

ГЕНЕТИКА

УДК:634.8:581.167:631.532

**ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОГО РІЗНОМАНІТТЯ ВИНОГРАДУ (*VITIS VINIFERA* L.)
З ВИКОРИСТАННЯМ МІКРОСАТЕЛІТНИХ МАРКЕРІВ**

О. Карастан, Н. Мулюкіна, О. Папіна, Г. Плачинда

*Національний науковий центр
«Інститут виноградарства і виноробства імені В.Є. Таїрова»
вул. 40-річчя Перемоги, 55/8, смт Таїрове, Овідіопільський р-н
Одеська обл. 65496, Україна
e-mail: olga.karastan@gmail.com*

Алельні характеристики мікросателітних локусів ДНК (VVS2, ZAG62, VVMD7, VVMD27, VVMD5, VVMD25, VVMD28, ZAG79, VVMD32) 80 сортів і форм винограду використано для обчислення основних показників генетичного різноманіття. Значення цих показників коливались у межах: кількість алелів N_a – від 8 (VVMD25) до 18 (VVMD28); ефективна кількість алелів N_e – від 4,90 (VVMD32) до 8,57 (ZAG79); очікувана гетерозиготність H_e – від 0,744 (VVMD25) до 0,883 (ZAG79); наявна гетерозиготність H_o – від 0,3823 (VVMD25) до 0,925 (ZAG79), ймовірність виникнення нульових алелів r від -0,009 (VVMD32) до -0,051 (VVMD27), вірогідність ідентичності PI від 0,024 (VVMD32) до 0,109 (VVMD25), індекс фіксації Райта F від -0,026 (VVMD5) до -0,115. Виявлено 720 генотипів мікросателітних локусів, серед яких 91 – гомозиготний, 629 – гетерозиготні. Для високополіморфного локусу VVMD32 визначена найбільша гомозиготність серед усіх досліджених локусів, що може вказувати на домінування певних алелів цього локусу в даному регіоні. Визначені нами параметри генетичного різноманіття загалом виявилися подібними до аналогічних досліджень інших авторів.

Ключові слова: генетичні ресурси, генетичне різноманіття, мікросателітні маркери, виноград, *V. vinifera* L.

Генетична мінливість живих організмів, зокрема, винограду, існує в природі у вигляді генетичних ресурсів. Конвенція ООН «Про охорону біологічного різноманіття» від 1992 р. (ратифіковано державою Україна у Законі «Про ратифікацію Конвенції про охорону біологічного різноманіття» N 257/94-ВР від 29.11.94) визначає «генетичні ресурси» як «будь-який матеріал, що містить функціональні одиниці спадковості та становить фактичну або потенційну цінність» [13].

Генетичними ресурсами рослин вважаються [3] гермоплазма (живі рослини та життєздатний насінневий (посадковий) матеріал) і органи вегетативного розмноження.

Генетичні ресурси винограду включають усіх представників сімейства *Vitaceae* (Lindl.) Juss., серед яких найбільше господарське значення має рід *Vitis* (Tournef.) L. [4]. До підвиду *V. vinifera* L. ssp. *sativa* (далі *V. sativa*) входять стародавні та сучасні сорти, а також клони сортів винограду; підвид *V. vinifera* L. ssp. *silvestris* Gmel. (*V. silvestris*) включає представників винограду лісового.

З усього різноманіття сортів винограду *V. sativa*, що оцінюється приблизно у 5–6 тисяч сортів, менш ніж 400 мають комерційне значення [23, 35, 42]. Таким чином, більша частина генетичних ресурсів *V. sativa* представлена лише у колекціях зародкової плазми

[11], базовою концепцією яких є підтримка максимального рівня генетичного різноманіття за мінімальної кількості зразків [6].

Через культивування обмеженої кількості сортів сільськогосподарських культур, у тому числі винограду, спостерігається генетична ерозія зародкової плазми та є небезпека втратити значну кількість генетичного матеріалу, що формувався протягом багатьох століть у вигляді регіональних і місцевих сортів.

У винограду більшість важливих ознак має складний тип успадкування та є результатом взаємодії великого числа генів, через це кожен сорт винограду являє собою унікальний і складний генний комплекс, який формує неповторні особливості сорту, в тому числі смакові характеристики вина, яке виробляється з нього [7].

Усі ці фактори обумовлюють зростання інтересу до інвентаризації, дослідження походження та генетичного різноманіття зародкової плазми [40].

Проблеми, що виникнуть у майбутньому через довгострокові наслідки «генетичної ерозії» винограду досі ретельно не аналізувалися, але вже було анонсовано вплив кліматичних змін і глобального потепління на географічний розподіл виноградників і стійкість якості вина [22], а також на зміну взаємодій «хазяїн-патоген» [29].

У штучних популяціях не працює більшість факторів популяційної динаміки, тому сьогоденні колекції сортів винограду майже не демонструють характеристик популяцій, що еволюціонують природним шляхом [25].

Оцінка різноманіття наявних генетичних ресурсів дуже важлива для визначення основних стратегій їхнього збереження та використання, наприклад, у генетичній трансформації або селекції рослин [8]. Можливість прогнозування кількісних генетичних параметрів, таких як гетерозис або варіабельність нащадків, збільшить ефективність селекційних програм шляхом створення найбільш перспективних гібридизаційних комбінацій [5].

На сьогоднішній день більшість виноробних країн світу приєдналася до ініціативи інвентаризації наявних і створення нових колекцій винограду з метою збору, оцінки та збереження генетичних ресурсів винограду [7, 37].

Генетичні ресурси винограду в Україні в основному зосереджені в ампелографічних колекціях ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова» (далі ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова») та Інституту винограду й вина «Магарач» і потребують ретельної інвентаризації, насамперед для збереження цінних генотипів і оцінки генетичного різноманіття з метою його подальшого ефективного використання.

Тому **метою** даної роботи було визначити основні показники генетичного різноманіття вибірки сортів і форм винограду.

Матеріали та методи

Для оцінки генетичного різноманіття вибірки сортів і форм винограду ампелографічної колекції Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова» в даній роботі було використано алельні характеристики 9 мікросателітних локусів (VVS2, ZAG62, VVMD7, VVMD27, VVMD5, VVMD25, VVMD28, ZAG79, VVMD32).

Основні показники генетичного різноманіття, такі як кількість алелів N_a , очікувана гетерозиготність H_e [8], наявна гетерозиготність H_o , ймовірність виникнення нульових алелів r , вірогідність ідентичності PI [36] та відношення правдоподібності (likelyhood ratio) обчислено за допомогою комп'ютерної програми Identity 4.0 [41] (відкритий доступ). Дана програма також використовується для виявлення ідентичних генотипів і можливих родинних зв'язків між особинами у вибірці.

Ефективна кількість алелів N_e , індекс фіксації Райта F [42], кількість гомо- та гетерозигот обчислені ручним способом.

Результати і їхнє обговорення

У роботі проаналізовано генетичне різноманіття вибірки 80 сортів і форм винограду на рівні алелів, локусів та популяції загалом.

Генотипи локусів, у складі яких виявлено нульовий алель, розглядались як гетерозиготні, замість гомозиготних.

Загалом виявлено 108 алелів у дев'яти досліджуваних мікросателітних локусах.

Серед проаналізованих сортів і форм винограду подібно до інших досліджень [27, 34] найбільшу кількість алелів спостерігали в локусі VVMD28 (18 алелів), найменшу – в локусі VVMD25 (8 алелів) (табл. 1).

Таблиця 1

Параметри оцінки генетичного різноманіття досліджуваної вибірки зразків винограду за дев'ятьма мікросателітними локусами

Локус	N_a	N_e	H_e	H_o	R	PI	Число гомозигот	Число гетерозигот	F
VVS2	13	6,17	0,838	0,900	-0,034	0,045	8	72	-0.074
ZAG62	10	5,13	0,805	0,838	-0,018	0,063	12	68	-0.040
VVMD7	11	5,40	0,815	0,863	-0,026	0,058	11	69	-0.058
VVMD27	9	5,19	0,808	0,900	-0,051	0,065	7	73	-0.115
VVMD5	12	6,29	0,841	0,863	-0,012	0,042	11	69	-0.026
VVMD25	8	3,90	0,744	0,823	-0,040	0,109	14	66	-0.106
VVMD28	18	6,75	0,852	0,900	-0,013	0,038	8	72	-0.056
ZAG79	14	8,57	0,883	0,925	-0,016	0,024	6	74	-0.047
VVMD32	13	4,90	0,796	0,828	-0,009	0,065	14	66	-0.040
Загальна:	108					$2,94 \times 10^{-12}$	91	629	
Середня:	12	5,81	0,820	0,871	-0,024	0,057			-0.063
Загалом 720 генотипів									

Примітка: N_a – кількість алелів; N_e – ефективна кількість алелів; H_e – очікувана гетерозиготність; H_o – ймовірність нульового алеля; H_e – наявна гетерозиготність; PI – ймовірність ідентичності; F_{IS} – індекс фіксації Райта

Середнє число алелів у дев'яти досліджених локусах становило 12, що виявилось значно більшим, ніж у роботі З. Гальбакс зі співавт. [33] (8,6 у 116 сортів). Величина цього показника залежить від розміру вибірки, тому для аналізу генетичного різноманіття окремої популяції або порівняння генетичного варіювання між різними популяціями більш інформативним є показник ефективної кількості алелів на локус [16].

Ефективна кількість алелів (N_e) – це число алелів, за однакової частоти яких у популяції очікувана гетерозиготність буде дорівнювати наявній [1]. У дослідженій нами вибірці сортів середнє значення даного показника становило 5,81. М.А. Кадиров зі співавт. [2] відзначають, що практично в усіх досліджених популяціях тварин і рослин значення N_e нижче, ніж абсолютне число алелів (N_a) на локус. І справді, на підтвердження даної тези, у більшості проаналізованих нами опублікованих досліджень винограду, які включали оцінку популяційно-генетичних параметрів, середнє значення N_e завжди становило приблизно половину від середнього значення N_a [28, 33, 40]. Проте в оцінці Т. Джамбазовою зі співавт. [17] генетичного різноманіття 26 болгарських сортів винограду, серед яких 11 – стародавні рідкісні місцеві сорти, середнє значення N_e (5,45) становило більш ніж 50 % від середнього значення N_a (8,85). Аналогічне явище спостерігалось у роботі словацьких дослідників [10] під час аналізу 51 традиційного європейського сорту.

На цьому фоні викликає інтерес робота дослідників [26], які проаналізували за допомогою 10 мікросателітних маркерів 2275 зразків винограду (серед яких виявлено 1085 окремих генотипів) і обчислили середнє значення ефективної кількості алелів у 6,19 за середньої абсолютної кількості алелів – 22,68. Даний факт, на думку авторів, можна пояснити «зависокими та занижкими частотами алелів», що обумовили таке «помірне значення ефективної кількості алелів».

Проте, на нашу думку, причиною може бути близька генетична спорідненість значної частини досліджених зразків, оскільки обчислений у роботі авторами індекс фіксації Райта, що оцінює наслідки інбридингу, виявив надлишок гомозигот у кількості від 10,4 до 12,4 % серед зразків підщеп і дикого винограду (які становили чверть від обсягу вибірки). На відміну від цього, у зразків *V. vinifera* L. та міжвидових гібридів значення індексу фіксації коливалося від 1 до 2 %.

У нашому дослідженні очікувана гетерозиготність H_e за дев'ятьма мікросателітними локусами варіювала від 0,744 (у локусі VVMD25) до 0,883 (у локусі ZAG79), що становило трохи більші значення, порівняно з даними аналізу К. Сефк зі співавт. (0,667-0,819) європейських сортів винограду [25] та З. Гальбакс зі співавт. [20] (0,696-0,888) угорських сортів винограду.

Даний факт можна пояснити гетерогенністю досліджуваної вибірки, яка включає значну кількість прямих нащадків азійських сортів Чауш рожевий, Катта курган, Султаніна, Кишмиш чорний, Афуз Алі тощо та зразки винограду міжвидового походження з *V. amurensis* у складі геному.

З іншого боку, отримані нами значення наявної гетерозиготності H_e досліджуваних зразків винограду можуть бути трохи заниженими через наявність у складі вибірки кількох груп близькоспоріднених сортів.

Одну з таких груп становить гібридна сім'я (англ. kingroup) сорту Дат'є де Сен Вальє. Сорти Ланка, Огоньок таїровський, Етюд і Смена є сибсами гібридизаційної комбінації Дат'є де Сен Вальє та Декоративний. П'ять сортів винограду (Загадка, Оригінал, Оригінал білий, Стійкий Докучаєвої, Таїр) – це прямі нащадки сорту Дат'є де Сен Вальє. Для зразків Кобзар, Одісей, Рум'яний і Таїрян сорт Дат'є де Сен Вальє є прабацьківським.

Іншу групу спорідненості формує сорт Чауш рожевий і його прямі нащадки – сорти Кишмиш ОСГІ, Мечта, Мускат жемчужний, Оригінал, Український 85. Для зразків Шкода, Оригінал білий і Опаловий сорт Чауш рожевий є прабацьківським.

Ще одна група пов'язаних родинними зв'язками сортів – це сорт Жемчуг Саба та його прямі (Мускат жемчужний, Іршаї Олівер, Королева виноградників) і непрямі (Український 85, Шкода, Опаловий, Кардинал) нащадки.

У трьох локусах (VVMD25, VVMD28 та ZAG79) п'яти зразків у рамках вибірки виявлено нульові алелі, тобто алелі, що не ампліфікуються через ймовірну мутацію в сайті праймування [15]. У локусі VVMD25 сорт Аркадія успадкував нульовий алель від сорту Молдова, а в локусі VVMD28 сорт Подарунок селекціонера отримав нульовий алель від сорту Кобзар (рис. 1).

Нульовий алель у генотипі локусу ZAG79 сорту Одеський сувенір, можливо, є мутацією саме цього сорту, оскільки його батьківські сорти Соагна неагра та Мускат гамбурзький гетерозиготні в даному локусі.

При цьому визначений у рамках дослідження показник ймовірності нульового алеля r у всіх локусах демонстрував негативні значення, що є свідченням низької вірогідності існування нульових алелів.

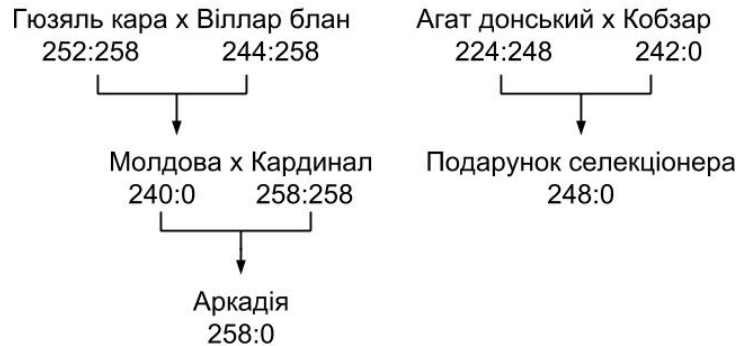


Рис. 1. Успадкування сортами Аркадія та Подарунок селекціонера нульових алелів від їхніх батьківських сортів; цифрами позначено розміри алелів у п. н.; 0 – нульовий алель

Як зазначають автори [20, 31], навіть локуси із позитивним показником r не обов'язково містять нульовий алель, оскільки даний показник ϵ , скоріш за все, індикатором надлишку гомозигот.

Сорти колекції ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова», в генотипах яких було виявлено нульовий алель, за відсутності мутації, що могла призвести до його виникнення, все одно мали би гетерозиготний генотип, оскільки їхні батьківські форми є гетерозиготними у даних локусах. Тому урахування локусів із нульовими алелями гетерозиготними замість гомозиготних, на нашу думку, не вплинуло суттєво на показники різноманітності, які були обчислені на основі алельних характеристик досліджуваних зразків винограду.

Середнє значення очікуваної гетерозиготності становило 0,820, що трохи нижче, ніж отримані в дослідженнях П. К. Д. С. Ляо зі співавт. [39] (0,848), проте перевищує аналогічний показник, обчислений в інших роботах – 0,749 [34]; 0,76 [24]; 0,78 [14]; 0,785 [27]; 0,786 [16]; 0,795 [19].

Наявна гетерозиготність H_o варіювала між величинами 0,823 (локус VVMD25) та 0,925 (локус ZAG79) зі середнім значенням 0,871, що виявилось значно вище, ніж (0,743) у Н. Стайнер зі співавт. [34] під час генотипування 59 сортів 14 маркерами SSR; (0,796) у Ф. Емануеллі зі співавт. [12] під час аналізу 116 сортів 12 маркерами; (0,74) у Т. Джамбазової зі співавт. [10] під час дослідження 1085 зразків винограду 10 маркерами; (0,773) у Ф. І. Пелероне зі співавт. [27] під час генотипування 489 зразків винограду 9 маркерами; (0,77) у Т. Лакомба зі співавт. [14] під час аналізу 74 сортів 9 маркерами.

У всіх досліджених локусах розрахункова величина наявної гетерозиготності виявилася вищою за очікувану гетерозиготність.

Параметр ймовірності ідентичності (англ. probability of identical genotypes, PI) [32] становить середню ймовірність виявлення у двох неспоріднених особин однієї популяції однакового мультилокусного генотипу та використовується для оцінки придатності вибраного ряду маркерів дискримінувати сорти у рамках досліджуваного генетичного пулу [30].

Найбільш інформативним за цим показником виявився локус ZAG79 із $PI = 0,024 \times 10^{-12}$, аналогічно даним [39] та [14] ($PI = 0,06 \times 10^{-12}$), в той час як найменш інформативним був локус VVMD25 ($PI = 0,109 \times 10^{-12}$).

Сумарне значення вірогідності ідентичності становило $2,95 \times 10^{-12}$, подібно до [12] ($1,67 \times 10^{-12}$) та [27] ($6,93 \times 10^{-12}$), що, з одного боку, свідчить про високий рівень поліморфізму використаних у дослідженні мікросателітних локусів, а з іншого, як відмічають автори [18], є наслідком завідомого обрання високополіморфних маркерів для роботи.

Найбільш гомозиготними виявилися локуси VVMD32 та VVMD25, у яких виявлено по 14 гомозиготних генотипів. При цьому локус VVMD32 є високополіморфним, який у рамках досліджуваної вибірки виявив 13 алелів, а локус VVMD25 показав лише 8 алелів.

Істотна кількість гомозигот у локусі VVMD32, попри значну поліморфність, може бути наслідком домінування певних алелів у різних регіонах культивування, як було відмічено [11, 25, 41]. Найменша гомозиготність спостерігалась у локусі ZAG79 (шість генотипів). Відповідно, максимальну кількість гетерозигот виявлено у локусі ZAG79 (74 генотипи), мінімальну – VVMD32 та VVMD25 (66 генотипів). Загалом, серед 720 виявлених генотипів мікросателітних локусів 91 був гомозиготний, 629 – гетерозиготні.

Для оцінки міри генетичних наслідків інбридингу особини щодо досліджуваної вибірки сортів було визначено показник інбридингу F_{is} , який показує ймовірність того, що особина є гомозиготною та обидва (однакових) алелі ідентичні за походженням, тобто успадковані від однієї прабатьківської форми деякого попереднього покоління.

Величина F_{is} у нашому дослідженні варіювала в межах від -0,115 (в локусі VVMD27) до -0,026 (в локусі VVMD5) зі середнім значенням -0,063. Від'ємне значення показника інбридингу свідчить про 6,3 % надлишок гетерозигот у даній вибірці сортів і, відповідно, відсутність суттєвого впливу інбридингу на генетичну структуру особин у складі вибірки.

Таким чином, показники генетичного різноманіття зразків досліджуваної вибірки, незважаючи на наявність кількох груп близькоспоріднених зразків винограду, загалом відповідали параметрам, обчисленим в аналогічних дослідженнях.

Дану роботу проведено в лабораторіях молекулярної генетики ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова» й АгроБіоінституту (м. Софія, Болгарія) у рамках виконання двостороннього українсько-болгарського проекту «Оцінка генетичного різноманіття винограду України та Болгарії за допомогою молекулярних маркерів».

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Айала Ф., Кайгер Д. Современная генетика: в 3-х т. / пер. с англ. М.: Мир, 1988. Т. 3. 335 с.
2. Кадьоров М. А., Горелик В. В. Организационные основы работы с генетическими ресурсами растений в Европе и Беларуси // Генетические основы селекции растений: в 4 т. Минск: Беларус. навука, 2012. С. 455.
3. Носульчак В. А., Трошин Л. П. Краткий анализ мирового генофонда винограда и принципы формирования ампелографической коллекции России // Виноград и вино России. 1998. Спец. вып. С. 11–14.
4. Bohn M., Utz H. F., Melchinger A. E. Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs and SSRs and their use for predicting progeny variance // Crop Science. 1999. Vol. 39. P. 228–237.
5. Bouquet A., Adam-Blondon A. F., Martinez-Zapater J. M., Kole C. Grapevines and Viticulture: Genetics, Genomics, and Breeding of Grapes. CRC Press, 2011.
6. Cipriani G., Spadotto A., Jurman I. et al. The SSR-based molecular profile of 1005 grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions uncovers new synonymy and parentages, and reveals a large admixture amongst varieties of different geographic origin // Theor. Appl. Genet. 2010. Vol. 121. N 8. P. 1569–1585.
7. Convention on Biological Diversity [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.cbd.int/convention/text/default.shtml>.
8. Dangl G. S., Mendum M. L., Prins B. H. et al. Simple sequence repeat analysis of a clonally propagated species: a tool for managing a grape germplasm collection // Genome. 2001. Vol. 44. N 3. P. 432–438.

9. Doulati-Baneh H., Mohammadi S. A., Labra M. Genetic structure and diversity analysis in *Vitis vinifera* L. cultivars from Iran using SSR markers // *Sci. Hortic.* 2013. Vol. 160. P. 29–36.
10. Dzhambazova T., Tsvetkov I., Atanassov I. et al. Genetic diversity in native Bulgarian grapevine germplasm (*Vitis vinifera* L.) based on nuclear and chloroplast microsatellite polymorphisms // *Vitis.* 2009. Vol. 48. N 3. P. 115–121.
11. Dzhambazova T., Tsvetkov I., Simeonov I. et al. Genetic diversity and relationships of indigenous and newly bred Bulgarian grape cultivars assessed by nuclear and chloroplast markers // *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin.* 2012. Vol. 46. N 2. P. 113–121.
12. Emanuelli F., Lorenzi S., Grzeskowiak L. et al. Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grape [Електронний ресурс] // *BMC Plant Biol.* 2013. Vol. 13. №39. Режим доступу: <https://bmcplantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2229-13-39>
13. Fatahi R., Ebadi A., Bassil N. et al. Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers // *Vitis.* 2003. Vol. 42. N 4. P. 185–192.
14. Galbacs Z., Molnar S., Halasz G. et al. Identification of grapevine cultivars using microsatellite-based DNA barcodes // *Vitis.* 2009. Vol. 48. N 1. P. 17–24.
15. Galet P. Dictionnaire encyclopedique des cepages. Paris: Hachette, 2000. 936 p.
16. Hadadinejad M., Ebadi A., Naghavi M. R., Nikkhah R. Genealogy and molecular diversity of Iranian grapevine progenies // *J. Agric. Sci. Technol.* 2011. Vol. 13. P. 1147–1161.
17. Hvarleva T., Rusanov K., Lefort F. et al. Genotyping of Bulgarian *Vitis vinifera* L. cultivars by microsatellite analysis // *Vitis.* 2004. Vol. 43. N 1. P. 27–34.
18. Ibanez J., Velez M. D., de Andrés M. T. et al. Molecular markers for establishing distinctness in vegetatively propagated crops: a case study in grapevine // *Theor. Appl. Genet.* 2009. Vol. 119. N 7. P. 1213–1222.
19. Imazio S., Maghradze D., De Lorenzis G. et al. From the cradle of grapevine domestication: molecular overview and description of Georgian grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm // *Tree Genet. Genomes.* 2013. Vol. 9. P. 641–658.
20. Jones G. V., White M. A., Cooper O. R., Storchmann K. Climate change and global wine quality // *Climat Change.* 2005. Vol. 73. P. 319–343.
21. Lacombe T., Michel J., Laucou B. V. et al. Large-scale parentage analysis in an extended set of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) // *Theor. Appl. Genet.* 2013. Vol. 126. N 2. P. 401–414.
22. Leao P. C. D. S., Cruz C. D., Motoike S. Y. Diversity and genetic relatedness among genotypes of *Vitis* spp. using microsatellite molecular markers // *Rev. Bras. Frutic.* 2013. Vol. 35. N 3. P. 799–808.
23. Lopes M. S., dos Santos M. R., Dias J. E. et al. Discrimination of Portuguese grapevines based on microsatellite markers // *J. Biotechnol.* 2006. Vol. 127. N 1. P. 34–44.
24. Lopes M. S., Sefc K. M., Dias E. E. et al. The use of microsatellites for germplasm management in a Portuguese grapevine collection // *Theor. Appl. Genet.* 1999. Vol. 99. N 3–4. P. 733–739.
25. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // *Genetics.* 1978. Vol. 89. N 3. P. 583–590.
26. Paetkau D., Calvert W., Stirling I., Strobeck C. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears // *Mol. Ecol.* 1995. Vol. 4. N 3. P. 347–354.
27. Pellerone F. I., Edwards K. J., Thomas M. R. Grapevine microsatellite repeats: isolation, characterisation and use for genotyping of grape germplasm from Southern Italy // *Vitis.* 2001. Vol. 40. N 4. P. 179–186.

28. Ramezani A., Haddad R., Dorostkar M. et al. Evaluation of genetic diversity of Iranian grapevine accessions using microsatellite markers // *Vitis*. 2009. Vol. 48. N 3. P. 151–152.
29. Regner F., Wiedeck E., Stadlbauer A. Differentiation and identification of White Riesling clones by genetic markers // *Vitis*. 2000. Vol. 39. N 3. P. 103–107.
30. Salinari F., Giosue S., Tubiello F. N. et al. Downy mildew (*Plasmopara viticola*) epidemics on grapevine under climate change // *Global Change Biol*. 2006. Vol. 12. P. 1299–1307.
31. Schuck M. R., Biasi L. A., Moreira F. M. et al. Use of microsatellite markers to assess the identity and genetic diversity of *Vitis labrusca* and *Vitis rotundifolia* cultivars // *Acta Sci.-Agron*. 2014. Vol. 36. N 3. P. 301–308.
32. Sefc K. M., Lopes M. S., Lefort F. et al. Microsatellite variability in grapevine cultivars from different European regions and evaluation of assignment testing to assess the geographic origin of cultivars // *Theor. Appl. Genet*. 2000. Vol. 100. P. 498–505.
33. Sefc K. M., Regner F., Glössl J., Steinkellner H. Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers // *Vitis*. 1998. Vol. 37. N 1. P. 15–20.
34. Stajner N., Rusjan D., Korosec-Koruza Z., Javornik B. Genetic characterization of old slovenian grapevine varieties of *Vitis vinifera* L. by microsatellite genotyping // *Am. J. Enol. Viticult*. 2011. Vol. 62. N 2. P. 250–255.
35. Tangolar S. G., Soydam S., Bakir M. et al. Genetic analysis of grapevine cultivars from the eastern Mediterranean region of Turkey, based on SSR markers // *Tarim Bilim Derg*. 2009. Vol. 15. N 1. P. 1–8.
36. Tassie L. Vine identification – knowing what you have [Електронний ресурс] // Editor G.a.W.R.a.D. Corporation, 2010. Режим доступу: <http://research.wineaustralia.com/wp-content/uploads/2012/09/2010-08-FS-Vine-Identification.pdf>
37. This P., Jung A., Boccacci P. et al. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars // *Theor. Appl. Genet*. 2004. Vol. 109. N 7. P. 1448–1458.
38. This P., Lacombe T., Thomas M. R. Historical origins and genetic diversity of wine grapes // *Trends in Genet*. 2006. Vol. 22. N 9. P. 511–519.
39. Upadhyay A., Aher L. B., Shinde M. P. et al. Microsatellite analysis to rationalize grape germplasm in India and development of a molecular database // *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. 2013. Vol. 11. N 3. P. 225–233.
40. Vouillamoz J. F., McGovern P. E., Ergul A. et al. Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia // *Plant Genetic Resources: characterization and utilization*. 2006. Vol. 4. N 2. P. 144–158.
41. Wagner H. W., Sefc K. M. Identity 4.0. Centre for applied genetics. Vienna: University of Agricultural Sciences, 1999.
42. Wright S. Evolution and the genetics of population. Variability within and among natural populations. Chicago, Illinois: University Chicago Press, 1978. 580 с.

Стаття: надійшла до редакції 31.08.17

доопрацьована 27.11.17

прийнята до друку 12.12.17

EVALUATION OF GRAPEVINES (*VITIS VINIFERA* L.) GENETIC DIVERSITY BY USING MICROSATELLITE MARKERS

O. Karastan, N. Mulyukina, O. Papina, G. Plachinda

National Scientific Centre

*“Institute of Viticulture and Wine-making named after V.Ye. Tairov”
27, 40 let Pobeda St., Tairovo, Odessa 65496, Ukraine*

The allelic characteristics of the DNA microsatellite loci (VVS2, ZAG62, VVMD7, VVMD27, VVMD5, VVMD25, VVMD28, ZAG79, VVMD32) of 80 grapes varieties and forms were used to deduct the main indicators of genetic diversity. The values of these indicators fluctuated within: the number of alleles N_a – from 8 (VVMD25) to 18 (VVMD28); the effective number of alleles N_e – from 4.90 (VVMD32) to 8.57 (ZAG79); expected heterozygosity H_e – 0.744 (VVMD25) to 0.883 (ZAG79); the observed heterozygosity H_o from 0,3823 (VVMD25) to 0,925 (ZAG79), the probability of occurrence of null alleles r – from -0,009 (VVMD32) to -0,051 (VVMD27), probability of identity PI – from 0,024 (VVMD32) to 0,109 (VVMD25), Wrights index F – from -0,026 (VVMD5) to -0.115. 720 genotypes of microsatellite loci were identified, among them 91 are homozygous, 629 are heterozygous. The highest homozygosity among all studied loci has been determined for highly polymorphic locus VVMD32, that may indicate the domination of certain alleles in the region. Comparison of the parameters of genetic diversity determined by us with the results of other authors showed a general similarity, and in some cases – excess of values.

Keywords: genetic resources, genetic diversity, microsatellite markers, grapes, *V. vinifera* L.