

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

**КАРАСТАН ОЛЬГА МИХАЙЛІВНА**



УДК 575:584.36:631.52

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

03.00.22 – молекулярна генетика

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Київ-2020

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано у відділі молекулярної генетики та фітопатології Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» Національної академії аграрних наук України та лабораторії молекулярної генетики АгроБіоІнституту (м. Софія, Болгарія).

**Науковий керівник:** доктор сільськогосподарських наук  
**Мулюкіна Ніна Анатоліївна,**  
Національний науковий центр  
«Інститут виноградарства і виноробства  
імені В. Є. Таїрова» НААН України,  
заступник директора з наукової роботи

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук,  
старший науковий співробітник  
**Волкова Наталія Едуардівна,**  
ТОВ «Котекна Україна Лімітед»,  
заступник начальника відділу  
молекулярної генетики та фітосанітарної  
експертизи

кандидат біологічних наук,  
старший науковий співробітник  
**Пірко Ярослав Васильович**  
Державна установа «Інститут харчової  
біотехнології та геноміки НАН України»,  
учений секретар

Захист відбудеться «\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 року о 13<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.254.01 Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» за адресою: 04123, м. Київ-123, вул. Осиповського, 2а, тел./факс: (044) 434-37-77, e-mail: d26.254.01@ukr.net

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» за адресою: 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а.

Автореферат розіслано «\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 року.

Вчений секретар спеціалізованої  
вченої ради, к.б.н., доц.



Н. Л. Пастухова

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Виноград (*Vitis vinifera* L.) – одна з найбільш цінних багаторічних культур, дослідженню якої приділяється велика увага у виноградарських країнах світу. Ефективний менеджмент зародкової плазми *Vitis* та її зберігання і використання потребують економічно ефективних і раціональних селекційних програм, які включають скринінг генотипів зразків винограду молекулярними маркерами ДНК.

Серед усіх існуючих типів маркерів в дослідженні винограду саме мікросателітні маркери ДНК стали найбільш широко використовуваними, завдяки інформативності, зручності у роботі та можливості проведення досить широкого спектру досліджень: від диференціації сортів винограду (Upadhyay et al., 2013; Аубакирова, 2014, Marsal et al., 2016) до аналізу родоводів (Vargas et al., 2009; Aliquo et al., 2017), оцінки генетичного різноманіття (Marano et al., 2015, Dallakyan et al., 2020), маркер-супутнього добору (Karaagac et al., 2012, Coner et al., 2018; Ocarez et al., 2020) тощо. При цьому першочерговим завданням є чітка ідентифікація сортів, оскільки давня історія культивування винограду, його міграція різними регіонами та навіть континентами, призвели до формування складного комплексу з назв сортів, їх синонімів та омонімів (This et al., 2006).

Створення нових сортів винограду, представляє значні труднощі насамперед через тривалий біологічний цикл (Adam-Blondon et al., 2011). 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 його тривалість та коштовність, підвищити ефективність, надасть можливість проводити цілеспрямовану гібридизацію та прогнозувати кінцеві результати (Karaagac et al., 2012).

Україна володіє значними за обсягом генетичними ресурсами винограду у вигляді колекцій сортів та форм Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» та Інституту винограду і вина «Магарач». Проте активне застосування мікросателітних маркерів в дослідженні та селекції сортів винограду практично не проводилось. Окремі роботи стосуються ідентифікації невеликої вибірки кримських сортів (Heuertz et al., 2008) та деяких сортів і форм української селекції (Бочарова, 2011; Vocharova et al., 2012).

Зазначене вище демонструє актуальність дисертаційної роботи, в якій висвітлено напрямки практичного використання і переваги залучення мікросателітних маркерів в дослідження генетичних ресурсів і селекційний процес у винограду.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Роботу виконано у відділі молекулярної генетики та фітопатології, селекційній експериментальній базі відділу генетики, селекції та ампелографії Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства 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 такі завдання:

1. Дослідити поліморфізм дев'яти мікросателітних локусів та оцінити придатність для диференціації сортів та форм винограду ампелографічної колекції 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 сумішню 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 інтрагенного мікросателітного маркера *p3\_VvAGL11*, зчепленого із ознакою безнасінності у винограду;
7. Провести молекулярно-генетичне тестування гібридної популяції Кобзар x Русалка 3 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 (виділення та очищення ДНК, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), електрофорез продуктів ампліфікації); статистичні (визначення кількості алелів, очікуваної та наявної гетерозиготності, ймовірності виникнення нульових алелів, вірогідності ідентичності, відношення правдоподібності); ампелографічні (візуальна оцінка ступеня безнасінності).

**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 винограду селекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова», а також сортів 'Кишмиш ОСГІ', 'Ромулус', 'Плевен устійчивий', 'Агат донський'. Для аналізу походження показана придатність методу реконструкції алельного складу генотипів сортів шляхом використання мікросателітних профілів їх нащадків. Вперше молекулярно-генетичними методами верифіковано родоводи 54 сортів та перспективних форм селекції ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова», а також деяких сортів закордонної селекції. Показана можливість використання мікросателітних маркерів для визначення батьківського компоненту в геномі сортів та форм винограду, отриманих в результаті запилення материнської

форми сумішшю пилку кількох сортів винограду. Вперше проведений аналіз генетичного різноманіття вибірки зразків колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» та визначені джерела рідкісних алелів мікросателітних локусів винограду. Вперше на вибірці сортів та форм колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» оцінений поліморфізм та визначено нові межі варіювання розмірів алелів мікросателітного маркера r3\_VvAGL11, алель 198 п. н. якого, зчеплений із проявом ознаки безнасінності у винограду. Виявлено існування, проаналізовано походження та успадкування фальш-позитивного алельного варіанту 198 п. н., не пов'язаного із проявом ознаки безнасінності. Показана придатність маркера r3\_VvAGL11 для раннього добору безнасінних рослин у гібридних популяціях за умов попереднього тестування батьківських сортів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Визначено алельний склад стандартного ряду 9 мікросателітних локусів ДНК сортів та форм ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» з метою подальшого включення до міжнародних баз даних світових генетичних ресурсів винограду, зокрема в Міжнародний каталог сортів VIVC, та захисту прав інтелектуальної власності на сорти винограду.

У відділ селекції, генетики та ампелографії ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» 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 в результаті запилення материнської форми сумішшю пилку кількох сортів винограду.

Підтверджено діагностичну придатність мікросателітного маркера r3\_VvAGL11 для оцінки наявності або відсутності ознаки безнасінності у рослин гібридної комбінації F<sub>1</sub> ('Кобзар' × 'Русалка 3') і рекомендовано його використання для раннього добору безнасінних рослин у гібридних популяціях.

#### **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 результатів дисертації.** Результати досліджень представлено на II Міжнародній науковій Інтернет-конференції «Современные тенденции в сельском хозяйстве» (Россия, Казань, 2013 г.); на Міжнародній конференції, присвяченій 100-річчю кафедри ботаніки, захисту рослин, біохімії і мікробіології Воронежського державного аграрного університету імені імператора Петра I «Агротехнологии XXI века: концепции устойчивого развития» (Россия, Воронеж, 2014 г.); 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» (Україна, Одеса, 2014 р.); на засіданні відділення рослинництва НААН України та Президії НААН України в ході проведення конкурсу на здобуття премії «За кращу наукову доповідь молодого ученого НААН з фундаментальних та прикладних досліджень» (Україна, 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» (Україна, Одеса, 2015 р.); на IV Международной конференции «Генетика, физиология и селекция растений» (Молдова, Кишинев, 2017 г.); на IV Міжнародній конференції «Сучасна біологія рослин: теоретичні та прикладні аспекти» (Україна, Харків, 2018 р.).

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 таблицю та 25 рисунків. Список літератури складається із 207 джерел, з них – 171 іншомовних.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

### МІКРОСАТЕЛІТНІ МАРКЕРНІ СИСТЕМИ У ДОСЛІДЖЕННІ ТА ВИКОРИСТАННІ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ ВІНОГРАДУ

(огляд літератури)

Розглянуто основні напрямки використання мікросателітних маркерів у дослідженні винограду *Vitis vinifera* L. Наведені особливості мікросателітів винограду, критерії добору маркерних локусів, склад стандартного ряду мікросателітних локусів, рекомендованих для ідентифікації та дослідження генетичної мінливості у популяціях винограду. Висвітлено основні аспекти внутрішньо- та міжвидової ідентифікації, визначення походження сортів та форм, оцінки генетичного різноманіття та маркер-супутнього добору винограду. Обґрунтовано актуальність та доцільність проведення досліджень за темою дисертаційної роботи.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

В якості матеріалу для досліджень використані 23 гібридні сіянці комбінації схрещування ‘Кобзар’ × ‘Русалка 3’; 80 сортів та форм винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова». Здобувач висловлює подяку за надання матеріалу к. с.-х. н. Ковальовій Ірині Анатоліївни.

Зразки сортів та форм були відібрані 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 °С для подальшого виділення ДНК.

Ампліфікація ДНК сортів та форм винограду ампелографічної колекції була проведена на термоциклері QB-96 LKB PCR (Quanta Biotech, Велика Британія) шляхом мультиплексування праймерів до мікросателітних локусів: VVS2 + ZAG62 + VVMD7; VVMD5 + VVMD25 + VVMD27; VVMD28 + VVMD32 + ZAG79. Візуалізація продуктів ампліфікації була виконана методом капілярного електрофорезу у аналізаторі ABI Prizm 310 (Applied Biosystems, США). Розміри фрагментів ампліфікації встановлювали за допомогою комп’ютерної програми Gene

Mapper 4.0 (ліцензія лабораторії молекулярної генетики АгроБіоІнституту (AgroBioInstitute, м. Софія, Болгарія).

В дослідженні сіянців та батьківських форм гібридної популяції 'Кобзар' × 'Русалка 3' мікросателітні маркери VVS2, ZAG62, VVMD7, p3\_VvAGL11 використані для підтвердження ідентичності; маркер p3\_VvAGL11 – для скринінгу рослин-носіїв ознаки безнасінності.

Ампліфікацію проводили на термоциклері «Терцик» («ДНК-технологія», РФ). Електрофорез проводили у 1,5 % агарозному гелі та 8 % нативному поліакриламідному гелі, в яких візуалізацію фрагментів ампліфікації виконували шляхом забарвлення у розчині флуоресціюючого барвника етидій броміду та розчині 0,012 М аргентум нітрату, відповідно.

Розмір фрагментів ДНК визначали за допомогою відеосистеми Bioimaging Systems EC3 (UVP, Велика Британія) та комп'ютерної програми «Launch Vision WorksLS» (ліцензія лабораторії молекулярної генетики ННЦ «ІВІВ імені В. Є. Таїрова») відносно до маркера молекулярної маси pBR 322 DNA / Bsu R1 (Hae III).

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: 1-й ступінь – повна відсутність насіння, 2-й ступінь – рудименти насіння, 3-й ступінь – наявність насіння.

Експериментальні дані оброблені на EOM. Основні показники для оцінки генетичного різноманіття (кількість алелів  $N_a$ , очікувана гетерозиготність  $H_e$ , наявна гетерозиготність  $H_o$ , ймовірність виникнення нульових алелів  $r$ , вірогідність ідентичності  $P_I$ ), частоти алелів досліджуваних локусів, стандартне відхилення та відношення правдоподібності (англ. Likelihood Ratio) вираховані за допомогою комп'ютерної програми Identity 4.0 (відкритий доступ). Ефективна кількість алелів  $H_e$ , індекс фіксації Райта  $F_{is}$ , кількість гомо- та гетерозигот обчислені вручну.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

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

*Ідентифікація генотипів сортів і форм винограду української та закордонної селекції.* Досліджувані зразки винограду проаналізовані за дев'ятьма мікросателітними локусами (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, ZAG62 та ZAG79) стандартного ряду, рекомендованого (This et al., 2004) для дискримінації сортів винограду (рис. 1). Вперше визначені алельні характеристики стандартного ряду мікросателітних локусів 54 сортів та форм винограду селекції ННЦ «ІВІВ імені В. Є. Таїрова». Також отримано повні алельні профілі дев'яти локусів 26 інтродукованих сортів винограду, що здебільшого представляють результати європейської, американської, середньо-азійської та «радянської» селекційних робіт різних часів.

Досліджені мікросателітні маркери показали високий рівень поліморфності: загалом було виявлено 108 алелів у дев'яти локусах.

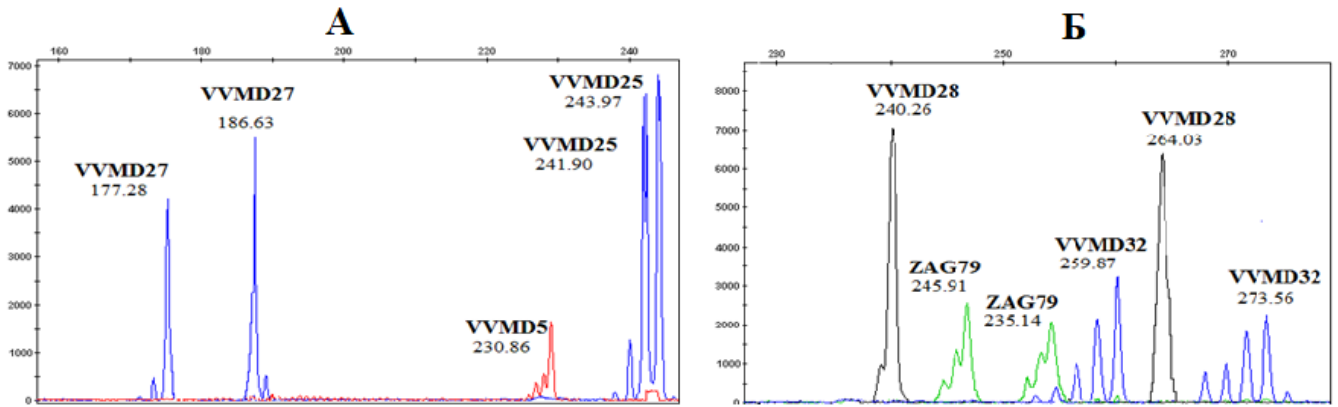


Рис. 1. Розподіл продуктів ампліфікації мікросателітних локусів ДНК сортів винограду ‘Афуз Алі’ (А) та ‘Золотистий устойчивий’ (Б).

При цьому вони виявилися придатними для розрізнення навіть близькоспоріднених зразків із значною подібністю алельного складу генотипу.

**Реконструкція генотипів сортів ‘Северний’, ‘Одеський стійкий’ та ‘Декоративний’.** Відтворення генотипу сорту ‘Северний’ здійснено з використанням алельних профілів його сортів-нащадків: ‘Голубок’, ‘Фіолетовий ранній’, ‘Береке’, ‘Самал’ (табл. 1).

Таблиця 1

**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
♂ ‘Северний’									
‘Голубок’	<b>131:135</b>	<b>186:190</b>	241: <b>243</b>	178: <b>180</b>	<b>239:249</b>	<b>240:242</b>	<b>258:262</b>	<b>242:274</b>	<b>250:258</b>
♀ ‘Мускат гамбурзький’	137:151	188:194	249:251	176:182	235:241	252:258	242:250	242:258	274:274
♂ ‘Северний’									
‘Фіолетовий ранній’*	131:151	<b>186:188</b>	<b>243:251</b>	176: <b>178</b>	235: <b>239</b>	<b>240:258</b>	258: <b>262</b>	<b>242:274</b>	-
♀ ‘Ілійський’	145:147	190:196	241:259	186:189	229:243	244:258	246:262	252:274	-
♂ ‘Северний’									
‘Береке’*	<b>131:145</b>	196: <b>206</b>	<b>249:259</b>	<b>180:189</b>	229: <b>239</b>	<b>240:258</b>	<b>258:262</b>	<b>242:274</b>	-
‘Самал’*	<b>137:147</b>	196: <b>206</b>	<b>249:259</b>	<b>180:189</b>	<b>239:243</b>	<b>244:258</b>	<b>258:262</b>	<b>240:274</b>	-
‘Северний’ (відтворений)	<b>131:137</b>	<b>186:206</b>	<b>243:249</b>	<b>178:180</b>	<b>239: -</b>	<b>240:258</b>	<b>258:262</b>	<b>240:242</b>	<b>240*:258</b>

Примітка: \* - мікросателітні профілі згідно даних Аубакірова К. П., 2013.

Алельний склад восьми локусів сорту ‘Северний’ був відновлений повністю. У локусі VVMD5 всі шість нащадків сорту ‘Северний’ успадкували алель 239 п. н., тому цілком ймовірно, що він є гомозиготним за цим локусом.

При аналогічному реконструюванні генотипу сорту ‘Одеський стійкий’, через невелику кількість його сортів-нащадків (‘Іллічівський ранній’, ‘Овідіопольський’, ‘Рубін таїровський’) та обмежену інформативність генотипу сорту ‘Северний’, було визначено повний алельний склад лише п’яти локусів: VVS2 (127:145 п. н.), VVMD27 (180:191 п. н.), VVMD28 (240:250 п. н.), ZAG79 (248:260 п. н.), VVMD32(252:274 п.



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

Відновлення генотипу сорту ‘Декоративний’ надало повний алельний склад восьми локусів – VVS2 (131:145 п. н.), ZAG62 (186:190 п. н.), VVMD5 (231:239 п. н.), VVMD7 (243:245 п. н.), VVMD27 (176:178 п. н.), VVMD28 (242:250 п. н.), ZAG79 (250:262 п. н.), VVMD32 (242:260 п. н.); в локусі VVMD25 був визначений один алель – 258 п. н.

Отримані генотипи сортів ‘Северний’, ‘Одеський стійкий’ та ‘Декоративний’ було порівняно із профілями запропонованих (Власов, 2014) батьківських форм, та підтверджено можливість походження сорту ‘Одеський стійкий’ (‘Бабяска нягре’ × ‘Рупестрис дю Ло’) від сорту ‘Бабяска нягре’ та сорту ‘Декоративний’ (‘Северний’ × ‘Сапераві’) від сорту ‘Северний’. Родовід сорту ‘Северний’ не аналізувався через брак інформації.

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

*Порівняльний аналіз алельних профілів сортів та форм винограду з генотипами їх ймовірних батьківських сортів.* На першому етапі аналізу родоводу проведено порівняння мікросателітних профілів зразків винограду та їх ймовірних батьківських форм. За його результатами обидві батьківські форми були підтверджені в походженні 51 зразку вибірки.

Через фізичну відсутність або відсутність інформації, щодо складу мікросателітних локусів в аналізі родоводів 22 зразків вибірки були використані прабатьківські генотипи, як запропоновано (Bautista et al. 2008).

В родоводі трьох зразків один з ймовірних батьків був відхилений через невідповідність алельних профілів: ‘Приморський’ (‘Альфонс Лавалле’ × ‘Італія’) виявив неспівпадіння у 5 з 9 досліджених локусах із сортом ‘Італія’ (зроблено припущення щодо можливості батьківства сорту ‘Афуз Алі’); ‘Белградський безнасіневий’ (? × ‘Дим’ят’) показав відмінності у 3 з 9 локусах із сортом ‘Дим’ят’; генотип форми ‘Роднічок’ (‘Віллар блан’ × ‘Іллічівський’) відрізнявся у 6 з 9 локусах від сорту ‘Віллар блан’.

В походженні безнасіневого зразку «Сірануш» не були підтверджені обидва батьківські сорти через неспівпадіння алельних характеристик із сортом ‘Катта курган’ у 3 з 9 локусах, із сортом ‘Кишмиш рожевий’ у 2 з 9 локусах. Припущено можливість походження зразку «Сірануш» від гібридизаційної комбінації ‘Чауш білий’ × ‘Кишмиш чорний’.

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

*Визначення за допомогою мікросателітних профілів батьківського компоненту в геномі сортів та форм, отриманих в результаті запилення сумішшю пилку.* Порівняльним аналізом генотипів в походженні сорту ‘Український 85’ (♀ ‘Чауш рожевий’ × ♂ ‘Іршаї Олівер’ + ♂ ‘Жемчуг Саба’) були підтверджені сорти ‘Чауш рожевий’ та ‘Іршаї Олівер’; у форм-сібсів ‘Шкода’ та ‘Опаловий’ (♀

‘Рубін таїровський’ × ♂ ‘Мускат жемчужний’ + ♂ ‘Жемчуг Саба’) – сорти ‘Рубін таїровський’ та ‘Мускат жемчужний’; у форми ‘Ланжерон’ (♀37-19-22 × ♂ ‘Восторг’ + ♂ ‘Агат донський’ + ♂ ‘Кобзар’ + ♂ ‘Аркадія’ + ♂ ‘Кодрянка’) – лише сорт ‘Кобзар’ (материнська форма не аналізувалася через відсутність рослин у насадженнях); у сорту ‘Голубок’ (♀ ‘Северний’ × ♂ форма 1-17-54 + ♂ ‘40 лет Октября’ + ♂ ‘Одеський ранній’) – сорти ‘Северний’ та ‘40 лет Октября’; у сорту ‘Іскорка’ (♀ форма 17-21-68 × ♂ ‘Zala Gyoengye’ + ♂ ‘Мускат одеський’) – сорт ‘Мускат одеський’ (материнська форма не аналізувалася через відсутність рослин у насадженнях).

**Оцінка статистичної ймовірності походження сортів та форм винограду від батьківських сортів, підтверджених порівняльним аналізом генотипів.** Для статистичного підтвердження походження 51 зразку винограду, було вираховано індекс батьківства на основі величини «відношення правдоподібності». Всі проаналізовані зразки демонстрували більшу вірогідність походження саме від запропонованої пари батьків ( $X \times Y$ ), ніж від будь-яких випадкових сортів, що не брали учать в дослідженні ( $(1 \times X)$  та  $(2 \times X)$ ). Показник  $X \times Y$  варіював у межах від  $10^3$  до  $10^{12}$ , що означає: «участь запропонованих батьків  $X \times Y$  в  $10^3$  (у сорту ‘Загадка’) та  $10^{12}$  (у сорту ‘Добриня’) раз більш ймовірна ніж комбінація будь-яких двох інших сортів».

$X \times Y$  залежить від гетерогенності генотипів ймовірних батьків та нащадків, тому в даному дослідженні значні його величини спостерігалися, здебільшого, у нащадків міжвидових гібридів (сорти ‘Голубок’, ‘Подарунок селекціонера’, ‘Інтерлейкін’, ‘Ромулус’), алельні профілі батьків яких мають значні відмінності.

Відношення правдоподібності походження досліджуваних нащадків від запропонованих батьків значно перевищувало його величини, отримані при розгляді можливих комбінацій одного батьківського сорту та близького родича іншого батьківського сорту ( $(rel(2) \times (1))$  та  $(rel(1) \times (2))$ , аналогічно до результатів, отриманих (Crespan et al., 2008).

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

### *Визначення основних параметрів генетичного різноманіття.*

Проаналізовано генетичне різноманіття вибірки 80 сортів та форм винограду на рівні алелів, локусів та популяції в цілому (табл. 2).

Генотипи локусів, у складі яких виявлений нульовий алель, розглядалися як гетерозиготні, замість гомозиготних. Загалом 108 алелів виявлені в 9 досліджуваних мікросателітних локусах

Найбільшу кількість алелів подібно до (Tangolar et al., 2009; Ibanez et al., 2009) спостерігали в локусі VVMD28 (18 алелів), найменшу – в локусі VVMD25 (8 алелів).

Середнє число алелів у дев’яти досліджених локусах склало 12, а середня ефективна кількість алелів ( $N_e$ ) – 5,81.

Очікувана гетерозиготність  $H_e$  варіювала від 0,744 (у локусі VVMD25) до 0,883 (у локусі ZAG79), що склало дещо більші значення у порівнянні з даними аналізу європейських сортів винограду Sefc et al. (2000) та угорських сортів винограду Galbacs et al. (2009).

Даний факт може пояснюватися гетерогенністю досліджуваної вибірки, яка включає значну кількість прямих нащадків азійських сортів ‘Чауш рожевий’, ‘Катта

курган', 'Султаніна', 'Афуз Алі' тощо та зразки винограду міжвидового походження від *V. amurensis*.

Таблиця 2

**Параметри оцінки генетичного різноманіття досліджуваної вибірки сортів 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
<b>Загальна:</b>	108					$2,94 \times 10^{-12}$	91	629	
<b>Середня:</b>	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.

З іншого боку, отримані нами значення очікуваної гетерозиготності  $H_o$  можуть бути дещо заниженими через входження у склад вибірки кількох груп близькоспоріднених сортів та форм, які мають спільного родоначальника або спільних близьких родичів. Наприклад, гібридна сім'я сорту 'Датьє де Сен Вальє' включає 13 зразків вибірки, сорту 'Чауш рожевий' – 8, а сорту 'Жемчуг Саба' – 7.

У локусах VVMD25, VVMD28 та ZAG79 п'яти зразків винограду виявлені нульові алелі. При цьому визначений показник ймовірності нульового алеля  $r$  у всіх локусах демонстрував негативні значення, що свідчить про низьку вірогідність існування нульових алелів.

Середнє значення очікуваної гетерозиготності  $H_e$  склало 0,820, що дещо нижче, ніж отримані в роботах Leao et al. (2013) та Dallakyan et al. (2020), проте перевищує аналогічний показник у інших дослідників – Tangolar et al. (2009), Ramezani et al. (2009), Upadhyay et al. (2013), Marano et al. (2015), Marsal et al. (2016).

Наявна гетерозиготність  $H_o$  варіювала між величинами 0,823 (локус VVMD25) та 0,925 (локус ZAG79) із середнім значенням 0,871, що виявилось значно вище ніж, наприклад, у Dallakyan et al. (2020) при ідентифікації 175 зразків 20 маркерами; Marsal et al. (2016) при генотипуванні 338 сортів 20 маркерами; Emanuelli et al. (2013) при дослідженні 1085 зразків винограду 10 маркерами; Ibanez et al. (2009) при генотипуванні 489 зразків винограду 9 маркерами. В усіх досліджених локусах розрахункова величина наявної гетерозиготності  $H_o$  виявилася вищою за очікувану гетерозиготність.

За параметром ймовірності ідентичності (англ. Probability of Identical Genotypes, PI) найбільш інформативним виявився локус ZAG79 із  $PI = 0,024 \times 10^{-12}$ , аналогічно

даним Leao et al. (2013) та Hvarleva et al. (2004) ( $PI = 0,06 \times 10^{-12}$ ), в той час як найменш інформативним був локус VVMD25 ( $PI = 0,109 \times 10^{-12}$ ).

Сумарне значення вірогідності ідентичності склало  $2,95 \times 10^{-12}$ , подібно до Vouillamoz et al. (2006) ( $1,67 \times 10^{-12}$ ) та Ibanez et al. (2009) ( $6,93 \times 10^{-12}$ ), що, з одного боку свідчить про високий рівень поліморфізму використаних в дослідженні мікросателітних локусів, а з іншого, як відмічають Upadhyay et al. (2013), є наслідком завідомого обрання високополіморфних маркерів для роботи. Загалом, серед 720 виявлених генотипів, 91 був гомозиготний, 629 – гетерозиготні.

Для оцінки міри генетичних наслідків інбридингу особини відносно досліджуваної вибірки сортів, був визначений показник інбридингу  $F_{is}$ , який в нашому дослідженні варіював 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.

**Алельне різноманіття та джерела рідкісних алелів.** Аналіз частот алелів мікросателітних локусів досліджених зразків винограду підтвердив високу поліморфність використаних маркерів: у всіх локусах частота будь-якого алеля не перевищувала 95% або 99% (Айяла та ін., 1988) (табл. 3).

Найбільш поширеним у вибірці виявився алель 258 п. н. у локусі VVMD25 із частотою 3,4 %. Близькі до нього значення склали алелі 251 п. н. (частота 30,6 %) та 190 п. н. (частота 31,9 %) у локусах VVMD7 та ZAG62, відповідно.

У шести інших локусах максимальну частоту виявили такі алелі: 137 п. н. (25,6 %) – у локусі VVS2; 176 п. н. – (26,3 %) у локусі VVMD27; 274 п. н. (35,8 %) – у локусі VVMD32; 250 п. н. (25,6 %) – у локусі VVMD28; 258 п. н. (20,0 %) – у локусі ZAG79; 239 п. н. (28,8 %) – у локусі VVMD5.

Таблиця 3

### Частоти алелів досліджуваних мікросателітних локусів

Мікросателітні локуси														
VVS2			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	<b>176</b>	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
<b>137</b>	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	<b>239</b>	28,8	3,6	<b>251</b>	30,6	3,6	188	0,6	0,6	<b>258</b>	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												

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	<b>242</b>	16,4	2,9	188	17,5	3,0
232	0,6	0,6	248	7,5	2,1	244	0,6	0,6	<b>190</b>	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	<b>258</b>	16,4	2,9	202	3,1	1,4
244	0,6	0,6	<b>258</b>	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
<b>250</b>	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.

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

Мікросателітне профілювання сортів вибірки виявило поширені алелі, які, зазвичай, виявляються у європейських сортів та їх нащадках, а також рідкісні (за 2 % критерієм) алелі, які вказують на приналежність до сортів міжвидового, американського, амурського походження або похідних від них гібридів (Dzhambazova et al., 2009).

В алельному різноманітті локусу VVS2 виявлено чотири рідкісних алеля (125, 131, 141, 143 п. н.), VVMD27 – три (172, 188, 204 п. н.), VVMD7 – чотири (237, 239, 257, 259 п. н.), VVMD5 – чотири (227, 233, 247, 271 п. н.), VVMD25 – два (240, 272 п. н.), VVMD28 – десять (226, 232, 236, 244, 248, 252, 254, 258, 266, 274 п. н.), VVMD32 – п'ять (236, 240, 244, 250, 276 п. н.), локусу ZAG62 – два (182, 194 п. н.), ZAG79 – три (256, 266, 268 п. н.).

У вибірці рідкісні алелі склали 34,3 % (37 з 108) від загальної кількості виявлених, та переважна їх більшість були унікальними (з частотою – 0,6 %).

Найбільша кількість рідкісних алелів визначена у підщепного сорту 'Добриня' та нащадків міжвидових гібридів ('Голубок', 'Іллічівський ранній' тощо), аналогічно до результатів Upadhyay et al. (2013).

## МАРКЕР-СУПУТНІЙ ДОБІР ЗА ОЗНАКОЮ БЕЗНАСІННЄВОСТІ У ВІНОГРАДУ

*Визначення поліморфізму інтрагенного мікросателітного локусу r3\_VvAGL11, зчепленого із ознакою безнасінності у винограду. Проведений*

мікросателітний аналіз з використанням локусу p3\_VvAGL11 45 сортів винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова» (рис. 2., табл. 4). Сорти 'Аліготе', 'Шардоне', 'Шасла біла', 'Піно чорний' та 'Flame seedless' використані в якості референтних.

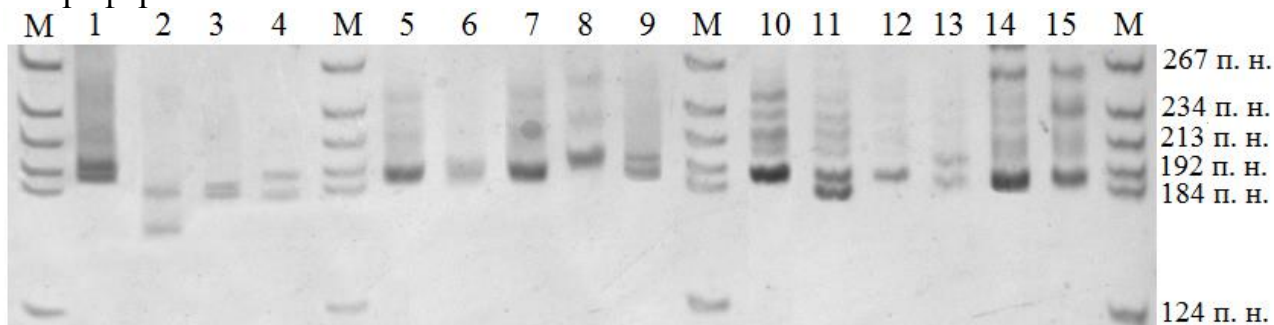


Рис.2. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК насінневих сортів винограду за мікросателітним локусом p3\_VvAGL11. Маркер молекулярної маси pBR 322 DNA / Bsu R1 (Hae III) (М); 'Каберне Совіньйон' (1), 'СО4' (2), 'Огоньок таїровський' (3), 'Ркацители' (4), 'Шасла біла' (5), 'Дністровський рожевий' (6), 'Кардинал' (7), 'Мускат жемчужний' (8), 'Чауш рожевий' (9), 'Піно чорний' (10), 'Шардоне' (11), 'Геркулес' (12), 'Опаловий' (13), 'Смена' (14), 'Таїр' (15).

Таблиця 4

#### Алельні характеристики (п. н.) локусу p3\_VvAGL11 сортів винограду

Безнасінневі сорти		Насінневі сорти			
Назва сорту	p3 VVAGL11	Назва сорту	p3 VVAGL11	Назва сорту	p3 VVAGL11
'Белградський безнасінневий'	188:198 <sup>+</sup>	'Айваз'	188:188	'Мускат гамбурзький'	176:188
'Ваткана'	198 <sup>+</sup> :198 <sup>-</sup>	'Аліготе'	178:188	'Мускат жемчужний'	198 <sup>-</sup> :198 <sup>-</sup>
'Інтерлейкін'	198 <sup>+</sup> :198 <sup>-</sup>	'Альфонс Лавалле'	176:188	'Огоньок таїровський'	184:186
'Кишмиш ВІРа'	188:198 <sup>+</sup>	'Аркадія'	186:188	'Одеський чорний'	184:188
'Кишмиш лучистий'	188:198 <sup>+</sup>	'Восток'	178:188	'Опаловий'	188:198 <sup>-</sup>
'Кишмиш ОСГГ'	198 <sup>+</sup> :198 <sup>-</sup>	'Геркулес'	190:190	'Піно чорний'	188:188
'Кишмиш Таїровський'	188:198 <sup>+</sup>	'Дністровський рожевий'	188:188	'Плевен устійчивий'	186:188
'Мечта'	198 <sup>+</sup> :198 <sup>-</sup>	'Етюд'	186:186	'Ркацители'	180:190
'Ромулус'	198 <sup>+</sup> :198 <sup>-</sup>	'Жемчуг Саба'	188:198 <sup>-</sup>	'Смена'	186:186
'Русалка 1'	188:198 <sup>+</sup>	'Загрей'	188:188	'СО4'	164:184
'Русалка 3'	188:198 <sup>+</sup>	'Кардинал'	188:188	'Таїр'	190:190
'Рушакі'	188:198 <sup>+</sup>	'Кобзар'	188:198 <sup>-</sup>	'Флора'	190:190
'Сірануш'	180:198 <sup>+</sup>	'Каберне Совіньйон'	188:196	'Чауш рожевий'	188:198 <sup>-</sup>
'Jupiter'	198 <sup>+</sup> :198 <sup>-</sup>	'Карабурну'	180:188	'Шардоне'	178:188
'Flame seedless'	188:198 <sup>+</sup>	'Королева виноградників'	188:198 <sup>-</sup>	'Шасла біла'	188:188

Примітка: символами «+» та «-» позначено варіанти алеля 198 п. н. (детальне пояснення надано в подальшому тексті).

Загалом виявлено 10 алелів: 164 п. н. (частота 0,01), 176 п. н. (частота 0,02), 178 п. н. (частота 0,03), 180 п. н. (частота 0,03), 184 п. н. (частота 0,04), 186 п. н. (частота 0,08), 188 п. н. (частота 0,4), 190 п. н. (частота 0,08), 196 п. н. (частота 0,01) та 198 п. н. (частота 0,3). Алелі 164 та 186 п. н. визначені вперше у нашому дослідженні, можливо через входження до складу вибірки підщепного сорту ‘СО4’ та нащадків *V. amurensis* Rupr – сортів ‘Етюд’ та ‘Смена’.

Основні показники різноманіття локусу  $p3\_VvAGL11$  ( $N_a = 10$ ,  $H_e = 0,74$ ,  $H_o = 0,6$ ,  $r = 0,08$ , кількість гетерозигот – 27, кількість гомозигот – 18) відповідали значенням, опублікованим раніше Zarouri et al. (2014), Hur et al. (2014), Bergamini et al. (2013) та Mejia et al. (2011). В цілому, для локусу  $p3\_VvAGL11$  виявлений достатній рівень поліморфізму, зіставний із показниками поліморфності інших мікросателітних локусів, що широко застосовуються для ідентифікації внутрішньосортової варіабельності винограду.

Алель 198 п. н. мікросателітного локусу  $p3\_VvAGL11$ , асоційований із проявом ознаки безнасінності у винограду (Mejia et al., 2011), в нашому дослідженні виявлений у всіх безнасінневих сортів та деяких сортах із насінневим фенотипом (табл. 4). Зроблено припущення щодо існування двох варіантів цього алеля, які мають різну асоціацію із ознакою безнасінності.

Символом «+» (тобто  $198^+$ ) позначено варіант алеля 198 п. н. локусу  $p3\_VvAGL11$ , що пов’язаний із проявом ознаки безнасінності, символом «-» ( $198^-$ ) – не асоційований із даною ознакою. Варіанти розрізняли за фенотипом рослин, у яких вони були визначені.

Варіант  $198^+$  п. н. виявлено у всіх безнасінневих сортів винограду, які здебільшого походять від сорту ‘Султаніна’ (рис. 3), рідше – від сорту ‘Кишмиш чорний’.

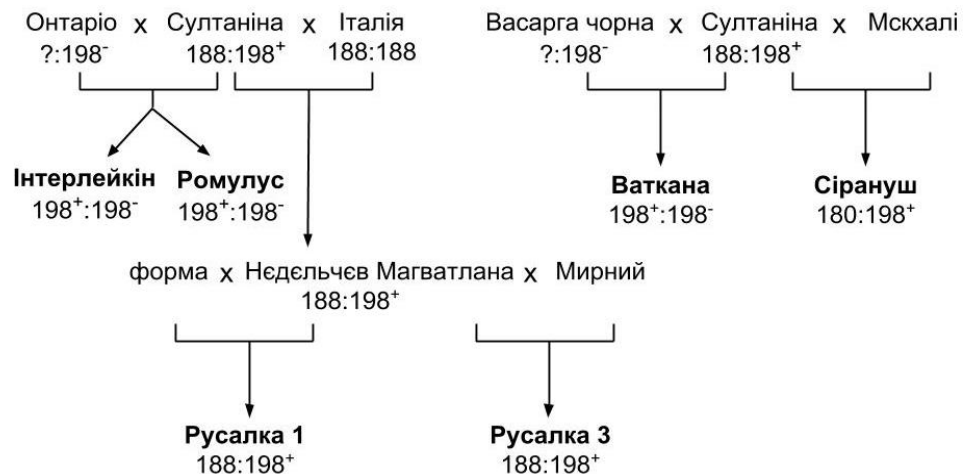


Рис. 3. Схема успадкування алельного варіанту  $198^+$  п. н. від сорту ‘Султаніна’ досліджуваними безнасінневими сортами винограду. Алельні профілі сортів ‘Султаніна’, ‘Італія’, ‘Недельчев Магватлана’ наведені згідно даних Zarouri et al. (2015). Виділеним шрифтом позначено сорти досліджуваної вибірки.

Алельний варіант  $198^-$  п. н., не пов’язаний із здатністю формувати повноцінне насіння. Його входження до складу генотипу рослин обумовлює фальш-позитивні випадки (наявність алеля та відсутність безнасінності). Незначний відсоток таких

випадків (1,68 %), був виявлений Bergamini et al. (2013) серед 475 генотипів, і може свідчити про непоширеність даного варіанта в алельному різноманітті винограду.

В нашій вибірці фальш-позитивні випадки із гетерозиготним станом локусу  $p3\_VvAGL11$  ( $-:198^-$ ) представлені зразками ‘Чауш рожевий’, ‘Жемчуг Саба’, ‘Королева виноградників’, ‘Мускат жемчужний’, ‘Опаловий’ та ‘Кобзар’, які (окрім сорту ‘Кобзар’, що походить від сорту ‘Катта курган’) є нащадками сорту ‘Чауш білий’ (рис. 4).

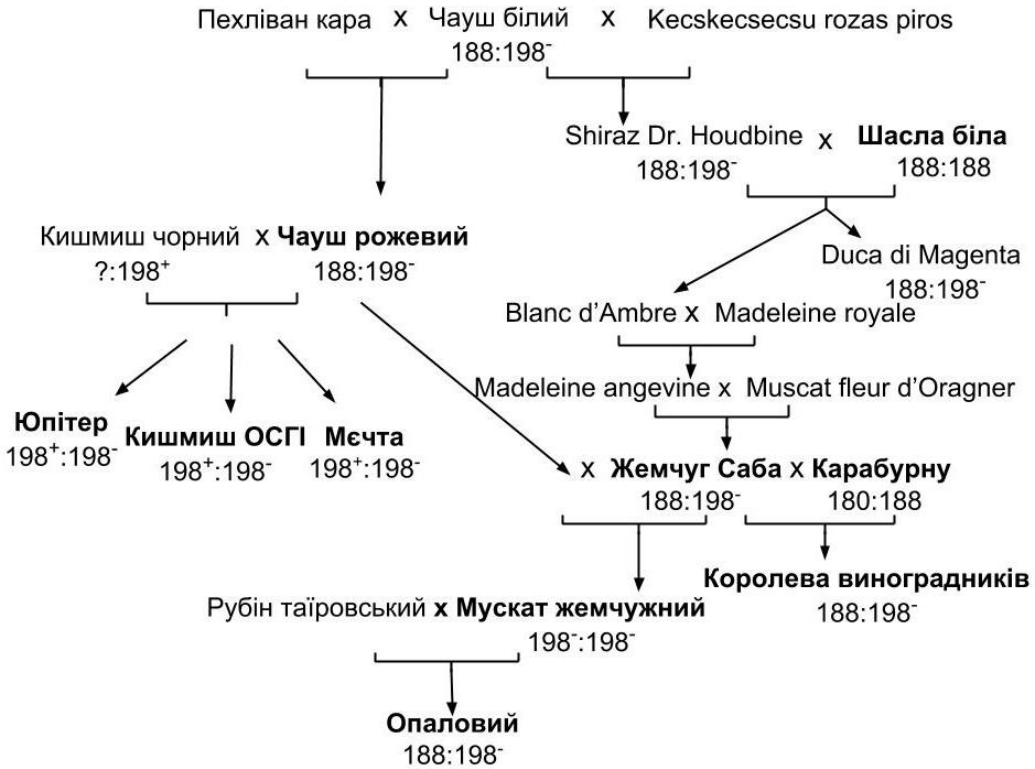


Рис. 4. Схема успадкування сортами винограду алельного варіанту 198<sup>-</sup> п. н. від сорту ‘Чауш білий’. Виділеним шрифтом відмічені сорти досліджуваної вибірки. Алельний склад сортів ‘Чауш білий’, ‘Schiras Dr. Houdbine’, ‘Duca di Magenta’ наведені згідно даних Bergamini et al. (2013) та Zarouri et al. (2014).

Zarouri et al. (2014) виявили фальш-позитивні випадки також переважно у нащадків сорту ‘Чауш білий’; рідше – сорту ‘Ічкімар’.

Пізніше Osarez et al. (2020), посилаючись на наші (Жарастан та ін., 2015) та свої результати досліджень, заявили, що сорт ‘Чауш білий’ може бути джерелом рекомбінації, яка зменшує прогностичні властивості маркера  $p3\_VvAGL11$ .

Алельний варіант 198<sup>-</sup> п. н. також був притаманний нащадкам сорту ‘Concord’ – зразкам ‘Інтерлейкін’ та ‘Ромулус’, які входять до складу нашої вибірки.

Проаналізувавши родоводи зразків-носіїв алельного варіанта 198<sup>-</sup> п. н., включно із даними інших дослідників, ми виявили, що всі вони походять, в основному, від азійських сортів ‘Чауш білий’, ‘Ічкімар’, ‘Васарга чорна’ та ‘Катта курган’; американський сорт (міжвидовий гібрид) ‘Concord’ є непрямим нащадком європейського сорту із невідомим родоводом – ‘Semillon’. Наявність в їхніх генотипах фальш-позитивного алельного варіанта 198<sup>-</sup> п. н. може бути індикатором спільного походження або близьких родинних зв’язків.



**Ранній скринінг за допомогою маркера *p3\_VvAGL11* у гібридній популяції ‘Кобзар’ × ‘Русалка 3’.** На першому етапі маркер-супутнього добору для верифікації ідентичності проведено молекулярно-генетичний аналіз за чотирма мікросателітними локусами (VVS2, ZAG62, VVMD28, *p3\_VvAGL11*) батьківських форм та сіянців комбінації ‘Кобзар’ × ‘Русалка 3’, які вже вступили у стадію плодоношення (табл. 5).

Серед 23 гібридних сіянців чотири (6, 7, 12, 15) виключені з дослідження через невідповідність мікросателітного профілю генотипам батьківських форм.

На другому етапі маркер-супутнього добору, генотипи сіянців проаналізовано на предмет наявності у локусі *p3\_VvAGL11* алельного варіанту 198<sup>+</sup> п. н., асоційованого із проявом ознаки безнасінневості (рис. 5).

Таблиця 5

**Мікросателітні профілі та фенотипи за ознакою  
безнасінневості гібридних форм та їх батьківських сортів**

Батьківські сорти:	Алелі мікросателітних локусів, п. н.				Фенотип
	VVS2	ZAG62	VVMD28	<i>p3_VvAGL11</i>	
♀ ‘Кобзар’	137:157	190:196	242:242	188: <b>198</b>	насінневий
♂ ‘Русалка 3’	147:157	190:202	242:250	188: <b>198</b>	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	<b>198:198</b>	безнасінневий
11	137:157	190:196	242:242	188:198	-
12	139:139	190:196	244:244	186:186	-
13	157:157	190:190	242:250	188:188	насінневий
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	насінневий
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: ризкою позначено відсутність даних щодо фенотипу.

Встановлено присутність обох алельних варіантів маркера: 198<sup>+</sup> п. н. та 198<sup>-</sup> п. н.

Загалом, алель 198 п. н. виявлений у складі генотипів 12 з 19 сіянців (63,2 %), що приблизно відповідає розщепленню генотипів у гібридному потомстві за законами Г. Менделя, характерне для схрещування гетерозигот.

Відхилення від менделівського розщеплення може бути пов’язано із низькою життєздатністю нащадків комбінацій схрещування «насінневий × безнасінневий».

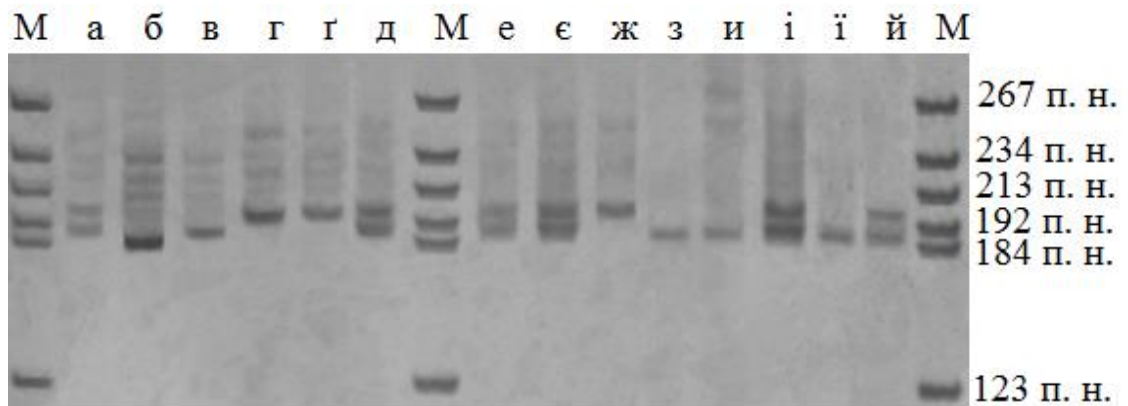


Рис. 5. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК зразків гібридних сіянців за локусом *p3\_VvAGL11*. Маркер молекулярної маси *pBR 322 DNA / Bsu R1* (*Hae III*) (М), гібридні зразки: 1 (а), 15 (б), 5 (в), 10 (г), 18 (г), 2 (д), 8 (е), 16 (є), 10 (ж), 9 (з), 13 (и), 19 (і), 21 (ї), 20 (й).

З 19 гібридних сіянців винограду у фазі плодоношення знаходилися вісім зразків, серед яких сім мали насіннєвий фенотип із генотипами 188:188 та 188:198<sup>-</sup> п. н., а один – безнасіннєвий (198<sup>+</sup>:198<sup>-</sup> п. н.). Прогнозовано, що гібридні сіянці 10, 14, 18 та 23, які гомозиготні за алелем 198 п. н., також будуть демонструвати безнасіннєвий фенотип.

## 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.

В цілому отримані результати дозволяють сформулювати наступні висновки:

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<sup>+</sup> п. н.) та не пов’язаний із даною ознакою (позначено як 198<sup>-</sup> п. н.). Джерелами варіанту 198<sup>+</sup> визначено сорти ‘Султаніна’ та ‘Кишмиш чорний’, 198<sup>-</sup> п. н. – сорти ‘Чауш білий’, ‘Concord’, ‘Ічкімар’, ‘Катта курган’ та ‘Васарга чорна’.
  7. Серед сіянців та батьківських форм гібридної комбінації ‘Кобзар’ х ‘Русалка 3’, оцінених за мікросателітним маркером p3\_VvAGL11, виявлено чотири гібридні рослини-носії алеля 198<sup>+</sup> п. н., асоційованого із проявом ознаки безнасінності у винограду. Зазначені рослини можуть стати джерелом безнасінного матеріалу у сучасному виноградарстві.

### СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

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](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 r3\_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 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. *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 безнасінності 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. Вып. 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-технологии в изучении винограда. Виноград : монография / под. ред. В. В. Власова. Одесса : Астропринт, 2018. С. 421-440. *Особистий внесок – експериментальні дослідження, аналіз результатів.*
15. **Карастан О. М.**, Папіна 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.
16. **Карастан О. М.**, Мулюкіна Н. А., Папіна Е. С., Росохатая Т. И., Плачинда Г. В. Происхождение некоторых форм винограда селекции ННЦ «ИВВ 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.

#### 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. – Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України». – Київ, 2020.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню молекулярно-генетичного поліморфізму мікросателітних локусів ДНК сортів та форм винограду ампелографічної колекції ННЦ «ІВіВ імені В. Є. Таїрова», оцінці генетичного різноманіття та аналізу можливості використання мікросателітного маркера *p3\_VVAGL11* для маркер-супутнього добору. Отримано алельні характеристики стандартного ряду 9 мікросателітних локусів ДНК 80 зразків винограду. Шляхом порівняння алельного складу генотипів та наступного вирахування статистичної ймовірності підтверджено походження 51 зразка винограду. Родовід 22 зразків проаналізований із використанням мікросателітних профілів батьківських і прабатьківських форм. Вирахувано основні показники генетичного різноманіття та визначено сорти-носії рідкісних алелів досліджуваних мікросателітних локусів. Досліджений поліморфізм мікросателітного маркера *p3\_VvAGL11*, алель 198 п. н. якого асоційований із проявом ознаки безнасінності у винограду. Гібридні сіянці комбінації схрещування ‘Кобзар’ × ‘Русалка 3’ використано з метою перевірки діагностичної придатності алеля 198 п. н. для раннього скринінгу безнасінних рослин. Виявлено два алельних варіанти маркера *p3\_VvAGL11* розміром 198 п. н., один з яких фальш-позитивний, тобто не асоційований із проявом ознаки безнасінності. Проаналізовано походження та успадкування фальш-позитивного алеля, а також його вплив на результати маркер-супутнього добору.

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

## АННОТАЦИЯ

**Карастан О. М. Микросателитные маркеры в исследовании генетических ресурсов и селекции винограда *Vitis vinifera* L.** – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.22 – молекулярная генетика. – Государственное учреждение «Институт пищевой биотехнологии и геномики Национальной академии наук Украины». – Киев, 2020.

Диссертационная работа посвящена исследованию молекулярно-генетического полиморфизма микросателлитных локусов ДНК сортов и форм винограда ампелографической коллекции ННЦ «ИВиВ имени В. Е. Таирова», оценке генетического разнообразия и анализу возможности использования микросателлитного маркера *p3\_VVAGL11* для маркер-сопутствующего отбора. Получены аллельные характеристики 9 микросателлитных локусов ДНК 80 образцов винограда. Путем сравнения аллельного состава генотипов и последующего расчета статистической вероятности подтверждено происхождение 51 образца винограда. Родословная 22 образцов проанализирована с использованием микросателлитных профилей родительских и прародительских форм. Вычислены основные показатели

генетического разнообразия и определены сорта-носители редких аллелей исследуемых микросателлитных локусов. Исследован полиморфизм микросателлитного маркера p3\_VvAGL11, аллель 198 п. н. которого ассоциирован с проявлением признака бессемянности у винограда. Гибридные сеянцы комбинации скрещивания ‘Кобзарь’ × ‘Русалка 3’ использованы для проверки диагностической пригодности аллеля 198 п. н. для раннего скрининга бессемянных растений. Выявлено два аллельных варианта маркера p3\_VvAGL11 размером 198 п. н., один из которых фальш-положительный, то есть не ассоциирован с проявлением признака бессемянности. Проанализированы происхождение и наследование фальш-положительного аллеля, а также его влияние на результаты маркер-сопутствующего отбора.

**Ключевые слова:** микросателлит, родословная, происхождение, генетическое разнообразие, маркер-сопутствующий отбор, виноград, *Vitis vinifera* L.

## SUMMARY

**Karastan O. M. Microsatellite markers in the study of genetic resources and breeding of grapes *Vitis vinifera* L. – Manuscript.**

Thesis for obtaining a scientific degree of candidate of biological sciences, by specialty 03.00.22 – molecular genetics. – Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2020.

The thesis is devoted to research of molecular genetic polymorphism of microsatellite DNA loci, evaluation of genetic diversity of grape and hybrid forms from the ampelographic collection of NSC “Institute of viticulture and wine-making named after V. Ye. Tairov” and analysis of p3\_VVAGL11 microsatellite marker effectiveness for the marker-assisted selection.

The allelic characteristics of a standard set of 9 microsatellite DNA loci (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, ZAG62, ZAG79, VVMD32, VVMD36 and VVMD25) were obtained for 80 grape samples.

The possibility of genotype reconstruction in case of physical absence of plant material was shown for ‘Severnii’, ‘Odesskii ustoichivi’ and ‘Dekorativnyi’ by microsatellite profile analyzing of their descendants. Allele sizes of 8, 5 and 8 loci were determined for ‘Severnii’, ‘Odesskii ustoichivi’ and ‘Dekorativniy’ varieties, correspondingly.

Reconstructed genotypes were used for the study of pedigrees of these varieties. The possibility of the origin of ‘Odesskii ustoichivi’ (‘Babeasca neagra’ x ‘Rupestris du lot’) from the ‘Babeasca neagra’ and the ‘Dekorativnyi’ (‘Severnii’ × ‘Saperavi’) ‘Severnii’ was confirmed.

Verification of grape pedigrees by comparative analysis of samples genotypes and their probable parental varieties and the subsequent deduction of statistical probability were carried out. In the pedigree of 51 samples, both parents were confirmed; the origin of 22 samples was verified using genotypes of ancestor varieties; in the origin of three samples one of the probable parental varieties was rejected; one sample was discovered to have an incorrect name.

Also, the father variety was defined for six varieties and seedlings, obtained as a result of the application of "pollination with a mixture of pollen of several varieties" breeding method.

By using the "likelihood ratio" a paternity index was calculated for a statistical confirmation of 51 grape samples origin. All samples showed a greater probability of origin from the proposed parents (X×Y) than from any random varieties that did not participate in the study. The index X×Y varied from  $10^3$  to  $10^{12}$ .

The main parameters of genetic diversity of 80 varieties and hybrid forms were analyzed, and 108 alleles in 9 microsatellite loci were detected.

The largest number of alleles was observed in VVMD28 locus (18 alleles), the smallest amount was found in VVMD25 locus (8 alleles). The average number of alleles ( $N_a$ ) in nine studied loci was 12, and the average effective number of alleles ( $N_e$ ) was 5.81. Expected heterozygosity ( $H_e$ ) varied from 0.744 (VVMD25 locus) to 0.888 (ZAG79 locus). Null alleles were identified in VVMD25, VVMD28 and ZAG79 loci of five grape samples.

By the identity probability (Probability of Identical Genotypes, PI), ZAG79 locus (PI =  $0.024 \times 10^{-12}$ ) was the most informative, while the least informative one was VVMD25 locus (PI =  $0.109 \times 10^{-12}$ ). The total value of the identity probability was  $2.95 \times 10^{-12}$ , which, on the one hand, indicates a high level of polymorphism of studied microsatellite loci, and on the other hand, is a result of the using of high polymorphic markers for this study.

Among 720 detected genotypes 91 were homozygous and 629 were heterozygous.

Inbreeding rate  $F_{is}$  ranged from -0.115 (in VVMD27 locus) to -0,026 (in VVMD5 locus) with an average number of -0.063. The negative value of the inbreeding index suggests a 6.3% surplus of heterozygotes in this variety sample, and, therefore, a lack of significant influence of inbreeding on the genetic structure of individuals in the sample.

Microsatellite profiling of sample varieties revealed widespread alleles, which are usually found in European varieties and their descendants, as well as rare (in 2% criterion) alleles that indicate a relation with American, Amur grapes or hybrids derived from them.

Among samples, there were 34.3% (37 out of 108) of rare alleles in a total amount of identified alleles. The largest number of rare alleles was found in the 'Dobrynya' rootstock variety and the descendants of interspecific hybrids ('Golubok', 'Illichivsky rannii' etc.).

p3\_VvAGL11 microsatellite locus, which 198 bp allele is associated with a grape seedlessness trait, was analyzed in 45 grape varieties.

In total, 10 alleles were found: 164, 176, 178, 180, 184, 186, 188, 190, 196 and 198 bp. Alleles 164 and 186 bp were defined for the first time in our study, probably due to the analysis of 'CO4' rootstock and 'Etud' and 'Smena' varieties, which are the descendants *V. amurensis* Rupr. The main diversity parameters of p3\_VvAGL11 locus ( $N_a$  – 10,  $H_e$  – 0.74,  $H_o$  – 0.6,  $r$  – 0.08, number of heterozygotes – 27, number of homozygotes – 18) were obtained.

In our study, 198 bp allele of p3\_VvAGL11 microsatellite locus, which is associated with a grape seedlessness trait, was found in all seedless and some seeded varieties. The existence of two allelic variants of 198 bp, which have a different association (related and not related) with seedlessness, was assumed.

Grape varieties as sources of both 198 bp allelic variants were considered by the study of grape samples pedigree. Associated with seedlessness 198 bp allele was inherited from



‘Sultanina’ and ‘Kishmish black’ varieties. Not related with a seedlessness trait 198 bp allele was obtained from ‘Chaouch blanc’ and ‘Concord’ cultivars and their descendants.

Diagnostic suitability of 198 bp allele for the early screening of seedless plants was verified on seedlings ‘Kobzar’ × ‘Rusalka 3’, and its usefulness was shown.

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

Підписано до друку .. .. .

Обсяг 0,9 авт.арк. Формат 60x84/16

Тираж 100 прим. Папір офсетний. Зам. № 705.

Надруковано у друкарні видавництва «Астропринт»

(Свідоцтво ДК №1373 від 28.05.2003 р)

м. Одеса, вул. Разумовська, 21.

Тел./факс: (0482) 37-14-25, 37-24-26, 33-07-17.

[www.astroprint.odessa.ua](http://www.astroprint.odessa.ua); [www.fotoalbom-odessa.com](http://www.fotoalbom-odessa.com)