

УДК 634.8 + 631.52 + 581.167

UDC 634.8 + 631.52 + 581.167

**ГЕНОТИПИРОВАНИЕ НОВЫХ
ПЕРСПЕКТИВНЫХ ТЕХНИЧЕСКИХ
ПРОТОКЛОНОВ ВИНОГРАДА С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЁРОВ**

**GENOTYPING OF NEW PERSPECTIVE WINE
GRAPES WITH USING MICROSATELLITE
MARKERS**

Милованов Александр Валериевич
учебный мастер, аспирант

Milovanov Alexander Valerievich
training master, postgraduate student

Звягин Андрей Сергеевич
к.б.н.

Zviagin Andrey Sergeevitch
Cand.Biol.Sci.

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 представленной статье освещена работа по
генотипированию продуктивных протоклонов
десяти технических сортов винограда

In this article we have described our work on
genotyping of new ten productive wine grape
protoclones

Ключевые слова: ВИНОГРАД, ПРОТОКЛОН,
СОРТ, SSR-МАРКЁР, ПЦР,
МИКРОСАТЕЛЛИТЫ, ДНК, НУКЛЕОТИД.

Keywords: GRAPE, PROTOCLONE, VARIETY,
SSR-MARKER, PCR, MICROSATELLITE, DNA,
NUCLEOTIDE

ВВЕДЕНИЕ

Существующий сортовой состав Краснодарского края отвечает практически всем требованиям современного виноградарства. Как спрос рождает предложение, так и этот фактор сортоулучшения виноградных насаждений двигает клоновую селекцию вперед, появляется еще большее количество генотипов. Совершенствование клоновой селекции и молекулярно-генетических методов анализа позволило улучшать существующие промышленные сорта путем отбора наиболее продуктивных и адаптивных форм, особенно после открытия наличия микросателлитных аллелей, которые сильно полиморфны и легко подвержены мутационной изменчивости. Идентифицировать их уникальность позволяет использование ПЦР-анализа вместе с ДНК-маркёрами [1-3].

ДНК-маркеры являются характеристикой генотипа и не зависят от фенотипа: этим обеспечивают богатство полиморфизмов, позволяющих

<http://ej.kubagro.ru/2014/04/pdf/10.pdf>

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 рода *Vitis*, а также необходимость улучшения распознающих систем, пригодных для идентификации виноградных сортов. Это поощряет попытку интегрировать и эксплуатировать данные генотипов, которые выявлены среди микросателлитных локусов в винограде [4-5, 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 типичным. В настоящее время сорта идентифицируются различными молекулярными маркерами. Среди них микросателлиты, или SSRs, стали маркерами, на которые выпал выбор. 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 1-2.4 кб в наборе видов, включая арабидопсис, рис, сою, кукурузу и пшеницу. Множество SSRs уже обнаружено в винограде и выявлен высокий уровень гетерозиготности вида, что повышает полиморфизмы SSR-маркеров и приводит к решению многих проблем, связанных с сортовой идентификацией и анализом родословных [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), ИнтерSSR, AFLP (амплификация полиморфного фрагмента) и даже SSR-маркеры могут применяться, чтобы найти полиморфизм среди популяций Траминера белого и других культурных сортов. Для идентификации клонов только последовательно характеризующие маркеры будут воспроизводимыми и стабильными в анализе [9].

В 2013 году на кафедре виноградарства продолжилась работа по генотипированию ранее отобранных продуктивных технических протоклонов винограда по шести нейтральным микросателлитным маркерам. Образцы при этом по морфологической схожести поделены на соответствующие группы молекулярного анализа. Результаты работы приведены ниже в виде фото фореграмм (рис. 1-8).

Материалы и методы

Для анализа были отобраны листья сортов и протоклонов винограда (табл. 1). Сбор образцов для молекулярно-генетического анализа производился на участках учхоза «Кубань» Кубанского

госагроуниверситета и в насаждениях агрофирмы «Фанагория» Темрюкского района Краснодарского края. Для сохранения листа нижеперечисленных генотипов были помещены в морозильную камеру при -20°C .

Таблица 1. – Исследуемые протоклоны и сорта винограда

№	Образец
1	Алиготе фанагорийское 7-10
2	Алиготе фанагорийское 7-7
3	Мерло фанагорийский 10-8
4	Мерло фанагорийский 10-9
5	Мерло (№ 348)
6	Солярис 70-16
7	Солярис 70-21
8	Каберне фанагорийский 210-4
9	Каберне фанагорийский 210-8
10	Каберне Мысхако
11	Каберне-Совиньон (№ 217)
12	Кабернек
13	Совиньон фанагорийский 23-11
14	Совиньон фанагорийский 23-8
15	Пино белый 31
16	Пинок белый
17	Пино белый 06
18	Пиногрик
19	Пино черный 50-11
20	Пино черный 50-8
21	Пинофагр
22	Каберне Карбон 525-4
23	Каберне Карбон 525-6
24	Каберне Кортис 271-2
25	Каберне Кортис 271-7

Выделение ДНК из свежих листьев осуществляли модифицированным СТАБ-методом [1-3]. ПЦР проводилась по параметрам, описанным в монографии А.С.Звягина «Молекулярно-
<http://ej.kubagro.ru/2014/04/pdf/10.pdf>

генетические исследования полиморфизма винограда» [11-13]. Для анализа генетического разнообразия были использованы 6 нейтральных микросателлитных маркеров (праймеров): VrZag62, VrZag79, VVMD5, VVMD7, VVMD27 и VVS2 [7-8, 12-14].

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-ProAnalyser [1-5].

Задача исследований – поиск фенотипических сходств и генетических различий среди представленных в табл. 1 образцов по 6 аллелям.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

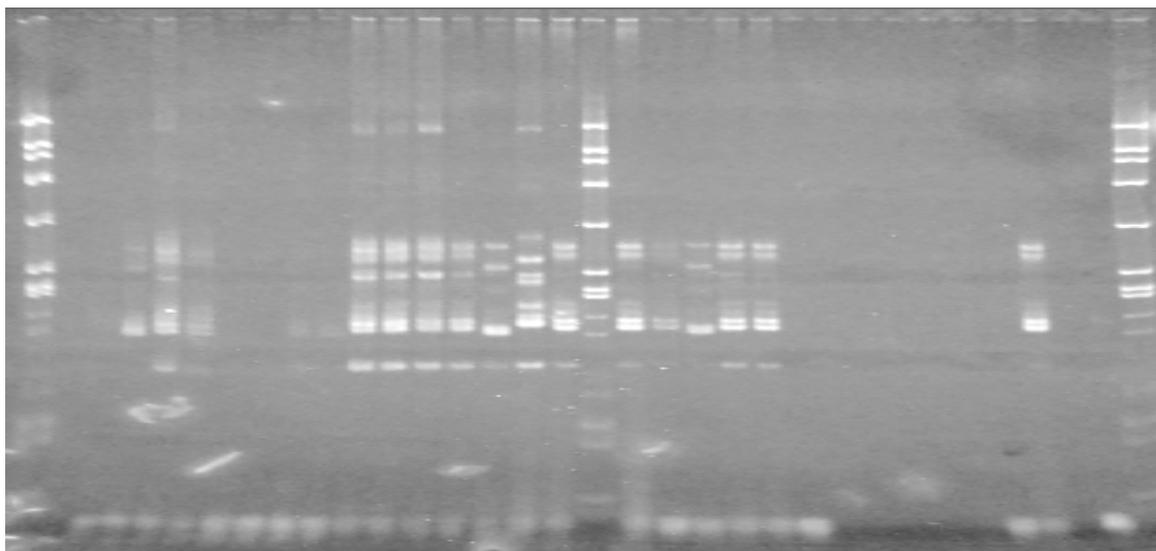
Результаты исследований представлены в виде фотографий фореграмм и таблицы 2 с данными, полученными после их анализа.

Ниже приводятся восемь фото фореграмм локусов (рис. 1-8). Всего описывалось 25 образцов, которые составили группу технических сортов, произрастающих в Темрюкском районе Краснодарского края.

Рис. 1. – Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера

VrZag62

mw K* 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 mw 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 mw**



*- где К – отрицательный контроль, **- mw – маркер молекулярного веса.

Рис. 2. – Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VrZag62

mw 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 mw 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 mw

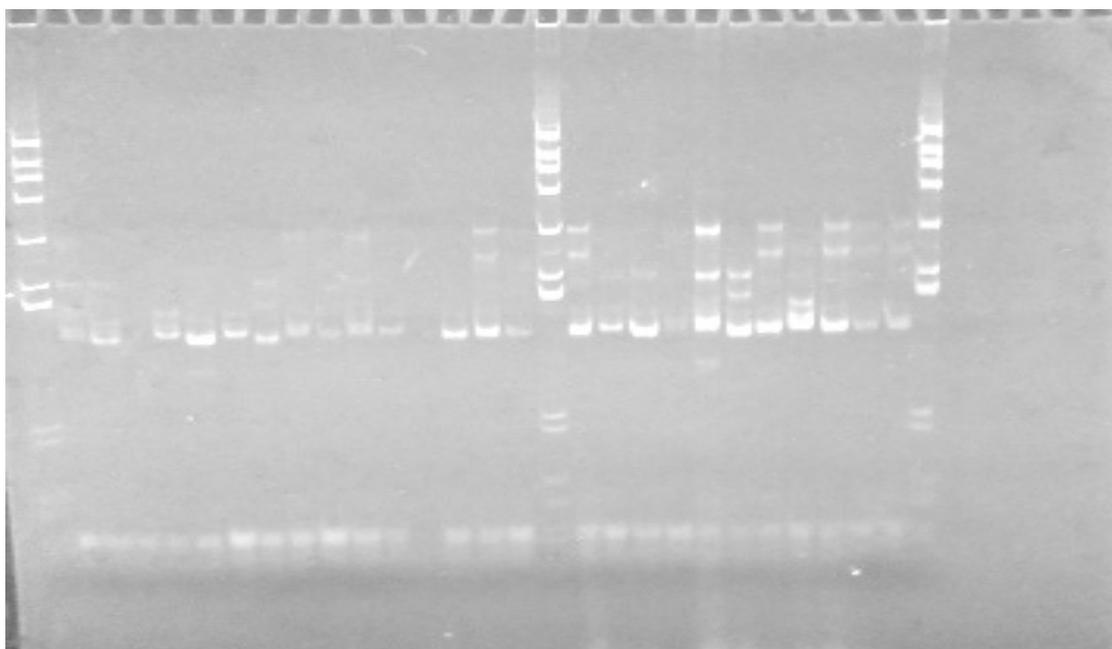


Рис. 3. – Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VrZag79

mw К 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 mw 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 mw

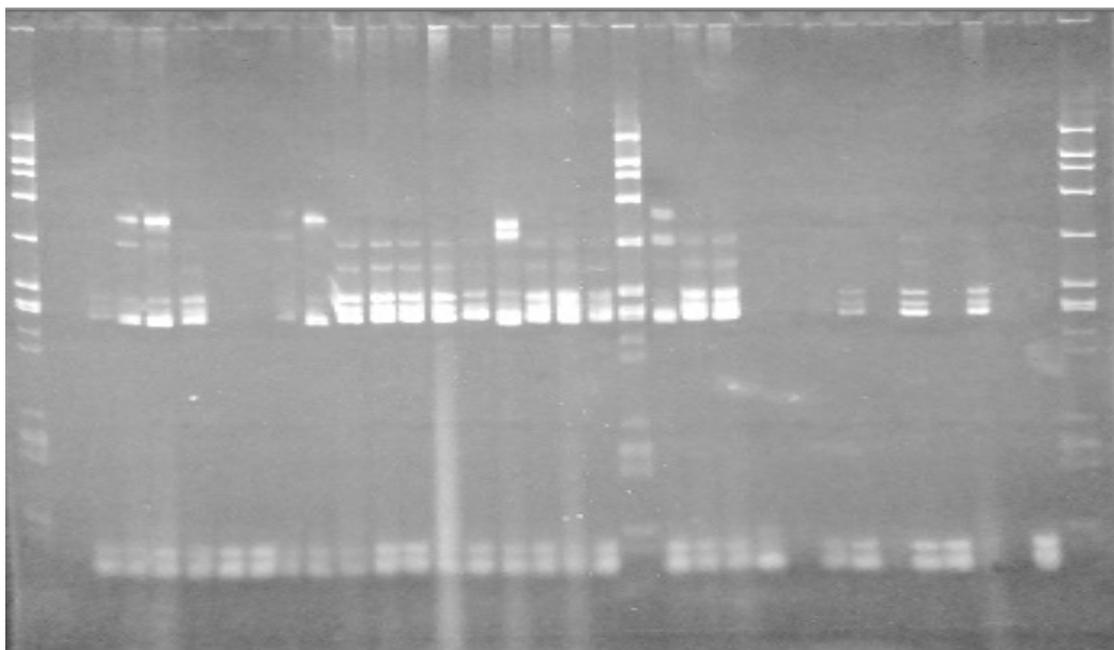


Рис. 4. – Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VVMD5

mw 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 mw 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 mw

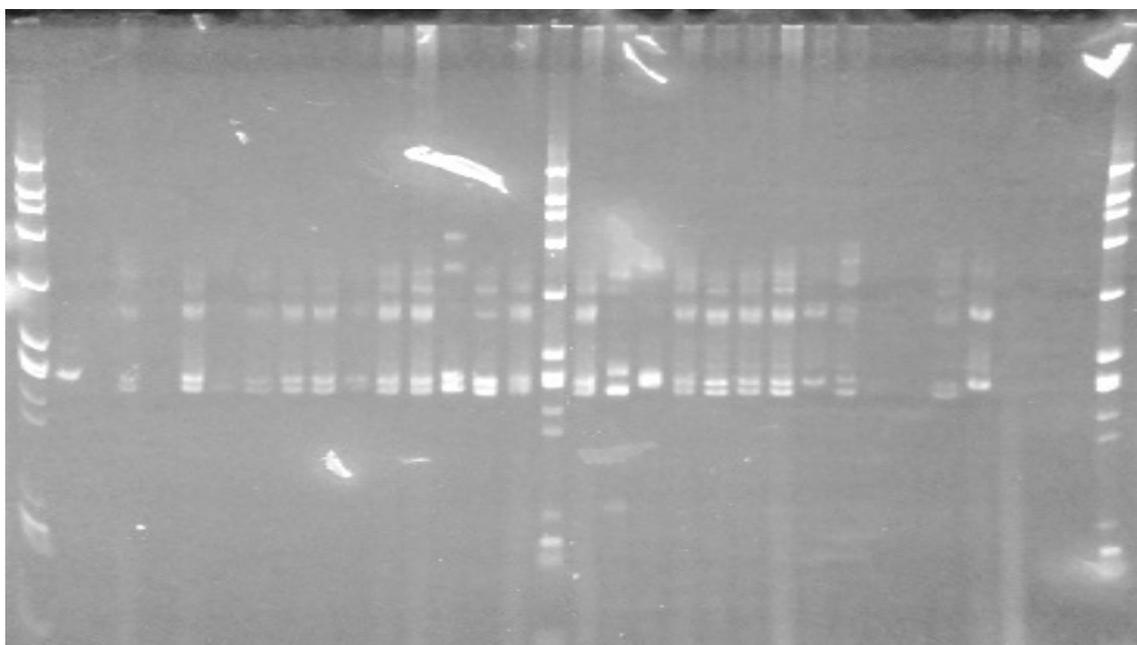


Рис. 5. – Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VVMD7

mw 30 29 28 27 26 25 mw 24 23 22 21 20 19 18 17 16 15 14 13 12 11 10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 К mw

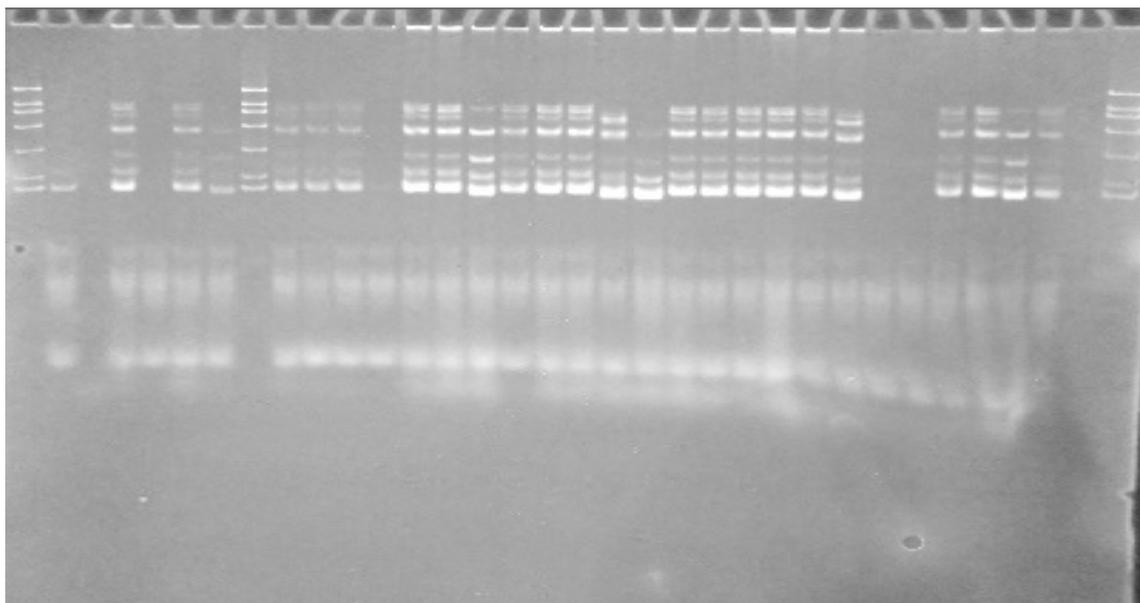


Рис. 6. – Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VVMD7

mw 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 mw 50 51 52 53 54 55 56 mw

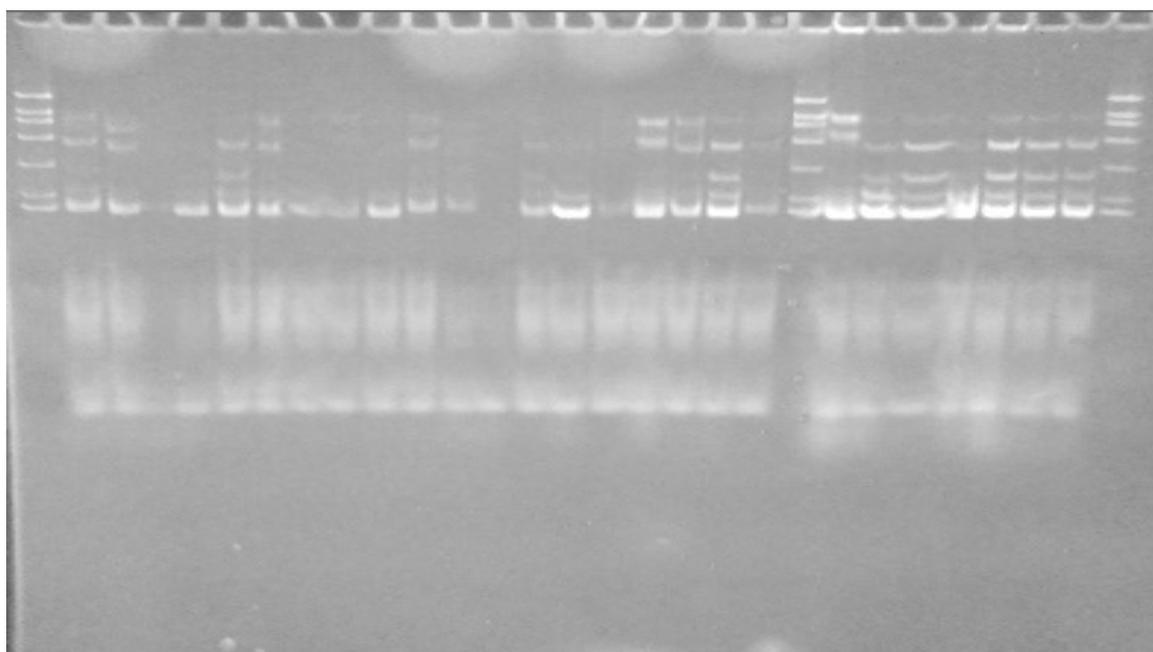


Рис. 7. – Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VVMD27

mw 30 29 28 27 26 25 mw 24 23 22 21 20 19 18 17 16 15 14 13 12 11 10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 k
mw

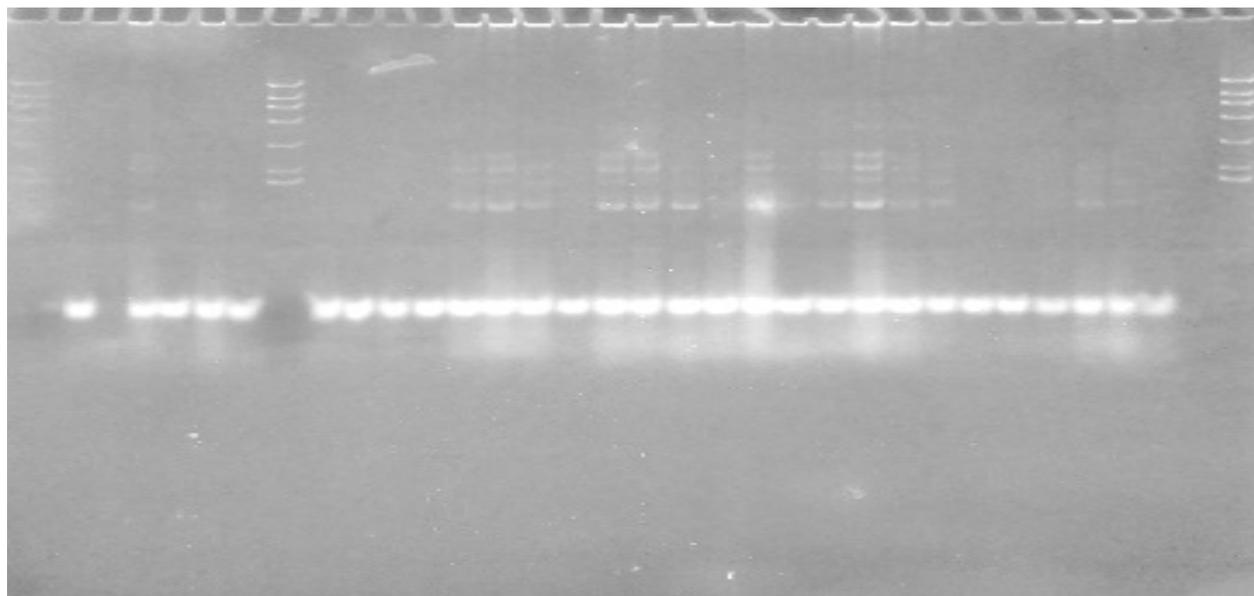
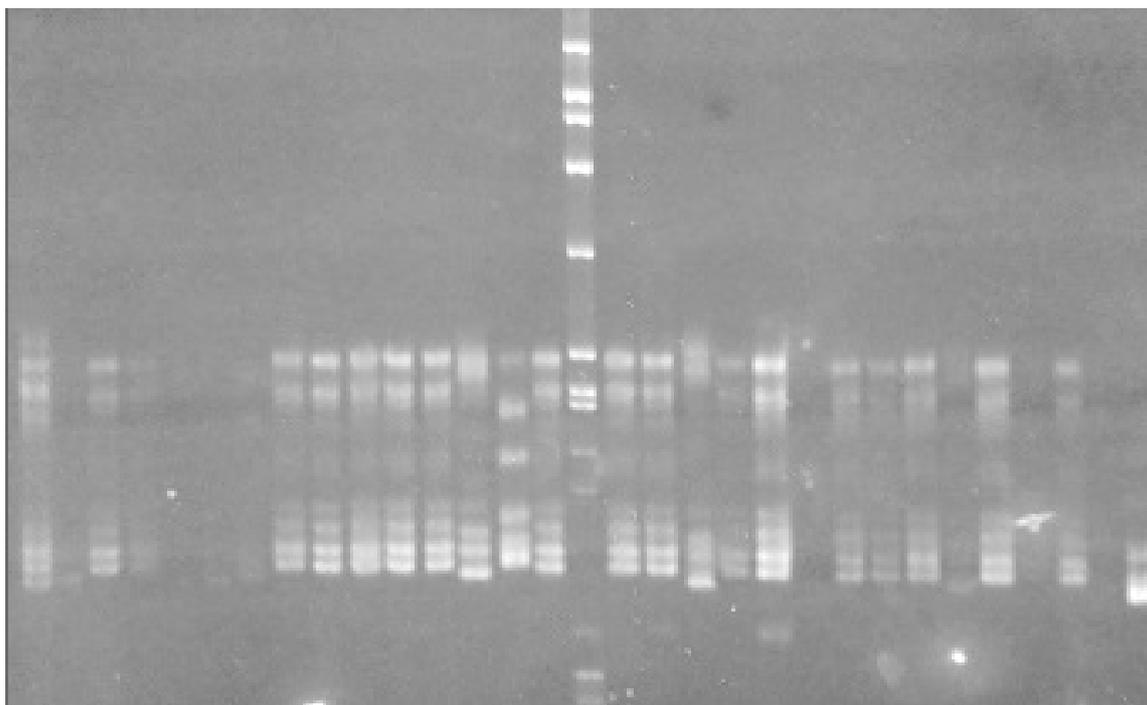


Рис. 8. – Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VVS2

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 mw 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30



В качестве ссылок-«камертонов» в наших исследованиях, согласно дескриптору OIV, были использованы сорта Каберне-Совиньон и Пино гри (Пино серый).

Следует сказать, что отсутствие аллелей остается спорным фактом ввиду отсутствия более продвинутого оборудования и химических реактивов. Также следует заметить, что ввиду погрешности акриламидного геля существенным не считалось различие в 3 и менее нуклеотидов, хотя различие и в 4-5 тоже, зачастую, вызывает вопросы.

Таблица 2. – Размер микросателлитных аллелей исследуемых протоклонов и сортов винограда

	VrZag62	VrZag62	VrZag79	VrZag79	VVS2	VVS2	VVMD5	VVMD5	VVMD7	VVMD7	VVMD27	VVMD27
1	182*	190	228	234	120	126	255	265	262	262	-**	-
2	192	202	244	250	120	128	225	243	247	264	172	172
3	184	184	291	297	124	131	224	234	251	251	172	172
4	190	190	233	256	131	149	227	250	255	255	172	172
5	182	186	256	282	139	155	225	243	247	247	-	-
6	178	178	275	281	120	126	248	255	262	262	172	172
7	184	192	229	244	120	137	225	234	245	264	178	188
8	184	188	284	290	126	145	229	229	247	247	172	172
9	186	186	276	282	-	-	227	242	262	262	-	-
10	190	190	289	295	120	128	261	250	253	253	172	172
11	196	200	256	262	137	149	229	238	239	239	172	172
12	188	192	238	267	133	149	232	242	239	237	172	172
13	186	186	246	252	128	151	227	242	-	-	172	172
14	184	192	282	288	124	145	225	232	247	264	172	172
15	188	194	238	244	135	147	232	232	241	241	178	178
16	186	186	262	267	139	145	225	234	233	235	180	180
17	184	192	238	244	137	151	238	238	239	239	176	176
18	186	190	233	240	-	-	225	232	235	235	182	182
19	190	194	230	236	126	147	224	232	247	264	174	184
20	192	192	236	254	124	145	225	225	257	257	172	172
21	192	198	232	250	128	149	227	234	239	239	174	174
22	186	186	276	296	126	145	261	261	264	264	-	-
23	182	188	233	250	131	155	225	243	255	255	172	172
24	192	192	236	260	124	131	234	253	245	257	174	184
25	188	192	229	256	126	145	238	255	247	247	178	186

*- размер аллелей указан в парах нуклеотидов;

** - аллель не амплифицировалась после четырех-пяти кратного повтора.

Обсуждение

1. В блоке «Алиготе» контрольным образцом был использован типичный по фенотипу протоклон Алиготе 7-7; протоклон Алиготе 7-10 по микросателлиту VrZag62 отличается от предыдущего на 10 нуклеотидов по обоим локусам, по VrZag79 на 16 нуклеотидов, не отличается по VVS2, на

30 и 22 нуклеотида по VVMD5, на 15 нуклеотидов по VVMD7, а аллель VVMD27 не амплифицировалась у Алиготе 7-10 (рис. 9-10).



Рис. 9. Протоклон 7-7 сорта винограда Алиготе

2. В группе «Мерло» контрольным образцом был французский сорт-клон Мерло 348. От него по локусу VrZag62 протоклон Мерло 10-8 не отличается, протоклон Мерло 10-9 отличается на 8 и 4 нуклеотида, по локусу VrZag79 Мерло 10-8 отличается на 35 и 15 нуклеотидов, Мерло 10-9 отличается на 23 и 27 нуклеотидов, по локусу VVS2 Мерло 10-8 отличается на 15 и 24 нуклеотида, Мерло 10-9 отличается 8 и 6 нуклеотидами, по локусу VVMD5 Мерло 10-8 отличается на 9 нуклеотидов, Мерло 10-9 отличается на 7 нуклеотидов, по локусу VVMD7 Мерло 10-8 отличается на 4 нуклеотида, Мерло 10-9 отличается на 8 нуклеотидов, по локусу VVMD27 Мерло 10-8 отличается на 14 и 16 нуклеотидов, как и Мерло 10-9.

3. Протоклон Солярис 70-16 (рис. 11-12) отличается от протоклона Солярис 70-21 на 6 и 14 нуклеотидов по локусу VrZag62, по локусу VrZag79 отличается на 46 и 37 нуклеотидов, по локусу VVS2 отличается на 11 нуклеотидов, по локусу VVMD5 отличается на 23 и 21 нуклеотид, по локусу VVMD7 отличается на 17 нуклеотидов и по локусу VVMD27 отличается на 6 и 16 нуклеотидов.



Рис. 10. Протоклон 7-10 сорта винограда Алиготе



Рис. 11. Протоклон 70-16 сорта Солярис



Рис. 12. Протоклон 70-21 сорта Солярис

4. В блоке «Каберне-Совиньон» контрольным образцом был выбран французский сорт-клон Каберне-Совиньон № 217. У образца Каберне-Совиньон 210-8 не амплифицировались аллели VVS2 и VVMD27. От контрольного образца по локусу VrZag62 отличаются протоклон Каберне-Совиньон 210-4 на 12 нуклеотидов, Каберне-Совиньон 210-8 отличается на 10 и 14 нуклеотидов, Каберне Мысхако (К-С 15) отличается на 6 и 10 нуклеотидов, Кабернек отличается на 8 и 8 нуклеотидов, по локусу VrZag79 Каберне-Совиньон 210-4 отличается на 28 и 38 нуклеотидов, Каберне-Совиньон 210-8 отличается на 20 и 20 нуклеотидов, Каберне Мысхако (К-С 15) отличается на 33 и 33 нуклеотида, Кабернек отличается на 18 и 5 нуклеотидов, по локусу VVS2 Каберне-Совиньон 210-4 отличается на 11 и 4 нуклеотидов, Каберне Мысхако (К-С 15) отличается на 17 и 21 нуклеотид, по локусу VVMD5 Каберне-Совиньон 210-4 отличается на 9 нуклеотидов, Каберне-Совиньон 210-8 отличается на 4 нуклеотида, Каберне Мысхако (К-С 15) отличается на 32 и 12 нуклеотидов, Кабернек отличается на 4 нуклеотида, по локусу VVMD7 Каберне-Совиньон 210-4 отличается на 8 нуклеотидов, Каберне-Совиньон 210-8 отличается на 4 и 23 нуклеотида, Каберне Мысхако (К-С 15) отличается на 14 нуклеотидов, Кабернек не отличается, по локусу VVMD27 образцы также идентичны.

5. В блоке «Пино» контрольными образцами были выбраны протоклоны Пино белый 31 и Пино черный 50-11. Пинок белый отличается от Пино белый 31 по локусам VrZag62, VrZag79, VVS2, VVMD5, VVMD7 при соответствующем количестве нуклеотидов: 8, 24 и 23, 4, 7, 8 и 6, а также не отличается по последнему локусу VVMD27. Пино белый 06 отличается по локусам VrZag62 и VVS2, соответственно, на 4 и 4 нуклеотида. По остальным маркерам различий не обнаружено.

Пиногрик (рис. 13) отличается по локусам VrZag62, VrZag79, VVMD7, VVMD27 по количеству нуклеотидов, равным 4 и 4, 4, 8 и 29, 8,

аллель VVS2 в образце Пиногрик не обнаружена. Фенотип сорта-клона Пиногрик лишь незначительно отличается от материнского сорта Пино серый (рис. 14).

Протоклон Пино черный 50-8 отличается по локусам VrZag79, VVMD5, VVMD7 и VVMD27 на следующее число нуклеотидов: 6 и 18, 7, 10 и 7, 12. Сорт-клон Пинофагр отличается по локусам VrZag62, VrZag79, VVMD7, VVMD27 на количество нуклеотидов, равное 4, 14, 25, а также 10.



Рис. 13. Урожай винограда сорта-клона Пиногрик
(авторы сорта Вертеба А.П., Звягин А.С., Милованов А.В., Трошин Л.П.)

6. Протоклон Каберне Карбон 525-6 отличается от протоклона Каберне Карбон 525-4 на 4 нуклеотида по локусу VrZag62, на 43 и 46

нуклеотидов по локусу VrZag79, на 5 и 10 нуклеотидов по локусу VVS2, на 36 и 18 нуклеотидов по локусу VVMD5, по локусу VVMD7 на 9 нуклеотидов, аллель VVMD27 не была выявлена у исследуемых образцов.



Рис. 14. Сорт винограда Пино серый

7. Протоклон Каберне Кортис 271-2 отличается от протоклона Каберне Кортис 271-7 по локусам VrZag62, VrZag79, VVS2, VVMD5 и VVMD7 на 4, 7 и 4, 14, 4, 10, 4 нуклеотида.

8. Протоклон Совиньон белый 23-8 отличается от протоклона Совиньон белый 23-11 по аллелям VrZag62, VrZag79, VVS2, VVMD5 на 6, 32 и 36, 4 и 6 и 10 нуклеотидов. Аллель VVMD7 не амплифицировалась в протоклоне Совиньон белый 23-8, а по VVMD27 они не отличимы.

Таким образом, можно видеть, что выбранные по фенотипу протоклоны заметно отличны от контрольных образцов, и отличия, <http://ej.kubagro.ru/2014/04/pdf/10.pdf>

полученные в результате ДНК-исследований, позволяют им войти в категорию геноизмененных протоклонов винограда, тем более, что генетические изменения подкреплены молекулярно-биохимическими анализами.

Выводы

По результатам многолетнего ампелографического скрининга технических популяций вышеназванных десяти сортов винограда и подкрепленного молекулярно-генетического анализа их выделенных протоклонов на государственные испытания в разные годы были переданы сорта-клоны Алиготе фанагорийское, Каберне Мысхако, Каберне фанагорийский, Мерло фанагорийский, Пиногрик, Пинок белый, Пинофагр и Совиньон фанагорийский [4-5].

Литература

1. Звягин А.С. Выделение ДНК из гербарных листьев *Vitis vinifera* / Звягин А.С. // Научный журнал КубГАУ. – 2010. - № 58 (04).
2. Милованов А.В. Выделение ДНК при помощи *peqgold plant dna mini kit* / А.В. Милованов, Л.П. Трошин // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2013. – № 06 (090). - С. 167 – 176. – IDA [article ID]: 0901306011. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2013/06/pdf/11.pdf>, 0,625 у.п.л., импакт-фактор РИНЦ=0,581.
3. Милованов А.В. Генотипирование сортов винограда по молекулярным маркерам / А.В. Милованов, Л.П. Трошин // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2014. – №02(096). - С. 53 – 65. – IDA [article ID]: 0961402005. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2014/02/pdf/05.pdf>, 0,812 у.п.л., импакт-фактор РИНЦ=0,346.
4. Трошин Л.П. Ампелографическая и селекционная научно-исследовательская работа Кубанского госагроуниверситета / Л.П. Трошин // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2012. – № 07 (081). - С. 524 – 544. – IDA [article ID]: 0811207039. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2012/07/pdf/39.pdf>, 1,312 у.п.л., импакт-фактор РИНЦ=0,581.
5. Трошин Л.П., Радчевский П.П. Виноград: иллюстрированный каталог. Районированные, перспективные, тиражные сорта. – Ростов н/Д: Феникс, 2010. – 271 с.: ил. – (Мир садовода).

6. Ajitpal Singh, Krishan Kumar, Manavindra 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). - P. 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. Regner F., Hack R. and Santiago J. L. Highly variable *Vitis* microsatellite loci for the identification of Pinot Noir clones // *HBLA u. BA für Wein und Obstbau, Klosterneuburg, Austria.* – *Vitis*, 45 (2), 85–91 (2006).
10. Zulini L., Russo M. and Peterlunger E. 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), 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), 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. Milovanov A.V. Vydelenie DNK pri pomoshhi peqgold plant dna mini kit / A.V. Milovanov, L.P. Troshin // *Politematicheskij setevoy jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchnyj zhurnal KubGAU) [Jelektronnyj resurs].* – Krasnodar: KubGAU, 2013. – № 06 (090). - S. 167 – 176. – IDA [article ID]: 0901306011. – Rezhim dostupa: <http://ej.kubagro.ru/2013/06/pdf/11.pdf>, 0,625 u.p.l., impakt-faktor RINC=0,581.
3. Milovanov A.V. Genotipirovanie sortov vinograda po molekuljarnym markjoram / A.V. Milovanov, L.P. Troshin // *Politematicheskij setevoy jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchnyj zhurnal KubGAU) [Jelektronnyj resurs].* – Krasnodar: KubGAU, 2014. – №02(096). - S. 53 – 65. – IDA [article

ID]: 0961402005. – Rezhim dostupa: <http://ej.kubagro.ru/2014/02/pdf/05.pdf>, 0,812 u.p.l., impakt-faktor RINC=0,346.

4. Troshin L.P. Ampelograficheskaja i selekcionnaja nauchno-issledovatel'skaja rabota Kubanskogo gosagrouniversiteta / L.P. Troshin // Politematicheskij setevoj jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchnyj zhurnal KubGAU) [Jelektronnyj resurs]. – Krasnodar: KubGAU, 2012. – № 07 (081). - S. 524 – 544. – IDA [article ID]: 0811207039. – Rezhim dostupa: <http://ej.kubagro.ru/2012/07/pdf/39.pdf>, 1,312 u.p.l., impakt-faktor RINC=0,581.
5. Troshin L.P., Radchevskij P.P. Vinograd: illjustrirovannyj katalog. Rajonirovannye, perspektivnye, tirazhnye sorta. – Rostov n/D: Feniks, 2010. – 271 s.: il. – (Mir sadovoda).
6. Ajitpal Singh, Krishan Kumar, Manavindra Singh Gill, 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). - P. 134-141.
7. Bowers J.E., Danyl 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., Danyl 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. Regner F., Hack R. and Santiago J. L. Highly variable *Vitis* microsatellite loci for the identification of Pinot Noir clones // HBLA u. BA für Wein und Obstbau, Klosterneuburg, Austria. – *Vitis*, 45 (2), 85–91 (2006).
10. Zulini L., Russo M. and Peterlunger E. 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), 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), 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.