

УДК 634.8 + 631.52 + 581.167

UDC 634.8 + 631.52 + 581.167

**ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ПРОДУКТИВНЫХ ПРОТОКЛОНОВ ТРЕХ ТЕХНИЧЕСКИХ СОРТОВ ВИНОГРАДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЁРОВ**

**GENOTYPING OF THREE NEW PRODUCTIVE WINE VARIETIES 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 освещено исследование по генотипированию продуктивных протоклонов трех технических сортов винограда: Рислинг рейнский, Вердо черный и Йоханнитер

In this article we have described a study of genotyping of new three productive wine grapes protocloned: Rhine Rieslin, Verdot black and Johanniter

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

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

**ВВЕДЕНИЕ**

Достаточно консервативное население нашей страны, привыкшее к стандартным маркам вин, с каждым годом потребляет все больше и больше винных продуктов. Один из путей решения данной проблемы – улучшение существующих «традиционных» сортов винограда, таких, как например Рислинг рейнский. В данном исследовании усовершенствование названного сорта и других шло методом клоновой селекции [1-3].

ДНК-маркеры описывают генотип независимо от фенотипа: этим обеспечивают богатство полиморфизмов, позволяющих идентифицировать сорта и строить точные генетические карты по многим высшим растениям. Высокий уровень генетического разнообразия винограда вызывает интерес к оценке генетического родства внутри подвида *Vitis vinifera sativa D.C.*, а также необходимость улучшения распознающих систем, пригодных для идентификации виноградных сортов. Это подталкивает к попыткам

интегрировать и эксплуатировать данные генотипов, которые выявлены среди микросателлитных локусов в винограде [4-5, 11].

Молекулярные маркеры имеют огромный потенциал для поиска генетических различий между генотипами и выявления разнообразия среди генотипов. Для данных исследований SSR-маркёры являются наиболее подходящими из-за их кодоминантности, большого числа повторов, высокой частоты и обилия в селективно нейтральной области. Для винограда создаются высоко насыщенные микросателлитные карты. Данные маркеры оказались полезными для установления «личности» генотипов, фингерпринтинга и анализа разнообразия подвоев, сортов и межвидовых гибридов [6, 10].

Первые результаты по дифференциации клонов генетическими маркерами показывают, что эта тема ограничивается количеством использованных локусов. Если использовать большое количество маркёров, вероятность найти разнообразие аллелей увеличивается. Самые разнообразные методы могут применяться для поиска полиморфизма среди культурных сортов. Для идентификации клонов только характеризующие маркеры будут проявлять ценность в анализе [9].

В текущем году на кафедре виноградарства продолжилась работа по генотипированию новых технических продуктивных протоклонов винограда, которые показали фенотипические отличия от стандарта в результате ампелографического скрининга. По морфологической схожести образцы поделены на группы для молекулярно-генетического 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  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Таблица 1. – Исследуемые протоклоны и сорта винограда

1	Рислинг 130
2	Рислинг 143143111
3	Рислинг 245-5
4	Рислинг 245-7
5	Рислинг 31411111
6	Рислинг 3142092
7	Рислинг 3144111
8	Рислинг 3144111
9	Рислинг 314991
10	Рислинг 492
11	Рислинг 7111891
12	Рислинг 7121431
13	Рислинг 712-201 15-11-24-15
14	Рислинг 7151077п
15	Рислинг 830
16	Рислинг 964
17	Рислинг 991
18	Рислинг Алькадар 34б
19	Рислинг Алькадар 34г
20	Рислинг клон
21	Вердо черный 7-2
22	Вердо черный 7-6
23	Йоханнитер 79-4
24	Йоханнитер 80-6

Выделение ДНК из свежих листьев осуществляли модифицированным СТАБ-методом [1-3]. ПЦР проводилась по параметрам, описанным в монографии А.С.Звягина «Молекулярно-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-Pro Analyser [1-5].

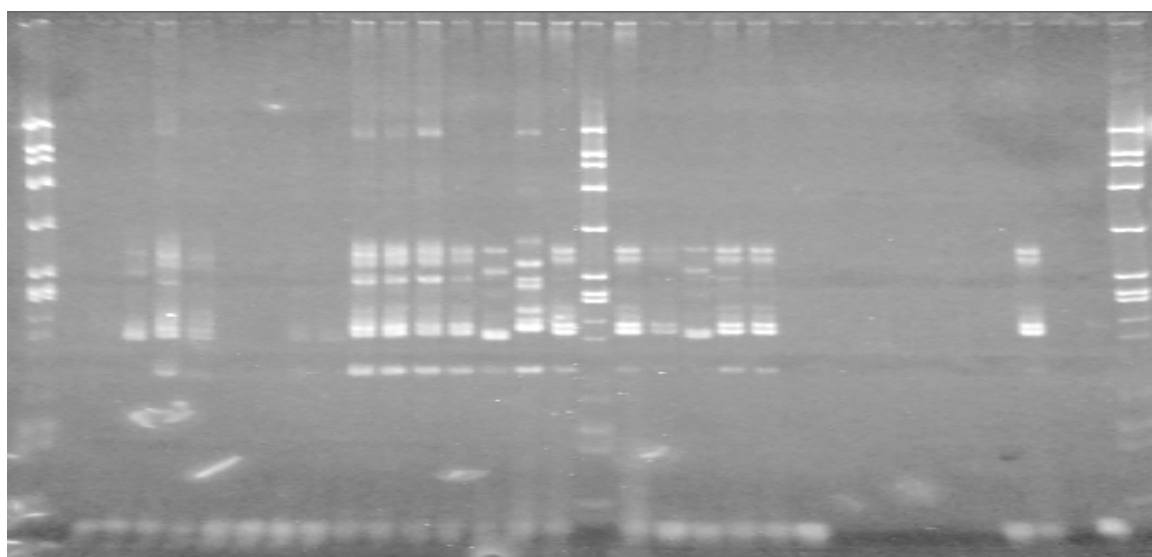
Задача исследований – поиск фенотипических сходств и генетических различий среди представленных в табл. 1 образцов по 6 аллелям.

## 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 24 образца из общего количества в 56, которые составили макрогруппу технических протоклонов и сортов, произрастающих в Темрюкском районе Краснодарского края.

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. 1. 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

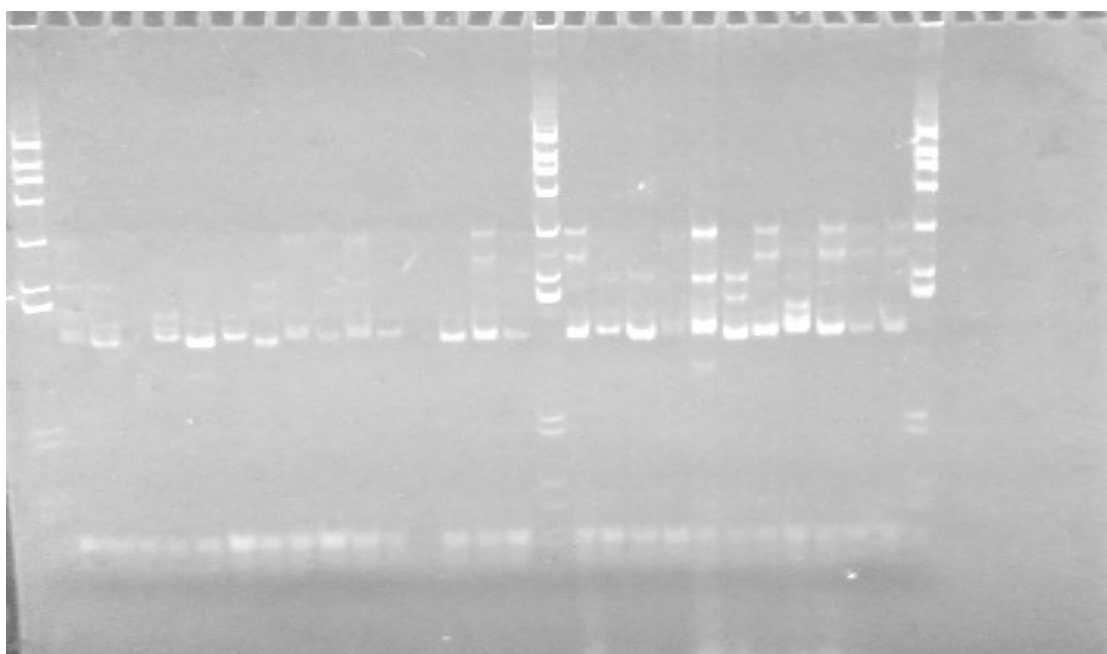


Рис. 2. Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VrZag62

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

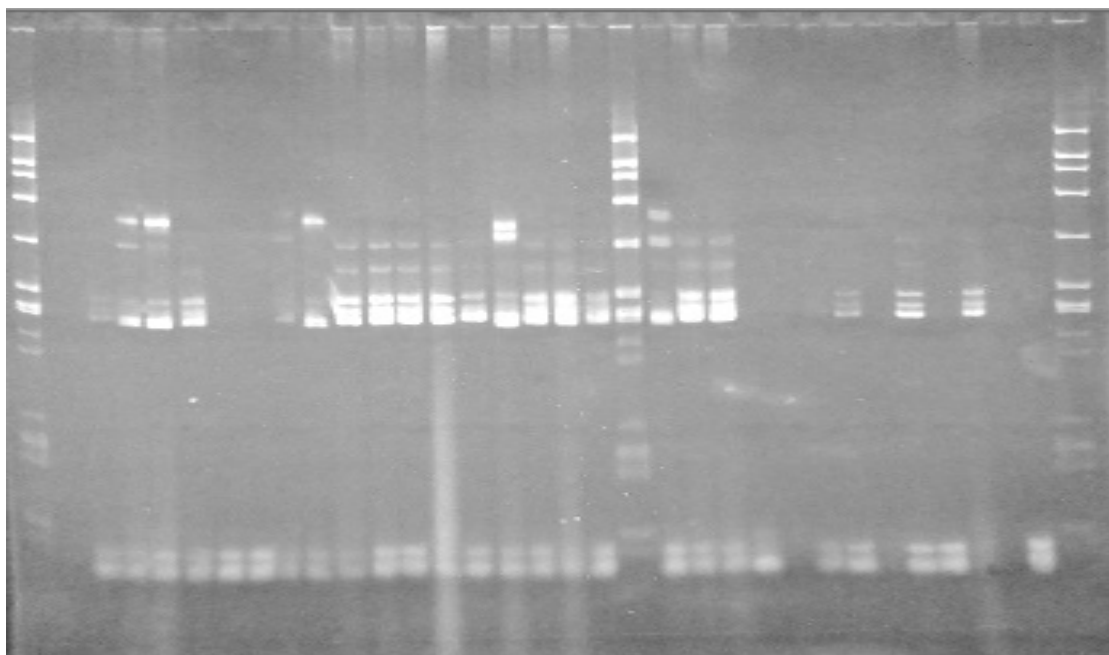


Рис. 3. Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VrZag79

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

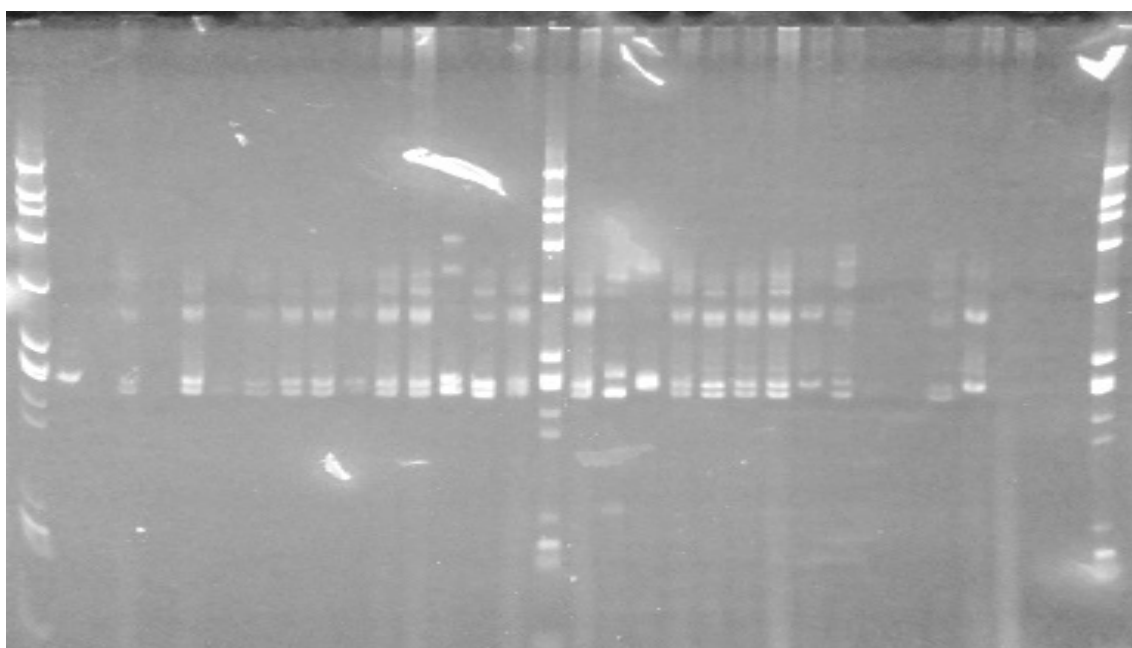


Рис. 4. Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VVMD5

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

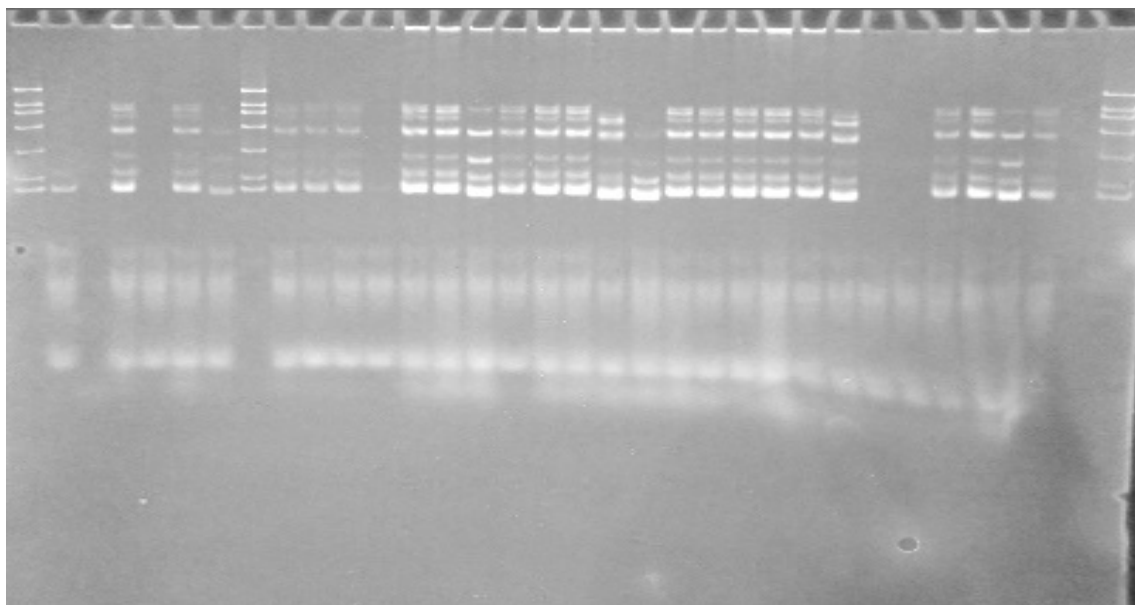


Рис. 5. Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VVMD7

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

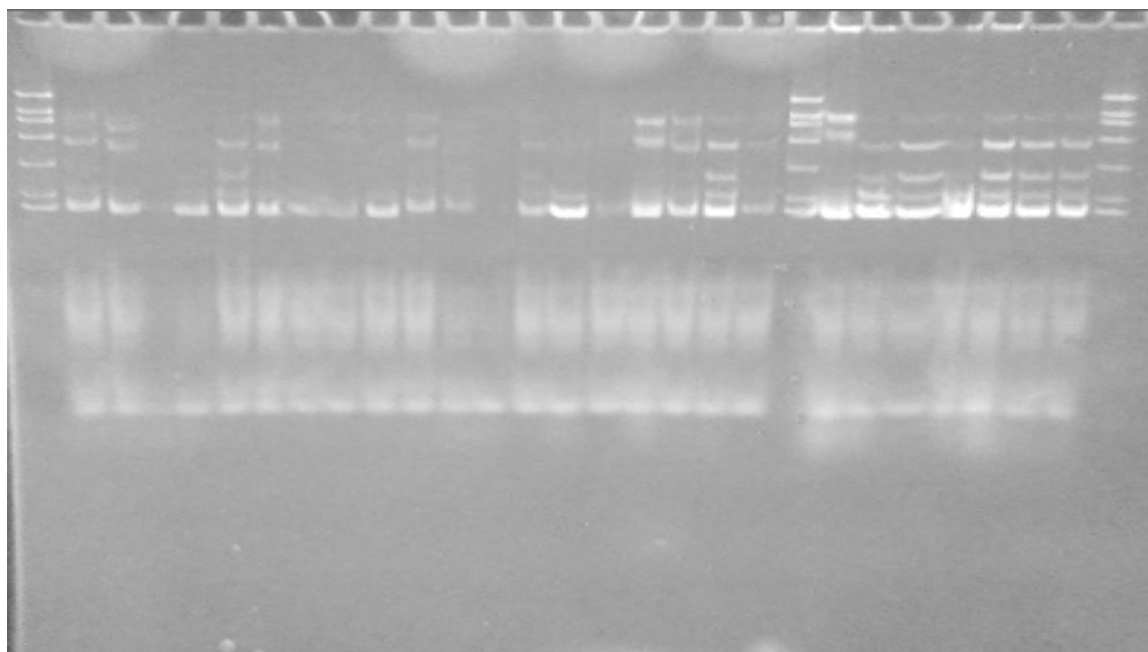


Рис. 6. Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VVMD7

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 k  
mw

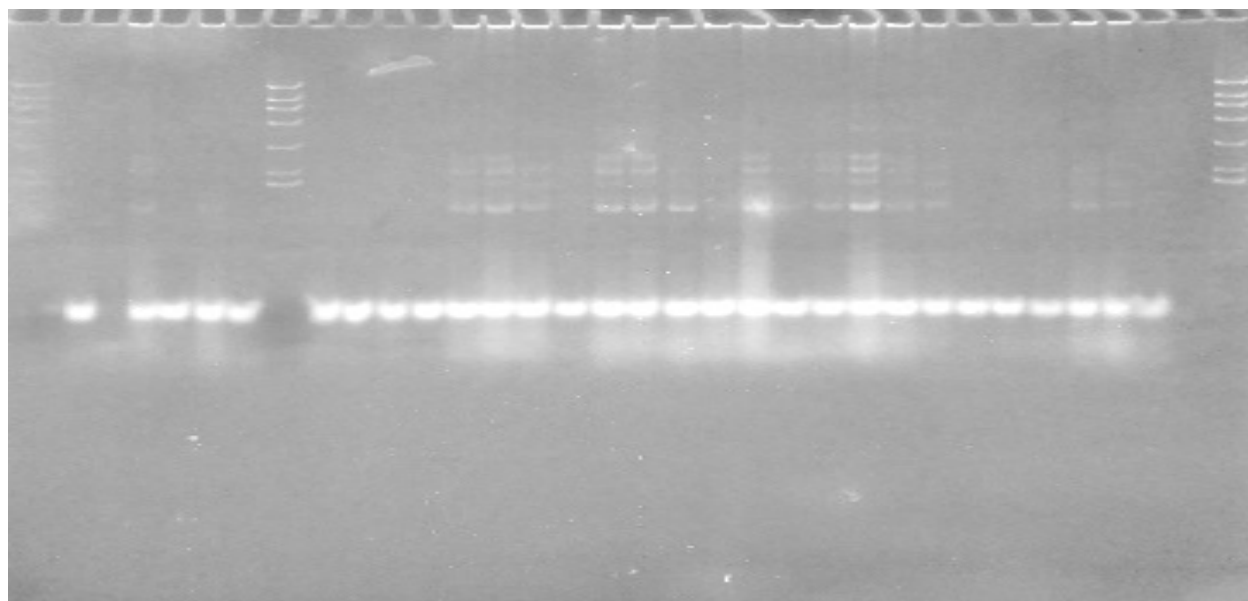


Рис. 7. Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VVMD27

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

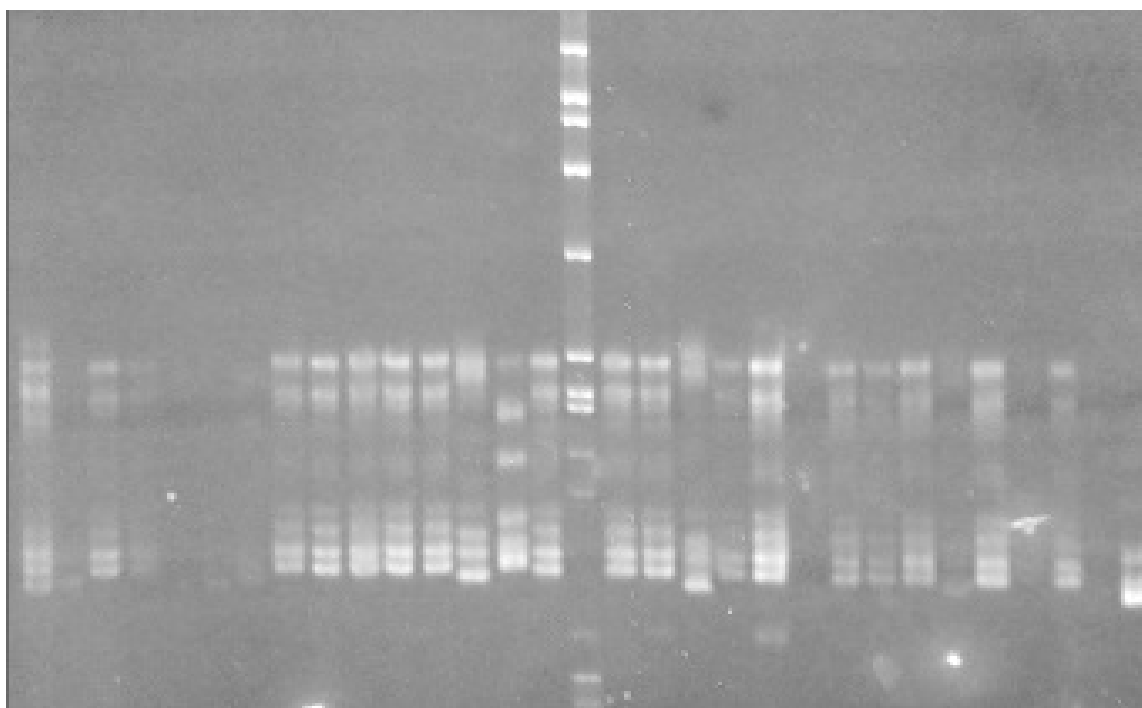


Рис. 8. Результат разделения фрагментов ПЦР-реакции, проведенной с использованием нейтрального микросателлитного праймера VVS2



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	184*	190	244	282	133	149	227	232	264	264	172	172
2	192	198	233	276	135	149	224	229	243	253	172	172
3	192	200	233	262	135	151	225	234	264	264	172	172
4	188	192	233	268	128	143	223	223	264	264	Н/Д**	Н/Д
5	190	196	258	264	135	149	224	224	241	241	172	172
6	184	190	244	250	128	147	227	232	264	264	172	172
7	194	200	238	275	133	147	225	225	245	264	172	172
8	192	198	233	240	135	151	223	223	247	247	172	172
9	192	196	267	273	135	151	225	225	241	241	172	172
10	184	188	262	267	133	149	265	259	268	268	172	172
11	188	194	258	264	135	149	225	232	245	264	172	172
12	192	198	244	276	Н/Д	Н/Д	227	232	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д
13	175	182	242	248	135	147	Н/Д	Н/Д	241	241	Н/Д	Н/Д
14	192	198	262	267	135	151	225	229	243	243	174	174
15	184	192	270	276	135	151	229	238	245	257	174	174
16	184	188	244	288	133	139	227	243	253	253	172	172
17	192	196	267	273	135	153	224	232	241	241	176	176
18	184	192	254	290	133	139	229	234	264	264	172	172
19	186	190	262	267	133	145	223	223	239	237	172	172
20	184	190	240	246	133	149	227	234	264	264	Н/Д	Н/Д
21	192	198	230	244	135	153	225	232	245	249	172	172
22	184	194	266	272	126	143	261	250	262	262	Н/Д	Н/Д
23	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	135	143	234	253	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д
24	188	188	238	244	133	151	Н/Д	Н/Д	268	268	172	172

\*- размер аллелей указан в парах нуклеотидов; \*\*- Н/Д (нет данных) аллель не амплифицировалась после четырех-пяти кратного повтора.

## Обсуждение

Для удобства, протоклоны по фенотипической схожести были поделены на четыре блока.

1. В блоке «Рислинг» контрольным образцом был Рислинг 492. От него протоклон Рислинг 130 отличается по аллелям VrZag79 и VVMD5, на 18 и 15, 38 и 27 нуклеотидов. Рислинг 143143111 отличается от контроля по аллелям VrZag62, VrZag79, VVMD5 и VVMD7 на 8 и 10, 29 и 9, 41 и 30, а также 25 и 15 нуклеотидов. Рислинг 245-5 отличается по локусам VrZag62, VrZag79 и VVMD5 на 8 и 12, 29 и 5, 40 и 25 нуклеотидов. Рислинг 245-7 отличается по аллелям VrZag62, VrZag79, VVS2, VVMD5, на 6, 29, 6, 32 и 26 нуклеотидов. Лocus VVMD27 не обнаружен. Рислинг 31411111 отличается по аллелям VrZag62, VVMD5 и VVMD7 на 6, 41 и 35, 27 нуклеотидов. Рислинг 3142092 отличается по локусам VrZag79 и VVMD5 на 18 и 17, а также 38 и 27 нуклеотидов. Рислинг 3144111 отличается по микросателлитам VrZag62, VrZag79, VVMD5 и VVMD7 на 10 и 12, 24 и 8, 40 и 34 нуклеотидов. Рислинг 3144111 отличается по аллелям VrZag62, VrZag79, VVMD5 и VVMD7 на 8 и 10, 29 и 27, 42 и 36, 21 нуклеотид. Рислинг 314991 отличается по локусам VrZag62, VVMD5 и VVMD7 на 8 и 8, 40 и 34, 27 нуклеотидов. Рислинг 7111891 отличается по микросателлитам VVMD5 и VVMD7 на 40 и 27, 23 нуклеотида. Рислинг 7121431 отличается по аллелям VrZag62, VrZag 79 и VVMD5 на 8 и 10, 18 и 9, 38 и 28 нуклеотидов, аллели VVS2, VVMD7 и VVMD27 не были обнаружены. Рислинг 7-12-201 15-11-24-15 отличается по микросателлитам VrZag62, VrZag79 и VVMD7 на 9 и 6, 20 и 19, 27 нуклеотидов, аллели VVMD5 и VVMD27 не были обнаружены. Рислинг 7151077п отличается по локусам VrZag62, VVMD5 и VVMD7 на 8 и 10, 40 и 30, 25 нуклеотидов. Рислинг 830 отличается от контроля по микросателлитам VrZag79, VVMD5 и VVMD7 на 8 и 9, 44 и 21, 23 и 9

нуклеотидов. Рислинг 964 отличается по локусам VrZag79 и VVMD5 на 18 и 21, 42 и 16 нуклеотидов. Рислинг 991 отличается от контроля по локусам VrZag62, VVMD5 и VVMD7 на 8 и 12, 21 и 27, 27 нуклеотидов. Рислинг клон отличается по аллелям VrZag79 и VVMD5 на 22 и 21, 38 и 25 нуклеотидов, локус VVMD27 не обнаружен.

2. Рислинг Алькадар 34б отличается от Рислинга Алькадар 34г по локусам VrZag79, VVMD5 и VVMD7 на 12 и 23, 6 и 11, 25 и 27 нуклеотидов.

3. Вердо черный 7-2 отличается от Вердо черный 7-6 по локусам VrZag62, VrZag79, VVS2, VVMD5 и VVMD7 на 8, 36 и 28, 9 и 10, 44 и 18 нуклеотидов, аллель VVMD27 в Вердо черный 7-6 не обнаружена.

4. Протоклон Йоханнитер 79-4 отличается от протоклона Йоханнитер 80-6 по локусу VVS2 на 8 нуклеотидов. Аллели VrZag62, VrZag79, VVMD7 и VVMD27 не амплифицировались у Йоханнитер 79-4. У протоклона Йоханнитер 80-6 локус VVMD5 не выявлен.

Следует напомнить, что если аллель не обнаружена, то это не значит, что ее нет. Ответить на вопрос: «что же произошло?», может только секвенатор или же анализ на наличие SNP.

### **Выводы**

По результатам многолетнего ампелографического скрининга технических популяций вышеназванных трех сортов винограда и подкрепленного молекулярно-генетическим анализом их выделенных продуктивных протоклонов на государственные испытания в разные годы были переданы следующие сорта-клоны: Рислинг Алькадар, Рислинг анапский, Рислинг Джемете, Рислинг прикубанский и Рислинг фанагорийский.

## 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 reqgold 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. Ампелогографическая 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 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., 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 Micheleall'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 peggold plant dna mini kit / A.V. Milovanov, L.P. Troshin // *Politematicheskij setevoj 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 setevoj 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., 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 Micheleall'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.