

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Генетическая структура популяции дикорастущих форм винограда заповедника «Утриш»

Е.Т. Ильницкая¹✉, М.В. Макаркина¹, И.В. Горбунов², И.В. Степанов¹, Т.Д. Козина¹, Е.А. Кожевников¹, В.К. Котляр¹

¹ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар, Россия

² Анапская зональная опытная станция виноградарства и виноделия – филиал Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия, Анапа, Россия

✉ ilnitskaya79@mail.ru

Аннотация. Виноград – одна из самых распространенных сельскохозяйственных культур в мире. В настоящее время наиболее точным методом для изучения генофонда растений считается анализ генотипов на уровне ДНК. Дикорастущие формы и древние сорта различных регионов виноградарства – актуальные объекты исследований в данной области. Целью работы было изучение популяции дикорастущего винограда, произрастающей на территории заповедника «Утриш» на Черноморском побережье Краснодарского края. Территория заповедника представляет интерес для подобного рода исследований, так как является местом древних поселений, а экологические условия пригодны для произрастания диких форм винограда. В процессе обследования территории обнаружено 24 образца дикорастущего винограда, которые были описаны по основным морфологическим характеристикам и проанализированы молекулярно-генетическим методом. Найденные формы генотипированы с помощью 15 ДНК-маркеров, в том числе девяти общепринятых для ДНК-паспортизации сортов винограда (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79) и маркера VVlb23, позволяющего определять обоеполюе и двудомные формы. Статистическая обработка данных полиморфизма микросателлитных локусов выполнена в программе GenAEx 6.5. Генетические взаимосвязи исследуемых форм винограда оценивали в программе PAST 2.17c. В результате обнаружено, что образцы характеризуются морфологическим и генетическим полиморфизмом. Количество идентифицированных аллелей в выборке варьировало от 5 до 18 и составило в среднем 8 аллелей на локус. Проведение статистической обработки данных ДНК-анализа позволило выявить две генетически различные популяции среди обнаруженных дикорастущих форм. Оценено генетическое сходство найденных форм с некоторыми аборигенными сортами географически близких регионов виноградарства, подвойными сортами и представителями *Vitis sylvestris* с других территорий. Одна из обнаруженных в заповеднике «Утриш» популяций близка к ряду генотипов *V. sylvestris*, ДНК-профили которых представлены в международной базе данных *Vitis International Variety Catalogue*.
Ключевые слова: дикорастущие формы винограда; *Vitis sylvestris*; ДНК-профилирование; генетический полиморфизм; SSR-локусы.

Для цитирования: Ильницкая Е.Т., Макаркина М.В., Горбунов И.В., Степанов И.В., Козина Т.Д., Кожевников Е.А., Котляр В.К. Генетическая структура популяции дикорастущих форм винограда заповедника «Утриш». *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(4):316-322. DOI 10.18699/VJGB-23-38

Genetic structure of the population of wild-growing vines of the Utrish Nature Reserve

Е.Т. Ilnitskaya¹✉, M.V. Makarkina¹, I.V. Gorbunov², I.V. Stepanov¹, T.D. Kozina¹, E.A. Kozhevnikov¹, V.K. Kotlyar¹

¹ North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, Krasnodar, Russia

² Anapa Zonal Experimental Station of Viticulture and Wine-making – Branch of North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, Anapa, Russia

✉ ilnitskaya79@mail.ru

Abstract. Grapes are one of the most common agricultural crops in the world. Currently, the analysis of genotypes directly at the DNA level is considered to be the most accurate method for studying the plant gene pool. The study of wild vines and ancient varieties in various regions of viticulture is an important direction of research in this field. The purpose of this work was to study the population of wild grapes growing on the territory of the Utrish Nature Reserve on the Black Sea coast of Krasnodar Region. The territory of the reserve is of interest as it is a site of ancient settlements, and the environmental conditions are suitable for the growth of wild grapes. During the survey of the territory, 24 samples of wild grapes were found, which were described according to the main morphological characteristics and analyzed by the molecular genetic method. The found vines were genotyped using 15 DNA markers, including nine commonly used for DNA fingerprinting (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79) and VVlb23, which allows determining hermaphrodite and dioecious vines. Statistical processing of microsatellite loci polymorphism data was carried out using the GenAEx 6.5 program. The genetic relationships of the studied vines were evaluated using the PAST 2.17c program. The samples were found to be morphologically and

genetically polymorphic. The number of alleles identified in the sample varied from 5 to 18 and averaged 8 alleles per locus. Statistical processing of DNA analysis data made it possible to identify two genetically different populations among the wild discovered vines. An assessment of genetic similarity of the found vines with some local varieties of geographically close viticulture regions, rootstocks and representatives of *Vitis sylvestris* from other territories was made. One of the populations found in the Utrish Nature Reserve is close to a number of *V. sylvestris* genotypes, the DNA profiles of which are presented in the *Vitis* International Variety Catalogue.

Key words: wild-growing vines; *Vitis sylvestris*; DNA profiling; genetic polymorphism; SSR loci.

For citation: Il'nitskaya E.T., Makarkina M.V., Gorbunov I.V., Stepanov I.V., Kozina T.D., Kozhevnikov E.A., Kotlyar V.K. Genetic structure of the population of wild-growing vines of the Utrish Nature Reserve. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(4):316-322. DOI 10.18699/VJGB-23-38

Введение

Виноград – одна из самых распространенных сельскохозяйственных культур в мире. Наиболее значимым как в экономическом, так и в социально-историческом плане является вид *Vitis vinifera* L. Этот вид рода *Vitis* L. (сем. Vitaceae), происходящий из Евразии, предположительно появился около 65 млн лет назад (This et al., 2006). В настоящее время в пределах вида выделяют два подвида: *V. vinifera* L. subsp. *sylvestris* (Gmel.) Hegi, который включает дикие популяции, и *V. vinifera* subsp. *sativa* (DC.) Hegi (или subsp. *vinifera*), к которому относят культурные сорта.

Дикие и культурные формы различаются рядом признаков, включая и репродуктивную биологию: дикий виноград двудомен и перекрестно опыляется, тогда как культивируемая лоза в большинстве случаев гермафродит и способна к самоопылению. Одомашнивание винограда, которое произошло примерно 8 тыс. лет назад, тесно связано с возникновением виноделия, хотя до сих пор достоверно не известно, какой из процессов предшествовал другому. Первоначальными центрами одомашнивания *V. vinifera* принято считать Ближний Восток и Кавказ. Самые ранние свидетельства производства вина периода 7400–7000 лет до нашей эры обнаружены в Иране (McGovern, 2004). Семена одомашненного винограда возрастом ~8000 лет были найдены также в Грузии и Турции. Тем не менее обнаруженные в Западной Европе остатки семян, относящиеся к периоду неолита, тоже предполагают эксплутацию винограда в то время, а остатки семян диких форм были найдены на стоянках людей бронзового века во Франции (This et al., 2006).

Дикорастущие популяции винограда сейчас представлены одичалыми лозами культурных сортов *V. vinifera* и диким подвидом. Изучение дикорастущих форм винограда в древних регионах возделывания этой культуры активно ведется в последние годы на молекулярно-генетическом уровне (Doulati-Baneh et al., 2015; Гориславец и др., 2017; De Michele et al., 2019; Margaryan et al., 2019; Cunha et al., 2020; Zdunić et al., 2020; Kupe et al., 2021; Lukšić et al., 2022).

Анализ местного генофонда различных регионов виноградарства (включая аборигенные сорта и дикорастущие экземпляры) на уровне ДНК дает возможность более полно оценить генетическое разнообразие сортов и форм, выявить более близкие и отдаленные генотипы. Дикие формы сельскохозяйственных культур также значимы для селекции как уникальные источники генетической изменчивости (Ellstrand et al., 2010).

Территория заповедника «Утриш» на Черноморском побережье Краснодарского края вызывает интерес для

подобного рода исследований, так как является местом древних поселений, а экологические условия территории пригодны для произрастания диких форм винограда (Чернодубов, Руденок, 2015).

Материалы и методы

Экспедиционные исследования по поиску дикорастущих форм винограда, изучению экологических условий их произрастания и морфобиологических особенностей проводили в течение трех лет (2019–2021) на территории заповедника «Утриш» (Краснодарский край). Заповедник расположен в северо-западной части Черноморского побережья Западного Кавказа, на полуострове Абрау. Климат субсредиземноморский, умеренно теплый.

Для молекулярно-генетического анализа было отобрано 24 образца дикорастущего винограда. ДНК выделяли из апикальных частей побегов виноградных растений методом на основе использования ЦТАБ (цитилтриметиламоний бромид) (Rogers, Bendich, 1985).

Генотипирование выполнено по 15 микросателлитным локусам, девять из которых являются стандартными для ДНК-паспортизации сортов винограда (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79) (This et al., 2004; This, 2007). Также в работу включили ДНК-маркеры, сцепленные с генами устойчивости к патогенам винограда – милдью: UDV305, UDV737 (*Rpv3*) и GF09-46 (*Rpv10*), и оидиуму: ScORGF15-02 (*Ren3*), CenGen6 (*Ren9*) (Di Gaspero et al., 2012; Schwander et al., 2012; van Heerden et al., 2014; Zender et al., 2017). Все найденные образцы дополнительно были проанализированы маркером VV1b23, позволяющим выявлять обоеполье и двудомные формы (Merdinoglu et al., 2005; Riaz et al., 2013).

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили с использованием прибора Eppendorf MasterCycler nexus GX2 (Германия) по следующей схеме: 10 с при +95 °С (начальная денатурация); 35 циклов: отжиг праймеров 30 с при +55 °С для VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, UDV305, UDV737, CenGen6, VV1b23, при +58 °С для VrZAG62, VrZAG79, ScORGF15-02, при +60 °С для VVMD25, VVMD28, VVMD32, GF09-46, 30 с при +72 °С (элонгация); завершающий цикл – 15 мин при +72 °С. ПЦР-смесь общим объемом 20 мкл содержала: 50 нг геномной ДНК, 1.5 единицы Taq-полимеразы, 1х буфер для Taq-полимеразы с сульфатом аммония и магнием, 2 мМ MgCl₂, по 0.2 мМ каждого dNTP (дезоксинуклеотидтрифосфаты) («СибЭнзим-М», Москва) и 200 мкМ каждого из праймеров (ООО «Синтол», Москва). Результаты визуализировали методом капиллярного электрофореза с

помощью генетического анализатора «Нанофор 05» (Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Россия) и специального встроенного пакета программ.

В качестве референсных генотипов использовали ДНК сортов: Pinot noir (для маркеров VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79), Саперави северный (GF09-46), Villard blanc (UDV305, UDV737), Regent (ScORGF15-02, CenGen6), Кишмиш Ваткана (VV1b23), так как аллельный состав в ДНК данных сортов по анализируемым локусам известен.

Статистическую обработку данных полиморфизма микросателлитных локусов проводили в программе GenAIEx 6.5 (Peakall, Smouse, 2012). Генетические взаимосвязи форм винограда оценивали с помощью программы PAST 2.17c с применением метода главных координат (PCoA) (Hammer et al., 2001).

Для анализа генетического сходства исследуемых дикорастущих образцов с аборигенным генофондом винограда в работу включили выборку ДНК-профилей сортов по девяти стандартным SSR-локусам из международной базы данных *Vitis* International Variety Catalogue (VIVC), которые относят к аборигенным формам Дагестана (Республика Дагестан, РФ), Дона (Ростовская область, РФ), Грузии, Крыма (Республика Крым, РФ), а также к подвойным сортам винограда (наибольший вклад в генотип которых имеют разные североамериканские виды) и генотипам *V. sylvestris* из различных географических зон. Байесовский анализ проведен в программе Structure 2.3.4 с 65 генотипами (41 сорт из базы данных VIVC и 24 генотипа исследуемых нами форм) со следующими заданными параметрами: 500000 Burn-in period, 500000 Reps, K=7 (Pritchard et al., 2000).

Исследование выполнено с использованием приборного парка Центра коллективного пользования технологичным оборудованием по направлению «Геномные и пост-геномные технологии» Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия (ФГБНУ СКФНЦСВВ).

Результаты и обсуждение

При обследовании территории заповедника «Утриш» обнаружено 24 экземпляра дикорастущего винограда. Их описание по основным морфологическим признакам приведено в табл. 1.

Отмечен полиморфизм морфологических признаков как между популяциями из разных мест сбора образцов, так и между растениями внутри условных популяций, обозначенных нами согласно местам их произрастания на территории заповедника. Растения были найдены в локациях Атмачева щель (А1–А3), Широкая щель (Ш1–Ш5), Лобанова щель (Л1–Л6), Водопадная щель (В1–В10) (Горбунов, Лукьянов, 2020; Горбунов и др., 2020). Эколого-географическая характеристика мест обнаружения растений винограда представлена в табл. 2.

При анализе ДНК найденных образцов винограда в изученных 15 локусах выявлен разный уровень полиморфизма. Количество идентифицированных аллелей в выборке варьировало от 5 (VVMD25, VVMD27 и GF09-46) до 18 (UDV305) и составило в среднем 8 аллелей

на локус (табл. 3). Средняя фактическая гетерозиготность ($H_o = 0.664$) ниже ожидаемой ($H_e = 0.712$). ДНК-маркерный анализ с использованием VV1b23 показал, что все формы являются раздельнополюми. Среди девяти микросателлитных локусов, данные о полиморфизме которых используют при ДНК паспортизации генотипов винограда, наиболее полиморфным оказался VVS2 (определено 10 аллелей), наименее – VVMD25, VVMD27 (по 5 типов аллелей) (см. табл. 3).

В работе по изучению разнообразия дикорастущих форм винограда Армении была отмечена похожая ситуация: исследуемая выборка (77 образцов) была также наиболее полиморфна по локусу VVS2 – 13 типов аллелей, а наименее – по VVMD25 и VVMD27 (выявлено по 5 и 8 аллелей соответственно) (Margaryan et al., 2019). При этом в исследовании (Гориславец и др., 2017), авторы которого анализировали крымские дикорастущие формы винограда, по локусу VVS2 выявлен наименьший полиморфизм – 5 типов аллелей.

При распределении генотипов в пространстве главных координат можно выделить группу образцов с территории Водопадной щели (рис. 1). В целом все образцы из этого места локализованы обособленно от других в пространстве главных координат, а В1, В2, В3, В4, В9, В10 образуют отдельную подгруппу. Образцы В6 и В7 имеют очень схожие генотипы. Среди других найденных образцов полное совпадение генотипов по пятнадцати локусам определено у дикорастущих форм Ш3 и Ш4.

Анализ образцов с использованием ДНК-маркеров, сцепленных с генами устойчивости к милдью (*Rpv3*, *Rpv10*) и оидиуму (*Ren3*, *Ren9*), не выявил локусов резистентности в генотипах дикорастущих форм. Указанные ДНК-маркеры были включены в исследование с целью изучения полиморфизма дикорастущих форм по анализируемому локусу, а также как инструмент для возможного выявления одичалых лоз гибридного происхождения. Устойчивость, определяемая *Ren3*, *Ren9* и *Rpv3*, наследуется от североамериканских видов винограда (*V. riparia*, *V. rupestris*, *V. labruska*, *V. lincecumii*), *Rpv10* – от *V. amurensis*.

ДНК профили дикорастущих форм по девяти SSR-локусам, стандартным для идентификации генотипов винограда, были рассмотрены на предмет совпадения в каталоге ДНК паспортов сортов винограда международной базы данных VIVC (VIVC, 2022). Совпадений не обнаружено. Для анализа генетического сходства были взяты ДНК-профили сортов, относящихся к географически близким регионам виноградарства, где имеются аборигенные сорта, часть из которых, возможно, произошла от диких форм винограда, произраставших ранее на этих территориях. Для сравнения использовали и идентифицированные ДНК-профили генотипов *V. sylvestris* из разных географических точек (Израиль, Тунис, Франция, Армения, Турция), представленные в VIVC. Также в исследование включили группу подвойных сортов сложного межвидового происхождения с наибольшей долей генетического вклада североамериканских видов винограда, чтобы исключить присутствие среди найденных форм одичалых лоз подвойных сортов, которым характерна высокая адаптивность к различным абиотическим и биотическим стресс-факторам. Для проведения байесовского

Таблица 1. Морфологические характеристики дикорастущих форм винограда заповедника «Утриш»

Образец	Форма верхушки молодого побега	Паутиноистое опушение верхушки молодого побега	Антоциановая окраска верхушки молодого побега	Форма листа	Глубина верхних боковых вырезок листа	Степень открытости черешковой выемки листа	Форма зубчиков листа	Паутиноистое опушение жилок нижней стороны листа	Щетиноистое опушение жилок нижней стороны листа	Тип цветка	Окраска ягоды (без налета)	Антоциановая окраска мякоти ягоды
A1	3	3	5	3	9	2	3	5	3	1	–	–
A2	2	5	7	2	9	3	3	3	5	1	–	–
A3	3	5	3	3	9	2	3	5	3	–	–	–
Ш1	2	7	3	3	7	5	5	5	3	–	–	–
Ш2	3	5	3	4	9	5	5	5	5	–	–	–
Ш3	2	7	3	4	9	5	5	5	3	4	6	5
Ш4	3	5	5	2	5	3	3	7	5	4	6	3
Ш5	2	7	3	3	7	3	3	7	3	1	–	–
Л1	3	5	3	3	5	4	4	7	1	–	–	–
Л2	4	5	3	4	5	2	5	3	3	–	–	–
Л3	2	7	5	2	7	2	4	7	5	–	–	–
Л4	3	5	5	3	9	1	3	5	5	–	–	–
Л5	3	5	3	1	9	2	4	5	3	–	–	–
Л6	5	3	3	3	3	1	4	3	1	–	–	–
В1	3	5	3	3	5	4	4	7	1	–	–	–
В2	4	5	3	4	5	2	5	3	3	–	–	–
В3	2	7	3	2	7	2	4	7	5	–	–	–
В4	3	5	3	3	9	1	3	5	5	–	–	–
В5	3	5	3	1	9	2	4	5	3	–	–	–
В6	5	3	3	3	3	1	4	3	1	–	5	3
В7	2	5	3	3	5	2	5	3	3	–	5	3
В8	2	5	3	2	3	2	3	3	3	–	5	3
В9	4	7	3	3	5	4	4	3	1	–	5	3
В10	3	3	3	3	5	2	3	5	1	–	5	3

Примечание. Форма верхушки молодого побега: 2 – слегка открытая; 3 – полуоткрытая; 4 – широко открытая; 5 – полностью открытая. Паутиноистое опушение верхушки молодого побега: 3 – редкое; 5 – среднее; 7 – густое. Антоциановая окраска верхушки молодого побега: 3 – слабая; 5 – средняя; 7 – сильная. Форма листа: 1 – сердцевидная; 2 – клиновидная; 3 – пятиугольная; 4 – круглая. Глубина верхних боковых вырезок листа: 3 – мелкие; 5 – средней глубины; 7 – глубокие; 9 – очень глубокие. Степень открытости черешковой выемки листа: 1 – очень широко открытая; 2 – широко открытая; 3 – открытая; 4 – слегка открытая; 5 – закрытая. Форма зубчиков листа: 3 – с выпуклыми сторонами; 4 – с выпукло-вогнутыми сторонами; 5 – из прямых и выпуклых сторон. Паутиноистое опушение жилок нижней стороны листа: 3 – редкое; 5 – среднее; 7 – густое. Щетиноистое опушение жилок нижней стороны листа: 1 – отсутствует или очень редкое; 3 – редкое; 5 – среднее. Тип цветка: 1 – мужской; 4 – женский. Окраска ягоды (без налета): 5 – темно-красно-фиолетовая; 6 – сине-черная. Антоциановая окраска мякоти ягоды: 3 – слабая; 5 – средняя. Прочерк – данные отсутствуют.

анализа было использовано количество кластеров, равное 7 ($K = 7$). Результаты анализа представлены на рис. 2.

Полученные в ходе анализа данные позволили выявить определенные закономерности кластеризации образцов относительно их происхождения. К четвертому и пятому кластерам в основном отнесены образцы, отобранные среди дикорастущих форм винограда заповедника «Утриш». Исключение составляют три генотипа винограда подвиды *Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris* (Gmelin) (*V. sylvestris*) – Khedhayria (Тунис) (61), Lambrusque Abbadia H (Франция) (62) и *Sylvestris* Dirmstein 2 (64), и аборигенный грузинский сорт Чхавери (45), относящийся к 5-му кластеру с вероятностью, не превышающей 50 %. Следует отметить, что три изучаемые дикорастущие формы винограда (5, 8 и 21) не были однозначно отнесены

к 4-му или 5-му кластеру. В свою очередь кластеры 2, 3 и 7 включают все аборигенные сорта, представленные в исследовании: дагестанского, донского, грузинского и крымского происхождения. При этом кластер 7 характерен для трех сортов грузинского происхождения – Александрюли (40), Мцване Кахури (41) и Ркацители (42); в остальных случаях вероятность его вклада в генотипы незначительна. За исключением трех вышеуказанных сортов, представители аборигенного генофонда распределены между кластерами 2 и 3 с различной степенью достоверности. Кластер 6 сформирован рядом генотипов подвойных сортов, минорный вклад этого кластера также выявлен только у сортов из данной выборки. Кластер 1 включает некоторые подвойные сорта, часть генотипов *V. sylvestris* и грузинский сорт Саперави (43).

Таблица 2. Эколого-географическая характеристика местообитаний анализируемых дикорастущих форм винограда заповедника «Утриш»

Образцы винограда № п/п	Шифр	Рельеф	Крутизна склона, град.	Экспозиция склона	Тип растительности	Тип почвы		
Атмачева щель								
1	A1	Низкогорный	3	ЮЗ	Дубово-ясеневый лес	Коричневая карбонатная каменистая		
2	A2							
3	A3							
Широкая щель								
4	Ш1	Низкогорный	5	ЮВ	Дубово-ясеневый лес	Коричневая карбонатная каменистая		
5	Ш2							
6	Ш3							
7	Ш4							
8	Ш5							
Лобанова щель								
9	Л1	Низкогорный	10	ЮВ			Липово-скально- дубовый лес	Коричневая карбонатная каменистая
10	Л2							
11	Л3							
12	Л4							
13	Л5							
14	Л6							
Водопадная щель								
15	B1	Низкогорный	20	СВ	Пушисто-дубово- ясеневый лес	Коричневая выщелоченная		
16	B2							
17	B3							
18	B4							
19	B5							
20	B6		35	ЮЗ	Фисташково- можжевельное редколесье	Коричневая карбонатная		
21	B7							
22	B8							
23	B9							
24	B10							

Таблица 3. Характеристика микросателлитных локусов в исследованной выборке из 24 дикорастущих форм винограда

Локус	Na	Ne	Ho	He	Локус	Na	Ne	Ho	He
VVS2	10.000	7.067	0.917	0.859	VrZAG79	6.000	1.717	0.500	0.418
VVMD5	7.000	2.730	0.583	0.634	UDV305	18.000	8.662	0.542	0.885
VVMD7	8.000	6.508	0.958	0.846	UDV737	7.000	3.740	0.750	0.733
VVMD25	5.000	4.482	0.625	0.777	GF09-46	5.000	3.200	0.708	0.688
VVMD27	5.000	1.775	0.500	0.437	ScORGF15-02	8.000	3.080	0.292	0.675
VVMD28	9.000	3.008	0.583	0.668	CenGen6	10.000	6.436	0.792	0.845
VVMD32	9.000	6.160	0.542	0.838	VVlb23	6.000	2.654	0.750	0.623
VrZAG62	7.000	4.000	0.917	0.750	Среднее	8.000	4.348	0.664	0.712

Примечание. Na – общее число выявленных аллелей; Ne – эффективное число аллелей; Ho – фактическая гетерозиготность; He – ожидаемая гетерозиготность.

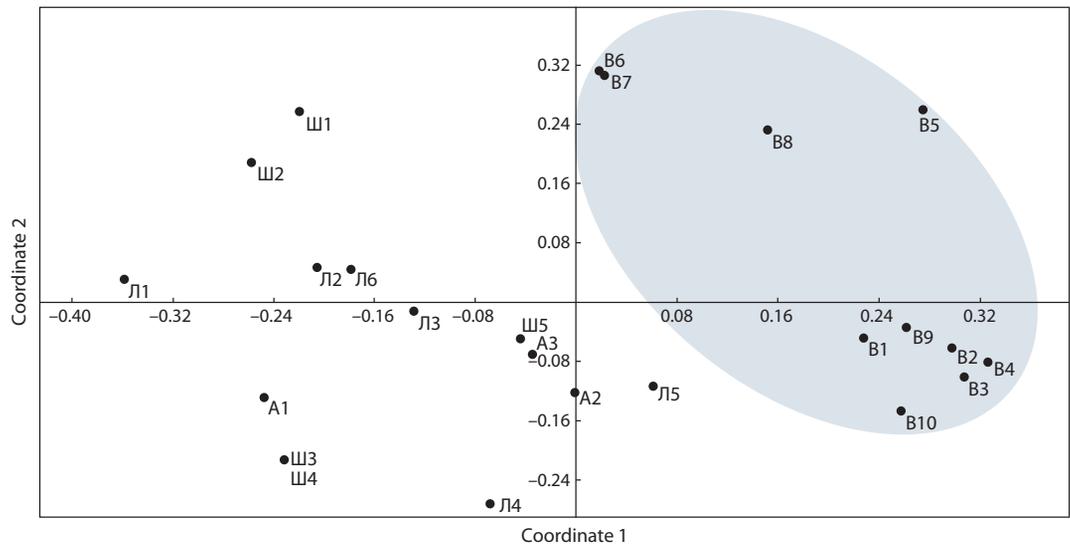


Рис. 1. Распределение исследуемых генотипов винограда в пространстве главных координат.

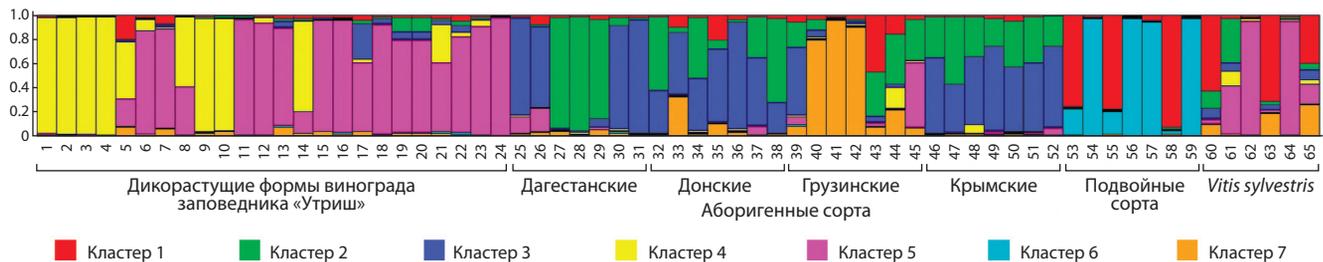


Рис. 2. Кластеризация 65 генотипов винограда по происхождению.

Вертикальная ось обозначает вероятность отнесения каждого генотипа к предполагаемым кластерам, обозначенным разными цветами. Генотипы: 1 – В1, 2 – В2, 3 – В3, 4 – В4, 5 – В5, 6 – В6, 7 – В7, 8 – В8, 9 – В9, 10 – В10, 11 – Л1, 12 – Л2, 13 – Л3, 14 – Л4, 15 – Л5, 16 – Л6, 17 – Ш1, 18 – Ш2, 19 – Ш3, 20 – Ш4, 21 – Ш5, 22 – А1, 23 – А2, 24 – А3, 25 – Агадаи, 26 – Риш баба, 27 – Тавлинский поздний, 28 – Хатал баар, 29 – Хоп халат, 30 – Сарах, 31 – Хатми, 32 – Варюшкин, 33 – Мушкетный, 34 – Сибирьковский, 35 – Ефремовский, 36 – Шилохвостый, 37 – Цимлянский черный, 38 – Шампанчик бессергеновский, 39 – Цицка, 40 – Александрюли, 41 – Мцване Кахури, 42 – Ркацители, 43 – Саперави, 44 – Цоликоури, 45 – Чхавери, 46 – Сары кокур, 47 – Харко, 48 – Кефесия, 49 – Сары пандас, 50 – Шабаш, 51 – Джеват кара, 52 – Кокур белый, 53 – Couderc 1616, 54 – Kober 5 BB, 55 – Millardet et Grasset 101-14, 56 – Teleki 8 B, 57 – Rupestris du lot, 58 – Fercal, 59 – Paulsen 1103, 60 – Geshen Hardof (Израиль), 61 – Khedhayria (Тунис), 62 – Lambrusque Abbadia H (Франция), 63 – Sveni (Армения), 64 – Sylvestris Dirmstein 2 (неизвестно), 65 – Sylvestris Guemuelduer 104-64 (Турция).

Заключение

Можно заключить, что отобранные в экспедиции образцы дикого винограда заповедника «Утриш» представлены двумя гипотетическими популяциями, выраженными кластерами 4 и 5. Между этими популяциями существуют переходные формы. И если первая условная популяция (кластер 4) локализована на территории «Водопадная щель», то представители второй условной популяции (кластер 5) встречаются во всех точках отбора растительного материала. Также установлена генетическая связь между второй условной популяцией и некоторыми генотипами *V. sylvestris* и грузинским сортом Чхавери (45), с той или иной степенью вероятности входящими в кластер 5.

Таким образом, можно предположить, что по меньшей мере часть генотипов, обнаруженных в заповеднике «Утриш», близка генотипам подвида *V. sylvestris*, представленным в международной базе данных VINC. Образцы из условно первой популяции (преимущественная локализация – Водопадная щель) генетически отличны от других форм и в основном выделены в кластер 4. Незначительный вклад кластера 4 отмечен в генотипах

из генофонда грузинских и крымских местных сортов (44 – Цоликоури, 48 – Кефесия), а также в двух образцах *V. sylvestris* (61 – Khedhayria (Тунис), 65 – Sylvestris Guemuelduer 104-64 (Турция)). Генетический вклад американских подвойных сортов на популяции дикорастущего винограда заповедника «Утриш» не выявлен.

Список литературы / References

- Горбунов И.В., Лукьянов А.А. Кубанские дикоросы винограда и их морфологические особенности. *Виноградарство и виноделие*. 2020;49:30-33.
[Gorbunov I.V., Lukyanov A.A. Kuban wild-growing grapes and their morphological features. *Vinogradarstvo i Vinodelie = Viticulture and Winemaking*. 2020;49:30-33. (in Russian)]
- Горбунов И.В., Лукьянов А.А., Быхалова О.Н. Морфологические особенности кубанских дикорастущих форм винограда. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2020;65(5):70-82. DOI 10.30679/2219-5335-2020-5-65-70-82.
[Gorbunov I.V., Lukyanov A.A., Bykhalova O.N. Morphological peculiarities of the Kuban wild-growing forms of grapes. *Plodovodstvo i Vinogradarstvo Yuga Rossii = Fruit Growing and Viticulture of South Russia*. 2020;65(5):70-82. DOI 10.30679/2219-5335-2020-5-65-70-82. (in Russian)]

- Гориславец С.М., Рисованная В.И., Волков Я.А., Колосова А.А., Володин В.А. Поиск и оценка дикорастущих форм винограда, произрастающих на территории Ялтинского горно-лесного природного заповедника, с использованием молекулярных маркеров. *Магарач. Виноградарство и виноделие*. 2017;1:19-21. [Gorislavets S.M., Risovannaya V.I., Volkov Y.A., Kolosova A.A., Volodin V.A. Identification and evaluation of wild growing vines on the territory of Yalta mountain-forest nature reserve using molecular markers. "Magarach". *Vinogradarstvo i Vinodelie* = "Magarach". *Viticulture and Winemaking*. 2017;1:19-21. (in Russian)]
- Чернодубов А.И., Руденок Я.Г. Биоразнообразие фитоценозов заповедника «Утриш». *Лесотехн. журн.* 2015;5(1):120-127. DOI 10.12737/11269.
- [Chernodubov A.I., Rudenok Y. Phytocenoses biodiversity in "Utrish" Reserve. *Lesotekhnicheskij Zhurnal = Forestry Engineering Journal*. 2015;5(1):120-127. DOI 10.12737/11269. (in Russian)]
- Cunha J., Ibáñez J., Teixeira-Santos M., Brazão J., Fevreiro P., Martínez-Zapater J.M., Eiras-Dias J.E. Genetic relationships among portuguese cultivated and wild *Vitis vinifera* L. germplasm. *Front. Plant Sci.* 2020;11:127. DOI 10.3389/fpls.2020.00127.
- De Michele R., La Bella F., Gristina A.S., Fontana I., Pacifico D., Garfi G., Motisi A., Crucitti D., Abbate L., Carimi F. Phylogenetic relationship among wild and cultivated grapevine in Sicily: a hotspot in the middle of the Mediterranean basin. *Front. Plant Sci.* 2019;10:1506. DOI 10.3389/fpls.2019.01506.
- Di Gaspero G., Copetti D., Coleman C., Castellari S.D., Eibach R., Kozma P., Lacombe T., Gambetta G., Zvyagin A., Cindrić P., Kovács L., Morgante M., Testolin R. Selective sweep at the *Rpv3* locus during grapevine breeding for downy mildew resistance. *Theor. Appl. Genet.* 2012;124(2):227-286. DOI 10.1007/s00122-011-1703-8.
- Doulati-Baneh H., Mohammadi S., Labra M., De Mattia F., Bruni I., Mezzasalma V., Abdollahi R. Genetic characterization of some wild grape populations (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*) of Zagros mountains (Iran) to identify a conservation strategy. *Plant Genet. Resour.* 2015;13(1):27-35. DOI 10.1017/S1479262114000598.
- Ellstrand N.C., Heredia S.M., Leak-Garcia J.A., Heraty J.M., Burger J.C., Li Y., Nohzadeh-Malakshah S., Ridley C.E. Crops gone wild: evolution of weeds and invasive from domesticated ancestors. *Evol. Appl.* 2010;3(5-6):494-504. DOI 10.1111/j.1752-4571.2010.00140.x.
- Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 2001;4(1):1-9.
- Kupe M., Ercisli S., Jovanović-Cvetković T., Eyduran S.P., Ayed R.B. Molecular characterization of wild grapes from northeastern part of Turkey. *Genetika*. 2021;53(1):93-102. DOI 10.2298/GENSR2101093K.
- Lukšić K., Zdunić G., Hančević K., Mihaljević M.Ž., Mucalo A., Maul E., Riaz S., Pejić I. Identification of powdery mildew resistance in wild grapevine (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* Gmel Hegi) from Croatia and Bosnia and Herzegovina. *Sci. Rep.* 2022;12(1):2128. DOI 10.1038/s41598-022-06037-6.
- Margaryan K., Maul E., Muradyan Z., Hovhannissyan A., Melyan G., Aroutiounian R. Evaluation of breeding potential of wild grape originating from Armenia. *BIO Web Conf.* 2019;15:01006. DOI 10.1051/bioconf/20191501006.
- McGovern P.E. Ancient Wine: The Search for the Origins of Viniculture. Princeton: Princeton Univ. Press, 2004. DOI 10.2307/j.ctvfjd0bk.
- Merdinoglu D., Butterlin G., Bevilacqua L., Chiquet V., Adam-Blondon A.F., Decroocq S. Development and characterization of a large set of microsatellite markers in grapevine (*Vitis vinifera* L.) suitable for multiplex PCR. *Mol. Breed.* 2005;15:349-366. DOI 10.1007/s11032-004-7651-0.
- Peakall R., Mouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*. 2012;28(19):2537-2539. DOI 10.1093/bioinformatics/bts460.
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 2000;155(2):945-959. DOI 10.1093/genetics/155.2.945.
- Riaz S., Boursiquot J.M., Dangl G.S., Lacombe T., Laucou V., Tenschler A.C., Walker M.A. Identification of mildew resistance in wild and cultivated Central Asian grape germplasm. *BMC Plant Biol.* 2013;13(1):149. DOI 10.1186/1471-2229-13-149.
- Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Mol. Biol.* 1985;5:69-76. DOI 10.1007/BF00020088.
- Schwander F., Eibach R., Fechter I., Hausmann L., Zyprian E., Töpfer R. *Rpv10*: a new locus from the Asian *Vitis* gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine. *Theor. Appl. Genet.* 2012;124(1):163-176. DOI 10.1007/s00122-011-1695-4.
- This P. Microsatellite markers analysis. In: Minutes of the First Grape Gen06 Work-shop, March 22nd and 23rd. INRA, Versailles (France). Paris: INRA, 2007;3-42.
- This P., Jung A., Boccacci P., Borrego J., Botta R., Costantini L., Crespan M., Dangl G.S., Eisenheld C., Ferreira-Monteiro F., Grando S., Ibáñez J., Lacombe T., Laucou V., Magalhães R., Meredith C.P., Milani N., Peterlunger E., Regner F., Zulini L., Maul E. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 2004;109(7):1448-1458. DOI 10.1007/s00122-004-1760-3.
- This P., Lacombe T., Thomas M.R. Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends Genet.* 2006;22(9):511-519. DOI 10.1016/j.tig.2006.07.008.
- van Heerden C.J., Burger P., Vermeulen A., Prins R. Detection of downy and powdery mildew resistance QTL in a 'Regent' × 'RedGlobe' population. *Euphytica*. 2014;200:281-295. DOI 10.1007/s10681-014-1167-4.
- VIVC. *Vitis* International Variety Catalogue. Microsatellites by profile. Last modified: 2022-08-10. Julius Kühn-Institut, 2022. Available at: <https://www.vivc.de/index.php?r=eva-analysis-mikrosatelliten-vivc%2Findex>
- Zdunić G., Lukšić K., Nagy Z.A., Mucalo A., Hančević K., Radić T., Butorac L., Jahnke G.G., Kiss E., Ledesma-Krist G., Regvar M., Likar M., Piltaver A., Žulj Mihaljević M., Maletić E., Pejić I., Werling M., Maul E. Genetic structure and relationships among wild and cultivated grapevines from Central Europe and part of the Western Balkan Peninsula. *Genes*. 2020;11(9):962. DOI 10.3390/genes11090962.
- Zendler D., Schneide P., Töpfer R., Zyprian E. Fine mapping of *Ren3* reveals two loci mediating hypersensitive response against *Erysiphe necator* in grapevine. *Euphytica*. 2017;213(68):1029. DOI 10.1007/s10681-017-1857-9.

ORCID ID

E.T. Il'nitskaya orcid.org/0000-0002-2446-0971
M.V. Makarkina orcid.org/0000-0002-3397-0666
I.V. Gorbunov orcid.org/0000-0002-4702-9148

I.V. Stepanov orcid.org/0000-0002-6251-300X
T.D. Kozina orcid.org/0000-0003-2908-6461
E.A. Kozhevnikov orcid.org/0000-0003-1305-3614
V.K. Kotlyar orcid.org/0000-0002-4865-0323

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Российской фонда фундаментальных исследований и администрации Краснодарского края, грант № 19-416-230025 р_а.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 15.08.2022. После доработки 11.10.2022. Принята к публикации 31.10.2022.