

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Всероссийский национальный научно-исследовательский институт
виноградарства и виноделия «Магарач»
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»**

На правах рукописи

СПОТАРЬ ГЕННАДИЙ ЮРЬЕВИЧ



**«Определение происхождения и усовершенствование методов
идентификации бессемянности у винограда (*Vitis* L.)»**

Специальность: 4.1.4. – Садоводство, овощеводство,
виноградарство и лекарственные культуры

**Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук**

Научный руководитель:

доктор сельскохозяйственных наук, доцент

Лиховской В.В.

Ялта

2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЙ УРОВЕНЬ ЗНАНИЙ И МЕТОДОВ ПО ИДЕНТИФИКАЦИИ И УСТАНОВЛЕНИЮ ПРОИСХОЖДЕНИЯ БЕССЕМЯННОСТИ ВИНОГРАДА (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)	15
1.1. Характеристика и значимость бессемянности винограда	15
1.2. Происхождение винограда и его бессемянных сортов.....	16
1.3. Методы идентификации и установления происхождения сортов винограда.....	19
1.4. Производство бессемянного винограда в мире и РФ, пути его увеличения с помощью селекционной работы	21
1.5. Генетические причины стеноспермокарпической бессемянности и существующие маркеры для ее идентификации.....	26
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	40
2.1. Материал исследований	40
2.2. Фенотипические исследования характеристик бессемянности.....	41
2.3. Выделение и контроль качества ДНК	42
2.4. Постановка мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения сортовой принадлежности и происхождения	42
2.5. Постановка мультиплексной ПЦР по определению бессемянности ...	44
2.6. Фрагментный анализ	45
2.7. Постановка ПЦР в реальном времени (RealTime)	46
2.8. Секвенирование последовательности по Сэнгеру	46
2.9. Биоинформатический анализ результатов полногеномного секвенирования NGS.....	48
2.10. Статистический анализ результатов по оценке генетического расстояния и структуры выборки.....	48
2.11. Общая схема исследований	49
ГЛАВА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК БЕССЕМЯННОСТИ У СОРТОВ И ГИБРИДОВ ВИНОГРАДА	51

3.1. Определение фенотипических характеристик бессемянности у сортов винограда	51
3.2. Определение фенотипических характеристик у гибридов популяций скрещивания «семенной х бессемянный»	63
ГЛАВА 4. ГЕНОТИПИРОВАНИЕ И УСТАНОВЛЕНИЕ ПРОИСХОЖДЕНИЯ БЕССЕМЯННЫХ СОРТОВ И ГИБРИДОВ ВИНОГРАДА.....	71
4.1. Паспортизация и установление происхождения бессемянных сортов винограда.....	71
4.1.1. Паспортизация по результатам генотипирования бессемянных сортов АК «Магарач»	71
4.1.2. Анализ происхождения стародавних бессемянных сортов (кишмиши) неизвестного происхождения.....	78
4.1.3. Анализ происхождения бессемянных сортов селекции института «Магарач»	82
4.1.4. Анализ происхождения бессемянных сортов АК «Магарач»	95
4.2. Генотипирование и подтверждение происхождения гибридов популяций скрещивания.....	102
ГЛАВА 5. УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ СТЕНОСПЕРМОКАРПИЧЕСКОЙ БЕССЕМЯННОСТИ У ВИНОГРАДА.....	112
5.1. Валидация эффективности молекулярно-генетических маркеров по идентификации бессемянности на сортах и гибридах винограда.....	112
5.1.1. Валидация эффективности маркеров по идентификации бессемянности на бессемянных и семенных сортах	112
5.1.2. Валидация эффективности маркеров по идентификации бессемянности на гибридах популяций	123
5.2. Определение полиморфизма последовательности, обуславливающего бессемянность, в локусе гена <i>VvAGL11</i> у бессемянных и семенных сортов.....	133

5.3. Дизайн, подбор оптимальных параметров работы и проверка эффективности тест-системы на бессемянность на основе аллель-специфичных зондов.....	141
5.4. Экономический расчет эффективности внедрения тест-системы в научных и прикладных программах выведения бессемянных сортов винограда.....	150
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	155
РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ НАУЧНОГО ПРОЦЕССА, ПРАКТИКИ И ПРОИЗВОДСТВА	159
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	160
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	161
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Свидетельства о государственной регистрации баз данных	174
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Методика определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров	177
ПРИЛОЖЕНИЕ В. Уведомление о приеме заявки на сорт Партенитский	179
ПРИЛОЖЕНИЕ Г. Акт о практическом применении диссертационных исследований	182
ПРИЛОЖЕНИЕ Д. Акт о создании банка ДНК сортов винограда	184
ПРИЛОЖЕНИЕ Е. Акты о внедрении идентификации сортовой принадлежности в виноградарских хозяйствах Крыма	185
ПРИЛОЖЕНИЕ Ж. Общая характеристика и происхождение исследуемых бессемянных сортов винограда	190
ПРИЛОЖЕНИЕ 3. Рудименты семян 20 бессемянных сортов АК «Магарач» урожая 2019г., извлеченных из 20 ягод.....	196
ПРИЛОЖЕНИЕ И. Анализ происхождения по 9 SSR-маркерам и хлоротипу бессемянных сортов.....	200

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Виноград (*Vitis* L.) является одной из пяти наиболее потребляемых, широко культивируемых, экономически и продовольственно важных фруктовых культур в мире. Бессемянность винограда – ценное и востребованное качество, к которому в мире отмечается возрастающий потребительский спрос, что неоднократно отмечалось на Генеральных ассамблеях Международной организации виноградарства и виноделия (OIV). В РФ в начале нынешнего столетия бессемянные сорта возделывались на площади всего около 120 га, так как основные районы производства ранее находились в Средней Азии. Бессемянные сорта в РФ занимают всего 1,3% от общей площади, используемой для столовых сортов винограда. Промышленное использование известных качественных среднеазиатских бессемянных сортов не рентабельно в основных виноградарских районах РФ из-за низкой продуктивности. Несмотря на давнее распространение в культуре бессемянных сортов сортимент их весьма ограничен. Для сохранения коллекции бессемянных сортов отечественного генофонда актуальным является паспортизация большой группы малоизученных сортов селекции Института «Магарах», восточноевропейских и среднеазиатских бессемянных сортов.

Остается не подтвержденным происхождение многих бессемянных сортов, включая кишмиши – сорта Средней Азии, которая считается центром происхождения и распространения фенотипа бессемянности. В настоящее время молекулярно-генетические методы еще не нашли широкого практического применения в виноградарской отрасли РФ, в том числе из-за недостаточной их разработанности. У предложенных ранее маркеров по идентификации бессемянности не определена эффективность на большой группе сортов отечественной селекции, абортгенных сортов РФ, восточноевропейских и среднеазиатских сортов. Практически не исследовались генетические причины, обуславливающие стenosпермокарпическую бессемянность у этой группы сортов с помощью выявления полиморфизма нуклеотидной последовательности. Актуальной задачей является усовершенствование метода идентификации

бессемянности с помощью поиска и создания эффективных ДНК-маркеров на основе выявленного полиморфизма для отечественного генофонда винограда, так как традиционный метод гибридизации требует земельных ресурсов и является дорогостоящим, трудо- и времязатратным. Разработка эффективных методов идентификации бессемянности и сортовой принадлежности винограда позволит оптимизировать получение новых высококачественных сортов, пригодных для промышленного возделывания в агроклиматических условиях РФ, решить питомниководческие задачи, чтобы обеспечить импортозамещение и продовольственную безопасность страны. Решение этих задач является целью данной диссертационной работы, что подтверждает ее актуальность.

Степень разработанности темы: Средняя Азия и Ближний восток считаются центром происхождения и распространения фенотипа бессемянности винограда. Среди древних восточных сортов, известных как «кишмиши», выделяют сорт Кишмиш белый овальный (Султанина) как предполагаемый источник происхождения всех бессемянных стenosпермокарпических сортов (Dangl с соавт., 2001; Karaagac с соавт., 2012; Wang с соавт., 2024). Для паспортизации сортов винограда была стандартизирована система на основе генотипирования по 9 SSR-маркерам (This с соавт., 2004; Laucou с соавт., 2011; Maul и Törfer, 2015). Исходя из кодоминантного наследования SSR-маркеров выполнен ряд работ по подтверждению происхождения сортов винограда, включая бессемянные сорта (Arroyo-García с соавт., 2006; Ilnitskaya с соавт., 2023).

Проф. Смирновым К.В. (1987) предложена классификация стenosпермокарпических бессемянных сортов по массе рудиментов семян с выделением 4-х категорий бессемянности. Для обоснования генетических причин, обуславливающих стenosпермокарпическую бессемянность, Bouquet и Danglot (1996) разработана генетическая модель, которая предполагает существование одного доминантного локуса, названного ингибитором развития семян – SDI (Seed Development Inhibitor). Doligez с соавт. (2002) и Cabezas с соавт. (2006) показали существование одного основного локуса количественных признаков (QTL) на Chr 18, который соответствовал локусу SDI в предложенной модели. Costantini с соавт.

(2008) предположили, что мутация в гене фактора транскрипции *VvAGL11*, расположенном в локусе SDI, приводит к бесплодности. В исследованиях Mejía с соавт. (2011г.) утверждалось, что мутация в регуляторной области гена вызывает бесплодность. Исследования Royo с соавт. (2018) не подтвердили данного утверждения. На изученных ими сортах установлено, что только SNP в позиции chr18: 26,889,437 (A/C) экзона 7 гена *VvAGL11* был полностью ассоциирован с фенотипом бесплодности.

Для идентификации стenosпермокарпической бесплодности Lahogue с соавт. (1998), Mejía и Hinrichsen (2003) было предложено несколько маркеров, имевших низкую эффективность. Cabezas с соавт. (2006) идентифицировали маркеры VMC7F2 и VMC6F11, которые давали 4-6% ложноположительных и 11-13% ложноотрицательных результатов. Mejía с соавт. (2011) предложили маркер p3_VvAGL11, находящийся в регуляторной области гена *VvAGL11*, который дает 1,68% ложноположительных результатов (Bergamini с соавт., 2013). Однако их эффективность недостаточно исследована на сортах отечественного генофонда.

Цель исследований: установление происхождения бесплодных сортов и гибридов винограда и усовершенствование идентификации стenosпермокарпической бесплодности винограда на основе полиморфизма нуклеотидной последовательности.

Задачи исследований:

1. Определить фенотипические характеристики бесплодности у бесплодных сортов, а также у гибридов популяций скрещивания для их дифференциации на бесплодные и семенные;
2. Провести паспортизацию и уточнить происхождение бесплодных сортов и гибридов популяций с использованием 9 SSR-маркеров и хлоротипа;
3. Определить эффективность ранее предложенных молекулярно-генетических маркеров по бесплодности на неисследованных восточноевропейских и среднеазиатских сортах и гибридах;

4. Выявить полиморфизм последовательности, обуславливающий бесплодность, в локусе гена *VvAGL11* с помощью методов секвенирования и биоинформатики у отечественных и среднеазиатских сортов;
5. Усовершенствовать метод идентификации стеноспермокарпической бесплодности с помощью разработки эффективной тест-системы для детекции выявленного полиморфизма для ПЦР в реальном времени и ее валидации на бесплодных, семенных сортах и гибридах.

Объект исследования – генотип и фенотип стеноспермокарпической бесплодности у сортов и форм винограда.

Предмет исследования – полиморфизм последовательности ДНК сортов и гибридов винограда, обуславливающий бесплодность и позволяющий идентифицировать сорта и их происхождение; эффективность молекулярно-генетических маркеров и разработанной тест-системы по идентификации бесплодности.

Научная новизна полученных результатов

Впервые разработана тест-система на основе аллель-специфичных зондов для детекции SNP 26,889,437 (A/C) chr18, приводящего к стеноспермокарпической бесплодности винограда, что позволяет теоретически безошибочно идентифицировать стеноспермокарпическую бесплодность.

На ранее не исследованных бесплодных и семенных сортах института «Магарач», сортах среднеазиатского и восточноевропейского происхождения, аборигенных сортах РФ и других сортах АК «Магарач» выполнена валидация 2-х ранее предложенных молекулярно-генетических маркеров на бесплодность, из которых выделен наиболее эффективный маркер p3_VvAGL11 с отсутствием ложноотрицательных результатов и 4,6% ложноположительных результатов. Выделены семенные сорта, являющиеся исходными формами для многих сортов, как источники ложноположительных результатов для маркеров по определению бесплодности.

Впервые созданы молекулярно-генетические паспорта по 28 и дополнены по 6 бессемянным сортам АК «Магарач». Впервые получен хлоротип 49 сортов.

Получены новые знания на основе SSR-маркеров об уточненном происхождении 41 бессемянного сорта винограда института «Магарач», а также сортов азиатского и восточноевропейского происхождения на основе SSR-маркеров.

Теоретическая и практическая значимость работы

Подтверждено, что сорт Кишмиш белый овальный (Султанина), его вариации, а также другие стародавние кишмишные сорта, произошедшие от него, являются родителями либо исходными формами всех изученных в работе бессемянных сортов винограда.

Определены фенотипические характеристики и категория бессемянности у 31 бессемянного сорта АК «Магарач» в агроклиматических условиях произрастания пос. Вилино и проведена дифференциация по бессемянному фенотипу 29 гибридов форм популяций «семенной x бессемянный».

Подтверждены фундаментальные знания о значимости SNP 26,889,437 (A/C) экзона 7 гена *VvAGL11* chr18 винограда в формировании стеноспермокарпической бессемянности на генотипах ранее не исследованных 15 сортов отечественного генофонда на основе результатов секвенирования по Сэнгеру и биоинформатического анализа полногеномного секвенирования NGS.

С помощью молекулярно-генетических маркеров выделены 24 бессемянные формы из 67 гибридов 3-х популяций, полученных по схеме скрещивания «семенной x бессемянный».

Подтверждена сортовая принадлежность 27 бессемянных сортов АК «Магарач», 3 образца АК определены как несоответствующие указанному сорту. В 4-х опытных популяциях из 109-ти гибридов выделены чужеродные примеси, подтверждены или уточнены родительские формы популяций.

Научно обосновано применение ранней идентификации стеноспермокарпической бессемянности на основе разработанной тест-системы для ПЦР в реальном времени, которая теоретически безошибочно дифференцирует

семенные и бессемянные гибриды в популяциях скрещивания еще в ювенильном периоде, что повышает эффективность процесса отбора гибридов и значительно сокращает затраты: уменьшаются в 2 раза используемые площади опытных участков от 3-7 лет и более, и соответственно трудо- и энергозатраты.

Результаты исследований:

Разработаны и прошли государственную регистрацию информационные базы: 1) «База молекулярно-генетических паспортов (генотипов) бессемянных сортов АК «Магараж» для идентификации сортов, включающая 44 бессемянных генотипа; 2) «База хлоротипов бессемянных сортов АК «Магараж», включающая 50 бессемянных хлоротипов для установления происхождения и определения материнской родительской формы; 3) «База генотипов сортов на основе маркеров MAS по бессемянности АК «Магараж», включающая 98 генотипов сортов (Приложение А).

Разработана «Методика определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров (SSR-маркеров)», которая прошла метрологическую экспертизу в 2024г. (Приложение Б).

С использованием молекулярно-генетических методов была определена перспективная бессемянная форма М № 32-11-5-1, на которую принята заявка по выдаче патента на бессемянный сорт «Партенитский» (приложение В).

Апробированы и прошли производственную проверку с определением их эффективности разработанная тест-система и 2 молекулярно-генетических маркера в программе на бессемянность в ВНИИВиВ «Магараж» на 3-х опытных популяциях скрещивания «семенной x бессемянный» (приложение Г). Тест-система показала большую эффективность и доступность в практическом применении чем маркеры. В связи с этим разработанная тест-система рекомендована для использования в научных и прикладных программах по определению бессемянности. Ее внедрение позволит использовать рутинный, относительно дешевый метод ПЦР в реальном времени заменив фрагментный анализ для маркеров.

Создан банк ДНК 117 сортов коллекции ВНИИВиВ «Магarach» (55 бессемянных и 62 семенных) с концентрацией 20 нг/мкл для использования в исследованиях (Приложение Д).

На основе разработанной «Методики определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров (SSR-маркеров)» для виноградарских хозяйств Крыма проведена сортовая идентификация образцов промышленных насаждений винограда и посадочного материала (приложение Е).

Методология и методы исследований

Для достижения поставленных задач в диссертационной работе использовались методы фенотипирования бессемянности (определения массы ягод, массы и количества рудиментов и семян в ягодах винограда), молекулярно-генетических исследований (выделение ДНК, оптимизация и проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР), оптимизация и проведение ПЦР в реальном времени, фрагментный анализ с методикой генотипирования (GeneMapper v4.0) и идентификации генотипов винограда, капиллярное секвенирование по Сэнгеру), биоинформатики (биоинформатическая обработка секвенирования по Сэнгеру и NGS, дизайн праймеров NCBI), популяционной генетики (статистическая обработка данных полилокусного генотипирования — DARwin 6) и на основании общепринятых методик:

- Методика экстракции ДНК из растительных образцов модифицированным методом выделения нуклеиновых кислот на основе ЦТАБ (2 %) (Rogers, 1985).
- Методика определения массы и количества рудиментов и семян в ягодах винограда (Cabezas et al., 2006).
- Методика генотипирования и идентификации генотипов винограда с помощью 9 микросателлитных (SSR) маркеров методом фрагментного анализа с использованием GeneMapper v4.0 (This et al., 2004).
- Методика определения хлоротипа винограда с помощью микросателлитных хлоропластных маркеров (Arroyo-García et al., 2002).

- Методика мультиплексной полимеразной цепной реакции при генотипировании с использованием праймеров на бессемянность (Merdinoglu et al., 2005; Mejía et al., 2011).
- Методика проведения ПЦР в реальном времени – RealTime (Mejía et al., 2011).
- Методика прочтения последовательности нуклеотидов (секвенирования) на генетическом анализаторе ABI 3130 (Getting Started Guide. Applied Biosystems 3130/3130xl Genetic Analyzers. Hitachi USA – 2007. – p. 170).

Математически-статистические методы применялись для определения достоверности полученных результатов, выявления корреляции между исследуемыми показателями и для расчета экономической эффективности. Использовалась статистическая обработка данных с помощью ПО Genetic Analysisin Excel 6.5, построение дендрограмм с помощью ПО DARwin 6.

Положения, выносимые на защиту:

1. Молекулярно-генетическая паспортизация, идентификация и уточнение происхождения стеноспермокарпических бессемянных сортов и гибридов по результатам генотипирования с использованием 9 SSR-маркеров и определенного хлоротипа.
2. Валидация молекулярно-генетических маркеров по идентификации стеноспермокарпической бессемянности на отечественных, восточноевропейских и среднеазиатских сортах и гибридах винограда.
3. Подтверждение роли SNP 26,889,437 (A/C) гена *VvAGL11* в образовании стеноспермокарпической бессемянности у винограда на основе секвенирования последовательности бессемянных и семенных сортов отечественного генофонда.
4. Разработка и эффективность внедрения тест-системы по определению бессемянности для ПЦР в реальном времени на основе подтвержденной роли SNP 26,889,437 (A/C) в научных и прикладных программах.

Степень достоверности результатов подтверждается статистической обработкой полученного лично автором экспериментального материала проводимых лабораторных исследований, а также научно аргументированными теоретическими положениями, обоснованными рекомендациями для производства, практическим внедрением результатов и научными публикациями, отражающими основные результаты диссертационного исследования.

Апробация результатов исследований. Основные положения и результаты диссертации докладывались и обсуждались на заседаниях секции ученого совета, на заседаниях ученого совета.

Материалы диссертационной работы заслушаны в докладах на Международной научно-практической конференции «Магарач». Наука и практика 2020», посвященной 100-летию П.Я. Голодриги в 2020 г.; на Международной научно-практической конференции «Современные направления науки, инновационные технологии в виноградарстве и виноделии», 2021 г.; на II Международной научно-практической конференции «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений» (GENBIO2021), 2021 г.; на Международной научно-практической конференции «Современные тенденции науки, инновационные технологии в виноградарстве и виноделии», 2023 г.; на IV Международной научно-практической конференции «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений» (GenBio2024), 2024 г.; на Международной научно-практической конференции «Здоровые растения – здоровая нация», 2024г.

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 14 научных работ, в том числе 10 научных статей в изданиях, включенных в Перечень ВАК РФ, 2 статьи входят в международную наукометрическую базу данных Scopus. Получены 3 свидетельства о государственной регистрации баз данных (приложение А), принята заявка ФГБУ «Государственная комиссия РФ по испытанию и охране селекционных достижений» по выдаче патента на бессемянный сорт «Партенитский» (Приложение В).

Личное участие автора заключается в анализе современного состояния проблемы, разработки задач исследований на основании предложенной темы и цели исследований, определении и освоении методов проведения исследований, выполнении молекулярно-генетических и фенотипических исследований, выполнении обработки и анализа полученных результатов, формировании выводов. Автором выполнены лично и самостоятельно в полном объеме молекулярно-генетические исследования, составившие основу диссертационной работы (выделение ДНК, мультиплексная ПЦР, оптимизация ПЦР в реальном времени, фрагментный анализ, секвенирование по Сэнгеру, биоинформатическая обработка NGS, дизайн праймеров).

Выполненные исследования, статистическая и экономическая оценка данных, публикации результатов исследований, составление рекомендаций производству проводились лично автором. При участии научного руководителя проведена разработка плана научных исследований. Личное участие соискателя в публикациях составляет более 90 %.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 209 страницах, из них основной текст – на 160 странице компьютерного текста, включает введение, 5 глав, заключение и содержит 38 таблиц, 25 рисунков и 9 приложений. Список литературы состоит из 111 источников, из них 63 латиницей.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность первому научному руководителю работы, кандидату биологических наук Гориславец Светлане Михайловне, за заданное направление, возможность проведения исследований и освоение основных молекулярно-генетических методов, а также внутренним оппонентам: доктору сельскохозяйственных наук Клименко Виктору Павловичу и доктору сельскохозяйственных наук, профессору Волынкину Владимиру Александровичу за поддержку и конструктивные предложения.

1. СОВРЕМЕННЫЙ УРОВЕНЬ ЗНАНИЙ И МЕТОДОВ ПО ИДЕНТИФИКАЦИИ И УСТАНОВЛЕНИЮ ПРОИСХОЖДЕНИЯ БЕССЕМЯННОСТИ ВИНОГРАДА (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)

1.1. Характеристика и значимость бессемянности винограда

Бессемянность винограда (*Vitis* L.) – ценное и востребованное качество у культивируемых сортов. Возрастающее в мире внимание к бессемянному столовому винограду как ценному продукту питания, пользующемуся высоким спросом у потребителей, было отмечено на 69-й и 73-й Генеральных ассамблеях Международной организации виноградарства и виноделия (IOV). В 1991 году на проходившем в ФРГ симпозиуме по селекции винограда было рекомендовано обратить особое внимание на выведение бессемянных сортов (Волынкин с соавт., 2009; Радчевский, Трошин, 2010).

Среди генетического разнообразия винограда было выявлено два различных механизма развития бессемянности естественным путем: партенокарпия и стеноспермокарпия (Varoquaux et al., 2000). При стеноспермокарпии (от греч. «стенос» – узкий, «сперма» – семя, «карпос» – плод) происходит опыление и оплодотворение, но развитие семян прерывается на 2-4 неделе после оплодотворения (Смирнов, 1987; Karaagac et al., 2012; Serrano, 2017). Таким образом, ягоды стеноспермокарпических сортов содержат рудименты или «следы» семян разных размеров – наблюдается разная степень развития семян (Cabezas, 2006). Семена не развиваются полностью из-за ранней дегенерации эндосперма и неправильного развития покровов семени (Ledbetter, Ramming, 1989). Стеноспермокарпия, различаемая по степени развития семян, демонстрирует количественные и качественные вариации (Striem et al., 1992).

При партенокарпии (от греч. «партенос» – девственный, «карпос» – плод) ягода развивается без опыления и оплодотворения, что приводит к появлению мелких ягод, у которых полностью отсутствуют семена, такие как сорт Коринка, в основном используемые для производства изюма. Поэтому только стеноспермокарпическая бессемянность может позволить получать необходимую

величину бессемянных ягод, соответствующих коммерческим требованиям производства свежих фруктов.

Проф. Смирновым К.В. была предложена классификация стеноспермокарпических бессемянных сортов по критерию массы рудиментов семян: первая категория – масса рудиментов семян составляет от 0 до 6 мг; вторая категория – от 6,1 до 10 мг; третья – 10,1–14 мг; четвертая – 14,1 мг и более (Смирнов, 1987).

Бессемянность является одной из основных целей селекционных программ столового винограда, поскольку она действительно имеет коммерческий интерес у потребителя. Большинство селекционных программ столового винограда направлено на создание новых сортов, сочетающих бессемянность с другими качествами, такими как крупный размер ягод, мускатный вкус, устойчивость и другие качества (Bouquet, Danglot, 1996; Cabezas, 2006; Bergamini, 2013; Ильницкая, 2022).

1.2 Происхождение винограда и его бессемянных сортов

История происхождения винограда *V. vinifera* во многом определила генетическое разнообразие сортов, которое существует на сегодняшний день. Для установления его происхождения ведутся интенсивные научные изыскания в области ампелографии, археоботаники и истории. Последние масштабные исследования по результатам полногеномного секвенирования 3525 генотипов культурных сортов и дикорастущих образцов, собранных из различных регионов мира, уточнили историю генезиса (Dong Y. et al., 2023). В плейстоцене суровый климат привел к разделению популяций диких экотипов винограда из-за фрагментации их среды обитания. Около 200 тыс. лет назад холодный и сухой климат ледникового периода медленно уничтожил дикие виноградные лозы в центральном регионе Средиземного моря, разделив среду обитания на две изолированные области: западную (территория Португалии, Испании и Франции) и восточную (Израиль, Сирия, Турция и Грузия). Около 56 тыс. лет назад

восточный регион разделился на более мелкие изолированные территории, включая Крымский полуостров.

Далее, приблизительно 11 000 лет назад, в Западной Азии и на Кавказе одновременно произошло одомашнивание винограда, в результате которого, соответственно, появились столовый и технический культурный виноград. Одомашненные сорта винограда Западной Азии распространились по Европе с ранними земледельцами, интродуцировали с древними дикорастущими западными экотипами и впоследствии из них к позднему неолиту произошли предшественники мускатных сортов и уникальных западных технических сортов винограда. Эволюция генома винограда перекликается с ключевыми событиями в истории глобального изменения климата и миграции людей.

Средняя Азия и Ближний восток считаются центром происхождения и распространения по всему миру фенотипа бессемянности винограда. Исследованиям происхождения бессемянности ранее уделялось недостаточно внимания. Как отмечается в ряде научных источников (Dangl et al., 2001; Cabezas et al., 2006; Royo et al., 2018) стабильный фенотип стenosпермокарпической бессемянности характерен для нескольких древних восточных сортов, известных как «Кишмиши», и производных от этих сортов. Среди них выделяют сорт Кишмиш белый овальный (основное общепринятое название – Султанина, англоязычный вариант - Томпсон сидлис) как предполагаемый источник происхождения всех бессемянных стenosпермокарпических сортов (Ibáñez et al., 2009; Vargas et al., 2009; Karaagac et al., 2012). Районом происхождения этого сорта считаются страны Средней Азии и Ближнего Востока. Очевидно, что сорт Кишмиш белый овальный является почковой мутацией семенного сорта винограда восточной эколого-географической группы. И в дальнейшем возникший фенотип бессемянности был унаследован большинством существующих теперь бессемянных сортов винограда (Bouquet и Danglot, 1996; Adam-Blondon et al., 2001; Doligez et al., 2002; Cabezas et al., 2006). Этот сорт является основным источником бессемянности в программах селекции столового винограда (Adam-Blondon et al., 2001; Doligez et al., 2002). Хотя известны самопроизвольные случаи появления

подобного фенотипа бессемянности в семенных сортах как результат соматических мутаций, например, как у сорта Chasselas alypene (Karaagac et al., 2012).

Сведения о происхождении сортов имеют большую ценность для анализа полученных признаков и селекционных программ, но зачастую эта информация неизвестна или бывает неверна (Arroyo-García et al., 2002). Среди широко распространенных сортов винограда имеется множество синонимов (разные названия одного и того же сорта) и омонимов (разные сорта с одним и тем же названием) (This et al., 2006). Это особенно характерно для распространенных стародавних сортов, что затрудняет определение родственных связей. В селекционных программах винограда в основном достоверно известна материнская родительская форма, от которой собраны семена, но в отношении отцовской формы – сорта-донора пыльцы, возможно получение ошибочной информации, например, из-за загрязнения чужеродной пылью во время процесса опыления. Поэтому в некоторых скрещиваниях родительская отцовская форма неизвестна или не соответствует действительности (Ibáñez et al., 2009; Мет. рекомендации, 2005).

Выявление настоящих родительских форм у сортов винограда с неизвестным происхождением или подтверждение происхождения сортов является необходимым условием для анализа унаследованных сортом хозяйственно-ценных признаков, для обеспечения возможности повторения успешных скрещиваний, с целью получения аналогичных комбинаций признаков у потомков, а также для упорядочения ампелографических коллекций.

При отсутствии специфических особенностей в фенотипе сорта, выявление происхождения сорта ампелографическим методом практически невыполнимо. Определение происхождения сорта возможно при условии сохранения его родительских форм, в ином случае эта задача значительно усложняется. В подобных ситуациях при отсутствии родительских форм для анализа происхождения могут быть использованы прародительские генотипы (Bautista, 2008).

1.3 Методы идентификации и установления происхождения сортов винограда

Правильная идентификация сортов необходима в работе питомниководческих центров для определения чистосортности посадочного материала, в селекционных программах для уточнения родительских форм, в ампелографических коллекциях для сохранения генетического разнообразия винограда и восстановления автохтонных сортов, а также для паспортизации сортов и защиты авторских прав. Традиционно идентификация сортов и форм винограда производится ампелографическими методами на основе фенотипических признаков. Однако это затруднено значительным сортовым разнообразием винограда, множеством синонимов и омонимов сортов, сложностью системы идентификации, широкой модификационной изменчивостью образцов из-за разных условий произрастания и высоким полиморфизмом, проявляемым этим видом. В настоящее время молекулярные ДНК-маркеры являются эффективным инструментом для точного установления сортового соответствия и определения либо подтверждения происхождения сортов. В работах по изучению генетического разнообразия и идентификации сортов чаще всего используют маркеры, основанные на вариабельности микросателлитных локусов последовательности ДНК (Гориславец с соавт., 2018; Гориславец с соавт., 2019; Спотарь с соавт., 2021; Лиховской с соавт., 2023; Спотарь с соавт., 2024; Спотарь с соавт., 2025).

Микросателлитные маркеры или SSR-маркеры (simple sequence repeats) – это вариабельные участки ДНК, представляющие собой короткие tandemные повторы (1–6 парой нуклеотидов), фланкированные консервативными участками. Микросателлитные последовательности часто встречаются и довольно равномерно распределены по всему геному эукариот. Полиморфизм микросателлитных маркеров выражается в различном количестве повторов и проявляется в виде разных длин аллелей микросателлитных локусов.

Маркеры на основе микросателлитов монолокусны, мультиаллельны, имеют кодоминантный тип наследования, высокую дифференцирующую способность и воспроизводимость результатов и благодаря этим характеристикам стали предпочтительными маркерами для идентификации растений. Микросателлитные

последовательности имеют относительно высокую частоту мутаций, что приводит к увеличению числа аллелей и, следовательно, к высокому уровню полиморфизма. Совокупность длин аллелей определенных SSR-маркеров, выраженная в парах нуклеотид (п.н.), специфична для каждого сорта винограда и однозначно идентифицирует сортовую принадлежность образца. (Laucou et al., 2011; Maul et al., 2015; Спотарь с соавт., 2021).

Микросателлитные маркеры являются наиболее полезными для генотипирования и точной идентификации сортов и форм винограда, а также успешно применяются при изучении происхождения сортов и анализа их родословных. На основании работ по фингерпринтингу сортов, проведенных в различных научных лабораториях, с целью стандартизации процедуры точной идентификации сортов винограда, по итогам работы европейских проектов «GenRes 081» и «GrapeGen06» были выбраны 9 наиболее информативных, полиморфных микросателлитных маркера: VVS2, VVMD5, VVMD7, VVM27, VrZAG62, VrZAG79, VVMD25, VVMD28, VVMD32. Эти 9 ядерных SSR-маркеров (nSSR) являются стандартным набором маркеров в международной признанной системе идентификации сортов винограда (This et al., 2004; Laucou et al., 2011; Maul, Töpfer, 2015).

Для определения сортовой принадлежности образца по его генотипу используется находящаяся в открытом доступе международная база данных «Vitis International Variety Catalogue» (VIVC), где представлены генетические профили сортов по 9-ти стандартным ядерным SSR-локусам, а также, при наличии информации, указан хлоротип сорта (VIVC; Maul, Töpfer, 2015; Спотарь с соавт., 2021).

Кодоминантное менделевское наследование микросателлитных SSR-маркеров ранее использовалось для открытия генетического происхождения некоторых важных технических сортов винограда (Bowers and Meredith, 1997; Bowers et al., 1999; Sefc et al., 1998). А микросателлитные хлоропластные маркеры могут раскрыть направление скрещивания, поскольку хлоропласты у винограда наследуются по материнской линии (Arroyo-García et al., 2006).

Для сохранения генетических ресурсов в ампелографических коллекциях и последующего эффективного использования для селекции сортового потенциала винограда является важными задачи по установлению точного сортового соответствия сохраняемых форм, выявления синонимов и омонимов сортов, а также их происхождения. Российский генофонд винограда, включая бессемянные сорта, сосредоточен в нескольких АК разных регионов юга Российской Федерации: ВНИИВиВ «Магарач» (г. Ялта), АЗОСВиВ (г. Анапа), ВНИИВиВ им. Я.И. Потапенко, (г. Новочеркасск), Крымская ОСС (г. Крымск) и КубГАУ (г. Краснодар). АК «Магарач» является одной из старейших и крупнейших мировых коллекций винограда, которая содержит 4 120 образцов. (Полулях с соавт., 2017; Трошин с соавт., 2022).

1.4 Производство бессемянного винограда в мире и РФ, пути его увеличения с помощью селекционной работы

Виноград является одной из пяти наиболее потребляемых фруктовых культур в мире: занимаемая им площадь оценивается в 7,5 млн га в 100 различных странах мира. Ежегодно собирается около 75 млн т винограда, из этого объема менее 50% урожая с учетом потерь используется для изготовления вина. 26,8 млн т в год потребляется в свежем виде как столовый виноград, 6,2 млн т направляется на изготовление сушеной продукции, и 3,7 млн т перерабатывается в виноградный сок либо в иное изделие. Мировое производство и потребление столового винограда почти удвоилось с 15,7 млн т в 2000 году до почти 27 млн т в 2014 году, при этом КНР и Индия стали основными драйверами глобального роста. Мировое производство сушеного винограда достигло 1,5 млн т в 2014 году, увеличившись на 10% в период с 2000 по 2014 год (FAO-OIV Focus, 2016).

По данным МОБВ (OIV), из 10 сортов винограда различного использования, имеющих наибольшую площадь культивирования в мире, 3-е место занимает единственный бессемянный сорт Султанина или Кишмиш белый овальный, который возделывается на площади около 273 000 га (не учтены данные по Турции, Ирану и Узбекистану) (Focus OIV 2017). В настоящее время наибольшее

распространение в мире в качестве столового винограда и для получения сушеной продукции приобрели бессемянные сорта Султанина, Кримсон сидлесс, Флейм сидлесс, Супериор сидлесс (Саграйон) (FAO-OIV Focus, 2016).

Несмотря на давнее распространение в культуре бессемянных сортов винограда, наличия спроса у потребителей и на относительно большую площадь, занимаемую этими сортами, сортимент их довольно ограничен. В мире распространено около 150 востребованных сортов бессемянного винограда (Радчевский П.П., Трошин Л.П., 2010; Akkurt et al., 2013). В «Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию» (Гос. реестр селекционных достижений) их численность составляет 4% от общего числа сортов, допущенных к использованию. В международном каталоге сортов винограда «Vitis International Variety Catalogue» (VIVC) из 14 463 внесенных сортов и форм, имеющих информацию по наличию семян, только 737 (5,10%) – указаны как бессемянные, и еще у 16 (0,11%) имеются рудименты семян (VIVC).

В СССР в начале 80-х годов бессемянные сорта винограда занимали 36 тыс. га. Основные районы производства в СССР бессемянного винограда, который использовался для получения сушеной продукции, находились в республиках Средней Азии: Узбекская ССР (80–85 % от всего объема), Таджикская ССР, Туркменская ССР, Киргизская ССР и южный район Казахской ССР, и только 7% площадей приходилось на Армянскую и Азербайджанскую ССР. В советских республиках Средней Азии культивировались в основном сорта Кишмиш белый овальный (Султанина) и Кишмиш черный – 6,5 тыс. га, на остальной площади использовалось в основном 10 бессемянных сортов (Аскери, Кишмиш ВИРа, Кишмиш красный туркменский, Кишмиш розовый, Кишмиш Хишрау, Мечта, Перлетт, Рушаки, Сирануш, Тарнау) (Радчевский, Трошин, 2008; Смирнов с соавт., 1987).

В Российской Федерации в начале нынешнего столетия данные сорта возделывались на площади всего около 120 га (Радчевский, Трошин, 2010). По данным Рюмина с соавт. (2018) в РФ доля столовых сортов занимала 13% от

площади всех плодоносящих виноградников, а доля бессемянных среди столовых сортов занимала всего 1,3%. (Рюмшин с соавт, 2018).

Основную массу известных бессемянных сортов представляют формы *V. vinifera* L. – кишмиши, относящиеся к восточной эколого-географической группе, а также коринки, относящиеся к эколого-географической группе бассейна Черного моря. Их возделывают в регионах с теплым благоприятным климатом, высокой суммой активных температур (САТ) и длинным вегетационным периодом. Кроме того, для этих сортов характерны низкая устойчивость к морозам, грибным болезням и филлоксере.

Одним из наибольших недостатков среднеазиатских бессемянных сортов винограда является то, что промышленное использование их невозможно в основных виноградарских районах РФ. Для Республики Крым и других южных регионов РФ практика возделывания этих сортов показывает, что здесь они демонстрируют низкую продуктивность (Радчевский, Трошин, 2008). В связи с этим необходимо получение новых устойчивых сортов бессемянного винограда для климатических условий РФ.

Для получения сортов бессемянного винограда традиционным методом селекции применяется схема скрещивания родительских генотипов «семенной × бессемянный», где в качестве родительской отцовской формы используются бессемянные сорта, родственные сорту Султанина, а в качестве материнской – семенные генотипы. Однако этот метод имеет существенные недостатки, так как приводит к низкой доле бессемянных форм среди потомства F1. Доля бессемянных генотипов, полученных от потомков сорта Султанина, составляет от 10 до 30% (Weinberger, Harmon, 1964; Loomis, Weinberger, 1979; Spiegel-Roy et al., 1990; Roytchev, 1998; This P. et al., 2000).

Для увеличения частоты встречаемости бессемянных гибридов в потомстве применяется схема скрещивания «бессемянный × бессемянный», где в качестве родительской материнской формы используется бессемянный генотип, с применением метода культивирования зародыша (спасение эмбриона) *in vitro* (Spiegel-Roy et al., 1989; Ramming et al., 1990; Павлова И.А., 2003; Павлова И.А.,

2011). Однако, этот лабораторный метод трудоемок и требует временных затрат, а доля бессемянных гибридов F1 по-прежнему остается недостаточной для селекционных программ на бессемянность. (Akkurt at al., 2013). Традиционный способ селекции бессемянных сортов по схеме скрещивания «семенной х бессемянный» остается основным, так как большинство лучших сортов столового винограда семенные, а повторное использование скрещиваний «бессемянный х бессемянный» уменьшает генетический пул и может вызвать депрессию инбридинга (Bergamini at al., 2013).

Продолжительный ювенильный период обуславливает задержку отбора бессемянных гибридов, ограничивая тем самым возможность интенсификации селекционного процесса и быстрого получения новых сортов. В связи с тем, что большинство получаемых сеянцев имеет длительный срок от посева семян до начала плодоношения – от 3-7 лет, в отдельных случаях до 10 и более лет, возникает необходимость многолетнего использования больших площадей и многолетнего ухода за полученными гибридными формами. Следовательно, производство новых сортов у многолетних растений, таких как виноград, традиционными методами гибридизации является дорогостоящим, трудо- и времязатратным, а также требует большие полевые площади (Cabezas at al., 2006; Akkurt at al., 2013).

Отечественными и зарубежными селекционерами за последние 30–40 лет получен ряд качественных бессемянных сортов столового и кишмишного направления использования. Методом внутривидовой гибридизации в Российской Федерации и в странах ближнего зарубежья были получены сорта Сверххранний бессемянный Магарача (институт «Магарач», Р. Крым), Кишмиш Согдиана, Кишмиш Хишрау, Кишмиш Зарафшан, Янги Ер, Кишмиш ВИРа (Узбекистан), Кишмиш молдавский, Кишмиш лучистый (Молдова), Мечта, Кишмиш таировский, Сюрприз (Украина), Кишмиш Парвана (Армения); межвидовым скрещиванием – Коринка русская, Кишмиш уникальный, Русбол (Россия). Большое количество ценных бессемянных сортов выведено методом внутри- и межвидовой гибридизации в США (Эйнсет сидлис, Ромулус, Интерлейкен, Сатурн, Марс и др.), Венгрии (Гибриды № 311, № 334, № 342, № 338), Болгарии (Гибриды V-6 и VI-4),

Югославии (Белградский бессемянный), Италии, Испании и Австралии (Смирнов с соавт., 1998; Радчевский, Трошин, 2008).

Полученные сорта возделываются в Краснодарском крае и Ростовской области РФ, а сорта межвидового происхождения – Коринка русская и Ромулус, могут возделываться в неукрывной культуре на севере промышленного виноградарства России. Для производства столового винограда в южных регионах России хорошо себя зарекомендовали такие бессемянные сорта: Сверххранний бессемянный Магараца, Кишмиш молдавский, Кишмиш лучистый. Для получения качественной сушеной продукции – Кишмиш лучистый (Смирнов с соавт., 1998).

В последние десятилетия продолжается работа по селекции устойчивых сортов винограда с использованием метода межвидовой гибридизации. Такие сорта обеспечат стабильность плодоношения и экологическую безопасность производства. (Радчевский, Трошин, 2010; Майстренко с соавт., 2013; Майстренко с соавт., 2017).

С середины XX века в институте «Магараца» ведется планомерная работа по выведению бессемянных сортов методом гибридизации, в том числе межвидовой, а также с применением метода *in vitro*. (Павлова И.А., 2003; Павлова И.А, 2011). В Гос. реестре селекционных достижений зарегистрированы 11 бессемянных сортов винограда, в том числе 3 сорта селекции ВНИИВиВ «Магараца»: Красень, Ялтинский бессемянный, Южнобережный.

В 2019 г. от ВНИИВиВ «Магараца» поданы заявки в ФГБУ «Государственная комиссия РФ по испытанию и охране селекционных достижений» на регистрацию и выдачу патентов на бессемянные сорта винограда Артек (№79006/8057751) и Альбина (№79008/8057752) (Лиховской с соавт., 2023).

В сортименте Российской Федерации, несмотря на недавние пополнения Гос. реестра селекционных достижений сортами Коктейль, Красень, Эльф, по-прежнему недостаточно бессемянных сортов высокой категории бессемянности. Поэтому для РФ остается актуальным создание новых сортов этой группы, имеющих ценные биологические признаки в сочетании с коротким периодом вегетации, с групповой устойчивостью к неблагоприятным воздействиям

окружающей среды, болезням и вредителям (Ильницкая с соавт., 2019; Майстренко с соавт., 2016; Майстренко с соавт., 2017).

Для обеспечения продовольственной безопасности РФ и в связи с необходимостью импортозамещения в агропромышленном комплексе, в том числе в производстве бессемянного винограда, актуальными становятся задачи по оптимизации и удешевлению селекционных программ винограда с помощью внедрения и усовершенствования молекулярно-генетических методов для получения новых бессемянных сортов, обладающих высокой продуктивностью, хозяйственно-ценными качествами и устойчивостью к патогенам и климатическим условиям РФ, а также по исследованию свойств уже имеющихся сортов в агроклиматических условиях Республики Крым.

1.5. Генетические причины стеноспермокарпической бессемянности и существующие молекулярно-генетические маркеры для ее идентификации

На протяжении веков бессемянность винограда является одним из наиболее ценных и востребованных качеств у культивируемых столовых сортов, и незаменимым свойством для сушеной продукции. Мировой спрос на бессемянный виноград растет, и производители винограда все чаще обращаются к бессемянным сортам. Таким образом, понимание генетических причин бессемянности имеет первостепенное значение для повышения эффективности селекции столового винограда и удовлетворения рыночного спроса. (Royo et al., 2018).

Наиболее признанной моделью генетического контроля стеноспермокарпической бессемянности, полученной при анализе потомства частично бессемянных генотипов винограда является модель, в которой бессемянность контролируется рецессивными аллелями в 3-х независимых комплементарных генах, регулируемых доминантным аллелем гена, ингибирующим развитие семян (Bouquet and Danglot, 1996). Этот локус был позже назван SDI – ингибитор развития семян (Карастан с соавт., 2014).

Дальнейшие исследования были направлены на установление местоположения локусов количественных признаков бессемянности и

идентификацию маркеров, сцепленных с признаком бессемянности, методом генетического картирования сегрегирующих популяций потомков F1 и построения генетических карт (Doligez et al., 2002; Fanizza et al., 2005; Cabezas et al., 2006; Costantini et al., 2008; Mejía и Hinrichsen, 2003; Mejía et al., 2007; Mejía et al., 2011). Данный метод позволяет обнаружить только локусы количественных признаков (QTL) с большим фенотипическим эффектом (Cabezas et al., 2006; Mejía et al., 2011).

Doligez с соавт. (2002) показали существование 1 основного QTL для бессемянности, объяснявшего до 49% общей фенотипической изменчивости массы свежих семян в скрещивании между 2-мя частично бессемянными сортами. Этот QTL, как предполагалось, и соответствует локусу SDI в предложенной модели. QTL для размера ягод и количества семян были обнаружены солокализованными с локусом SDI.

Cabezas с соавт. (2006) проанализировали сегрегирующую популяцию F1 из 118 гибридных сеянцев, полученную от скрещивания семенного сорта Доминга и бессемянного Autumn Seedless, и построили родительские, а также консенсусные генетические карты на основе 595 маркеров. За 3 рассматриваемых сезона было обнаружено 22 QTL для 3-х признаков (масса ягод, масса свежих семян/рудиментов и их количество), 14 из них наблюдались в течение одного сезона и не рассматривались. Анализ QTL для бессемянности выявил 3 QTL, влияющие на количество семян/рудиментов (объясняя 35% общей изменчивости) и 6, влияющих на массу свежих ягод, объясняющих до 90% общей вариабельности. Из них QTL с наибольшим эффектом объяснил почти половину фенотипической изменчивости (45-47%). 2 из 6 QTL ранее были обнаружены на chr 18 (Doligez с соавт., 2002). В результате чего подтвердилось существование основного QTL в группе сцепления 18 (LG18), влияющего как на массу семян, так и на массу ягоды.

В исследованиях Costantini с соавт. (2008), Doligez с соавт. (2002), Fanizza с соавт. (2005), Mejía с соавт. (2007) сообщалось о главном QTL для бессемянности в группе сцепления 18, который объяснял от 50 до 70% фенотипической изменчивости признака. Многочисленные другие незначительные (minor) QTL

были обнаружены на разных хромосомах, но они не воспроизводились в разные сезоны и не присутствовали во всех скрещиваниях.

Mejía с соавт. (2011г.) в экспериментальном потомстве, полученном от скрещивания двух бессемянных генотипов методом культивирования зародыша *in vitro* (Ruby Seedless x Sultanina), в количестве 115-126 гибридов был проведен анализ QTL бессемянности и размера ягод. Фенотипическая оценка массы сырых семян (SFW) и средней массы ягод (BW) проводилась 3 сезона (Mejía at al., 2011).

Были обнаружены совместно локализованные QTL для массы сырых семян и массы ягод, которые были сконцентрированы на маркере VMC7F2. Эти QTL объяснили большую часть фенотипической изменчивости для массы семян (67,1%, 61,5%, 71,2%) и небольшую долю фенотипической изменчивости для массы ягод (33,0%, 33,9%, 36,9%) для трех сезонов соответственно (Mejía at al., 2011).

В результате был определен интервал совместно расположенных QTL двух признаков равный около 192 т. п.н. Этот интервал содержит 4 гена, среди которых расположен ген GSVIVT01025945001 *Agamous-like MADS-box protein AGL11*, принадлежащий к семейству D-lineage MADS box. Гомологичный ген модельного вида Арабидопсис – ген фактора транскрипции *MADS-box Agamous-like 11 (AGL11)* отвечает за морфогенез семяпочки и преобразование семенной кожуры. Эти результаты и современные знания о возможных функциях генов в выделенном регионе подтвердили гипотезу Costantini с соавт., что *VvAGL11* является лучшим позиционным геном-кандидатом для контроля развития семян. Размер его составляет около 8 килобайт. Дальнейшие исследования показали, что ген *VvAGL11* координирует свою работу с генами развития эндосперма *FIS2*, *PHERESE1* и *IKU2* и выступает в качестве ключевого регулятора процессов развития семян у винограда (Costantini at al., 2008; Malabarba at al., 2017; Ocarez, Mejía, 2016; Rahman at al., 2021; Li at al., 2021; Amato at al., 2022).

Онтогенез организма определяется точным и многоуровневым регулированием экспрессии генов. У растений гены факторов транскрипции *MADS-box* регулируют различные важные биологические функции и программы вегетативного и репродуктивного развития. Кодируемые ими белки служат

ключевыми регуляторами практически всех аспектов репродуктивного развития, включая сроки цветения, архитектуры соцветий и цветков, формирования пыльцы, семян, плодов, также развития корней и ответной реакции растений на различные стрессовые факторы. В геноме винограда (*Vitis vinifera* L.) известно 90 MADS-генов (Нежданова А.В., Щенникова А.В., 2021; Gramzow et al., 2010).

MADS-box гены имеют консервативную последовательность нуклеотидов. Белки, кодируемые ими, характеризуются наличием консервативных ДНК-связывающих доменов (*MADS-бокс*). Большинство растительных MADS белков имеют стереотипную МКС структуру. После домена MADS следует домен Intervening (I), далее домен Keratin-like (K), и оканчивается белок С-концом (C) (Becker, Theissen, 2003).

Домен MADS является основным детерминантом связывания ДНК; домен (I) – слабо консервативный промежуточный домен, который представляет собой ключевую молекулярную детерминанту для селективного образования ДНК-связывающих димеров; консервативный кератиноподобный К-домен (K-box) способствует димеризации белка, и варибельный С-концевой (C) домен, который участвует в активации транскрипции или в образовании тройных и четвертичных белковых комплексов (InterPro. Classification of protein families.).

Чтобы получить более точную информацию о возможной роли кодирующей и регуляторной области в семенном и бессемянном фенотипах были разработаны внутригенные маркеры p1 -, p2 - и p3_VvAGL11 для генетического анализа InDel (инсерция/делеция) в регуляторной области. Так же был разработан маркер e7_VvAGL11 для тестирования SNP, идентифицированный в экзоне 7. Наибольшую корреляцию с бессемянностью во всех трех сезонах исследований демонстрировали маркеры VMC7F2 и p3_VvAGL11.

На основании этого, Mejia с соавт. (2011г.) сделали вывод, что область, ограниченная маркером VMC7F2 и TATA-box, который включает в себя маркер p3_VvAGL11, вносит наибольший вклад в бессемянный генотип в генетическом материале Султанины, предполагая, что эта область (около 430 п.н.) может

содержать причинную генетическую вариацию бессемянного генотипа (Mejia at al., 2011).

Также был обнаружен полиморфизм последовательностей в промоторной области (около 2,8 т. п.н.) и в регуляторных элементах гена *VvAGL11*. Мутации, выявленные в регуляторных элементах бессемянных аллелей гена *VvAGL11*, объясняли несколько более высокую степень фенотипической изменчивости, чем в кодирующей области (более на 6-13%). Это позволило предположить, что бессемянный фенотип может генетически контролироваться регуляторной областью гена (Mejia at al., 2011).

В последовательности гена *VvAGL11* было идентифицировано несколько SNP и InDel, как в регуляторных, так и в кодирующих областях гена, которые объясняли до 78 % фенотипической изменчивости массы семян. На основании генетических экспериментов Mejia N. с соавт. (2011) утверждали, что регуляторная область гена оказывает большее влияние на фенотип, чем кодирующая область. Транскрипционный анализ подтвердил предполагаемую роль регуляторной области гена, поскольку ее экспрессия прекращалась в бессемянных генотипах на ключевых стадиях развития семени (Mejia at al., 2011).

Обобщенные генетические и транскрипционные данные исследований Mejia N. с соавт. (2011) свидетельствовали о том, что бессемянность в столовом винограде может быть связана с нарушенной экспрессией гена *VvAGL11*, вызванной InDel в его регуляторных элементах. Все сделанные выводы указывали на то, что ген *VvAGL11* на chr 18 семейства *MADS-box* соответствует локусу ингибитора развития семян (SDI), который ранее описан как главный локус бессемянности (Mejia at al., 2011).

Royo C. с соавт. (2018) было проведено независимое от предыдущих гипотез комплексное исследование, с применением различных подходов для выявления полиморфизма, ответственного за стenosпермокарпическую бессемянность винограда. Картирования гибридных форм F1 в двух популяциях позволило ограничить расположение SDI локусом длиной 323 т. п.н., который включал в себя 11 генов, в том числе ген *VvAGL11*.

Применение методов РНК-секвенирования, аллель-специфичной количественной ПЦР в реальном времени и генотипирования не подтвердили наличие цис-действующих мутаций неправильной экспрессии в интервале точного картирования SDI, которыми объясняли стеноспермокарпическую бесплодность. Независимо от наличия полиморфизмов в регуляторных областях гена *VvAGL11*, предложенных ранее как причины бесплодности (Mejía et al., 2011; Di Genova et al., 2014; Ocarez and Mejía, 2016) было обнаружено отсутствие дисбаланса аллельной экспрессии в рудиментах семян гетерозиготных (имеющих бесплодный и семенной аллели) бесплодных образцов. Это исключает наличие цис-действующих мутаций неправильной экспрессии в бесплодном гаплотипе этого гена.

Royo C. с соавт. (2018), используя целевое секвенирование локуса *VvAGL11* в 105 семенных и 5 бесплодных сортах винограда, выявили 448 SNP и 89 InDel. Из них 124 SNP и 22 InDel были общими для всех пяти исследуемых бесплодных образцов, происходящих от сорта Султанина. Из всех найденных полиморфизмов только SNP в позиции chr18: 26,889,437 (A/C) был полностью ассоциирован с фенотипом бесплодности. Эта мутация вызывает замену аминокислоты аргинин 197 на лейцин. Данный SNP был также выделен в этом исследовании по результатам анализа проведенного РНК-секвенирования в связи предсказанным негативным эффектом данной миссенс-мутации от замены аминокислоты (Royo et al., 2018; Carbonell-Bejerano et al., 2019).

Аминокислотная замена расположена в С-концевом домене, характерном для генов *MADSbox*. Несмотря на то, что этот домен является наиболее варибельным, аргинин в этом положении обычно сохраняется в гомологах гена *AGL11* двудольных видов, в связи с чем можно предположить, что эта аминокислота функционально значима (Royo et al., 2018; Carbonell-Bejerano et al., 2019).

Другие выявленные мутации, рассмотренные как возможные причины бесплодности, были исключены при анализе повторного секвенирования. Для SNP в положении chr 18: 26,889,399 (C/T), приводящей к аминокислотной замене треонин - аланин, нуклеотид С также присутствовал в 3-х семенных сортах.

Вставка поли-GA в интроне 1 была обнаружена в 17 семенных сортах. В предполагаемом промоторе гена делеция AG маркера VMC7F2 обнаружена в 44 семенных сортах, вставка GA маркера p3_VvAGL11 – в 33 семенных сортах, что не подтверждает их роли в возникновении бессемянности, предположенной Mejía с соавт. (2011) (Mejía et al., 2011; Di Genova et al., 2014; Royo et al., 2018).

Таким образом, была выделена единственная однонуклеотидная миссенс-мутация в гене *VvAGL11*, приводящая к замене с негативным эффектом аргинина 197 на лейцин, которая полностью связана с фенотипом стеноспермокарпической бессемянности без ложного обнаружения в семенных фенотипах.

Исследования Royo с соавт. (2018) были сосредоточены на сорте Султанина (также известном как Кишмиш белый овальный или Томпсон сидлис), и его производных сортах в связи с тем, что данный сорт является основным донором бессемянности в программах селекции столового винограда (Adam-Blondon et al., 2001; Ibanez et al., 2009). Наши исследования по изучению полиморфизма последовательности призваны дополнительно изучить стародавние бессемянные сорта Средней Азии неустановленного происхождения и сорта селекции института «Магарач».

Для импортозамещения и продовольственной безопасности РФ актуальным становится совершенствование сортимента винограда за счет интенсификации селекции для получения высококачественных устойчивых сортов винограда для условий РФ. Одним из наиболее перспективных направлений в селекции винограда является создание бессемянных сортов (Майстренко, 2008; Майстренко с соавт., 2010).

Основным направлением повышения эффективности селекции на бессемянность является применение ДНК-маркерного отбора для идентификации локуса, контролирующего бессемянность. Привлечение методов с использованием молекулярно-генетических маркеров перспективно в селекционной работе по данному направлению, так как позволяет удалить семенные гибриды и отобрать бессемянные сеянцы для дальнейшей селекции еще в ювенильный период, не дожидаясь плодоношения винограда. В связи с этим исследования были

сосредоточены на разработке молекулярных маркеров, связанных с локусами, контролирующими бессемянность (Striem et al. 1994, 1996). Такие маркеры могут быть ценными инструментами для дальнейшего увеличения доли бессемянных генотипов с целью раннего отбора бессемянного потомства и высаживания на селекционные участки. Таким образом, они позволят ускорить селекционные программы, а также применяемые методы *in vitro*. (Doligez et al., 2002). В связи с необходимостью интенсификации селекционного процесса целесообразно применение генетических методов исследований на основе молекулярно-генетических маркеров, что позволит в сравнительно короткий период времени проводить анализ результатов скрещивания.

В исследовании Lahogue с соавт. (1998) был предложен SCAR-маркер SCC8, связанный с признаком бессемянности. Однако маркер SCC8 не был полезен для всех оцениваемых потомков бессемянных генотипов, так как часто амплифицировал нулевую аллель: только 42% гибридов F1 с маркером SCC8 вызывали амплификацию (Lahogue с соавт., 1998; Mejia и Hinrichsen, 2003).

Mejia и Hinrichsen (2003) в своем исследовании потомства, полученного от Ruby Seedless (бессемянный) × Sultana (бессемянный) с помощью картирования популяции выяснили, что RAPD маркер WF27-2000 связан с бессемянностью, и сообщили, что SCAR-маркер SCF27, полученный от этого маркера, может использоваться для MAS. Была обнаружена 81%-ая корреляция между гибридами, дающими определенный продукт амплификации с маркером SCF27 и признаком бессемянности в исследуемой популяции. Они предположили, что, если гибриды F1, гетерозиготные по маркеру, можно идентифицировать на стадии *in vitro*, то селекционные затраты могут быть снижены на 25% (Mejia и Hinrichsen, 2003).

Cabezas с соавт. (2006) были предложены для селекции на бессемянность микросателлитные маркеры VMC7F2 и VMC6F11, сцепленные с основным QTL бессемянности. Была выявлена сильная корреляция между аллелем 198 п.н. микросателлитного маркера VMC7F2 и признаком бессемянности, и подтверждена полезность VMC7F2 в качестве маркера для идентификации бессемянности (Mejia et al., 2007). Наиболее эффективный из них – маркер VMC7F2 показал при анализе

популяции гибридных форм 4% ложноположительных результатов (семенные гибриды идентифицируются как бессемянные) и 13% ложноотрицательных результатов (бессемянные гибриды – как семенные); VMC6F11 – 6% и 11% соответственно. Из 46 семенных и бессемянных сортов маркер VMC7F2 ошибочно определил бессемянными только два семенных сорта (ложноположительный результат) с аллелем 198 п.н.: Мускат Александрийский и его потомок Донья Мария (Cabezas et al., 2006; Mejía et al., 2007).

В работе Karaagac с соавторами (2012) был протестирован молекулярно-генетический маркер VMC7F2 на различных популяциях скрещивания (семенной $\times$ бессемянный и семенной $\times$ семенной), состоящих из 1012 гибридов. В результате было выявлено: 4,4% ложно положительных результатов и 2,4% ложно отрицательных результатов (Karaagac et al., 2012).

Akkurt с соавт. (2013) провели тестирование связанных с бессемянностью молекулярных маркеров VMC7F2, SCC8 и SCF27 в потомстве, полученном от скрещивания Muscat of Hamburg (семенной) $\times$ Sultani (бессемянный), состоящем из 314 гибридов F1. В результате исследований молекулярные маркеры показали, что в данной популяции бессемянных сеянцев: при использовании SCC8 – 72 шт., SCF27 – 76 шт., VMC7F2 – 118 шт. Причем 190 гибридов имели аллель бессемянности по одному из трех маркеров, 49 гибридов – по двум маркерам и только 13 гибридов несли аллели бессемянности по всем трем маркерам. Результаты показали большое расхождение между маркерами в определении бессемянности. Согласно результатам исследования 75,8% гибридов F1 в потомстве семенной $\times$ бессемянный не показали амплификации с маркером SCF27.

Mejía с соавторами (2011г.) для селекционных целей на бессемянность были созданы три внутригенных маркера в регуляторной области гена-кандидата *VvAGL11*: p1_VvAGL11, p2_VvAGL11 и p3_VvAGL11, которые были разработаны на основе нескольких внутригенных полиморфизмов между семенными и бессемянными генотипами. Так же был разработан маркер e7_VvAGL11 для тестирования SNP, идентифицированный в экзоне 7. Наибольшую корреляцию с бессемянностью во всех трех сезонах исследований демонстрировали маркеры

VMC7F2 и p3_VvAGL11 (75,7%, 67,7%, 78,8% для VMC7F2; 73,3%, 69,8%, 78,3 для p3_VvAGL11). Наиболее надежным маркером для отбора в популяциях, полученных в результате скрещивания бессемянный х бессемянный, был определен маркер p3_VvAGL11. Подтверждено, что маркер SSR VMC7F2, уже описанный как ближайший к локусу SDI (Costantini et al., 2008; Cabezas et al., 2006; Mejia et al., 2007), один из лучших маркеров для скрининга семян.

Было проведено тестирование внутригенных маркеров на популяциях из 146 генотипов, полученных от скрещивания 10 бессемянных сортов. В этих исследованиях маркер p3_VvAGL11 определил наибольшую долю фенотипической изменчивости массы сырых семян по сравнению с другими маркерами. У маркера p3_VvAGL11 выявилось 6 различных аллелей (176, 188, 190, 192, 196 и 198 п.н.). Большинство генотипов, несущих один или два аллеля 198 п.н., имели бессемянный фенотип. Бессемянный аллель 198 п.н. имеет частичное доминирование над семенными аллелями 188 и 192 п.н.; однако подобный эффект не наблюдался к аллелю 176 п.н. (Mejia et al., 2011).

В популяции от скрещивания бессемянный х бессемянный использование маркера p3_VvAGL11 для отбора гомозиготных генотипов дало 0% ложно положительных результатов, тогда как VMC2F2 – 5% ложно положительных результатов. По результатам исследований Mejia с соавторами (2011г.) при тестировании внутригенных маркеров для использования их в селекции на бессемянность оказалось, что лучшими для этих целей являются маркеры, расположенные наиболее близко к месту старта транскрипции. В качестве наиболее оптимального маркера для селекционных программ на бессемянность выделен маркер p3_VvAGL11, который находится в регуляторной области гена *VvAGL11* (Mejia et al., 2011).

Тем не менее, для обеспечения успешности программ МАС на бессемянность, необходима была проверка полезности маркера p3_VvAGL11 путем тестирования его на обширном генетическом материале. С. Bergamini и соавт. (2013) провели проверку надежности маркера p3_VvAGL11 на 475 генотипах.

В потомстве F1 Italia × Big Perlon маркер p3_VvAGL11 продемонстрировал 100%-ю эффективность в отделении семенных от бессемянных гибридов. В отличие от результативности маркера p3_VvAGL11, для маркера VMC7F2 были обнаружены один ложноположительный и три ложноотрицательных случая. Во всех сегрегирующих популяциях с 373 гибридами F1, полученными от скрещивания сортов с различными генотипами, аллель 198 маркера p3_VvAGL11 был обнаружен у всех бессемянных гибридов (ложноотрицательный результат равен 0%), в то время как у всех семенных гибридов, кроме 3, не было аллеля 198 (ложноположительный результат равен 1,91%) (Bergamini et al., 2013)

Молекулярный анализ коллекции из 101 сорта винограда выявил восемь различных аллелей для маркера p3_VvAGL11 размером 176; 178; 184; 188; 190; 192; 196; 198 п.н., аллели 178 и 184 обнаружены впервые. Аллель 198 был обнаружен у всех проанализированных бессемянных сортов, однако было найдено пять ложноположительных образцов, несущих аллель 198, но фенотипически семенных.

Было установлено 8 ложноположительных результатов из 475 генотипов, что соответствует 1,68%, и, что наиболее важно, ложноотрицательных результатов обнаружено не было. Полученные результаты подтверждают тесную связь между бессемянностью и геном *VvAGL11* и четко демонстрируют высокую потенциальную эффективность маркера p3_VvAGL11 в селекционных программах.

Таким образом, в результате проведенных исследований были предложены для идентификации бессемянности несколько молекулярных маркеров, ассоциированных с признаком бессемянности: SCAR-маркер SCC8 – Lahogue с соавт. (1998); SCAR-маркер SCF27 – Mejia и Hinrichsen (2003); SSR-маркер VMC7F2 – Cabezas с соавт. (2006); внутригенный маркер p3_VvAGL11 – Mejia с соавт. (2011).

При их тестировании на различных генотипах маркеры на бессемянность показали различную полезность и эффективность. Лучшими из них являются: VMC7F2 – 4-5% ложноположительных результатов, 2-13% ложноотрицательных результатов (Cabezas et al., 2006; Costantini et al., 2008; Karaagac et al., 2012) и

p3_VvAGL11 – 0% ложноотрицательных результатов, 1,68% ложноположительных результатов (Mejia et al., 2011; Bergamini et al., 2013).

Первые работы по идентификации бессемянности с помощью маркеров на постсоветском пространстве были выполнены в ННЦ “ИВиВ им. В.Е. Таирова” (Одесса) Карастан О.М. с соавторами. В работе 2014 г. было проведено генотипирование и исследованы родительские сорта и гибриды от их скрещивания с использованием маркера p3_VvAGL11 (Карастан с соавт., 2014). В работе 2015 г. проанализирован аллельный состав маркера p3_VvAGL11 у 15 бессемянных и 30 семенных сортов винограда. Выявлено 10 аллелей маркера, из них, как указано в работе, 2 аллеля ранее не опубликованные: 164 и 186 п.н., возможно, из-за включения в исследования потомков *V. amurensis* Ruprech. У нескольких сортов выявлен аллель 198 п.н., не связанный с признаком бессемянности, который дает ложноположительный результат (Карастан с соавт., 2015).

Начиная с 2018 г. и по настоящее время в ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия» (г. Краснодар) под руководством Ильницкой Е.Т. ведется планомерная работа по генотипическому и фенотипическому изучению бессемянности в большой группе сортов различного происхождения из Анапской ампелографической коллекции винограда. Для всестороннего изучения генотипов бессемянных сортов используется маркер по бессемянности p3_VvAGL11, а также проводится их генотипирование и паспортизация с помощью SSR-маркеров с определением родительских форм, устанавливается наличие локусов резистентности к основным фитопатогенам винограда и ведутся другие исследования (Ильницкая с соавт., 2018a; Ильницкая с соавт., 2018b; Ильницкая с соавт., 2020a; Ильницкая с соавт., 2020b; Ильницкая с соавт., 2022a; Ильницкая с соавт., 2022b; Ilnitskaya et al., 2023).

С 2020 г. в ВНИИВиВ «Магarach» инструментарий получения новых сортов винограда кроме сочетания методов генеративной гибридизации, индуцированного мутагенеза, полиплоидии, биотехнологии и соматического эмбриогенеза дополнился методом Маркер ассоциированной селекции (Лиховской с соавт., 2024 а). В селекционную программу получения бессемянных сортов была внедрена

ранняя диагностика стenosпермокарпической бессемянности ВНИИВиВ «Магараç» на основе молекулярно-генетических маркеров.

Следует отметить, что в масштабных исследованиях с применением маркеров на бессемянность, были включены бессемянные сорта в основном западноевропейского и американского происхождения, а также потомки сорта Султанина, тогда как большая группа азиатских и восточноевропейских сортов, в т.ч. селекции института «Магараç», в большинстве своем не исследовались, возможно из-за их отсутствия в региональных коллекциях.

Вывод: таким образом, виноград является одной из пяти наиболее потребляемых и продовольственно важных фруктовых культур в мире. Бессемянные сорта винограда пользуются коммерческим интересом у потребителя и имеют возрастающий экономический спрос. Центром происхождения и распространения по всему миру фенотипа стenosпермокарпической бессемянности винограда считаются Средняя Азия и Ближний восток. Среди древних восточных сортов выделяют сорт Кишмиш белый овальный (Томпсон сидлис) как предполагаемый источник происхождения всех бессемянных сортов. В настоящее время молекулярные SSR-маркеры являются эффективным инструментом для точного установления сортового соответствия, определения происхождения сортов и анализа их родословных. Для эффективного их использования была разработана и стандартизирована система генотипирования винограда на основе SSR-маркеров. Однако исследованиям по происхождению бессемянности винограда уделялось недостаточно внимания: не генотипированы и не исследовано происхождение многих бессемянных среднеазиатских и восточноевропейских сортов, включая сорта селекции «Магараç».

Несмотря на существующий потребительский спрос, доля бессемянных сортов в производстве столового винограда в РФ крайне незначительна. Промышленное использование известных среднеазиатских сортов невозможно в виноградарских районах РФ, а сортимент пригодных к использованию выведенных качественных сортов ограничен. Получение новых бессемянных

сортов винограда традиционными методами гибридизации является дорогостоящим, трудозатратным, а также требует значительных земельных ресурсов, что обусловлено задержкой в отборе бессемянных гибридных форм до вступления их в плодоношение от 3-7 лет и более.

Для повышения эффективности селекционного отбора научные исследования были направлены на выяснение генетических причин стеноспермокарпической бессемянности и поиск маркеров для ее идентификации. Был определен основной локус количественных признаков на Chr 18, который соответствовал предложенному ранее локусу ингибитора развития семян (SDI). В дальнейшем в локусе SDI был выделен ген фактора транскрипции *VvAGL11*, отвечающий за морфогенез семяпочки и семенной кожуры. На основании научных исследований было сделано утверждение, что полиморфизм в нуклеотидной последовательности в регуляторной области гена приводит к возникновению стеноспермокарпической бессемянности. В дальнейших исследованиях было обосновано, что однонуклеотидная миссенс-мутация SNP 26,889,437 (A/C) в экзоне 7 гена *VvAGL11* является причиной бессемянности.

Для раннего отбора бессемянных гибридов был предложен ряд маркеров, на современном этапе лучшими из которых являются p3_VvAGL11 и VMC7F2. Однако данные маркеры допускают ложные результаты и эффективность их недостаточно изучена на сортах отечественного, среднеазиатского и восточноевропейского генофонда, как и полиморфизм последовательности этих сортов, приводящий к стеноспермокарпической бессемянности. Для интенсификации селекционного процесса и получения качественных бессемянных сортов винограда с целью обеспечения продовольственной безопасности РФ и импортозамещения необходимо определение эффективности предложенных молекулярно-генетических маркеров на широком спектре ранее не исследованных сортов, включая отечественные, и выбор либо создание молекулярно-генетического маркера требуемой эффективности.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Материал исследований

Материалом для исследований послужили сорта винограда Ампелографической коллекции «Магарач» (пос. Вилино) и опытных участков ЮБК (пгт. Отрадное, пгт. Партенит), характеристики которых представлены в приложении Ж. А также гибридные формы 4-х популяций на опытном участке пгт. Партенит, Южный берег Крыма.

Фенотипические исследования характеристик бессемянности проводились на бессемянных сортах АК «Магарач» и селекционных популяциях гибридов опытного участка пгт. Партенит, полученных по схеме скрещивания «семенной х бессемянный».

Ампелографическая коллекция «Магарач» расположена в Западном предгорно-приморском природном регионе Крыма (пос. Вилино, Бахчисарайский район, Республика Крым). Климат района умеренно теплый. Лето жаркое (средняя многолетняя температура июля $+24^{\circ}\text{C}$), зима сравнительно мягкая (средняя температура января около $+10^{\circ}\text{C}$), но в некоторые годы морозы достигают -30°C . Средний из абсолютных минимумов температуры воздуха $-15,5^{\circ}\text{C}$. Среднегодовое количество осадков составляет 346 мм. Средняя многолетняя сумма активных температур (САТ) – 3487°C . Почвы представлены высококарбонатным черноземом на щебнисто-галечниковых отложениях. Содержание гумуса – до 3,5%. Имеют тяжелосуглинистый механический состав и мощный гумусовый горизонт, 50–70 см. Сорта коллекции привиты на филлоксероустойчивом подвое Берландиери х Рипариа Кобер 5Б. Схема посадки 3,0 х 1,5 м. Кусты сформированы на одноплоскостной шпалере с высотой штамба 70–75 см веерным способом. Участок неорошаемый.

Опытный участок расположен в пгт. Партенит, Южный берег Крыма (ЮБК). От холодных северных ветров участок защищен Главной грядой Крымских гор, климат сухой субтропический: зима дождливая и теплая, весна затяжная, часто ранняя, осень сухая, лето жаркое. В условиях ЮБК средняя многолетняя

среднегодовая температура воздуха составляет 13,5 °С (метеостанция пгт. Никита). САТ достигает 3751 °С. Количество осадков составляет 619,6 мм. (Урденко с соавт., 2020). Схема посадки кустов винограда – 3×1,5 м, форма куста – одноплечий Гюйо, участок неорошаемый.

Молекулярно-генетические исследования (выделение ДНК, ПЦР, ПЦР в реальном времени, генотипирование с помощью капиллярного электрофореза, секвенирование по Сэнгеру, биоинформатическая обработка NGS) проводились на базе лаборатории молекулярно-генетических исследований ВНИИВиВ «Магарач» в 2019 - 2024 гг.

2.2. Фенотипические исследования характеристик бессемянности

Для каждого бессемянного сорта винограда брали на исследование 2 - 3 грозди при полной их зрелости, для гибридных форм брали 1 - 2 грозди в зависимости от урожайности молодых растений. Рудименты семян (семена) были извлечены из 30 случайным образом отобранных ягод разной величины. Рудименты семян (семена) полностью освобождались от мякоти и сосудистого пучка, учитывались рудименты длиной от 0,5 мм и более, подсчитывалось их количество. Взвешивание рудиментов (семян) выполнялось с точностью до 1 мг. Также измерялись ширина (мм), длина (мм) и вес (г) ягоды (Cabezas et al., 2006).

При фенотипическом исследовании гибридных форм селекционных популяций грозди с горошением ягод исключались из исследования, также отмечалось наличие лигнификации как дополнительного признака полноценного семени.

Категория стеноспермокарпической бессемянности определялась по классификации проф. К.В. Смирнова, оценивающей массу рудиментов семян в ягоде: I категория – масса рудиментов семян составляет от 0 до 6 мг; II категория – от 6,1 до 10 мг; III – 10,1–14 мг; IV – 14,1 мг и более (Смирнов, 1987).

2.3 Выделение и контроль качества ДНК

Для выделения ДНК использовали 120-200 мг ткани молодых листьев побегов или камбий черенков винограда с 3-4 типичных кустов известного сорта винограда АК «Магараж» или гибридов популяций опытного участка пгт. Партенит. Выделение ДНК из растительных образцов проводили модифицированным методом выделения нуклеиновых кислот на основе ЦТАБ (2 % cetyltrimethylammonium bromide) (Rogers, 1985). Количество и чистоту выделенной ДНК определяли на спектрофотометре BioPhotometer plus (Eppendorf, США). Значения коэффициентов, характеризующих чистоту ДНК, $A_{260}/A_{280} > 1,6$; $A_{260}/A_{230} > 1,4$ были достаточными для продолжения работы по генотипированию образцов. ДНК разбавляли до конечной концентрации 20 нг/мкл.

2.4. Постановка мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения сортовой принадлежности и происхождения

Для генотипирования использован принятый стандартный набор из 9 ядерных SSR-маркеров (nSSR): VVS2 (Thomas and Scott, 1993), VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32 (Bowers et al., 1996, 1999b), VrZAG62, VrZAG79 (таблица 1) (Sefc et al., 1999; This P. et al., 2004). Данный набор из 9-ти SSR-маркеров в рамках европейского проекта «GrapeGen06» был стандартизирован для международной системы идентификации сортов винограда и включен в качестве дескрипторов в «OIV Descriptor list of grape vine varieties and Vitis species» (3rd edition) (<https://www.oiv.int/node/3028>; This P. et al., 2004).

Для определения хлоротипа были использованы 3 хлоропластных SSR-маркера (cpSSR): ccmp3, ccmp5, ccmp10 (таблица 2) (Weising et al., 1999; Arroyo García et al., 2006). Каждый прямой праймер SSR-маркеров был помечен на 5'-конце флуорохромными метками (6-FAM, 6-TAMRA или 5-R6G). Праймеры синтезированы в ООО «Синтол» (г. Москва). Каждая мультиплексная ПЦР включала 3-4 пары праймеров с внесением в реакционный объем от 1 до 10 пкмоль каждого праймера (в зависимости от интенсивности сигнала).

Таблица 1 – Последовательность праймеров для генотипирования по 9 ядерным SSR-маркерам

Наименование праймера	Хромо-сома, где расположен маркер	Последовательность праймеров (5'-3')	Научный источник
VVMD5 (прямой)	16	CTAGAGCTACGCCAATCCAA	Bowers et al., 1996
VVMD5 (обратный)		TATACCAAAAATCATATTCCTAAA	
VVMD7 (прямой)	7	AGAGTTGCGGAGAACAGGAT	Bowers et al., 1996
VVMD7 (обратный)		CGAACCTTCACACGCTTGAT	
VVMD25 (прямой)	11	TTCCGTAAAGCAAAAGAAAAAGG	Bowers et al. 1999
VVMD25 (обратный)		TTGGATTTGAAATTTATTGAGGGG	
VVMD27 (прямой)	5	GTACCAGATCTGAATACATCCGTAAGT	Bowers et al., 1999
VVMD27 (обратный)		ACGGGTATAGAGCAAACGGTGT	
VVMD28 (прямой)	3	AACAATTCAATGAAAAGAGAGAGAGAGA	Bowers et al. 1999
VVMD28 (обратный)		TCATCAATTTCTGATCTCTATTTGCTG	
VVMD32 (прямой)	4	TATGATTTTTTAGGGGGGTGAGG	Bowers et al., 1996
VVMD32 (обратный)		GGAAAGATGGGATGACTCGC	
VVS2 (прямой)	11	CAGCCCGTAAATGTATCCATC	Thomas and Scott 1993
VVS2 (обратный)		AAATTCAAAATTCTAATTCAACTGG	
VrZAG62 (прямой)	7	GGTGAAATGGGCACCGAACACACGC	Sefc et al. 1999
VrZAG62 (обратный)		CCATGTCTCTCCTCAGCTTCTCAGC	
VrZAG79 (прямой)	5	AGATTGTGGAGGAGGGAACAAACCG	Sefc et al. 2000
VrZAG79 (обратный)		TGCCCCCATTTTCAAACCTCCCTTCC	

Мультиплексную ПЦР проводили на амплификаторе T100 (BIO-RAD, США) при следующих условиях: 1) 95 °C – 5 мин. (денатурация); 2) 35 циклов: 95 °C – 30 с (денатурация); 58 °C – 30 с (отжиг); 72 °C – 45 с (элонгация) 3) 72 °C – 15 мин. (окончательная элонгация). Амплификация проведена в общем реакционном объеме 15 мкл, с использованием 2,5-кратной реакционной смеси (ООО «Синтол»), в реакцию брали 20 нг ДНК.

Таблица 2 – Последовательность праймеров для генотипирования по хлоропластным SSR-маркерам

Наименование праймера	Последовательность праймеров (5' - 3')	Диапазон размеров аллелей
ссmp3 (прямой)	CAGACCAAAAGCTGACATAG	89-119
ссmp3 (обратный)	GTT-TCA-TTC-GGC-TCC-TTT-AT	
ссmp5 (прямой)	TGTTCCAATATCTTCTTGTCATTT	77-145
ссmp5 (обратный)	AGG-TTC-CAT-CGG-AAC-AAT-TAT	
ссmp10 (прямой)	TTTTTTTTTAGTGAACGTGTCA	91-300
ссmp10 (обратный)	TTC-GTC-GDC-GTA-GTA-AAT-AG	

2.5. Постановка мультиплексной ПЦР по определению бессемянности

Для выявления генотипа бессемянности – локуса Seed Development Inhibitor (SDI) были использованы молекулярно-генетические маркеры p3_vVAGL11 и VMC7F2 (таблица 3). Прямой праймер маркеров был помечен на 5'-конце флуорохромными метками 6-FAM и 5-R6G соответственно. Праймеры синтезированы в ООО «Синтол», г. Москва (Merdinoglu et al., 2005; Cabezas et al., 2006; Mejía et al., 2011).

Таблица 3 – Последовательность праймеров для генотипирования с использованием маркеров по определению бессемянности

Наименование праймера	Хромо-сома, где расположен маркер	Последовательность праймеров (5' - 3')	Научный источник
p3_VvAGL11 (прямой)	18	CTCCCTTTCCCTCTCCCTCT	Mejía et al., 2011
p3_VvAGL11 (обратный)		AAACGCGTATCCCAATGAAG	
VMC7F2 (прямой)	18	AAGAAAGTTTGCAGTTTATGGTG	Merdinoglu et al., 2005
VMC7F2 (обратный)		AAGATGACAATAGCGAGAGAGAA	

Мультиплексную ПЦР проводили на амплификаторе T100 (BIO-RAD, США) при следующих условиях: 1) 95 °C – 5 мин. (денатурация); 2) 35 циклов: 95 °C – 30 с. (денатурация); 58,5 °C - 64,0 °C – 30 с. (отжиг); 72 °C – 45 с. (элонгация) 3) 72 °C – 15 мин. (окончательная элонгация). Амплификация проведена в общем реакционном объеме 15 мкл, с использованием 2,5-кратной реакционной смеси (ООО «Синтол»), в реакции вносили 20 нг ДНК.

2.6 Фрагментный анализ

Разделение продуктов амплификации было выполнено методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems, США) в полимере ПДМА-6 (ООО «Синтол», РФ). Определение длин аллелей было проведено в программном приложении GeneMapper (Version 4.0), относительно размерных стандартов (маркеров молекулярного веса): GS400HD Rox (Applied Biosystems, США) и СД-450 канал LIZ (ООО «Синтол», РФ).

Стандартизация размеров аллелей была выполнена с использованием распространенных референсных сортов: Каберне Совиньон, Пино чёрный, Кишмиш белый круглый и др. сортов согласно рекомендациям VIVC (VIVC; Maul, Töpfer, 2015).

Идентификация сортовой принадлежности образцов была выполнена с помощью сравнительного анализа полученного генотипа с базой генетических профилей сортов международного каталога сортов VIVC и имеющимися результатами генотипирования сортов АК «Магарач».

Для стандартизации размеров аллелей маркеров по определению бессемянности использовался сорт Кишмиш белый круглый (Султанина) либо др. точно установленный бессемянный сорт с приведением размера аллеля, сцепленного с признаком бессемянности, маркеров p3_VvAGL11 и VMC7F2 к принятому размеру 198 п.н (Cabezas at al., 2006; Mejía at al., 2011).

2.7. Постановка ПЦР в реальном времени (RealTime)

При создании тест-системы для метода ПЦР в реальном времени были разработаны 2 зонда (таблица 4): I зонд предназначен для детекции аллеля семенных сортов (цитозин) с флуоресцентной меткой FAM на 5'-конце и гасителем флуоресценции RTQ1 на 3'-конце; II зонд – для детекции аллеля бессемянных сортов (аденин) с флуоресцентной меткой R6G и гасителем флуоресценции BHQ2 соответственно.

ПЦР в реальном времени была проведена на анализаторе нуклеиновых кислот АНК-32 («ИАП РАН», Россия) при следующих условиях: 1) 5 мин. при 95 °С (денатурация); 2) 45 циклов: 15 с. при 95 °С (денатурация), 40 с. при 58-63 °С (отжиг). Амплификация была выполнена в общем реакционном объеме 25 мкл с использованием 2,5х реакционной смеси для проведения ПЦР-РВ (ООО «Синтол») с добавлением зондов по 5 пкмоль, праймеров по 5 пкмоль, Taq ДНК-полимеразы 2,5 ед., MgCl₂ 50 нмоль. На реакцию брали 100 нг ДНК (5 мкл по 20нг/мкл). Для подбора оптимальных параметров работы созданной тест-системы были проведены испытания в температурном диапазоне отжига 58-63 °С с шагом в 1 °С и разной концентрацией компонентов реакционной смеси: Taq ДНК-полимеразы и MgCl₂.

Таблица 4 – Последовательность зондов и праймеров тест-системы на стеноспермокарпическую бессемянность

Наименование праймера	Мишень	Последовательность праймеров (5'- 3')
Зонд Pb (бессемянный А):	Chr 18, <i>VvAGL11</i> , SNP 26,889,437	(R6G)-AGGCATTAGTTTCTCTCAATTTCTT-(BHQ2)
Зонд Pb (семенной С):		(FAM)-CATTAGTTTCTCGCAATTTCTTTC-(RTQ1)
Праймер Pr(F):		CAGGAAGTGGGTAGCCTGTG
Праймер Pr(R):		GAAGTGGAGAGGCTTCAGCA

2.8. Секвенирование последовательности по Сэнгеру

Для выявления полиморфизмов последовательности гена *VvAGL11* с использованием метода секвенирования по Сэнгеру была разработана пара праймеров, фланкирующая последовательность длиной 709 п.н. (таблица 5).

Таблица 5 – Последовательность праймеров для секвенирования последовательности гена *VvAGL11*

Наименование праймера	Локализация	Последовательность праймеров (5'-3')
VvAGL11-for	Chr 18, <i>VvAGL11</i> ,	AGCAGACCTAAGGCTACTTGG
VvAGL11-rev	Экзоны 5, 6, 7	TGATCACTAGATCAGCAAAGCCT

Постановка ПЦР была проведена на амплификаторе T100 (BIO-RAD, США) в общем реакционном объеме 25 мкл при следующих условиях: 1) 95 °C – 5 мин.; 2) 35 циклов: 95 °C – 25 с.; 59,5°C – 40 с.; 72 °C – 50 с.; 3) 72 °C – 15 мин. Оценка продуктов амплификации на целевой размер и наличия побочных продуктов была проведена в 1,4% агарозном геле.

Очистка продуктов амплификации была проведена на колонках набора реагентов «ColGen» (ООО «Синтол», РФ), согласно инструкции по применению. Для постановки сиквенсовой (терминирующей) реакции был использован набор BrilliantDye V. 3.1 Cycle Sequencing Kit (NimaGen, Голландия), согласно протоколу производителя. Сиквенсовую реакцию осуществляли на амплификаторе T100 (BIO-RAD, США).

Очистка продуктов сиквенсовой реакции была выполнена методом этанол/ацетат Na-преципитации, согласно протоколу. После чего высушенную пробу растворяли в 10 мкл формамида и денатурировали 5 мин. при +94 °C. Секвенирование было проведено на 4-капиллярном генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems, США) в полимере ПДМА-6 (ООО «Синтол», РФ).

Результаты секвенирования были обработаны в программном приложении Sequencing Analysis Software V. 5.3.1. Выравнивание прочтений на референсный геном PN40024 12X (GCF_000003745.3) из базы данных NCBI и анализ SNP были выполнены в программе Unipro UGENE V. 34.

2.9. Биоинформатический анализ результатов полногеномного секвенирования NGS

Полногеномное секвенирование нового поколения (NGS) образцов винограда проведено в Юньнаньском сельскохозяйственном университете (Yunnan Agricultural University), Юньнань, Китай. Геномные библиотеки подготовлены с использованием набора Novogene NGS DNA Library Prep Kit согласно протоколу. Секвенирование было проведено на платформе Illumina Novaseq 6000, размер вставки составлял около 350 п.н. Исходные файлы с парными прочтениями содержали каждый более 60 млн. прочтений по 150 п.н.

Биоинформационная обработка была выполнена на сервере ВНИИВиВ «Магарах» с помощью консольных программ: контроль качества, тримминг, выравнивание, поиск вариаций, визуализация. Проверка качества парных прочтений была проведена в программе FastQC. Использовалась база данных NCBI для получения референсного генома и аннотаций: *Vitis vinifera* cultivar Pinot Noir PN40024 chromosome 18, 12X, whole genome shotgun sequence (29 360 087 п.н.); KM401848.1 (*Vitis vinifera* cultivar Sultanina agamous like-protein 11 (*AGL11*) gene, *AGL11*-mutant allele (8 646 п.н.) (NCBI). Выравнивание было выполнено на последовательность PN40024 Chr 18 и KM401848.1 ген *VvAGL11* с помощью программного пакета BWA с использованием алгоритма BWA-MEM (maximal exact matches). Для обработки был применен набор утилит программного пакета SAMtools. На этапе поиска вариаций применялась программа VarScan. Для визуализации данных был использован геномный браузер IGV (Integrative Genomics Viewer).

2.10. Статистический анализ результатов по оценке генетического расстояния и структуры выборки

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения DarWin 6.0.21.

Для определения генетической структуры изученной выборки сортов и форм винограда и оценки генетических расстояний между образцами в программе

DARwin 6.0.21 выполнен кластерный анализ родства с построением дендрограммы методом Neighbor Joining (NJ) (метод присоединения соседей).

Установление происхождения сортов и форм было выполнено на основе кодоминантного типа наследования аллелей ядерных SSR-маркеров, когда один из двух аллелей каждого анализируемого микросателлитного маркера родителя наследуется потомком. Гаплотипы, определенные по хлоропластным маркерам, были использованы для определения направления скрещиваний и выявления материнской формы.

2.11. Общая схема исследований

Общая схема исследований с указанием основных результатов представлена на рисунке 1. Схема исследований имеет последовательную структуру реализации из 5 этапов с двумя параллельными потоками по исследованию сортов и гибридов.

На первом этапе исследований изучаются фенотипические характеристики бессемянности по наблюдениям за 3 года у бессемянных сортов для выявления их категории бессемянности и для дальнейшего сопоставления с генетическими характеристиками, а также у гибридов, вступивших в плодоношение, для их дифференциации на бессемянные и семенные формы.

На втором этапе проводится генотипирование бессемянных сортов для идентификации их сортовой принадлежности и исключения не подтвердившихся форм. На основе полученных генетических профилей проводится анализ происхождения сортов. Также проводится генотипирование гибридов для подтверждения их родительских форм и исключения из дальнейших исследований форм с неустановленным происхождением.

На третьем этапе на бессемянных и семенных сортах с подтвердившимся сортовым соответствием и гибридах с установленным происхождением проводится определение эффективности 2-х выделенных молекулярно-генетических маркеров по идентификации бессемянности.

На четвертом этапе анализируется полиморфизм нуклеотидной последовательности экзона 7 гена *VvAGL11* бессемянных и семенных сортов, с

подтвержденным сортовым соответствием, на наличие SNP, определяющего стеноспермокарпическую бессемянность.

На пятом этапе на основании подтвержденной роли характерного SNP разрабатывается тест-система на основе аллель-специфичных зондов для его детекции, проводится подбор оптимальных параметров ее работы и определение эффективности на бессемянных и семенных сортах и гибридах.



Рисунок 1 – Общая схема исследовательской работы с указанием этапов и основных результатов

ГЛАВА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК БЕССЕМЯННОСТИ ВИНОГРАДА

3.1. Определение фенотипических характеристик бессемянности у сортов винограда

В 2019-2021 гг. проведено исследование фенотипических характеристик бессемянности у 31 бессемянного сорта: 30 сортов из АК «Магарач» пос. Вилино и 1 сорт селекционного участка №5 пгт. Отрадное ЮБК (сорт Южнобережный). В числе исследованных сортов – 7 селекции института «Магарач»: Советский бессемянный, Магарач 520, Красень, Сверххранний бессемянный, Южнобережный, Кишмиш Магарача, Бессемянный Магарача (Спотарь, Гориславец, 2020).

Проведен сравнительный анализ проявления характеристик бессемянности по основным товарным качествам у большой группы сортов винограда различного происхождения в одинаковых агроклиматических условиях произрастания для дальнейшего сопоставления полученных фенотипических показателей бессемянности с генетическим полиморфизмом генотипов сортов.

В исследование включены 4 формы из самых крупноягодных сортов бессемянного винограда, полученные внутри вида *V. vinifera* L.: Бессемянный гибрид V-6, Кишмиш молдавский, Кишмиш лучистый, Бессемянный Мельника. А также включены 5 сортов межвидового происхождения: Ромулус, Красень и Южнобережный были получены с использованием гибридов дикорастущих североамериканских видов; Кишмиш уникальный и Коринка русская – с использованием азиатского вида *V. amurensis* Rupr. Также среди изученных сортов большую группу (8 сортов) составляли стародавние сорта (кишмиши) с локализацией происхождения в странах Средней Азии и Ближнего Востока.

Результаты исследований по фенотипическим характеристикам бессемянных селекционных сортов (размеры и масса ягоды) представлены в таблице 6. Результаты по характеристикам проявления бессемянности исследованных сортов (количество и масса рудиментов, соответствующая категория бессемянности) представлены в таблице 7.

Таблица 6 – Фенотипические характеристики бессемянных селекционных сортов коллекции ВНИИВиВ «Магараç»

№ п/п	Наименование сорта	Размер ягоды, мм								Масса ягоды, г			
		длина	ширина	длина	ширина	длина	ширина	длина	ширина	2019г.	2020г.	2021г.	среднее значе- ние
		2019г.		2020г.		2021г.		среднее значение					
К	Султанина (24-81)*	-	-	-	-	14,49	13,26	-	-	-	-	1,41	-
1	Рушаки (7-91)	14,96	14,34	13,81	12,24	13,49	14,03	14,09	13,54	1,58	0,94	1,46	1,33
2	Кишмиш желтый (24-74)	13,09	14,31	10,17	11,38	10,49	11,20	11,25	12,30	1,15	0,77	0,76	0,89
3	Кишмиш уникальный (27-44)	10,61	10,71	9,90	9,85	9,15	9,00	9,89	9,85	0,76	0,60	0,41	0,59
4	Кишмиш черный (7-86)	16,68	14,93	17,00	15,2	17,31	15,47	17,00	15,20	1,97	2,14	2,30	2,14
5	Коринка русская (24-26)	10,25	10,47	10,12	10,43	9,55	9,67	9,97	10,19	0,61	0,74	1,75	1,03
6	Ромулус (24-96)	11,53	11,87	13,46	13,55	12,12	11,9	12,37	12,44	0,95	1,34	0,93	1,07
7	Кишмиш белый круглый (7-87)	13,99	13,72	13,14	13,72	12,29	13,71	13,14	13,72	1,53	1,42	1,30	1,42
8	Султанина кипрская (24-92)	14,99	14,93	15,25	14,82	15,50	14,70	15,25	14,82	1,76	1,76	1,75	1,76
9	Розовый бисер (24-97)	12,19	12,47	12,61	12,9	10,71	10,88	11,84	12,08	1,11	1,15	0,75	1,00
10	Мечта (24-27)	16,10	12,38	15,57	12,51	15,87	13,28	15,84	12,72	1,30	1,41	1,54	1,42
11	Советский бессемянный (5-85)	13,84	11,56	14,01	11,83	15,49	13,31	14,45	12,23	1,01	1,20	1,49	1,23
12	Кишмиш люнда (24-79)	15,72	15,65	15,56	16,42	15,39	17,18	15,56	16,42	2,27	2,44	2,61	2,44
13	Кишмиш оврут тагапский (7-99)	16,10	14,90	12,84	11,29	12,91	12,91	13,95	13,03	1,90	0,96	1,18	1,35
14	Перлетт (2-124)	14,46	14,95	12,66	12,24	15,67	15,51	14,26	14,23	1,94	1,25	2,01	1,73
15	Магараç 520 (5-86)	16,07	14,82	15,18	12,09	17,21	15,71	16,15	14,21	1,92	1,00	2,20	1,71
16	Сюрприз (2-117)	13,68	13,11	14,07	11,78	14,23	13,42	13,99	12,77	1,34	0,90	1,35	1,20
17	Красень (28-127)	12,69	12,26	12,2	11,04	10,43	10,83	11,77	11,38	1,10	0,91	0,71	0,91
18	Кишмиш мускатный (24-80)	16,38	15,35	14,81	14,47	13,23	13,58	14,81	14,47	2,05	1,73	1,40	1,73
19	Сверхранний бессемянный (5-87)	14,30	13,23	9,90	9,69	12,35	12,21	12,18	11,71	1,29	0,53	0,93	0,92
20	Кишмиш ВИРа (7-98)	14,29	13,99	14,85	13,61	12,21	11,69	13,78	13,10	1,51	1,50	0,93	1,31
21	Кара кишмиш оврут (24-90)	15,53	14,77	12,96	12,28	14,63	14,53	14,37	13,86	1,92	1,11	1,74	1,59
22	Кишмиш молдавский (3-34)	18,06	17,01	17,04	15,42	16,85	16,31	17,32	16,25	3,00	2,30	2,56	2,62
23	Бессемянный гибрид V-6 (3-44)	18,58	16,44	17,08	14,98	17,13	15,01	17,60	15,48	2,77	1,21	2,12	2,03
24	Сирануш (14-96)	14,75	14,55	14,24	14,38	13,72	14,20	14,24	14,38	1,73	1,64	1,54	1,64
25	Кишмиш ваткана (7-96)	15,00	14,93	13,87	13,35	14,25	14,64	14,37	14,31	1,79	1,40	1,69	1,63

Окончание таблицы 6

№ п/п	Наименование сорта	Размер ягоды, мм								Масса ягоды, г			
		длина	ширина	длина	ширина	длина	ширина	длина	ширина	2019г.	2020г.	2021г.	среднее значе- ние
		2019г.		2020г.		2021г.		среднее значение					
26	Южнобережный (ЮБК уч.5)**	16,94	14,93	16,18	14,24	17,70	15,62	16,94	14,93	2,08	1,79	2,37	2,08
27	Кишмиш Магарача (1-118)	15,33	13,71	19,60	16,62	16,20	15,39	17,04	15,24	1,93	3,03	2,01	2,32
28	Бессемянный Магарача (1-119)	15,48	13,49	16,56	13,14	15,72	13,15	15,92	13,26	1,51	1,67	1,57	1,58
29	Кишмиш узунбашлы (7-94)	15,12	14,95	14,90	14,67	15,35	15,23	15,12	14,95	1,90	1,86	2,05	1,94
30	Кишмиш лучистый (24-77)	20,84	16,16	21,72	16,28	17,51	15,31	20,02	15,92	3,00	3,04	2,18	2,74
31	Бессемянный Мельника (4-119)	18,79	17,29	17,17	15,29	16,13	15,70	17,36	16,09	3,00	2,17	2,13	2,43
-	Наименьшая существенная разница	0,847	0,621	0,987	0,698	0,910	0,737	0,856	0,622	0,230	0,236	0,215	0,203

* Характеристики сорта Султанина (Кишмиш белый круглый) приведены в качестве контрольных для сравнения, по результатам исследований в 2021г., как самого распространённого и востребованного бессемянного сорта.

** Образцы плодов сорта Южнобережный взяты с участка №5 ЮБК, где он высажен; все остальные образцы плодов взяты от сортов, произрастающих компактно на АК пос. Вилино в одинаковых агроклиматических условиях (в скобках указан адрес).

Таблица 7 – Фенотипические характеристики бессемянности селекционных сортов коллекции ВНИИВиВ «Магараç»

№ п/п	Наименование сорта	Количество рудиментов, шт.				Масса рудиментов, мг				Категория бессе- мянности	Отношение массы рудиментов к массе ягоды, мг/г
		2019г.	2020г.	2021г.	среднее значение	2019г.	2020г.	2021г.	среднее значение		
К	Султанина (24-81)	-	-	1,93	-	-	-	2,08	-	I	1,48
1	Рушаки (7-91)	3,40	2,00	1,87	2,42	2,41	3,90	1,53	2,61	I	1,97
2	Кишмиш желтый (24-74)	2,07	2,87	4,13	3,02	2,60	3,36	2,83	2,93	I	3,28
3	Кишмиш уникальный (27-44)	2,95	2,70	2,33	2,66	4,59	7,31	3,80	5,23	I	8,87
4	Кишмиш черный (7-86)	2,45	2,36	2,27	2,36	8,29	5,65	3,00	5,65	I	2,64
5	Коринка русская (24-26)	3,50	2,80	3,27	3,19	7,89	4,38	4,85	5,71	I	5,52
6	Ромулус (24-96)	2,74	1,94	3,33	2,67	7,44	6,53	7,33	7,10	II	6,61
7	Кишмиш белый круглый (7-87)	3,57	3,40	3,89	3,62	9,73	7,58	5,43	7,58	II	5,36
8	Султанина кипрская (24-92)	3,72	3,36	3,00	3,36	13,94	10,01	6,08	10,01	II	5,70
9	Розовый бисер (24-97)	3,40	3,13	3,73	3,42	10,69	14,48	6,47	10,55	III	10,51
10	Мечта (24-27)	3,13	3,33	3,67	3,38	7,53	10,13	14,00	10,55	III	7,45
11	Советский бессемянный (5-85)	2,93	2,43	2,80	2,72	8,36	13,86	10,58	10,93	III	8,86
12	Кишмиш люнда (24-79)	3,65	3,26	2,87	3,26	15,50	12,12	8,73	12,12	III	4,97
13	Кишмиш оврут тагапский (7-99)	2,16	2,25	2,53	2,31	21,63	11,81	10,16	14,53	IV	10,79
14	Перлетт (2-124)	3,50	1,75	2,80	2,68	22,08	18,67	9,29	16,68	IV	9,62
15	Магараç 520 (5-86)	3,00	1,85	2,80	2,55	22,51	17,10	14,01	17,87	IV	10,47
16	Сюрприз (2-117)	2,43	2,70	2,87	2,67	21,10	12,35	23,19	18,88	IV	15,78
17	Красень (28-127)	3,90	3,37	3,50	3,59	18,01	19,50	21,73	19,75	IV	21,78
18	Кишмиш мускатный (24-80)	1,75	1,74	1,75	1,75	30,32	20,10	9,88	20,10	IV	11,65
19	Сверхранний бессемянный (5-87)	3,05	2,95	2,60	2,87	21,05	28,11	12,80	20,65	IV	22,53
20	Кишмиш ВИРа (7-98)	3,50	2,80	3,67	3,32	25,51	23,21	20,41	23,04	IV	17,55
21	Кара кишмиш оврут (24-90)	3,13	2,13	2,80	2,69	27,49	14,82	29,04	23,78	IV	14,96
22	Кишмиш Молдавский (3-34)	4,30	3,37	3,67	3,78	23,08	25,01	23,49	23,86	IV	9,11
23	Бессемянный гибрид V-6 (3-44)	3,50	3,05	3,07	3,21	34,70	24,09	29,40	29,40	IV	14,46
24	Сирануш (14-96)	3,00	2,87	2,73	2,87	35,48	33,86	32,23	33,86	IV	20,71
25	Кишмиш ваткана (7-96)	3,07	3,15	3,33	3,18	34,23	31,27	39,60	35,03	IV	21,54

Окончание таблицы 7

№ п/п	Наименование сорта	Количество рудиментов, шт.				Масса рудиментов, мг				Категория бессе- мянности	Отношение массы рудиментов к массе ягоды, мг/г
		2019г.	2020г.	2021г.	среднее значение	2019г.	2020г.	2021г.	среднее значение		
26	Южнобережный (ЮБК уч.5)	3,08	3,23	2,93	3,08	37,03	42,83	31,22	37,03	IV	17,80
27	Кишмиш Магарача (1-118)	3,42	2,43	3,07	2,97	36,37	30,72	44,29	37,13	IV	15,98
28	Бессемянный Магарача (1-119)	3,50	2,73	3,67	3,30	39,05	33,83	42,41	38,43	IV	24,27
29	Кишмиш узунбашлы (7-94)	2,57	2,90	3,60	3,02	33,97	59,25	65,81	53,01	IV	27,37
30	Кишмиш лучистый (24-77)	2,81	3,67	3,60	3,36	55,71	72,54	44,39	57,55	IV	21,00
31	Бессемянный Мельника (4-119)	3,00	2,6	3,13	2,91	90,00	36,52	53,78	60,10	IV	24,70
-	Наименьшая существенная разница	0,204	0,199	0,212	0,163	6,570	5,904	6,209	5,801	—	2,686

В указанных таблицах 6 и 7 сорта даны в порядке возрастания средней массы рудиментов, жирным шрифтом выделены сорта селекции института «Магarach». Данные по наиболее культивируемому бессемянному сорту в мире Кишмиш белый овальный (Султанина) представлены за один год наблюдений и приведены в качестве контрольных показателей для сравнения характеристик сортов за этот год.

Средняя масса ягод изученных бессемянных сортов изменяется от 0,59 г до 2,74 г, что существенно уступает показателям сортамента столового семенного винограда. Наименьшей массой и размером ягод обладают сорта Кишмиш уникальный (0,59 г), Кишмиш желтый (0,89 г), Красень (0,91 г), Сверххранний бессемянный (0,92 г), Розовый бисер (1,00 г), Коринка русская (1,03 г). Наибольшая масса ягод у сортов Кишмиш лучистый (2,74 г), Кишмиш молдавский (2,62 г), Кишмиш люнда (2,44 г), Бессемянный Мельника (2,43 г).

Вид ягод в разрезе со стenosпермокарпической бессемянностью на примере сортов Кишмиш черный и Советский бессемянный представлен на рисунке 2. Видно расположение рудиментов в ягоде и соединение с сосудистым пучком.

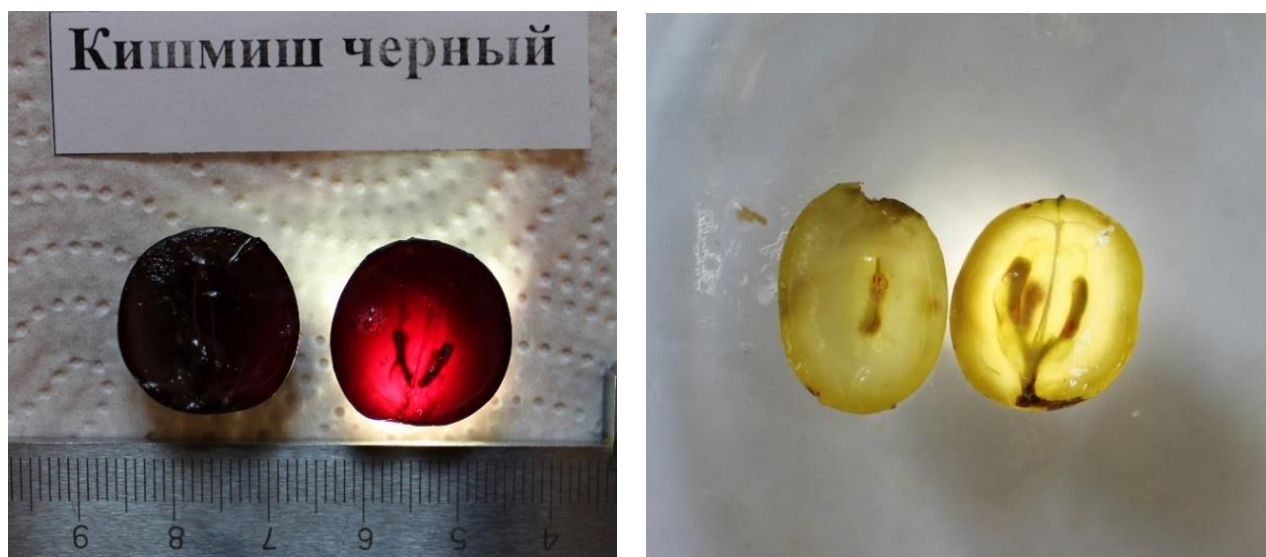


Рисунок 2 – Вид ягод в разрезе стenosпермокарпических бессемянных сортов Кишмиш черный и Советский бессемянный с рудиментами семян.

Среднее количество рудиментов в ягоде варьирует от 1,75 шт. на ягоду (Кишмиш мускатный) до 3,78 шт. на ягоду (Кишмиш молдавский).

Средняя масса рудиментов в ягоде увеличивается от 2,61 мг у сорта Рушаки до 60,1 мг у сорта Бессемянный Мельника. Несмотря на значительную массу рудиментов у последнего сорта, вполне сравнимую с массой полноценных семян у семенных сортов, оболочка рудиментов у бессемянных сортов остается не затвердевшей.

На рисунках 3 и 4 представлены 10 случайно отобранных ягод урожая 2019г. и извлеченные из них рудименты семян 4-х бессемянных сортов: Кишмиш желтый, Кишмиш черный, Мечта, Советский бессемянный. Размер рудиментов и количество рудиментов в ягодах довольно варьирует и имеет ограниченную зависимость от размера ягоды с исключениями.

К I высшей категории бессемянности по результатам трехлетних исследований отнесены 5 сортов: Рушаки (2,61 г), Кишмиш желтый (2,93 г), Кишмиш уникальный (5,23 г), Кишмиш черный (5,65 г), Коринка русская (5,71 г). Ко II категории бессемянности отнесены 3 сорта: Ромулус, Кишмиш белый круглый, Султанина кипрская. К III категории отнесены 4 сорта: Розовый бисер, Мечта, Советский бессемянный и Кишмиш люнда. Остальные сорта отнесены к IV категории мягкосемянных. Необходимо отметить, что масса рудиментов семян и степень развитости в значительной степени обусловлена сортовыми особенностями, но может весомерно колебаться в зависимости от погодных условий в период формирования генеративных органов и цветения винограда (таблица 7) (Майстренко, 1998; Радчевский, Трошин, 2008; Ильницкая с соавт., 2019). За исключением сорта Советский бессемянный сорта селекции института «Магарач» относятся к IV категории бессемянности: Магарач 520, Красень, Сверххранний бессемянный, Южнобережный, Кишмиш Магарача, Бессемянный Магарача.

Для сравнения размеров и количества рудиментов семян между 20 сортами АК «Магарач» в приложении 3 представлены в масштабе рудименты семян, извлеченные из 20 ягод каждого сорта урожая 2019г.



а)



б)

Рисунок 3 – Характеристика бессемянности сортов Кишмиш желтый (а) и Кишмиш черный (б) на примере 10 ягод урожая 2019г. и рудиментов семян, извлеченных из них



а)



б)

Рисунок 4 – Характеристика бессемянности сортов Мечта (а) и Советский бессемянный (б) на примере 10 ягод урожая 2019г. и рудиментов семян, извлеченных из них

Показанные рудименты, извлеченные из 20 случайно отобранных ягод, имеют различный размер и количество, а также форму у каждого сорта. Встречаются рудименты семян с очагами или частичным затвердеванием оболочки у отдельной ягоды сорта или почти в каждой ягоде сорта, что вызывает органолептическое ощущение рудиментов при потреблении винограда. Различный размер и степень образования твердой оболочки можно объяснить разной стадией остановки развития рудиментов семян. Стародавние сорта (кишмиши) отличаются мягкими рудиментами с редким исключением в виде отдельных частично затвердевших образцов рудиментов. Выделяется крупным видом рудиментов сорт Бессемянный Мельника, у которого рудименты по размеру сопоставимы с полноценными семенами. Однако только на отдельных рудиментах встречаются очаги затвердевания, сам рудимент остается мягким.

Проведенный корреляционный анализ по методу корреляции Пирсона согласно Доспехову (1985) фенотипических характеристик бессемянных сортов, приведенных в таблицах 6 и 7, показал, что между значениями массы ягоды и значениями массы рудиментов бессемянных сортов имеется средняя корреляционная зависимость – 0,610 (лежит в диапазоне от 0,3 до 0,7). При сравнении значений массы ягоды и значений количества рудиментов выявлена слабая корреляционная зависимость – 0,141, и ожидаемо сильная корреляционная зависимость выявлена между значениями массы ягоды и значениями длины и ширины ягоды – 0,905 и 0,943 соответственно.

Основные показатели бессемянности сортов винограда коллекции «Магарах» приведены на рисунке 5. На приведенной диаграмме наглядно представлено, что величина средней массы ягоды не имеет значительной и неизменной зависимости от величины средней массы рудиментов. Особенно это отмечается в сортах Кишмиш черный (I категория при массе ягоды 2,14 г) и Кишмиш люнда (III категория при массе ягоды 2,44 г). Таким образом в результате селекционной работы возможно получение относительно крупноягодных бессемянных сортов с высокой категорией бессемянности.

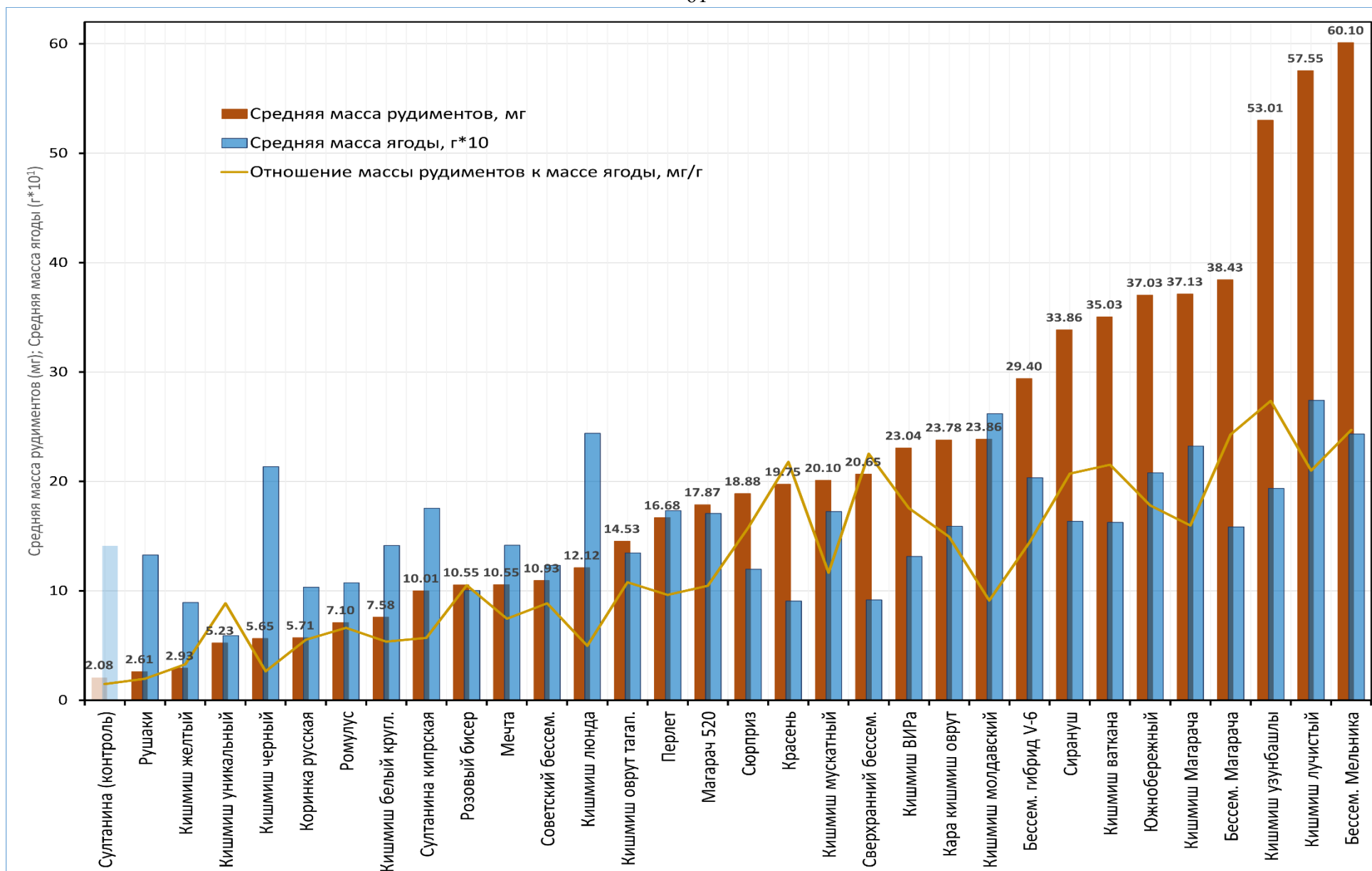


Рисунок 5 – Диаграмма основных показателей бессемянности сортов винограда коллекции «Магарач»

Из 12 сортов, относящихся к I-III категории бессемянности, 4 сорта принадлежат к группе кишмишей (стародавних сортов). Из этих кишмишей два сорта имеют наибольшую массу ягоды из сортов I-III категории: древний сорт Кишмиш черный (2,14 г) и Кишмиш люнда (2,44 г). Также 3 сорта из сортов I-III категории бессемянности являются межвидовыми гибридами, но обладают наименьшей массой и размерами ягод.

Одним из основных показателей бессемянности является отношение массы рудиментов семян к массе ягоды, что является важными товарными качествами бессемянного винограда. Наименьшие желаемые значения этого показателя по сравнению с другими сортами отмечены у сортов Рушаки (1,97 мг/г или 0,20%), Кишмиш черный (2,64 мг/г или 0,26%), Кишмиш люнда (4,97 мг/г или 0,50 %), Кишмиш молдавский (9,11 мг/г или 0,91 %). У последнего сорта также наибольшее количество рудиментов на ягоду (3,78 шт./ягоду), что снижает органолептическое ощущение рудиментов при потреблении винограда. Названные сорта наиболее перспективны для культивирования и будут иметь потребительский спрос (Спотарь, Гориславец, 2020).

Таким образом проведен сравнительный анализ фенотипических характеристик бессемянности по основным товарным качествам (размер и масса ягоды, масса и количество рудиментов, категория бессемянности) у 31 сорта винограда различного происхождения за 2019-2021 гг. в одинаковых агроклиматических условиях произрастания и выделены перспективные сорта. К I высшей категории бессемянности по результатам трехлетних исследований принадлежат 5 сортов. Всего к I-III категории бессемянности отнесено 12 сортов, 4 из которых из группы кишмишей (стародавних сортов), а 3 сорта являются межвидовыми гибридами с небольшим размером ягоды.

Масса рудиментов семян и различная степень их развитости варьируются не только между сортами, но и между ягодами одного сорта и в значительной степени обусловлены сортовыми особенностями, а также колеблются в зависимости от года наблюдений, что связано с погодными условиями при формировании.

Корреляционный анализ фенотипических характеристик бессемянных сортов показал, что между значениями массы ягоды и массы рудиментов бессемянных сортов имеется средняя корреляционная зависимость. Сделанный вывод позволяет утверждать, что в результате селекционной работы возможно получение относительно крупноягодных бессемянных сортов с высокой категорией бессемянности.

3.2. Определение фенотипических характеристик у гибридов популяций скрещивания «семенной х бессемянный»

В 2020-2022 гг. проведено исследование фенотипических характеристик проявления бессемянности у гибридных форм (сеянцев) популяций, полученных по схеме скрещивания «семенной х бессемянный», опытного участка пгт. Партенит, которые вступили в плодоношение: масса ягод; масса рудиментов / семян на ягоду; количество и развитость семян / рудиментов; категория бессемянности в случае рудиментов семян.

В исследование включены 3 селекционные популяции сеянцев «семенной х бессемянный»: «Восторг красный х Юпитер» (17 гибридных форм, вступивших в плодоношение), «Подарок Запорожью х Аленушка» (8 гибридных форм, вступивших в плодоношение), «Флора х Руби сидлис» (4 гибридные формы, вступившие в плодоношение). Всего 29 гибридных форм, вступивших в плодоношение.

Проведен анализ проявления признаков бессемянности у гибридных форм популяций с целью их разделения сеянцев по ряду фенотипических характеристик на семенные и бессемянные формы, с классификацией в свою очередь бессемянных форм по категориям бессемянности.

Результаты исследований фенотипических характеристик гибридных форм селекционных популяций «семенной х бессемянный» (размеры и масса ягод) представлены в таблице 8. Результаты исследований характеристик проявления бессемянности у гибридных форм селекционных популяций (масса

и количество рудиментов / семян в ягоде, классификация форм) представлены в таблице 9. Необходимо отметить, что плодоношение гибридов происходит не регулярно, иногда с получением 1-2 грозди в год, также наблюдается горошение ягод в грозди из-за отсутствия опыления. Масса рудиментов семян и их степень развитости может колебаться в зависимости от погодных условий в период формирования генеративных органов и цветения винограда (Майстренко, 1998; Радчевский, Трошин, 2008; Ильницкая с соавт., 2019).

Таблица 8 – Фенотипические характеристики ягод гибридных форм селекционных популяций «семенной х бессемянный»

№ п/п	Обозначение гибридной формы (селекционная популяция и номер)	Размер ягоды, мм								Масса ягоды, г			
		длина	ширина	длина	ширина	длина	ширина	длина	ширина	2020г.	2021г.	2022г.	среднее значе- ние
		2020г.		2021г.		2022г.		среднее значение					
Восторг красный х Юпитер													
1	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-1	16.94	11.16	16.85	10.58	—	—	16.90	10.87	1.71	1.62	—	1.67
2	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-3	20.43	14.55	24.24	17.05	20.89	14.92	21.85	15.51	2.51	3.9	2.42	2.94
3	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-4 (1)	—	—	23.89	18.73	22.67	18.26	23.28	18.50	—	4.7	4.12	4.41
4	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-4 (2)	—	—	23.85	18.72	—	—	23.85	18.72	—	4.67	—	4.67
5	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-5	—	—	18.47	15.06	—	—	18.47	15.06	—	2.76	—	2.76
6	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-6 (1)	—	—	19.38	16.97	—	—	19.38	16.97	—	2.95	—	2.95
7	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-6 (2)	—	—	18.67	15.86	—	—	18.67	15.86	—	3.08	—	3.08
8	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-8	—	—	—	—	16.29	12.79	16.29	12.79	—	—	1.34	1.34
9	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-9	20.37	15.14	21.58	16.54	18.50	15.20	20.15	15.63	2.63	3.89	2.25	2.92
10	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-10	21.70	13.68	22.53	17.54	23.46	16.96	22.56	16.06	3.44	3.84	3.4	3.56
11	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-11	21.28	17.68	18.27	15.53	—	—	19.78	16.61	3.42	2.58	—	3.00
12	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-12	17.58	15.33	14.46	12.75	—	—	16.02	14.04	2.19	1.36	—	1.78
13	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-14	21.46	14.82	21.27	14.64	—	—	21.37	14.73	2.6	2.82	—	2.71
14	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-15	18.83	14.93	20.42	15.45	17.83	13.29	19.03	14.56	2.42	2.93	1.68	2.34
15	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-17	—	—	14.04	9.96	—	—	14.04	9.96	—	2.07	—	2.07
16	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-23	14.75	13.11	—	—	—	—	14.75	13.11	1.43	—	—	1.43
17	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-25	19.56	13.88	—	—	—	—	19.56	13.88	2.04	—	—	2.04
18	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-26	16.65	12.60	18.40	12.03	16.55	12.95	17.20	12.53	1.57	2.29	1.58	1.81
19	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-27	17.80	15.40	16.08	13.93	—	—	16.94	14.67	1.99	2.08	—	2.04

Окончание таблицы 8

№ п/п	Наименование сорта	Размер ягоды, мм								Масса ягоды, г			
		длина	ширина	длина	ширина	длина	ширина	длина	ширина	2020г.	2021г.	2022г.	среднее значе- ние
		2020г.		2021г.		2022г.		среднее значение					
Подарок Запорожью х Аленушка													
20	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-1	17.19	13.80	17.63	14.15	17.05	13.69	17.29	13.88	2.41	2.28	2.51	2.40
21	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-2	19.63	13.76	—	—	—	—	19.63	13.76	2.60	—	—	2.60
22	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-3	20.15	15.30	18.73	14.63	22.80	18.83	20.56	16.25	3.62	4.12	4.33	4.02
23	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-4	17.00	16.00	19.89	16.96	20.77	18.63	19.22	17.20	3.25	3.99	3.94	3.73
24	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-5	19.20	13.90	—	—	—	—	19.20	13.90	2.24	—	—	2.24
25	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-6	22.28	17.81	23.84	17.83	22.13	14.85	22.75	16.83	3.85	4.24	2.74	3.61
26	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-7	—	—	13.06	10.84	—	—	13.06	10.84	—	1.32	—	1.32
27	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-9	—	—	—	—	19.64	17.43	19.64	17.43	—	—	3.16	3.16
Флора х Руби сидлис													
28	Флора х Руби сидлис 34-11-7-35	14.51	14.43	—	—	—	—	14.51	14.43	1.62	—	—	1.62
29	Флора х Руби сидлис 34-11-7-36	15.76	15.07	—	—	—	—	15.76	15.07	2.45	—	—	2.45
30	Флора х Руби сидлис 34-11-7-38	18.57	17.18	21.13	17.78	17.66	15.99	19.12	16.98	2.88	3.78	2.39	3.02
31	Флора х Руби сидлис 34-11-7-39	14.45	11.87	—	—	—	—	14.45	11.87	1.08	—	—	1.08
-	Наименьшая существенная разница	1.055	0.746	1.447	1.158	1.548	1.318	1.043	0.804	0.329	0.461	0.590	0.337

Таблица 9 – Фенотипические характеристики проявления бессемянности у гибридных форм популяций «семенной х бессемянный»

№ п/п	Наименование сорта	Количество рудиментов, шт.				Масса рудиментов, мг				Лигнифи- кация	Семенной/ бессе- мянный (категория)
		2019г.	2020г.	2021г.	среднее значение	2019г.	2020г.	2021г.	среднее значение		
Восторг красный х Юпитер											
1	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-1	2.0	1.2	–	1.6	67.10	41.26	–	54.18	Наличие	Семенной
2	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-3	2.3	2.8	2.1	2.4	93.80	84.41	76.34	84.85	Наличие	Семенной
3	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-4 (1)	–	2.1	1.7	1.9	–	99.36	107.37	103.37	Наличие	Семенной
4	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-4 (2)	–	2.1	–	2.1	–	97.71	–	97.71	Наличие	Семенной
5	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-5	–	1.7	–	1.7	–	77.08	–	77.08	Наличие	Семенной
6	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-6 (1)	–	3.9	–	3.9	–	127.63	–	127.63	Наличие	Семенной
7	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-6 (2)	–	3.3	–	3.3	–	118.62	–	118.62	Наличие	Семенной
8	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-8	–	–	2.2	2.2	–	–	48.56	48.56	Наличие	Семенной
9	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-9	3.1	3.1	3.0	3.1	69.50	47.82	32.35	49.89	Наличие	Семенной
10	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-10	3.4	2.2	2.2	2.6	80.00	106.43	139.90	108.78	Наличие	Семенной
11	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-11	4.2	4.0	–	4.1	160.10	110.11	–	135.11	Наличие	Семенной
12	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-12	2.8	2.2	–	2.5	71.60	53.87	–	62.74	Наличие	Семенной
13	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-14	1.9	2.0	–	2.0	64.30	74.73	–	69.52	Наличие	Семенной
14	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-15	2.2	2.3	1.9	2.1	84.10	83.19	105.45	90.91	Наличие	Семенной
15	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-17	–	1.4	–	1.4	–	70.86	–	70.86	Наличие	Семенной
16	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-23	3.0	–	–	3.0	63.40	–	–	63.40	Наличие	Семенной
17	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-25	1.4	–	–	1.4	66.40	–	–	66.40	Наличие	Семенной
18	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-26	2.5	2.3	2.3	2.4	42.50	79.47	32.14	51.37	Наличие	Семенной
19	Восторг красный х Юпитер 36-11-7-27	3.2	2.0	–	2.6	44.80	40.38	–	42.59	Наличие	Семенной

Окончание таблицы 9

№ п/п	Наименование сорта	Количество рудиментов, шт.				Масса рудиментов, мг				Лигнифи- кация	Семенной/ бессе- мянный (категория)
		2019г.	2020г.	2021г.	среднее значение	2019г.	2020г.	2021г.	среднее значение		
Подарок Запорожью х Аленушка											
20	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-1	2.0	2,2	1,8	2.0	5.10	6,85	6,11	6,02	Отсутств.	I
21	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-2	1.6	–	–	1.6	72.40	–	–	72.40	Наличие	Семенной
22	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-3	2.0	1.0	2.0	1.7	81.70	49.75	73.97	68.47	Наличие	Семенной
23	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-4	1.0	1.9	3.3	2.1	72.00	81.00	84.81	79.27	Наличие	Семенной
24	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-5	1.6	–	–	1.6	81.00	–	–	81.00	Наличие	Семенной
25	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-6	3.1	3.3	2.6	3.0	123.30	123.15	129.11	125.19	Наличие	Семенной
26	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-7	–	1.0	–	1.0	–	10.69	–	10.69	Отсутств.	III
27	Подарок Запорож.х Аленушка 32-11-5-9	–	–	1.5	1.5	–	–	11.03	11.03	Отсутств.	III
Флора х Руби сидлис											
28	Флора х Руби сидлис 34-11-7-35	2.2	–	–	2.2	16.40	–	–	16.40	Отсутств.	IV
29	Флора х Руби сидлис 34-11-7-36	2.6	–	–	2.6	119.40	–	–	119.40	Наличие	Семенной
30	Флора х Руби сидлис 34-11-7-38	2.2	2.1	2.4	2.3	66.00	95.96	68.61	76.86	Наличие	Семенной
31	Флора х Руби сидлис 34-11-7-39	2.6	–	–	2.6	5.30	–	–	5.30	Отсутств.	I
-	Наименьшая существенная разница	0.329	0.369	0.307	0.263	15.988	14.955	25.979	13.430	–	–

В популяции «Восторг красный х Юпитер» все плодоносящие гибридные формы по массе семян и их сформированности были определены как семенные. Средняя масса семян на ягоду у более 70% гибридных форм превышала 60 мг и варьировалась от 42,59 мг до 135,11 мг. В большинстве ягод обнаружены сформировавшиеся семена с твердой оболочкой, включая гибридные формы с наименьшей массой семян.

В популяции «Подарок Запорожью х Аленушка» 8 плодоносящих гибридов дифференцированы на бессемянные (с рудиментами семян) и семенные (со сформировавшимися семенами). Средняя масса рудиментов / семян на ягоду изменялась от 6,02 мг до 125,19 мг. Определены 3 бессемянные формы: 32-11-5-1 (6,02 мг/ягоду), 32-11-5-7 (10,69 мг/ягоду), 32-11-5-9 (11,03 мг/ягоду). Гибридная форма 32-11-5-1 отнесена к высшей I категории бессемянности, формы 32-11-5-7 и 32-11-5-9 к III категории бессемянности. На рисунке 6 представлены рудименты, извлеченные из 6 ягод урожая 2020 г., формы М № 32-11-5-1 в натуральную величину.

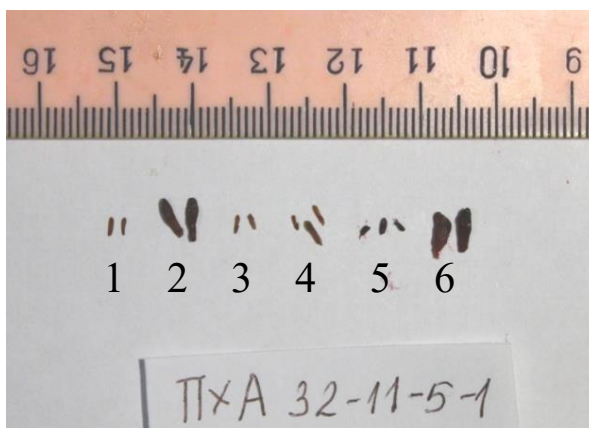


Рисунок 6 – Вид рудиментов гибридной формы М № 32-11-5-1, извлеченных из 6 ягод урожая 2020 г., в натуральную величину

В популяции «Флора х Руби сидлис» 4 плодоносящие гибридные формы дифференцированы на 2 бессемянные и 2 семенные. Средняя масса рудиментов / семян на ягоду изменялась от 5,30 мг до 119,40 мг. Бессемянные формы 34-11-7-39 (5,30 мг/ягоду) и 34-11-7-35 (16,40 мг/ягоду) отнесены соответственно к высшей I и IV категориям бессемянности.

Распределение плодоносящих гибридных форм двух популяций «Подарок Запорожью х Аленушка» и «Флора х Руби сидлис» по средней массе семян / рудиментов на ягоду представлено на рисунке 7, где четко отражено разделение гибридов на 2 группы по бессемянному (отмечено синим цветом) и семенному (отмечено светло-коричневым цветом) фенотипам.

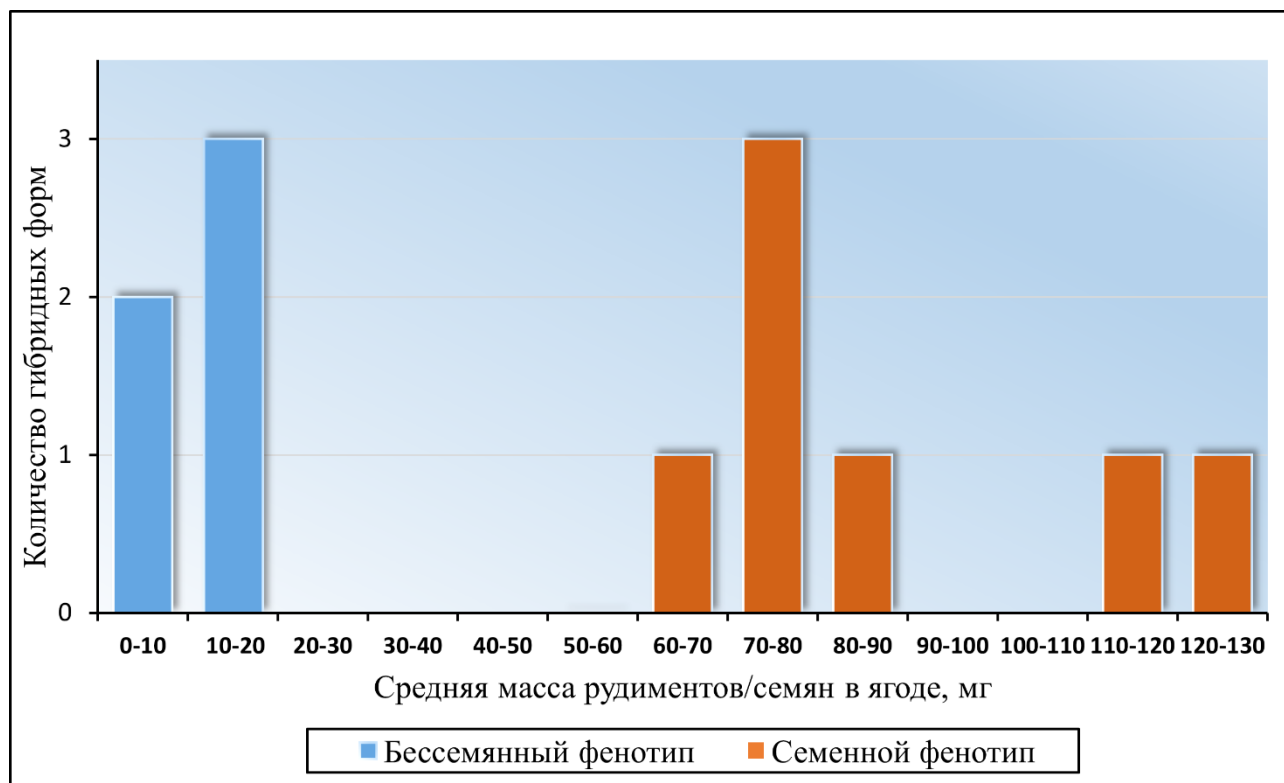


Рисунок 7 – Распределение плодоносящих гибридных форм двух популяций «семенной х бессемянный» по бессемянному и семенному фенотипам

Таким образом проведена дифференциация по семенному и бессемянному фенотипу гибридных форм (сеянцев), вступивших в плодоношение, трех селекционных популяций, полученных по схеме скрещивания «семенной х бессемянный». В популяции «Восторг красный х Юпитер» все плодоносящие гибридные формы по массе семян и наличию сформировавшейся твердой оболочки определены как семенные. В популяции «Подарок Запорожью х Аленушка» из 8 плодоносящих форм 3 определены как бессемянные формы I и III категорий бессемянности. В популяции «Флора х Руби сидлис» 4 плодоносящие гибридные формы дифференцированы на 2 семенные и 2 бессемянные I и IV категорий бессемянности.

ГЛАВА 4. ГЕНОТИПИРОВАНИЕ И УСТАНОВЛЕНИЕ ПРОИСХОЖДЕНИЯ БЕССЕМЯННЫХ СОРТОВ И ГИБРИДОВ ВИНОГРАДА

4.1. Паспортизация и установление происхождения бессемянных сортов винограда

4.1.1. Паспортизация по результатам генотипирования бессемянных сортов АК «Магарач»

Общая характеристика и происхождение имеющихся 57 бессемянных сортов Ампелографической коллекции «Магарач» (пос. Вилино) и опытных участков ЮБК (пгт. Отрадное, пгт. Партенит) представлены в таблице приложения Ж. В таблице приводится для каждого бессемянного сорта: номер в международном каталоге сортов VIVC, если сорт зарегистрирован, наименование сорта и синонимы, регион происхождения и учреждение оригинатор, цвет кожуры ягоды, использование (столовый, технический, для сушеной продукции), адрес на АК «Магарач» либо селекционный участок; ботаническая принадлежность, происхождение сорта по селекционным источниками либо уточненное происхождение по маркерному анализу.

Все представленные бессемянные сорта имеют столовое направление использования, кроме сорта Красень, который имеет техническое направление использования. В таблице приложения Ж приведены характеристики 13 сортов селекции института «Магарач»; 16 азиатских стародавних сортов (кишмиши); 2 сортов, полученных в иных организациях Российской Федерации; 7 сортов, полученных в Узбекистане; 3 сорта из Украины; 2 сорта Армении; 3 сорта Молдовы; 3 сорта из Болгарии и Югославии, 6 сортов США и 2 сорта неизвестного происхождения. Из 57 представленных сортов 44 относятся к виду *V. vinifera* L., 13 – межвидовые гибриды.

В результате генотипирования по стандартным 9 ядерным и 3 хлоропластным микросателлитным (SSR) маркерам были получены генетические профили и хлоротип для 55 бессемянных селекционных сортов и форм винограда Ампелографической коллекции «Магарач» (пос. Вилино) и опытных участков ЮБК (пгт. Отрадное, пгт. Партенит). Молекулярно-генетические профили и хлоротипы бессемянных сортов и форм коллекции «Магарач» приведены в таблице 11. В числе 55-ти исследованных сортов и форм содержится 13 сортов селекции института «Магарач»: Бессемянный Магарача, Кишмиш Магарача, Советский бессемянный, Магарач 520, Сверххранний бессемянный, Ялтинский бессемянный, Южнобережный, Красень, Крымский бисер, форма Партенитский, Митридат, Артек, Альбина. Также в исследование включены 15 азиатских стародавних сортов (кишмиши).

По 28-ми сортам получены генетические профили, которые отсутствуют в базе генотипов международного каталога сортов VIVC (выделены жирным шрифтом): Советский бессемянный, Магарач 520, Сверххранний бессемянный, Ялтинский бессемянный, Южнобережный, Красень, Крымский бисер, форма Партенитский, Митридат, Артек, Альбина, Кишмиш красный туркменский, Кишмиш желтый, Султанова Кипрская, Кара Кишмиш оврут, Кишмиш Люнда, Кишмиш узунбашлы, Кишмиш оврут тагапский, Кишмиш белый тагопский, Коринка русская, Сюрприз, Кишмиш уникальный, Янги Ер, Розовый бисер, Кишмиш Иртышар, Кишмиш мускатный, Сирануш, Аленушка. Из них 11 – селекции института «Магарач» (Спотарь с соавт., 2024).

Генетические профили дополнены до стандартного набора из 9 SSR-маркеров по 6 сортам (аллели, отсутствующие в базе VIVC, выделены жирным шрифтом): Бессемянный Магарача, Кишмиш Магарача, Бессемянный Мельника, Тарнау, Бессемянный гибрид V-6, Бессемянный гибрид VI-4.

Таблица 11 – Молекулярно-генетические профили по 9 SSR-маркерам и хлоротип 55 бессемянных сортов и форм коллекции ВНИИВиВ «Магарач»*

№ п/ п	Наименование / SSR- маркеры	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		Хло- ротип
		A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
1	Бессемянный Магарача	135	135	230	234	249	253	255	255	182	186	244	258	256	272	186	188	243	247	D
2	Кишмиш Магарача	135	151	234	236	247	253	249	255	195	195	244	258	256	272	188	194	249	257	D
3	Магарач 520	151	155	230	236	243	249	245	249	186	195	236	246	250	272	188	202	251	251	C
4	Советский бессемянный	143	151	230	236	247	249	249	255	182	186	244	246	250	250	196	202	247	251	C
5	Сверхранний бессемянный	135	143	230	236	247	253	239	255	182	195	244	258	272	272	188	194	247	249	C
6	Ялтинский бессемянный	143	151	236	236	239	261	249	249	180	186	228	236	250	256	188	202	239	247	B
7	Южнобережный	143	151	236	238	239	247	243	249	180	186	228	244	250	274	188	188	247	247	B
8	Красень	135	143	236	242	247	251	239	239	180	195	236	252	272	272	194	194	251	255	B
9	Крымский бисер	135	143	228	240	239	253	249	255	186	186	244	258	272	272	188	194	249	251	C
10	Партенитский (М 32-11-5-1)	135	141	234	238	243	253	255	255	195	195	218	244	272	272	188	188	249	257	C
11	Митридат №35 (ГСУ)	133	151	236	238	249	253	241	249	180	182	244	244	250	292	188	196	239	247	C
12	Артек	133	143	236	238	251	253	241	255	182	182	234	234	240	272	188	194	247	255	C
13	Альбина	133	151	228	236	239	247	249	249	180	186	244	258	240	252	186	188	247	255	D
14	Кишмиш белый овальный (Султанина)	145	151	236	236	239	253	239	249	182	195	218	244	250	250	188	188	247	259	C
15	Кишмиш белый круглый	145	151	230	236	239	249	241	249	182	190	244	248	250	272	188	194	243	247	D
16	Кишмиш круглый	145	151	230	236	239	249	241	249	182	190	244	248	250	272	188	194	243	247	D
17	Кишмиш красный туркм.	143	145	236	242	243	253	239	263	182	186	218	244	250	272	188	188	247	251	D
18	Кишмиш черный	151	155	236	236	249	253	245	249	182	195	218	246	250	250	188	202	247	251	D
19	Кишмиш розовый	145	151	236	236	239	253	239	249	182	195	218	244	250	250	188	188	247	259	C
20	Кишмиш мраморный	145	151	236	236	239	253	239	249	182	195	218	244	250	250	188	188	247	259	C
21	Кишмиш желтый	145	151	230	236	239	249	241	249	182	190	244	248	250	272	188	194	243	247	D

Продолжение таблицы 11

№ п/ п	Наименование / SSR- маркеры	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		Хло- ротип
		A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
22	Султанина Кипрская	133	145	236	238	247	253	239	241	180	182	234	244	250	250	188	188	247	255	A
23	Кара Кишмиш оврут	137	151	236	236	239	249	239	249	180	182	234	244	250	272	188	202	247	247	C
24	Кишмиш Люнда	151	155	236	240	239	243	245	249	182	195	244	246	250	250	188	188	251	259	D
25	Кишмиш узунбашлы	137	145	236	242	239	249	239	239	180	195	218	234	250	272	188	202	247	259	C
26	Кишмиш оврут тагапский	137	151	236	236	239	249	239	249	180	182	234	244	250	272	188	202	247	247	C
27	Кишмиш ваткана	137	145	236	242	239	249	239	239	180	195	218	234	250	272	188	202	247	259	C
28	Аскери	141	145	236	240	239	253	239	241	180	195	218	258	250	272	188	198	251	259	C
29	Кишмиш белый тагопский	145	151	236	242	239	243	239	249	180	195	218	236	250	272	188	188	247	259	D
30	Коринка русская	135	155	236	238	241	253	245	255	182	184	218	244	240	250	184	188	247	255	C
31	Бессемянный Мельника	151	155	236	240	247	253	245	249	184	195	218	258	250	272	188	204	247	251	C
32	Сюрприз	143	155	236	248	249	253	245	255	180	182	218	258	250	264	188	188	247	251	C
33	Мечта	135	151	236	248	239	249	249	255	180	182	234	246	250	272	196	202	247	251	C
34	Кишмиш уникальный	129	151	236	238	239	241	237	249	184	190	244	244	240	250	184	188	243	255	C
35	Кишмиш молдавский	135	151	236	238	239	249	249	255	182	186	236	244	250	272	188	188	239	247	C
36	Кишмиш лучистый	135	145	236	238	239	249	239	255	186	195	218	268	250	272	186	188	251	259	B
37	Тарнау	143	151	230	230	247	249	249	255	186	190	244	244	250	272	194	196	243	251	C
38	Янги Ер	135	145	238	240	247	253	239	255	195	195	244	258	240	250	188	204	259	259	C
39	Розовый бисер	135	155	236	242	247	249	245	255	195	195	218	246	240	250	194	202	249	251	C
40	Кишмиш ВИРа	151	151	230	236	249	249	249	249	180	195	246	258	250	272	188	202	249	251	C
41	Кишмиш Иртышар	151	151	230	236	243	249	249	249	195	195	244	246	250	272	188	202	247	251	C
42	Кишмиш Хишрау	151	151	230	236	243	249	249	249	182	195	218	244	250	250	188	202	251	257	C
43	Кишмиш мускатный	145	149	230	236	239	251	239	249	180	182	244	268	250	264	188	204	247	255	B
44	Рушаки	151	151	236	240	239	247	249	249	180	182	218	236	250	272	188	188	247	259	D

Окончание таблицы 11

№ п/ п	Наименование / SSR- маркеры	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		Хло- ротип
		A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
45	Сирануш	145	155	236	242	239	243	239	245	180	195	234	244	250	272	188	188	247	259	D
46	Бессемянный гибрид V-6	133	145	236	240	247	249	239	239	180	182	244	244	250	272	192	200	247	255	C
47	Бессемянный гибрид VI-4	133	149	230	240	247	249	241	249	195	195	218	244	252	258	192	200	257	257	C
48	Белградский бессемянный	133	135	228	236	249	249	241	255	182	186	218	234	250	272	186	200	247	251	A
49	Аленушка (Черный палец)	135	155	234	236	249	253	245	255	195	195	218	258	250	272	188	188	251	257	C
50	Ромулус	125	151	236	240	239	247	249	249	182	186	230	244	240	250	188	204	247	247	B
51	Эйнсет сидлис	125	151	236	238	235	239	243	249	186	195	218	226	250	250	188	202	257	259	B
52	Перлетт	133	145	236	238	247	253	239	241	180	182	234	244	250	272	188	204	247	255	A
53	Конер	143	151	234	236	239	239	247	249	195	195	218	244	250	274	188	188	257	259	D
54	Кишмиш Юпитер	125	135	240	240	235	247	255	255	180	186	244	246	240	256	202	204	255	264	D
55	Кишмиш столетие	135	135	238	240	239	239	239	255	180	195	218	236	264	272	188	188	247	255	D

Примечание: жирным шрифтом выделены аллели маркеров и хлоротипы, не внесенные в базу генотипов международного каталога сортов VIVC.

В международном каталоге сортов VIVC только по 6 сортам из 55 исследованных имеется хлоротип сорта. По сорту Кишмиш черный в результате исследований получен хлоротип D, который отличается от хлоротипа, указанного в базе VIVC. У исследованных бессемянных сортов и форм выявлено 4 хлоротипа: A, B, C, D. Более половины бессемянных сортов имеют хлоротип C – 30 сортов (54,5%), хлоротип D имеют 15 сортов (27,3%), хлоротип B – 7 сортов (12,7%), хлоротип A – 3 сорта (5,5%) (Спотарь с соавт., 2024).

Хлоротип B в основном определен у сортов межвидового происхождения от североамериканских видов – сорта Ялтинский бессемянный, Южнобережный, Красень, Ромулус и Эйнсет сидлис; сорта Кишмиш лучистый и Кишмиш мускатный унаследовали хлоротип B от родительских форм Кардинал и Мускат александрийский соответственно. Хлоротип A определен у сортов Султанина кипрская (неизвестного происхождения), Белградский бессемянный и Перлетт. Азиатские стародавние сорта (кишмиши) имеют только хлоротипы C (8 сортов) и D (7 сортов).

На основании полученных генетических профилей и по имеющимся генотипам 27 сортов международного каталога сортов VIVC идентифицирована и подтверждена сортовая принадлежность имеющихся бессемянных форм АК «Магарач» пос. Вилино. Согласно полученным результатам исследований:

- образец сорта Кишмиш белый овальный (Султанина) по адресу 7-87 является сортом Кишмиш белый круглый;
- образец сорта Кишмиш узунбашлы по адресам 7-94 и 24-89 имеют одинаковый генотип с сортом Кишмишом ваткана по адресу 7-96;
- образец сорта Кишмиш ВИРа по адресу 7-98 не соответствует генотипу сорта, содержащемуся в базе каталога VIVC;
- образец сорта Кишмиш Хишрау по адресу 10-30 не соответствует генотипу сорта в базе VIVC;

- образец сорта Кола кишмишная (19-59) идентичен сорту Кишмиш молдавский, что говорит о сортовом несоответствии;
- образец сорта Бедона (26-94) не соответствует генотипу в базе VIVC и фенотипу данного сорта.

Образцы по адресам АК «Магарач» Кола кишмишная (19-59), Бедона (26-94) и Кишмиш Хишрау (10-30) были исключены из дальнейших исследований как не идентифицированные формы. Однако образец по другому адресу АК (26-87) по полученному генетическому профилю был подтвержден как сорт Кишмиш Хишрау и использовался в дальнейшем исследовании.

На основе полученного опыта по генотипированию была разработана «Методика определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров (SSR-маркеров)» (Приложение Б), согласно которой ведется сортовая идентификация промышленных насаждений винограда и посадочного материала для виноградарских хозяйств Крыма. Разработанная методика содержит описание всего комплекса работ по пробоподготовке, выделению с использованием ЦТАБ метода и контролю качества ДНК винограда, амплификации, генотипированию с использованием фрагментного анализа и интерпретации результатов для точной идентификации сортовой принадлежности образцов винограда. Автором отработаны методы постановки мультиплексной ПЦР с использованием 9 SSR-маркеров, подготовки полученных ампликонов к фрагментному анализу, фрагментный анализ и интерпретация его результатов с использованием базы генотипов VIVC (Спотарь с соавт., 2025).

По итогам исследований разработаны и прошли государственную регистрацию информационные базы: «База молекулярно-генетических паспортов (генотипов) бессемянных сортов АК «Магарач» и «База хлоротипов бессемянных сортов АК «Магарач» (Приложение А).

4.1.2. Анализ происхождения стародавних бессемянных сортов (кишмиши) неизвестного происхождения

По результатам генотипирования получен генетический профиль и хлоротип 15-ти стародавних бессемянных сортов АК «Магарач». Районами их происхождения являются страны Азии.

Сорта Кишмиш белый овальный (Султанина, Sultanina), Кишмиш белый круглый (Kishmish belyi kruglii) и Кишмиш черный (Kishmish chernyi) считаются древними бессемянными сортами и происхождение их не установлено (Ledbetter and Ramming, 1989).

Для анализа происхождения 14-ти исследуемых бессемянных азиатских сортов (кишмиши) народной селекции по их генетическим профилям из 9 SSR-маркеров была построена дендрограмма (рисунок 8).

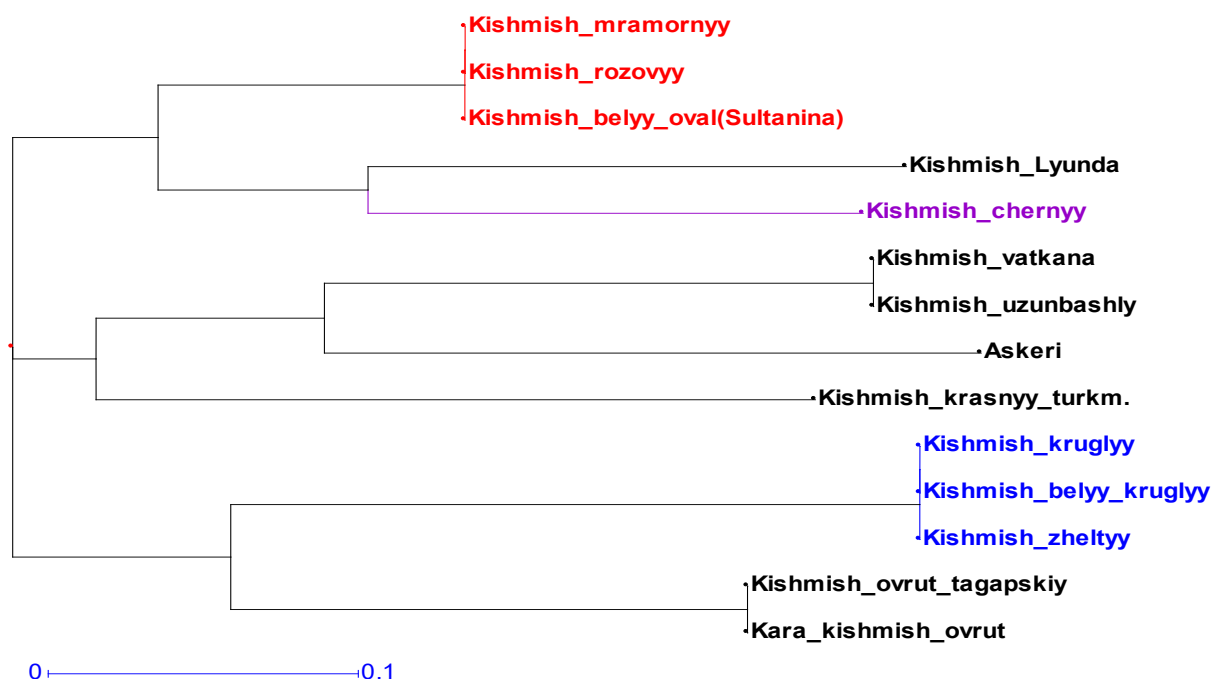


Рисунок 8 – Дендрограмма стародавних бессемянных азиатских сортов (кишмиши) народной селекции по генетическим профилям из 9 SSR-маркеров.

Полученная дендрограмма характеризуется формированием 4-х кластеров сортов с идентичным генетическим профилем, где выделяется 2

кластера: группа сортов Кишмиша белого овального и Кишмиша белого круглого.

Группа сортов: Кишмиш белый овальный (Султанина), Кишмиш розовый и Кишмиш мраморный (на дендрограмме выделены красным цветом), имеют идентичный генетический профиль и хлоротип. Как ранее было установлено (VIVC), сорта Кишмиш розовый (Азербайджан) и Кишмиш мраморный (Армения) получены в результате соматической мутации от сорта Кишмиш белый овальный путем отбора.

Группа сортов: Кишмиш белый круглый, Кишмиш круглый, Кишмиш желтый (на дендрограмме выделены синим цветом) также имеют идентичный профиль и хлоротип. В перечне синонимов сорта Кишмиш белый овальный (Султанина) указывается название «Kishmish zheltyi» (VIVC), однако полученный генотип сорта Кишмиш желтый по адресу 24-74 АК «Магараç» соответствует группе сортов Кишмиша белого круглого. Сорт Кишмиш круглый является синонимом сорта Кишмиш белый круглый, в перечне синонимов последнего имеются названия «Kishmish kruglyi», «Kis mis kruglai», «Kichmich rond» (VIVC).

Сорта Кишмиш Оврут Тагапский по адресу 7-99 и Кара Кишмиш оврут по адресу 24-90 АК «Магараç» имеют идентичный профиль по 9 SSR-маркерам и хлоротип. В связи с чем могут быть как синонимами одного сорта, так и как в случае с группой сортов Кишмиша белого овального (Султанина), один из них получен в результате отбора полезных соматических мутаций.

Сорта Кишмиш ваткана по адресу 7-96 и Кишмиш узунбашлы по адресам 7-94 и 24-89 АК «Магараç» также показали идентичный генотип. Один из сортов получен в результате отбора полезных соматических мутаций.

Анализ происхождения древних азиатских бессемянных сортов и сортов народной селекции АК «Магараç» по 9 SSR-маркерам и хлоротипу на

основании принципа кодоминантного наследования представлен в таблице Приложения И.

По полученным генетическим профилям сорта **Кишмиш белый овальный (Султанина)** и **Кишмиш белый круглый** могут находиться в отношениях родитель-потомок в связи с наличием общего аллеля в каждом из 9 SSR-маркеров согласно кодоминантного типа наследования (таблица 14).

У сорта **Кишмиш черный** по аллельному составу может быть родительской формой сорт **Кишмиш белый овальный (Султанина)**. Сорт **Кишмиш белый круглый** не является родителем из-за отсутствия общих аллелей в маркере VVMD28 (таблица 14).

Сорт **Кишмиш красный туркменский (6-53)** по полученному профилю и хлоротипу полностью соответствует сорту Naose из базы VIVC (№8343, Афганистан), в которой одним из синонимов этого сорта указан **Кишмиш красный туркменский (VIVC)**. По аллельному составу мог произойти от сорта **Кишмиш белый овальный (Султанина)** и иранского стародавнего сорта Ягути сафид шираз.

Подтвердилось происхождение местного сорта народной селекции **Аскери** (Армения, Азербайджан, Иран) от сорта **Кишмиш белый овальный (Султанина)** и иранского стародавнего сорта **Белый Ирана (Blanc d'Iran)** (VIVC). Сорт **Кишмиш белый круглый** не может быть родителем сорта **Аскери** в связи с отсутствием общих аллелей в 3-х маркерах: VVMD27, VVMD28 и ViZAG79.

У сорта **Кишмиш люнда** неизвестного происхождения, одним из родителей мог быть **Кишмиш белый овальный (Султанина)**, у сортов **Кишмиш белый круглый** и **Кишмиш черный** не хватает общих аллелей в одном маркере.

По результатам ДНК-маркерного анализа ранее установлено, что сорт **Кишмиш ваткана** получен от скрещивания сортов **Васарга черная** и **Кишмиш белый овальный (Султанина)**, что подтверждается этим

исследованием (VIVC). Сорт **Кишмиш узунбашлы** имеет такой же генотип, что и сорт Кишмиш ваткана.

По аллельному составу для сортов **Кишмиш оврут тагабский** и **Кара Кишмиш оврут** могут являться родителями сорта Васарга черная и Кишмиш белый овальный (Султанина). Сорт Ваткана может быть как сибсом, так и состоять в отношениях «родитель-потомок».

Для сорта **Кишмиш белый тагопский** также отцовской формой может являться Кишмиш белый овальный (Султанина), а материнской – сорт Катта-Курган, имеющий соответствующие аллели и хлоротип D.

Сорт **Султанина кипрская** неизвестного происхождения имеет относительно редкий хлоротип A. Этот сорт по полученному генетическому профилю мог быть получен путем гибридизации от стародавних сортов: Кишмиш белый овальный, Кишмиш туркменский, Кишмиш красный туркменский.

Результаты установления происхождения стародавних бессемянных сортов (кишмишей) по результатам генотипирования представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Установление происхождения стародавних бессемянных сортов АК «Магарац» по результатам генотипирования SSR-маркерами

Наименование сорта	Происхождение сорта по литературным источникам	Происхождение сорта по результатам генотипирования
Кишмиш желтый	Кишмиш белый овальный (соматическая мутация)	Кишмиш белый круглый (соматическая мутация)
Кишмиш белый круглый	—	? x Кишмиш белый овальный (Султанина)
Кишмиш красный туркменский	—	? x (Кишмиш белый овальный, Ягути сафид шираз)
Аскери	—	Белый Ирана (Blanc d'Iran) x Кишмиш белый овальный (Султанина)
Кишмиш люнда	—	? x Кишмиш белый овальный (Султанина)
Кишмиш ваткана	—	Васарга черная x Кишмиш белый овальный (Султанина)

Кишмиш оврут тагаб-ский (Кара кишмиш оврут)	—	Васарга черная х Кишмиш белый овальный (Султанина)
Кишмиш белый тагопский	—	Катта-Курган х Кишмиш белый овальный (Султанина)
Султанина кипрская	—	? (с хлоротипом А) х (Кишмиш белый овальный, Кишмиш туркменский, Кишмиш красный туркменский)

Таким образом, сорт Кишмиш белый овальный (Султанина) является либо может является родителем всех изученных стародавних бессемянных сортов, что согласуется с ранее сделанными выводами о том, что данный сорт может быть источником происхождения всех бессемянных стеноспермокарпических сортов (Ibáñez et al., 2009; Vargas et al., 2009; Karaagac et al., 2012; Wang et al., 2024).

4.1.3. Анализ происхождения бессемянных сортов селекции института «Магарач»

Во ВНИИВиВ «Магарач» ведется многолетняя селекционная работа по созданию новых сортов винограда с групповой устойчивостью – аналогов лучших евроазиатских сортов, но обладающих полевой устойчивостью к грибным болезням, филлоксере, морозу, высокой экологической пластичностью.

Был выведен ряд столовых сортов различных сроков созревания с групповой устойчивостью к грибным болезням, в том числе бессемянные сорта – Ялтинский бессемянный и Южнобережный. Получен бессемянный сорт Красень технического использования. Все эти сорта являются сложными европейско-американскими и европейско-азиатскими гибридами (Олейников Н.П., Лиховской В.В.). Выведения сортов с устойчивостью к целой группе грибных болезней, вредителей и неблагоприятным факторам внешней среды методом генеративной гибридизации является сложным многостадийным процессом. Объединенная схема выведения бессемянных

сортов селекции института «Магарач»: Красень (Магарач № 90-83-1), Кишмиш Магарача (Магарач № 17-64-4), Бессемянный Магарача (Магарач № 8-64-39), Сверххранний бессемянный (Магарач № 17-57-31) представлена на рисунке 9; схемы выведения сортов Южнобережный (Магарач № 23-88-20) и Ялтинский бессемянный (Магарач № 21-88-1) представлены на рисунке 10. На схемах сорта, обладающие фенотипом бессемянности, выделены серым цветом. При анализе схем получения бессемянных сортов Сверххранний бессемянный и Южнобережный выявляется отсутствие у этих сортов родительских форм с фенотипом бессемянности. Необходимо учитывать, что возникновение фенотипа бессемянности в результате соматической мутации крайне редкое явление, поэтому возможно предположить неучтенное опыление женской формы пыльцой бессемянного родителя (Методические рекомендации, 2005).

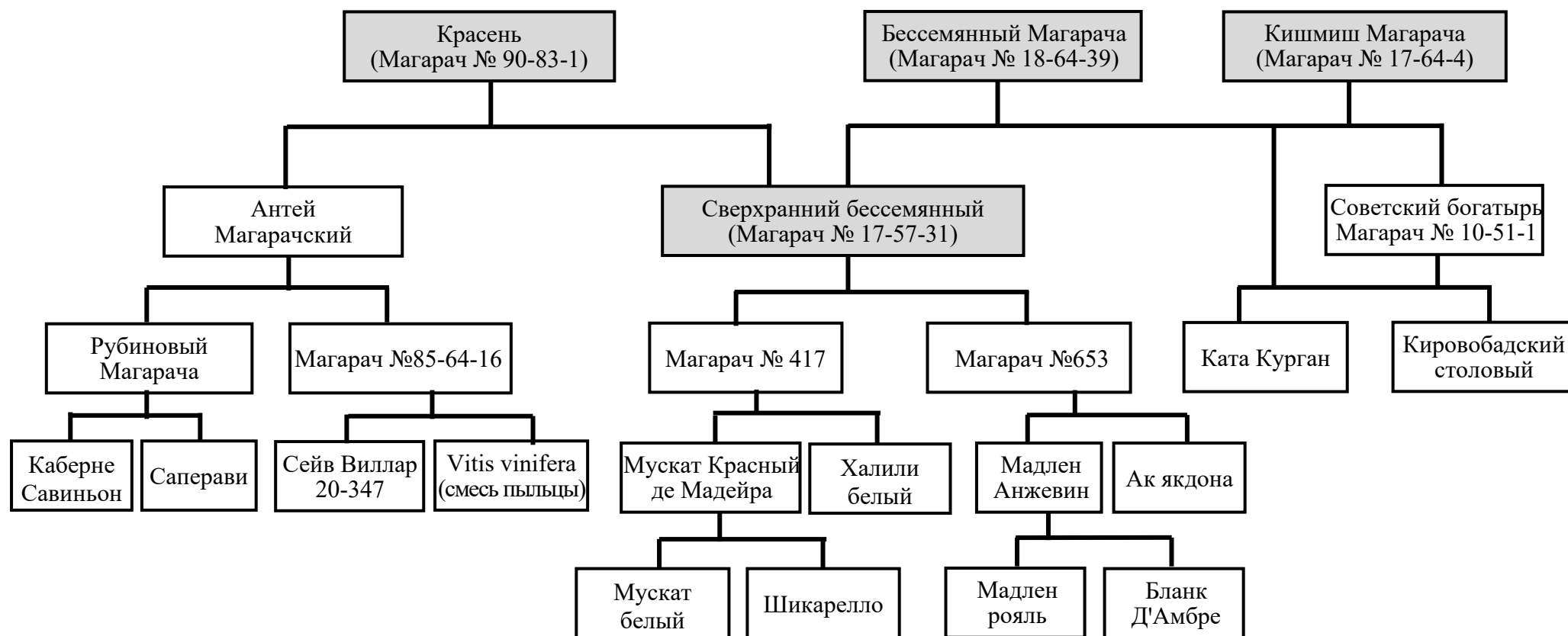


Рисунок 9 – Объединенная схема выведения бессемянных сортов селекции ВНИИВиВ «Магарач»: Красень, Кишмиш Магарача, Бессемянный Магарача, Сверххранний бессемянный (серым цветом выделены сорта, обладающие фенотипом бессемянности).

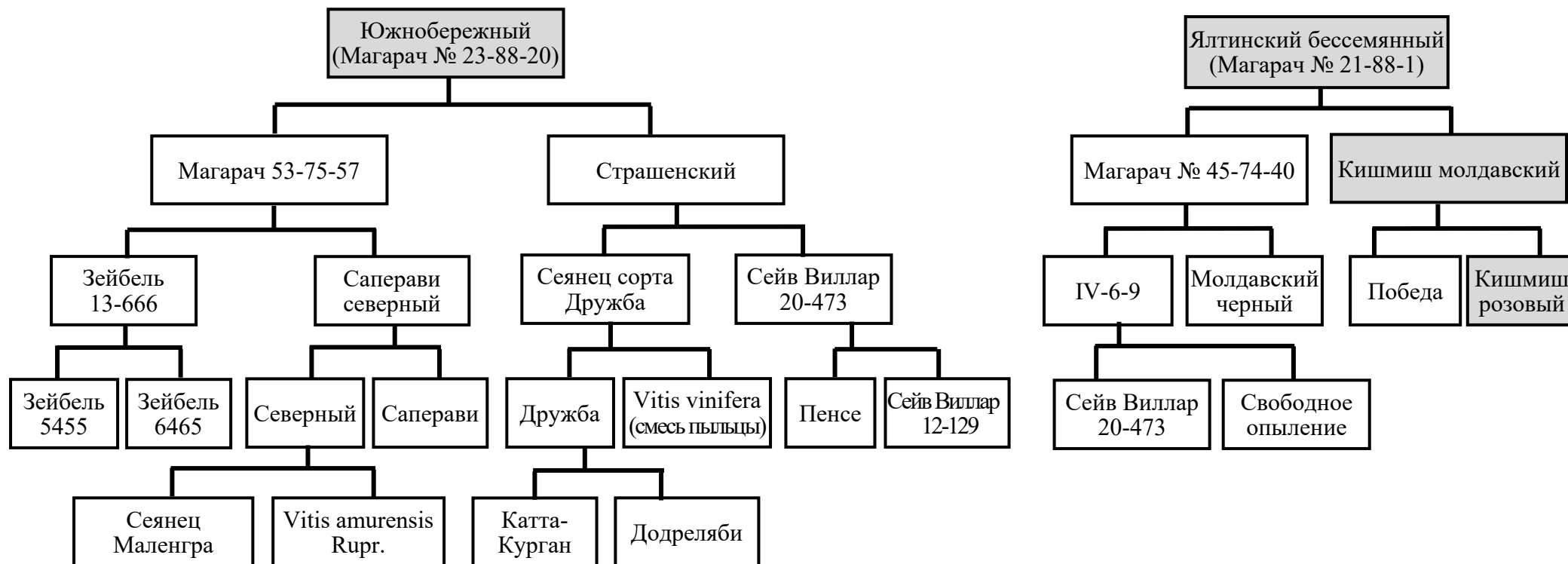


Рисунок 10 – Схемы выведения бессемянных сортов селекции ВНИИВиВ «Магарач»: Южнобережный и Ялтинский бессемянный (серым цветом выделены сорта, обладающие фенотипом бессемянности)

Ниже приведена краткая характеристика новых перспективных бессемянных сортов винограда селекции института «Магараç» для возделывания в промышленных и фермерских хозяйствах юга Российской федерации (Лиховской, 2021).

Красень – технический бессемянный сорт среднего срока созревания. Рекомендуются для приготовления сухих, десертных и ликерных вин. Пригоден для потребления в свежем виде. Ягода черная, бессемянная, мякоть сочная с интенсивно окрашенным соком. Урожайность 160-180 ц/га. Высокая морозоустойчивость. Высокая устойчивость к милдью, оидиуму, серой гнили и филлоксеру.

Южнобережный – столовый бессемянный сорт среднепозднего срока созревания, для потребления в свежем виде и производства соков. Гроздь средняя и крупная, средней плотности и рыхлая, цилиндроконическая и цилиндроконическая, удлиненная. Ягода небольшого размера, округлая, темно-красная. Мякоть мясисто-сочная, вкус гармоничный, освежающий. Встречаются рудименты семян. Урожайность 120-130 ц/га. Высокая морозоустойчивость. Полевая устойчивость к оидиуму, милдью, серой гнили и филлоксеру.

Ялтинский бессемянный – столовый бессемянный сорт среднего срока созревания, для потребления в свежем виде и приготовления диетических соков. Гроздь крупная, цилиндроконическая, средней плотности. Ягода слегка овальная, розовая, крупная для бессемянных сортов. Рудименты семян. Мякоть сочная. Урожайность 140-150 ц/га. Полевая устойчивость к оидиуму, милдью и серой гнили.

Крымский бисер – столовый бессемянный сорт очень раннего срока созревания, для потребления в свежем виде. Гроздь средняя, ветвистая, очень рыхлая. Ягода средняя, тупо-яйцевидная, симметричная, зеленовато-желтая, при полном созревании золотистая, бессемянная (I категория). Мякоть мясисто-сочная, вкус приятный, гармоничный. Урожайность 162 ц/га. Повышенная морозоустойчивость. Устойчивость к оидиуму, серой гнили, филлоксеру.

Для первичного анализа степени родства и происхождения 10 бессемянных сортов и форм селекции института «Магараж» была построена дендрограмма на основе полученных генетических профилей по 9 SSR-маркерам этих сортов и форм с добавлением всех 20 указанных в научных источниках их родительских форм, по которым имеются генетические профили в базе VIVC по 9 SSR-маркерам. Также в качестве референсных добавлены сорта древнего происхождения Кишмиш белый овальный (Султанина) и Кишмиш белый круглый (рисунок 11).

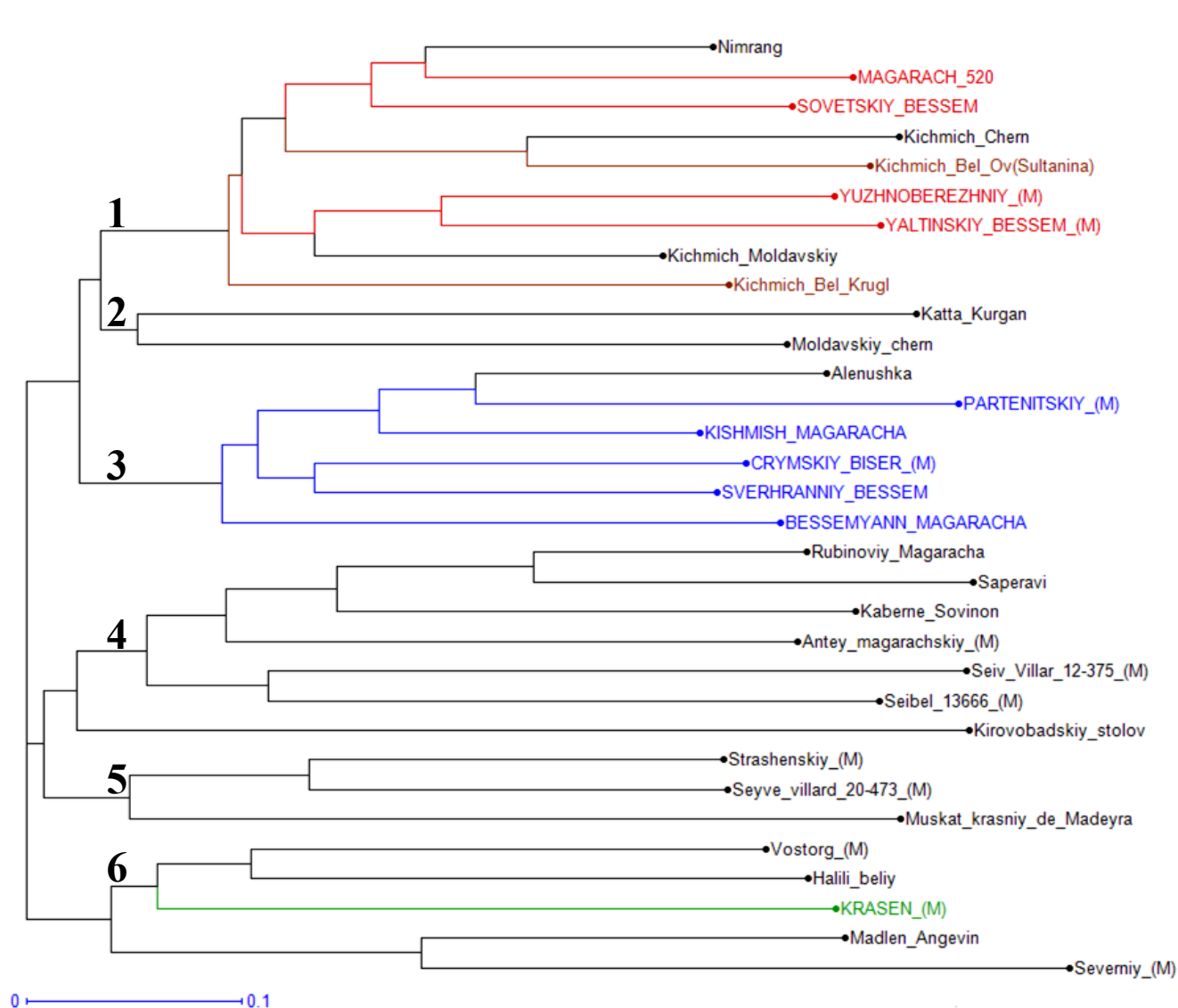


Рисунок 11 – Дендрограмма степени родства и происхождения 10 бессемянных сортов (форм) селекции ВНИИВиВ «Магараж» (выделены заглавными буквами) и их 20 родительских форм по 9 SSR-маркерам. Буквой (M) обозначены межвидовые гибриды, известные по научным источникам.

На основе расчета генетического расстояния на дендрограмме сформировались отдельные кластеры, которые объединили в себе бессемянные сорта и их родительские формы. В случае отсутствия родства генотипов и связи родитель-потомок, сорта и формы размещаются в разных кластерах дендрограммы.

На дендрограмме сорта распределились на 6 кластеров (рисунок 11, слева пронумерованы), где 10 сортов и форм института «Магарач» распределились неравномерно – в основном в 1 и 3 кластерах.

В 1-ом кластере расположены вместе сорта Советский бессемянный и Магарач 520, а также Южнобережный и Ялтинский бессемянный.

В 3-ем кластере сгруппировались 5 сортов селекции института «Магарач» и один родитель бессемянной формы Партенитский – сорт Аленушка. Сибсы Кишмиш Магарача и Бессемянный Магарача также расположены вместе с родительской бессемянной формой Сверххранний бессемянный. Другие известные по научным источникам, родительские формы, расположились раздельно: сорт Катта-Курган во 2-м кластере, сорт Кировобадский столовый – в 4-ом. Три родительских формы сорта Сверххранний бессемянный также расположены отдельно: Мускат красный де Мадейра в 5 кластере, Халили белый и Мадлен Анжевин в 6 кластере.

В 4-ом кластере сгруппировались вместе родительские формы сорта Красень. В известной схеме получения сорта Красень (таблица 10): Антей магарачский (Рубиновый Магарача (Каберне Совиньон х Саперави) х М.№85-64-16 (Перль нуар х *V. vinifera* L.)) х Сверххранний бессемянный – сгруппировались вместе Антей магарачский, его родительская форма Рубиновый Магарача, и соответственно родительские формы последнего – Каберне Совиньон и Саперави, что подтверждает их происхождение. Самого потомка – сорта Красень нет в данном кластере, как и второй родительской формы – сорта Сверххранний бессемянный.

Анализ родословной бессемянных сортов селекции «Магарач» на основе анализа кодоминантного наследования представлен в таблице Приложения И.

По селекционным данным сорт **Сверхранний бессемянный** получен скрещиванием форм Магарац 417 (Мускат красный де Мадейра х Халили белый) х Магарац 653 (Мадлен Анжевин х Ак якдона) (Гориславец с соавт., 2019; Трошин с соавт., 2022). Формы Магарац 417 и Магарац 653 утрачены, в связи с чем отсутствует возможность подтвердить происхождение сорта по их генетическим профилям. В каталоге VIVC содержатся профили родителей формы Магарац 417 – сортов Мускат красный де Мадейра (*Muscat rouge de madere*) и Халили белый (*Khalili belyi*) и профиль одного родителя формы Магарац 653 – сорт Мадлен Анжевин (*Madeleine angevine*). Профиль второго родителя – сорта Ак якдона не определен, но в базе VIVC содержится профиль сорта Сояки, который предполагается его синонимом (VIVC). При сопоставлении профилей родительской пары формы Магарац 417 (Мускат красный де Мадейра х Халили белый) с профилем сорта Сверхранний бессемянный было выявлено, что в двух маркерах – VVMD27 и VrZAG79 у них отсутствуют общие аллели, что говорит об отсутствии родства между этими сортами. При сравнении профилей родительской пары формы Магарац 653 (Мадлен Анжевин х Ак якдона (Сояки)) общие аллели есть во всех маркерах, что подтверждает происхождение сорта Сверхранний бессемянный от формы Магарац 653. Хлоротип С сорта Сверхранний бессемянный, который передается по материнской линии, выявлен только у родительской пары формы Магарац 653, при хлоротипе D у сорта Мускат красный де Мадейра с функционально женским типом цветка – родителя формы Магарац 417. Таким образом материнской формой являлась форма Магарац 653. При сравнении фенотипов сорт Сверхранний бессемянный, как и сорт Мадлен Анжевин обладают очень ранним периодом созревания и белой окраской ягоды.

Была генотипирована сохранившаяся гибридная семенная форма Магарац 416 с неизвестным происхождением, но предположительно сибс формы Магарац 417. Для этой формы по результатам анализа сорта Мускат красный де Мадейра и Халили белый также не являются родителями. Для профиля следующей изученной семенной формы Магарац 532 (сорт Крымский ранний) эти сорта как родительская пара по генетическому профилю и хлоротипу полностью

соответствуют. Для сохранившейся формы Магарач 670 сорт Мадлен Анжевин может быть родительской формой, как и для формы Магарач 653.

Можно предположить, что вместо семенных сортов Мускат красный де Мадейра и Халили белый в происхождении сорта Сверххранний бессемянный участвовал в качестве опылителя неустановленный бессемянный сорт или гибридная форма. В базе генотипов VIVC не содержится генотип бессемянного сорта, который как родитель соответствовал бы по генотипу сорту Сверххранний бессемянный с исключением аллелей сорта Мадлен Анжевин. Также был рассмотрен генотип семенного сорта Ранний Магарача (Магарач 372), с подтвержденным происхождением от скрещивания Мадлен Анжевин х Кишмиш черный. Родительской формой сорта Сверххранний бессемянный он быть не может в связи с отсутствием общих аллелей в маркере VVMD28.

Сорта **Бессемянный Магарача** и **Кишмиш Магарача** по имеющимся данным селекционных источников имеют общее происхождение и схожесть по генетическому профилю (Гориславец с соавт., 2018; Гориславец с соавт., 2019; Трошин с соавт., 2022). Подтверждается их родительская форма – сорт Сверххранний бессемянный. Была генотипирована сохранившаяся на АК вторая родительская форма для сорта Кишмиш Магарача Магарач 10-51-1 (Катта-Курган х Кировобадский столовый), синоним Советский богатырь, по адресу 4-39. При сопоставлении генотипов Магарач 10-51-1 и указанных родительских форм, обнаруживается, что сорт Катта-Курган подтверждается как родитель, сорт Кировобадский столовый не является родителем в связи с отсутствием общих аллелей в 5 из 9 маркерах. Также при сопоставлении генотипов сортов Кишмиш Магарача и Бессемянный Магарача с совокупностью генотипов Катта-Курган х Кировобадский столовый, выяснилось, что эти указанные сорта не могли быть прародителями при родительской форме Сверххранний бессемянный.

При дальнейшем анализе было определено, что сорта Сверххранний бессемянный и Магарач 10-51-1 могли быть родителями сорта Кишмиш Магарача, но не подходят по совокупному генотипу как родительские формы сорту Бессемянный Магарача из-за несоответствия в 2-х маркерах: VVMD7 и

VVMD25 (приложение II). Таким образом, можно утверждать, что для сортов Бессемянный Магараचा и Кишмиш Магарача подтвердилась родительская форма Сверххранний бессемянный, для сорта Кишмиш Магарача подтвердилась вторая родительская форма Магарач 10-51-1 (Советский богатырь), но сорт Кировобадский столовый не может быть прародителем рассматриваемых сортов.

Родительскими формами сорта **Советский бессемянный** (синоним «Магарач 467») могут быть Нимранг х Кишмиш черный (Темный, 1974). Исходя из полученных генетических профилей по 9 SSR-маркерам и учитывая кодоминантное наследование аллелей можно утверждать, что родительскими формами действительно являются сорта Нимранг и Кишмиш черный (таблица 12).

Родительские формы сорта «**Магарач 520**» неизвестны. Основываясь на установленном генетическом профиле сорта можно предположить, что родительскими формами являются также сорта Нимранг и Кишмиш черный. У сортов Магарач 520 и Нимранг (женский тип цветка) соответствуют также хлоротипы – С, сходна окраска ягод – розовая. Таким образом, сорт Советский бессемянный (Магарач 467) и Магарач 520 являются сибсами. В качестве дополнительного подтверждения, Сорт Радуга (Нимранг х Кишмиш черный) с розовой окраской ягод имеет синоним «Магарач №510» (Трошин с соавт., 2022; Темный, 1974).

У сорта **Красень** не подтверждаются обе родительские формы: Антей магарачский (отсутствие общих аллелей в 4-х из 6 маркеров) и Сверххранний бессемянный (отсутствие общих аллелей в 2-х из 9 маркеров). В базе VIVC отсутствуют генотипы сортов и форм, которые бы могли быть родителями сорта Красень. По редкому аллельному составу данный сорт близок к межвидовым гибридам, в частности произошедших от *Vitis amurens*. Хотя сорт Красень не является прямым потомком сорта Сверххранний бессемянный, но из-за наличия общих аллелей в 7 маркерах возможно их генетическое родство. Из бессемянных сортов только 7 из 55 исследуемых сортов обладают хлоротипом В, один из которых Красень (Лиховской с соавт., 2021).

У сорта **Ялтинский бессемянный** полностью подтвердилась заявленная родительская форма Кишмиш молдавский – в каждом из 9-ти маркеров идентифицированы общие аллели (таблица 12). Вторая родительская форма Магарах № 45-74-40 утрачена, утрачена также форма IV-6-9. Подтвердился как прародитель сорт Молдавский черный (рисунок 10), профиль которого под синонимом *Coarna neagra* содержится в VIVC (№2726). От этой формы был унаследован хлоротип В сортом Ялтинский бессемянный. Сорт Сейв Виллар 20-473 (синоним *Muscat de st. Vallier blanc*, VIVC №8210) также может быть прародителем.

У сорта **Южнобережный**, по имеющейся информации о происхождении сорта, одним из родителей является сорт Страшенский, что по результатам генотипирования не подтвердилось. Наличие общих аллелей у сортов наблюдается только в 4-х из 9 маркеров. Вторым родителем указана гибридная форма Магарах 53-75-57 (Зейбель 13666 x Саперави северный), которая утрачена. Для проведения сравнительного анализа был получен генетический профиль сорта Саперави северный, в базе VIVC взят профиль сорта Зейбель 13666. При сопоставлении генотипа сорта Южнобережный с генотипами двух указанных в происхождении форм – сортами Саперави северный и Зейбель 13666, выявлено, что в 4 из 9 маркеров нет общих аллелей. Таким образом, происхождение сорта Южнобережный не подтвердилось. Однако генетические профили сортов Ялтинский бессемянный и Южнобережный очень схожи, совпадает редкий хлоротип В. Также в каждом из 9-ти маркеров имеется общий аллель с сортом Кишмиш молдавский, есть общие аллели с сортом Молдавский черный. Таким образом, можно утверждать, что сорта Южнобережный и Ялтинский бессемянный имеют одно происхождение (Лиховской с соавт., 2021).

У сорта **Крымский бисер** родителями являются Подарок Запорожью (колх.) x Русбол улучшенный (колх.). Генетические профили сортов Подарок Запорожью и Русбол улучшенный не внесены в базу VIVC. Есть значительное генетическое сходство с сортом Сверххранный бессемянный: полное совпадение аллелей по 4-м маркерам и частичное по 3-м. По дендрограмме сорт расположен в кластере

межвидовых гибридов, что подтверждает происхождение от Сейв Виллар 12-375 (Лиховской с соавт., 2019; Лиховской с соавт., 2021).

Для элитной бессемянной формы **Партенитский** (№ 32-11-5-1) по полученному генетическому профилю подтверждено происхождение от сорта Аленушка (Черный палец). Профиль второй родительской формы – сорта Подарок Запорожью (Талисман х (V-70-90 + R-65) отсутствует в базе VIVC (Лиховской с соавт., 2023).

Согласно селекционным данным, сорт **Артек** был получен путем скрещивания сортов Сейв Виллар 20365 (Датье де Сен Валье) и Сверххранний бессемянный. Происхождение от бессемянного сорта подтвердилось по генетическому профилю, однако у второго известного родителя в двух маркерах нет общих аллелей с сортом Артек. Вторым родителем может являться сорт Виллар Блан (СВ 12-375) по полученному генетическому профилю, аллели которого точно дополняют аллели сорта Сверххранний бессемянный. Необходимо дополнительное генотипирование этих сортов и потенциальной родительской формы СВ 12-283 в связи с близким генотипов гибридов Сейв Виллар.

У сорта Альбина по генетическому профилю подтвердился родительский сорт Ромулус. Профиль второго родителя – сорта неустановленного происхождения Мускат Джим отсутствует, сорт утрачен, однако точно подходят к аллелям сорта Ромулус и дополняют профиль аллели сортов Мускат красный де Мадейра и Мускат чёрный Акви (Moscato nero di Acqui, Muscat rouge de Malaga), произошедшие от сорта Мускат белый (Muscat a petits grains blancs). Сорт Мускат красный де Мадейра, также как сорт Альбина, имеет розовый цвет ягод и женский тип цветка, хлоротип D.

У отобранного образца сорта Митридат полученный генетический профиль не имеет общих аллелей в 3-х маркерах с предполагаемым родительским сортом Аскери (Назели).

Результаты уточнения и установления происхождения сортов селекции ВНИИВиВ «Магарах» по результатам генотипирования SSR-маркерами представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Установление происхождения бессемянных сортов ВНИИВиВ «Магарац» по результатам генотипирования SSR-маркерами

Наименование сорта	Происхождение сорта по литературным источникам	Происхождение сорта по результатам генотипирования
Советский бессемянный	Нимранг х Кишмиш черный (предполож.)	Нимранг х Кишмиш черный
Магарац 520	–	Нимранг х Кишмиш черный
Кишмиш Магарача	Магарац 10-51-1(Катта-Курган х Кировобадский столовый) х Сверххранний бессемянный	Магарац 10-51-1 (Катта-Курган х ?) х Сверххранний бессемянный
Бессемянный Магарача	(Катта-Курган х Кировобадский столовый) х Сверххранний бессемянный	(Катта-Курган х ?) х Сверххранний бессемянный
Сверххранний бессемянный	Магарац 417 (Мускат красный де Мадейра х Халили белый) х Магарац 653 (Мадлен Анжевин х Ак яждона)	Магарац 653 (Мадлен Анжевин х Ак яждона) х Бессемянная форма
Красень (Магарац 90-83-1)	Антеи магарачский [Рубиновый Магарача (Каберне Совиньон х Саперави) х М.№85-64-16 (Перль нуар х <i>V. vinifera</i> L.)] х Сверххранний бессемянный	Межвидовой гибрид <i>Vitis amurensis</i> х Бессемянная форма (Сверххранний бессемянный)
Ялтинский бессемянный	Магарац № 45-74-40 [Молдавский черный х IV-6-9 (Сейв Виллар 20-473 св. опыления)] х Кишмиш молдавский	Магарац № 45-74-40 [Молдавский черный х IV-6-9 (Сейв Виллар 20-473 св. опыления)] х Кишмиш молдавский
Южнобережный бессемянный	Магарац 53-75-57 (Зейбель 13666 х Саперави северный) х Страшенский столовый	Магарац № 45-74-40 [Молдавский черный х IV-6-9 (Сейв Виллар 20-473 св. опыления)] х Кишмиш молдавский
Артек	Сейв Виллар 20365 (Датье де Сен Валье) х Сверххранний бессемянный	Виллар Блан (СВ 12-375) х Сверххранний бессемянный
Альбина	Мускат Джим х Ромулус	Мускат красный де Мадейра х Ромулус

4.1.4. Анализ происхождения бессемянных сортов АК «Магарач»

Анализ происхождения селекционных бессемянных сортов АК «Магарач» разной локации представлен в таблице Приложения И.

Подтвердилось происхождение сорта **Тарнау** от скрещивания сортов Кишмиш белый круглый и Нимранг на основе 9 SSR-маркеров и хлоротипа, сорт Кишмиш черный как первоначально указанный родитель исключен из родословной (таблица 16).

У сорта **Кишмиш мускатный** подтвердился один родитель – Мускат александрийский, и уточнен второй родитель – это сорт Кишмиш белый овальный (Султанина), у сорта Кишмиш белый круглый в генотипе отсутствует общий аллель по маркеру VVMD25.

Сорт **Коринка русская** по селекционным источникам получен от скрещивания Заря Севера x Кишмиш черный. Профиля сорта Заря севера нет в базе VIVC, однако по 9 SSR-маркерам сорта Кишмиш черный и Северный как родители точно соответствуют генотипу сорта Коринка русская. Этот вывод также подтверждается научным источником, где проведено генотипирование данных сортов (Ilnitskaya et al., 2023).

У сорта **Сюрприз** по результатам генотипирования подтвердились родители – сорта Чауш розовый и Кишмиш черный (таблица 16).

По полученному хлоротипу у сорта **Мечта** было дополнительно подтверждено его происхождение (Чауш розовый x Кишмиш черный) (VIVC, Карастан с соавт., 2015).

У сорта **Бессемянный Мельника** родителями считаются сорта Чауш белый и Кишмиш черный, что подтверждается по их генетическим профилям (таблица 16).

Полученный профиль сорта **Белградский бессемянный** из АК «Магарач» в каталоге VIVC соответствует профилю сорта Redjina (№9981) за исключением одного аллеля 234 п.н. маркера VVMD28 (таблица 16). Такой же аллель (при стандартизации по размеру аллелей с базой генотипов VIVC) был определен в работе Карастан О. с соавт. 2015г. для этого маркера (Карастан с соавт., 2015).

Наименование сорта *Redjina* в каталоге VIVC считается основным, наименование *Beogradska besemena* (№1143) – как дополнительное название сорта (VIVC; Alba et al., 2015). По библиографическим источникам сорт получен путем опыления сорта *Димят* (синонимы: *Смедеревка*, *Галан*) смесью пыльцы сортов *Султанина*, *Кишмиш белый*, *Италия*. Однако сорта *Димят*, *Италия*, *Кишмиш белый овальный* (*Султанина*), *Кишмиш белый круглый* по имеющимся и полученным профилям не могут быть родителями сорта *Белградский бессемянный*.

По результатам генотипирования сорта **Янги Ер** (*Кишмиш Янги Ер*) по 9 SSR-маркерам и хлоротипу подтвердилось происхождение сорта от скрещивания *Мадлен Анжевин* x *Аскери*.

У сорта **Ромулус** подтвердилось происхождение от сорта *Кишмиш белый овальный* (*Султанина*). Вероятнее всего, на основе маркерного анализа как указано в каталоге сортов VIVC, вторым родителем является сорт *Онтарио*, однако для этого маркер *VVMD25* должен быть гетерозиготным со вторым аллелем 249. Повторное генотипирование этого сорта и выявление его хлоротипа (предположительно В) позволит точно подтвердить происхождение (Карастан с соавт., 2015).

Кишмиш Иртышар по научным источникам получен путем гибридизации от скрещивания *Нимранг* x *Кишмиш черный*. Впервые определенный генетический профиль и хлоротип подтверждают это происхождение (таблица 16).

Профиль из АК «Магарач» бессемянного образца **Кишмиш Хишрау** (10-30) не соответствует профилю сорта базы VIVC, не имеет аналогов в базе и не отвечает известному происхождению. Однако профиль бессемянного неидентифицированного образца по адресу (26-87) полностью совпал с профилем сорта *Кишмиш Хишрау* из базы VIVC, что подтвердило его сортовое соответствие. Генетический профиль и хлоротип сорта *Кишмиш Хишрау* полностью соответствует генетическим профилям и хлоротипу его родителей – сортам *Нимранг* x *Кишмиш черный* (Лиховской с соавт., 2022).

Подтверждена сортовая принадлежность бессемянной формы **Конер** по адресу 27-120 АК «Магарах» с установленным происхождением Даттиер Ноир х Кишмиш белый овальный (VIVC; Лиховской с соавт., 2022). Также подтвердилась сортовая принадлежность формы **Эйнсет сидлис** (хлоротип В) по адресу 28-52 АК «Магарах» с установленным происхождением Фредония х Конер.

У сорта **Бессемянный гибрид V-6**, который в базе VIVC зарегистрирован под названием Nedeltcheff Magvatlana (№5727), по результатам генотипирования подтвердился один из родителей – сорт Италия, второй родитель, известный по библиографическим источникам, как сорт Кишмиш белый овальный (Султанина) не подтвердился. По генетическому профилю в качестве родителя подходит сорт Султанина Болгарии (VIVC, Karastan et al., 2018].

Установлена сортовая принадлежность к сорту **Бессемянный гибрид VI-4** 2-х бессемянных форм по адресам коллекции 27-12, 20-83 с различием в одном аллеле с профилем базы VIVC на 2 п.н. в маркере VVMD25. Считается, что сорт Бессемянный гибрид VI-4 произошел в результате скрещивания сортов Италия и Кишмиш белый овальный (Султанина). Однако генетический профиль сорта Бессемянный гибрид VI-4 по 6 маркерам не имеет общих аллелей с сортом Кишмиш белый овальный (Султанина). Вторым родителем является по генетическому профилю сорт Султанина Болгарии (Лиховской с соавт., 2022).

Происхождение сорта **Кишмиш молдавский** от скрещивания сортов Победа х Кишмиш розовый подтверждается с помощью маркерного анализа.

Подтвердилось происхождение сорта **Розовый бисер** от женской формы Мадлен Анжевин по 9 SSR-маркерам и хлоротипу. По генетическому профилю на роль второго родителя из всех бессемянных сортов подходит только сорт Кишмиш черный. Такие же родители у сорта Ранний Магараха (Магарах 372).

На основании впервые определенного профиля у сорта **Кишмиш уникальный** (Северный х Кишмиш черный) профиль первого указанного родителя соответствует кодоминантному наследованию аллелей, профиль

второго родителя не соответствует этому принципу. Точное соответствие по профилю для второго родителя найдено у сорта Кишмиш белый круглый. Фенотип черной окраски кожуры ягод был унаследован от сорта Северный.

У сорта **Кишмиш лучистый** (Кардинал х Кишмиш розовый) по полученному профилю и хлоротипу подтвердились оба указанных родителя.

Также по полученному профилю и хлоротипу у сорта **Сирануш** подтвердились родительские формы: Катта-Курган х Кишмиш розовый.

Полученный генетический профиль **Кишмиш ВИРа** (Бабара х Кишмиш черный) по адресу 7-98 АК «Магарач» отличается от приведенного профиля в базе VIVC, кроме того указано иное происхождение сорта (Barbara х Kishmish chernyi). Похожий генетический профиль сорта Кишмиш ВИРа как на АК «Магарач» был получен Карастан О.М. с соавт. (Карастан с соавт., 2015) на ампелографической коллекции Национального научного центра «Институт виноградарства и виноделия им. В.Е. Таирова».

Сорт Бабара не может быть родителем в связи с отсутствием общих аллелей с сортом Кишмиш ВИРа по 4 маркерам (Карастан с соавт., 2015). Как и для сорта Ранний ВИРа родительской парой, исходя из их генотипов, вероятно являются сорта Чауш белый и Кишмиш черный.

Ранее у сорта **Рушаки** с помощью анализа по ДНК-маркерам установлено, что родительской парой сортов являются не Мсхали и Араксени черный, а Мсхали и Кишмиш белый овальный (Султанина) (VIVC; Карастан с соавт., 2015). Это подтверждает полученный общий хлоротип у сорта Рушаки и Мсхали.

Результаты установления и подтверждения происхождения бессемянных сортов АК «Магарач» разной локации по результатам генотипирования SSR-маркерами и хлоротипу сведены в таблицу 17.

Таблица 17 – Результаты установления происхождения бессемянных сортов АК «Магараж» по результатам генотипирования SSR-маркерами и хлоротипу

Наименование сорта	Происхождение сорта по литературным источникам	Происхождение сорта по результатам генотипирования
Тарнау	Нимранг х Кишмиш черный	Нимранг х Кишмиш белый круглый
Кишмиш мускатный	Мускат александрийский х Кишмиш белый	Мускат александрийский х Кишмиш белый овальный (Султанина)
Коринка русская	Заря Севера х Кишмиш черный	Северный х Кишмиш черный
Сюрприз	Чауш розовый и Кишмиш черный	Чауш розовый и Кишмиш черный
Мечта	Чауш розовый х Кишмиш черный	Чауш розовый х Кишмиш черный
Бессемянный Мельника	Чауш белый х Кишмиш черный	Чауш белый х Кишмиш черный
Белградский бессемянный	Смедеревка (синонимы: Димят, Галан) х (смесь пыльцы Султанина, Кишмиш белый, Италия)	—
Янги Ер	Мадлен Анжевин х Аскери	Мадлен Анжевин х Аскери
Ромулус	Онтарио х Кишмиш белый овальный	Онтарио х Кишмиш белый овальный
Кишмиш Иртышар	Нимранг х Кишмиш черный	Нимранг х Кишмиш черный
Кишмиш Хишрау	Нимранг х Кишмиш черный	Нимранг х Кишмиш черный
Бессемянный гибрид V-6	Италия х Кишмиш белый овальный (Султанина)	Италия х Султанина Болгарии
Бессемянный гибрид VI-4	Италия х Кишмиш белый овальный (Султанина)	Италия х Султанина Болгарии
Кишмиш молдавский	Победа х Кишмиш розовый	Победа х Кишмиш розовый
Розовый бисер	Мадлен Анжевин (свободное опыление)	Мадлен Анжевин х Кишмиш черный
Кишмиш уникальный	Северный х Кишмиш черный	Северный х Кишмиш белый круглый
Кишмиш лучистый	Кардинал х Кишмиш розовый	Кардинал х Кишмиш розовый
Сирануш	Катта-Курган х Кишмиш розовый	Катта-Курган х Кишмиш розовый
Кишмиш ВИРа	Бабара х Кишмиш черный	Чауш белый х Кишмиш черный
Рушаки	Мсхали х Араксени черный	Мсхали х Кишмиш белый овальный (Султанина)

Общая дендрограмма 51 бессемянного сорта АК «Магарач» по генетическим профилям из 9 SSR-маркеров представлена на рисунке 12. Сорта собственной селекции выделены синим цветом, стародавние кишмиши – красным цветом, межвидовые гибриды – с добавлением обозначения «MG».

Сорта разделились на 3 корневых кластера: 2 больших и 1 малый, состоящий из только двух сортов – межвидовых гибридов *Vitis amurensis*. В первом большом кластере находится Кишмиш белый овальный с группой производных сортов и Кишмиш черный, во втором кластере – Кишмиш белый круглый с своей группой сортов (выделено красным).

Межвидовые гибриды в 2 образовавшихся кластерах распределились равномерно. Все три сорта с хлоротипом А расположились во втором кластере: Султанина кипрская, Перлетт и Белградский бессемянный. Сорта с хлоротипом В распределились равномерно.

Потомки сорта Кишмиш черный сгруппировались в один подкластер первого кластера вместе с этим сортом: Кишмиш ВИРа, Кишмиш Иртышар, Кишмиш Хишрау, Бессемянный Мельника, Сюрприз, Магарач-520. Кроме сортов Мечта и Советский бессемянный, которые расположились вместе во втором кластере, рядом с сортом Тарнау, у которого общий родитель с сортом Советский бессемянный. Потомки древних сортов Кишмиш белый овальный (Султанина) и Кишмиш белый круглый не собрались вместе в подкластеры в связи с похожим генотипом этих сортов – общими аллелями в каждом маркере.

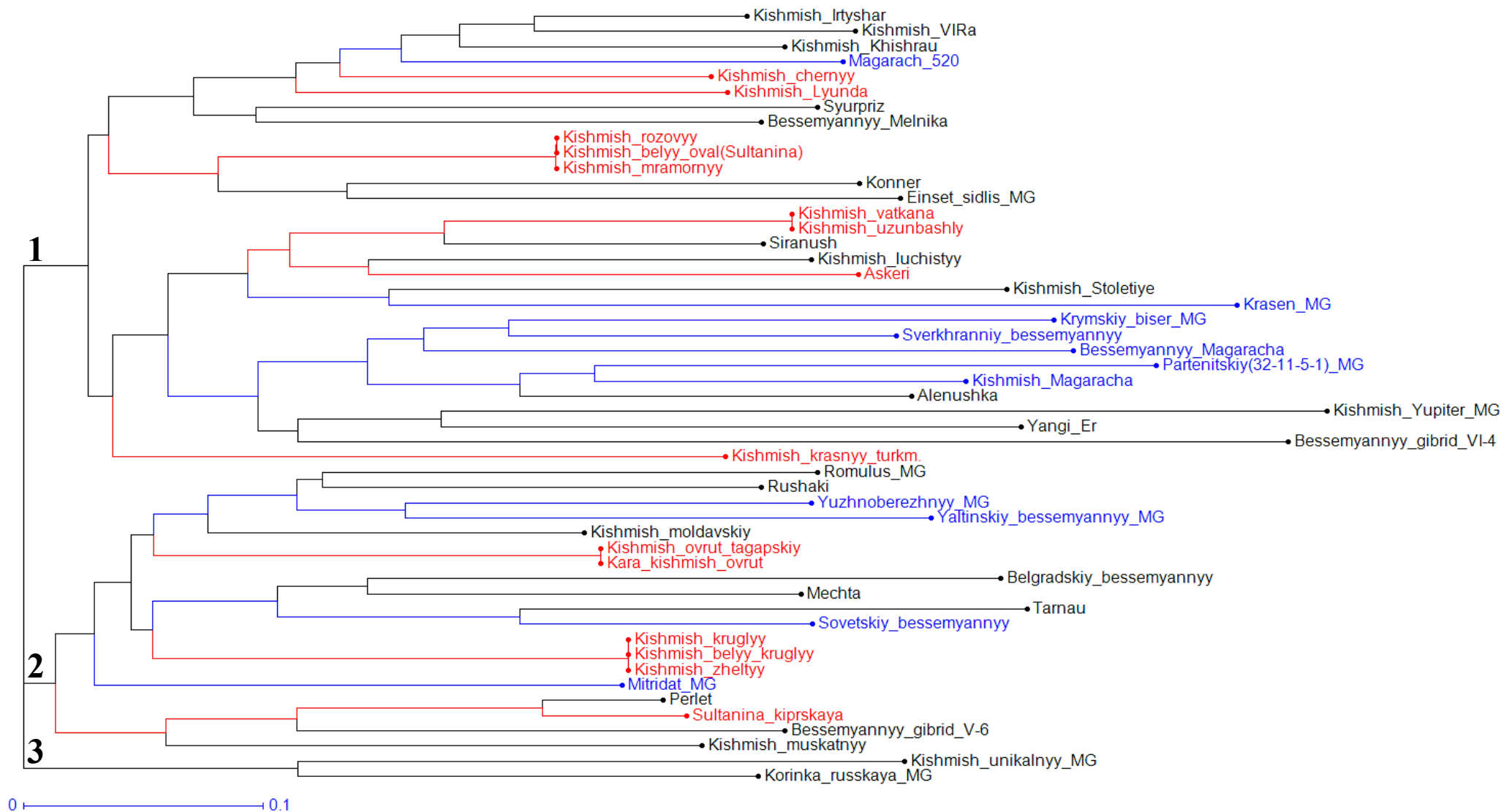


Рисунок 12 – Дендрограмма 51 бессемянного сорта АК «Магарач» по генетическим профилям из 9 SSR-маркеров. Сорта собственной селекции выделены синим цветом, стародавние кишмиши – красным цветом, межвидовые гибриды – с добавлением обозначения «MG»

Таким образом, в результате проведения молекулярно-генетической паспортизации по стандартным 9 ядерным и 3 хлоропластным SSR-маркерам 57 бессемянных сортов Ампелографической коллекции «Магарач» подтверждена сортовая принадлежность 27 имеющихся бессемянных сортов, 3 образца, определены как несоответствующие заявленному сорту и исключены из дальнейших исследований. По 28-ти сортам впервые получены генетические профили, которые отсутствуют в базе генотипов международного каталога сортов VIVC, из них 11 – селекции института «Магарач». По 6 сортам генетические профили дополнены до 9 маркеров. Также по 49 бессемянным сортам получены хлоротипы, которые отсутствуют в базе VIVC.

По результатам генотипирования 15-ти стародавних бессемянных сортов АК «Магарач» установлено, что сорт Кишмиш белый овальный (Султанина) является либо может является родителем всех изученных стародавних бессемянных сортов, что согласуется с ранее сделанными выводами о происхождении всех бессемянных стеноспермокарпических сортов.

На основе кодоминантного типа наследования SSR-маркеров подтверждено либо уточнено происхождение 10 сортов селекции института «Магарач». Также подтверждено либо уточнено происхождение 20 бессемянных сортов различного происхождения, что имеют большую ценность для анализа полученных признаков. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что сорт Кишмиш белый овальный, вариации (Кишмиш розовый), а также его другие кишмишные сорта, которые являются или могут быть его потомками (Кишмиш черный, Кишмиш белый круглый) являются родителями либо исходными формами изученных бессемянных сортов.

4.2. Генотипирование и подтверждение происхождения гибридов популяций скрещивания

Для подтверждения происхождения гибридных форм, установления однородности популяций и выявления возможных чужеродных примесей было проведено генотипирование гибридных форм 3-х популяций, полученных по

схеме скрещивания «семенной х бессемянный»: (Флора х Руби сидлис, Подарок Запорожью х Аленушка, Восторг красный х Юпитер) и одной популяции «семенной х семенной» (Талисман х Экзотик) опытного участка пгт. Партенит. Дополнительно для подтверждения родительских форм было выполнено генотипирование сортов Флора, Аленушка (Черный палец), Юпитер, Талисман (Кеша). Генетические профили сортов Руби сидлис и Экзотик были взяты из международного каталога сортов VIVC. Сорт Подарок Запорожью отсутствует в АК «Магарач». Генотипирование выполнено по стандартному набору из 9 ядерных и 3 хлоропластных SSR-маркеров.

Данные исследования выполнены с целью использования гибридных форм популяций с точно установленным происхождением для дальнейшего определения эффективности молекулярно-генетических маркеров по определению бессемянности и идентификации полиморфизма локуса SDI, чтобы устранить возможное искажение результатов.

В популяции, полученной по схеме скрещивания «семенной х бессемянный», Флора х Руби сидлис проведено генотипирование всех имеющихся в популяции 24 гибридных форм. Результаты генотипирования представлены в таблице 18. В нижней части таблицы для сопоставления представлены генетические профили и хлоротип указанных родительских форм: сортов Флора и Руби сидлис. На основании полученных результатов можно утверждать, что все гибриды данной популяции являются потомками одних родителей (сибсы). По генетическому профилю и хлоротипу были подтверждены как родительские формы популяции сорта Флора и Руби сидлис. Чужеродные примеси в популяции отсутствуют.

Таблица 18 – Генотипы гибридов популяции скрещивания «семенной х бессемянный» Флора х Руби сидлис

№ п/п	Адрес гибридной формы / родительские формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоротип
		VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
		A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
1	Ф х РС 34-11-7-28	141	151	230	238	239	243	249	255	186	195	244	258	272	272	188	188	249	257	C
2	Ф х РС 34-11-7-29	141	151	238	238	239	243	249	255	186	195	244	258	264	272	188	188	249	259	C
3	Ф х РС 34-11-7-30	135	151	230	238	239	253	249	249	195	195	244	268	264	272	188	188	249	259	C
4	Ф х РС 34-11-7-31	133	135	238	240	239	253	239	249	195	195	244	268	272	272	188	188	249	257	C
5	Ф х РС 34-11-7-32	133	135	230	240	243	249	239	249	186	195	244	258	272	272	188	204	249	257	C
6	Ф х РС 34-11-7-33	141	151	238	240	249	253	249	255	186	195	244	258	272	272	188	204	249	259	C
7	Ф х РС 34-11-7-34	141	151	238	240	239	243	249	255	195	195	244	258	264	272	188	188	249	259	C
8	Ф х РС 34-11-7-35	133	141	230	238	239	253	239	255	195	195	244	258	264	272	188	188	249	259	C
9	Ф х РС 34-11-7-36	133	135	230	240	249	253	239	249	186	195	244	268	272	272	188	204	249	257	C
10	Ф х РС 34-11-7-37	135	151	238	240	249	253	249	249	195	195	244	258	264	272	188	204	249	259	C
11	Ф х РС 34-11-7-38	133	135	230	240	239	253	239	249	195	195	244	268	272	272	188	188	249	257	C
12	Ф х РС 34-11-7-39	135	151	230	238	239	243	249	249	186	195	244	268	272	272	188	188	249	257	C
13	Ф х РС 34-11-7-40	141	151	230	240	243	249	249	255	186	195	244	258	264	272	188	204	249	259	C
14	Ф х РС 34-11-7-41	135	151	230	238	239	243	249	249	195	195	244	258	264	272	188	188	249	257	C
15	Ф х РС 34-11-7-42	135	151	230	238	249	253	249	249	186	195	244	258	272	272	188	204	249	259	C
16	Ф х РС 34-11-7-43	135	151	230	238	249	253	249	249	186	195	244	258	272	272	188	204	249	259	C
17	Ф х РС 34-11-7-45	141	151	238	240	239	253	249	255	195	195	244	258	264	272	188	188	249	259	C
18	Ф х РС 34-11-7-48	133	135	238	240	249	253	239	249	195	195	244	268	264	272	188	204	249	259	C
19	Ф х РС 34-11-7-49	133	135	238	240	239	243	239	249	195	195	244	258	272	272	188	188	249	257	C
20	Ф х РС 34-11-7-50	133	141	230	240	243	249	239	255	186	195	244	268	272	272	188	204	249	257	C
21	Ф х РС 34-11-7-51	133	141	230	240	243	249	239	255	186	195	244	268	272	272	188	204	249	257	C
22	Ф х РС 34-11-7-52	133	141	230	240	243	249	239	255	186	195	244	268	272	272	188	204	249	257	C
23	Ф х РС 34-11-7-54	141	151	238	240	239	253	249	255	186	195	244	258	272	272	188	188	249	259	C
24	Ф х РС 34-11-7-55	133	135	230	240	239	253	239	249	195	195	244	268	264	272	188	188	249	259	C
1	Флора	135	141	238	240	243	253	249	255	186	195	244	244	272	272	188	188	249	249	C
2	Руби сидлис	133	151	230	238	239	249	239	249	195	195	258	268	264	272	188	204	257	259	D

В популяции скрещивания «семенной х бессемянный» Подарок Запорожью х Аленушка (Черный палец) проведено генотипирование всех имеющихся в популяции 18 гибридных форм. Результаты генотипирования представлены в таблице 19. По полученным генетическим профилям можно утверждать, что все гибридные формы данной популяции являются потомками одних родителей (сибсы), кроме гибрида 32-11-5-3, так как в его профиле выявлены в 7-ми из 9-ти маркеров аллели, не встречающиеся в генотипах популяции (выделены жирным шрифтом). По полученным профилям популяции гибридных форм подтверждена одна бессемянная родительская форма – сорт Аленушка (Черный палец). Вычлененный профиль второго родителя из совокупности профилей потомков и сорта Аленушка отсутствует в каталоге VIVC. Родительскими формами чужеродной гибридной формы 32-11-5-3 могут быть семенные сорта Талисман (Кеша) и Экзотик, чьи профили и хлоротип точно соответствуют данной форме (Лиховской b с соавт., 2024).

В популяции скрещивания «семенной х бессемянный» Восторг красный х Юпитер проведено генотипирование всех имеющихся в популяции 25 гибридных форм. Результаты генотипирования представлены в таблице 20, генотипы предполагаемых родительских форм размещены внизу таблицы. Среди 25 гибридов определено 6 гибридных форм с единичными и редко встречаемыми аллелями в этой популяции, что указывает на чужеродное происхождение этих гибридных форм (в таблице выделены жирным шрифтом). У 3-х из них (36-11-7-1, 36-11-7-13, 36-11-7-17) обнаружены только им принадлежащие единично встречающиеся аллели. Для 4-х гибридных форм из 6-ти (36-11-7-2, 36-11-7-9, 36-11-7-13 и 36-11-7-24) точно подходят по генотипу как родительские формы – сорта Талисман и Кишмиш Столетие.

Оставшиеся гибридные формы являются потомками одних родителей (сибсы). Сорта Юпитер и Восторг красный не являются родителями гибридных форм этой популяции из-за отсутствия общих аллелей во всех маркерах (в таблице 20 общие маркеры подчеркнуты).

Таблица 19 – Генотипы гибридных форм популяции скрещивания Подарок Запорожью х Аленушка

№ п/п	Адрес гибридной формы / родительские формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоротип
		VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
		A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
1	ПЗ х А 32-11-4-51	135	155	234	240	253	253	245	249	195	195	218	244	272	272	186	188	249	251	С
2	ПЗ х А 32-11-4-52	135	135	236	238	243	253	249	255	195	195	244	258	272	272	188	188	249	257	С
3	ПЗ х А 32-11-4-53	135	135	234	238	243	249	249	255	195	195	218	244	272	272	188	188	249	251	С
4	ПЗ х А 32-11-4-54	135	135	234	240	243	249	249	255	195	195	244	258	272	272	188	188	249	251	С
5	ПЗ х А 32-11-4-55	135	155	236	238	253	253	245	249	186	195	244	258	272	272	186	188	249	257	С
6	ПЗ х А 32-11-4-56	135	155	236	240	253	253	245	249	195	195	218	244	272	272	188	188	249	257	С
7	ПЗ х А 32-11-4-57	135	141	234	240	249	253	255	255	195	195	218	244	250	272	188	188	249	257	С
8	ПЗ х А 32-11-4-58	141	155	236	240	249	253	245	255	195	195	218	244	250	272	186	188	249	251	С
9	ПЗ х А 32-11-5-1	135	141	234	238	243	253	255	255	195	195	218	244	272	272	188	188	249	257	С
10	ПЗ х А 32-11-5-2	135	155	234	238	243	249	245	249	195	195	244	258	272	272	188	188	249	251	С
11	ПЗ х А 32-11-5-3	135	149	228	240	239	249	249	255	184	195	254	258	240	272	186	188	247	257	С
12	ПЗ х А 32-11-5-4	135	135	234	238	243	253	249	255	195	195	218	244	250	272	186	188	249	257	С
13	ПЗ х А 32-11-5-5	135	155	234	238	243	253	245	249	186	195	244	258	272	272	186	188	249	257	С
14	ПЗ х А 32-11-5-6	141	155	236	240	253	253	245	255	186	195	244	258	272	272	186	188	249	251	С
15	ПЗ х А 36-11-5-7	135	135	234	240	243	249	249	255	195	195	244	258	250	272	188	188	249	257	С
16	ПЗ х А 32-11-5-8	135	155	236	238	243	249	245	249	186	195	244	258	272	272	188	188	249	257	С
17	ПЗ х А 32-11-5-9	141	155	234	238	243	253	245	255	186	195	244	258	272	272	188	188	249	257	С
18	ПЗ х А 32-11-5-10	135	155	236	238	253	253	245	249	195	195	218	244	272	272	188	188	249	257	С
1	Подарок Запорожью (предполагаемый)	135	141	238	240	243	253	249	249/ 255	186	195	244	244	272	272	186	188	249	249	С
2	Аленушка	135	155	234	236	249	253	245	255	195	195	218	258	250	272	188	188	251	257	С

Таблица 20 – Генотипы гибридных форм популяции скрещивания Восторг красный х Юпитер

№ п/п	Адрес гибридной формы / родительские формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоротип
		VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
		A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
1	ВК х Ю 36-11-7-1	135	149	228	238	239	249	249	255	180	184	236	258	240	252	186	194	247	255	C
2	ВК х Ю 36-11-7-2	135	135	228	238	239	239	239	255	184	195	218	258	240	272	188	194	251	255	C
3	ВК х Ю 36-11-7-3	133	143	238	240	251	251	241	255	186	190	234	258	240	272	194	194	251	261	C
4	ВК х Ю 36-11-7-4	135	135	228	240	249	251	245	255	186	190	234	234	272	272	194	200	251	261	C
5	ВК х Ю 36-11-7-5	135	143	228	234	239	251	245	255	180	180	258	258	272	272	194	194	249	255	C
6	ВК х Ю 36-11-7-6	133	143	238	240	239	251	241	255	180	190	234	258	240	272	194	194	249	261	C
7	ВК х Ю 36-11-7-7	135	135	228	240	251	251	245	255	186	190	234	234	272	272	194	194	249	261	C
8	ВК х Ю 36-11-7-8	135	143	238	238	239	239	255	255	186	186	258	258	240	252	188	194	251	251	C
9	ВК х Ю 36-11-7-9	135	149	240	240	239	239	239	249	180	184	218	258	252	272	188	188	251	255	C
10	ВК х Ю 36-11-7-10	135	143	238	240	239	249	245	255	180	190	234	234	272	272	194	200	249	261	C
11	ВК х Ю 36-11-7-11	135	135	238	240	239	249	245	255	186	190	234	258	240	272	194	200	251	261	C
12	ВК х Ю 36-11-7-12	135	143	234	238	239	249	245	255	186	190	234	258	272	272	194	200	251	261	C
13	ВК х Ю 36-11-7-13	135	149	238	240	239	239	239	249	184	195	218	258	240	264	188	188	247	247	C
14	ВК х Ю 36-11-7-14	133	135	228	234	251	251	241	255	180	190	234	258	272	272	194	194	249	261	C
15	ВК х Ю 36-11-7-15	133	143	228	240	239	251	241	255	180	186	234	234	272	272	194	194	251	255	C
16	ВК х Ю 36-11-7-16	135	135	228	234	239	251	245	255	180	190	258	258	240	272	194	194	249	261	C
17	ВК х Ю 36-11-7-17	133	143	238	266	235	251	239	255	186	186	234	254	256	272	190	194	247	249	C
18	ВК х Ю 36-11-7-19	133	143	238	240	249	251	241	255	186	190	258	258	272	272	194	200	251	261	C
19	ВК х Ю 36-11-7-20	135	143	238	240	239	251	245	255	186	190	258	258	272	272	194	194	251	261	C
20	ВК х Ю 36-11-7-22	135	135	234	238	239	249	245	255	180	190	234	258	240	272	194	200	249	261	C
21	ВК х Ю 36-11-7-23	133	143	228	234	249	251	241	255	180	180	258	258	272	272	194	200	249	261	C
22	ВК х Ю 36-11-7-24	135	149	240	240	239	239	249	255	186	195	218	258	240	272	188	188	247	247	C
23	ВК х Ю 36-11-7-25	135	143	238	240	251	251	245	255	180	190	258	258	272	272	194	194	249	261	C
24	ВК х Ю 36-11-7-26	133	143	228	234	239	249	241	255	180	186	258	258	240	272	194	200	251	255	C
25	ВК х Ю 36-11-7-27	135	135	228	234	251	251	245	255	180	186	258	258	240	272	194	194	251	255	C

Окончание таблицы 20

№ п/п	Адрес гибридной формы / родительские формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоротип
		VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
		A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
1	Восторг красный	<u>135</u>	145	<u>228</u>	<u>238</u>	<u>239</u>	<u>249</u>	<u>239</u>	<u>255</u>	<u>186</u>	<u>195</u>	<u>258</u>	268	<u>240</u>	<u>272</u>	<u>186</u>	<u>188</u>	<u>251</u>	259	C
2	Кишмиш Юпитер	125	<u>135</u>	<u>240</u>	<u>240</u>	<u>235</u>	247	<u>255</u>	<u>255</u>	<u>180</u>	<u>186</u>	244	246	<u>240</u>	<u>256</u>	202	204	<u>255</u>	264	D
3	Талисман	135	<u>149</u>	<u>228</u>	<u>240</u>	<u>239</u>	239	<u>249</u>	<u>255</u>	<u>184</u>	<u>186</u>	<u>258</u>	258	<u>240</u>	<u>252</u>	<u>188</u>	<u>194</u>	<u>247</u>	<u>251</u>	C
4	Кишмиш Столетие	<u>135</u>	135	<u>238</u>	<u>240</u>	<u>239</u>	239	<u>239</u>	<u>255</u>	<u>180</u>	<u>195</u>	<u>218</u>	236	<u>264</u>	<u>272</u>	<u>188</u>	188	<u>247</u>	<u>255</u>	D

В популяции, полученной по схеме скрещивания «семенной х семенной», Талисман х Экзотик были генотипированы 42 гибридные формы. Результаты генотипирования представлены в таблице 21. В нижней части таблицы размещены для сравнения генетические профили предполагаемых родителей – сортов Талисман и Экзотик. По полученным генетическим профилям можно утверждать, что все гибридные формы данной популяции являются потомками одних родителей (сибсы), кроме гибрида 31-11-5-56. Сорта Талисман и Экзотик были подтверждены как родительские формы данной популяции.

В профиле гибридной формы 31-11-5-56 выявлены 3 аллеля (выделены жирным шрифтом), не встречающиеся в генотипах популяции. Родительскими формами этой гибридной формы по генетическому профилю могут быть сорта Талисман и Отэм роял сидлис.

Таким образом, по результатам генотипирования была подтверждена однородность популяции Флора х Руби сидлис и происхождение от указанных родительские формы. В популяции Подарок Запорожью х Аленушка было подтверждено происхождение гибридов от указанной материнской родительской формы с выделением одного чужеродного семенного гибрида. В популяции Восторг красный х Юпитер родительские формы не подтвердились. Выявилась неоднородность популяции, для 4 гибридных форм были установлены по генотипу родительские формы с бессемянной материнской формой (Талисман х Кишмиш Столетие). Для популяции семенных сортов Талисман х Экзотик подтвердились однородность и происхождение от родительских форм кроме одной чужеродной гибридной формы.

Таблица 21 – Генотипы гибридных форм популяции скрещивания «семенной х семенной» Талисман х Экзотик

№ п/п	Адрес гибридной формы / родительские формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоротип
		VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
		A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
1	Т х Э 31-11-5-11	135	135	228	240	239	239	255	255	184	186	244	258	240	256	192	194	247	257	C
2	Т х Э 31-11-5-13	135	149	228	240	239	239	249	255	186	195	254	258	252	256	192	194	251	251	C
3	Т х Э 31-11-5-14	135	149	228	240	239	239	255	255	186	195	254	258	252	272	192	194	251	257	C
4	Т х Э 31-11-5-15	135	149	228	240	239	239	249	255	186	186	254	258	252	272	188	192	251	251	C
5	Т х Э 31-11-5-16	135	149	228	240	239	239	249	255	186	195	254	258	240	256	192	194	251	251	C
6	Т х Э 31-11-5-17	135	149	240	240	239	249	249	255	186	195	244	258	252	272	188	188	251	257	C
7	Т х Э 31-11-5-18	135	135	240	240	239	239	255	255	184	195	254	258	252	256	188	192	247	257	C
8	Т х Э 31-11-5-19	135	149	228	240	239	239	249	255	186	186	254	258	240	272	188	192	251	251	C
9	Т х Э 31-11-5-21	135	135	240	240	239	249	255	255	184	186	254	258	252	256	188	192	247	257	C
10	Т х Э 31-11-5-22	135	149	228	240	239	249	249	255	184	195	254	258	240	256	186	194	247	257	C
11	Т х Э 31-11-5-23	135	149	240	240	239	239	249	255	184	186	254	258	240	256	192	194	247	251	C
12	Т х Э 31-11-5-24	135	149	228	240	239	249	249	255	186	186	244	258	252	272	186	194	251	251	C
13	Т х Э 31-11-5-25	135	135	240	240	239	249	255	255	186	195	244	258	252	272	186	188	251	257	C
14	Т х Э 31-11-5-26	135	149	240	240	239	239	249	255	184	186	254	258	252	272	192	194	247	257	C
15	Т х Э 31-11-5-27	135	149	240	240	239	239	249	255	184	186	254	258	240	256	188	192	247	251	C
16	Т х Э 31-11-5-28	135	135	240	240	239	239	255	255	184	195	244	258	252	272	192	194	251	257	C
17	Т х Э 31-11-5-29	135	149	228	240	239	249	249	255	184	186	254	258	240	256	186	194	247	251	C
18	Т х Э 31-11-5-30	135	149	240	240	239	239	249	255	186	186	244	258	240	272	192	194	251	251	C
19	Т х Э 31-11-5-31	135	149	228	240	239	239	249	255	184	195	254	258	252	256	192	194	247	251	C
20	Т х Э 31-11-5-32	135	149	240	240	239	239	249	255	186	195	244	258	240	256	188	192	251	257	C
21	Т х Э 31-11-5-33	135	135	228	240	239	249	255	255	184	195	244	258	252	256	186	188	247	251	C
22	Т х Э 31-11-5-34	135	135	228	240	239	239	255	255	186	195	254	258	240	272	192	194	251	257	C
23	Т х Э 31-11-5-35	135	135	228	240	239	239	255	255	184	195	244	258	240	272	188	192	247	257	C
24	Т х Э 31-11-5-36	135	149	228	240	239	249	249	255	184	186	244	258	252	256	186	188	247	251	C
25	Т х Э 31-11-5-37	135	135	240	240	239	239	255	255	186	195	254	258	252	272	188	192	251	257	C
26	Т х Э 31-11-5-38	135	135	240	240	239	249	255	255	184	195	244	258	252	256	186	194	251	257	C

Окончание таблицы 21

№ п/п	Адрес гибридной формы / родительские формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоротип
		VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
		A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
27	Т х Э 31-11-5-39	135	149	240	240	239	249	249	255	184	195	254	258	252	272	186	194	251	257	C
28	Т х Э 31-11-5-40	135	135	228	240	239	249	249	255	184	195	244	258	252	256	186	188	247	257	C
29	Т х Э 31-11-5-42	135	135	240	240	239	249	255	255	186	186	254	258	240	272	186	194	251	251	C
30	Т х Э 31-11-5-43	135	135	228	240	239	249	255	255	184	186	244	258	240	256	186	194	251	251	C
31	Т х Э 31-11-5-44	135	149	240	240	239	239	249	255	186	195	254	258	240	272	192	194	251	257	C
32	Т х Э 31-11-5-45	135	149	240	240	239	249	249	255	184	186	254	258	252	272	186	194	247	251	C
33	Т х Э 31-11-5-46	135	135	228	240	239	239	255	255	186	186	244	258	252	256	192	194	251	251	C
34	Т х Э 31-11-5-47	135	135	240	240	239	239	255	255	184	186	254	258	240	272	192	194	247	251	C
35	Т х Э 31-11-5-48	135	135	240	240	239	239	255	255	186	195	254	258	240	256	192	194	251	257	C
36	Т х Э 31-11-5-50	135	149	240	240	239	249	249	255	186	186	254	258	240	256	186	188	251	251	C
37	Т х Э 31-11-5-51	135	135	228	240	239	239	255	255	186	195	244	258	240	272	188	192	251	257	C
38	Т х Э 31-11-5-52	135	135	228	240	239	239	255	255	184	186	244	258	240	272	192	194	247	251	C
39	Т х Э 31-11-5-53	135	149	240	240	239	239	249	255	184	195	244	258	252	256	192	194	247	257	C
40	Т х Э 31-11-5-54	135	149	228	240	239	239	249	255	186	186	254	258	252	272	192	194	251	251	C
41	Т х Э 31-11-5-55	135	135	228	240	239	249	255	255	186	195	254	258	252	272	186	194	251	257	C
42	Т х Э 31-11-5-56	135	151	236	240	239	249	249	255	182	184	244	258	252	272	186	194	247	247	C
1	Талисман (Кеша)	135	149	228	240	239	239	249	255	184	186	258	258	240	252	188	194	247	251	C
2	Экзотик	135	135	240	240	239	249	255	255	186	195	244	254	256	272	186	192	251	257	C

ГЛАВА 5. УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ СТЕНОСПЕРМОКАРПИЧЕСКОЙ БЕССЕМЯННОСТИ У ВИНОГРАДА

5.1. Валидация эффективности молекулярно-генетических маркеров по идентификации бессемянности у винограда

5.1.1. Валидация эффективности маркеров по идентификации бессемянности на бессемянных и семенных сортах

В исследовательской работе были использованы 2 наиболее эффективных согласно научным источникам (Mejía et al., 2011; Bergamini et al., 2013; Спотарь, Гориславец, 2021) молекулярно-генетических маркера по идентификации бессемянности: p3_VvAGL11 и VMC7F2. Валидация их эффективности проводилась на 115 сортах и формах АК «Магарач», селекционных участков ЮБК: 50 бессемянных и 65 семенных сортах. Результаты исследования приведены в таблице 22. Использованные образцы сортов прошли проверку сортового соответствия с помощью генотипирования по 9 SSR-маркерам и хлоротипу за исключением 10 семенных сортов, указанных в таблице 22.

В исследования был включен широкий генофонд сортов и форм различного происхождения, большая часть из которых сорта и формы отечественного генофонда, которые ранее не изучались по аллельному составу данных маркеров. В число 50 бессемянных сортов входят 13 сортов и форм селекции института «Магарач»; 15 азиатских стародавних бессемянных сортов (кишмиши); 9 сортов селекции восточноевропейских стран (РФ, Украина, Молдова, Болгария, Югославия); 6 сортов селекции Узбекистана; 2 сорта Армении и 5 сортов селекции США. В число 65 семенных сортов входят 5 сортов селекции института «Магарач»; 7 аборигенных сортов Крыма; 11 аборигенных сортов РФ, стран Средней Азии и Кавказа; 9 сортов селекции восточноевропейских стран (РФ, Украина, Молдова, Болгария); 26 селекционных сорта Западной и Южной Европы; 3 подвойных сорта; 2 дикорастущие формы Крыма (Спотарь с соавт., 2024).

Таблица 22 – Результаты генотипирования с применением маркеров по идентификации бессемянности бессемянных и семенных сортов

№ п/п	Наименование сорта	Маркеры по бессемянности			
		p3_VvAGL11		VMC7F2	
Бессемянные сорта и формы – 50 шт.					
1	Кишм. белый овальн. (Султанина)	188	198	198	200
2	Кишмиш белый круглый	188	198	198	202
3	Сверхранний бессемянный	192	198	198	202
4	Советский бессемянный	192	198	198	204
5	Кишмиш черный	192	198	198	202
6	Кишмиш Магарача	198	198	198	198
7	Кишмиш ВИРа	178	198	198	204
8	Кишмиш узунбашлы	188	198	198	200
9	Кишмиш оврут тагапский	188	198	198	200
10	Кишмиш красный туркменский	188	198	198	200
11	Митридат	188	198	198	200
12	Кишмиш лучистый	188	198	198	200
13	Магарач-520	192	198	198	204
14	Кишмиш люнда	188	198	198	200
15	Бессемянный Магарача	198	198	198	198
16	Эйнсет сидлис	198	198	196	198
17	Султанина кипрская	188	198	198	200
18	Сирануш	198	198	198	198
19	Ромулус	198	198	196	198
20	Мечта	198	198	198	198
21	Рушаки	188	198	198	200
22	Кишмиш молдавский	176	198	198	206
23	Бессемянный гибрид V	188	198	198	200
24	Перлетт	188	198	198	200
25	Кишмиш Ваткана	188	198	198	200
26	Янги Ер	188	198	198	200
27	Белградский бессемянный	188	198	198	200
28	Кишмиш розовый	188	198	198	200
29	Кишмиш мраморный	188	198	198	200
30	Бессемянный Мельника	178	198	198	204
31	Кишмиш желтый	188	198	198	202
32	Ялтинский бессемянный	176	198	198	202
33	Южнобережный	176	198	198	202
34	Сюрприз	198	198	198	198
35	Коринка русская	186	198	198	200
36	Кишмиш мускатный	176	198	198	206
37	Красень	186	198	198	202
38	Кара Кишмиш оврут	188	198	198	200
39	Тарнау	192	198	198	204
40	Кишмиш Иртышар	192	198	198	204
41	Аскери	188	198	198	200
42	Аленушка	176	198	198	206
43	Артек	184	198	198	210

Продолжение таблицы 22

№ п/п	Наименование сорта	Маркеры по бессемянности			
		p3_VvAGL11		VMC7F2	
44	Альбина	188	198	198	200
45	Крымский бисер	188	198	198	200
46	Партенитский (М №32-11-5-1)	188	198	198	200
47	Кишмиш белый тагопский	188	198	198	200
48	Розовый бисер	188	198	198	200
49	Кишмиш Юпитер	198	198	196	198
50	Кишмиш Столетие	188	198	198	200
Семенные сорта и формы – 65 шт.					
1	Хусайне розовый *	188	188	200	200
2	Чауш белый	178	198	198	204
3	Чочвах *	188	188	200	200
4	Кара палван *	178	188	200	204
5	Гурдай гов турконы *	188	188	200	200
6	Тита Намдвили *	188	188	200	200
7	Ркацител	176	188	200	204
8	Шабагиль Цибил *	186	188	200	202
9	Гюляби Дагестанский *	178	188	200	204
10	Хусайне белый	184	184	210	210
11	Мускат донской	188	190	198	200
12	Плечистик	178	178	204	204
13	Алый тёрский	188	188	200	202
14	Восторг красный	188	188	200	200
15	Флора (Лора)	184	188	200	210
16	Талисман (Кеша)	184	188	200	210
17	Саперави северный	188	188	200	200
18	Муромец	188	188	200	200
19	Черный Крымский *	188	188	200	204
20	Крона	178	188	200	204
21	Кокур белый	178	188	200	204
22	Мисгюли кара *	178	188	202	204
23	Кок пандас	188	188	200	202
24	Полковник изюм	188	188	200	202
25	Мускат крымский *	184	188	200	210
26	Цитронный Магарача	184	192	204	210
27	Бастардо магарачский	188	188	204	204
28	Спартанец Магарача	184	188	200	210
29	Советский богатырь (М. 10-51-1)	188	198	198	200
30	Крымский ранний (Магарач 532)	188	196	198	200
31	Молдова	184	198	198	210
32	Дунавски лазур	184	188	200	210
33	Дунавска Гымза	184	188	200	210
34	Рислинг рейнский	188	192	200	204
35	Пти Мансан	188	190	200	200
36	Барбера nera	188	188	200	200
37	Аринарноа	188	188	200	200

Окончание таблицы 22

№ п/п	Наименование сорта	Маркеры по бессемянности			
		p3_VvAGL11		VMC7F2	
38	Пти Вердо	188	188	200	200
39	Темпранильо	188	188	200	200
40	Италия	188	188	200	200
41	Пино черный	188	188	200	200
42	Пино белый	188	188	200	200
43	Шардоне	178	188	200	204
44	Вионье	188	196	198	200
45	Каберне Совиньон	188	196	198	200
46	Марселан	188	196	198	200
47	Совиньон блан	188	196	198	200
48	Шенен блан	188	196	198	200
49	Сира	188	196	198	200
50	Вердельо	188	188	200	200
51	Верментино	188	192	200	204
52	Санджовезе	188	188	200	200
53	Мальбек (Кот)	188	188	200	200
54	Турига Франка	188	188	200	200
55	Зимфандель (Примитиво)	188	188	202	202
56	Каберне Фран	188	188	200	200
57	Кайетана бланка (Альбилю)	188	188	202	202
58	Монарх	182	188	200	200
59	Мюллер-Тургау	188	192	200	204
60	Виллар Блан / СВ 12-375	184	184	194	210
61	Гравесак (подвой)	180	180	200	200
62	Феркаль (подвой)	176	178	194	202
63	Шасла х Берландиери 41Б (подвой)	188	188	194	200
64	Дикорастущая форма №1, Крым Алимова балка, с. Баштановка	188	188	200	200
65	Дикорастущая форма №2, Крым Алимова балка, с. Баштановка	188	188	200	200

* – Сорта АК «Магарач», по которым не проводилась сортовая идентификация по результатам генотипирования с помощью 9 ядерных и 3 хлоропластных SSR-маркеров

В таблице 22 аллель 198 п.н., сцепленный с фенотипом бессемянности, выделен жирным шрифтом. По результатам исследований маркеры p3_VvAGL11 и VMC7F2 показали абсолютную эффективность в определении бессемянности у 50 бессемянных сортов и форм без ложноотрицательных результатов. У всех бессемянных сортов и форм выявлен аллель 198 п.н. по двум валидируемым маркерам (Спотарь, Гориславец, 2021).

При тестировании на 65 семенных сортах и формах маркер VMC7F2 допустил 11 ложноположительных результатов на следующих семенных сортах: Вионье, Каберне Совиньон, Марселан, Совиньон блан, Шенен блан, Сира, Мускат донской, Чауш белый, Советский богатырь (Магарач 10-51-1), Крымский ранний (Магарач 532) и Молдова, что составляет 16,92% ложноположительных результатов. На рисунке 13 представлены для сравнения результаты генотипирования сортов Кишмиш белый овальный (бессемянный), Каберне Совиньон (семенной) и Вионье (семенной) с выделенными аллелями маркера p3_VvAGL11 (синий) и VMC7F2 (зеленый), сцепленными с признаком бессемянности. У семенных сортов наблюдаются ложные бессемянные аллели маркера VMC7F2, маркер p3_VvAGL11 не допускает ошибочных результатов.

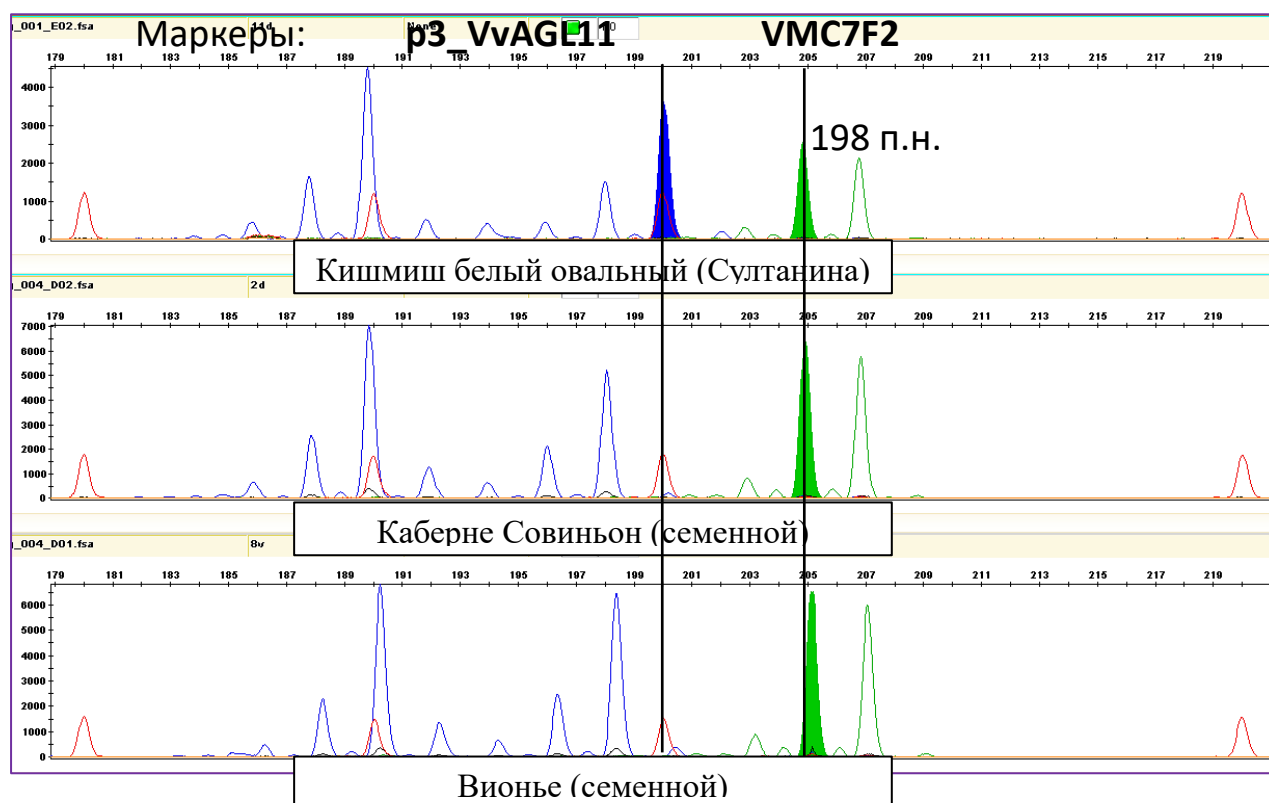


Рисунок 13 – Сравнительные результаты генотипирования сортов Кишмиш белый овальный (бессемянный), Каберне Совиньон (семенной) и Вионье (семенной) с выделенными аллелями маркера p3_VvAGL11 (синим) и VMC7F2 (зеленым), сцепленными с бессемянностью. У семенных сортов наблюдаются ложные бессемянные аллели маркера VMC7F2.

При анализе происхождения сортов, имеющих ложноположительный аллель по маркеру VMC7F2, выяснилось, что сорт Марселан получен от сорта Каберене Совиньон, который в свою очередь произошел от сорта Совиньон блан. А Совиньон блан получен от сорта Саваньен блан (Траминер белый). От этого же сорта получен и сорт Шенен Блан, также несущий ложноположительный аллель (VIVC). Схема происхождения сортов представлена на рисунке 14. Можно предположить, что источником ложноположительного аллеля 198 п.н. является сорт Саваньен блан. Сорта Вионье (неизвестного происхождения) и Сира (Мондез Бланш x Дюреза) возможно также имеют общее происхождение с некоторыми из перечисленных сортов. Подтверждено по результатам генотипирования, что сорт Крымский ранний произошел от родительской пары Мускат красный де Мадейра и Халили белый, поэтому один из этих сортов может быть носителем ложноположительного аллеля 198 п.н. по маркеру VMC7F2.

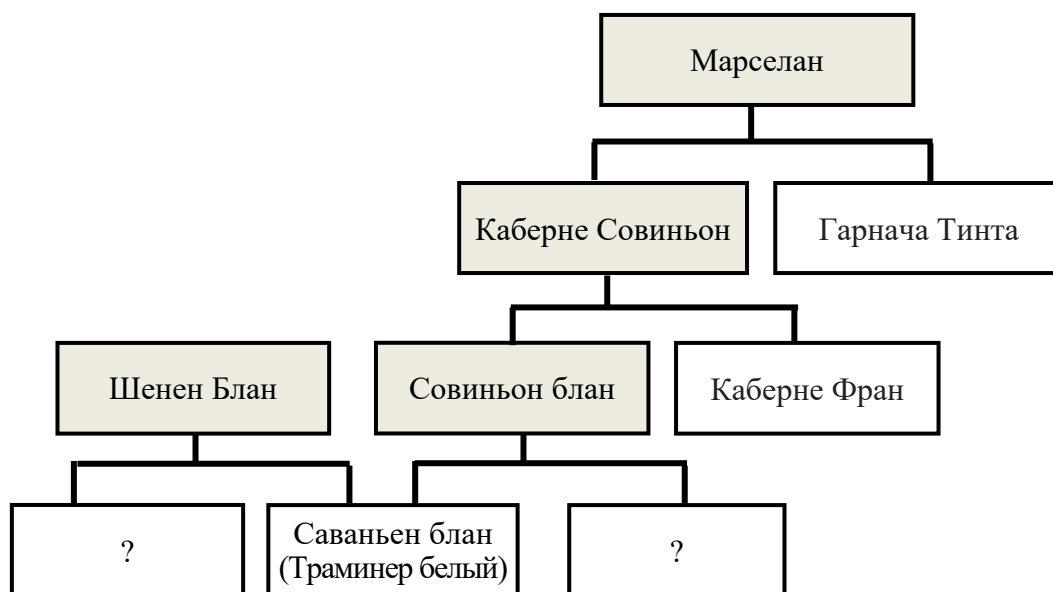


Рисунок 14 – Схема происхождения 4-х сортов, имеющих ложноположительный аллель по бессемянности маркера VMC7F2 (выделены серым)

При тестировании на 65 семенных сортах и формах маркер p3_VvAGL11 допустил 3 ложноположительных результата на сортах Чауш белый, Советский богатырь и Молдова, выявив аллель 198 п.н., сцепленный с фенотипом бессемянности, что составляет 4,62% ложноположительных результатов. На

рисунке 15 представлены результаты генотипирования с выделением аллелей, сцепленных с фенотипом бессемянности, маркеров p3_VvAGL11 (синим) и VMC7F2 (зеленым) семенного сорта Молдова (вверху) и для сравнения бессемянного сорта Артек (внизу).

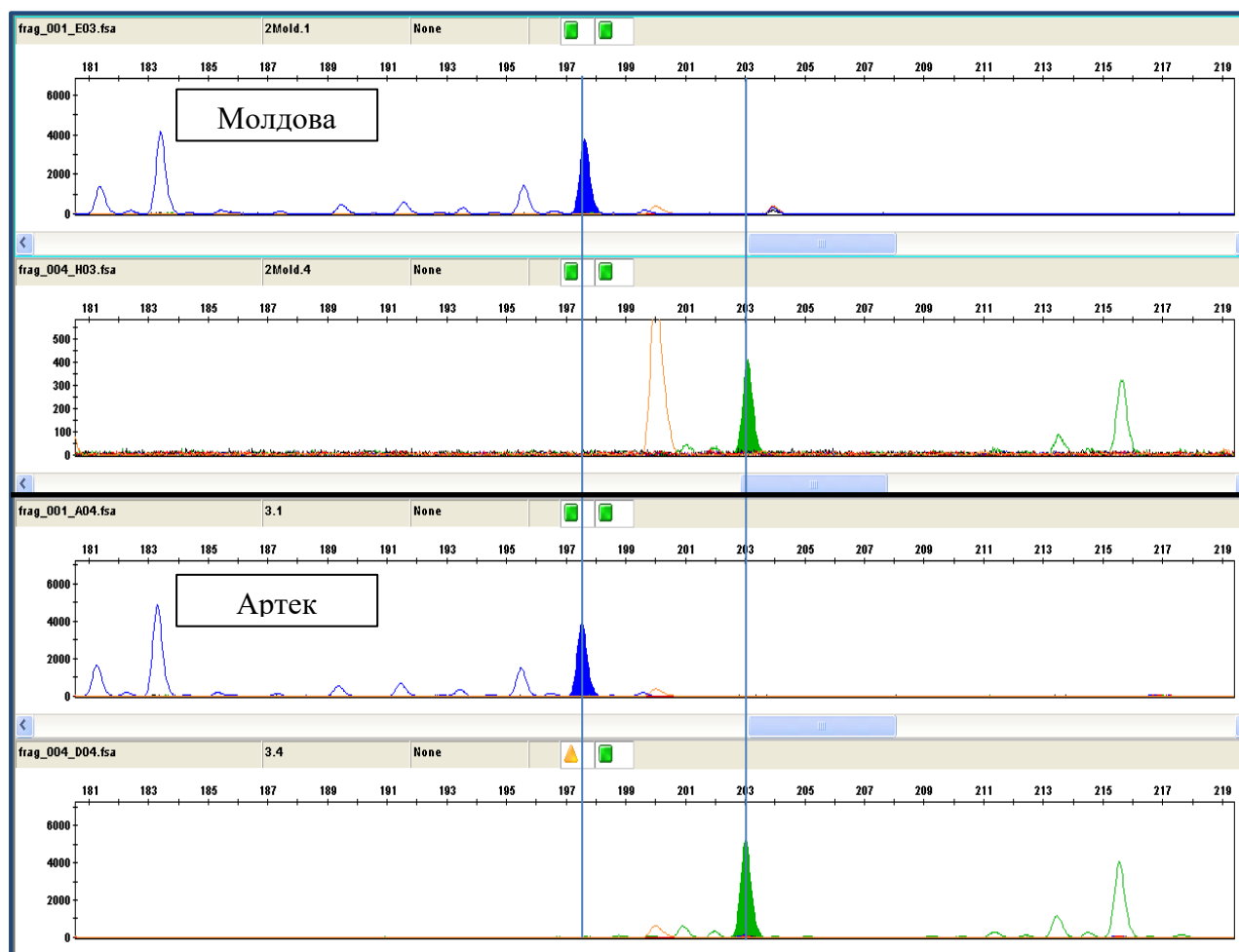


Рисунок 15 – Фореграммы с выделенными аллелями маркеров p3_VvAGL11 (синий) и VMC7F2 (зеленый) семенного сорта Молдова (вверху) и для сравнения бессемянного сорта Артек (внизу)

Для выяснения происхождения ложных бессемянных аллелей у сорта Молдова был генотипирован предполагаемый родитель сорта Молдова – сорт Виллар Блан (СВ 12-375) из АК «Магарач». Генетический профиль второго родителя – сорта Гузаль кара взят из базы каталога сортов VIVC. По результатам генотипирования была подтверждена принадлежность образца АК «Магарач» к сорту Виллар Блан (СВ 12-375) и соответствие генотипов родителей генотипу сорта Молдова (таблица 23).

Таблица 23 – Результаты генотипирования по 9 SSR-маркерам и маркерам по идентификации бессемянности семенных сортов с ложным бессемянным аллелем и родительских форм

Наименование сорта, формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		p3_VvAGL 11		VMC7F2	
	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79					
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2
Молдова, MOLDOVA №7896	<u>133</u>	<u>135</u>	<u>238</u>	<u>242</u>	<u>243</u>	<u>251</u>	<u>241</u>	<u>255</u>	<u>182</u>	<u>195</u>	<u>228</u>	<u>236</u>	<u>252</u>	<u>256</u>	<u>188</u>	<u>194</u>	<u>255</u>	<u>257</u>	<u>184</u>	198	198	<u>210</u>
Виллар Блан (CB 12-375), VILLARD BLANC №13081	<u>133</u>	143	234	<u>238</u>	237	<u>251</u>	<u>241</u>	255	<u>182</u>	190	234	<u>236</u>	240	<u>256</u>	180	<u>194</u>	<u>255</u>	261	<u>184</u>	184	194	<u>210</u>
GUZAL KARA №5150	<u>135</u>	151	228	<u>242</u>	<u>243</u>	247	249	<u>255</u>	186	<u>195</u>	<u>228</u>	234	<u>252</u>	272	<u>188</u>	204	251	<u>257</u>	-	-	-	-
Чауш белый, CHAOUCH BLANC № 10196	135	151	230	240	247	249	249	255	180	184	258	258	252	272	188	204	247	249	178	198	198	204
Советский богатырь (Магарач 10-51-1)	135	151	234	242	253	259	245	249	186	195	234	258	256	272	186	188	243	257	188	198	198	200

От сорта Виллар Блан (СВ 12-375) были унаследованы сортом Молдова аллель 184 п.н. маркера p3_VvAGL11 и аллель 210 п.н. маркера VMC7F2. Соответственно можно сделать вывод, что сортом Молдова ложные аллели бессемянности 198 п.н. у этих маркеров были получены от родителя Гузаль кара. Данный семенной сорт селекции Среднеазиатской опытной станции ВИРа был получен по схеме скрещивания Катта Курган х Додреляби. Сорт Советский богатырь также произошел от сорта Катта Курган.

Необходимо отметить также, что 8 бессемянных сортов: Кишмиш Магарача, Бессемянный Магарача, Сирануш, Мечта, Сюрприз, Эйнсет сидлис, Ромулус и Кишмиш Юпитер, содержат в маркере p3_VvAGL11 2 аллеля 198 п.н. Данные сорта получены от скрещивания семенного сорта с бессемянным, следовательно один из аллелей 198 п.н. был ими получен от родительского семенного сорта и является ложноположительным. При анализе происхождения данных сортов, было выявлено, что сорта Кишмиш Магарача, Бессемянный Магарача, Сирануш произошли от сорта Катта Курган, от которого произошел и сорт Молдова с ложноположительным аллелем (рисунок 16). Таким образом можно считать, что источником ложноположительного аллеля у бессемянных сортов является сорт Катта Курган.

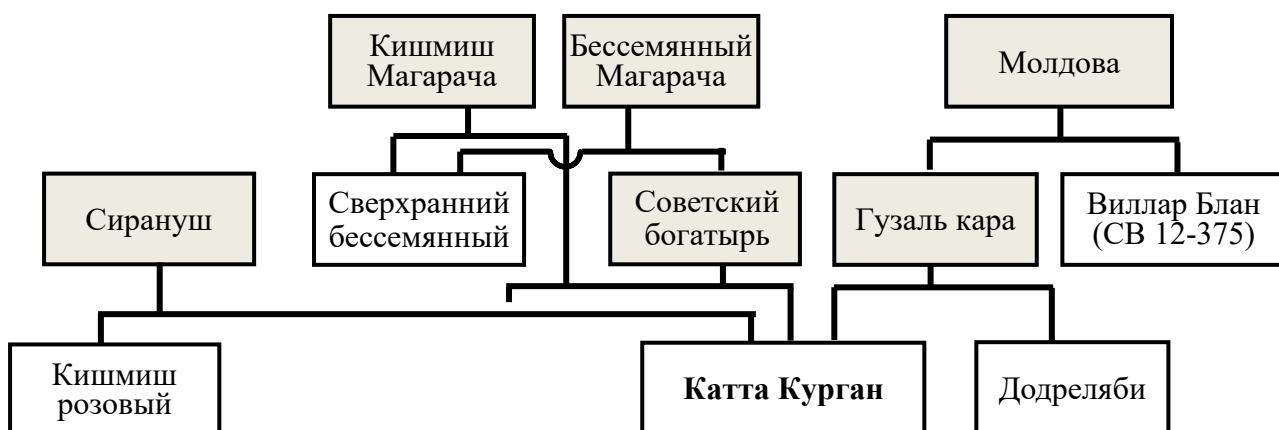


Рисунок 16 – Схема происхождения сортов, имеющих ложноположительный аллель по бессемянности маркера p3_VvAGL11 (выделены серым)

Сорта Мечта и Сюрприз являются потомками сорта Чауш белый (таблица 23), который также показал себя источником ложноположительного аллеля.

Сорта Эйнсет сидлис, Ромулус и Кишмиш Юпитер – межвидовые гибриды, полученные от североамериканских дикорастущих форм.

Эффективность применения маркеров p3_VvAGL11 и VMC7F2 по валидации на 115 бессемянных и семенных сортах и формах представлена в таблице 24 (Спотарь с соавт., 2024).

Таблица 24 – Эффективность применения маркеров для идентификации бессемянности по определению бессемянных и семенных сортов

Маркеры по бессемянности	Доля ошибочных результатов	
	ложноотрицательных	ложноположительных
p3_VvAGL11	0 %	4,6% (3 шт.)
VMC7F2	0 %	16,9% (11 шт.)

Данные исследования подтвердили полезность маркеров p3_VvAGL11 и VMC7F2 для идентификации стenosпермокарпической бессемянности при использовании аборигенных и селекционных сортов Крыма и Средней Азии.

Аллельный состав для двух молекулярно-генетических маркеров по бессемянности при генотипировании бессемянных и семенных сортов и форм представлен таблице 25.

Таблица 25 – Аллельный состав для маркеров по бессемянности

Маркеры по бессемянности	Аллельный состав (п.н.):	
	для бессемянных форм	для семенных форм
p3_VvAGL11	176, 178, 184, 186, 188, 192, 198	176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 196, 198
VMC7F2	196, 198 , 200, 202, 204, 206, 210	194, 198 , 200, 202, 204, 210

Mejia с соавт. (2011) у маркера p3_VvAGL11 выявили 6 различных аллелей (176, 188, 190, 192, 196 и 198 п.н.). Bergamini C. с соавт. (2013) выявил восемь различных аллелей для данного маркера размером 176; 178; 184; 188; 190; 192; 196; 198 п.н., аллели 178 и 184 обнаружены впервые. Карастан О.М. с соавт. (2015) было выявлено 10 аллелей маркера, из них, как указано в работе, 2 аллеля ранее не опубликованные: 164 и 186 п.н., возможно, из-за включения в

исследования потомков *V. amurensis* Ruprech. В нашей работе дополнительно выявлено еще 2 аллеля: 180 п.н. у подвоя Гравесак и 182 п.н. у сорта Монарх.

Корреляции между аллельным составом по маркерам и фенотипическим проявлением бессемянности (категорией бессемянности) у исследуемых сортов не обнаружено.

Таким образом, была определена эффективность двух ранее предложенных маркеров по идентификации бессемянности на 115 сортах различного происхождения, включая ранее не исследованные сорта селекции института «Магарач», среднеазиатские и восточноевропейские сорта. Эффективность лучшего из маркеров *p3_VvAGL11* составила 4,6% ложноположительных результатов, что не обеспечивает необходимую надежность в селекционной работе. Были определены семенные сорта с аллелем 198 п.н., которые будут давать ложноположительный результат при генотипировании. По маркеру *VMC7F2* 11 сортов, в том числе Мускат донской, Чауш белый, Советский богатырь (Магарач 10-51-1), Крымский ранний (Магарач 532) и Молдова. По маркеру *p3_VvAGL11* 3 сорта: Чауш белый, Советский богатырь и Молдова. Семенные сорта Чауш белый, а также Катта-Курган и Саваньен блан (Траминер белый) выделены как источники ложноположительного аллеля 198 п.н. у произошедших от них сортов.

На основании полученных результатов исследований разработана и прошла государственную регистрацию информационная база «База генотипов сортов на основе маркеров MAS по бессемянности АК «Магарач», включающая 98 генотипов сортов (Приложение А).

5.1.2. Валидация эффективности маркеров по идентификации бессемянности на гибридах популяций

Для валидации эффективности молекулярно-генетических маркеров p3_VvAGL11 и VMC7F2 выполнено генотипирование гибридных форм популяций, полученных по схеме скрещивания «семенной х бессемянный»: «Флора х Руби сидлис» (24 шт.), «Подарок Запорожью х Аленушка» (18 шт.) и «Восторг красный х Юпитер» (25 шт.) и популяции, полученной по схеме скрещивания «семенной х семенной» «Талисман х Экзотик» (42 шт.). Всего в 4-х популяциях исследовано 109 гибридных форм (Likhovskoi et al., 2023).

В популяции «Флора х Руби сидлис» из 24 шт. гибридных форм у 12 обнаружен аллель 198 п.н. (выделен жирным шрифтом), сцепленный с признаком бессемянности (соотношение гибридов 1:1). Результаты генотипирования приведены в таблице 26. За время наблюдений плодоношение фиксировалось в этой популяции только у 4-х гибридных форм: 34-11-7-35, 34-11-7-36, 34-11-7-38 и 34-11-7-39 (таблица 26). При выполнении сопоставления генотипа бессемянности, полученного с помощью молекулярно-генетических маркеров, с фенотипом проявления бессемянности у гибридов (таблица 9) были получены следующие результаты: гибридные формы 34-11-7-36 и 34-11-7-38, отнесенные по фенотипу к семенным, не имеют в генотипе аллеля 198 п.н., сцепленного с бессемянностью; гибридные формы 34-11-7-35 и 34-11-7-39, имеющие IV и I категории бессемянности соответственно, имеют в генотипе аллель 198 п.н., сцепленный с признаком бессемянности (Лиховской с соавт., 2022; Likhovskoi et al., 2023).

Из гибридов, не вступивших в плодоношение, в популяции «Флора х Руби сидлис», в соответствии с обнаруженным аллелем 198 п.н., бессемянными являются, кроме указанных, еще 10 форм: 34-11-7-29, 34-11-7-32, 34-11-7-33, 34-11-7-34, 34-11-7-42, 34-11-7-43, 34-11-7-50, 34-11-7-51, 34-11-7-52, 34-11-7-55.

Таблица 26 – Результаты генотипирования с применением маркеров по бессемянности популяции «Флора х Руби сидлис» в сопоставлении с фенотипическими характеристиками проявления бессемянности

№ п/п	Адреса гибридных форм	Маркеры по бессемянности				Средняя масса руди- ментов, мг	Категория бессе- мянности
		p3_VvAGL11		VMC7F2			
1	ФхРС 34-11-7-28	184	188	200	210	Не плодоносит	—
2	ФхРС 34-11-7-29	188	198	198	200	Не плодоносит	—
3	ФхРС 34-11-7-30	188	188	200	200	Не плодоносит	—
4	ФхРС 34-11-7-31	184	188	200	210	Не плодоносит	—
5	ФхРС 34-11-7-32	188	198	198	200	Не плодоносит	—
6	ФхРС 34-11-7-33	184	198	198	210	Не плодоносит	—
7	ФхРС 34-11-7-34	188	198	198	200	Не плодоносит	—
8	ФхРС 34-11-7-35	188	198	198	200	16.4	IV
9	ФхРС 34-11-7-36	184	188	200	210	119.4	Семенной
10	ФхРС 34-11-7-37	188	188	200	200	Не плодоносит	—
11	ФхРС 34-11-7-38	188	188	200	200	76,9	Семенной
12	ФхРС 34-11-7-39	188	198	198	200	5.3	I
13	ФхРС 34-11-7-40	188	188	200	200	Не плодоносит	—
14	ФхРС 34-11-7-41	188	188	200	200	Не плодоносит	—
15	ФхРС 34-11-7-42	188	198	198	200	Не плодоносит	—
16	ФхРС 34-11-7-43	188	198	198	200	Не плодоносит	—
17	ФхРС 34-11-7-45	184	188	200	210	Не плодоносит	—
18	ФхРС 34-11-7-48	188	188	200	200	Не плодоносит	—
19	ФхРС 34-11-7-49	188	188	200	200	Не плодоносит	—
20	ФхРС 34-11-7-50	188	198	198	200	Не плодоносит	—
21	ФхРС 34-11-7-51	188	198	198	200	Не плодоносит	—
22	ФхРС 34-11-7-52	188	198	198	200	Не плодоносит	—
23	ФхРС 34-11-7-54	188	188	200	200	Не плодоносит	—
24	ФхРС 34-11-7-55	188	198	198	200	Не плодоносит	—

В популяции «Подарок Запорожью х Аленушка» из 17 гибридных форм, с исключением формы 32-11-5-3 как чужеродной, у 9 форм обнаружен аллель 198 п.н., сцепленный с признаком бессемянности (таблица 27). Наблюдается Менделевское расщепление по признаку бессемянности близкое 1:1 (Лиховской b с соавт., 2024).

В плодоношение вступили 8 гибридных форм (таблица 27). Из них с помощью маркеров были определены как бессемянные следующие гибриды: 32-11-5-1, 32-11-5-7 и 32-11-5-9, что полностью соответствует полученным фенотипическим наблюдениям. Данные формы отнесены к I, II и III категориям бессемянности соответственно. Гибридные формы 32-11-5-2, 32-11-5-4, 32-11-5-5 и 32-11-5-6, а также чужеродная форма 32-11-5-3 отнесены к семенному генотипу, что также подтверждается фенотипическими исследованиями.

В популяции «Подарок Запорожью х Аленушка», по результатам генотипирования, бессемянными являются, кроме указанных, еще 6 форм, не вступивших в плодоношение: 32-11-4-52, 32-11-4-53, 32-11-4-55, 32-11-4-56, 32-11-4-57, 32-11-5-8.

Оставшиеся 10 гибридных форм популяции «Флора х Руби сидлис» и 5 форм популяции «Подарок Запорожью х Аленушка», определенные с помощью маркеров как семенные, могут быть исключены из селекционного процесса получения бессемянных сортов.

В 2-х рассмотренных популяциях из 41 гибрида с помощью маркеров 21 форма определена как бессемянная (51%), 20 – как семенные. Таким образом, применение в селекционных программах на бессемянность молекулярно-генетических маркеров позволяет сократить в 2 раза без потери бессемянных форм занимаемые площади виноградных насаждений, соответствующие трудовые и энергозатраты от 3-7-ти и более лет.

Таблица 27 – Результаты генотипирования с применением маркеров по бессемянности популяции «Подарок Запорожью х Аленушка» в сопоставлении с фенотипическими характеристиками проявления бессемянности

№ п/п	Адреса гибридных форм	Маркеры по бессемянности				Средняя масса руди- ментов, мг	Категория бессе- мянности
		p3_VvAGL11		VMC7F2			
1	ПЗхА 32-11-4-51	176	188	200	206	Не плодоносит	—
2	ПЗхА 32-11-4-52	188	198	198	200	Не плодоносит	—
3	ПЗхА 32-11-4-53	188	198	198	200	Не плодоносит	—
4	ПЗхА 32-11-4-54	176	184	206	210	Не плодоносит	—
5	ПЗхА 32-11-4-55	188	198	198	200	Не плодоносит	—
6	ПЗхА 32-11-4-56	188	198	198	200	Не плодоносит	—
7	ПЗхА 32-11-4-57	184	198	198	210	Не плодоносит	—
8	ПЗхА 32-11-4-58	176	188	200	206	Не плодоносит	—
9	ПЗхА 32-11-5-1	188	198	198	200	6.02	I
10	ПЗхА 32-11-5-2	176	184	206	210	72.4	Семенной
11	ПЗхА 32-11-5-3*	184	188	200	210	68.5	Семенной
12	ПЗхА 32-11-5-4	176	188	200	206	79.3	Семенной
13	ПЗхА 32-11-5-5	176	188	200	206	81.0	Семенной
14	ПЗхА 32-11-5-6	176	184	206	210	125.2	Семенной
15	ПЗхА 32-11-5-7	184	198	198	210	10.7	III
16	ПЗхА 32-11-5-8	184	198	198	210	Не плодоносит	—
17	ПЗхА 32-11-5-9	184	198	198	210	11.0	III
18	ПЗхА 32-11-5-10	176	188	200	206	Не плодоносит	—

* – чужеродная примесь в популяции на основании полученного генетического профиля

У популяции «Восторг красный х Юпитер» по результатам генотипирования 25 гибридных форм аллель 198 п.н., сцепленный с бесплодностью, найден только в чужеродных гибридных формах (таблица 28). Родителями четырех из них (36-11-7-2, 36-11-7-9, 36-11-7-13 и 36-11-7-24), как было установлено, могут являться сорта Талисман и Кишмиш Столетие. По маркеру p3_VvAGL11 указанный аллель определен в 2-х гибридных формах: 36-11-7-2, 36-11-7-24; по маркеру VMC7F2 – в 3-х гибридных формах: 36-11-7-2, 36-11-7-17, 36-11-7-24. Расхождение между маркерами выявлено в гибридной форме 36-11-7-17, где маркер p3_VvAGL11 имеет аллель 196 п.н.

Всего в популяции «Восторг красный х Юпитер» вступило в плодоношение 17 из 25 гибридных форм. Из 3-х форм, указанных маркером VMC7F2 как бесплодные, плодоносила только форма 36-11-7-17, которая имеет семенной фенотип. Таким образом, маркер VMC7F2 показал ложноположительный результат, в отличие от маркера p3_VvAGL11. Остальные 16 форм, вступившие в плодоношение, также имеют семенной фенотип, что полностью соответствует показанным результатам по 2-м маркерам MAS.

По 4-м выявленным чужеродным гибридным формам из 6-ти (36-11-7-2, 36-11-7-9, 36-11-7-13 и 36-11-7-24) по полученным аллелям 2-х маркеров на бесплодность дополнительно подтвердилось, что их родителями являются сорта Талисман и бесплодный Кишмиш Столетие.

В семенной популяции «Талисман х Экзотик», состоящей из 41 гибрида и установленной чужеродной формы 31-11-5-56, оба маркера показали семенной генотип по всем гибридам, что полностью соответствует их установленному семенному фенотипу (таблица 29).

Таблица 28 – Результаты генотипирования с применением маркеров по бессемянности популяции «Восторг красный х Юпитер» в сопоставлении с фенотипическими характеристиками проявления бессемянности

№ п/п	Адреса гибридных форм / Наименование родительской формы	Маркеры по бессемянности				Средняя масса руди- ментов, мг	Категория бессе- мянности
		p3_VvAGL11		VMC7F2			
1	ВКхЮ 36-11-7-1*	184	188	200	210	54.2	Семенн.
2	ВКхЮ 36-11-7-2*	188	198	198	200	Не плодоносит	—
3	ВКхЮ 36-11-7-3	184	188	200	210	84.9	Семенн.
4	ВКхЮ 36-11-7-4	184	188	200	210	103.0	Семенн.
5	ВКхЮ 36-11-7-5	188	188	200	200	77.1	Семенн.
6	ВКхЮ 36-11-7-6	184	188	200	210	123.1	Семенн.
7	ВКхЮ 36-11-7-7	184	188	200	210	Не плодоносит	—
8	ВКхЮ 36-11-7-8	188	188	200	200	48.6	Семенн.
9	ВКхЮ 36-11-7-9*	184	188	200	210	49.9	Семенн.
10	ВКхЮ 36-11-7-10	184	188	200	210	108.8	Семенн.
11	ВКхЮ 36-11-7-11	184	188	200	210	135.1	Семенн.
12	ВКхЮ 36-11-7-12	188	188	200	200	62.7	Семенн.
13	ВКхЮ 36-11-7-13*	188	188	200	200	Не плодоносит	—
14	ВКхЮ 36-11-7-14	184	188	200	210	69.5	Семенн.
15	ВКхЮ 36-11-7-15	184	188	200	210	90.9	Семенн.
16	ВКхЮ 36-11-7-16	184	188	200	210	Не плодоносит	—
17	ВКхЮ 36-11-7-17*	188	196	198	200	70.9	Семенн.
18	ВКхЮ 36-11-7-19	184	188	200	210	Не плодоносит	—
19	ВКхЮ 36-11-7-20	184	188	200	210	Не плодоносит	—
20	ВКхЮ 36-11-7-22	188	188	200	200	Не плодоносит	—
21	ВКхЮ 36-11-7-23	184	184	210	210	63.4	Семенн.
22	ВКхЮ 36-11-7-24*	184	198	198	210	Не плодоносит	—
23	ВКхЮ 36-11-7-25	188	188	200	200	66.4	Семенн.
24	ВКхЮ 36-11-7-26	184	188	200	210	51.4	Семенн.
25	ВКхЮ 36-11-7-27	184	188	200	210	42.6	Семенн.
1	Восторг красный	188	188	200	200	—	Семенн.
2	Кишмиш Юпитер	198	198	196	198	—	Бессемян.
3	Талисман	184	188	200	210	—	Семенн.
4	Кишмиш Столетие	188	198	198	200	—	Бессемян.

* – чужеродная примесь в популяции на основании полученного генетического профиля

Таблица 29 – Результаты генотипирования с применением маркеров по бессемянности популяции «Талисман х Экзотик» в сопоставлении с фенотипом

№ п/п	Адреса гибридных форм	Маркеры по бессемянности				Категория бессе- мянности
		p3_VvAGL11		VMC7F2		
1	ТхЭ 31-11-5-11	188	188	200	200	Семенной
2	ТхЭ 31-11-5-13	188	188	200	200	Семенной
3	ТхЭ 31-11-5-14	188	192	200	204	Семенной
4	ТхЭ 31-11-5-15	184	192	204	210	Семенной
5	ТхЭ 31-11-5-16	184	192	204	210	Не плодоносит
6	ТхЭ 31-11-5-17	188	188	200	200	Семенной
7	ТхЭ 31-11-5-18	184	192	204	210	Семенной
8	ТхЭ 31-11-5-19	188	192	200	204	Семенной
9	ТхЭ 31-11-5-21	184	192	204	210	Не плодоносит
10	ТхЭ 31-11-5-22	188	192	200	204	Семенной
11	ТхЭ 31-11-5-23	188	188	200	200	Семенной
12	ТхЭ 31-11-5-24	184	188	200	210	Семенной
13	ТхЭ 31-11-5-25	184	188	200	210	Семенной
14	ТхЭ 31-11-5-26	184	188	200	210	Семенной
15	ТхЭ 31-11-5-27	188	188	200	200	Семенной
16	ТхЭ 31-11-5-28	188	192	200	204	Семенной
17	ТхЭ 31-11-5-29	188	188	200	200	Не плодоносит
18	ТхЭ 31-11-5-30	188	192	200	204	Семенной
19	ТхЭ 31-11-5-31	184	192	204	210	Не плодоносит
20	ТхЭ 31-11-5-32	188	192	200	204	Не плодоносит
21	ТхЭ 31-11-5-33	188	192	200	204	Не плодоносит
22	ТхЭ 31-11-5-34	184	188	200	210	Семенной
23	ТхЭ 31-11-5-35	184	192	204	210	Семенной
24	ТхЭ 31-11-5-36	188	192	200	204	Семенной
25	ТхЭ 31-11-5-37	184	192	204	210	Семенной
26	ТхЭ 31-11-5-38	184	192	204	210	Не плодоносит
27	ТхЭ 31-11-5-39	184	192	204	210	Не плодоносит
28	ТхЭ 31-11-5-40	184	188	200	210	Не плодоносит
29	ТхЭ 31-11-5-42	188	192	200	204	Семенной
30	ТхЭ 31-11-5-43	184	188	200	210	Семенной
31	ТхЭ 31-11-5-44	184	188	200	210	Семенной
32	ТхЭ 31-11-5-45	188	188	200	200	Не плодоносит
33	ТхЭ 31-11-5-46	188	188	200	200	Семенной
34	ТхЭ 31-11-5-47	184	188	200	210	Семенной
35	ТхЭ 31-11-5-48	184	192	204	210	Не плодоносит
36	ТхЭ 31-11-5-50	184	188	200	210	Не плодоносит
37	ТхЭ 31-11-5-51	184	192	204	210	Не плодоносит
38	ТхЭ 31-11-5-52	188	188	200	200	Не плодоносит
39	ТхЭ 31-11-5-53	184	188	200	210	Не плодоносит
40	ТхЭ 31-11-5-54	188	192	200	204	Не плодоносит
41	ТхЭ 31-11-5-55	188	192	200	204	Не плодоносит
42	ТхЭ 31-11-5-56*	184	192	204	210	Не плодоносит

* – чужеродная примесь в популяции на основании полученного генетического профиля

Эффективность тестируемых на гибридах 4-х популяций маркеров по бессемянности p3_VvAGL11 и VMC7F2 при сопоставлении с фенотипическим проявлением признака бессемянности приведена в таблице 30.

Таблица 30 – Эффективность применения маркеров по определению бессемянных и семенных гибридных форм селекционных популяций

Маркеры по бессемянности	Доля ошибочных результатов	
	ложноотрицательных	ложноположительных
p3_VvAGL11	0 %	0%
VMC7F2	0 %	2,1% (1 шт.)

В популяции «Подарок Запорожью х Аленушка» в результате исследований с применением маркеров по бессемянности были выделены по хозяйственно-ценным качествам бессемянные гибриды 32-11-5-1 и 32-11-5-9. Фотографии гроздей указанных форм представлены соответственно на рисунках 17 и 18.



Рисунок 17 – Гроздь перспективной бессемянной формы 32-11-5-1 популяции «Подарок Запорожью х Аленушка»



Рисунок 18 – Гроздь бессемянной гибридной формы 32-11-5-9 популяции «Подарок Запорожью х Аленушка».

Была выделена в элиту бессемянная форма 32-11-5-1 (с названием сорт Партенитский), имеющая обоеполый тип, высокую категорию бессемянности и обладающая сравнительно крупной ягодой по сравнению с другими бессемянными сортами подобной категории бессемянности. Характеристики бессемянности перспективной формы 32-11-5-1 в сравнении с сортом Южнобережный приведены в таблице 31. При соразмерности величины ягод масса рудиментов формы значительно меньше, чем у сорта Южнобережный. Характеристики остальных бессемянных сортов для сравнения приведены в таблицах 6 и 7. Выделенную форму (сорт Партенитский) можно отнести к I-II категориям бессемянности, учитывая колебание массы рудиментов от влияния факторов внешней среды (Лиховской с соавт., 2023).

Исходя из улучшенных характеристик выделенной формы 32-11-5-1 была направлена заявка для получения патента на сорт «Партенитский». Заявка принята ФГБУ «Государственная комиссия РФ по испытанию и охране селекционных достижений» на выдачу патента на бессемянный сорт

«Партенитский» (М № 32-11-5-1). Уведомление о приеме заявки №91565 / 7553377 от 31.05.2024г. (Приложение В)

Таблица 31 – Характеристики бессемянности формы М № 32-11-5-1 в сравнении с сортом Южнобережный за 2020–2022 гг.

Наименование сорта, формы	Средняя длина ягоды, мм	Средняя ширина ягоды, мм	Среднее количество рудиментов на ягоду, шт.	Средняя масса рудимент на ягоду, мг	Категория бессемянности
Южнобережный (К)	16,94	14,93	3,08	37,03	IV (14,1 мг и более)
Стандартное отклонение	0,76	0,69	0,15	5,81	
Коэффициент вариации, %	4.49	4.62	4.87	15.68	
Ошибка средней	0.54	0.49	0.11	4.10	
Форма М № 32-11-5-1	17,29	13,88	2,00	6,02	I-II (0–6 мг) – (6,1–10 мг)
Стандартное отклонение	0,66	0,34	0,22	0,91	
Коэффициент вариации, %	3.80	2.45	10.80	15.10	
Ошибка средней	0.38	0.20	0.12	0.52	

Таким образом для валидации эффективности маркеров по бессемянности *r3_VvAGL11* и *VMC7F2* выполнено генотипирование 67 гибридных форм 3-х популяций, полученных по схеме скрещивания «семенной х бессемянный», и 42 форм популяции, полученной по схеме скрещивания «семенной х семенной». Всего в 3-х популяциях «семенной х бессемянный» с помощью маркеров по бессемянности выделено 24 бессемянные формы. По результатам генотипирования гибридных форм маркер *r3_VvAGL11* при сопоставлении с выявленным фенотипом не допустил ложноположительных и ложноотрицательных результатов, маркер *VMC7F2* не допустил ложноотрицательных результатов, но был получен один ложноположительный результат, что составляет 2,1% от общего количества плодоносящих семенных гибридных форм.

Внедрение молекулярно-генетических методов в селекционную программу ВНИИВиВ «Магарах» способствовало выделению в популяции «Подарок Запорожью х Аленушка», на основе оценки хозяйственно-ценным качеств, бессемянную гибридную форму 32-11-5-1, на которую подана заявка для получения патента на сорт «Партенитский» (Приложение В).

5.2. Определение полиморфизма последовательности, обуславливающего бессемянность, в локусе гена *VvAGL11* у бессемянных и семенных сортов

Проведен поиск характерного полиморфизма последовательности, определяющего бессемянность, с помощью секвенирования по Сэнгеру кодирующей области гена *VvAGL11*.

Для определения полиморфизма последовательности, обуславливающего бессемянность, была исследована последовательность локуса в кодирующей области гена-кандидата на бессемянность *VvAGL11* на Chr 18 у бессемянных и семенных сортов винограда с помощью методов секвенирования I поколения (по Сэнгеру) и биоинформатического анализа. С целью выполнения секвенирования была разработана пара праймеров для амплификации локуса длиной 709 п.н., включающего в себя экзоны 5, 6, 7 и смежные интроны гена *VvAGL11* Chr 18. Локализация локуса на референсной последовательности Chr 18 NC_012024.3 (PN40024 chr18, 12x): 26,889,258 – 26,889,966 (NCBI). Подобранные праймеры позволили получить целевой ампликон без побочных продуктов амплификации.

В результате секвенирования были получены последовательности сортов селекции института «Магарач»: бессемянного сорта Кишмиш Магарача и семенного сорта Цитронный Магарача. А также последовательности стародавнего бессемянного сорта Кишмиш черный и семенного сорта Пино белый (соматическая мутация сорта Пино черный) (Спотарь с соавт., 2021).

Хроматограммы секвенирования по Сэнгеру последовательности экзона 7 гена *VvAGL11* сортов Кишмиш Магарача (вверху) и Цитронный Магарача (внизу) с выделенным SNP 26,889,437 в программе Unipro Ugene v.34 представлены на рисунке 19. Выравнивание полученных последовательностей выполнено на референсную последовательность Chr 18 PN40024 chr18, 12x [NC_012024.3: 26,889,200 - 26,890,000] семенной формы Pinot Noir 40024 (NCBI, VIVC).

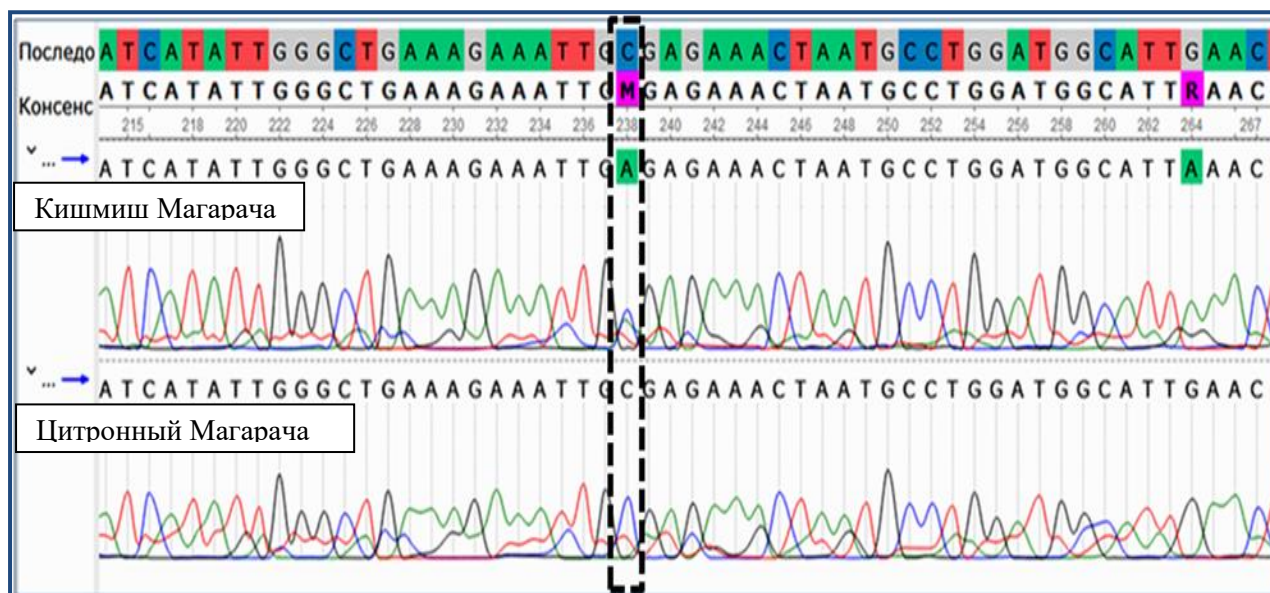


Рисунок 19 – Хроматограмма секвенирования по Сэнгеру экзона 7 гена *VvAGL11* сортов Кишмиш Магарача (вверху) и Цитронный Магарача (внизу) с SNP 26,889,437 (выделен) в программе Unipro Ugene v.34

На рисунке 19 в программе Unipro Ugene v.34 в последовательности бессемянного сорта Кишмиш Магарача выделен SNP 26,889,437 (Аденин / Цитозин), у семенного сорта Цитронный Магарача в этой позиции (Цитозин / Цитозин), как и у референсной последовательности семенной формы Pinot Noir 40024. Также в последовательности бессемянного сорта Кишмиш Магарача выше отмечен SNP 26,889,463 (Аденин / Гуанин). Результаты секвенирования представлены в таблице 32.

В результате секвенирования по Сэнгеру был выявлен однонуклеотидный полиморфизм у бессемянных сортов Кишмиш Магарача и Кишмиш черный на chr18: SNP 26,889,437 (A/C), который считается причиной стеноспермокарпической бессемянности, что согласуется с выводами Rojo C. с соавт. (2018). В этой позиции у бессемянных сортов обнаруживается однонуклеотидная замена. Выявлено, что последовательности семенных сортов Цитронный Магарача и Пино белый в этой позиции гомозиготны (C/C). Таким образом, в данном исследовании определено наличие SNP (A/C) в позиции chr18: 26,889,437 у бессемянных сортов, в отличие от семенных, который

является предполагаемой причиной возникновения фенотипа стеноспермокарпической бессемянности винограда (Royo et al., 2018).

Таблица 32 – Нуклеотиды chr 18: SNP 26,889,437 в экзоне 7 гена *VvAGL11* бессемянных и семенных сортов АК «Магарач» по результатам секвенирования по Сэнгеру (референсная последовательность PN40024)

№ п/п	Наименование сорта	Фенотип сорта	Нуклеотиды в положении chr 18: SNP 26,889,437
1	Кишмиш Магарача	Бессемянный	A / C
2	Цитронный Магарача	Семенной	C / C
3	Кишмиш черный	Бессемянный	A / C
4	Пино белый	Семенной	C / C

Проведен поиск характерного полиморфизма, определяющего бессемянность, с помощью биоинформатического анализа результатов полногеномного секвенирования нового поколения (NGS) кодирующей области гена *VvAGL11* бессемянных генотипов винограда (для полногеномного секвенирования сорта достаточно одного образца без повторности).

По результатам полногеномного секвенирования нового поколения (NGS) бессемянных сортов среднеазиатского и восточноевропейского происхождения с помощью биоинформатических методов было выполнено выравнивание полученных прочтений на референсную последовательность Chr 18 семенной формы Pinot Noir 40024 и последовательность гена *VvAGL11* бессемянного сорта Султанина (KM401848.1 AGL11mutant allele).

Ген *VvAGL11* расположен с 26,888,679 п.н. по 26,896,674 п.н. референсной последовательности, размер гена – 7 996 п.н. (рисунок 20). Экзон 7 гена *VvAGL11*, где расположен целевой SNP, отвечающий за фенотип бессемянности, состоит из 158 п.н. Целевой SNP занимает позицию 26,889,437 п.н. на последовательности PN40024 (chr 18).

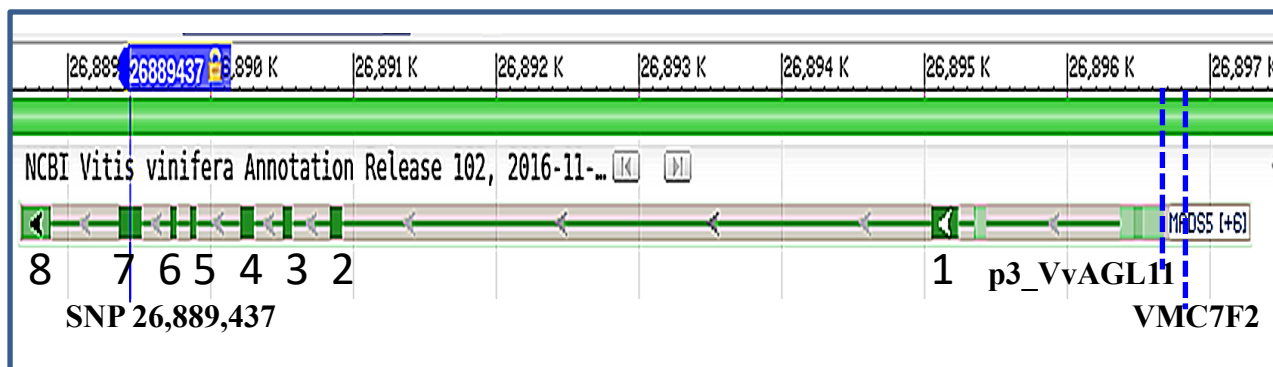


Рисунок 20 – Графическое представление гена *VvAGL11* с указанием номеров экзонов и расположением целевого SNP 26,889,437 и маркеров по бессемянности (NCBI)

Был детально исследован локус длиной 200 п.н. генотипа Кишмиш черный, включающего в себя экзон 7 (CDS 7) и частично интроны 6 и 7 гена *VvAGL11*. Древний высококачественный бессемянный сорт Кишмиш черный на протяжении XX – начала XXI века часто используется в селекционных программах и является родителем ряда бессемянных сортов (Юбилейный ВИРа, Мечта, Коринка русская, Бессемянный Мельника, Кишмиш ОСХИ, Кишмиш Хишрау, Кишмиш Согдиана, Гленора сидлис, Бьюти сидлис, Саффолк ред, Иниагрейп-ван), а также семенных (Ранний Магараचा, Ранний ВИРа, Кибрайский). В каталоге VIVC насчитывается 27 сортов, родителем которых является Кишмиш черный. В связи с этим, выявление у сорта Кишмиш черный генетического полиморфизма локуса, связанного с бессемянностью – основным хозяйственно ценным свойством этого сорта, является важной задачей для дальнейшего ведения селекционных программ.

В рассматриваемом локусе (26,889,340 п.н. – 26,889,540 п.н.) последовательности сорта Кишмиш черный, по сравнению с референсной последовательностью семенной формы Pinot Noir 40024, найдено 8 SNP без вставок и делеций, 5 SNP непосредственно в экзоне 7. По данным работы Roxy С. с соавт. (2018), семенной сорт Пино черный гомозиготен, в отличие от бессемянных сортов Кишмиш черный и Султанина по обнаруженным SNP. У сорта Кишмиш черный из 8 обнаруженных SNP – 7 идентичны SNP

бессемянного сорта Султанина и происходящих от него сортов (таблица 33, рисунок 21) (Спотарь с соавт., 2022).

В том числе был обнаружен целевой SNP 26,889,437 (A/C), приводящий к замене с негативным эффектом аргинина на лейцин, который сцеплен с фенотипом стеноспермокарпической бессемянности (таблица 33, выделен жирным шрифтом). Согласно аннотации NCBI экзон 7 гена *VvAGL11* кодирует 53 аминокислоты, 27-я аминокислота в генотипе сорта Пино черный, кодируемая триплетом мРНК CGC – аргинин (R) (рисунок 21, внизу). В связи с однонуклеотидной заменой в одном аллеле сорта Кишмиш черный в позиции 26,889,437 триплетом мРНК CUC кодируется лейцин (L).

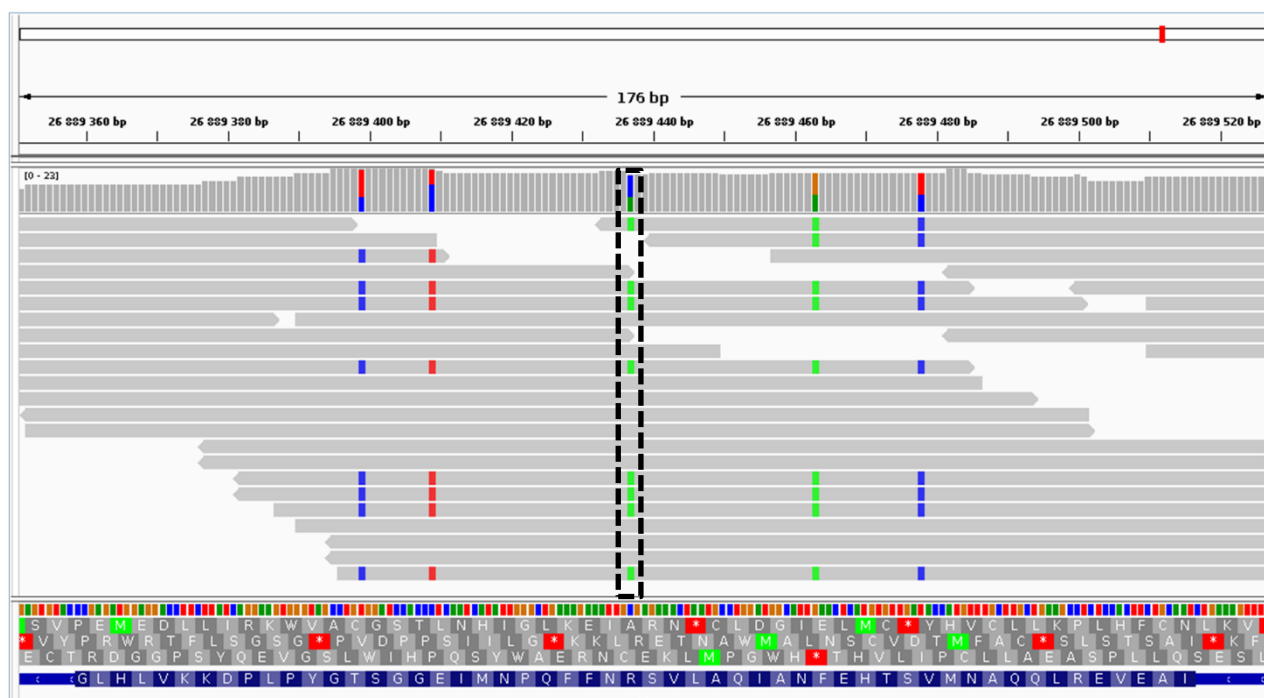


Рисунок 21 – Выравнивание прочтений сорта Кишмиш черный на референсную последовательность экзона 7 гена *VvAGL11* PN40024 12X (chr 18) в геномном браузере IGV

Таблица 33 – Полиморфизм экзона 7 гена *VvAGL11* сорта Кишмиш черный по сравнению с референсной последовательностью формы Пино черный PN40024 (chr 18) и генотипом сорта Султанина

Референсная последовательность PN40024 сорта Пино черный (семенной)		Генотип сорта Султанина (бессемянный)		Генотип сорта Кишмиш черный (частота аллеля)	Положение в гене <i>VvAGL11</i>
№ позиции в последовательности PN40024, покрытие	Нуклеотид аллеля / аллеля Пино черный 40024	№ позиции в последовательности KM401848.1, покрытие	Нуклеотид аллеля / аллеля сорта Султанина		
№26,889,345 11X	A/A	№666 11X	G/A	G(3)/A(8)	Интрон 7
№26,889,350 11X	T/-	№671 11X	T/T	T(3)/C(8)	Интрон 7
№26,889,399 22X	T/T	№720 22X	C/T	C(8)/T(14)	CDS 7
№26,889,409 22X	C/C	№730 22X	T/C	T(8)/C(14)	CDS 7
№26,889,437 19X	C/C	№758 19X	A/C	A(8)/C(11)	CDS 7
№26,889,463 20X	G/G	№784 20X	A/G	A(9)/G(11)	CDS 7
№26,889,478 20X	T/T	№799 20X	C/T	C(9)/T(11)	CDS 7
№26,889,528 16X	G/G	№849 16X	A/G	A(9)/G(7)	Интрон 6

В рассматриваемом нами локусе длиной 200 п.н., последовательность сорта Кишмиш черный идентична последовательности сорта Султанина, кроме позиции 26,889,350 (таблица 33), в которой у исследуемого сорта обнаружена гетерозигота (T/C), а сорт Султанина имеет гомозиготу (T/T). По данному SNP в дальнейших исследованиях возможно различать эти древние сорта (Спотарь с соавт., 2022).

В продолжение работы на основании результатов полногеномного секвенирования ранее не исследованных 10 бессемянных сортов с помощью биоинформатических методов были выполнены обработка и выравнивание полученных прочтений на референсную последовательность Chr 18 семенной формы Pinot Noir 40024. Из 10 взятых для исследования бессемянных сортов, 5 селекции института «Магарач», 4 относятся к стародавним среднеазиатским сортам группы «кишмиши» и 1 сорт североамериканского происхождения.

На рисунке 22 представлены результаты выравнивания локуса гена *VvAGL11* бессемянных сортов Магарач 520 (вверху) и Советский бессемянный (внизу). Цветом обозначены выявленные SNP и InDel у сортов, пунктирной

линией выделен SNP 26,889,437 (Аденин/Цитозин), ответственный за бессемянность. Для визуализации локуса размером 533 п.н. использовался геномный браузер IGV (Integrative Genomics Viewer). Обнаруженные SNP и InDel идентичны, так как оба сорта имеют одинаковое происхождение от родительских форм Нимранг и Кишмиш черный.

На основе анализа результатов полногеномного секвенирования нового поколения NGS 11 генотипов бессемянных сортов винограда было подтверждено наличие у бессемянных сортов однонуклеотидного полиморфизма (SNP 26,889,437; Аденин/Цитозин), ответственного за бессемянность. Результаты исследований представлены в таблице 34 (Роуо. с соавт., 2018; Спотарь с соавт., 2024).

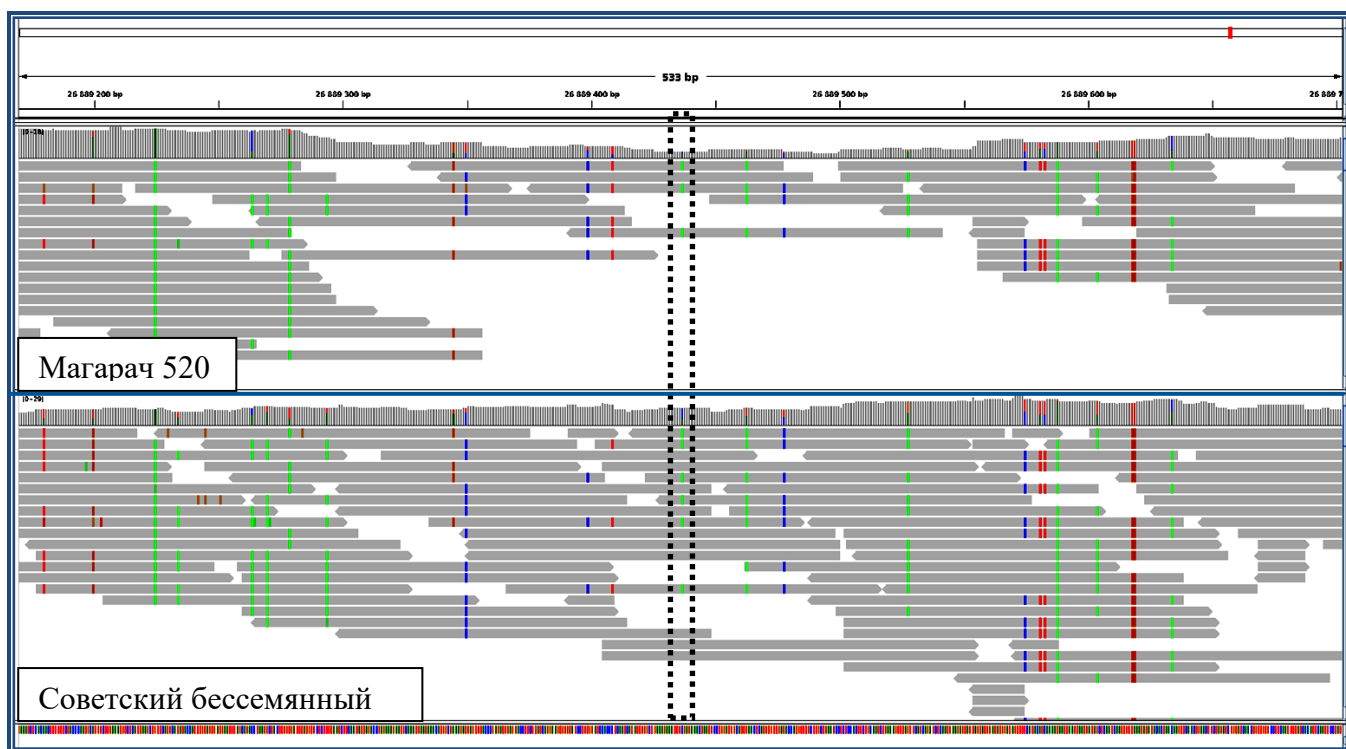


Рисунок 22 – Выравнивание на референсный геном PN40024 прочтений секвенирования NGS бессемянных сортов Магарач 520 (вверху) и Советский бессемянный (внизу) локуса длиной 533 п.н. гена *VvAGL11*. Цветом обозначены выявленные SNP и InDel у сортов, пунктирной линией выделен SNP 26,889,437, ответственный за бессемянность, визуализация в геномном браузере IGV

Таблица 34 – Нуклеотиды chr 18 SNP 26,889,437 в экзоне 7 гена *VvAGL11* бессемянных сортов АК «Магараж» (референсная последовательность PN40024)

№ п/п	Наименование сорта	Адрес на АК «Магараж»	Нуклеотиды в положении chr 18 SNP 26,889,437
1	Кишмиш черный	7-86	A/C
2	Магараж-520	5-86	A/C
3	Советский бессемянный	5-85	A/C
4	Кишмиш ваткана	7-96	A/C
5	Сверхранний бессемянный	5-87	A/C
6	Кишмиш красный туркменский	6-53	A/C
7	Перлетт	2-124	A/C
8	Кишмиш люнда	24-79	A/C
9	Кишмиш Магаража	1-118	A/C
10	Бессемянный Магаража	1-119	A/C
11	Кишмиш желтый (Кишмиш белый круглый)	24-74	A/C

На основе полногеномного секвенирования NGS и биоинформатического анализа генотипов ранее не изученных бессемянных селекционных сортов института «Магараж», стародавних сортов группы кишмишей была подтверждена согласно Royo с соавт. (2018) причинная роль Chr 18: SNP 26,889,437 (Аденин/Цитозин) в формировании стеноспермокарпической бессемянности винограда.

Таким образом, методами секвенирования по Сэнгеру и биоинформатического анализа NGS были получены последовательности 15 бессемянных и семенных сортов, включая сорта селекции «Магараж» и стародавние кишмишные сорта, и в результате анализа полиморфизма нуклеотидных последовательностей подтверждена определяющая роль SNP 26,889,437 (A/C) экзона 7 гена *VvAGL11* chr 18 в формировании стеноспермокарпической бессемянности. Данное подтверждение позволит разработать более совершенную тест-систему для идентификации бессемянности, направленную непосредственно на детекцию целевого SNP, которая будут иметь абсолютную эффективность.

5.3. Дизайн, подбор оптимальных параметров работы и проверка эффективности тест-системы на бессемянность на основе аллель-специфичных зондов

На основании полученного подтверждения роли в формировании стеноспермокарпической бессемянности SNP (A/C) на chr18 в позиции 26,889,437, была разработана тест-система для определения бессемянности в образцах винограда. Разработанная тест-система выполнена на основе аллель-специфичных TaqMan зондов и предназначена для использования в современном молекулярно-генетическом методе – полимеразная цепная реакция с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени (Real-Time PCR).

В разработанной тест-системе для определения SNP бессемянности используется ПЦР смесь, которая содержит два аллель-специфичных TaqMan зонда, помеченных флуорофорами, а также прямой и обратный праймеры. TaqMan зонды имеют различные флуорофоры и соответствующие им гасители. Принцип работы TaqMan зонда представлен на рисунке 23. В процессе амплификации зонды конкурируют за связывание с матрицей в локусе с SNP, при этом преимущество получает зонд, соответствующий содержащемуся на матрице аллелю. В случае наличия двух аллелей, оба зонда будут гибридизироваться с одинаковой вероятностью. После гибридизации зонды расщепляются за счет экзонуклеазной активности Taq-полимеразы, в следствие чего гаситель удаляется от флуорофора и детектируется повышение флуоресценции.

Для определения аллеля SNP 26,889,437: А (аденин), сцепленного с признаком бессемянности, в разработанной тест-системе используется зонд с флуорофором R6G. Для определения аллеля SNP 26,889,437: С (цитозин), сцепленного с семенным фенотипом, используется зонд с флуорофором FAM.

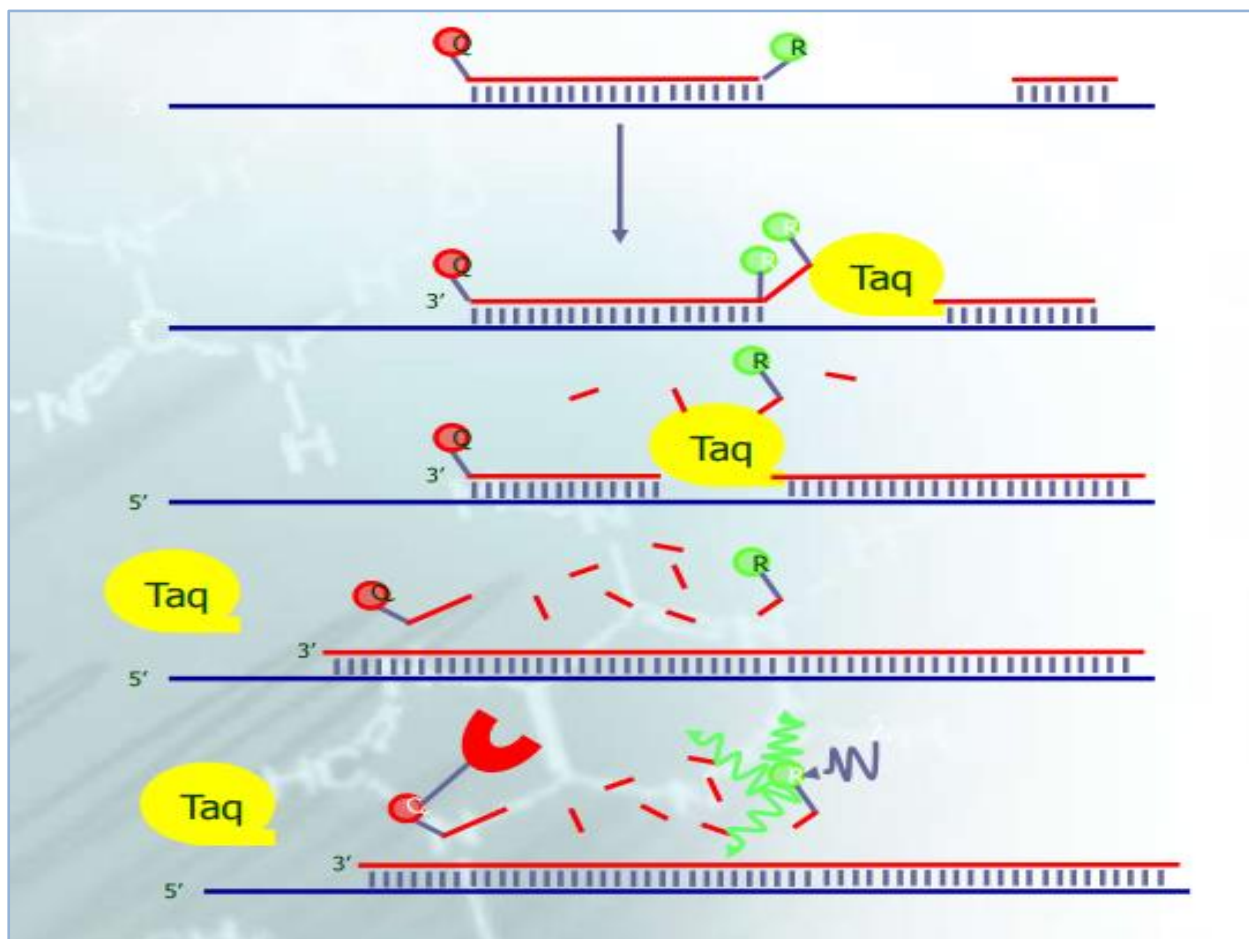


Рисунок 23 – Принцип работы TaqMan зонда

Таким образом, в случае анализа ДНК семенного сорта детектируется только флюоресценция FAM, так как у семенного сорта SNP 26,889,437 (C/C). При анализе ДНК бессемянного сорта одновременно детектируется флюоресценция FAM и R6G, так как у бессемянного сорта SNP 26,889,437 (A/C). Наличие двух аллелей (A/A) в SNP в положении chr18:26,889,437 было обнаружено только у гибридных форм, полученных по схеме скрещивания «бессемянный х бессемянный» Руби сидлис х Москатель (Royo et al., 2018). Только в этом случае при применении тест-системы на бессемянность будет отсутствовать детекция FAM с увеличением детекции по R6G.

Последовательность праймеров и зондов тест-системы на стеноспермокарпическую бессемянность, состав реакционной смеси и эффективный режим амплификации представлены в таблице 35.

Таблица 35 – Последовательность праймеров и зондов тест-системы на стеноспермокарпическую бессемянность, состав реакционной смеси и эффективный режим амплификации

Мишень	Режим амплификации	Последовательности зондов: на бессемянный (Pb(A)) и семенной (Pb(C)) аллели; и праймеров: прямого (Pr(F)) и обратного (Pr(R))
Chr 18, <i>VvAGL11</i> , SNP 26,889,437	5 мин при 95°C;	Pb(A): 5'-(R6G)aggcattagtttctctcaatttctt(BHQ2)- 3'
	15 с при 95°C,	Pb(C): 5'-(FAM)cattagtttctcgcaatttcttc(RTQ1)- 3'
	40с при 59°C	Pr(F): 5'-caggaagtgggtagcctgtg- 3'
	(45 циклов).	Pr(R): 5'-gaagtggagaggcttcagca- 3'
	2,5х Реакционная смесь (6,25 нмоль/мкл MgCl ₂ , Taq ДНК-полимераза, dNTP) – 10 мкл	
	H ₂ O – 5,5 мкл	
	Pb – 5 пкмоль (0,5 мкл по 10 пкмоль/мкл)	
	Pr – 5 пкмоль (0,3-0,5 мкл по 10 пкмоль/мкл)	
	Taq ДНК-полимераза (5ед/мкл) – 2,5 ед (0,5-1,0 мкл)	
	MgCl ₂ (25 мМ) – 50 нмоль (2 мкл по 25 нмоль/мкл)	
	ДНК – 100 нг (5 мкл по 20 нг/мкл)	

Схема гибридизации в тест-системе TaqMan аллель-специфичных зондов с разными флуорофорами на одну из цепей ДНК семенной формы PN40024 (Пино черный) с аллелем SNP 26,889,437 (C) представлена на рисунке 24.

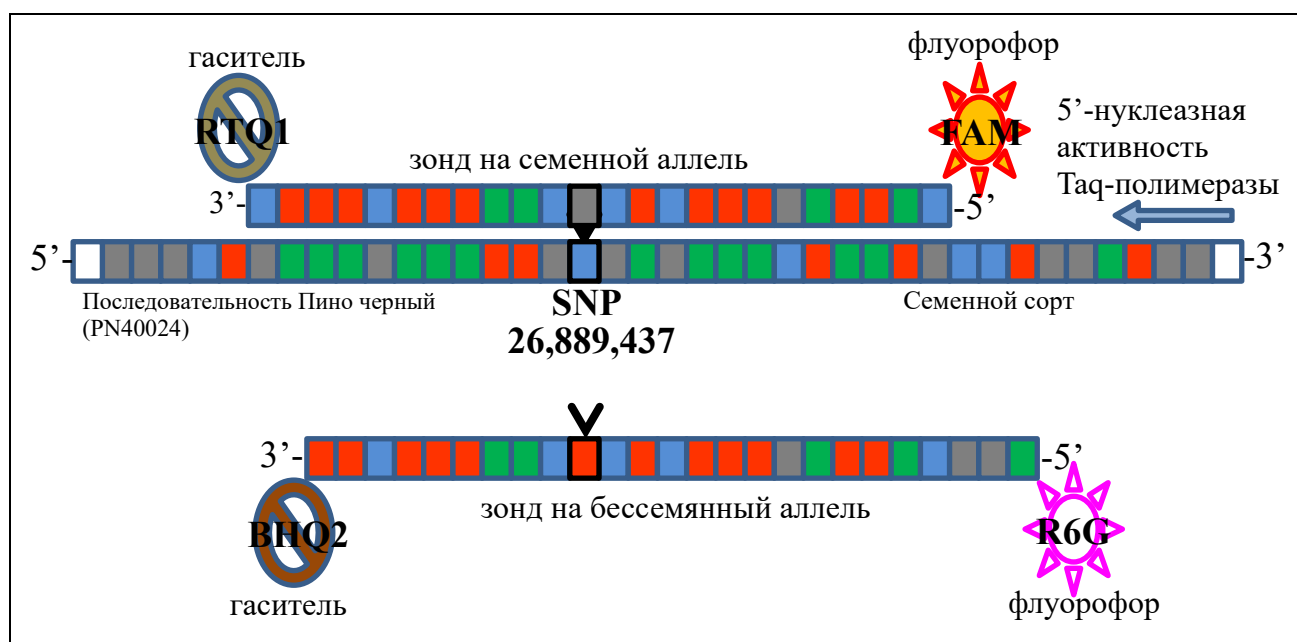


Рисунок 24 – Схема гибридизации соответствующего TaqMan аллель-специфичного зонда на последовательность семенной формы PN40024 (Пино черный) (NCBI)

Для поиска оптимальных условий работы тест-системы была проведена ее апробация на бессемянных сортах: Кишмиш Иртышар, Аскери, Кара кишмиш оврут, Аленушка; и семенных сортах: Цитронный Магарача, Пино белый, Талисман, Флора. ПЦР в реальном времени проводилась при различных температурных режимах: 57°C; 59°C; 60°C; 61°C; 63°C; с разным количеством праймеров и зондов, с разной концентрацией Mg^{2+} и фермента Taq ДНК-полимеразы (рисунок 25).

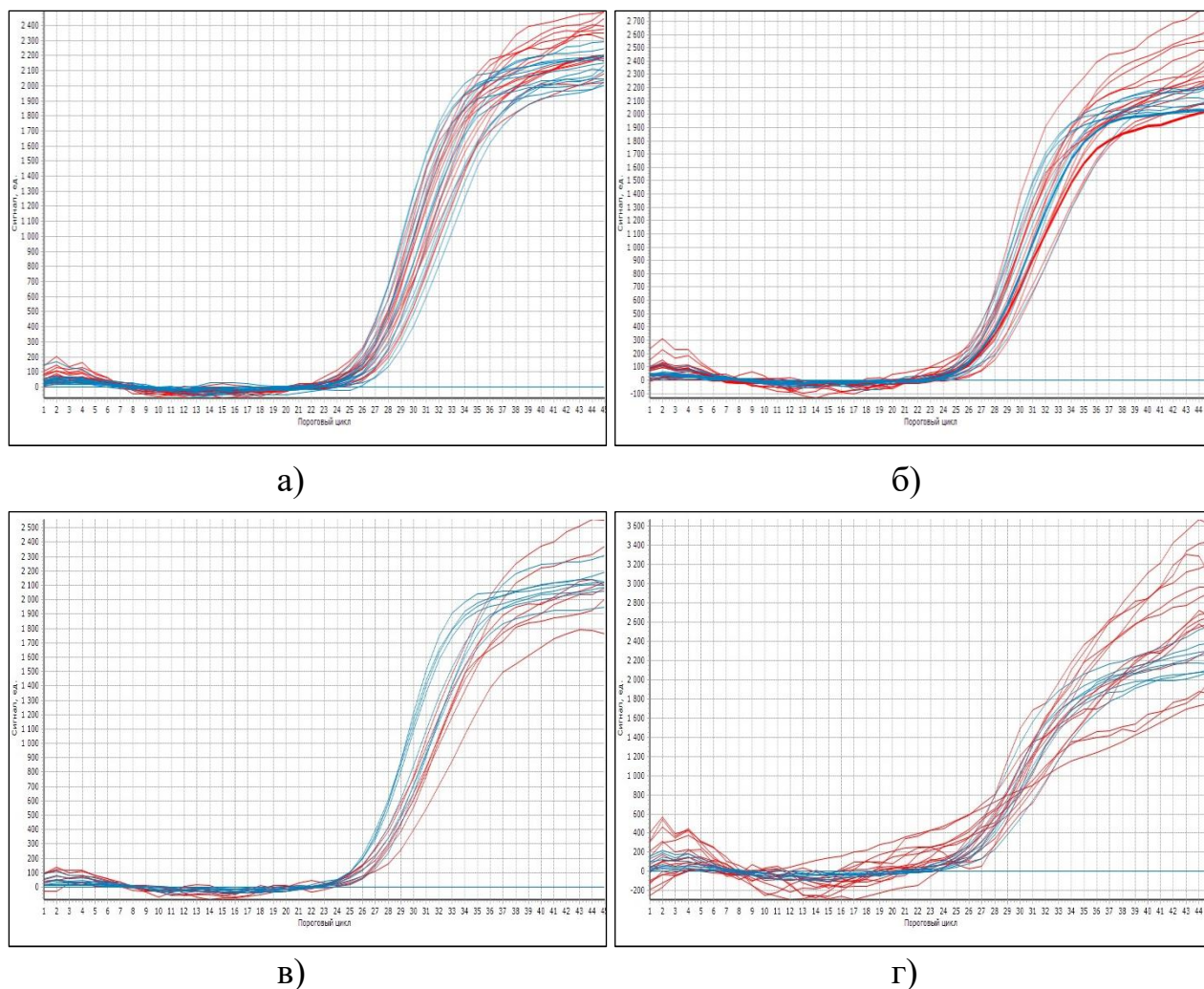


Рисунок 25 – Поиск оптимальных условий для работы тест-системы на основе аллель-специфичных TaqMan зондов по определению однонуклеотидного полиморфизма (SNP): а) при 57°C; б) при 59°C; в) при 61°C; г) при 63°C.

Наиболее оптимальными условиями, установленными в настоящем исследовании, являются: температурный режим отжига – 59°C с добавлением

Mg²⁺ и Taq ДНК-полимеразы. Селективность тест-системы повышается при снижении концентрации зондов и матрицы в реакционной смеси (при устранении их избытка), и при увеличении концентрации Taq ДНК-полимеразы, при этом важна ее фактическая активность. Разработанная тест-система на основе аллель-специфичных TaqMan зондов при соблюдении данных условий позволила дифференцировать бессемянные и семенные формы исследованных 8 сортов и форм, что является целью данной исследовательской работы.

Для проверки эффективности и надежности разработанной тест-системы на стеноспермокарпическую бессемянность была проведена ее апробация на 65 образцах: 16 бессемянных сортах, 39 семенных сортах и 10 гибридных формах, полученных по схеме скрещивания «семенной х бессемянный»: Флора х Руби сидлис (ФхРС), Подарок Запорожью х Аленушка (ПЗхА). В состав семенной группы сортов входили: 24 столовых, 2 универсальных, 12 технических и 1 подвойный сорт. Для апробации были подобраны сорта различного происхождения, в т.ч. межвидовые гибриды; из различных регионов и стран, включая автохтонные сорта РФ. Разработанная тест-система на стеноспермокарпическую бессемянность показала максимальную эффективность разделения бессемянных и семенных сортов и гибридов популяций без ложноположительных и ложноотрицательных результатов в выборке из 65 образцов. Результаты апробации представлены в таблице 36.

Сравнение эффективности тест-системы с маркерами МАС по бессемянности p3_VvAGL11 и VMC7F2 проведено на 45 образцах (таблица 36). Маркер по бессемянности p3_VvAGL11 ошибочно показал бессемянность у 3-х семенных сортов: Советский богатырь, Молдова и Чауш белый (6,7% ложноположительных результатов в данной выборке из 45 сортов). Маркер VMC7F2 ошибочно показал бессемянность у 9-х семенных сортов: Советский богатырь, Крымский ранний, Молдова, Чауш белый, Вионье, Каберне Совиньон, Совиньон Блан, Сира, Марселан (20,0% в выборке из 45 сортов) (Спотарь с соавт., 2024).

Таблица 36 – Результаты тестирования эффективности разработанной тест-системы на бессемянность и маркеров на бессемянность на сортах и гибридах

№ п/п	Наименование сортов и обозначение форм с указанием фенотипа	Результат тестирования		
		Тест-система на бессемянность	Маркер p3_VvAGL11	Маркер VMC7F2
Бессемянные сорта				
1	Аленушка	Бессем.	Бессем.	Бессем.
2	Аскери	Бессем.	Бессем.	Бессем.
3	Бессемянный Мельника	Бессем.	Бессем.	Бессем.
4	Кара кишмиш оврут	Бессем.	Бессем.	Бессем.
5	Кишмиш желтый	Бессем.	Бессем.	Бессем.
6	Кишмиш иртышар	Бессем.	Бессем.	Бессем.
7	Кишмиш Юпитер	Бессем.	Бессем.	Бессем.
8	Коринка русская	Бессем.	Бессем.	Бессем.
9	Кишмиш розовый	Бессем.	Бессем.	Бессем.
10	Красень	Бессем.	Бессем.	Бессем.
11	Кишмиш мускатный	Бессем.	Бессем.	Бессем.
12	Сюрприз	Бессем.	Бессем.	Бессем.
13	Эйнсет сидлис	Бессем.	Бессем.	Бессем.
14	Янги Ер	Бессем.	Бессем.	Бессем.
15	Ялтинский бессемянный	Бессем.	Бессем.	Бессем.
16	Кишмиш Е-342	Бессем.	—	—
Семенные сорта				
17	Талисман	Семенн.	Семенн.	Семенн.
18	Флора	Семенн.	Семенн.	Семенн.
19	Советский богатырь (М. 10-51-1)	Семенн.	Бессем.	Бессем.
20	Крымский ранний (Магарац 532)	Семенн.	Семенн.	Бессем.
21	Молдова	Семенн.	Бессем.	Бессем.
22	Чауш белый	Семенн.	Бессем.	Бессем.
23	Альбилю	Семенн.	Семенн.	Семенн.
24	Марселан	Семенн.	Семенн.	Бессем.
25	Бастардо магарачский	Семенн.	Семенн.	Семенн.
26	Вердельо	Семенн.	Семенн.	Семенн.
27	Вионье	Семенн.	Семенн.	Бессем.
28	Монарх	Семенн.	Семенн.	Семенн.
29	Каберне Совиньон	Семенн.	Семенн.	Бессем.
30	Совиньон блан	Семенн.	Семенн.	Бессем.
31	Пино белый	Семенн.	Семенн.	Семенн.
32	Рислинг итальянский	Семенн.	Семенн.	Семенн.
33	Ркацители	Семенн.	Семенн.	Семенн.

Окончание таблицы 36

№ п/п	Наименование сортов и обозначение форм с указанием фенотипа	Результат тестирования		
		Тест-система на бессемянность	Маркер p3_VvAGL11	Маркер VMC7F2
34	Сира	Семенн.	Семенн.	Бессем.
35	Цитронный Магарача	Семенн.	Семенн.	Семенн.
36	Кобер 5ББ	Семенн.	Семенн.	Семенн.
37	Мускат янтарный	Семенн.	—	—
38	Олимпиада	Семенн.	—	—
39	Плевен	Семенн.	—	—
40	Академик Авидзба	Семенн.	—	—
41	Солнечная гроздь	Семенн.	—	—
42	Юбилей-70	Семенн.	—	—
43	Русмол	Семенн.	—	—
44	Геркулес	Семенн.	—	—
45	Ува де Пасера	Семенн.	—	—
46	Альбурла	Семенн.	—	—
47	Асма	Семенн.	—	—
48	Манжил ал	Семенн.	—	—
49	Халиль изюм	Семенн.	—	—
50	Шабаш	Семенн.	—	—
51	Шабаш крупноягодный	Семенн.	—	—
52	Агадаи	Семенн.	—	—
53	Аг изюм	Семенн.	—	—
54	Бурый	Семенн.	—	—
55	Шакарак	Семенн.	—	—
Гибридные формы «семенной х бессемянный»				
56	ПЗхА 32-11-5-1 (бессемянный)	Бессем.	Бессем.	Бессем.
57	ПЗхА 32-11-5-2 (семенной)	Семенн.	Семенн.	Семенн.
58	ПЗхА 32-11-5-4 (семенной)	Семенн.	Семенн.	Семенн.
59	ПЗхА 32-11-5-5 (семенной)	Семенн.	Семенн.	Семенн.
60	ПЗхА 32-11-5-7 (бессемянный)	Бессем.	Бессем.	Бессем.
61	ПЗхА 32-11-5-9 (бессемянный)	Бессем.	Бессем.	Бессем.
62	ФхРС 34-11-7-35 (бессемянн.)	Бессем.	Бессем.	Бессем.
63	ФхРС 34-11-7-36 (семенной)	Семенн.	Семенн.	Семенн.
64	ФхРС 34-11-7-38 (семенной)	Семенн.	Семенн.	Семенн.
65	ФхРС 34-11-7-39 (бессемянн.)	Бессем.	Бессем.	Бессем.

Таким образом, разработанная тест-система показала надежность и достоверность результатов. При валидации маркера p3_VvAGL11 на широкой выборке сортов и форм было выявлено 1,6% ложноположительных результатов (Bergamini et al., 2013), в нашем исследовании определено 4,6% подобных ложных результата в выборке из 65 семенных сортов. Детекция разработанной тест-системой полиморфизма последовательности, непосредственно вызывающего бессемянность, обеспечивает надежность и исключает теоретическую возможность получения ложных результатов.

Использование для определения бессемянности метода ПЦР в реальном времени взамен метода фрагментного анализа с маркерами MAC, позволяет исключить из необходимого оборудования генетический анализатор, стоимость которого значительно превышает стоимость амплификатора Real-Time. Количество лабораторий, оснащенных генетическим анализатором, существенно ограничено. Применение метода ПЦР в реальном времени требует меньшей квалификации у персонала лаборатории, а также снижаются затраты на проведение анализов и сокращает затрачиваемое время исследований. Следовательно, определение стenosпермокарпической бессемянности с помощью разработанной тест-системы становится доступным для рутинной работы лабораторий при селекционных центрах.

Кроме получения достоверных результатов при применении разработанной тест-системы на стenosпермокарпическую бессемянность, увеличения доступности проведения анализов и снижения затрат, преимуществами метода ПЦР в реальном времени также являются объединение этапов амплификации и детекции, что упрощает процедуру анализа и снижает риск перекрестной контаминации; метод обладает высокой специфичностью и чувствительностью.

Использование тест-системы на стenosпермокарпическую бессемянность в селекционных программах позволяет полностью исключить семенные сеянцы из селекционных популяций скрещивания, что сокращает используемые площади селекционного участка в 2 раза сроком от 3-7 лет и более до

вступления в плодоношение, и соответствующие трудо-, энергозатраты на посадку и содержание насаждений.

Таким образом, на основе подтвержденной роли chr18: SNP 26,889,437 (A/C) в формировании стenosпермокарпической бессемянности, была разработана тест-система с использованием аллель-специфичных TaqMan зондов, подобраны оптимальные условия работы и проведена ее успешная апробация на 65 образцах: 16 бессемянных сортах, 39 семенных сортах (в том числе 24 сорта столового направления использования) и 10 гибридных форма. По сравнению с маркерами на бессемянность, применение предложенной тест-системы, разработанной на основании подтвержденных на отечественном генофонде выводов Roуo с соавторами (2018) о значимости SNP 26,889,437 (A/C) в формировании бессемянности, теоретически исключает получение ложных результатов и значительно увеличивает доступность тестирования: требует менее дорогостоящего оборудования, снижает затраты, время анализа и упрощает процедуру анализа, предъявляет меньшие требования к квалификации исполнителей, что будет способствовать внедрению молекулярно-генетических методов на ее основе в селекционную работу получения бессемянных сортов.

5.4. Экономический расчет эффективности внедрения тест-системы в научных и прикладных программах выведения бессемянных сортов винограда

Применение разработанной тест-системы на основе аллель-специфичных зондов по определению бессемянности в селекционной программе по получению бессемянных сортов позволяет полностью исключить семенные гибридные формы из полученной популяции в результате скрещивания по схеме «семенной х бессемянный». При исключении всех семенных форм популяция полученных сеянцев, которые необходимо высадить в грунт, сократится в 2 раза, что соответственно сократит площадь посадки и затраты в 2 раза на подготовку почвы, посадку сеянцев, содержание селекционного участка и селекционные наблюдения.

На селекционном участке для оценки агробиологических характеристик и фенотипических свойств бессемянности гибридных форм требуется содержание виноградных насаждений до вступления их в плодоношение от 3-х - 5-ти лет и более. Для расчета экономической эффективности используется период выращивания популяции 7 лет, когда большинство гибридных форм вступает в период плодоношения.

В первый год содержания селекционного участка требуются дополнительные затраты на установку шпалеры, в последующие годы возникают затраты по подвязке и обрезке сеянцев. В год вступления в плодоношение сотрудниками-селекционерами проводится работа по ампелографическому описанию гибридных форм, агробиологическому учету, определению механического состава грозди и ягоды. Экономический расчет по эффективности внедрения тест-системы в селекционных программах выведения бессемянных сортов состоит из следующих этапов (Таблица 37):

- I. Затраты на предпосадочную подготовку почвы селекционного участка;
- II. Затраты на посадку сеянцев на селекционном участке;
- III. Затраты на содержание селекционного участка в первый год;
- IV. Затраты на содержание селекционного участка последующие 5 лет (2-6 год);

V. Затраты на содержание селекционного участка в первый год активного плодоношения и оценку фенотипа (7 год).

Экономический расчет выполнен на 1 га селекционного участка (5 тыс. семян) и представлен в таблице 37.

Таблица 37 – Экономический эффект от применения разработанной тест-системы по выделению бессемянных форм на селекционном участке площадью 1 га

№ п/п	Наименование работ и затрат в единицах измерения	Количество	Стоимость единицы измерения, руб.	Стоимость на 1 га опытного участка	Сокращение затрат при применении тест-системы
1	2	3	4	5	6
I. Затраты на предпосадочную подготовку почвы на 1 га селекционного участка					
1	Поверхностное внесение минеральных удобрений			37427,83	18713,92
1.1	Аммофос, т	0,5 т/га	67000,00	33500,00	16750,00
1.2	Аммиачная селитра, т	0,08 т/га	39000,00	3120,00	1560,00
1.3	Эксплуатация машин, руб./га	1 га	493,20	493,20	246,60
1.4	Оплата труда, руб./га	1 га	314,63	314,63	157,32
2	Плантажная вспашка			16382,76	8191,38
2.1	Эксплуатация машин, руб./га	1 га	10164,12	10164,12	5082,06
2.2	Оплата труда, руб./га	1 га	6218,64	6218,64	3109,32
3	Перепашка плантажа			1257,01	628,51
3.1	Эксплуатация машин, руб./га	1 га	709,18	709,18	354,59
3.2	Оплата труда, руб./га	1 га	547,83	547,83	273,92
4	Дискование плантажа			1640,85	820,43
4.1	Эксплуатация машин, руб./га	1 га	941,25	941,25	470,63
4.2	Оплата труда, руб./га	1 га	699,60	699,60	349,80
5	Выравнивание плантажа			671,23	335,62
5.1	Эксплуатация машин, руб./га	1 га	378,81	378,81	189,41
5.2	Оплата труда, руб./га	1 га	292,42	292,42	146,21
6	Культивация плантажа 2-х кратная			851,03	425,52
6.1	Эксплуатация машин, руб./га	1 га	484,58	484,58	242,29
6.2	Оплата труда, руб./га	1 га	366,45	366,45	183,23
	Всего			58230,71	29115,38
II. Затраты на посадку семян на 1 га селекционного участка					
1	Разбивка участка			10960,20	5480,10
1.1	Эксплуатация машин, руб./га	1 га	283,90	283,90	141,95
1.2	Оплата труда, руб./га	1 га	10586,50	10586,50	5293,25
1.3	Материалы, руб./га	1 га	89,80	89,80	44,90
2	Транспортировка семян на расстояние до 5 км			1902,64	951,33
2.1	Эксплуатация машин, руб./га	1 га	602,49	602,49	301,25
2.2	Оплата труда, руб./га	1 га	1300,16	1300,16	650,08
3	Копание под посадку вручную			106975,47	53487,74
3.1	Оплата труда, руб./га	1 га	106975,47	106975,47	53487,74

Окончание таблицы 37

1	2	3	4	5	6
4	Посадка вручную			19433,26	9716,63
4.1	Оплата труда, руб./га	1 га	19433,26	19433,26	9716,63
5	Транспортировка воды на расстояние до 5 км			18771,47	9385,74
5.1	Эксплуатация машин, руб./га	1 га	8222,0	8222,0	4111,00
5.2	Оплата труда, руб./га	1 га	10549,47	10549,47	5274,74
6	Полив из цистерны посаженных сеянцев			17680,95	8840,48
6.1	Эксплуатация машин, руб./га	1 га	10796,02	10796,02	5398,01
6.2	Оплата труда, руб./га	1 га	6884,93	6884,93	3442,47
7	Окучивание после посадки вручную			12770,41	6385,21
7.1	Оплата труда, руб./га	1 га	12770,41	12770,41	6385,21
8	Вспашка междурядий			2390,36	1195,18
8.1	Эксплуатация машин, руб./га	1 га	1309,50	1309,50	654,75
8.2	Оплата труда, руб./га	1 га	1080,86	1080,86	540,43
	Всего			190884,76	95442,41
III. Затраты на содержание 1 га селекционного участка первый год					
1	Налог на землю, руб./га в год	1 га за 1 год	538,69	538,69	269,35
2	Затраты на ГСМ, руб./га в год	1 га за 1 год	9436,99	9436,99	4718,50
3	Установка шпалеры, руб./га в год	1 га за 1 год	49806,82	49806,82	24903,41
4	Внесение минеральных удобрений, руб./га в год	1 га за 1 год	872,68	872,68	436,34
5	Оплата труда, руб./га в год	1 га за 1 год	21067,99	21067,99	10534,00
6	Прочие расходы, руб./га в год	1 га за 1 год	5052,80	5052,80	2526,40
	Всего			86775,97	43388,00
IV. Затраты на содержание 1 га селекционного участка последующие 5 лет (2-6 год)					
1	Налог на землю, руб./га в год	1 га за 5 лет	538,69	2693,45	1346,73
2	Затраты на ГСМ, руб./га в год	1 га за 5 лет	9436,99	47184,95	23592,48
3	Подвязка, обрезка, обломка руб./га в год	1 га за 5 лет	26030,59	130152,95	65076,48
4	Оплата труда сотрудникам-селекционерам, руб./мес.	1 месяц на 1 га за год	58132,00	290660,00	145330,00
5	Внесение минеральных удобрений, руб./га в год	1 га за 5 лет	872,68	4363,40	2181,70
6	Оплата труда, руб./га в год	1 га за 5 лет	21067,99	105339,95	52669,98
7	Прочие расходы, руб./га в год	1 га за 5 лет	5052,80	25264,00	12632,00
	Всего			605658,7	302829,37
V. Затраты на содержание 1 га селекционного участка в первый год плодоношения (7 год)					
1	Налог на землю, руб./га в год	1 га за 1 год	538,69	538,69	269,35
2	Затраты на ГСМ, руб./га в год	1 га за 1 год	9436,99	9436,99	4718,50
3	Подвязка, обрезка, обломка руб./га в год	1 га за 1 год	26030,59	26030,59	13015,30
4	Оплата труда сотрудникам-селекционерам, руб./мес.	2 месяца на 1 га за год	58132,00	116264,00	58132,00
5	Внесение минеральных удобрений, руб./га в год	1 га за 1 год	872,68	872,68	436,34
6	Оплата труда, руб./га в год	1 га за 1 год	21067,99	21067,99	10534,00
7	Прочие расходы, руб./га в год	1 га за 1 год	5052,80	5052,80	2526,40
	Всего			179263,74	89631,89
	Разница в затратах				560406,83

Таблица 38 – Затраты от применения разработанной тест-системы по выделению бессемянных форм на 5000 семян (1 га)

№ п/п	Наименование материалов (пластика)	Расход		Цена, руб.	Коли- чество	Стоимость, руб.
		ед. изм.	коли- чество			
	1. Расходный материалы					
1	Стрипы для ПЦР в реальном времени 0,2 мл по 8 штук с крышками	шт.	625	2369	125 шт./уп.	11845,00
2	Пробирки типа Eppendorf (2,0 мл)	шт.	5000	1175	000 шт./уп.	5875,00
3	Пробирки типа Eppendorf (1,5 мл)	шт.	10000	790	500 шт./уп.	15800,00
4	Наконечники для дозаторов от 0,2 до 20 мкл	шт.	6500	3100	000 шт./уп.	20150,00
5	Наконечники для дозаторов от 20 мкл до 200 мкл	шт.	10500	1980	000 шт./уп.	20790,00
6	Наконечники для дозаторов от 100 до 1000 мкл	шт.	1500	1774	500 шт./уп.	5322,00
5	Одноразовые перчатки полимерные	уп.	500	600	50 пар/уп.	4500,00
2. Реагенты						
2.1 Для приготовления Лизирующего буфера						
1	Натрия хлорид, х.ч. по ГОСТ 4233	г	409	195	100 г	797,75
2	Этилендиаминтетраацетат (ЭДТА, х.ч.)	г	29	2740	500 г	160,15
3	Гексадецилтриметиламмония бромид (СТАВ, C ₁₉ H ₂₄ BrN)	г	100	912	100 г	912,00
4	Трис (оксиметил) аминометан (х.ч.)	г	79	2567	100 г	2022,80
5	Кислота соляная, х.ч. по ГОСТ 3118	мл	75	396	1000 мл	29,70
6	Натрия гидроксид, ч.д.а по ГОСТ 4328	г	150	560	500 г	168,00
7	Поливинилпирролидон (ПВП)	г	50	1239	100 г	619,50
2.2 Для выделения ДНК						
8	Хлороформ (х.ч., CHCl ₃) по ГОСТ 20015	л	9,6	391	1 л	3753,60
9	Спирт изоамиловый по ГОСТ 5830	л	0,4	2092	1 л	836,80
10	Спирт этиловый 96 % по ГОСТ 5962	л	10	1100	5 л	2200,00
11	Изопропиловый спирт (х.ч.)	л	5	1086	1 л	5430,00
12	Меркаптоэтанол, х.ч.	мл	60	1277	100 мл	766,20
2.3 Для проведения амплификации						
14	Реакционная смесь для проведения ПЦР типа РС 2,5х	мл	50	2260	2 мл	56500,00
15	Олигонуклеотидные праймеры, 2 шт.	нмоль	25	–	5 ОЕ (44 руб./шаг)	1760,00
16	Зонды (FAM – RTQ-1), (R6G – BHQ-2)	нмоль	25	–	5 ОЕ	13914,00
3. Оплата труда научным сотрудникам						
17	Оплата труда сотрудникам молекулярно-генетической лаборатории, руб./мес.	месяц	2	58132	–	116264,00
4. Амортизация оборудования						
18	Амплификатор в реальном времени	дни	60	822	–	49320,00
	Итого					339736,50

Таким образом, применение разработанной и апробированной тест-системы в селекционных программах по выведению бессемянных сортов винограда, позволит сократить количество высаживаемых гибридов в 2 раза и, соответственно, площадь насаждений и затраты на подготовку почвы, посадку сеянцев, содержание селекционного участка и селекционные работы. Это позволит снизить экономические расходы вдвое.

В целом, экономический эффект от применения тест-системы составит с учетом экономической выгоды от сокращения затрат 560 406,83 руб. и стоимость выполнения молекулярно-генетических исследований 339 736,50 руб. – 220 670,33 на 5 тыс. сеянцев. При этом необходимо также учитывать, что освободившийся участок площадью 0,5 га в среднем приблизительно 7 лет можно использовать для получения дополнительной выгоды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные в 2019-2024 гг. исследования сортов винограда АК «Магарач» и гибридов популяций с целью установления их происхождения и усовершенствования идентификации стеноспермокарпической бессемянности винограда на основе полиморфизма нуклеотидной последовательности позволили получить следующие результаты:

1. Определены фенотипические характеристики бессемянности в агроклиматических условиях пос. Вилино у 31 сорта винограда различного происхождения и выделены перспективные сорта. Наименьшее отношение массы рудиментов семян к массе ягоды отмечено у сортов Рушаки, Кишмиш черный, Кишмиш люнда и Кишмиш молдавский. К I высшей категории бессемянности принадлежат 5 сортов. Всего к I-III категории бессемянности отнесено 12 сортов, 4 из которых из группы кишмишей (стародавних сортов), а 3 сорта являются межвидовыми гибридами с небольшим размером ягод. Проведена дифференциация по семенному и бессемянному фенотипу 29 гибридов 3-х популяций. В популяции «Восторг красный х Юпитер» все плодоносящие гибридные формы определены как семенные. В популяциях «Подарок Запорожью х Аленушка» и «Флора х Руби сидлис» из 12 плодоносящих форм 5 определены как бессемянные формы I-IV категорий бессемянности.

2. В результате молекулярно-генетической паспортизации по 9 ядерным и 3 хлоропластным SSR-маркерам 57 бессемянных сортов Ампелографической коллекции «Магарач» подтверждена сортовая принадлежность 27 имеющихся бессемянных сортов, 3 образца АК определены как несоответствующие заявленному сорту. По 28-ми сортам впервые получены уникальные генетические профили, которые отсутствуют в базе генотипов каталога сортов VIVC, из них 11 сортов – селекции института «Магарач». Полученные генетические паспорта позволят в дальнейшем безошибочно проводить их идентификацию. По 6 сортам генетические профили дополнены до 9 маркеров. По 49 бессемянным сортам получены их хлоротипы, отсутствующие в базе

каталоге VIVC, для определения их материнской формы. На основе полученного опыта была разработана «Методика определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров (SSR-маркеров)», согласно которой ведется сортовая идентификация промышленных насаждений винограда и посадочного материала для виноградарских хозяйств Крыма. Разработаны и прошли государственную регистрацию «База молекулярно-генетических паспортов (генотипов) бессемянных сортов АК «Магарач» и «База хлоротипов бессемянных сортов АК «Магарач».

На основании принципа кодоминантного наследования SSR-маркеров и полученного хлоротипа уточнено и установлено происхождение 41 бессемянного сорта. Установлено, что стародавний сорт Кишмиш белый овальный или Султанина, его вариации (Кишмиш розовый), а также другие стародавние кишмишные сорта, вероятно произошедшие от него (Кишмиш черный, Кишмиш белый круглый) являются родителями либо исходными формами всех изученных бессемянных сортов. Этот вывод подтверждает предположение о сорте Кишмиш белый овальный (Султанина) как об источнике происхождения стеноспермокарпической бессемянности винограда. Было подтверждено либо уточнено происхождение (родительские формы) 10 сортов селекции института «Магарач» и 20 бессемянных сортов различного происхождения АК «Магарач», что является существенным для дальнейшего изучения их генотипов и использования в селекции.

Уточнено происхождение 109 гибридов 4-х популяций и установлены чужеродные примеси. Подтверждена однородность популяции Флора х Руби сидлис и ее происхождение. В популяциях Подарок Запорожью х Аленушка и Талисман х Экзотик было выделением по одной чужеродной гибридной форме. В популяции Восторг красный х Юпитер родительские формы не подтвердились, была выявлена неоднородность популяции.

3. Определена эффективность и аллельный полиморфизм двух ранее предложенных маркеров по бессемянности на 115 бессемянных и семенных

сортах различного происхождения, включая ранее не исследованные сорта селекции института «Магарач», среднеазиатские и восточноевропейские сорта. При отсутствии ошибочных результатов в определении бессемянности маркер VMC7F2 допустил 16,9% ложноположительных результатов, маркер p3_VvAGL11 – 4,6% (сорта Чауш белый, Советский богатырь и Молдова). Выделены семенные сорта – Чауш белый, а также Катта-Курган и Саваньен блан (Траминер белый) как источники ложноположительного аллеля у произошедших от них сортов. Корреляция между аллельным составом по маркерам и фенотипическим проявлением бессемянности не обнаружена. Таким образом ранее предложенные маркеры не обеспечивают необходимую надежность в идентификации бессемянности на отечественном генофонде сортов. По итогам работы была разработана и прошла гос. регистрацию «База генотипов сортов на основе маркеров MAS по бессемянности АК «Магарач».

При валидации маркеров по бессемянности на 109 гибридах 4-х популяций, было выделено 23 бессемянных генотипа. При тестировании на 53 плодоносящих гибридных формах популяций маркер p3_VvAGL11 не допустил ложных результатов, у маркера VMC7F2 был получен один ложноположительный результат, что составляет 2,1%. Внедрение молекулярно-генетических методов в программу ВНИИВиВ «Магарач» способствовало выделению бессемянного перспективного гибрида 32-11-5-1, на который принята заявка для получения патента на сорт «Партенитский».

4. Определен полиморфизм нуклеотидной последовательности, обуславливающий бессемянность, для разработки более эффективного маркера, в связи с выявлением ложных результатов у ранее предложенных маркеров p3_VvAGL11 и VMC7F2. Были получены нуклеотидные последовательности 15 образцов бессемянных и семенных сортов, включая сорта селекции «Магарач» и стародавние кишмишные сорта, методами секвенирования по Сэнгеру и биоинформатического анализа NGS. И подтверждена определяющая роль SNP 26,889,437 (A/C) экзона 7 гена *VvAGL11* chr 18 в образовании стеноспермокарпической бессемянности.

5. Усовершенствован метод идентификации стenosпермокарпической беспосмянности с помощью разработанной тест-системы на основе подтвержденной роли SNP 26,889,437 (A/C). Тест-система с использованием TaqMan зондов для ПЦР в реальном времени прошла апробацию на 65 семенных, беспосмянных сортах и гибридах, и позволяет теоретически безошибочно и сравнительно быстро выполнять идентификацию стenosпермокарпической беспосмянности. По сравнению с ранее предложенными маркерами использование тест-системы исключает ложные результаты и значительно увеличивает доступность тестирования, так как при ее использовании применяется менее дорогостоящее оборудование, снижаются затраты, упрощается процедура анализа, требуется меньшая квалификация исполнителей, что имеет практическое значение и будет способствовать внедрению молекулярно-генетических методов на ее основе в научный процесс, практику и производство.

РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ НАУЧНОГО ПРОЦЕССА, ПРАКТИКИ И ПРОИЗВОДСТВА

1. Для научных и прикладных программ по бессемянности винограда рекомендуется на основании экономической целесообразности использовать разработанную и апробированную, более эффективную и доступную для применения чем ранее предложенные маркеры, тест-систему для ПЦР в реальном времени по определению стenosпермокарпической бессемянности винограда с целью сокращения эксплуатационных затрат и занимаемой площади земельных участков в 2 раза. В отличие от имеющихся маркеров по бессемянности использование тест-системы требует меньших затрат, менее дорогостоящего оборудования и меньшей квалификации исполнителей.

2. Для подтверждения сортового соответствия посадочного материала винограда и при инвентаризации промышленных насаждений виноградарских хозяйств, а также для подтверждения родительских форм при гибридизации рекомендуется использовать разработанную, стандартизированную и апробированную при выполнении массовых испытаний «Методику определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров (SSR-маркеров)», 2024г. Также рекомендуется применение методики в случае выделения в полученной популяции сеянцев с нетипичными признаками для подтверждения их происхождения.

3. Для идентификации бессемянных сортов с помощью 9 SSR-маркеров в дополнение к базе генотипов международного каталога сортов винограда VIVC рекомендуется использовать «Базу молекулярно-генетических паспортов (генотипов) бессемянных сортов АК «Магарац», №2024622920 от 03.07.2024г., которая дополнительно включает 28 генотипов бессемянных сортов.

4. При применении маркеров по определению стenosпермокарпической бессемянности винограда рекомендуется использовать «Базу генотипов сортов на основе маркеров MAS по бессемянности АК «Магарац», №2025620767 от 14.02.2025г. для предотвращения ложноположительных результатов у этих маркеров при использовании выделенных в базе сортов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей работе применяют следующие сокращения и обозначения:

АК «Магарач»	– Ампелографическая коллекция «Магарач»
ВНИИВиВ «Магарач»	– ФГБУН «Всероссийский Национальный Научно-Исследовательский Институт Виноградарства и Виноделия «Магарач» РАН»
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНК-маркеры	– молекулярно-генетические маркеры
МАС	– маркер-ассоциированная селекция
MOVB, OIV	– Международная организация виноградарства и виноделия (International Organisation of Vine and Wine, на фр. Organisation Internationale de la vigne et du vin)
(A/C)	– азотистые основания: Аденин / Цитозин
Мультиплексная ПЦР	– полимеразная цепная реакция для одновременной амплификации нескольких различных последовательностей ДНК
п.н.	– пар нуклеотидов
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
ЦТАБ	– цетилтриметиламмония бромид
(f)	– женский тип цветка
OIV	– International Organization of Vine
QTL	– локус количественных признаков
cpSSR	– хлоропластные микросателлитные маркеры
Chr	– хромосома
LG	– группа сцепления («linkage group»)
NCBI	– National Center for Biotechnological Information (Национальный центр биотехнологической информации, США)
NGS	– секвенирование нового поколения
nSSR	– ядерные микросателлитные маркеры
SDI	– Seed Development Inhibitor
SNP	– однонуклеотидный полиморфизм
SSR-маркеры	– микросателлитные маркеры, основанные на анализе простых повторяющихся последовательностей
VIVC	– Vitis International Variety Catalogue (международный каталог сортов винограда)
WGS	– полногеномное секвенирование

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Table and dried grapes. [Электронный ресурс] / FAO-OIV Focus 2016 (Food and Agriculture Organization of the United Nations and the International Organisation of Vine and Wine). – 2016. – 64 с. Режим доступа: <https://www.oiv.int/public/medias/5268/fao-oiv-focus-2016.pdf>.
2. Distribution of the World's grapevine varieties. [Электронный ресурс] Focus OIV 2017. International Organization of Vine and Wine (OIV). – 2017. Режим доступа: <http://www.oiv.int/en/oiv-life/the-distribution-of-the-worlds-grapevine-varieties-new-oiv-study-available>.
3. Vivier M.A., Pretorius I.S. Genetically tailored grapevines for the wine industry //TRENDS in Biotechnology. – 2002. – Т. 20. – №. 11. – С. 472-478.
4. Волынкин В.А., Зленко В.А., Лиховской В.В. Селекция винограда на бессемянность, крупноягодность и раннеспелость на полиплоидном уровне // Виноградарство и виноделие. – 2009. – Т. 39 – С. 9-13.
5. Striem M. J., Spiegel-Roy P., Baron I., Sahar. N. The degrees of development of the seed-coat and the endosperm as separate subtraits of stenospermocarpic seedlessness in grapes // Vitis. – 1992. – Т. 31. – №. 3. – С. 149-155.
6. Полулях А.А., Волынкин В.А., Лиховской В.В. Генетические ресурсы винограда института «Магарач». Проблемы и перспективы сохранения // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2017. – 21(6). – С. 608-616. DOI 10.18699/VJ17.276.
7. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. – М.: Урожай, 1985. – 336 с.
8. Ильницкая Е.Т., Макаркина М.В. Применение ДНК-маркеров в современных селекционно-генетических исследованиях винограда // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2016. – Т. 20 (4). – С: 528-536. DOI 10.18699/VJ16.163.
9. Ильницкая Е.Т., Макаркина М.В., Токмаков С.В., Barba P., Weber J.P. Апробация ДНК-маркера p3_VvAGL11, сцепленного с признаком бессемянности винограда // Научные труды СКФНЦСВВ. – 2018. – Т.19. – С. 109-112.
- 10.Ильницкая Е.Т., Макаркина М.В., Токмаков С.В. Изучение генотипов винограда ДНК-маркером p3_VvAGL11, сцепленного с признаком бессемянности // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2018. – Т. 20. – № 4 (106). – С. 32-33.

11. Ильницкая Е.Т., Пята Е.Г., Мarmorштейн А.А., Коваленко А.Г. Проявление бессемянности сортов винограда в агроклиматических условиях анапской ампелографической коллекции // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2019. – № 59 (5). – С. 21-30.
12. Ильницкая Е.Т., Макаркина М.В., Токмаков С.В. Полиморфизм локуса *rp3_VvAGL11* в генотипах винограда различного происхождения // Виноградарство и виноделие. – 2020. – Т. 49. – С. 37-38.
13. Ильницкая Е.Т., Пята Е.Г., Макаркина М.В., Мarmorштейн А.А., Козина Т.Д. Фенотипическое и генетическое изучение бессемянности у сортов винограда // Садоводство и виноградарство. – 2020. – № 1. – С. 5-9.
14. Ильницкая Е.Т., Пята Е.Г., Котляр В.К., Макаркина М.В., Курденкова Е.К. Проявление категории бессемянности у сортов винограда // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2022. – № 78 (6). – С. 208-218.
15. Ильницкая Е.Т., Макаркина М.В., Пята Е.Г., Курденкова Е.К., Козина Т.Д. Изучение генотипа винограда Кишмиш № 342 и проявления бессемянности в условиях Анапской ампелографической коллекции // Садоводство и виноградарство. – 2022. – № 5. – С. 10-16. DOI: 10.31676/0235-2591-2022-5-10-16.
16. Ilnitskaya E.T., Makarkina M.V., Tokmakov S.V., Naumova L.G. DNA marker identification of downy mildew resistance locus RPV10 in grapevine genotypes // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. – 2023. – Т. 27. – № 2. – С. 129-134. DOI: 10.18699/VJGB-23-18.
17. Урденко Н.А., Бейбулатов М.Р., Тихомирова Н.А., Буйвал Р.А. Экономическое обоснование продуктивности клона VCR – 3 сорта Мускат белый при новой технологии его возделывания // Виноградарство и виноделие. – 2020. – 49. – С. 185-188.
18. National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/>.
19. Радчевский П.П., Трошин Л.П. Бессемянные сорта винограда. Учебное пособие // Кубан. гос. аграр. ун-т.: Краснодар. – 2008. – С. 160.
20. Трошин Л.П., Лиховской В.В., Волынкин В.А., Клименко В.П. Крымские селекционный сорта винограда: Монография / Краснодар: КубГАУ. – 2022. – 150 с.
21. Ledbetter C. A., Ramming D. W. Seedlessness in grapes // Horticultural Reviews. – 1989. – Т. 11. – С. 159-184.

22. Лиховской В.В., Студенникова Н.Л., Васылык И.А., Котоловец З.В., Рыбаченко Н.А. Сорта винограда селекции института «Магарач» для внедрения в сортимент виноградарских хозяйств Крыма / Ялта: ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН». – 2021. – 24 с.
23. Авидзба А.М., Иванченко В.И., Волынкин В.А., Полулях А.А., Чижова А.М., Рошка Н.А. Каталог ампелографической коллекции НИВиВ «Магарач». – Ч.2. Селекционные сорта Украины / Ялта: НИВиВ «Магарач». – 2008. – 39 с.
24. Темный М.М. Солнечные грозди (записки виноградаря-любителя) / Издание 2-е, Переработанное и дополненное. Ростов-на-Дону. Ростовское книжное издательство. – 1974. – 144 с.
25. Лиховской В.В., Волынкин В.А., Васылык И.А., Полулях А.А., Левченко С.В. Крымский бисер – новый бессемянный сорт винограда селекции Института «Магарач» // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2019. – 21(1). – С. 11-15.
26. Лиховской В.В., Спотарь Г.Ю., Студенникова Н.Л., Котоловец З.В., Рыбаченко Н.А., Гончаренко В.А. Новая бессемянная форма винограда Партенитский // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2023. – 25(4). – С. 341-348. DOI 10.34919/IM.2023.11.40.003.
27. Спотарь Г.Ю., Спотарь Е.Н., Мироненко А.А., Коновалова Н.В., Лиховской В.В. Паспортизация Ампелографической коллекции «Магарач» и внедрение геномных подходов в селекцию винограда // Сборник IV Международной научно-практической конференции «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений» (GenBio2024), 2024. – С. 143. DOI 10.18699/GenBio2024-68.
28. Рюмшин А.В., Иванченко В.И., Булава А.Н. Состояние и перспективы развития виноградно-винодельческого комплекса Республики Крым // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2018. – № 3. – С. 44-47.
29. Гориславец С.М., Рисованная В.И., Спотарь Г.Ю., Володин В.А. Генотипирование сорта винограда Бессемянный Магарача и анализ его происхождения с использованием SSR-маркеров // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2018. – 20(4). – С. 19-21.
30. Alba V., Bergamini C., Genghi R., Gasparro M., Perniola R., Antonacci D. Ampelometric leaf trait and SSR loci selection for a multivariate statistical approach in *Vitis vinifera* L. biodiversity management // Molecular Biotechnology. – 2015. – Т. 57. – №. 8. – С. 709-719.

31. Карастан О.М., Мулюкина Н.А., Плачинда Г.В., Папина О.С., Ковалева И.А. Оценка генетической подобности бессемянных сортов винограда ампелографической коллекции Учебно-Научного Центра "Институт виноградарства и виноделия имени В.Е. Таирова" и их вероятных родительских форм // Вестник Киевского национального университета им. Тараса Шевченко. Серия: Проблемы регуляции физиологических функций. – 2015. – №. 1. – С. 60-64.
32. Bautista J., Dangel G.S., Yang J., Reisch B., Stover E. Use of genetic markers to assess pedigrees of grape cultivars and breeding program selections // American journal of enology and viticulture. – 2008. – Т. 59. – №. 3. – С. 248-254.
33. Карастан О.М., Мулюкина Н.А., Плачинда Г.В., Папина О.С., Ковалева И.А., Герус Л.В. Маркер-сопутствующий отбор по признаку бессемянности винограда в гибридной популяции Кобзарь х Русалка 3 // Аграрный вестник Причерноморья. Биологические науки. – 2014. – Вып. 73. – С. 49-57.
34. Карастан О.М., Мулюкина Н.А., Папина О.С., Плачинда Г.В. Полиморфизм интрогенного микросателлитного локуса *p3_VvAGL11*, сцепленного с признаком бессемянности у винограда (*Vitis Vinifera* L.) // Весник Львовского университета. Серия биологическая. – 2015. – Вып. 70. – С. 90-99.
35. Майстренко Л.А. Интродукция и селекция бессемянных сортов винограда в условиях северной зоны промышленного виноградарства Российской Федерации : автореф. дис. кандидата сельскохозяйственных наук. – Новочеркасск, 1998. – 28 с.
36. Майстренко Л.А. Селекция бессемянного винограда межвидовой гибридизации // Материалы международной научно-практической конференции. – Новочеркасск. – 2008– С. 121-128.
37. Майстренко Л.А., Яковлева Н.А., Медютова Е.Н., Мезенцева Л.Н. Селекция бессемянного винограда методом межвидовой гибридизации // Материалы Международной научно-практической конференции. – Новочеркасск. – 2010. – С. 28-32.
38. Майстренко Л.А. Селекция бессемянного винограда в условиях северного промышленного виноградарства // Виноградарство и виноделие. Одесса. 2013. – № 50. – С.169–173.
39. Майстренко Л.А., Дуран Н.А., Медютова Е.Н., Мезенцева Л.Н. Итоги селекции бессемянных сортов винограда // Русский виноград. – 2017. – Т. 5. – С. 29–39.

40. Майстренко Л.А., Медютова Е.Н., Мезенцева Л.Н. Столовые и бессемянные сорта винограда ФГБНУ ВНИИВИВ им. Потапенко // Инновации в технологиях возделывания сельскохозяйственных культур: материалы межд. науч.-практ. конф. (17 февр. 2016 г.). пос. Персиановский: Донской ГАУ. – 2016. – С. 226–232.
41. Радчевский П.П., Трошин Л.П. Новации виноградарства России. 15. Бессемянные сорта винограда // Политематич. сетевой электрон. науч. журн. Кубанского ГАУ. – 2010. – №56 – С. 122-142. DOI:10.0000/cyberleninka.ru/article/n/novatsii-vinogradarstva-rossii-15-besemyannye-sorta-vinograda.
42. Смирнов К. В., Калмыкова Т. И., Морозова Г. С. Виноградарство / под ред. К.В. Смирнова. М.: Агропромиздат, 1987. – 367 с.
43. Смирнов К.В., Малтабар Л.М., Раджабов А.К., Матузок Н.В. Виноградарство: Учеб. для вузов / Под ред. проф. Смирнова К. В. Москва: Изд-во МСХА. 1998. – 510 с.
44. Павлова И.А. Особенности культивирования стenosпермокарпических семян винограда в селекции на бессемянность. Автореферат дисс. кандидата биол. наук. Ялта., 2003. 17 с.
45. Павлова И.А. Получение каллусных культур из незрелых семян винограда в условиях *in vitro* // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2011. – (4). – С. 5-6.
46. Adam-Blondon A.F., Lahogue F., Bouquet A., Boursiquot J.M., This P. Usefulness of two SCAR markers for marker-assisted selection of seedless grapevine cultivars // *Vitis*. – 2001. – Vol. 40 (3). – P: 147-155.
47. Arroyo-García R., Martínez-Zapater J.M. Development and characterization of new microsatellite markers for grape // *Vitis*. – 2004. – Vol. 43 (4). – P: 175–178.
48. Bouquet A., Danglot Y. Inheritance of seedlessness in grapevine (*Vitis vinifera* L.) // *Vitis*. 1996. – Vol. 35. – P. 35-42.
49. Cabezas J., Cervera M., Ruiz-Garcia L, Carreno J, Martinez-Zapater J. A genetic analysis of seed and berry weight in grapevine // *Genome*. – 2006. – 49(12). – P. 1572-1585. DOI 10.1139/g06-122.
50. Costantini L., Battilana J., Lamaj F., Fanizza G., Grando M.S. – Berry and phenology-related traits in grapevine (*Vitis vinifera* L.): from quantitative trait loci to underlying genes (Ягодные и фенотипически связанные признаки виноградской лозы (*Vitis vinifera* L.): от локусов количественных признаков до

- основных генов) // BMC Plant Biol. – 2008. – Vol. 8. – № 38. – P. 17. DOI 10.1186/1471-2229-8-38.
51. Doligez A., Bouquet A., Danglot Y., Lahogue F., Riaz S., Meredith C., This P. Genetic mapping of grapevine (*Vitis vinifera* L.) applied to the detection of QTLs for seedlessness and berry weight (Генетическое картирование виноградной лозы (*Vitis vinifera* L.), применяемое для обнаружения QTL для бессемянности и массы ягод) // Theor Appl Genet. – 2002. – 105(5) – P. 780-795.
 52. Fanizza G., Lamaj F., Costantini L., Chaabane R., Grando M. QTL analysis for fruit yield components in table grapes (*Vitis vinifera* L.) // Theor Appl Genet. – 2005. – 111 (4). – P. 658-664.
 53. Karaagac E., Vargas A., Andrés M., Carreño I., Ibáñez J., Carreño J., Martínez-Zapater J., Cabezas J. Marker assisted selection for seedlessness in table grape breeding (Маркер вспомогательная селекция на бессемянность при разведении столового винограда) // Tree Genetics & Genomes. – 2012. – Vol. 8. – Issue 5. – P. 1003–1015. DOI: 10.1007/s11295-012-0480-0.
 54. Lahogue F., This P., Bouquet A. Identification of a codominant SCAR marker linked to the seedlessness character in grapevine // Theor Appl Genet 97. – 1998. – P. 950-959.
 55. Li T., Li Z., Yin X., Guo Y., Wang Y., Xu Y. Improved in vitro *Vitis vinifera* L. embryo development of F1 progeny of ‘Delight’ × ‘Ruby seedless’ using putrescine and marker-assisted selection // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. – 2018. – Vol. 54. – P: 291–301.
 56. Mejía N., Hinrichsen P. A new, highly assertive SCAR marker potentially useful to assist selection for seedlessness in table grape breeding // Acta Horti 603. – 2003. – P. 559-564.
 57. Mejía N., Gebauer M., Muñoz L., Hewstone N., Muñoz C., Hinrichsen P. Identification of QTLs for seedlessness, berry size, and ripening date in a seedless × seedless progeny // Am J Enol Vitic. – 2007. – 58 (4). – P. 499-507.
 58. Mejía N., Soto B., Guerrero M., Casanueva X., Houel C., Ángeles Miccono M., Ramos R., Cunff L., Boursiquot J.-M., Hinrichsen P., Adam-Blondon A.-F. Molecular, genetic and transcriptional evidence for a role of *VvAGL11* in stenospermocarpic seedlessness in grapevine // BMC Plant Biol. – 2011. – Vol. 11. – P. 57-18. DOI 10.1186/1471-2229-11-57.

59. Ocares N., Mejía N. Suppression of the D-class MADS-box AGL11 gene triggers seedlessness in fleshy fruits // *Plant Cell Reports*. – 2016. – 35(1). – P. 239-254. DOI 0.1007/s00299-015-1882-x.
60. Malabarba J., Buffon V., Mariath J.E.A., Gaeta M.L., Dornelas M.C., Margis-Pinheiro M., Pasquali G., Revers L.F. The MADS-box gene Agamous-like 11 is essential for seed morphogenesis in grapevine // *Journal of Experimental Botany*. – 2017. – 68(7). – P.1493-1506. DOI 10.1093/jxb/erx025.
61. Rahman M.A., Balasubramani S.P., Basha S. M. Molecular characterization and phylogenetic analysis of MADS-box gene VroAGL11 associated with stenospermocarpic seedlessness in muscadine grapes // *Genes*. – 2021. – 12(2). – P. 232. DOI 10.3390/genes12020232.
62. Li S., Geng X., Chen S., Liu K., Yu S., Wang X., Zhang C., Zhang J., Wen Y., Luo Q., Xu Y., Wang Y. The co-expression of genes involved in seed coat and endosperm development promotes seed abortion in grapevine // *Planta*. – 2021. – 254 (5). – P. 87. DOI: 10.1007/s00425-021-03728-8.
63. Amato A., Cardone M.F., Ocares N., Alagna F., Ruperti B., Fattorini C., Velasco R., Mejía N., Zenoni S., Bergamini C. *VviAGL11* self-regulates and targets hormone- and secondary metabolism-related genes during seed development // *Horticulture Research*. – 2022. – 9. – P. uhac133. DOI: 10.1093/hr/uhac133.
64. Di Genova A., Almeida A.M., Muñoz-Espinoza C., Vizoso P., Travisany D., Moraga C., Pinto M., Hinrichsen P., Orellana A., Maass A. Whole genome comparison between table and wine grapes reveals a comprehensive catalog of structural variants // *BMC Plant Biology*. – 2014. – 14. – P. 7. DOI 10.1186/1471-2229-14-7.
65. Bergamini C., Cardone M.F., Anaclerio A., Perniola R., Pichierri A., Genghi R., Alba V., Forleo L.R., Caputo A.R., Montemurro C., Blanco A., Antonacci D. Validation assay of p3_VvAGL11 marker in a wide range of genetic background for early selection of stenospermocarp in *Vitis vinifera* L // *Molecular biotechnology*. – 2013. – T. 54. – P. 1021-1030.
66. Merdinoglu D., Butterlin G., Bevilacqua L., Chiquet V., Adam-Blondon A., Decroocq S. Development and characterization of a large set of microsatellite markers in grapevine (*Vitis vinifera* L.) suitable for multiplex PCR // *Molecular Breeding*. – 2005. – Vol. 15. – P. 349–366.
67. Pellerone F.I., Edwards K.J., Thomac M.R. Grapevine microsatellite repeats: isolation, characterisation and use for genotyping of grape germplasm from Southern Italy // *Vitis*. – 2001. – Vol. 40 (4). – P. 179-186.

68. Royo C., Torres-Perez R., Mauri N., Diestro N., Cabezas J., Marchal C., Lacombe T., Ibanez J., Tornel M., Carreno J., Martinez-Zapater J., Carbonell-Bejerano P. The Major Origin of Seedless Grapes is Associated with a Missense Mutation in the MADS-Box Gene *VviAGL11* (Основное происхождение бессемянного винограда связанное с миссенс-мутацией в гене MADS-Box *VviAGL11*) // Plant physiology. – 2018. – Vol. 177. – Issue 3. – P. 1234-1253. DOI: 10.1104/pp.18.00259.
69. Carbonell-Bejerano P., Royo C., Mauri N., Ibáñez J., Zapater J.M.M. Somatic variation and cultivar innovation in grapevine // Advances in Grape and Wine Biotechnology. London: IntechOpen. – 2019. – P. 1-22. DOI 10.5772/intechopen.86443.
70. Serrano A., Espinoza C., Armijo G., Inostroza-Blancheteau C., Poblete E., Meyer-Regueiro C., Arce A., Parada F., Santibáñez C., Arce-Johnson P. Omics Approaches for Understanding Grapevine Berry Development: Regulatory Networks Associated with Endogenous Processes and Environmental Responses // Frontiers in Plant Science. – 2017. – Vol. 8. – P.1-15.
71. This P., Lahogue F., Adam-Blondon A. et al. Towards markerassisted selection for seedlessness in grapevine. // Acta Horti 528. – 2000. – P. 221-229.
72. This P., Jung A., Boccacci P., Borrego J., Botta R., Costantini L., Crespan M., Dangl G.S., Eisenheld C., Ferreira-Monteiro F., Grando S., Ibáñez J., Lacombe T., Laucou V., Magalhães R., Meredith C. P., Milani N., Peterlunger E., Regner F., Zulini L., Maul E. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars // Theoretical and Applied Genetics. – 2004. – V. 109. – P. 1448–1458.
73. Varoquaux F., Blanvillain R., Delseny M., Gallois P. Less is better: new approaches for seedless fruit production // Trends Biotechnol. – 2000. – 18 – P. 233–242. DOI:10.1016/S0167-7799(00) 01448-7. PMID:10802558.
74. Нежданова А. В., Щенникова А. В. Факторы транскрипции семейства MADS растений: связь с признаками доместикации и перспективы для селекции (обзор) // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – том 56. – №5 – С. 823-842.
75. Gramzow L., Ritz M.S., Theißen G. On the origin of MADS-domain transcription factors // Trends in Genetics. – 2010. – 26(4) – P. 149-153.
76. Becker A., Theissen G. The major clades of MADS-box genes and their role in the development and evolution of flowering plants // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2003. – December (vol. 29, № 3). – P. 464–489. DOI:10.1016/s1055-7903(03)00207-0. – PMID 14615187.

77. Wang X., Liu Z., Zhang F., Xiao H., Cao S., Xue H., Liu W., Su Y., Liu Z., Zhong H., Zhang F. et al. Integrative genomics reveals the polygenic basis of seedlessness in grapevine // *Current Biology*. – 2024. – Т. 34. – №. 16. – С. 3763-3777. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2024.07.022>.
78. Dong Ya., Duan S., Xia Q., Liang Zh., Dong X., Margaryan K., Musayev M., Goryslavets S., Zdunić G., Bert P.F., Lacombe T., Maul E., Nick P., Bitskinashvili K., Bisztray G.D., Drori E., De Lorenzis G., Cunha J., Popescu C.F., Arroyo-Garcia R., Arnold C., Ergül A., Zhu Y., Ma C., Wang S., Liu S., Tang L., Wang C., Li D., Pan Y., Li J., Yang L., Li X., Xiang G., Yang Z., Chen B., Dai Z., Wang Y., Arakelyan A., Kuliyeв V., Spotar G., Girollet N., Delrot S., Ollat N., This P., Marchal C., Sarah G., Laucou V., Bacilieri R., Röckel F., Guan P., Jung A., Riemann M., Ujmajuridze L., Zakalashvili T., Maghradze D., Höhn M., Jahnke G., Kiss E., Deák T., Rahimi O., Hübner S., Grassi F., Mercati F., Sunseri F., Eiras-Dias J., Dumitru A.M., Carrasco D., Rodriguez-Izquierdo A., Muñoz G., Uysal T., Özer C., Kazan K., Xu M., Wang Y., Zhu S., Lu J., Zhao M., Wang L., Jiu S., Zhang Y., Sun L., Yang H., Weiss E., Wang S., Zhu Y., Li S., Sheng J., Chen W. Dual domestications and origin of traits in grapevine evolution // *Science*. – 2023. – 379 (6635). – P.892–901. DOI: 10.1126/science.add8655.
79. Гориславец С.М., Володин В.А., Спотарь Г.Ю., Рисованная В.И., Алексеев Я.И. Генотипирование сортов винограда селекции Института «Магарач» на основе анализа аллельного полиморфизма SSR локусов // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2019. – 21(4). – С. 289-293. DOI: 10.35547/IM.2019.21.4.002.
80. Спотарь Г.Ю., Гориславец С.М. Проявление признака бессемянности у группы сортов винограда в агроклиматических условиях ампелографической коллекции ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН» // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2020. – 22(4). – С. 304-311. DOI: 10.35547/IM.2020.57.93.003.
81. Спотарь Г.Ю., Блинова С.А., Шварцев А.А., Алексеев Я.И., Гориславец С.М. Особенности идентификации сортов и клонов винограда западноевропейского происхождения // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2021. – 23(2). – С. 125-133. DOI: 10.35547/IM.2021.23.2.004.
82. Спотарь Г.Ю., Гориславец С.М. Валидация основных молекулярных маркеров МАС для идентификации бессемянности на широкой выборке сортов ампелографической коллекции ВНИИВиВ «Магарач» // Материалы II Международной научно-практической конференции «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений». – 2021. – С. 70-71. DOI: 10.36305/2021-2-70-71.

83. Лиховской В.В., Зленко В.А., Хватков П.А., Малетич Г.К., Спотарь Г.Ю., Луцкай Е.А., Клименко В.П. Биотехнологические и молекулярно-генетические методы в селекции винограда // Садоводство и виноградарство. – 2022. – №6. – С. 5-15. DOI: 10.31676/0235-2591-2022-6-5-15.
84. Спотарь Г.Ю., Спотарь Е.Н., Гориславец С.М., Авидзба А.М., Лиховской В.В. Изучение полиморфизма экзона гена *VvAGL11* сорта винограда Кишмиш черный на основе результатов секвенирования нового поколения (NGS) биоинформатическими методами // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2022. – 24(4). – С. 302-307. DOI: 10.34919/IM.2022.56.54.001.
85. Likhovskoi V.V., Zlenko V.A., Spotar G.Y., Klimenko V.P. Marker-Assisted Selection of Grape Hybrids // Nanobiotechnology Reports. – 2023. – 18(3). – С. 458–461. DOI:10.1134/S2635167622600080.
86. Лиховской В.В., Волынкин В.А., Полулях А.А., Зленко В.А., Студенникова Н.Л., Спотарь Г.Ю. Становление научной школы по генетическим ресурсам, селекции и генетики винограда в России от Н.И. Вавилова до настоящих дней // Вестник российской сельскохозяйственной науки. – 2024. – №4. – С. 63-68. DOI: 10.31857/S2500208224040112.
87. Лиховской В.В., Волынкин В.А., Полулях А.А., Студенникова Н.Л., Спотарь Г.Ю. Концептуальное развитие генетики и селекции винограда // Бюллетень ГНБС. – 2024. – № 152. – С. 57-65.
88. Спотарь Г.Ю., Мироненко А.А., Спотарь Е.Н., Пахомова Е.П., Авидзба А.М. Результаты идентификации сортовой принадлежности винограда с использованием SSR-маркеров для хозяйств Крыма в 2024 г. // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2025. – №27(3). – С. 216-220.
89. Becker A., Theißen G. The major clades of MADS-box genes and their role in the development and evolution of flowering plants // Molecular phylogenetics and evolution. – 2003. – Т. 29. – №. 3. – Р. 464-489. DOI:10.1016/S1055-7903(03)00207-0.
90. InterPro. Classification of protein families [Электронный ресурс] / European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI). Режим доступа: <https://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/InterPro/IPR002487/>.
91. Олейников Н.П., Лиховской В.В. Генеалогия сортов винограда селекции «Магарач». [Электронный ресурс] / Сайт о винограде. – 2024. – Режим доступа: <https://vinograd.info/stati/stati/genealogiya-sortov-vinograda-selekcii-magarach.html>.

92. Dangl G.S., Mendum M.L., Prins B.H., Walker M.A., Meredith C.P., Simon C.J. Simple sequence repeat analysis of a clonally propagated species: a tool for managing a grape germplasm collection // *Genome*. – 2001. – 44. – P. 432–438. PMID:11444702.
93. Ibanez J., Vargas A.M., Palancar M., Borrego J., de Andres M.T. Genetic relationships among table-grape varieties // *Am J Enol Vitic*. – 2009. – 60. – P. 35–42.
94. Vargas A.M., de Andrés M.T., Borrego B., Ibáñez J. Pedigrees of fifty table-grape cultivars // *Am J Enol Vitic*. – 2009. – 60 (4). – P. 525–532.
95. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // *Plant molecular biology*. – 1985. – 5 (2). – P. 69–76.
96. Bowers J.E., Dangl G.S., Vignani R., Meredith C.P. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.) // *Genome*. – 1996. – 39. – P. 628–633.
97. Bowers J.E., Dangl G.S., Meredith C.P. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape // *Am J Enol Viticult*. – 1999. – 50. – P. 243–246.
98. Sefc K.M., Regner F., Turetschek E., Glössl J., Steinkellner H. Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species // *Genome*. – 1999. – 42. – P. 367–373.
99. Thomas M.R., Scott N.S. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs) // *Theoretical and Applied Genetics*. – 1993. – 86. – P. 985–990.
100. This P., Jung A., Boccacci P. Borrego J., Botta R., Costantini L., Crespan M., Dangl G.S., Eisenheld C., Ferreira-Monteiro F., Grando S., Ibáñez J., Lacombe T., Laucou V., Magalhães R., Meredith C. P., Milani N., Peterlunger E., Regner F., Zulini L., Maul E. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivar // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2004. – 109(7). – P.1448–1458. DOI 10.1007/s00122-004-1760-3.
101. Laucou V., Lacombe T., Dechesne F. Siret R., Bruno J.-P., Dessup M., Dessup T., Ortigosa P., Parra P., Roux C., Santoni S., Vare`s D., Pe´ros J.-P., Boursiquot J.-M., This P. High through put analysis of grape genetic diversity as a tool for germ plasm collection management // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2011. – 122(6). – P.1233–1245. DOI 10.1007/s00122-010-1527-y.

102. Vitis International Variety Catalogue VIVC. Julius KuhnInstitut. [Electronic resource]. <http://www.vivc.de/index.php> (Date of application: 15.04.2024).
103. Maul E., Töpfer R. Vitis International Variety Catalogue (VIVC): A cultivar database referenced by genetic profiles and morphology // BIO Web of Conferences. EDP Sciences. – 2015. – 5. – P. 01009.
104. Maul E., Töpfer R., Carka F. et al. Identification and characterization of grapevine genetic resources maintained in Eastern European Collections // Vitis. – 2015. – 54. – P.5-12.
105. Weising K., Gardner R.C. A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms // Genome. – 1999. – 42(1). – P. 9-19.
106. Arroyo García R., Ruiz Garcia L., Bolling L. et al. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. sativa) based on chloroplast DNA polymorphisms // Molecular ecology. – 2006. – 15(12). – P. 3707-3714.
107. DARwin 6 website [Электронный ресурс] / DARwin software website; Web-мастер Cirad. 2014. – Режим доступа: <http://darwin.cirad.fr/>.
108. International Organisation of Vine and Wine (OIV) [Электронный ресурс] / Publication of the 3rd edition of «OIV Descriptor list of grape vine varieties and Vitis species». – 2023. – Режим доступа: <https://www.oiv.int/node/3028>.
109. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию [Электронный ресурс] / Том 1. Сорты растений. Виноград. – Режим доступа: <https://gossortrf.ru/registry/gosudarstvennyy-reestr-selektionnykh-dostizheniy-dopushchennykh-k-ispolzovaniyu-tom-1-sorta-rasteni/>.
110. Методические рекомендации по созданию сортов винограда для степного Крыма. Ялта: Институт ВиВ «Магарач», 2005. – 24 с.
111. Методика определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров (SSR-маркеров). (Экспертное заключение №МЭ1/0102 от 17.07.2024г. о метрологической экспертизе ФГБУ «ВГНКИ»). – Ялта: ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН, 2024. – 20 с.

ПРИЛОЖЕНИЯ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2024622920

**«База молекулярно-генетических паспортов (генотипов)
бессемянных сортов ампелографической коллекции
«Магарач»»**

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки «Всероссийский национальный научно-
исследовательский институт виноградарства и виноделия
«Магарач» РАН» (RU)*

Авторы: *Спотарь Геннадий Юрьевич (RU), Лиховской Владимир
Владимирович (RU), Спотарь Елена Николаевна (RU), Мироненко
Анна Алексеевна (RU), Полулях Алла Анатольевна (RU)*

Заявка № 2024622475

Дата поступления 14 июня 2024 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных 03 июля 2024 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2025620766

**«БАЗА ХЛОРОТИПОВ БЕССЕМЯННЫХ СОРТОВ
АМПЕЛОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ «МАГАРАЧ»**

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки «Всероссийский национальный научно-
исследовательский институт виноградарства и
виноделия «Магарач» РАН» (RU)*

Авторы: *Спотарь Геннадий Юрьевич (RU), Лиховской
Владимир Владимирович (RU), Спотарь Елена
Николаевна (RU), Мироненко Анна Алексеевна (RU)*

Заявка № 2025620023

Дата поступления 09 января 2025 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных 14 февраля 2025 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2025620767

**«БАЗА ГЕНОТИПОВ СОРТОВ НА ОСНОВЕ
МАРКЕРОВ MAS ПО БЕССЕМЯННОСТИ
АМПЕЛОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ «МАГАРАЧ»**

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки «Всероссийский национальный научно-
исследовательский институт виноградарства и виноделия
«Магарач» РАН» (RU)*

Авторы: *Спотарь Геннадий Юрьевич (RU), Лиховской
Владимир Владимирович (RU), Спотарь Елена Николаевна
(RU), Мироненко Анна Алексеевна (RU)*

Заявка № 2025620022

Дата поступления 09 января 2025 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных 14 февраля 2025 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ВИНОГРАДАРСТВА И ВИНОДЕЛИЯ «МАГАРАЧ» РАН»
(ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН»)

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФГБУН «ВНИИВиВ
«Магарач» РАН»

В. В. Лиховской
25 июля 2024 г.

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ
сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью
микросателлитных маркеров (SSR-маркеров)

Ялта
2024

Ф02(02.02)-МС

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель метрологической службы
ФГБУ «ВГНКИ»


А.М. Зайцев
« 12 » 04 2024 г.

ЭКСПЕРТНОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ № МЭ 1/0102

По результатам
метрологической экспертизы
методики определения

«МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ сортовой принадлежности
генотипов винограда с помощью микросателлитных
маркеров (SSR-маркеров)»

Номер и наименование нормативной документации

Проведена на основании:

Заявка № МЭ 1/0102 от 26.04.2024

На метрологическую экспертизу представлены документы:

- Проект нормативного документа, регламентирующего методику определения;
- Техническое задание на разработку методики определения;
- Программа эксперимента методики определения;
- Отчет по валидации методики определения.

В результате метрологической экспертизы установлено:

соответствие поступившей документации требованиям Федерального закона от 26.06.2008 № 102-ФЗ «Об обеспечении единства измерений»; Постановления Правительства РФ от 31.10.2009 № 879 «Об утверждении Положения о единицах величин, допускаемых к применению в Российской Федерации», Постановление Правительства РФ от 16.11.2020 № 1847 «Об утверждении перечня измерений, относящихся к сфере государственного регулирования обеспечения единства измерений», а также иным требованиям, установленным нормативно-правовыми актами смежного законодательства, в том числе указанными в нормативном документе (методике): «МУ 1.3.2569-09. 1.3. Эпидемиология. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I - IV групп патогенности. Методические указания»

Представленная документация **соответствует**

ГОСТ Р 8.563-2009 «Государственная система обеспечения единства измерений. Методики (методы) измерений»

документы, регламентирующие метрологические правила и нормы

Рекомендации по внесению дополнений и изменений: Отсутствуют

Специалист, проводивший экспертизу:

Руководитель МС

должность

подпись

А.М. Зайцев

Инициалы, фамилия

**ФГБУ "ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО
ИСПЫТАНИЮ И ОХРАНЕ СЕЛЕКЦИОННЫХ ДОСТИЖЕНИЙ"**

ул. Садовая-Спаская, 11/1, Москва, 107078
Тел.: +7(495) 604-82-66, +7(495) 411-83-66; E-mail: gsk@gossortrf.ru

УВЕДОМЛЕНИЕ О ПРИЕМЕ ЗАЯВКИ

Кому : ФГБУН 'ВСЕРОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ НИИ ВИНОГРАДАРСТВА И
ВИНОДЕЛИЯ 'МАГАРАЧ' РАН'

Адрес : 298600, РОССИЯ, РЕСПУБЛИКА КРЫМ, Г. ЯЛТА, УЛ. КИРОВА, Д. 31

Культура **Виноград**
Сорт / Гибрид **ПАРТЕНИТСКИЙ**

Ваша заявка на выдачу патента прошла процедуру предварительной экспертизы.

Заявке присвоен № **91565 / 7553377**

Дата регистрации **31.05.2024**

Планируемый год начала испытаний **2025**

Дата приоритета **31.05.2024**

Решение по Вашей заявке будет принято после:

- оценки на ООС по результатам испытаний на ГСУ. Вы должны выслать в указанные ниже пункты испытаний с отметкой "идентификация" необходимое количество посадочного материала:

шт. саженцев

КРАСНОГВАРДЕЙСК. К. 297060, РЕСПУБЛИКА КРЫМ, КРАСНОГВАРДЕЙСКИЙ РАЙОН, 7
С. НОВОАЛЕКСЕЕВКА, УЛ. ВЕСЕЛАЯ, 53-А

В установленные сроки Вам необходимо оплатить соответствующие госпошлины и выслать копии платежных поручений в отдел Регистрации Госкомиссии. Размер пошлин указан в рублях:

5 Испытание селекционного достижения на отличимость, однородность и стабильность	руб. 5280
--	---------------------

Пошлины принимаются на прилагаемый счет.

Платеж производится отдельно по каждому заявленному селекционному достижению. В платежном поручении необходимо указать код госпошлины в соответствии с положением о патентных госпошлинах на селекционные достижения, культуру и название сорта (гибрида), за который производится платеж.

И.о. зам. нач. отд. регистрации,
госреестров, международного
взаимодействия и методики

24.06.2024

Н.В. Булатова

Исп.: Булатова Н.В.

ФГБУ Государственная комиссия Российской Федерации
по испытанию и охране селекционных достижений
107139, Москва, Орликов пер. 1/11

Форма 301

Номер заявки

--	--	--	--	--	--	--	--

Дата регистрации

--	--	--	--	--	--	--	--

(год, месяц, число)

ЗАЯВЛЕНИЕ НА ВЫДАЧУ ПАТЕНТА НА СЕЛЕКЦИОННОЕ ДОСТИЖЕНИЕ

1(а) Заявитель(и)	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виногра- дарства и виноделия «Магарах» РАН» 298600 Россия, Республика Крым, г.Ялта, ул.Кирова, 31 (Указать имя юридического или физического лица и его адрес)							
ИНН 9103077932 1(б) Гражданство (для физических лиц)	e-mail priemnaya@magarach-institut.ru							
2(а) Адрес и наименование лица, уполномоченного вести переписку по заявке <table border="1" style="width: 100px; text-align: center;"> <tr> <td>2</td><td>9</td><td>8</td><td>6</td><td>0</td><td>0</td> </tr> </table> Россия, Республика Крым, г.Ялта, ул.Кирова, 31 ФГБУН «Всероссийский национальный научно-исследовательский ин- ститут виноградарства и виноделия «Магарах» РАН» Телефон 7 (3654)23-05-91 Телефакс 7 (3654)23-06-08 Телекс ИНН 9103077932 e-mail: priemnaya@magarach- institut.ru	2	9	8	6	0	0	2(б) Это адрес: ☒ одного из заявителей ☐ одного из авторов ☐ доверенного лица	
2	9	8	6	0	0			
3(а) Род, вид	Виноград (русское название)							
3(б) Род, вид	Vitis L. (латинское название)							
4(а) Предлагаемое название	Партенитский							
4(б) Селекционный номер	М № 32-11-5-1							
5(а) Действительным(и) автором(ами) является(ются): ☐ заявитель(и) (все) ☒ следующее(ие) лицо(а)								
Фамилия	Имя	Отчество	Адрес					
Лиховской	Владимир	Владимирович	298660, РФ, Республика Крым, г. Ялта, п. Гаспра, ул. Риек- ская, д. 2, корп. 2, кв. 73					
Волынкин	Владимир	Александрович	298600, РФ, Республика Крым, г. Ялта, ул. Кирова, д.31, лит.С, ком. 45-3, 45-4					
Спотарь	Геннадий	Юрьевич	298600, РФ, Республика Крым, г. Ялта, пгт. Никита, д.2, кв. 4					
Студенникова	Наталия	Леонидовна	298604, РФ, Республика Крым, г. Ялта, ул. Блюхера, д. 15, кв. 16					
Котоловец	Зинаида	Викторовна	298600, РФ, Республика Крым, г. Ялта, ул. Кирова, д.31, лит.С, ком. 47-4					
Рыбаченко	Наталия	Анатольевна	298600, РФ, Республика Крым, г. Ялта, ул. Кирова, д.31 лит.С, ком. 73-5					
По имеющейся у меня (нас) информации других действительных авторов нет.								
5(б) Селекционное достижение получено заявителем(ами): ☒ по договору								

☐ по наследству

☐ иначе (указать)

5(в) Селекционное достижение выведено в стране(ах)

Россия

6 Предыдущие заявки	Зарегистрированы		Номер заявки	Стадия	Под каким названием
	в стране	дата			
(а) на представление охраны	нет	-	-	-	-
(б) на допуск к использованию	нет	-	-	-	-

Я(мы) заявляю(ем), что материал, переданный с первой заявкой, представляет данный сорт (породу) и соответствует настоящей заявке

7 Предлагался ли сорт (порода) к продаже или продавался

(а) в стране подачи заявки: ☒ - нет ☐ - да впервые (дата)

под названием

(б) в других странах: ☒ - нет ☐ - да впервые (страна, дата)

под названием

Прилагаемые к заявлению документы заявки (отметьте знаком [x] квадрат, соответствующий прилагаемым документам):

- ☒ анкета селекционного достижения, 3 экз.
- ☐ доверенность (для посредника)
- ☐ копия первой заявки
- ☒ документ об уплате пошлины за подачу заявки и проведение ее предварительной экспертизы
- ☐ документ о передаче права на подачу заявки (для правопреемников)
- ☐ информация о ранее произведенной продаже
- ☒ фотографии
- ☐

Я(мы) прошу(просим) выдать патент и авторское(ие) свидетельство(а) на заявленное селекционное достижение.
Я(мы) заявляю(ем), что по имеющимся у меня(нас) сведениям информация, необходимая для рассмотрения заявки и внесенная в настоящее заявление и в приложения, является окончательной и правильной.
Я(мы) подтверждаю(ем), что образцы получены должным образом и представляют репрезентативную выборку селекционного достижения.

Я(мы) подтверждаю(ем) наличие договора заявителя(ей) с автором(ами) сорта (породы).

ПОДПИСЬ(И) ЗАЯВИТЕЛЯ(ЕЙ)

Директор ФГБУН «ВНИИВиВ
«Магарач» РАН»

МЕСТО ПЕЧАТАНИЯ



В.В. Лиховской

Утверждаю

Директор
ФГБУН «ВНИИВиВ «Магarach»
НИИ «Курчатовский институт»
доктор д-р наук



В.В. Лиховской
2025 г.

АКТ

**о практическом применении результатов диссертационного
исследования Спотаря Г.Ю. на тему «Идентификация
стеноспермокарпической бессемянности и уточнение происхождения
бессемянных сортов винограда (*Vitis L.*)»**

Настоящим Актом удостоверяется, что на основании результатов диссертационного исследования Спотаря Г.Ю. на тему «Идентификация стеноспермокарпической бессемянности и уточнение происхождения бессемянных сортов винограда (*Vitis L.*)» с помощью внедрения в селекционную работу метода маркер-ассоциированной селекции (МАС) были выделены бессемянные гибридные формы в 2-х опытных популяциях, полученных по схеме скрещивания «семенной х бессемянный», Флора х Руби сидлис и Подарок Запорожью х Аленушка (тип Черный палец) селекционного участка пгт. Партенит.

С применением молекулярно-генетических маркеров МАС и разработанной тест-системы на основе аллель-специфичных TaqMan зондов в популяции Флора х Руби сидлис были выделены гибридные формы 34-11-7-35 и 34-11-7-39 как бессемянные, что подтверждается проведенными фенотипическими наблюдениями. Данные формы отнесены к IV и I категории бессемянности соответственно. У гибридных форм 34-11-7-36 и 34-11-7-38 был определен семенной генотип, что подтверждается фенотипическими исследованиями.

В популяции Подарок Запорожью х Аленушка методами МАС были определены как бессемянные гибридные формы 32-11-5-1, 32-11-5-7 и 32-11-5-9, что соответствует полученным фенотипическим наблюдениям. Данные формы отнесены к I, III и III категории бессемянности соответственно. Гибридные формы 32-11-5-2, 32-11-5-4, 32-11-5-5 и 32-11-5-6 отнесены к семенному генотипу, что подтверждается фенотипическими исследованиями.

Из гибридных форм, не вступивших в плодоношение, согласно результатам МАС в популяции Флора х Руби сидлис бессемянными являются кроме указанных еще 10 форм: 34-11-7-29, 34-11-7-32, 34-11-7-33, 34-11-7-34, 34-11-7-42, 34-11-7-43, 34-11-7-50, 34-11-7-51, 34-11-7-52, 34-11-7-55. В популяции Подарок Запорожью х Аленушка бессемянными являются кроме указанных еще 6 форм: 32-11-4-52, 32-11-4-53, 32-11-4-55, 32-11-4-56, 32-11-4-57, 32-11-5-8.

Оставшиеся 10 гибридных форм Флора х Руби сидлис и 5 форм Подарок Запорожью х Аленушка, определенные методами МАС как семенные, не представляют интерес для выведения бессемянных сортов, и могут быть исключены из данного селекционного процесса.

Из 41 гибридной формы 2-х указанных популяций с помощью методов МАС 21 форма определена как бессемянная (51%), 20 - как семенные. Таким образом применение в селекционных программах на бессемянность методов МАС позволяет сократить занимаемые площади селекционного участка, соответствующие трудо- и энергозатраты от 3-5 и более лет почти в 2 раз без потери бессемянных форм. В результате исследований с применением методов МАС была выделена перспективная по хозяйственно-ценным качествам бессемянная гибридная форма 32-11-5-1 Подарок Запорожью х Аленушка, на которую принята заявка ФГБУ «Государственная комиссия РФ по испытанию и охране селекционных достижений» на выдачу патента на бессемянный сорт «Партенитский» (уведомление о приеме заявки №91565 / 7553377 от 31.05.2024г.).

Зав. лабораторией
генеративной и клоновой селекции
кандидат с.-х. наук



Н.Л. Студенникова

Ст. научный сотрудник
лаб. генеративной и клоновой селекции
кандидат с.-х. наук



З.В. Котоловец

Мл. научный сотрудник
лаб. молекулярно-генетических исследований



Г.Ю. Спотарь

154

Утверждаю

Директор
ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач»
ИИД «Курчатовский институт»
доктор с.-х. наук

В.В. Лиховской
2025 г.

АКТ

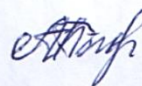
о создании банка ДНК сортов винограда
Ампелографической коллекции «Магарач»

Настоящим Актом удостоверяется, что в рамках диссертационного исследования Спотаря Г.Ю. по идентификации стеноспермокарпической бессемянности и уточнению происхождения бессемянных сортов винограда (*Vitis* L.) был создан банк ДНК сортов винограда Ампелографической коллекции (АК) «Магарач». Созданный банк ДНК АК «Магарач» содержит 117 сортов коллекции, из них 55 бессемянных и 62 семенных сортов различного происхождения.

ДНК была выделена из образцов сортов винограда (листьев либо черенков) модифицированным ЦТАБ методом, концентрация и качество которой контролировались с помощью измерения на спектрофотометре. Концентрация хранящихся образцов ДНК доведена до 20 нг/мкл. Все образцы ДНК банка были генотипированы по 9 ядерным и 3 хлоропластным SSR-маркерам. На основании полученного генетического профиля образца подтверждено его сортовое соответствие при наличии профиля сорта в международном каталоге сортов VIVC. Образцы Банка ДНК в объеме 100 мкл содержатся в пробирках 1,5мл и хранятся в условиях -25 °С в пластиковых контейнерах.

Банк ДНК АК «Магарач» создан для дальнейших молекулярно-генетических исследований сортов АК «Магарач»: определение локусов хозяйственно-ценных признаков, определение локусов резистентности к фитопатогенам, исследование полиморфизма последовательности ДНК (SNP, InDel), определение генетических связей и происхождения и др.

Зав. сектором ампелографии,
ведущий научный сотрудник
кандидат с.-х. наук



А.А. Полулях

Зав. лабораторией
генеративной и клоновой селекции
кандидат с.-х. наук



Н.И. Студенникова

Научный сотрудник
лаб. молекулярно-генетических исследований



Г.Ю. Спотарь

Утверждаю

Директор
НИИ «Курчатовский институт» –«Магарач»,
доктор с. н. наукВ.В. Лиховской
« » 2025 г.

АКТ

о внедрении идентификации сортовой принадлежности
в виноградарских хозяйствах Крыма

Настоящим актом удостоверяется, что в виноградарском хозяйстве АО «ПАО «Массандра» (договор №199/2024 от 3.09.2024г.) проведена сортовая идентификация насаждений винограда в количестве 1 образца на основании «Методики определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров (SSR-маркеров)», экспертное заключение №МЭ1/0102 от 17.07.2024г. о метрологической экспертизе ФГБУ «ВГНКИ».

Научный сотрудник

лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям

Г.Ю. Спотарь

Мл. научный сотрудник

лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям

Е.Н. Спотарь

Ведущий инженер

лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям

А.А. Мироненко

Инженер

лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям

Е.П. Пахомова



главному
АО «ПАО «Массандра»
А.А. Мисюродов

Утверждаю

Директор
НИИ «Курчатовский институт» –
«Матарач»
доктор с.х. наук



В.В. Лиховской
2025 г.

АКТ

о внедрении идентификации сортовой принадлежности
в виноградарских хозяйствах Крыма

Настоящим актом удостоверяется, что в виноградарском хозяйстве ООО «Легенда Крыма» (договор №143/2024 от 10.06.2024г., договор №206/2024 от 18.09.2024г.) проведена сортовая идентификация образцов промышленных насаждений винограда в количестве 8 шт. на основании «Методики определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров (SSR-маркеров)», экспертное заключение №МЭ1/0102 от 17.07.2024г. о метрологической экспертизе ФГБУ «ВГНКИ».

Научный сотрудник

лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям  Г.Ю. Спотарь

Мл. научный сотрудник

лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям  Е.Н. Спотарь

Ведущий инженер

лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям  А.А. Мироненко

Инженер

лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям  Е.П. Пахомова



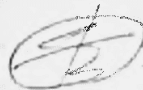
генеральный директор
ООО «Легенда Крыма»
Крюков Д.Т.

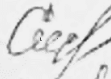
Утверждаю
 Директор
 НИИ «Курчатовский институт» –
 «Магарач»,
 доктор с.х. наук
 В.В. Лиховской
 2025 г.

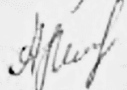


АКТ
о внедрении идентификации сортовой принадлежности
в виноградарских хозяйствах Крыма

Настоящим актом удостоверяется, что в виноградарском хозяйстве АО «Солнечная Долина» (договор №200/2024 от 3.09.2024г.) проведена сортовая идентификация образцов промышленных насаждений винограда в количестве 2 шт. на основании «Методики определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров (SSR-маркеров)», экспертное заключение №МЭ1/0102 от 17.07.2024г. о метрологической экспертизе ФГБУ «ВГНКИ».

Научный сотрудник
 лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям  Г.Ю. Спотарь

Мл. научный сотрудник
 лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям  Е.Н. Спотарь

Ведущий инженер
 лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям  А.А. Мироненко

Инженер
 лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям  Е.П. Пахомова

Главный агроном
 ТЕР-ПЕТРОСЯНЦЕ ВУЗ





Утверждаю
Директор
НИИ «Курчатовский институт» –
«Магарач»,
доктор с.-х. наук

В.В. Лиховской
» 2025 г.

АКТ

о внедрении идентификации сортовой принадлежности в виноградарских хозяйствах Крыма

Настоящим актом удостоверяется, что в виноградарском хозяйстве АО «Солнечная долина» (договор №99/2025 от 15.04.2025г.) проведена сортовая идентификация посадочного материала (саженцев) винограда в количестве 6 шт. на основании «Методики определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров (SSR-маркеров)», экспертное заключение №МЭ1/0102 от 17.07.2024г. о метрологической экспертизе ФГБУ «ВГНКИ».

Научный сотрудник

лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям

Г.Ю. Спотарь

Мл. научный сотрудник

лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям

Е.Н. Спотарь

Ведущий инженер

лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям

А.А. Мироненко

Инженер

лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям

Е.П. Пахомова

Главный агроном
ТЕР-ПЕТРОСЯНИ Т.В.



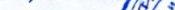
Настоящим актом удостоверяется, что в виноградарском хозяйстве ООО «Легадо» (договор №143/2025 от 9.06.2025г.) проведена сортовая идентификация образцов промышленных насаждений винограда в количестве 9 шт. на основании «Методики определения сортовой принадлежности генотипов винограда с помощью микросателлитных маркеров (SSR-маркеров)», экспертное заключение №МЭ1/0102 от 17.07.2024г. о метрологической экспертизе ФГБУ «ВГНКИ».

Научный сотрудник
лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям  Г.Ю. Спотарь

Мл. научный сотрудник
лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям  Е.Н. Спотарь

Ведущий инженер
лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям  А.А. Мироненко

Инженер
лаб. по молекулярно-генетическим исследованиям

Исследователь директор ООО «Легко»  Мосеев Ю.В.



Приложение Ж

Таблица – Общая характеристика и происхождение исследуемых бессемянных сортов винограда (Трошин с соавт., 2022; Лиховской с соавт., 2022; Лиховской с соавт., 2021; Авидзба с соавт., 2008; Темный, 1974; VIVC)

Инв.№ ВНИИ ИВиВ «Магарах»	№ сорта в VIVC	Наименование сорта (синоним)	Регион происхождения, учреждение оригинатор	Цвет ягоды/ Испол- зова- ние	Адрес АК либо учас- ток	Ботаничес- кая классифи- кация	Родительские формы по данным селекции
1	2	3	4	5	6	7	8
IVM00036	5729	Бессемянный Магараха (Магарах 18-64-39)	Р.Крым, ВНИИИВиВ «Магарах», 1964г.	Б/Ст	1-119	<i>V. vinifera</i> L.	(Катта-Курган х Кировобадский столовый) х Сверххранний бессемянный
IVM00038	6280	Кишмиш Магараха (Магарах 17-64-41)	Р.Крым, ВНИИИВиВ «Магарах», 1964г.	Б/Ст	1-118 6-114	<i>V. vinifera</i> L.	Магарах 10-51-1 (Катта-Курган х Кировобадский столовый) х Сверххранний бессемянный
IVM00033	12114	Сверххранний бессемянный (Магарах 17-57-31)	Р.Крым, ВНИИИВиВ «Магарах», 1957г.	Б/Ст	5-87 9-16	<i>V. vinifera</i> L.	Магарах 417 (Мускат красный де Мадейра х Халили белый) х Магарах 653 (Мадлен Анжевин х Ак яكدона)
IVM01517	–	Советский бессемянный (Магарах 467)	Р.Крым, ВНИИИВиВ «Магарах»	Р/Ст	5-85	<i>V. vinifera</i> L.	Нимранг х Кишмиш черный (предположительно)
IVM02845 IVM03386	23004	Красень (Магарах 90-83-1)	Р.Крым, ВНИИИВиВ «Магарах», 1983г.	Ч/ Т	28-127; 5 уч. Вилино	Межвидовой гибрид	Антеи магарачский [Рубиновый Магараха (Каберне Совиньон х Саперави) х М.№85-64-16 (Перль нуар х <i>V. vinifera</i> L.)] х Сверххранний бессемянный
IVM02833	–	Магарах 520	Р.Крым, ВНИИИВиВ «Магарах»	Р/Ст	12-12 5-86	<i>V. vinifera</i> L.	–
IVM02634	–	Южнобережный бессемянный (Пивденнобережный)	Р.Крым, ВНИИИВиВ «Магарах»	Ч/Ст	Уч.5 7р 13пр ЮБК	Межвидовой гибрид	Магарах 53-75-57 (Зейбель 13666 х Саперави северный) х Страшенский столовый

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8
IVM00024	26179	Ялтинский бессемянный	Р.Крым, ВНИИВиВ «Магарач»	Кр/Ст	5 уч. Вилино	Межвидовой гибрид	Магарач № 45-74-40 [Молдавский черный х IV-6-9 (Сейв Виллар 20-473 св. опыления)] х Кишмиш молдавский
–	–	Крымский бисер	Р.Крым, ВНИИВиВ «Магарач», 2019г.	Б/Ст	Уч.5 ЮБК	Межвидовой гибрид	Подарок Запорожью х Русбол улучшенный (I-15-3-1 (Сейв Виллар 12- 375 х Восторг) х Русбол (Сейв Виллар 12-375 х Сверххранний бессемянный))
–	–	Партенитский (М № 32-11-5-1)	Р.Крым, ВНИИВиВ «Магарач», 2024г.	Ч/Ст	пгт. Парте- нит, сел.уч.	Межвидовой гибрид	Подарок Запорожью х Аленушка (Черный палец)
IVM02635	–	Артек	Р.Крым, ВНИИВиВ «Магарач», 2019г.	Б/Ст, С	Уч.5 ЮБК	Межвидовой гибрид	Сейв Виллар 20365 (Датье де Сен Валье) х Сверххранний бессемянный
–	–	Альбина	Р.Крым, ВНИИВиВ «Магарач», 2019г.	Б/Ст	Уч.5 ЮБК	Межвидовой гибрид	Мускат Джим х Ромулус
IVM02640	-	Митридат (13/117)	Армянский НИИВВиП, НИИВиВ «Магарач»	Б/Ст	ГСУ 15р 3пр Вилино	Межвидовой гибрид (<i>V. amurensis</i> Rupr.)	Гибрид 3-11-33 х Аскери (Назели)
IVM00796	12051	Кишмиш белый овальный (Султанина, Томпсон сидлис)	Центральная Азия (Иран)	Б/Ст	24-81	<i>V. vinifera</i> L.	Древний бессемянный сорт
IVM00796	6269	Кишмиш белый круглый	Средняя Азия	Б/Ст, С	7-87	<i>V. vinifera</i> L.	Считается клоном сорта Кишмиш белый овальный
IVM01552	–	Султанина кипрская	Страны Средней Азии и Бл.Востока	Б/Ст	24-92	<i>V. vinifera</i> L.	Считается вариацией сорта Кишмиш белый овальный
IVM00798	–	Кишмиш желтый	Средняя Азия	Б/Ст	24-74	<i>V. vinifera</i> L.	Местный древний бессемянный сорт. Считается синонимом Кишмиш белый овальный

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8
IVM00811	6256	Кишмиш черный (Кара кишмиш, Блек Монукка)	Средняя Азия	Ч/Ст	7-86 18-115	<i>V. vinifera</i> L.	Местный древний бессемянный сорт
IVM00802	6265	Кишмиш люнда	Узбекистан	Ч/Ст	24-79	<i>V. vinifera</i> L.	Местный сорт народной селекции
IVM02271	–	Кишмиш оврут тагапский	Узбекистан	Ч/Ст	7-99	<i>V. vinifera</i> L.	Местный сорт народной селекции
IVM00809	6276	Кишмиш узунбашлы	Узбекистан	Ч/Ст	7-94 24-89	<i>V. vinifera</i> L.	Местный сорт народной селекции
IVM00722	21180	Кара кишмиш оврут	Узбекистан	Ч/Ст	24-90	<i>V. vinifera</i> L.	Местный сорт народной селекции
IVM00286	–	Бедона	Узбекистан	Б/Ст	26-94	<i>V. vinifera</i> L.	Местный сорт народной селекции
IVM00797	6277	Кишмиш ваткана	Узбекистан	Ч/Ст	7-96	<i>V. vinifera</i> L.	Местный сорт народной селекции. Васарга черная x Кишмиш белый овальный
IVM00799	8343	Кишмиш красный туркменский (Naose)	Туркменистан	Кр/Ст	6-53 9-26	<i>V. vinifera</i> L.	Местный сорт народной селекции
IVM00800	–	Кишмиш круглый (Гидра кишмиш, Кишмиш блан а грэн ронд, Султана)	Армения	Б/Ст	6-79	<i>V. vinifera</i> L.	Местный сорт народной селекции
IVM00807	6270	Кишмиш розовый (Кишмиш красный, Кармир кишмиш, Кырмызы кишмиш)	Азербайджан [VIVC]	Кр/Ст	21-27	<i>V. vinifera</i> L.	Местный сорт народной селекции
IVM00804	6266	Кишмиш мраморный (Мармари, Еревани мраморный)	Армения	Б/Ст	24-76	<i>V. vinifera</i> L.	Местный сорт народной селекции. Вариация сорта Кишмиш белый овальный (Султанина)
IVM00240	3960	Аскери (Эскери, Назели)	Армения, Азербайджан, Иран	Б/Ст	7-93	<i>V. vinifera</i> L.	Местный сорт народной селекции. Султанина x Blanc d'Iran (Charif) (VIVC)

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8
IVM02270	–	Кишмиш белый тагопский (Кишмиш белый тагабский)	Узбекистан (предположительно)	Б/Ст	24-87	<i>V. vinifera</i> L.	Сорт народной селекции
IVM00855	22856	Коринка русская	Россия, ВНИИГ и СПР им.Мичурина	Р/Ст	24-26	Межвидовой гибрид (<i>V. amurensis</i> Rupr.).	Заря Севера х Кишмиш черный
IVM00810	26064	Кишмиш уникальный	Россия, Волгоградский НИАЛМИ	Ч/Ст	23-4, 27-44	Межвидовой гибрид (<i>V. amurensis</i> Rupr.).	Северный х Кишмиш черный
IVM00303	16465	Бессемянный Мельника	Украина, ННЦ «ИВиВ им.Таирова»	Б/Ст	4-119	<i>V. vinifera</i> L.	Чауш белый х Кишмиш черный
IVM01048	7563	Мечта (Надежда)	Украина, ННЦ «ИВиВ им.Таирова»	Кр/Ст	24-27	<i>V. vinifera</i> L.	Чауш розовый х Кишмиш черный
IVM01568	15641	Сюрприз	Украина, ННЦ «ИВиВ им.Таирова»	Ч/Ст	2-117	<i>V. vinifera</i> L.	Чауш розовый х Кишмиш черный
IVM00805	–	Кишмиш мускатный	Узбекистан. НИИСВиВ им. Шредера	Б/Ст	24-80	<i>V. vinifera</i> L.	Мускат александрийский х Кишмиш белый
IVM00795	6258	Кишмиш Хишрау	Узбекистан. НИИСВиВ им. Шредера	Б/Ст	26-87 (10-30)	<i>V. vinifera</i> L.	Нимранг х Кишмиш черный
IVM01997	6261	Кишмиш Иртышар	Узбекистан. НИИСВиВ им. Шредера	Б/Ст	7-101	<i>V. vinifera</i> L.	Нимранг х Кишмиш черный
IVM00792	6278	Кишмиш ВИРа	Узбекистан. ОС ВНИИР им. Вавилова	Б/Ст	7-98	<i>V. vinifera</i> L.	Бабара х Кишмиш черный

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8
IVM01594	12265	Тарнау	Узбекистан. ОС ВНИИР им. Вавилова	Б/Т	10-32	<i>V. vinifera</i> L.	Нимранг х Кишмиш черный (селекционное) Нимранг х Кишмиш круглый (VIVC)
IVM01911	41756 13303	Янги Ер	Узбекистан. ОС ВНИИР им. Вавилова	Б/Ст	5-66 9-25	<i>V. vinifera</i> L.	Мадлен Анжевин х Аскери
IVM01392	10295	Розовый бисер (Бисер розовый)	Казахский НИИПиВ	Р/Ст	24-97	<i>V. vinifera</i> L.	Свободное опыление Мадлен Анжевин
IVM01410	10412	Рушаки	Армения. Армянский НИИВВиП	Кр/Ст	7-91	<i>V. vinifera</i> L.	Мсхали х Кишмиш белый овальный
IVM01505	11829	Сирануш	Армения. Армянский НИИВВиП	Б/Ст	14-96	<i>V. vinifera</i> L.	Катта-Курган х Кишмиш розовый
IVM00801	15517	Кишмиш лучистый	Молдова. Молдавский НИИВВиВ	Кр/Ст	24-77	<i>V. vinifera</i> L.	Кардинал х Кишмиш розовый
IVM00803	14053	Кишмиш молдавский	Молдова. Молдавский НИИВВиВ	Ч/Ст	3-34	<i>V. vinifera</i> L.	Победа х Кишмиш розовый
IVM00840	–	Кола кишмишная	Молдова	Ч/Ст	19-59	<i>V. vinifera</i> L.	–
IVM00304	5727	Бессемянный гибрид V-6 (Nedeltcheff Magvatlana)	Болгария. Плевенский НИИВВиВ	Б/Ст	3-44	<i>V. vinifera</i> L.	Италия х Кишмиш белый овальный
IVM00305	5728	Бессемянный гибрид VI-4 (Недельчев VI-4)	Болгария	Б/Ст	20-83, 27-12	<i>V. vinifera</i> L.	Италия х Кишмиш белый овальный
IVM00290	1143 9981	Белградский бессемянный; Redjina	Югославия. ОСВ «Радмиловац».	Б/Ст	19-30, 20-43	<i>V. vinifera</i> L.	Смедеревка (синонимы: Димят, Галан) х (смесь пыльцы Султанина, Кишмиш белый, Италия) (VIVC)

Окончание таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8
IVM02524	3848	Эйнсет сидлис	США	Кр/Ст	28-52	Межвидовой гибрид (<i>Vitis labrusca</i> L.).	Фредония х Конер (Даттиер Ноир х Кишмиш белый овальный)
IVM01290	9168	Перлетт	США, Калифорния	Б/Ст	2-124	<i>V. vinifera</i> L.	Королева виноградников х Кишмиш мраморный
IVM01396	10186	Ромулус* (NY 15291)	США	Б/Ст	24-96	Межвидовой гибрид (<i>Vitis labrusca</i> L.)	Онтарио х Кишмиш белый овальный
–	23947	Юпитер (Кишмиш Юпитер) (Arkansas 1985)	США, Арканзас	Ч/Ст	ЮБК, селекц. участок	Межвидовой гибрид	Arkansas 1258 X Arkansas 1672
–	2380	Столетие (Кишмиш Столетие) (Сентеньел сидлис)	США, Калифорния	Б/Ст, С	ЮБК, селекц. участок	<i>V. vinifera</i> L.	GOLD х OLMO Q25-6 (Эмперор х Пировано 75)
–	–	Аленушка (Черный палец)	–	Ч/Ст	ЮБК, селекц. участок	<i>V. vinifera</i> L.	–
IVM02287	2055	Конер	США	Б/Ст, С	27-120	<i>V. vinifera</i> L.	Даттиер Ноир х Кишмиш белый овальный

Примечание. Цвет ягоды: Б – белый; Кр – красный; Р – розовый; Ч – черный. **Использование:** Ст – столовый, Т – технический; С – для сушеной продукции.

Рудименты семян 20 бессемянных сортов АК «Магарач» урожая 2019г.,
извлеченных из 20 ягод, в масштабе.



Магарач 520



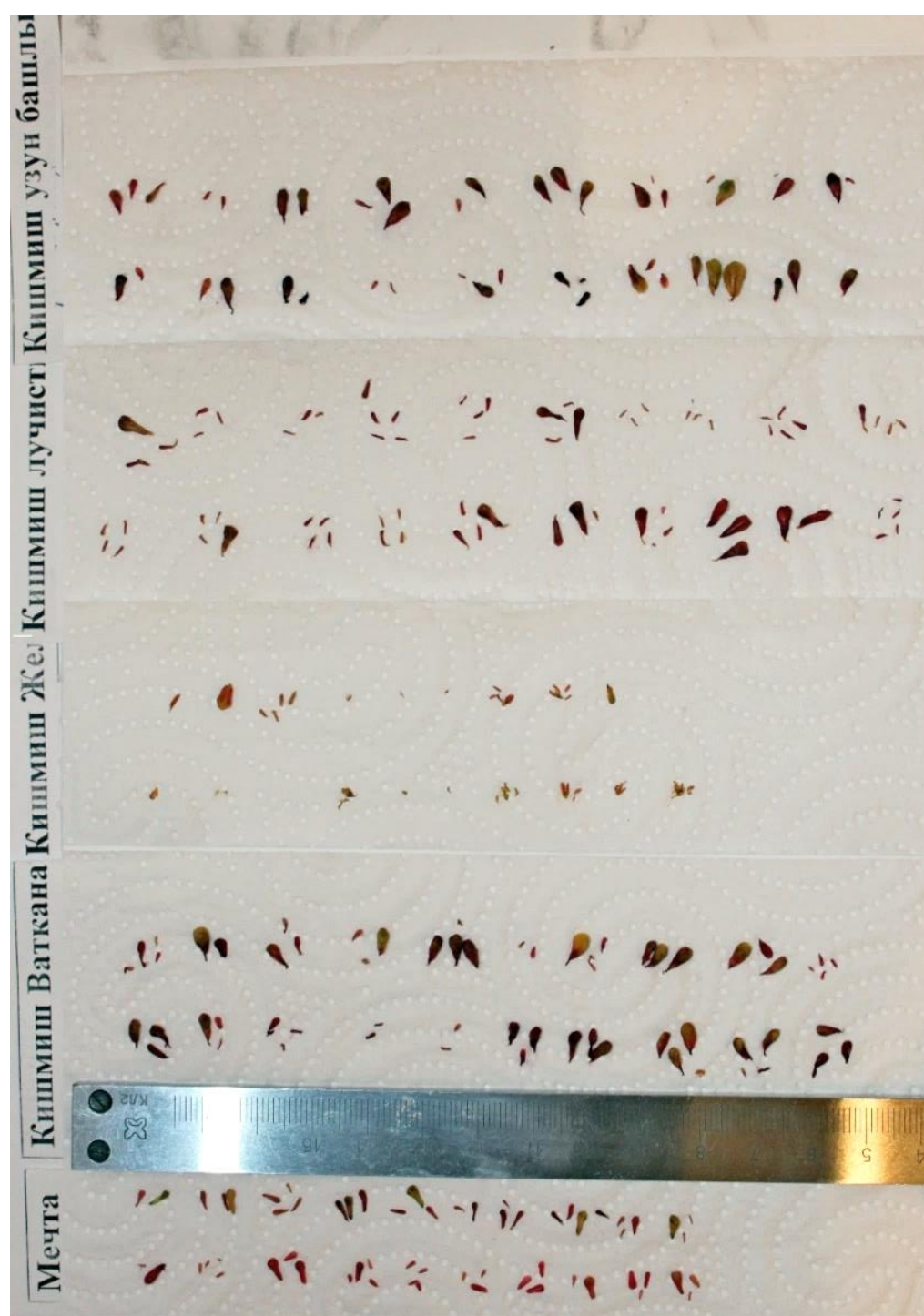
Бессемянный Магарача

Сверхранний
бессемянный

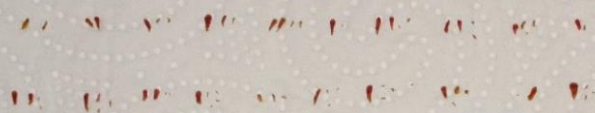
Бессемянный Мельника



Сиранош



Рушаки



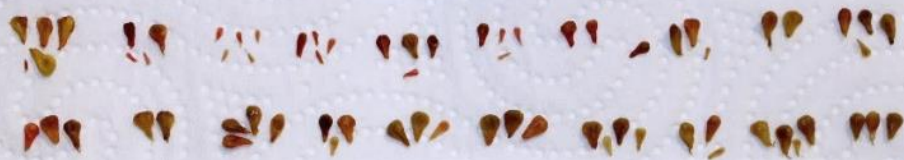
Einset seedles



Кишмиш молдавский



Кишмиш ВИРа



Ромулус

Приложение И

Таблица – Анализ происхождения по 9 SSR-маркерам на основании принципа кодоминантного наследования и хлоротипу бессемянных сортов селекции ВНИИВиВ «Магарач»

Наименование сорта, формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоро-тип
	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
Сверхранний бессемянный: Магарач 417 (Мускат красный де Мадейра х Халили белый) х Магарач 653 (Мадлен Анжевин х Ак якдона)																			
Сверхранний бессемянный	135	143	230	236	247	253	239	255	182	195	244	258	272	272	188	194	247	249	C
Мускат красный де Мадейра (Muscat rouge de madere)	133	133	228	<u>230</u>	<u>247</u>	249	241	249	180	184	246	<u>258</u>	252	<u>272</u>	186	204	245	255	D (f)
Халили белый (Khalili belyi)	125	<u>135</u>	<u>236</u>	242	235	249	<u>239</u>	241	180	186	<u>244</u>	<u>258</u>	250	262	<u>194</u>	196	251	257	-
Мадлен Анжевин (Madeleine angevine)	<u>135</u>	155	238	242	247	<u>247</u>	241	<u>255</u>	<u>182</u>	<u>195</u>	218	<u>244</u>	240	<u>272</u>	<u>194</u>	204	<u>249</u>	259	C(f)
Сояки (Soyaki) предположит. синоним Ак Якдона	<u>135</u>	141	<u>230</u>	242	233	243	<u>255</u>	257	<u>182</u>	186	<u>244</u>	<u>244</u>	244	258	188	204	<u>249</u>	251	C
Магарач 416	143	155	238	<u>242</u>	239	<u>247</u>	<u>241</u>	<u>241</u>	182	<u>186</u>	218	234	256	<u>272</u>	188	<u>194</u>	247	259	C
Крымский ранний (Магарач 532)	<u>125</u>	<u>133</u>	<u>228</u>	<u>242</u>	<u>235</u>	<u>247</u>	<u>241</u>	<u>249</u>	<u>180</u>	<u>186</u>	<u>258</u>	<u>258</u>	<u>252</u>	<u>262</u>	<u>196</u>	<u>204</u>	<u>251</u>	<u>255</u>	<u>D</u>
Магарач 670	149	<u>155</u>	<u>238</u>	240	<u>247</u>	247	<u>241</u>	<u>255</u>	180	<u>182</u>	<u>244</u>	244	<u>240</u>	<u>272</u>	192	<u>194</u>	255	<u>259</u>	<u>C</u>
Ранний Магарача (Магарач 372): Мадлен Анжевин х Кишмиш черный	<u>135</u>	155	<u>236</u>	238	<u>247</u>	249	245	<u>255</u>	<u>182</u>	<u>195</u>	218	246	250	<u>272</u>	<u>194</u>	202	<u>247</u>	<u>249</u>	-

Продолжение таблицы

Наименование сорта, формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоро-тип
	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
Советский бессемянный (Магарац 467): Нимранг х Кишмиш черный (предположительно)																			
Советский бессемянный (Магарац 467)	<u>143</u>	<u>151</u>	<u>230</u>	<u>236</u>	<u>247</u>	<u>249</u>	<u>249</u>	<u>255</u>	<u>182</u>	<u>186</u>	<u>244</u>	<u>246</u>	<u>250</u>	<u>250</u>	<u>196</u>	<u>202</u>	<u>247</u>	<u>251</u>	C
Магарац 520	<u>151</u>	<u>155</u>	<u>230</u>	<u>236</u>	<u>243</u>	<u>249</u>	<u>245</u>	<u>249</u>	<u>186</u>	<u>195</u>	<u>236</u>	<u>246</u>	<u>250</u>	<u>272</u>	<u>188</u>	<u>202</u>	<u>251</u>	<u>251</u>	C
Кишмиш черный	<u>151</u>	<u>155</u>	<u>236</u>	<u>236</u>	<u>249</u>	<u>253</u>	<u>245</u>	<u>249</u>	<u>182</u>	<u>195</u>	<u>218</u>	<u>246</u>	<u>250</u>	<u>250</u>	<u>188</u>	<u>202</u>	<u>247</u>	<u>251</u>	D
Нимранг (Ангур Калан)	<u>143</u>	<u>151</u>	<u>230</u>	<u>236</u>	<u>243</u>	<u>247</u>	<u>249</u>	<u>255</u>	<u>186</u>	<u>195</u>	<u>236</u>	<u>244</u>	<u>250</u>	<u>272</u>	<u>188</u>	<u>196</u>	<u>251</u>	<u>257</u>	C(f)
Бессемянный Магараца: (Катта-Курган х Кировобадский столовый) х Сверххранний бессемянный Кишмиш Магараца: Магарац 10-51-1(Катта-Курган х Кировобадский столовый) х Сверххранний бессемянный																			
Бессемянный Магараца	135	135	230	234	249	253	255	255	182	186	244	258	256	272	186	188	243	247	D
Кишмиш Магараца	135	151	234	236	247	253	249	255	195	195	244	258	256	272	188	194	249	257	D
Сверххранний бессемянный	<u>135</u>	<u>143</u>	<u>230</u>	<u>236</u>	<u>247</u>	<u>253</u>	239	<u>255</u>	<u>182</u>	<u>195</u>	<u>244</u>	<u>258</u>	<u>272</u>	<u>272</u>	<u>188</u>	<u>194</u>	<u>247</u>	<u>249</u>	C
Магарац 10-51-1 (Советский богатырь)	135	151	234	242	253	259	245	249	186	195	234	258	256	272	186	188	243	257	D
Катта-Курган	151	155	242	242	243	253	245	249	180	195	234	236	256	272	188	188	247	257	<u>D</u>
Кировобадский столовый (Tebrizi)	137	137	236	240	239	245	239	241	186	190	258	260	244	272	202	202	243	251	D
Красень: Антей магарачский [Рубиновый Магараца (Каберне Совиньон х Саперави) х М.№85-64-16 (Перль нуар х V. vinifera L.)] х Сверххранний бессемянный																			
Красень (Магарац 90-83-1)	135	143	236	242	247	251	239	239	180	195	236	252	272	272	194	194	251	255	B
Антей магарачский	133	145	228	234	239	249	–	–	180	190	–	–	–	–	186	188	247	255	–
Сверххранний бессемянный	<u>135</u>	<u>143</u>	230	<u>236</u>	<u>247</u>	253	<u>239</u>	255	182	<u>195</u>	<u>244</u>	<u>258</u>	<u>272</u>	<u>272</u>	188	<u>194</u>	<u>247</u>	<u>249</u>	C

Продолжение таблицы

Наименование сорта, формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоро-тип
	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
Ялтинский бессемянный: Магарац № 45-74-40 [Молдавский черный х IV-6-9 (Сейв Виллар 20-473 св. опыления)] х Кишмиш молдавский																			
Ялтинский бессемянный	<u>143</u>	<u>151</u>	<u>236</u>	236	<u>239</u>	261	<u>249</u>	<u>249</u>	<u>180</u>	<u>186</u>	228	<u>236</u>	<u>250</u>	<u>256</u>	<u>188</u>	202	<u>239</u>	<u>247</u>	<u>B</u>
Кишмиш молдавский	135	<u>151</u>	<u>236</u>	238	<u>239</u>	249	<u>249</u>	255	182	<u>186</u>	<u>236</u>	244	<u>250</u>	272	<u>188</u>	188	<u>239</u>	<u>247</u>	C
Молдавский черный (Coarna neagra)	137	<u>143</u>	238	238	247	249	241	<u>249</u>	<u>180</u>	186	234	244	<u>256</u>	274	188	200	<u>247</u>	251	<u>B(f)</u>
Сейв Виллар 20-473	135	149	234	240	239	249	<u>249</u>	249	<u>180</u>	190	236	238	<u>256</u>	272	186	188	255	259	–
Южнобережный: Магарац 53-75-57 (Зейбель 13666 х Саперави северный) х Страшенский столовый																			
Южнобережный	143	151	236	238	239	247	243	<u>249</u>	180	<u>186</u>	228	244	250	274	188	188	247	247	B
Страшенский	135	<u>151</u>	228	240	<u>247</u>	249	249	<u>249</u>	<u>186</u>	190	234	236	256	272	186	204	251	259	–
Зейбель 13666	133	135	234	246	<u>239</u>	251	241	255	195	195	238	260	<u>250</u>	256	<u>188</u>	194	245	251	-
Саперави северный	129	133	226	<u>238</u>	<u>239</u>	<u>247</u>	237	239	182	190	<u>244</u>	252	238	244	200	204	243	255	C
Партенитский: Подарок Запорожью (Талисман х (V-70-90 + R-65) х Аленушка																			
Партенитский (№ 32-11-5-1)	<u>135</u>	141	<u>234</u>	238	243	<u>253</u>	255	<u>255</u>	195	<u>195</u>	<u>218</u>	244	272	<u>272</u>	188	<u>188</u>	249	<u>257</u>	C
Аленушка	<u>135</u>	155	<u>234</u>	236	249	<u>253</u>	245	<u>255</u>	195	<u>195</u>	<u>218</u>	258	250	<u>272</u>	188	<u>188</u>	251	<u>257</u>	C
Талисман	<u>135</u>	149	228	240	239	239	249	<u>255</u>	184	186	258	258	240	252	<u>188</u>	194	247	251	<u>C</u>

Окончание таблицы

Артек: Сейв Виллар 20365 (Датье де Сен Валье) x Сверххранний бессемянный																			
Артек	133	143	236	238	251	253	241	255	182	182	234	234	240	272	188	194	247	255	C
Сверххранний бессемянный	135	<u>143</u>	230	<u>236</u>	247	<u>253</u>	239	<u>255</u>	<u>182</u>	195	244	258	272	<u>272</u>	<u>188</u>	194	<u>247</u>	249	C
Сейв Виллар 20365 (Dattier de st. Vallier)	<u>133</u>	135	<u>238</u>	240	249	<u>251</u>	<u>241</u>	255	<u>186</u>	<u>190</u>	<u>234</u>	236	256	<u>272</u>	186	<u>194</u>	<u>239</u>	<u>261</u>	D
Виллар Блан (CB 12-375)	<u>133</u>	143	234	<u>238</u>	237	<u>251</u>	<u>241</u>	255	<u>182</u>	190	<u>234</u>	236	<u>240</u>	256	180	<u>194</u>	<u>255</u>	261	<u>C</u>
Альбина: Мускат Джим x Ромулус																			
Альбина	133	151	228	236	239	247	249	249	180	186	244	258	240	252	186	188	247	255	D
Ромулус	125	<u>151</u>	<u>236</u>	240	<u>239</u>	247	<u>249</u>	249	182	<u>186</u>	230	<u>244</u>	<u>240</u>	250	<u>188</u>	204	<u>247</u>	247	B
Мускат красный де Мадейра (Muscat rouge de madere)	<u>133</u>	133	<u>228</u>	230	<u>247</u>	249	241	<u>249</u>	<u>180</u>	184	246	<u>258</u>	<u>252</u>	272	<u>186</u>	204	245	<u>255</u>	<u>D (f)</u>
Мускат чёрный Акви (Moscato nero di Asqui)	<u>133</u>	135	<u>228</u>	238	<u>247</u>	249	<u>249</u>	255	<u>180</u>	186	246	<u>258</u>	<u>252</u>	264	<u>186</u>	196	243	<u>255</u>	<u>D</u>
Митридат: Гибрид 3-11-33 x Аскери (Назели)																			
Митридат	133	151	236	238	249	253	241	249	180	182	244	244	250	292	188	196	239	247	C
Аскери	<u>141</u>	<u>145</u>	<u>236</u>	240	239	<u>253</u>	239	<u>241</u>	<u>180</u>	195	<u>218</u>	<u>258</u>	<u>250</u>	272	<u>188</u>	198	<u>251</u>	<u>259</u>	C

Таблица – Анализ происхождения стародавних бессемянных сортов по 9 SSR-маркерам на основе принципа кодаменантного наследования и хлоротипу

Наименование сорта, формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоро-тип
	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
Кишмиш белый овальный (Султанина)	<u>145</u>	<u>151</u>	236	<u>236</u>	<u>239</u>	253	239	<u>249</u>	<u>182</u>	195	218	<u>244</u>	<u>250</u>	250	<u>188</u>	188	<u>247</u>	259	C
Кишмиш белый круглый	<u>145</u>	<u>151</u>	230	<u>236</u>	<u>239</u>	249	241	<u>249</u>	<u>182</u>	190	<u>244</u>	248	<u>250</u>	272	<u>188</u>	194	243	<u>247</u>	D
Кишмиш черный	<u>151</u>	155	236	<u>236</u>	<u>249</u>	<u>253</u>	245	<u>249</u>	<u>182</u>	<u>195</u>	<u>218</u>	246	<u>250</u>	250	<u>188</u>	202	<u>247</u>	251	D
Кишмиш белый овальный (Султанина)	145	<u>151</u>	236	<u>236</u>	239	<u>253</u>	239	<u>249</u>	<u>182</u>	<u>195</u>	<u>218</u>	244	<u>250</u>	250	<u>188</u>	188	<u>247</u>	259	C
Кишмиш белый круглый	145	<u>151</u>	230	<u>236</u>	239	<u>249</u>	241	<u>249</u>	<u>182</u>	190	244	248	<u>250</u>	272	<u>188</u>	194	243	<u>247</u>	D
Кишмиш красный туркмен.	143	145	236	242	243	253	239	263	182	186	218	244	250	272	188	188	247	251	D
Кишмиш белый овальный (Султанина)	<u>145</u>	151	<u>236</u>	236	239	<u>253</u>	<u>239</u>	249	<u>182</u>	195	<u>218</u>	<u>244</u>	<u>250</u>	250	<u>188</u>	188	<u>247</u>	259	C
Ягути сафид шираз	<u>143</u>	143	226	<u>242</u>	249	<u>253</u>	-	-	<u>186</u>	195	<u>244</u>	258	<u>250</u>	<u>272</u>	-	-	251	<u>251</u>	-
Аскери	141	145	236	240	239	253	239	241	180	195	218	258	250	272	188	198	251	259	C
Кишмиш белый овальный (Султанина)	<u>145</u>	151	<u>236</u>	236	239	<u>253</u>	<u>239</u>	249	182	<u>195</u>	<u>218</u>	244	<u>250</u>	250	<u>188</u>	188	247	<u>259</u>	C
Белый Ирана	<u>141</u>	151	<u>240</u>	248	<u>239</u>	247	<u>241</u>	249	<u>180</u>	182	236	<u>258</u>	272	<u>272</u>	–	–	–	–	–
Кишмиш белый круглый	<u>145</u>	151	230	<u>236</u>	<u>239</u>	249	<u>241</u>	249	182	190	244	248	<u>250</u>	<u>272</u>	<u>188</u>	194	243	247	D
Кишмиш люнда	151	155	236	240	239	243	245	249	182	195	244	246	250	250	188	188	251	259	D
Кишмиш белый овальный (Султанина)	145	<u>151</u>	<u>236</u>	236	<u>239</u>	253	239	<u>249</u>	<u>182</u>	<u>195</u>	218	<u>244</u>	<u>250</u>	250	<u>188</u>	188	247	<u>259</u>	C
Кишмиш белый круглый	145	<u>151</u>	230	<u>236</u>	<u>239</u>	249	241	<u>249</u>	<u>182</u>	190	<u>244</u>	248	<u>250</u>	272	<u>188</u>	194	243	247	D
Кишмиш черный	<u>151</u>	<u>155</u>	<u>236</u>	236	249	253	<u>245</u>	<u>249</u>	<u>182</u>	<u>195</u>	218	<u>246</u>	<u>250</u>	250	<u>188</u>	202	247	<u>251</u>	D

Окончание таблицы

Наименование сорта, формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоро-тип
	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
Кишмиш ваткана (Кишмиш узунбашлы)	137	145	236	242	239	249	239	239	180	195	218	234	250	272	188	202	247	259	C
Васарга черная	125	<u>137</u>	236	<u>242</u>	249	<u>249</u>	<u>239</u>	241	<u>180</u>	195	<u>234</u>	244	250	<u>272</u>	200	<u>202</u>	<u>247</u>	257	-
Кишмиш белый овальный (Султанина)	<u>145</u>	151	<u>236</u>	236	<u>239</u>	253	<u>239</u>	249	182	<u>195</u>	<u>218</u>	244	<u>250</u>	250	<u>188</u>	188	247	<u>259</u>	C
Кишмиш оврут тагабский (Кара кишмиш оврут)	137	151	236	236	239	249	239	249	180	182	234	244	250	272	188	202	247	247	C
Васарга черная	125	<u>137</u>	<u>236</u>	242	249	<u>249</u>	<u>239</u>	241	<u>180</u>	195	<u>234</u>	244	250	<u>272</u>	200	<u>202</u>	<u>247</u>	257	-
Кишмиш белый овальный (Султанина)	145	<u>151</u>	236	<u>236</u>	<u>239</u>	253	239	<u>249</u>	<u>182</u>	195	218	<u>244</u>	<u>250</u>	250	<u>188</u>	188	<u>247</u>	259	C
Кишмиш белый тагопский	145	151	236	242	239	243	239	249	180	195	218	236	250	272	188	188	247	259	D
Катта-Курган	<u>151</u>	155	<u>242</u>	242	<u>243</u>	253	245	<u>249</u>	<u>180</u>	195	234	<u>236</u>	256	<u>272</u>	188	<u>188</u>	<u>247</u>	257	<u>D</u>
Кишмиш белый овальный (Султанина)	<u>145</u>	151	236	<u>236</u>	<u>239</u>	253	<u>239</u>	249	182	<u>195</u>	<u>218</u>	244	<u>250</u>	250	<u>188</u>	188	247	<u>259</u>	C
Султанина Кипрская	133	145	236	238	247	253	239	241	180	182	234	244	250	250	188	188	247	255	A
Кишмиш белый овальный (Султанина)	<u>145</u>	151	<u>236</u>	236	239	<u>253</u>	<u>239</u>	249	<u>182</u>	195	218	<u>244</u>	<u>250</u>	250	<u>188</u>	188	<u>247</u>	259	C
Кишмиш красный туркменский (Naose)	143	<u>145</u>	<u>236</u>	242	243	<u>253</u>	<u>239</u>	263	<u>182</u>	186	218	<u>244</u>	<u>250</u>	272	<u>188</u>	188	<u>247</u>	251	D
Кишмиш туркменский	135	<u>145</u>	-	-	233	<u>253</u>	<u>239</u>	239	<u>182</u>	182	<u>244</u>	258	<u>250</u>	272	-	-	-	-	-

Таблица – Анализ происхождения по 9 SSR-маркерам на основе кодоминантного наследования и хлоротипу бессемянных сортов разной локации

Наименование сорта, формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоро-тип
	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
Тарнау	<u>143</u>	<u>151</u>	<u>230</u>	<u>230</u>	<u>247</u>	<u>249</u>	<u>249</u>	<u>255</u>	<u>186</u>	<u>190</u>	<u>244</u>	<u>244</u>	<u>250</u>	<u>272</u>	<u>194</u>	<u>196</u>	<u>243</u>	<u>251</u>	<u>C</u>
Кишмиш белый круглый	145	<u>151</u>	<u>230</u>	236	239	<u>249</u>	241	<u>249</u>	182	<u>190</u>	<u>244</u>	248	<u>250</u>	272	188	<u>194</u>	<u>243</u>	247	D
Нимранг (Ангур Калан)	<u>143</u>	151	<u>230</u>	236	243	<u>247</u>	249	<u>255</u>	<u>186</u>	195	236	<u>244</u>	250	<u>272</u>	188	<u>196</u>	<u>251</u>	257	<u>C(f)</u>
Кишмиш мускатный	<u>145</u>	<u>149</u>	<u>230</u>	236	239	<u>251</u>	239	<u>249</u>	<u>180</u>	182	244	<u>268</u>	250	<u>264</u>	188	<u>204</u>	<u>247</u>	<u>255</u>	<u>B</u>
Кишмиш белый овальный (Султанина)	<u>145</u>	151	236	<u>236</u>	<u>239</u>	253	<u>239</u>	249	<u>182</u>	195	218	<u>244</u>	<u>250</u>	250	<u>188</u>	188	<u>247</u>	259	C
Мускат александрийский	133	<u>149</u>	<u>230</u>	234	249	<u>251</u>	249	<u>249</u>	<u>180</u>	195	244	<u>268</u>	<u>264</u>	272	186	<u>204</u>	247	<u>255</u>	<u>B</u>
Коринка русская	<u>135</u>	<u>155</u>	<u>236</u>	<u>238</u>	<u>241</u>	<u>253</u>	<u>245</u>	<u>255</u>	<u>182</u>	<u>184</u>	<u>218</u>	<u>244</u>	<u>240</u>	<u>250</u>	<u>184</u>	<u>188</u>	<u>247</u>	<u>255</u>	C
Кишмиш черный	151	<u>155</u>	<u>236</u>	236	249	<u>253</u>	<u>245</u>	249	<u>182</u>	195	<u>218</u>	246	<u>250</u>	250	<u>188</u>	202	<u>247</u>	251	D
Северный	129	<u>135</u>	238	<u>238</u>	<u>241</u>	247	237	<u>255</u>	182	<u>184</u>	<u>244</u>	252	237	<u>240</u>	<u>184</u>	204	<u>255</u>	259	–
Сюрприз	<u>143</u>	<u>155</u>	<u>236</u>	<u>248</u>	<u>249</u>	253	<u>245</u>	<u>255</u>	<u>180</u>	<u>182</u>	<u>218</u>	<u>258</u>	<u>250</u>	<u>264</u>	<u>188</u>	<u>188</u>	<u>247</u>	<u>251</u>	<u>C</u>
Кишмиш черный	151	<u>155</u>	<u>236</u>	236	249	<u>253</u>	<u>245</u>	249	<u>182</u>	195	<u>218</u>	246	<u>250</u>	250	<u>188</u>	202	<u>247</u>	251	D
Чауш розовый	135	<u>143</u>	240	<u>248</u>	239	<u>249</u>	249	<u>255</u>	<u>180</u>	180	234	<u>258</u>	<u>264</u>	272	<u>188</u>	196	249	<u>251</u>	<u>C(f)</u>
Мечта	<u>135</u>	<u>151</u>	<u>236</u>	<u>248</u>	<u>239</u>	<u>249</u>	<u>249</u>	<u>255</u>	<u>180</u>	<u>182</u>	<u>234</u>	<u>246</u>	250	<u>272</u>	<u>196</u>	<u>202</u>	<u>247</u>	<u>251</u>	<u>C</u>
Кишмиш черный	<u>151</u>	155	<u>236</u>	236	<u>249</u>	253	245	<u>249</u>	<u>182</u>	195	218	<u>246</u>	<u>250</u>	250	188	<u>202</u>	<u>247</u>	251	D
Чауш розовый	<u>135</u>	143	240	<u>248</u>	<u>239</u>	249	249	<u>255</u>	<u>180</u>	180	<u>234</u>	258	264	<u>272</u>	188	<u>196</u>	249	<u>251</u>	<u>C(f)</u>

Продолжение таблицы

Наименование сорта, формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоро-тип
	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
Бессемянный Мельника	151	155	236	240	247	253	245	249	184	195	218	258	250	272	188	204	247	251	C
Чауш белый	135	<u>151</u>	230	<u>240</u>	<u>247</u>	249	<u>249</u>	255	180	<u>184</u>	<u>258</u>	258	252	<u>272</u>	188	<u>204</u>	<u>247</u>	249	C(f)
Кишмиш черный	151	<u>155</u>	236	<u>236</u>	249	<u>253</u>	<u>245</u>	249	182	<u>195</u>	<u>218</u>	246	<u>250</u>	250	<u>188</u>	202	247	<u>251</u>	D
Белградский бессемянный	133	135	228	236	249	249	241	255	182	186	218	234	250	272	186	200	247	251	A
Димят	143	143	242	248	239	<u>249</u>	249	<u>255</u>	180	<u>182</u>	<u>234</u>	246	<u>250</u>	264	188	204	237	259	C
Италия	<u>133</u>	149	234	240	243	247	239	249	180	195	<u>234</u>	244	252	<u>272</u>	192	204	255	257	C
Кишмиш белый овальный (Султанина)	145	151	236	<u>236</u>	239	253	239	249	<u>182</u>	195	<u>218</u>	244	<u>250</u>	250	188	188	<u>247</u>	259	C
Кишмиш белый круглый	145	151	230	<u>236</u>	239	<u>249</u>	<u>241</u>	249	<u>182</u>	190	244	248	<u>250</u>	<u>272</u>	188	194	243	<u>247</u>	D
Янги Ер	135	145	238	240	247	253	239	255	195	195	244	258	240	250	188	204	259	259	C
Мадлен Анжевин	<u>135</u>	155	<u>238</u>	242	<u>247</u>	247	241	<u>255</u>	182	<u>195</u>	218	<u>244</u>	<u>240</u>	272	194	<u>204</u>	249	<u>259</u>	C(f)
Аскери	141	<u>145</u>	236	<u>240</u>	239	<u>253</u>	<u>239</u>	241	180	<u>195</u>	218	<u>258</u>	<u>250</u>	272	<u>188</u>	198	251	<u>259</u>	C
Ромулус	125	151	236	240	239	247	249	249	182	186	230	244	240	250	188	204	247	247	B
Онтарио	123	<u>125</u>	<u>240</u>	240	235	<u>247</u>	241	241	186	<u>186</u>	226	<u>230</u>	<u>240</u>	250	202	<u>204</u>	<u>247</u>	265	-
Кишмиш белый овальный (Султанина)	145	<u>151</u>	<u>236</u>	236	<u>239</u>	253	239	<u>249</u>	<u>182</u>	<u>195</u>	218	<u>244</u>	250	<u>250</u>	<u>188</u>	188	<u>247</u>	259	C
Кишмиш Иртышар	151	151	230	236	243	249	249	249	195	195	244	246	250	272	188	202	247	251	C
Кишмиш черный	<u>151</u>	155	236	<u>236</u>	<u>249</u>	253	245	<u>249</u>	182	<u>195</u>	218	<u>246</u>	<u>250</u>	250	188	<u>202</u>	<u>247</u>	251	D
Нимранг (Ангур Калан)	143	<u>151</u>	<u>230</u>	236	<u>243</u>	247	<u>249</u>	255	186	<u>195</u>	236	<u>244</u>	250	<u>272</u>	<u>188</u>	196	<u>251</u>	257	C(f)

Продолжение таблицы

Наименование сорта, формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоро-тип
	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
Кишмиш Хишрау	151	151	230	236	243	249	249	249	182	195	218	244	250	250	188	202	251	257	C
Кишмиш черный	<u>151</u>	155	<u>236</u>	236	<u>249</u>	253	245	<u>249</u>	<u>182</u>	195	<u>218</u>	246	<u>250</u>	250	188	<u>202</u>	247	<u>251</u>	D
Нимранг (Ангур Калан)	143	<u>151</u>	<u>230</u>	236	<u>243</u>	247	<u>249</u>	255	186	<u>195</u>	236	<u>244</u>	<u>250</u>	272	<u>188</u>	196	251	<u>257</u>	C(f)
Бессемянный гибрид V-6	133	145	236	240	247	249	239	239	180	182	244	244	250	272	192	200	247	255	C
Кишмиш белый овальный (Султанина)	<u>145</u>	151	<u>236</u>	236	239	253	<u>239</u>	249	<u>182</u>	195	218	<u>244</u>	<u>250</u>	250	188	188	<u>247</u>	259	C
Италия	<u>133</u>	149	234	<u>240</u>	243	<u>247</u>	<u>239</u>	249	<u>180</u>	195	234	<u>244</u>	252	<u>272</u>	<u>192</u>	204	<u>255</u>	257	C
Султанина Болгарии	133	<u>145</u>	230	<u>236</u>	239	<u>249</u>	<u>239</u>	241	<u>182</u>	195	217	<u>244</u>	<u>250</u>	258	-	-	-	-	-
Бессемянный гибридVI-4	133	149	230	240	247	249	241	249	195	195	218	244	252	258	192	200	257	257	C
Кишмиш белый овальный (Султанина)	145	151	236	236	239	253	239	<u>249</u>	182	<u>195</u>	<u>218</u>	<u>244</u>	250	250	188	188	247	259	C
Италия	133	<u>149</u>	234	<u>240</u>	243	<u>247</u>	239	<u>249</u>	180	<u>195</u>	234	<u>244</u>	<u>252</u>	272	<u>192</u>	204	255	<u>257</u>	C
Султанина Болгарии	<u>133</u>	145	<u>230</u>	236	239	<u>249</u>	239	<u>241</u>	182	<u>195</u>	<u>217</u>	<u>244</u>	250	<u>258</u>	-	-	-	-	-
Кишмиш молдавский	135	<u>151</u>	<u>236</u>	238	<u>239</u>	249	<u>249</u>	255	182	<u>186</u>	236	<u>244</u>	250	<u>272</u>	<u>188</u>	188	<u>239</u>	247	C
Кишмиш розовый	145	<u>151</u>	<u>236</u>	236	<u>239</u>	253	<u>239</u>	249	182	<u>195</u>	218	<u>244</u>	250	<u>250</u>	<u>188</u>	188	<u>247</u>	259	C
Победа	135	<u>151</u>	<u>234</u>	238	<u>247</u>	249	<u>249</u>	255	186	<u>195</u>	236	<u>258</u>	272	<u>272</u>	-	-	-	-	-
Розовый бисер	135	155	236	242	247	249	245	255	195	195	218	246	240	250	194	202	249	251	C
Мадлен Анжевин	<u>135</u>	155	238	<u>242</u>	<u>247</u>	247	241	<u>255</u>	182	<u>195</u>	<u>218</u>	244	<u>240</u>	272	<u>194</u>	204	<u>249</u>	259	C(f)
Кишмиш черный	151	<u>155</u>	<u>236</u>	236	<u>249</u>	253	<u>245</u>	249	182	<u>195</u>	218	<u>246</u>	250	<u>250</u>	188	<u>202</u>	247	<u>251</u>	D

Окончание таблицы

Наименование сорта, формы	Аллели SSR-маркеров, п.н.																		Хлоро-тип
	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79		
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	
Кишмиш уникальный	129	151	236	238	239	241	237	249	184	190	244	244	240	250	184	188	243	255	C
Северный	<u>129</u>	135	<u>238</u>	238	<u>241</u>	247	<u>237</u>	255	182	<u>184</u>	<u>244</u>	252	237	<u>240</u>	<u>184</u>	204	<u>255</u>	259	-
Кишмиш черный	<u>151</u>	155	236	<u>236</u>	249	253	245	<u>249</u>	182	195	218	246	250	<u>250</u>	<u>188</u>	202	247	251	D
Кишмиш белый круглый	145	<u>151</u>	230	<u>236</u>	<u>239</u>	249	241	<u>249</u>	182	<u>190</u>	<u>244</u>	248	<u>250</u>	272	<u>188</u>	194	<u>243</u>	247	D
Кишмиш лучистый	135	145	236	238	239	249	<u>239</u>	<u>255</u>	186	195	<u>218</u>	<u>268</u>	<u>250</u>	272	186	188	251	259	B
Кардинал	135	<u>135</u>	228	<u>238</u>	249	<u>249</u>	255	<u>255</u>	180	<u>186</u>	244	<u>268</u>	252	<u>272</u>	186	<u>186</u>	<u>251</u>	255	<u>B</u>
Кишмиш розовый	<u>145</u>	151	<u>236</u>	236	<u>239</u>	253	<u>239</u>	249	182	<u>195</u>	<u>218</u>	244	<u>250</u>	250	<u>188</u>	188	247	<u>259</u>	C
Сирануш	145	155	236	242	239	243	239	245	180	195	234	244	250	272	188	188	247	259	D
Катта-Курган	151	<u>155</u>	242	<u>242</u>	<u>243</u>	253	<u>245</u>	249	<u>180</u>	195	<u>234</u>	236	256	<u>272</u>	<u>188</u>	188	<u>247</u>	257	<u>D</u> (f)
Кишмиш розовый	<u>145</u>	151	<u>236</u>	236	<u>239</u>	253	<u>239</u>	249	182	<u>195</u>	218	<u>244</u>	<u>250</u>	250	188	<u>188</u>	247	<u>259</u>	C
Кишмиш ВИРа	151	151	230	236	249	249	249	249	180	195	246	258	250	272	188	202	249	251	C
Бабара	141	155	224	<u>230</u>	243	247	245	255	186	<u>195</u>	234	244	250	<u>272</u>	<u>188</u>	196	<u>251</u>	261	–
Кишмиш черный	<u>151</u>	155	236	<u>236</u>	<u>249</u>	253	245	<u>249</u>	182	<u>195</u>	218	<u>246</u>	<u>250</u>	250	188	<u>202</u>	247	<u>251</u>	D
Чауш белый	135	<u>151</u>	<u>230</u>	240	247	<u>249</u>	<u>249</u>	255	<u>180</u>	184	258	<u>258</u>	252	<u>272</u>	<u>188</u>	204	247	<u>249</u>	<u>C</u> (f)
Рушаки	151	151	236	240	239	247	249	249	180	182	218	236	250	272	188	188	247	259	<u>D</u>
Мсхали	135	<u>151</u>	<u>240</u>	248	<u>247</u>	249	<u>249</u>	255	<u>180</u>	195	<u>236</u>	248	256	<u>272</u>	<u>188</u>	200	<u>247</u>	247	<u>D</u>
Кишмиш белый овальный (Султанина)	145	<u>151</u>	236	<u>236</u>	<u>239</u>	253	239	<u>249</u>	<u>182</u>	195	<u>218</u>	244	<u>250</u>	250	188	<u>188</u>	247	<u>259</u>	C