

УДК 634.8 + 631.52 + 581.167

UDC 634.8 + 631.52 + 581.167

**ГЕНОТИПИРОВАНИЕ СОРТОВ ВИНОГРАДА
ПО МОЛЕКУЛЯРНЫМ МАРКЁРАМ****GENOTYPING OF GRAPE VARIETIES WITH
USING MICROSATELLITE SSR MARKERS**

Милованов Александр Валериевич
аспирант, учебный мастер

Milovanov Alexander Valerievich
postgraduate student, training master

Трошин Леонид Петрович
д.б.н., профессор
Кубанский государственный аграрный
университет, Краснодар, Россия

Troshin Leonid Petrovich
Dr.Sci.Biol., professor
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

В статье представлены результаты работы по генотипированию новых перспективных столовых и технических сортов и протоклонов винограда. Установлено, что сорта Цитрин, Гелиос, Аркадия розовая и Преображение выделились генетическим разнообразием по четырем локусам

This article presents the results of genotyping of new perspective table and technical varieties and grapes protocloned. It was established that varieties of Citrine, Helios, Arcadia pink and Preobragenie show differ genetic diversity in four loci

Ключевые слова: ВИНОГРАД, СОРТ, ЛИСТ,
ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК, SSR-МАРКЁР, ПЦР,
ЭЛЕКТРОФОРЕЗ, КЛОНОВАЯ СЕЛЕКЦИЯ,
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ,
ФОРЕГРАММА

Keywords: GRAPE, VARIETY, LEAF,
EXTRACTION OF DNA, SSR, PCR,
ELECTROPHORESIS, CLONAL SELECTION,
GENETIC DIVERSITY, PHOREGRAM

ВВЕДЕНИЕ

Сортовой состав Краснодарского края отличается большим разнообразием. Конечно же, время не стоит на месте, и селекция движется вперед, появляется большее количество сортов. Распространение в практике клоновой селекции молекулярно-генетических методов анализа ускорило эти процессы в разы, особенно после открытия наличия микросателлитных аллелей, набор которых специфичен для каждого сорта винограда. Идентифицировать их уникальность позволяет использование ПЦР-анализа вкуче с ДНК-маркёрами.

ДНК-маркеры являются характеристикой генотипа и не зависят от фенотипа, они обеспечивают богатство полиморфизмов, позволяющих идентифицировать сорта и строить точные генетические карты во многих высших растениях. Высокий уровень генетического разнообразия у винограда, который распространен по всему миру, вызывает интерес к оценке генетического родства внутри подвида рода *Vitis vinifera sativa L.*, а

также необходимость разработки распознающих систем, пригодных для идентификации виноградных сортов [11].

Генетический резерв винограда в настоящее время представляет собой смесь древних и совсем недавно выведенных сортов. Перед тем как новые сорта заменят старые, кажется разумным сделать усилие, дабы идентифицировать ценные древние генотипы и редкие сорта, которые могли бы сделать производство вина более ареально-типичным. В настоящее время сорта идентифицируются различными молекулярными маркерами. Среди них - микросателлиты или SSRs. Они представляют собой короткие последовательности ДНК, 1-6 нуклеотидов длиной, повторяемых несколько раз при каждом локусе. В связи с ошибками полимеразы во время репликации ДНК, локусы породили множество аллелей, которые отличаются по длине из-за различного количества повторов последовательности. В растениях микросателлиты, по оценкам, встречаются часто, на один из каждых 1-2 400 тысяч нуклеотидов в наборе видов растений, включая арабидопсис, рис, сою, кукурузу и пшеницу. Множество микросателлитных аллелей уже обнаружено в винограде и выявлен высокий уровень гетерозиготности вида, приводящей к повышению полиморфизма SSR маркеров и к решению многих проблем, связанных с сортовой идентификацией и анализом родословной [10].

Молекулярные маркеры имеют огромный потенциал для поиска генетических различий между генотипами на уровне ДНК и, следовательно, определения уровня разнообразия среди генотипов. Среди молекулярных маркеров, SSR-маркеры являются наиболее подходящими из-за их кодоминантности, очень большого числа повторов, высокой частоты и обилия в селективно нейтральной области. Высоко насыщенные карты сцепления на основе одних только микросателлитных маркеров или их интеграция с другим типом маркеров доступны в винограде.

Микросателлитные маркеры оказались полезными для установления «личности» генотипов, фингерпринтинга и анализа разнообразия, подвоев и сортов и межвидовых гибридов [6].

Первые результаты по дифференциации клонов генетическими маркерами показывают, что эта тема ограничивается не инструментами, а количеством использованных локусов. Если используется большое количество маркёров, вероятность найти различные аллели увеличивается. RAPD (случайная амплификация полиморфной ДНК), Интер SSR, AFLP (амплификация полиморфного фрагмента) и даже SSR маркеры могут применяться для нахождения полиморфизма локусов среди популяций. например Траминера белого и других культурных сортов. Для идентификации клонов только маркеры, характеризующие аллели, будут воспроизводимыми и стабильными в анализе [9].

В 2013 году нами продолжалась работа по генотипированию новых перспективных сортов и клонов винограда по шести нейтральным микросателлитным маркерам [5]. Образцы при этом по морфологической схожести поделены на соответствующие группы молекулярного анализа. Результаты работы приведены ниже, в том числе и в виде фото фореграмм (рис. 1-4).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для анализа были отобраны листья сортов и протоклонов винограда, их названия приведены в таблицах 1-3. Для удобства генотипы были поделены на группы по 19, 18 и 56 штук. Сбор образцов для молекулярно-генетического анализа производился в учхозе «Кубань» КубГАУ, ОАО АФ «Южная» и ООО «Фанагория-Агро» Темрюкского

района Краснодарского края. Для сохранения листья нижеперечисленных генотипов были помещены в морозильную камеру при -20°C .

Таблица 1. – Список листьев сортов и протоклонов винограда (№№ 1-19), взятыми для молекулярно-генетического анализа

1	Хризолит (Монарх) 3-2
2	Богатыновский 2-2
3	Аркадия розовая 1-2
4	Низина 3-2
5	Низина 3-2
6	Цитрин (Супер-экстра) 3-1
7	Юбилей Новочеркаска 3-7
8	Первозванный 3-10
9	Пино серый 46 куст 1
10	Пино серый 46 куст 2
11	Пино серый 46 куст 3
12	Преображение 3-2
13	Гелиос 3-50
14	Гурман ранний 3-31
15	Анюта 3-5
16	Виктор 3-29
17	Долгожданный 3-6
18	Кишмиш венгерский (342) 3-6
19	Ливия 3-14

Таблица 2. – Список листьев сортов и протоклонов винограда (№№ 1–18)

1	Цитрин (Супер-экстра) 21 куст
2	Цитрин (Супер-экстра) 9 куст
3	Гелиос 9 куст
4	Гелиос 16 куст
5	Богатыновский 6 куст
6	Богатыновский 9 куст
7	Аркадия розовая 4 куст
8	Аркадия розовая 10 куст
9	Анюта 5 куст
10	Анюта 19 куст
11	Виктор 7 куст
12	Виктор 5 куст
13	Преображение 15 куст
14	Преображение 5 куст

15	Первозванный 4 куст
16	Первозванный 6 куст
17	Монарх 13 куст
18	Монарх 1 куст

Таблица 3. – Список листьев сортов и протоклонов (№№ 1-56)

1	24-15	29	5-42
2	8-10	30	2-4-13
3	24-53	31	7-1
4	24-52	32	Рошфор-Ф
5	24-49	33	Цитрин (Супер-экстра)- Ф
6	24-47!	34	Алиготе 7-10
7	24-43	35	Ливия-Ф
8	24-31!	36	Мерло 10-8
9	24-42	37	Солярис 70-16
10	24-29!	38	Вердо черный 7-6
11	24-27	39	Каберне-Совиньон 210-8
12	24-38	40	Рислинг 245-7
13	8-19	41	Йоханитер 80-6
14	2-4-11	42	Йоханитер 79-4
15	6-83	43	Каберне Карбон 525-4
16	24-25	44	Каберне-Совиньон 210-4
17	24-23	45	Совиньон белый 23-11
18	7-9	46	Совиньон белый 23-8
19	24-21	47	Мерло 10-9
20	24-19	48	Каберне Карбон 525-6
21	7-16	49	Рислинг 245-5
22	7-11	50	Вердо черный 7-2
23	7-3	51	Солярис 70-21
24	24-17	52	Каберне Кортис 271-7
25	4-17 (9-12)	53	Алиготе 7-7К
26	24-33!	54	Пино черный 50-11
27	6-80	55	Каберне Кортис 271-2
28	5-40	56	Пино черный 50-8

Выделение ДНК из свежих листьев осуществляли модифицированным СТАБ-методом [1].

ПЦР проводилась по параметрам, описанным в публикациях А.С.Звягина. Для анализа генетического разнообразия были использованы

6 нейтральных микросателлитных маркеров (праймеров): VrZag62, VrZag79, VVMD5, VVMD7, VVMD27 и VVS2 [7, 8, 12, 13, 14].

Праймер (англ. *primer*) — это короткий фрагмент нуклеиновой кислоты (олигонуклеотид), комплементарный ДНК или РНК мишени, служит затравкой для синтеза комплементарной цепи с помощью ДНК-полимеразы, а также при репликации ДНК. Затравка необходима ДНК-полимеразам для инициации синтеза новой цепи, с 3'-конца гидроксильной группы праймера. ДНК-полимераза последовательно добавляет к 3'-концу праймера нуклеотиды, комплементарные матричной цепи. В большинстве случаев естественной репликации ДНК праймером для синтеза ДНК является короткий фрагмент РНК, создаваемый заново. Такой рибонуклеотидный праймер создается ферментом праймазой, и впоследствии заменяется дезоксирибонуклеотидами полимеразой, выполняющей в норме функции репарации. Многие лабораторные методы в биохимии и молекулярной биологии, которые предполагают использование ДНК-полимеразы, такие как секвенирование или полимеразная цепная реакция, требуют наличия коротких олигонуклеотидов (праймеров). Такие праймеры обычно длиной от 6 до 50 оснований - химически синтезированные олигонуклеотиды.

Разделение продуктов амплификации проводили методом электрофореза в 6% акриламидном геле. Далее пластины вымачивались в течение 10-15 минут в бромистом этидии и фотографировались в ультрафиолетовом свете. Анализ полученных фотоснимков проводили в программе Gel-Pro Analyser.

Задача исследований — поиск сходств и различий среди представленных 93 образцов по 4-6 аллелям.

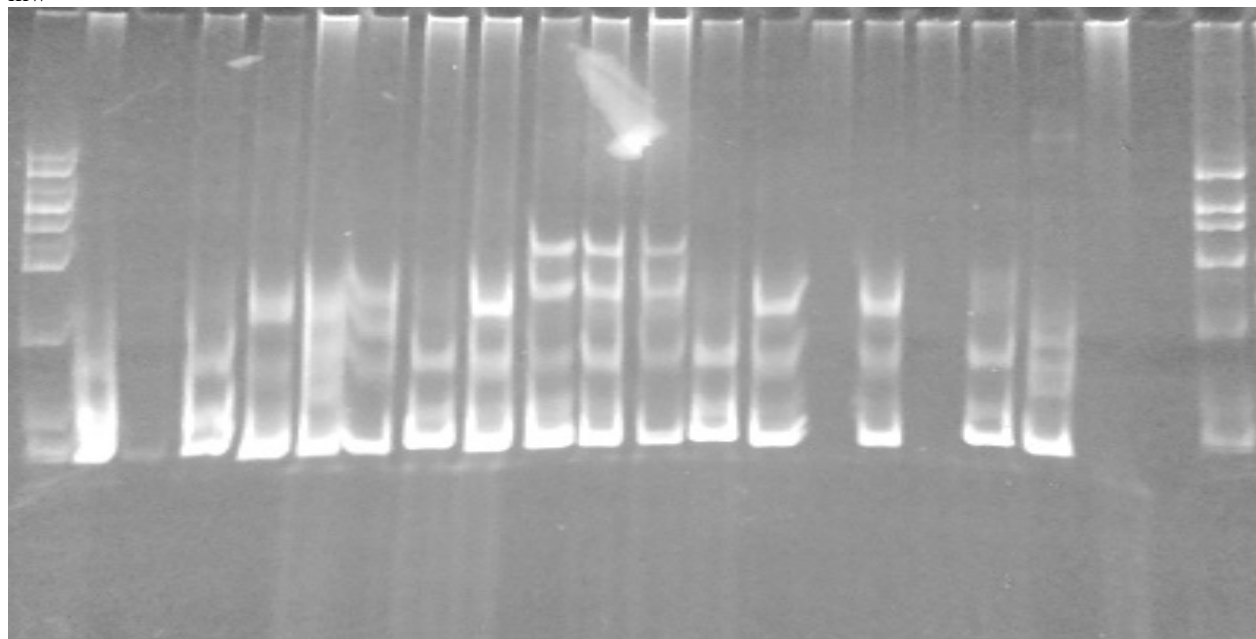
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований представлены в виде фотографий фореграмм и таблиц с данными, полученными после их анализа.

Ниже приводятся фото фореграмм трех локусов (рис. 1-4). Первой была генотипирована группа с образцами, обозначенными номерами от 1 до 19. Фотографии фореграмм их приводятся далее.

VVMD5. Группа 1-19

mw 19 18 17 16 15 14 13 12 11 10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 К
mw



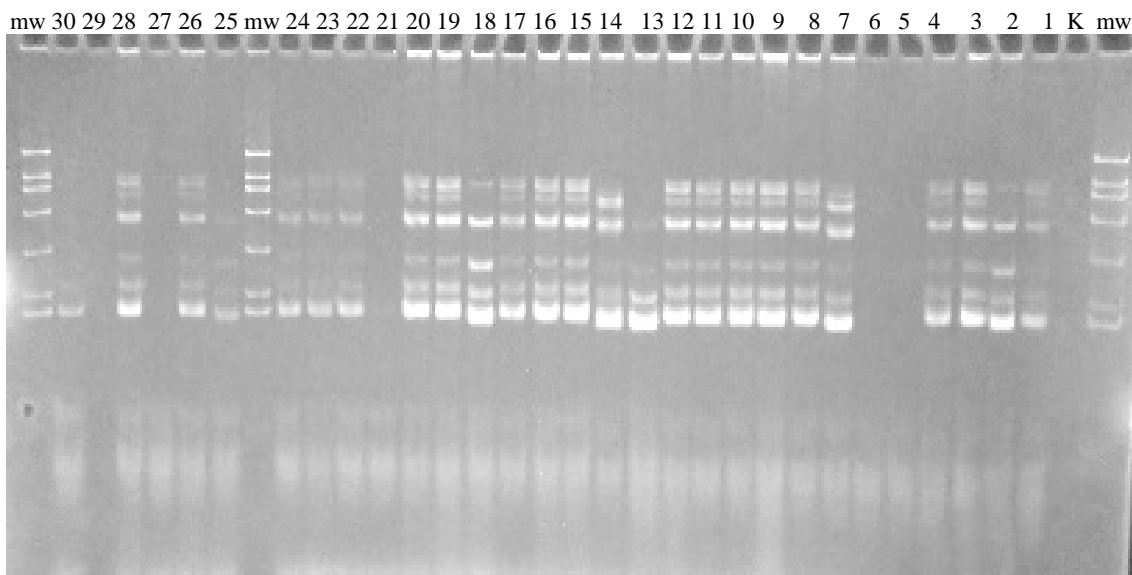
*- где К – контроль и mw – маркер молекулярного веса, номера соответствуют образцам в таблицах выше (данная ремарка относится и ко всем остальным фореграммам).

Таблица 4. – Результаты молекулярного анализа 19 сортов на наличие 6 микросателлитных аллелей

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
VrZag62					214			206			221	223	224	211	211	221	224	212	214
VrZag62					208			206			212	208	212	211	211	214	212	212	214
VrZag79		238	265	259	258	258	247	263	236	238	238	236	263	247	258	258	259	265	238
VrZag79		238	236	259	234	258	247	242	236	238	238	236	242	247	258	234	259	236	238
VVMD5		259	270		270		270	270	270	270	268	265	267	260	260	259	261	243	249
VVMD5		245	263		263		261	265	264	261	259	259	259	249	243	239	247	243	229
VVMD7		221	216		220					213	226	221	218	216	213	214	217	213	217
VVMD7		211	212		211					213	213	216	214	213	213	214	212	213	217
VVMD27			224		221		216			214	224	220	220	221	219	220	220	224	218
VVMD27			219		218		216			214	215	214	215	216	216	216	216	219	212
VVS2						149	138			157		155	158	157	151	151	158	154	154
VVS2						140	138			138		146	147	148	144	143	147	144	146

Второй изучалась группа с номерами от 1 до 56.

VVMD7. Группа 1-56 (1)



VVMD7. Группа 1-56 (2)

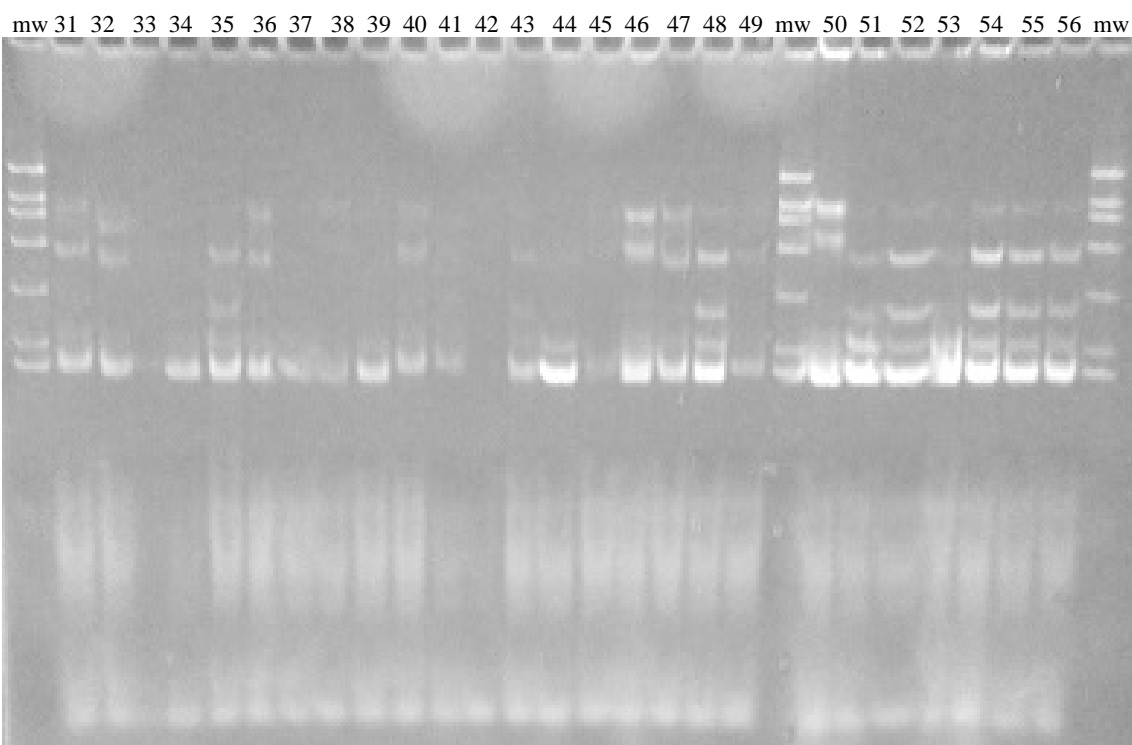


Таблица 5. – Результаты анализа 56 сортов на наличие 6 микросателлитных аллелей

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28		
VZag82		195	199	195					200	201	201	202	195	204	202		202	203	198	204	202									
VZag82		189	192	190					194	196	195	196	192	199	196		196	196	192	198	196									
VZag79	230	222	227	250			250	227	247	256	256	250	250	244	259	259	222		247	258	259				285		266			
VZag79	230	222	227	250			250	227	247	256	256	250	227	244	222	259	222		247	227	232				244		244			
VV52	154		155	153				158	156	160	158	158	157	157	157	159	158	156	157	155		157	157	154		146		146		
VV52	149		151	148				152	151	151	151	151	148	152	149	149	149	143	151	148		146	147	143		146		146		
VVM05		228	225				241	234	232	237	232	234	230	200	234	248	226	241	239	232	239	237	241	239		232		241		
VVM05		228	219				222	234	211	221	222	222	228	220	221	225	219	224	222	222	224	223	224	223	223		224		224	
VVM07	219	221	225	223			222	226	228	226	225	221	224	226	226	244	225	225	256	250		244	244	250	225	232		244		
VVM07	219	214	219	218			213	218	219	219	220	221	215	218	222	223	225	218	223	224		244	244	250	225	232		244		
VVMD27		201	197				199	196	192	195		194		192	192	193		194	192	192		194	192	192		192		190		
VVMD27		201	197				199	196	192	195		194		192	192	193		194	192	192		194	192	192		192		190		
VZag82	20	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56		
VZag82	202																													
VZag82	196																													
VZag79	264																													
VZag79	241																													
VV52		126	156	140	134	134	142	138	133	151		151		153	152		153	156	163	158	161	144	152	137	154	138	153			
VV52		126	147	132	134	134	133	139	125	141		143		141	142		138	143	143	150	150	135	142	137	141	136	139			
VVM05		239	266		263	262	262	259	249					200	257		249	238	236	241	236	241	264	262	238	260	230			
VVM05		239	266		263	258	244	259	224					230	257		224	222	223	222	222	222	222	222	222	221	230	222		
VVM07		232	262	240	240	236	229	240	240	240	251	260		244	226		235	235	235	235	236	235	225	258	251	244	236			
VVM07		232	262	240	240	236	229	240	240	240	251	260		244	226		226	233	233	233	235	223	224	225	225	226	224	236		
VVMD27																														
VVMD27																														

Третьей изучалась группа образцов под номерами от 1 до 18.

VVMD 27. Группа 1-18

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
mw

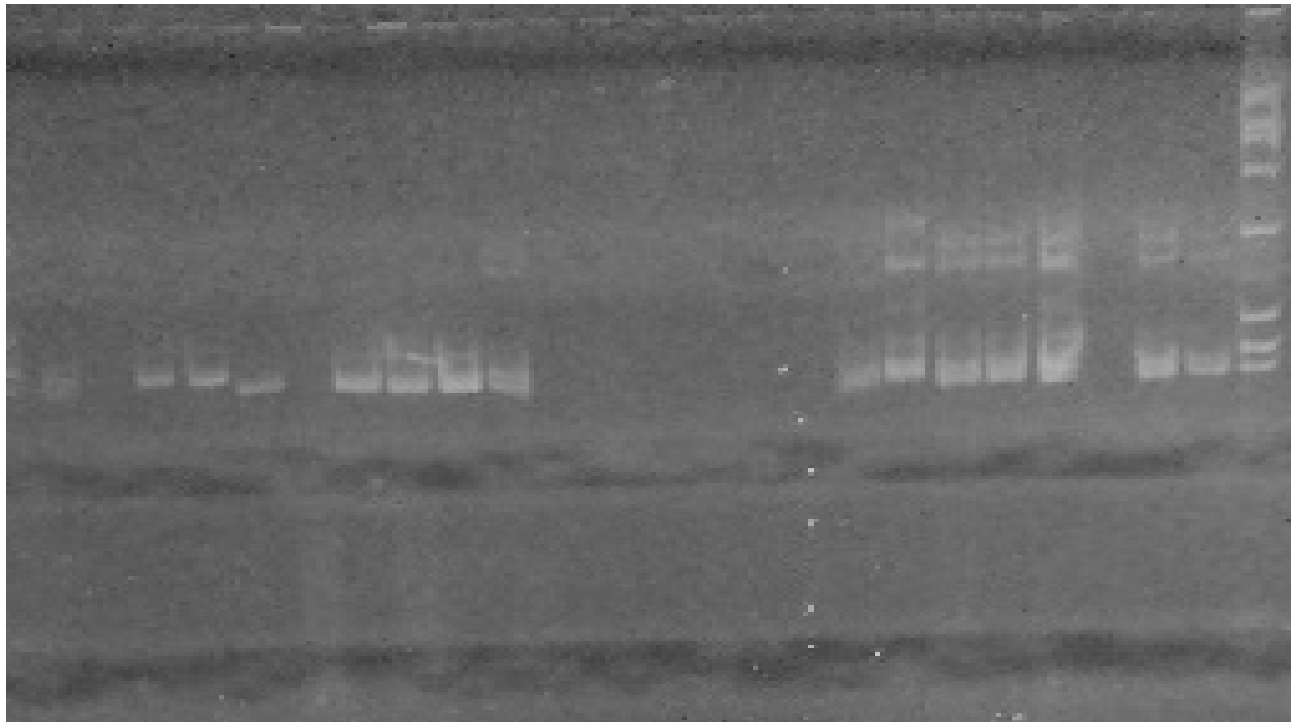


Таблица 6. – Результаты анализа контрастирующих фенотипов 4 столовых сортов по 4 микросателлитным аллелям

Название	VVMD5	VVMD5	VVMD7	VVMD7	VVMD27	VVMD27	VVS2	VVS2
Цитрин-21	242	242	231	231	238	221	142	142
Цитрин-9	225	215	189	189	238	211	143	143
Гелиос-9	226	226	247	247	228	206	149	142
Гелиос-16	257	257	252	252	228	206	149	139
Аркадия розовая-4	230	230	189	189	230	211	146	139
Аркадия розовая-10	245	245	242	242	216	199	139	139
Преображение-15	236	236	196	185	168	168	121	121
Преображение-5	230	222	224	224	186	186	143	143

Как видим, молекулярно-генетическими методами были прогенотипированы 93 образца.

ВЫВОДЫ

В результате анализа выявлены различия, позволяющие идентифицировать сорта как самостоятельные генотипы. Это позволило подтвердить предположение, что выбранные протоклоны винограда отличаются от контрольных сортов не только агробиологическими, но и генетическими характеристиками, и являются самостоятельными сортами. Это подтверждается патентами, оформленными на них, после прохождения ими госсортоиспытания.

По данным таблицы аллелей № 5 вытекают следующие выводы:

1. Протоклон Цитрин-21 отличается от протоклона Цитрина-9 на 20 и 30 нуклеотидов по локусу VVMD5, на 50 нуклеотидов по локусу VVMD7, на 10 нуклеотидов по локусу VVMD27 и не отличается по локусу VVS2.

2. Протоклон Гелиос-9 отличается от протоклона Гелиос-16 на 30 нуклеотидов по локусу VVMD5, на 5 нуклеотидов по локусу VVMD7, не отличается по локусу VVMD27, а также не отличается по локусу VVS2.

3. Протоклон Аркадия розовая-4 отличается от протоклона Аркадия розовая-10 на 15 нуклеотидов по локусу VVMD5, на 53 нуклеотида по локусу VVMD7, на 14 и 12 нуклеотидов по локусу VVMD27 и на 7 нуклеотидов по локусу VVS2.

4. Протоклон Преображение-15 отличается на 6 и 14 нуклеотидов от протоклона Преображение-5 по локусу VVMD5, отличается на 28 и 39 нуклеотидов по локусу VVMD7, на 22 нуклеотида по локусу VVMD27 и 22 нуклеотида по локусу VVS2.

При анализе аллелей учитывалась погрешность акриламидного геля, что выражено в отсутствии отличий по некоторым результатам. Считается, что разница менее чем в 5 нуклеотидов не существенна и отсюда принимается гипотеза, что аллели не отличаются.

Наличие же пробелов, даже после трех- и четырехкратного повторения опыта, дает возможность предположить отсутствие аллелей в изучаемых генотипах, но их достаточно большое количество свидетельствует, что следует использовать самые современные методы изучения и говорит о том, что работа должна продолжаться.

Список использованной литературы

1. Звягин А.С. Выделение ДНК из гербарных листьев *Vitis vinifera* / Звягин А.С. // Научный журнал КубГАУ. – 2010. - №58(04).
2. Кострикин И.А. Устойчивые новые и малораспространенные сорта и гибридные формы винограда (Часть 15) / И.А. Кострикин, С.И. Красохина, Е.А. Ключиков. — Ростов н/Д: Эверест, 2008. — 20 с.
3. Крайнов В.Н. Виноград и селекционная инициатива // Дом, сад, огород. — Киев, 2007. — 64 с.
4. Красохина С.И., Хисамутдинов А.Ф. Столовые сорта винограда (справочное пособие) / ГНУ ВНИИВиВ им. Я.И. Потапенко. — Ростов н/Д: Эверест, 2008. — 36 с.
5. Трошин Л.П. Совершенствование сортимента виноградных насаждений России // Научное обеспечение АПК Кубани. — Краснодар, 2002. — С. 109–116.

6. Ajitpal Singh, Krishan Kumar, Manav Indra Singh Gill1, Parveen Chhuneja, Naresh Kumar Arora and Kuldeep Singh; “Genotype identification and inference of genetic relatedness among different purpose grape varieties and rootstocks using microsatellite markers”, *African Journal of Biotechnology* 9 January, 2013. Vol. 12(2). - PP. 134-141.

7. Bowers J.E., Dangl G.S. and Meredith C.P. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape // *Am. J. Enol. Vitic.* - 1999. - V. 50, №30. - P. 243-246.

8. Bowers J.E., Dangl G.S., Vignani R. and Meredith C.P. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.) // *Genome.* - 1996. - V. 39. - P. 628-633.

9. F. Regner, R. Hack and J. L. Santiago; “Highly variable *Vitis* microsatellite loci for the identification of Pinot Noir clones” *HBLA u. BA für Wein und Obstbau, Klosterneuburg, Austria, Vitis* 45 (2). - P. 85–91 (2006).

10. L. Zulini, M. Russo and E. Peterlunger; “Genotyping wine and table grape cultivars from Apulia (Southern Italy) using microsatellite markers” *Dipartimento di Produzione Vegetale e Tecnologie Agrarie, Universita di Udine, Udine, Italia // Vitis* 41 (4). - P. 183–187 (2002).

11. Maria Stella Grando; Claudia Frisinghelli “Grape microsatellite markers: Sizing of DNA alleles and genotype analysis of some grapevine cultivars” *Istituto Agrario di San Michele all'Adige, San Michele all'Adige, Italia // Vitis* 37 (2). - P 79-82 (1998).

12. Sefc K.M., Regner F., Tureschek E., Glossl J. and Steinkellner. H. Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their application for genotyping of different *Vitis* species // *Genome.* - 1999. - V. 42. - P. 367-373.

13. Thomas M.R. and Scott N.S. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphism when analysed as sequence-tagged sites (STSs) // *Theor. Appl. Genet.* - 1993. - V. 86. - P. 985-990.

14. Thomas M.R., Matsumoto S., Cain P. and Scott N.S. Repetitive DNA of grapevine: classes present and sequences suitable for cultivar identification // *Theor. Appl. Genet.* - 1993. - V. 86. - P. 173-180.

References

1. Zvjagin A.S. Vydelenie DNK iz gerbarnyh list'ev *Vitis vinifera* / Zvjagin A.S. // *Nauchnyj zhurnal KubGAU.* – 2010. - №58(04).
2. Kostrikin I.A. Ustojchivye novye i malorasprostranennye sorta i gibridnye formy vinograda (Chast' 15) / I.A. Kostrikin, S.I. Krasohina, E.A. Kljuchikov. — Rostov n/D: Jeverest, 2008. — 20 s.
3. Krajnov V.N. Vinograd i selekcionnaja iniciativa // *Dom, sad, ogorod.* — Kiev, 2007. — 64 s.
4. Krasohina S.I., Hisamutdinov A.F. Stolovye sorta vinograda (spravochnoe posobie) / GNU VNIIViV im. Ja.I. Potapenko. — Rostov n/D: Jeverest, 2008. — 36 s.
5. Troshin L.P. Sovershenstvovanie sortimenta vinogradnyh nasazhdenij Rossii // *Nauchnoe obespechenie APK Kubani.* — Krasnodar, 2002. — S. 109–116.
6. Ajitpal Singh, Krishan Kumar, Manav Indra Singh Gill1, Parveen Chhuneja, Naresh Kumar Arora and Kuldeep Singh; “Genotype identification and inference of genetic relatedness among different purpose grape varieties and rootstocks using microsatellite markers”, *African Journal of Biotechnology* 9 January, 2013. Vol. 12(2). - PP. 134-141.

7. Bowers J.E., Dangl G.S. and Meredith C.P. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape // *Am. J. Enol. Vitic.* - 1999. - V. 50, №30. - P. 243-246.
8. Bowers J.E., Dangl G.S., Vignani R. and Meredith C.P. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.) // *Genome.* - 1996. - V. 39. - P. 628-633.
9. F. Regner, R. Hack and J. L. Santiago; “Highly variable *Vitis* microsatellite loci for the identification of Pinot Noir clones” HBLA u. BA für Wein und Obstbau, Klosterneuburg, Austria, *Vitis* 45 (2). - P. 85–91 (2006).
10. L. Zulini, M. Russo and E. Peterlunger; “Genotyping wine and table grape cultivars from Apulia (Southern Italy) using microsatellite markers” Dipartimento di Produzione Vegetale e Tecnologie Agrarie, Università di Udine, Udine, Italia // *Vitis* 41 (4). - P. 183–187 (2002).
11. Maria Stella Grando; Claudia Frisinghelli “Grape microsatellite markers: Sizing of DNA alleles and genotype analysis of some grapevine cultivars” Istituto Agrario di San Michele all'Adige, San Michele all'Adige, Italia // *Vitis* 37 (2). - P 79-82 (1998).
12. Sefc K.M., Regner F., Tureschek E., Glossl J. and Steinkellner. H. Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their application for genotyping of different *Vitis* species // *Genome.* - 1999. - V. 42. - P. 367-373.
13. Thomas M.R. and Scott N.S. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphism when analysed as sequence-tagged sites (STSs) // *Theor. Appl. Genet.* - 1993. - V. 86. - P. 985-990.
14. Thomas M.R., Matsumoto S., Cain P. and Scott N.S. Repetitive DNA of grapevine: classes present and sequences suitable for cultivar identification // *Theor. Appl. Genet.* - 1993. - V. 86. - P. 173-180.