



ФГБУН «ВНИИ Виноградарства и Виноделия «Магарач» РАН», Ялта, РК
Лаборатория молекулярно-генетических исследований

№ ГЗ 0833-2015-0019 «Генотипирование сортов винограда
рода *Vitis L.* коллекции зародышевой плазмы и оценка
уровня аллельного полиморфизма микросателлитных
локусов на основе мультиплексного фрагментного анализа»

Этап 2019. ДНК профилирование селекционных сортов Института «Магарач». Анализ родословной в соответствии с селекционными схемами. Создать аллельные формулы, представляющих индивидуальные генетические характеристики сортов

Этап 2020. Определить сортовую принадлежность неидентифицированных образцов винограда на основе ампелографических характеристик и молекулярных маркеров; провести поиск и адаптацию методик идентификации генов селекционно-ценных признаков; продолжить ДНК типирование селекционных сортов

Этап 2021. Изучить аллельный полиморфизм SSR-локусов генотипов винограда и генов, детерминирующих формирование селекционно-ценных признаков (фундаментальные исследования).

Цель настоящего исследования - получение новых знаний о геноме винограда, идентификация и ДНК-паспортизация селекционных сортов винограда и неидентифицированных образцов ампелографической коллекции Института «Магарач», а также поиск и идентификация генов, детерминирующих ценные для виноградарства признаки.

Программа исследований включала *основные задачи*:

- выполнить ДНК-типирование сортов винограда селекции Института «Магарач» на основе мультиплексного фрагментного анализа по 9 микросателлитным локусам (SSR);
- изучить аллельный полиморфизм микросателлитных локусов по результатам SSR анализа;
- исследовать генетические взаимосвязи селекционных сортов и родительских форм в соответствии со схемой скрещивания на основе анализа ядерных (nSSR) и хлоропластных (cpSSR) микросателлитных локусов;
- выполнить ДНК-фингерпринтинг неидентифицированных образцов винограда ампелографической коллекции Института «Магарач»;
- провести сравнительный анализ полученных микросателлитных профилей с данными Европейской генетической базы для сортовой идентификации;
- провести поиск и разработать методологические подходы для идентификации генов, детерминирующих селекционно-ценные признаки устойчивости и качества;

Новизна: впервые были получены данные о генотипах отечественных сортов винограда селекции ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН» и их исходных форм, и ряда сортов различного происхождения из Ампелографической коллекции Института «Магарач». Использование современных методов молекулярного маркирования существенно повысило достоверность идентификации сортов винограда. Отработка методик идентификации генов селекционно-ценных признаков позволяет проводить отбор генотипов на ранних этапах развития, что увеличит эффективность селекционных программ.

Материалы и методы

В исследования были включены:

Генотипирование: 33 селекционных сорта, в т.ч. 25 сортов селекции Института «Магарач» - 25 неидентифицированных (искомых) образцов винограда, поддерживаемых на АК «Магарач».

Идентификация генов пола: 52 аборигенных сорта винограда, в т.ч. 6 – селекции Института «Магарач»; 26 образцов дикорастущего винограда.

Идентификация локуса бессемянности: 27 бессемянных; 13 семенных сортов различного происхождения; а также: популяций (семенной x бессемянный) сеянцев F1 Восторг красный x Юпитер (20 гибридов), Талисман x Аленушка (18 гибридов).

Использованы методы мультиплексной ПЦР и фрагментного анализа:

- Генотипирование выполнено по 9 микросателлитным локусам (SSR): VVS2, ssrVVMD5, ssrVVMD7, ssrVVMD25, ssrVVMD27, ssrVVMD28, ssrVVMD32, ssrVrZAG62, ssrVrZAG79;
- Были использованы праймеры:
 - p3_VvAGL11, VMC7f2 - сцепленные с локусом SDI, детерминирующим бессемянность.
 - VMC6F1, VVIB23, VVMD34 - сцепленные с генами, контролирующими признак «пол».

Разделение продуктов амплификации выполняли методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems, США).

Анализ полученных данных выполнен с помощью ПО «Gene Mapper» v4.0. Полиморфизм микросателлитных локусов и генетическое разнообразие рассчитано с использованием программы Popgene (v. 1.32).

Генотипирование сортов винограда АК «Магарач» на основе мультиплексного фрагментного анализа по 9 микросателлитным локусам (SSR)

Генетические профили сортов селекции Института «Магарач»

Сорт	SSR локус		VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		ZAG62		ZAG79	
Аврора Магарача	131	139	238	240	237	251	0	0	0	0	234	243	0	0	0	0	252	262		
Ассоль	141	153	225	232	247	249	244	254	178	191	243	245	249	271	000	000	248	258		
Альминский	147	147	229	232	239	249	240	254	176	182	227	245	249	271	186	188	256	260		
Антей магарачский	131	143	225	232	241	249	238	240	176	186	237	237	0	0	186	188	248	256		
Атлант	133	153	236	238	247	253	240	244	186	192	233	243	271	271	0	0	246	258		
Бастардо магарачский	141	147	236	236	247	249	248	254	176	176	235	257	263	271	0	0	252	256		
Геркулес	133	147	232	236	249	251	254	254	176	186	227	243	249	271	192	194	256	260		
Интервигис Магарача	131	153	236	236	249	249	248	254	176	178	233	245	249	271	186	186	248	256		
Изумрудный	133	141	229	236	247	257	248	254	172	182	233	243	239	271	188	192	240	248		
Крымская жемчужина	131	133	236	238	249	249	0	0	178	182	233	247	271	271	186	188	248	256		
Мускат Ялты	120	122	236	236	233	235	240	240	186	200	265	231	239	239	196	202	264	266		
Нимранг	131	142	232	236	247	253	238	240	186	189	235	243	249	255	194	196	252	262		
Подарок Магарача	137	147	236	263	243	251	0	0	186	189	237	249	0	0	188	194	238	238		
Ркацителли Магарача	139	141	225	240	253	262	252	264	176	189	237	243	255	261	0	0	250	262		
Тавквери Магарача	131	133	238	243	241	247	0	0	186	195	259	259	271	271	190	194	252	252		
Таврида	143	149	232	240	239	239	242	250	189	192	233	243	239	243	188	200	248	262		
Таврия	131	133	229	234	247	251	236	254	178	182	243	259	243	249	194	204	246	256		
Юбилейный Магарача	131	131	232	240	241	251	0	0	182	189	235	237	244	255	188	194	248	256		

В течение 2019-2021 гг генотипировано 33 селекционных сорта, из них 25 сортов селекции Института «Магарач» и 3 сорта – родительские формы

Генетические профили 10 бессемянных сортов АК Института «Магарач»

SSR-маркер/Сорта	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VrZAG62	VrZAG79									
Магарач-90-83-1	135	143	236	242	247	251	239	239	180	195	236	252	272	272	194	194	251	255
Советский бессемян.	143	151	230	236	247	249	249	255	182	186	244	246	250	250	196	202	247	251
Магарач 520	151	155	230	236	243	249	245	249	186	195	236	246	250	272	188	202	251	251
Красень	135	143	236	242	247	251	239	239	180	195	236	252	272	272	194	194	251	255
Южнобережный	143	151	236	238	239	247	243	249	180	186	228	244	250	274	188	188	247	247
Митридат	133	151	236	238	249	253	241	249	180	182	244	244	250	292	188	196	239	247
Кишмиш белый кр.	145	151	230	236	239	249	241	249	182	190	244	248	250	272	188	194	243	247
Султанана	145	151	236	236	239	253	239	249	182	195	218	244	250	250	188	188	247	259
Султанана кипрская	133	145	236	238	247	253	239	241	180	182	234	244	250	250	188	188	247	255
Мечта	135	151	236	248	239	249	249	255	180	182	234	246	250	272	196	202	247	251

Изучен аллельный полиморфизм микросателлитных локусов по результатам SSR анализа 25 сортов селекции Института «Магарач», рассчитаны статистические характеристики

Locus	na*	ne*	I*	Obs_ Hom	Obs_ Het	Exp_ Hom*	Exp_ Het*	Nei**	Ave_ Het
VVMD25	10	5.03	1.89	0.235	0.765	0.175	0.825	0.801	0.801
VVMD27	9	6.57	1.97	0.087	0.913	0.133	0.867	0.848	0.848
VVMD28	14	8.56	2.37	0.040	0.960	0.099	0.901	0.883	0.883
VVMD32	9	5.07	1.84	0.182	0.818	0.179	0.821	0.803	0.803
VVMD5	11	6.51	2.07	0.167	0.833	0.136	0.864	0.846	0.846
VVMD7	12	6.25	2.05	0.160	0.840	0.143	0.857	0.840	0.840
VVS2	12	7.06	2.16	0.120	0.880	0.124	0.876	0.858	0.858
VrZAG62	11	7.14	2.16	0.059	0.941	0.114	0.886	0.860	0.860
VrZAG79	14	8.56	2.37	0.160	0.840	0.099	0.901	0.883	0.883
Mean	11.3	6.75	2.10	0.1344	0.8656	0.175	0.825	0.801	0.801
St. Dev	1.871	1.272	0.188	0.0631	0.0631	0.133	0.867	0.848	0.848

Всего в 9 микросателлитных локусах у 25 сортов винограда идентифицировано 102 аллеля, в среднем – 11,3 аллеля/локус, что выше аналогичных показателей среди аборигенных сортов (7,2 – 7,8 аллеля /локус).

Анализ наследования аллелей у селекционных сортов от родительских форм в соответствии со схемой скрещивания

Пример наследования аллелей 22 nSSR локусов от родителя Катта Курган к потомку Атлант в соответствии со схемой скрещивания: **Атлант (Катта-Курган х Магарач № 3-68-48)**.

Сорт	VMC1b11		VMC4f3		VVIb01		VVIh54		VVIn16		VVIn73		VVIp31		VVIp60		VVIq52		VVIv37	
Атлант	165	171	171	180	290	290	165	175	147	155	254	263	178	184	-	-	77	83	159	177
Катта Курган	165	194	171	182	290	298	175	177	149	155	263	263	178	190	315	319	77	79	153	177

Сорт	VVIv67		VVMD21		VVMD24		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VVMD5		VVMD7		VVS2		ZAG62		ZAG79	
Атлант	329	353	247	253	210	218	240	244	186	191	233	243	271	271	236	238	247	253	133	153	-	-	246	257
Катта Курган	353	375	247	249	210	218	244	248	176	182	233	233	255	271	238	238	243	253	149	153	188	188	248	257

Вывод: сорт Атлант является потомком сорта Катта Курган.

Проанализировано происхождение сортов Интервитис Магарача, Кишмиш Магарача, Бессемянный Магарача и др.

Пример 2021г. наследования аллелей 9 nSSR локусов от 2-х родителей Мадлен Анжевин и Аскери (бессем.) к потомку Янги Ер (бессемян.): **Янги Ер (Мадлен Анжевин х Аскери)**.

Образец	VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD25		VVMD27		VVMD28		VVMD32		VrZAG62		VrZAG79	
Янги Ер 9-25(10)	135	145	238	240	247	253	239	255	195	195	244	258	240	272	188	204	259	259
Янги Ер 5-66(2)	135	145	238	240	247	253	239	255	195	195	244	258	240	272	188	204	259	259
№7062 MADELEINE ANGEVINE ♀	135	155	238	242	247	247	241	255	182	195	218	244	240	272	194	204	249	259
№3960 ESKERI	141	145	236	240	239	253	239	241	180	195	218	258	250	272	188	198	251	259

Генотипирование 25 неидентифицированных образцов винограда ампелографической коллекции Института «Магарач»

Идентификация сортов на основе сравнительного анализа полученных микросателлитных профилей с данными Европейской генетической базы (VIVC)

На примере идентификации 2021г.

Образец	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VrZAG62	VrZAG79								
Эрта Пишар 26-87(3)	151	151	230	236	243	249	249	182	195	218	244	250	250	188	202	251	257
№6258 KISHMISH KHISHRAU	<u>151</u>	<u>151</u>	<u>230</u>	<u>236</u>	<u>243</u>	<u>249</u>	<u>249</u>	<u>182</u>	<u>195</u>	<u>218</u>	<u>244</u>	<u>250</u>	<u>250</u>	<u>188</u>	<u>202</u>	<u>251</u>	<u>257</u>

Вывод: Кишмиш Хишрау



Образец	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VrZAG62	VrZAG79									
Конер 27-120(6)	143	151	234	236	239	239	247	249	195	195	218	244	250	274	188	188	257	259
№2055 CANNER SEEDLESS	<u>143</u>	<u>151</u>	<u>234</u>	<u>236</u>	<u>239</u>	<u>239</u>	<u>247</u>	<u>249</u>	<u>195</u>	<u>195</u>	<u>218</u>	<u>244</u>	<u>250</u>	<u>274</u>	<u>188</u>	<u>188</u>	<u>257</u>	<u>259</u>

Вывод: Конер сидлис



Образец	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VrZAG62	VrZAG79									
Бисер 20-43(2) (AK)	133	135	228	236	249	249	241	255	182	186	218	234	250	272	186	200	247	251
№1143 BEOGRADSKA BESEMENA (REDJINA)	<u>133</u>	<u>135</u>	<u>228</u>	<u>236</u>	<u>249</u>	<u>249</u>	<u>241</u>	<u>255</u>	<u>182</u>	<u>186</u>	<u>218</u>	<u>218</u>	<u>250</u>	<u>272</u>	<u>186</u>	<u>200</u>	<u>247</u>	<u>251</u>

Вывод: Клон сорта Белградский бессемянный



Образец	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VrZAG62	VrZAG79									
Кишмиш уникальный (неизв)27-44(3)	129	151	236	238	239	241	237	249	184	190	244	244	240	250	184	188	243	254
№26064 KISHMISH UNIKALNYI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Кишмиш уникальный 23-4(АК)	129	151	236	238	239	241	237	249	184	190	244	244	240	250	184	188	243	255

Вывод: Кишмиш уникальный

Образец	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VrZAG62	VrZAG79									
Неизвестный/ Акабилиж 20-83	133	149	230	240	247	249	241	249	195	195	218	244	252	258	192	200	257	257
№5728 BESEMENI HUBRID VI-4 (NEDELTCHEFF VI-4) (VIVC)	133	149	230	240	247	249	239	249	195	195	218	244	252	258	192	200	-	-

Вывод: Клон сорта Бессемянный гибрид VI-4

Образец	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VrZAG62	VrZAG79									
Неизв. Бессемянный 27-12(7)	133	149	230	240	247	249	241	249	195	195	218	244	252	258	192	200	257	257
№5728 BESEMENI HUBRID VI-4 (NEDELTCHEFF VI-4) (VIVC)	133	149	230	240	247	249	239	249	195	195	218	244	252	258	192	200	-	-

Вывод: Клон сорта Бессемянный гибрид VI-4

Образец	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD25	VVMD27	VVMD28	VVMD32	VrZAG62	VrZAG79									
Ашпамиж 20-99(2)	145	153	236	236	239	253	239	249	182	195	218	244	250	250	188	188	247	259
SULTANINA (VIVC)	145	151	236	236	239	253	239	249	182	195	218	244	250	250	188	188	247	259

Вывод: Клон сорта Султанина (Кишмиш белый овальный)



Кишмиш уникальный/неизв. 23-4(1)



Неизвестный/ Акабилиж 20-83(1-5)



Неизвестный/ Бессемянный 27-12



Ашпамиж 20-99

Исследование фенотипических показателей бессемянности в сортах и популяции гибридных форм в селекции на бессемянность

- В 2019-2021 гг. исследованы фенотипические признаки бессемянности
- у группы из 30-ти отобранных сортов (в том числе 7 сортов селекции НИИВиВ «Магарач»).
- фенотипические показател бессемянности :
- масса ягод и рудиментов,
- количество и степень развитости рудиментов,
- категория бессемянности (I, II, III, IV)

Результаты:

- По массе рудиментов определена категория бессемянности. К I и II категории бессемянности (из четырех) были отнесены сорта: Рушаки, Кишмиш желтый, Кишмиш уникальный, Кишмиш черный, Коринка русская, Ромулус, Кишмиш белый круглый, Кишмиш оврут тагапский.
- По предварительному фенотипическому анализу признаки бессемянности среди начавших плодоносить гибридных форм популяции ♀Талисман х Столетие♂ были выявлены у 4 гибридов

№ п/п	Наименование сорта	Средняя масса рудиментов, мг	Категория бессемянности
1	Рушаки	2.65	I
2	Кишмиш желтый	2.93	I
3	Кишмиш уникальный	3.96	I
4	Кишмиш черный	4.78	I
5	Коринка русская	5.70	I
6	Ромулус	7.10	II
7	Кишмиш белый круглый	7.58	II
8	Кишмиш оврут тагапский	8.72	II
9	Султанина кипрская	10.10	III
10	Мечта	10.55	III
11	Розовый бисер	10.76	III
12	Советский бессемянны	10.93	III
13	Кишмиш люнда	12.12	III
14	Энсит сидлис	15.95	IV
15	Перлет	16.68	IV
16	Магарач 520	17.87	IV
17	Сюрприз	18.88	IV
18	Магарач 90-83-1	19.75	IV
19	Кишмиш мускатный	20.10	IV
20	Сверхранный бессемянный	20.33	IV
21	Кара кишмиш оврут	21.93	IV
22	Кишмиш ВИРа	23.04	IV
23	Кишмиш Молдавский	23.86	IV
24	Сирануш	33.86	IV
25	Кишмиш Ваткана	35.03	IV
26	Южнобережный	37.03	IV
27	Кишмиш Магарача	37.13	IV
28	Бессемянный Магарача	38.43	IV
29	Бессемянный Мельника	53.81	IV
30	Кишмиш лучистый	58.47	IV

Идентификация аллелей маркеров, ассоциированных с полом

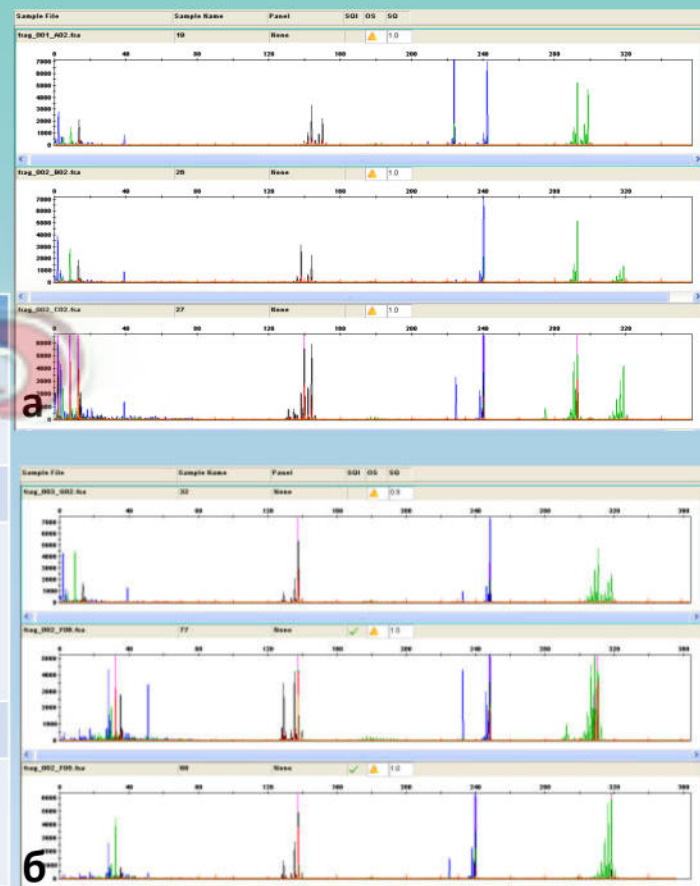
Использовались 3 SSR-маркера **VMC6F1**, **VVIB23** и **VMD34**, которые являются ближайшими маркерами к локусу пола. Для исследования были отобраны 52 абoriginalных сорта Крыма и 26 дикорастущих форм:

- 42 сорта из них являются гермафродитами;
- 10 сортов имеют женский тип цветка;
- 26 дикорастущих форм.

Результат:

- Определены гаплотипы у 52 абoriginalных и 26 дикорастущих форм винограда с разным типом цветка по 3 SSR маркерам VMC6F1, VVIB23 и VMD34, ассоциированными с полом.
- Изучено аллельное разнообразие SSR-локусов, ассоциированных с полом.
- Выделены аллели, наиболее часто встречающиеся в изученных выборках

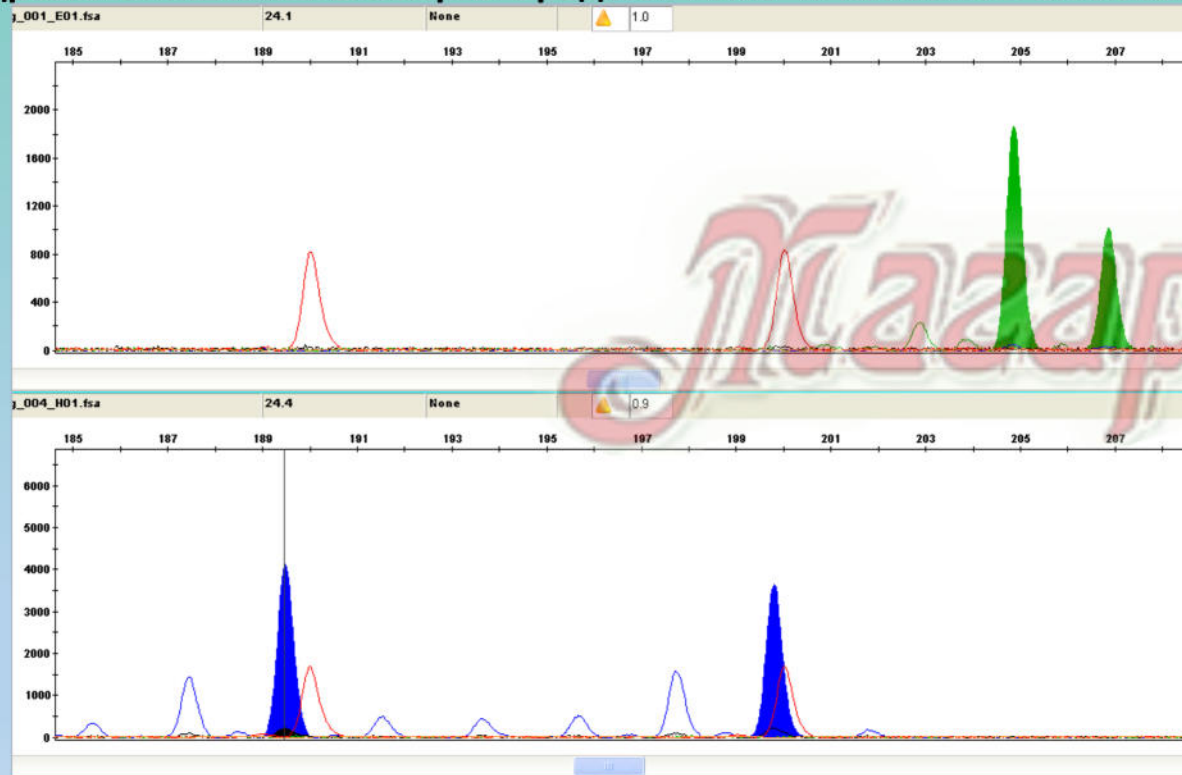
Наиболее распространенные гаплотипы среди сортов с: а) обоеполым типом цветка
б) с женским типом цветка



	VVIB23 (R6G)			VMC6F1 (Tmra)			VVMD34 (FAM)		
	HF	F	WILD	HF	F	WILD	HF	F	WILD
Кол. аллелей	9	5	7	5	3	9	5	3	7
Кол. гаплотипов	9	7	10	8	4	15	7	4	8
гаплотип	293/299/11 293/319/10		295/311/10	144/150/11 138/144/15	138/5	146/150/7	240/12 224/242/7 240/242/6	240/3 248/3	236/8 240/9
% гетерозигот	98%	67%	84%	93%	44%	84%	48%	33%	34%
аллель	293/30	318/5	295/21 311/13	144/31	138/8	150/20	240/12	240/6 248/5	236/11 240/10

Определение эффективности 2-х маркеров VMC7f2 и p3_VvAGL11 на бессемянных и семенных сортах

В исследования были включены 40 сортов: 27 бессемянных и 13 семенных сортов различного происхождения и референсные сорта – древние кишмишные сорта Средней Азии и Ближнего Востока.



Аллели маркера VMC7F2 (198: 200; выделены зеленым) и маркера p3_VvAGL11 (188: 198; выделены синим) бессемянного сорта Перлет

Все бессемянные сорта по двум SSR-маркерам VMC7f2 и p3_VvAGL11 имели аллель сцепленную с бессемянностью –198 п.н., тогда как у семенных сортов она отсутствовала.

Данные исследования подтвердили полезность маркеров VMC7f2 и p3_VvAGL11 для MAS-селекции при использовании аборигенных и селекционных сортов Крыма и Средней Азии.

Определение локуса бессемянности SDI, при помощи маркеров MAS-селекции в расщепляющейся популяции (семенной x бессемянный) сеянцев F1

Восторг красный x Юпитер (США)

Целью исследований являлось выявления аллелей, сцепленных с признаком бессемянности с помощью 2-х наиболее эффективных SSR маркеров MAS : **VMC7f2** и **p3_VvAGL11** на расщепляющихся популяциях (семенной x бессемянный) сеянцев F1.

№ п/п	Адрес гибрида	p3_VvAGL11		VMC7f2	
		аллель 1	аллель 2	аллель 1	аллель 2
1	№ВхЮ 36-11-7-1	184	188	200	210
2	№ВхЮ 36-11-7-2	188	198	198	200
3	№ВхЮ 36-11-7-3	184	188	200	210
4	№ВхЮ 36-11-7-4(1)	184	188	200	210
5	№ВхЮ 36-11-7-5(1)	188	188	200	200
6	№ВхЮ 36-11-7-6(1)	184	188	200	210
7	№ВхЮ 36-11-7-7	184	188	200	210
8	№ВхЮ 36-11-7-8	188	188	200	200
9	№ВхЮ 36-11-7-9	184	188	200	210
10	№ВхЮ 36-11-7-10	184	188	200	210
11	№ВхЮ 36-11-7-11	184	188	200	210
12	№ВхЮ 36-11-7-12	188	188	200	200
13	№ВхЮ 36-11-7-13	188	188	200	200
14	№ВхЮ 36-11-7-14	184	188	200	210
15	№ВхЮ 36-11-7-15	184	188	200	210
16	№ВхЮ 36-11-7-16	184	188	200	210
17	№ВхЮ 36-11-7-22	188	188	200	200
18	№ВхЮ 36-11-7-24	184	198	198	210
19	№ВхЮ 36-11-7-26 (1)	184	188	200	210
20	№ВхЮ 36-11-7-27	184	188	200	210

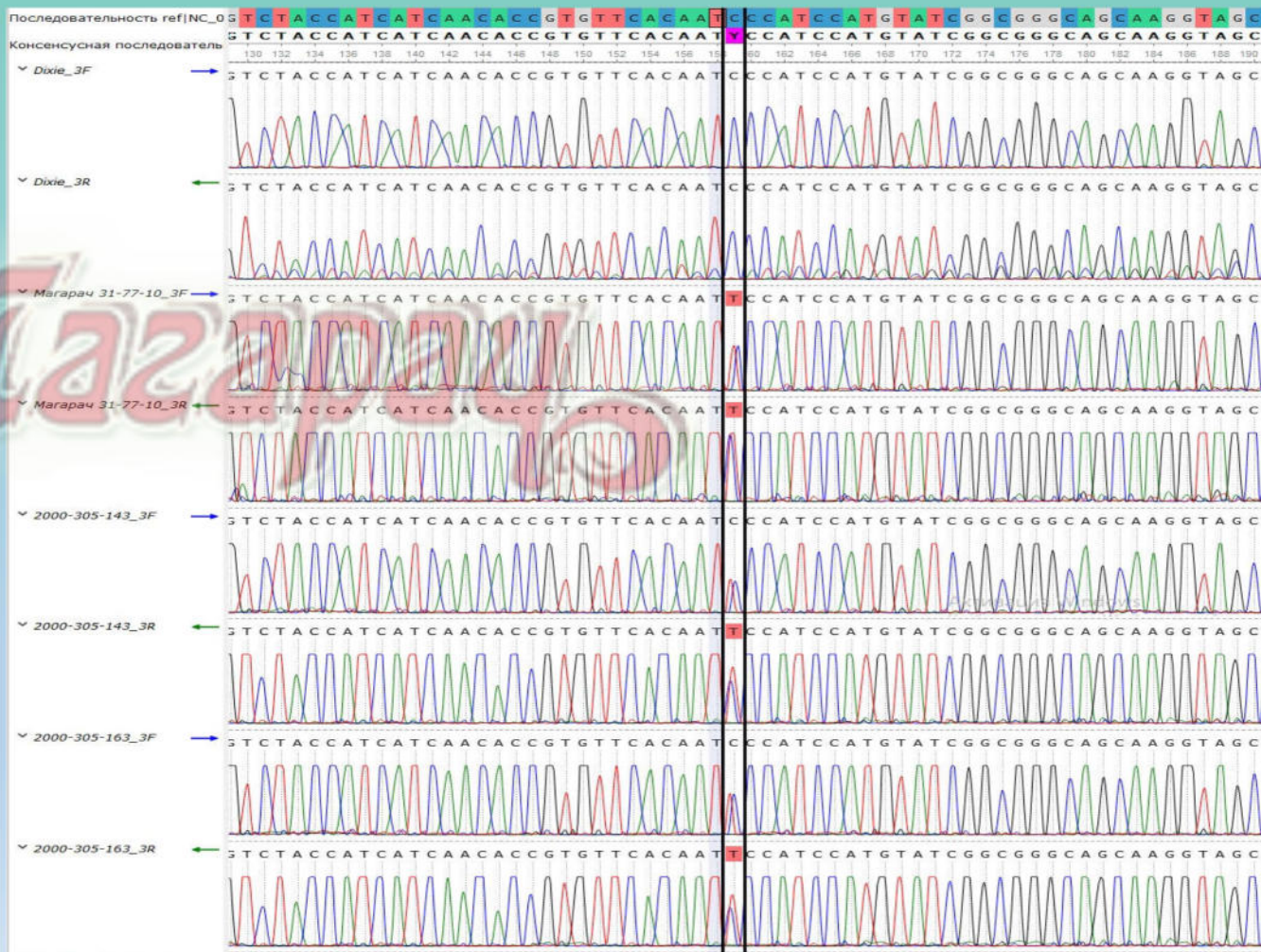
У двух гибридов выявлены аллели, сцепленные с бессемянностью (198 п.н.): №ВхЮ 36-11-7-2 и №ВхЮ 36-11-7-24.

Обработка методик по определению устойчивости к патогенам

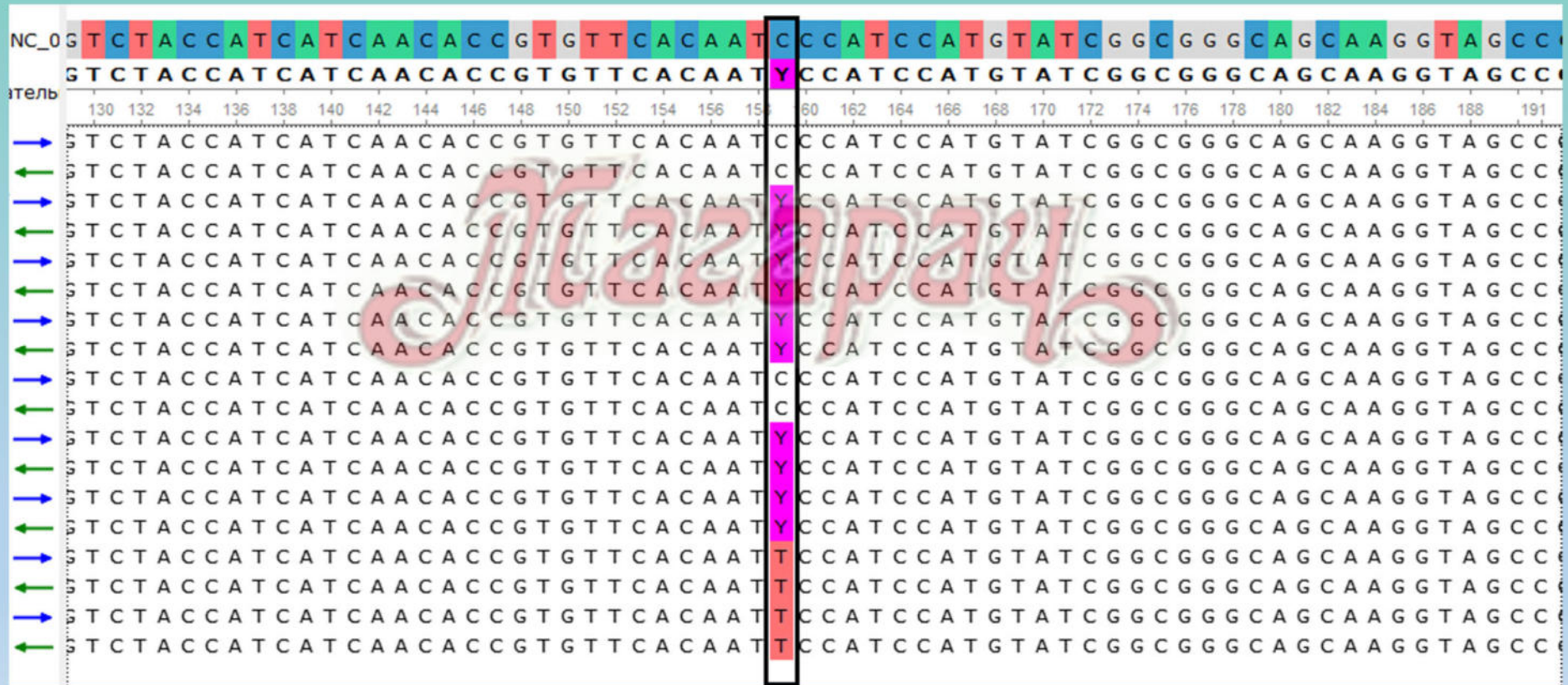
Освоение SNP маркеров для определения устойчивости к фитопатогенам и наличия хозяйственно-значимых признаков

Освоение методики секвенирования по Сенгеру

В качестве примера приведена хроматограмма по 3-м сортам с определением SNP 3_5494608



Выравнивание сиквенсов на референсную последовательность сорта Пино Нуар для поиска однонуклеотидных замен (SNP маркеры)



SNP 3_5494608

Выводы по результатам исследований, проведенных в 2019- 2021 гг.:

- **Генотипированы** с использованием 9 nSSR локусов 33 сорта, в том числе 25 селекционных сортов Института «Магарач» и 3 сорта – родительские формы;
- **Оценен уровень аллельного разнообразия** микросателлитных локусов 25 селекционных сортов винограда. Всего идентифицировано 102 аллеля, в среднем – 11,3 аллеля/локус, что выше аналогичных показателей среди аборигенных сортов ;
- **Анализ наследования** аллелей родитель-потомок по 22 ядерным (nSSR) и 3 хлоропластным (cpSSR) микросателлитным локусам подтвердило происхождение сортов в соответствии со схемой скрещивания;
- На основании **генотипирования** по 9 ядерным микросателлитным локусам и сравнения с базой данных VIVC были идентифицированы (определены сорта) **25 неизвестных форм АК «Магарач»**;
- **Отработаны методические подходы на основании SSR-маркеров, SNP** по определению устойчивости к фитопатогенам.
- **Определены гаплотипы у 52 аборигенных и 26 дикорастущих форм винограда с разным типом цветка** по 3 SSR маркерам VMC6F1, VVIB23 и VMD34, ассоциированным с полом. Выделены аллели, наиболее часто встречающиеся в изученных выборках;
- **Определены фенотипические признаки бессемянности у 30-ти селекционных сортов АК «Магарач» (2019-2021 гг) и гибридов 4-х популяций ОУ «Приморское».** У селекционных сортов определена категория бессемянности;
- При помощи маркеров VMC7f2 и p3_VvAGL11 у **38 гибридов расщепляющихся популяций ♀Восторг красный х Юпитер♂ и ♀Талисман х Аленушка♂ ОУ «Приморское» выявлены аллели, сцепленные с признаком бессемянности (198 п.н.);**
- **Подтверждена 100% эффективность маркеров VMC7f2 и p3_VvAGL11 для MAS-селекции по определению бессемянности** на ранее не включенных в исследование 27 бессемянных и 13 семенных сортах, относящимся к аборигенным и селекционным сортам Крыма и Средней Азии.

Публикации: 2019 : 3 конференции, 6 публикаций (2 Scopus)
2020 : 6 конференций, 5 публикаций (2 Web of Conferences)
2021 : 3 конференции, 5 публикаций (3 Scopus, 1 Web of Confer.)

Публикации 2019

1. L. Rustioni, G. Cola, D. Maghradze, S. Goryslavets,V. Risovannaya,O. Failla and R. Bacilieri (38 авторов). Description of the *Vitis vinifera* L. phenotypic variability in eno-carpological traits by a Euro-Asiatic collaborative network among ampelograph collections / L. Rustioni L. et al. // **Vitis**. – 2019. – V. 58. - P 37–46. DOI: 10.5073/vitis.2019.58.37-46
2. Володин В.А., Рисованная В.И., Волков Я.А., Спотарь Г.Ю., Гориславец С.М. Исследование растительных образцов яблони на наличие фитопатогенов бактериальной, вирусной и грибной этиологии/ В.А. Володин, В.И. Рисованная, Я.И. Волков, Г.Ю. Спотарь, С.М. Гориславец // **Виноградарство и виноделие**. Сборник научных трудов. - 2019. - Т. XLVIII. – С. 18-20.
3. В.В. Лиховской, В.А. Волынкин, Е.П. Странишевская, С.М. Гориславец, В.И. Рисованная, Е.А. Рыбалко Прогностическое развитие виноградарства Крыма по результатам научных исследований во ВНИИВиВ «Магарач» в 2018 г. / Лиховской В.В., Волынкин В.А., Странишевская Е.П., Гориславец С.М., Рисованная В.И., Рыбалко Е.А. // **Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия**. 2019. Т. 22. С. 68-78. DOI: [10.30679/2587-9847-2019-22-68-78](https://doi.org/10.30679/2587-9847-2019-22-68-78)
4. С.А Блинова, С.А Савинова, Я.И. Алексеев, А.А. Шварцев. В.А. Володин Разработка мультиплексной ПЦР – тест-системы для выявления *Phaeomoniella chlamydospora* - возбудителя болезни многолетней древесины методом капиллярного гелевого электрофореза / Блинова С.А., Савинова С.А., Алексеев Я.И., Шварцев А.А. Володин В.А. // **Виноградарство и виноделие**. Сборник научных трудов. - 2019. - Т. XLVIII. – С. 9 - 11.
5. Генотипирование сортов винограда селекции Института «Магарач» на основе анализа аллельного полиморфизма SSR локусов /С.М. Гориславец и др// **Виноградарство и виноделие**. - 2019. – Т 21.№ 4. (110). – С. 289-293.
6. Разработка и апробация набора реагентов для диагностики фитоплазмы почернения коры *candidatus phytoplasma solanaceae* методом ПЦР в реальном времени /С.А. Блинова и др.// **Сельскохозяйственная биотехнология**. 2020, том 55, № 1, с. 194-204.

Публикации 2020

- 1. Risovannaya V., Volodin V., Volkov Ya., Stranishevskaya E., Goryslavets S.** Mixed infecting of grapevine with viruses in the commercial vineyards of the Crimean peninsula // В сборнике: BIO **Web of Conferences**. Federal State Budgetary Scientific Institution North Caucasian Regional Research Institute of Horticulture and Viticulture. 2020. С. 05004
<https://doi.org/10.1051/bioconf/20202506005>
- 2. Клименко В.П., Павлова И.А., Володин В.А., Гориславец С.М.** Production of diseases - free plant materials of grapevine from [phytoplasma in vitro](#) // В сборнике: BIO **Web of Conferences**. Federal State Budgetary Scientific Institution North Caucasian Regional Research Institute of Horticulture and Viticulture. 2020. С. 05004 DOI: [10.1051/bioconf/20202505004](https://doi.org/10.1051/bioconf/20202505004)
- 3. Клименко В.П., Павлова И.А., Володин В.А., Гориславец С.М.** Оздоровление растений винограда *in vitro* от фитоплазм. Научные труды СКФНЦСВВ. 2020. - Том 30.
<https://kubansad.ru/content/international-scientific-conference-bioengineering-organization-processes-concerning-breeding-and-reproduction-perennial-crops/>
- 4. Спотарь Г.Ю., Гориславец С.М.** Проявление признака бессемянности у группы сортов винограда в агроклиматических условиях ампелографической коллекции ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН» / Спотарь Г.Ю., Гориславец С.М. // [Магарач. Виноградарство и виноделие](#). — 2020. — Том 22 (№4). <http://magarach-institut.ru/magarach-nauka-i-praktika-2020-2/>
- 5. Володин В.А., Гориславец С.М., Рисованная В.И., Странишевская Е.П., Шадуря Н.И., Волков Я.А., Матвейкина Е.А.** Выявление комплекса вирусной инфекции (*GLRaV-1,-3* и *GFLV*) на виноградных насаждениях Крыма // Виноградарство и виноделие: Сб. науч. тр. «Магарач». – Т. XLIX. – Ялта, 2020. – С. 124-126. <http://magarach-institut.ru/magarach-nauka-i-praktika-2020-2/>

Публикации 2021

Журналы:

1. Gorislavets, S.M., Volodin, V.A., Volkov, Ya.A., Kolosova, A.A., Spotar, G.Yu., Stranishevskaya, E.P. and Risovannaya, V.I. Genetic diversity assessment of Crimean wild grape forms based on microsatellites polymorphism.// **Acta Hortic.** – 2021. – V. 1324. P. 305-314. DOI: 10.17660/ActaHortic.2021.1324.47 <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1324.47>
2. Volynkin, V., Vasylyk, I., Volodin, V., Grigoreva, E., Karzhaev, D., Lushchay, E., Ulianich P., Volkov V., Risovannaya V., Blinova S., Alekseev J., Gorislavets S., Likhovskoi V., Beatovic A. & Potokina, E. The Assessment of Agrobiological and Disease Resistance Traits of Grapevine Hybrid Populations (*Vitis vinifera* L.× *Muscadinia rotundifolia* Michx.) in the Climatic Conditions of Crimea // **Plants.** – 2021. – Т. 10. – №. 6. – С. 1215
3. Спотарь Г. Ю., Блинова, С. А., Шварцев, А. А., Алексеев, Я. И., Гориславец, С. М. Особенности идентификации сортов и клонов винограда западно-европейского происхождения // **Магарач. Виноградарство и виноделие.** – 2021. – Т. 23. – №. 2. – С. 125-133.
4. Volynkin, V., Gorislavets, S., Volodin, V., Vasylyk, I., Lushchay, E., Likhovskoi, V., & Potokina, E. Immunogenic breeding program. Stage I-phytopathological screening of the grape gene pool //E3S **Web of Conferences.** – EDP Sciences, 2021. – Т. 254. – С. 03003.
5. Рисованная В.И., Гориславец С.М., Лефорт Ф. Оценка уровня аллельного полиморфизма SSR маркеров и генетических дистанций некоторых сортов винограда юга России разных эколого-географических групп // **Магарач. Виноградарство и виноделие.** – 2021. – (в печати).
6. I. Vasylyk, S. Gorislavets, E. Matveikina, E. Lushchay, K. Lytkin, E. Grigoreva, D. Karzhaev, V. Volkov, V. Volodin, G. Spotar, V. Risovannaya, V. Likhovskoi, V. Volynkin, E. Potokina SNPs Associated with Foliar Phylloxera Tolerance in Hybrid Grape Populations Carrying Introgression from *Muscadinia* // **Horticulturae** (Special Issue)

Конференции 2021:

1) Volynkin, V., Gorislavets, S., Volodin, V., Vasylyk, I., Lushchay, E., Likhovskoi, V., & Potokina, E.

Immunogenic breeding program. Stage I-phytopathological screening of the grape gene pool // **E3S Web of Conferences.** – EDP Sciences, 2021. – Т. 254. – С. 03003.

2) Volynkin, V. A., Likhovskoi, V. V., Vasylyk, I. A., Lushchay, E. A., Gorislavets, S. M., Volodin, V. A., ... & Potokina, E. K.

Evaluation of stress resistance of grape remote hybrids, carrying *Vitis rotundifolia* Michx. introgressions // **Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology.** – 2021. – С. 233-233.

3) Гориславец С.М., Спотарь Г.Ю., Корнильев Г.В. Использование ДНК-маркеров, ассоциированных с полом у винограда // **Материалы II Международной научно-практической конференции «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений» (GENBIO2021)** (г. Ялта, Россия, 13-15 октября 2021 года). – 2021. – С. 40.

4) Спотарь Г.Ю., Гориславец С.М. Валидация основных молекулярных маркеров MAS для идентификации бессемянности на широкой выборке сортов ампелографической коллекции ВНИИ ВиВ «Магарач» // **Материалы II Международной научно-практической конференции «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений» (GENBIO2021)** (г. Ялта, Россия, 13-15 октября 2021 года). – 2021. – С. 70.

5) Волынкин В.А. Васылык И.А., Гориславец С.М., Рисованная В.И., Володин В.А., Лушчай Е.А., Матвейкина Е.А., Лиховской В.В., Потокина Е.К. Генофонд винограда для селекции на комплексный иммунитет к патогенам // **Материалы II Международной научно-практической конференции «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений» (GENBIO2021)** (г. Ялта, Россия, 13-15 октября 2021 года). – 2021. – С. 177.

СТО 01580301.031-2021 «Виноград, плодовые, орехоплодные, ягодные, декоративные культуры, вода и почва. Определение бактериальных фитопатогенов на основе полимеразной цепной реакции».

РИД «База молекулярно-генетических паспортов аборигенных сортов винограда Крыма».

Грант РФФИ 20-16-00087 «Изучение генетической адаптации одичавших образцов аборигенных сортов винограда Крыма, произрастающих в местах древних поселений и дикого винограда к стрессовым факторам среды в контексте генетической эрозии и для пополнения биоресурсной коллекции винограда».

Хоздоговорные тематики по исследованию растений и посадочного материала на наличие болезней вирусной, бактериальной и фитоплазменной этиологии и генотипирование сортов винограда: 2019г. - 435,5 тыс.руб; 2020г. - 237,5 тыс.руб; 2021г. - 165 тыс.руб. Всего **838 тыс.руб.**

НИР, зарегистрированная в ЦИТИС: Селекционно-семеноводческий центр (ССЦ):

- **международное научно-техническое сотрудничество**
- Договор о научном сотрудничестве с Юньнаньским Аграрным Университетом.
научное сотрудничество : ООО «Синтол»

ФГУ ФИЦ « Фундаментальные основы биотехнологии» РАН

За счет х/д тематики

закуплены приборы:

- амплификатор – 245 тыс. руб;
- иономер – 23 тыс. руб.

Выполнен ремонт лаборатории после наводнения на сумму 33 тыс. руб

За счет Гранта

закуплено оборудование:

- твердотельный термостат,
- мини-центрифуга,
- УФ-рециркулятор,
- дозаторы.

Магарац

Спасибо за внимание!

Масарачо