «запропонований батьківський сорт 2 на випадковий сорт»; $rel(1) \times (2)$ – відношення правдоподібності комбінації «запропоновані батьки» в порівнянні з «близький родич запропонованого батьківського сорту 1 на запропонований батьківський сорт 2».

Додаток Е

Результати аналізу родоводів (наведене згідно з селекційними записами та VIVC) досліджуваних сортів винограду

№ з/п	Назва сорту	Ймовірне походження	Результати
1	Агат донський	Руський ранній × (Заря Сєвера × Долорес)	-
2	Агат таїровський	Пересвет × Естафета	можливе
3	Айваз	Молдова × Кардинал	підтверджене
4	Аліготе	Heunisch weiss × Піно чорний	підтверджене; в тому числі [61, 122]
5	Альфонс Лавалле	Мускат гамбурзький × Додреліабі	підтверджене; в тому числі [122]
6	Аркадія	Молдова × Кардинал	підтверджене
7	Ароматний	Вертеш чиялга × Ромулус	підтверджене
8	Афуз Алі	?	-
9	Белградський безнасіньвий	Дим'ят × ?	не підтверджене для сорту Дим'ят; підтверджене для сорту Мечта
10	Біанка	Егер 2 × Бюв'є	підтверджене для сорту Бюв'є; в тому числі [181]
11	Восток	Матяш Янош × Німранг	підтверджене
12	Восторг	Руський ранній × (Заря Сєвера × Долорес)	-
13	Геркулес	Матяш Янош × Хаттал баар	підтверджене для сорту Матяш Янош
14	Голубок	Сєверний × 40 лет Октября	підтверджене
15	Дністровський рожевий	ВІРа П 35-20 (Німранг × <i>V. amurensis</i>) × Матяш Янош	підтверджене для сорту Матяш Янош; можливе для сорту ВІРа П 35-20
16	Добриня	Каберне Совіньйон × Рупестрис дю Ло	підтверджене
17	Етюд	Датъе де Сен Вальє × Декоративний	підтверджене
18	Жемчуг Саба	Мадлен Анжеві × Muscat fleur d'oranger	підтверджене; в тому числі [96, 122].
19	Загадка	Геркулес × Датъе де Сен Вальє	підтверджене
20	Загрей	Аліготе × Овідіопільський	підтверджене
21	Золотистий устійчивий	ВІРа П 35-20 × ? (вільне запилення)	можливе для сорту ВІРа П 35-20
22	Іділія мускатна	Мускат одеський × Ритон	підтверджене для сорту Мускат одеський; можливе для сорту Ритон
23	Іллічівський ранній	Сєверний × Одеський стійкий	підтверджене
24	Interlaken	Онтаріо × Султаніна	підтверджене; в тому числі [49]
25	Іршаї Олівер	Пожоні білий × Жемчуг Саба	підтверджене; в тому числі [122]
26	Искорка	17-21-68 (Піно чорний × Іршаї Олівер) × суміш пилку (Zala Gyoenye, Мускат одеський	підтверджене для 17-21-68 та Мускат одеський
27	Каберне Совіньйон	Каберне фран × Совіньйон блан	підтверджене; в тому числі [60, 122, 170]
28	Кардинал	Альфонс Лавалле × Королева виноградників	підтверджене; в тому числі [67, 122]
29	Кардишах	Шасла северная × Кардинал	підтверджене для сорту Кардинал; можливе для сорту Шасла северная

Продовж. дод. Е.

№ з/п	Назва сорту	Ймовірне походження	Результати
30	Кишмиш ОСП	Чауш рожевий × Кишмиш чорний	підтверджене
31	Кобзар	Катта курган × (Датъе де Сен Валье × Декоративний)	підтверджене для сорту Катта курган; можливе для (Датъе де Сен Валье × Декоративний)
32	Комета	Таїр × Буревестнік	підтверджене для сорту Таїр; можливе для сорту Буревестнік
33	Королева виноградників	Афуз Алі × Жемчуг Саба	підтверджене; в тому числі [122]
34	Королева таїровська	Одеський медовий × суміш пилку (Езендарі, Халілі білий, Чілякі)	можливе для сорту Одеський медовий
35	Ланжерон	37-19-22 (Оригінал × 8-25-113) × Кобзар	підтверджене
36	Ланка	Датъе де Сен Валье × Декоративний	підтверджене
37	Марсельський ранній	Muscat rouge de Madere × Піно чорний	підтверджене; в тому числі [122]
38	Мерло	Магдельєн нуар де Шарант × Каберне фран	підтверджене; в тому числі [58, 122]
39	Мечта	Чауш рожевий × Кишмиш чорний	підтверджене
40	Молдова	Гюзьяль кара × Віллар блан	підтверджене
41	Мускат гамбурзький	Мускат александрійський × Schiava grossa	підтверджене; в тому числі [70, 122]
42	Мускат жемчужний	Чауш рожевий × Жемчуг Саба	підтверджене
43	Овідіопольський	Северний × Одеський стійкий	підтверджене
44	Огоньок таїровський	Датъе де Сен Валье × Декоративний	підтверджене
45	Одеський сувенір	Соапа neagra × Мускат гамбурзький	підтверджене
46	Одеський чорний	Алікант Буше × Каберне Совінйон	підтверджене
47	Одисей	Загадка × Восторг	підтверджене
48	Опаловий	Рубін таїровський × суміш пилку (Мускат жемчужний, Жемчуг Саба)	підтверджене для сорту Рубін таїровський, Мускат жемчужний
49	Оригінал	Датъе де Сен Валье × Чауш рожевий	підтверджене
50	Оригінал білий	Чауш білий × Датъе де Сен Валье	підтверджене
51	Персей	Заграва × Кардишах	підтверджене
52	Плевен устійчвий (Августін)	Віллар блан × Плевен	підтверджене для сорту Віллар блан; можливе для сорту Плевен
53	Подарунок селекціонера	Агат донський × Кобзар	підтверджене
54	Призер	Естафета × Трамінер рожевий	підтверджене для сорту Трамінер рожевий; можливе для сорту Естафета
55	Приморський	Альфонс Лавалле × Італія	не підтверджене для сорту Італія; підтверджене для сортів Альфонс Лавалле та Афуз Алі
56	Ришельє	Кодрянка × Страшенський	Підтверджене для сорту Кодрянка
57	Роднічок	Віллар блан × Іллічівський	не підтверджене для сорту Віллар блан
58	Ромулус	Онтаріо × Султаніна	підтверджене
59	Рубін таїровський	Varousset × Одеській стійкий	підтверджене для сорту Одеський стійкий; можливе для сорту Varousset
60	Рум'яний	Восторг × 45-35-31 (Оригінал × Кобзар)	підтверджене

Продовж. дод. Е.

№ з/п	Назва сорту	Ймовірне походження	Результати
61	Русалка 1	(форма × (Чауш білий × Італія)) × Недельчев Магватлана	підтверджене для сорту Недельчев Магватлана; можливе для (форма × (Чауш білий × Італія))
62	Русалка 3	Мирний × Недельчев Магватлана	підтверджене
63	Рушакі	Мскхалі × Султаніна	підтверджене
64	«Сірануш»	Чауш білий × Кишмиш чорний	підтверджене
65	Селена	Ритон × Мускат одеський	підтверджене для сорту Мускат одеський; можливе для сорту Ритон
66	Смена	Декоративний × Датъє де Сен Вальє	підтверджене
67	Стійкий Докучасвої	Геркулес × Датъє де Сен Вальє	підтверджене
68	Сухолиманський білий	Шардоне × Плавай	підтверджене
69	Таїр	Датъє де Сен Вальє × Coarna neagra	підтверджене
70	Таїрян	Восторг × форма 45-35-31 (Оригінал × Кобзар)	підтверджене
71	Український 85	Чауш рожевий × суміш пилку (Жемчуг Саба, Іршаї Олівер)	підтверджене для сорту Чауш рожевий, Іршаї Олівер
72	Флейм сидлес	Форма (Кардінал × Султаніна) × (форма (Молінера × Тіфафіхі Ахмер) × форма (Мускат александрійський × Султаніна))	-
73	Флора	(Мускат де Сен Вальє × суміш пилку (Мускат гамбурзький, Хусайне білий)) × Королева таїровська	підтверджене для сорту Королева таїровська; можливе (Мускат де Сен Вальє × Хусайне білий)
74	Чарівний	Пересвет × Рубін дністровський	можливе для сорту Пересвет
75	Чауш рожевий	Чауш білий × Пехліван кара	підтверджене; в тому числі [122]
76	Шардоне	Heunisch weiss × Піно чорний	підтверджене; в тому числі [61, 122]
77	Шкода	Рубін таїровський × суміш пилку (Мускат жемчужний, Жемчуг Саба)	підтверджене для сорту Рубін таїровський, Мускат жемчужний
78	Янтар таїровський	Загадка × Восторг	підтверджене
79	Ярило	Goeseji zamatos × Роднічок	підтверджене
80	40 лет Октября	Алікант Буше × Коптчак	підтверджене

Примітка: ризикою позначено відсутність результатів аналізу походження окремих сортів винограду.