

УДК 634.8

UDC 634.8

**ИССЛЕДОВАНИЕ ГАПЛОТИПНОГО
РАЗНООБРАЗИЯ АБОРИГЕННЫХ СОРТОВ
РОССИИ****THE RESEARCH OF HAPLOTYPE DEVERISITY
OF RUSSIA ABORIGINAL GRAPE VARIETIES**

Звягин Андрей Сергеевич
к. б. н., докторант

Zvyagin Andrey Sergeevich
Cand.Biol.Sci., doctoral candidate

Трошин Леонид Петрович
д. б. н., профессор
Кубанский государственный аграрный
университет, Краснодар, Россия

Troshin Leonid Petrovich
Dr. Sci. Biol., professor
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

Проведено исследование 55 аборигенных сортов, собранных на Северном Кавказе. В ходе исследования описано аллельное разнообразие и выявлены 4 гаплотипа. Все популяции оказались близкородственными в ходе исследования с использованием коэффициента генетической дистанции Нея (Dn), за исключением аборигенных сортов из Армении. Максимальные отличия были обнаружены между узбекской популяцией и астраханскими, туркменскими, армянскими популяциями. Самыми генетически разнообразными оказались популяция Дона и Краснодарского края

In the article we have studied 55 aboriginal varieties, collected in the North Caucasus. We have described allelic diversity and identified four haplotypes. All the populations were closely related while being examined using a factor of Nei's genetic distance (Dn), with the exception of indigenous varieties of Armenia. Maximum differences have been found between the Uzbek population and Astrakhan, Turkmenian, Armenian populations. The most genetically rich were the population of Don area and Krasnodar region

Ключевые слова: ВИНОГРАД, АБОРИГЕННЫЙ ВИНОГРАД, ХЛОРОПЛАСТНЫЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЕ ПРАЙМЕРЫ, ГАПЛОТИП, АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ, МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Keywords: VINE, NATIVE GRAPES, CHLOROPLAST MICROSATELLITE PRIMERS, HAPLOTYPE ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY, MOLECULAR BIOLOGY

Введение

Генофонд винограда – совокупность генов растений семейства *Vitaceae* (Lindl.) Juss., состоящего из 14 родов, один из которых под названием *Vitis* (Tournef.) L. представляет наибольшую хозяйственную ценность [3, 6].

Значительная часть аборигенных сортов недостаточно сохранена и всесторонне изучена. Сохранение местных сортов винограда представляет большую ценность для всего человечества, потеря даже одного сорта винограда делает нашу планету беднее. Поэтому сбор, концентрация, сохранение генофонда в живом виде, всестороннее изучение исходных форм, выделение перспективных и использование их для селекции

является одним из известных заветов академика Н.И. Вавилова. Исходя из задач селекции, основой для индивидуального отбора растений является гетерогенная природа сортов винограда. Сорта винограда в результате воздействия внешних условий претерпевают существенные изменения, которые выражаются в одних случаях в изменении генотипа (мутации), а в других случаях - в проявлении ненаследуемых изменений - флюктуаций и длительных модификаций [2].

Из них мутации, как правило, наследуются и стойко сохраняются вегетативным потомством, длительные модификации могут надолго сохраниться в течение нескольких поколений и впоследствии неизменно возвращаются к первоначальному состоянию, флюктуации же, как правило, вегетативным потомством не наследуются.

Древние аборигенные сорта, происходящие из районов первичного формообразования культурного винограда, берущие начало в незапамятные времена и известные на заре земледелия (например, закавказские и традиционные западноевропейские сорта), естественно, являются в своем составе генетически более неоднородными, и улучшение их методами клоновой селекции может иметь положительный эффект, хотя между такими сортами имеется существенная разница в выравненности материала.

Более молодые сорта или культивируемые в данной области сравнительно недавно и размножаемые из ограниченного количества исходного материала генотипически более выровнены и не представляют подходящего материала для улучшения их путем клоновой селекции.

Генетическая изменчивость сортов винограда, обусловленная возникновением мутаций или неоднородности исходного материала, может выражаться фенотипически — в изменении морфологических признаков, характере роста и формирования органов, физиологических свойствах, изменяющих жизнеспособность организмов (урожайность,

скороспелость и т.д.), или фенотипически не выражается, в случаях изменения биохимических свойств, регулирующих синтез химических веществ (качество продукции винограда, степень устойчивости против заболеваний, вредителей, болезней и т.д.). Поэтому отбор растений можно вести по всем вышеперечисленным свойствам и признакам, особенно выделяя из них хозяйственно ценные. Однако, как известно, морфологические, физиологические и биохимические признаки находятся в корреляционной связи с генотипом и меняются вместе с его изменением. Вместе с тем, эти изменения могут быть вызваны влиянием внешних условий, поэтому установить причину изменчивости не всегда удастся с достаточной точностью. Для этого необходимо использовать новые методы исследования и определить природу происхождения данных сортов [5].

Аборигенные сорта остаются далеко не раскрытым пластом знаний о потенциальных возможностях промышленного производства и использования в комбинативной и клоновой селекций виноградо-винодельческой отрасли всего мира.

Обладая комплексом признаков и свойств, которые были накоплены в течение длительного времени, аборигенные сорта представляют собой ценный геноисточник и зачастую поэтому являются донорами [4].

О местном происхождении преобладающего большинства аборигенных сортов винограда свидетельствует формирование в разных микрорайонах виноградарства групп сортов, близких по основным морфологическим признакам.

Таким образом, сохранение аборигенных сортов винограда Северного Кавказа оказалось под серьезной угрозой при закладке промышленных насаждений, которые насыщаются современными сортами.

Поэтому фиксация и охрана этого богатого генофонда и систематическая репродукция сортов является большой как национальной, так и общечеловеческой задачей.

Для осуществления этой неотложной задачи необходим сбор аборигенных сортов винограда и закладка современных или обновленных старых коллекционных насаждений.

Исходя из этого, собранный аборигенный состав был разбит, согласно описанию сортов, на следующие популяции:

- популяция-1 (П1) представлена дагестанскими аборигенными сортами;
- популяция-2 (П2) – донскими аборигенными сортами;
- популяция-3 (П3) – аборигенными сортами Краснодарского края;
- популяция-4 (П4) – астраханские аборигенные сорта;
- популяция-5 (П5) – туркменские аборигенные сорта;
- популяция-6 (П6) – грузинские аборигенные сорта;
- популяция-7 (П7) – аборигенные сорта Таджикистана;
- популяция-8 (П8) – аборигенные сорта Армении;
- популяция-9 (П9) – аборигенные сорта Узбекистана.

Материалы и методы

Исследовались 55 аборигенных сортов Северного Кавказа.

ДНК из собранных образцов выделяли СТАВ-методом, модифицированным для виноградной культуры – методика была модифицирована за счет использования NaCl для удаления полисахаридов и PVP (Polyvinylpyrrolidone) - для удаления полифенолов [1]. Концентрацию экстрагированной ДНК определяли в агарозном геле

(0,8%), затем делали разбавление до концентрации $10 \text{ нг. } \mu\text{L}^{-1}$ для каждого образца в лаборатории Департамента по изучению сельскохозяйственных культур и окружающей среды, г. Удина/Италия.

Для анализа генетического разнообразия были использованы 9 нейтральных хлоропластных микросателлитных маркеров: cpSSR3, cpSSR5, cpSSR10, ccSSR5, ccSSR9, ccSSR14, ccSSR23, NTCP8, NTCP12 [11]. Один из праймеров имел флуоресцентную метку с Dye Phosphoramidites (6-FAM, HEX).

В ходе исследования для всех праймеров были использованы одинаковые условия ПЦР, позволяющие получить максимальное количество продуктов реакции.

Использовалась следующая программа для ПЦР: 2 мин – 95°C – начальная денатурация, затем последующие 27 циклов:

- денатурация 45 сек - 94°C ;
- 20 сек отжиг праймеров при 55°C ;
- 40 сек синтез при 72°C ;
- последний синтез при 65°C в течение 30 мин.

В работе использовали следующие температуры отжига праймеров:

52°C для маркеров cpSSR5, NTCP 8, NTCP 12;

55°C для маркеров ccSSR9, cpSSR10, ccSSR23, cpSSR3, ccSSR5 и ccSSR14.

ПЦР-смесь включала 10 нг ДНК, 0,2 мМ дезоксинуклеозидтрифосфатов (dNTPs), 0,23 мкМ каждого праймера, 0,1 единицы Gold Taq-полимеразы (в общем объеме 10 мкл).

Аmplификация была проведена в амплификаторе 2720 Thermal Cycler фирмы Applied Biosystems.

Определение фрагментов и анализ данных был выполнен на секвенаторе MegaBASE (Amersham Biosciences, Великобритания), используя ETROX в качестве молекулярного маркера веса (стандарта). Для

определения размеров фрагментов использовалось стандартное программное обеспечение, которое поставляется вместе с секвенатором MegaBASE (Amersham Biosciences, Великобритания).

Для оценки генетического разнообразия использовали следующие показатели: коэффициент генетической дистанции Нея [9] и средняя генетическая дистанция между образцами (D^2_{sh}) [7, 8, 10].

Результаты исследований

Для начала определяли аллельный состав исследуемых популяций по 8 микросателлитным хлоропластным праймерам (табл. 1).

Таблица 1. - Частота встречаемости аллелей у исследуемых северокавказских аборигенных популяций.

Маркер	Аллель	Популяции								
		П1	П2	П3	П4	П5	П6	П7	П8	П9
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
cpSSR3	106	0,46	0,69	0,50	1,00	1,00	1,00	0,50	0,00	1,00
	107	0,54	0,31	0,50	0,00	0,00	0,00	0,50	1,00	0,00
cpSSR5	104	0,54	0,31	0,50	0,00	0,00	0,00	0,50	1,00	0,00
	105	0,46	0,69	0,50	1,00	1,00	1,00	0,50	0,00	1,00
cpSSR10	114	0,00	0,06	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	115	0,75	0,44	0,50	0,00	0,00	0,67	0,50	1,00	0,00
	116	0,25	0,50	0,00	1,00	1,00	0,33	0,50	0,00	1,00
ccSSR5	254	0,54	0,31	0,50	0,00	0,00	0,00	0,50	1,00	0,00
	255	0,46	0,69	0,50	1,00	1,00	1,00	0,50	0,00	1,00
ccSSR9	165	1,00	0,94	0,50	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	166	0,00	0,06	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ccSSR14	201	0,00	0,06	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	202	0,75	0,44	0,50	0,00	0,00	0,67	0,50	1,00	0,00
	203	0,25	0,50	0,00	1,00	1,00	0,33	0,50	0,00	1,00
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ccSSR23	280	0,00	0,06	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	281	0,75	0,44	0,50	0,00	0,00	0,67	0,50	1,00	0,00
	282	0,25	0,50	0,00	1,00	1,00	0,33	0,50	0,00	1,00
NTCP-8	248	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
NTCP 12	118	0,54	0,31	0,50	0,00	0,00	0,00	0,50	1,00	0,00
	119	0,46	0,69	0,50	1,00	1,00	1,00	0,50	0,00	1,00

В дальнейшем на основании данных о частоте встречаемости аллелей были построены графики их распределения в исследуемых аборигенных популяциях (рис. 1-10).

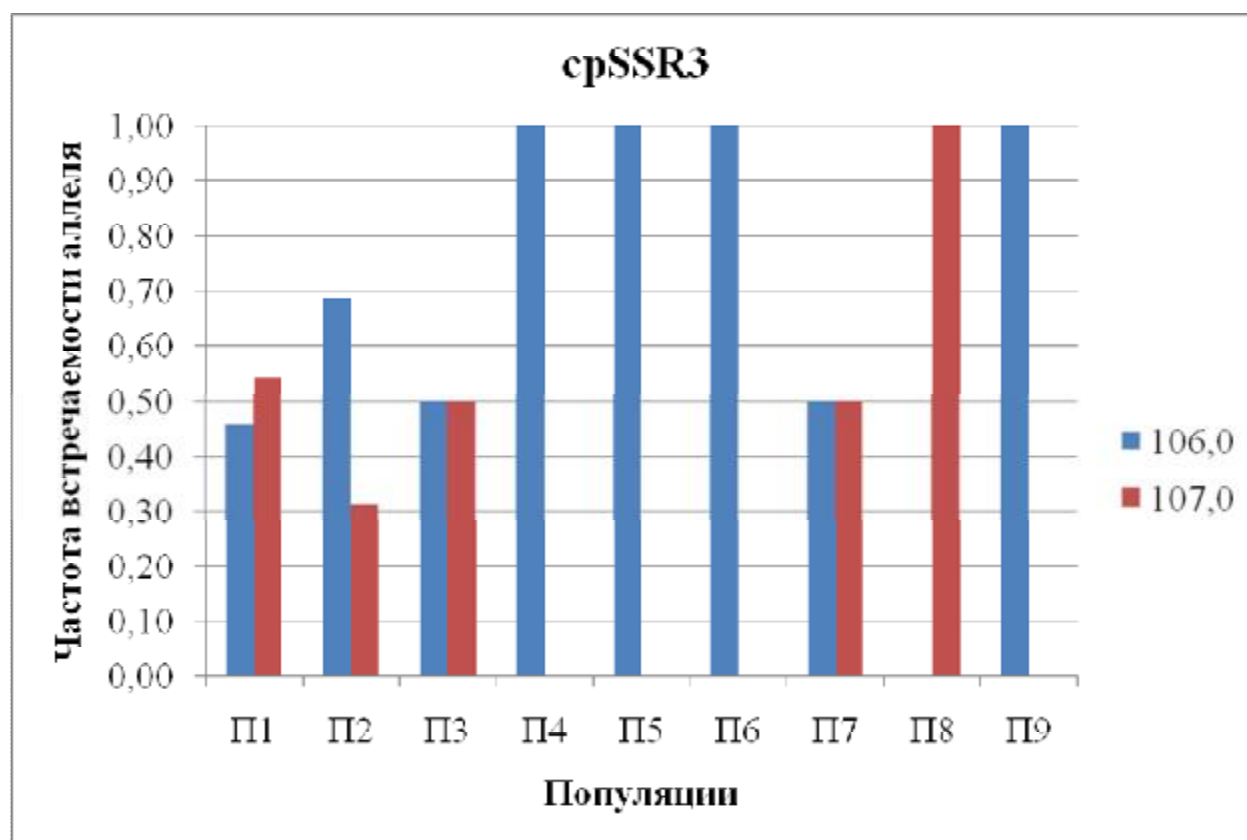


Рисунок 1. Частота встречаемости аллелей праймера cpSSR3 у аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

Исследование праймера cpSSR3 показало присутствие двух аллелей в исследуемых популяциях: cpSSR3¹⁰⁶ и cpSSR3¹⁰⁷.

Наиболее встречаемым является аллель cpSSR3¹⁰⁶ - присутствует в 8 популяциях из 9 (за исключением армянской популяции). Частота встречаемости аллеля cpSSR3¹⁰⁶ составляет 100% в популяциях П4, П5, П6 и П9: по этому праймеру они являются унимодальными, что свидетельствует о едином привнесении данного аллеля в эти аборигенные сорта из одного источника, либо что одна из популяций является родительской по данному аллелю.

Аллель cpSSR3¹⁰⁷ встречается в 5 популяциях: дагестанской (>50%), донской (31%), Краснодарского края (50%), таджикской (50%) и в армянской популяции – (100%).

Два аллеля одновременно были выявлены у аборигенных популяций Дагестана, Дона, Краснодарского края и Таджикистана.

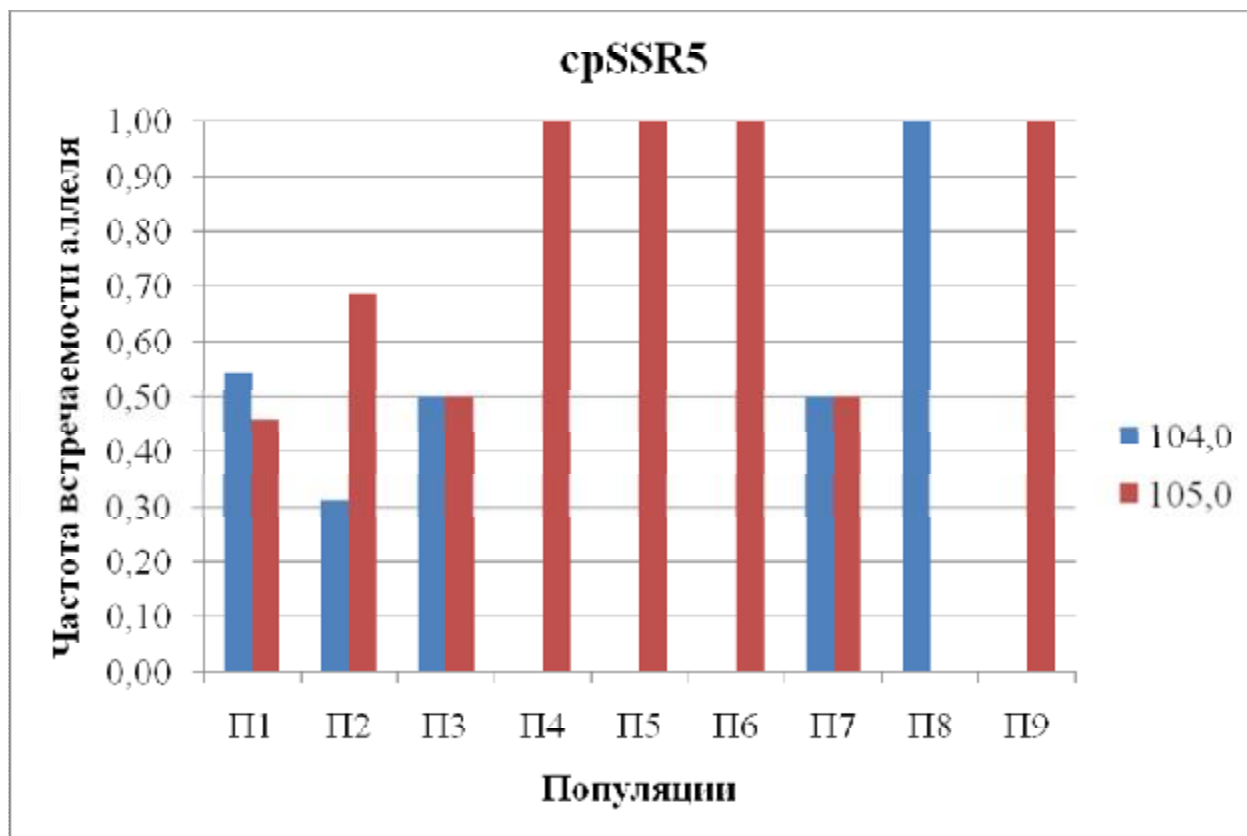


Рисунок 2. Частота встречаемости аллелей праймера cpSSR5 у аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

Исследование частоты встречаемости праймера cpSSR5 выявило присутствие двух аллелей cpSSR5¹⁰⁴ и cpSSR5¹⁰⁵.

Аллель cpSSR5¹⁰⁵ является наиболее распространенным у исследуемых популяций и встречается в 8 популяциях из 9. Полностью доминирует (частота встречаемости 100%) в следующих популяциях: астраханской (П4), туркменской (П5), грузинской (П6) и узбекской (П9).

Аллель cpSSR5¹⁰⁴ был найден в 5 популяциях: П1 - дагестанской (54%), П2 - донской (46%), П3 – Краснодарского края (50%), П7 – таджикской (50%), П8 – армянской (100%).

Оба аллеля присутствуют у аборигенных популяций Дагестана, Дона, Краснодарского края и Таджикистана.

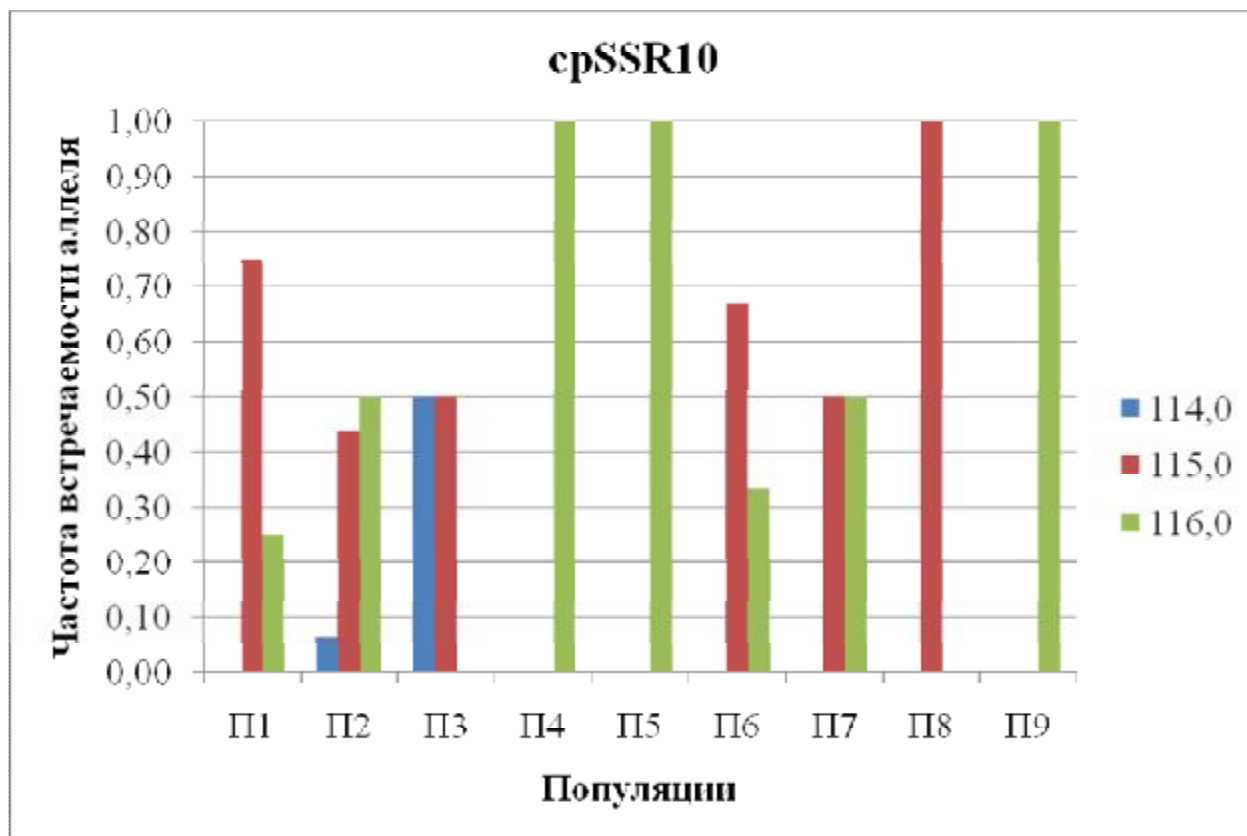


Рисунок 3. Частота встречаемости аллелей праймера cpSSR10 у аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

Исследование частоты встречаемости праймера cpSSR5 выявило присутствие трех аллелей: cpSSR10¹¹⁴, cpSSR10¹¹⁵ и cpSSR10¹¹⁶.

Наиболее редким является аллель cpSSR10¹¹⁴ - присутствует только в двух популяциях: донская (П2) – 6% и Краснодарского края (П3) – 50%. Данный аллель являются редким, что возможно связано либо с мутационными изменениями, либо с изменением генетического разнообразия на определенном этапе развития в аборигенных популяциях Северного Кавказа путем недавнего их привнесения из других генетических пулов.

Аллель cpSSR10¹¹⁵ был выявлен в 6 популяциях: дагестанской (П1) – с частотой 75%, донской (П2) – 44%, у аборигенных сортов Краснодарского края (П3) – 50%, грузинской (П6) – 67%, таджикской (П7) – 50% и армянской (П8) – 100%.

Самым встречаемым аллелем является $cpSSR10^{116}$ – в 7 популяциях: дагестанской (П1) – с частотой 25%, донской (П2) – 50%, астраханской (П4) – 100%, туркменской (П5) – 100%, грузинской (П6) – 33%, таджикской (П7) – 50% и узбекской (П9) – 100%.

Наиболее генетически разнообразными являются дагестанская, донская (встречаются все три аллеля), грузинская и таджикская популяции.

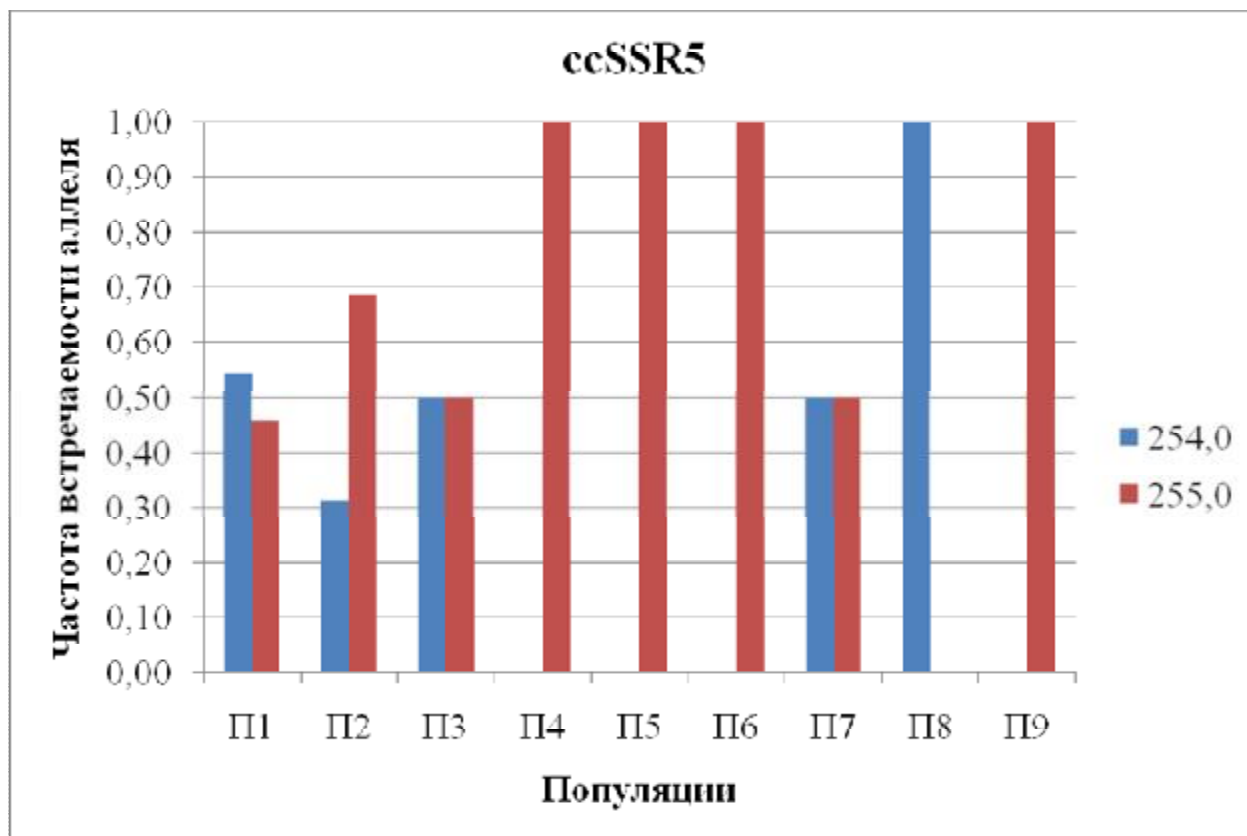


Рисунок 4. Частота встречаемости аллелей праймера $ccSSR5$ у аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

В ходе исследования праймера $cpSSR5$ было выявлено два аллеля: $cpSSR5^{254}$ и $cpSSR5^{255}$.

Редким аллелем является $cpSSR5^{254}$, присутствует в 5 популяциях: дагестанской (П1) – 54%, донской (П2) – 31%, аборигенов Краснодарского края (П3) – 50%, таджикской (П7) – 50% и армянской (П8) – 100%.

Аллель $cpSSR5^{255}$ присутствует во всех исследуемых популяциях, за исключением армянской (П8). С 100 % частотой встречается в

астраханской (П4), туркменской (П5), грузинской (П6) и узбекской (П9) популяциях.

Оба аллеля выявлены в дагестанской (П1), донской (П2), аборигенов Краснодарского края (П3) и таджикской (П7).

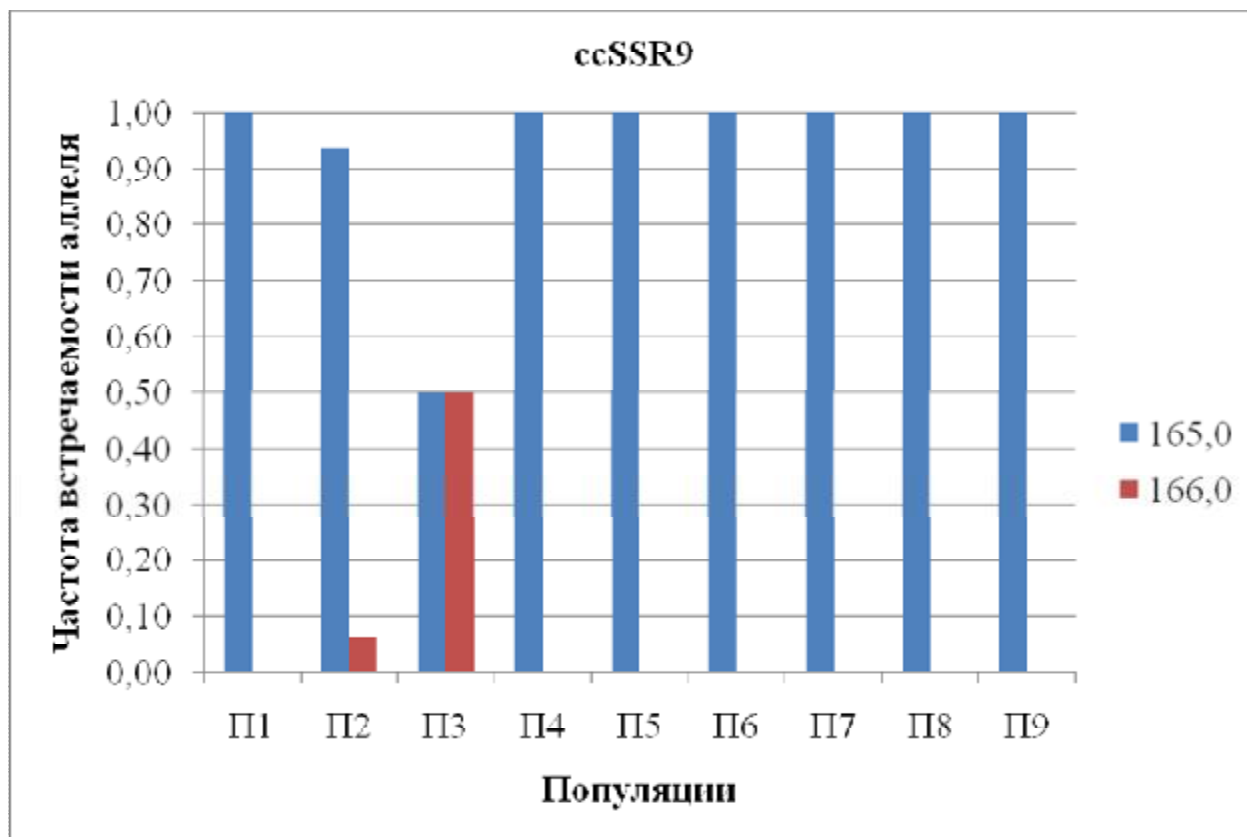


Рисунок 5. Частота встречаемости аллелей праймера ccSSR9 у аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

Праймер ccSSR9 у исследуемых популяций показал два аллеля: ccSSR9¹⁶⁵ и ccSSR9¹⁶⁶.

Аллель ccSSR9¹⁶⁵ во всех популяциях присутствует с частотой в 100%, за исключением донской и у аборигенных сортов Краснодарского края.

Редким является аллель ccSSR9¹⁶⁶, который присутствует в 2 популяциях: донской (П2) – 6% и у аборигенов Краснодарского края (П3) – 50%.

Оба аллеля присутствуют у аборигенных сортов Дона (П2) и Краснодарского края.

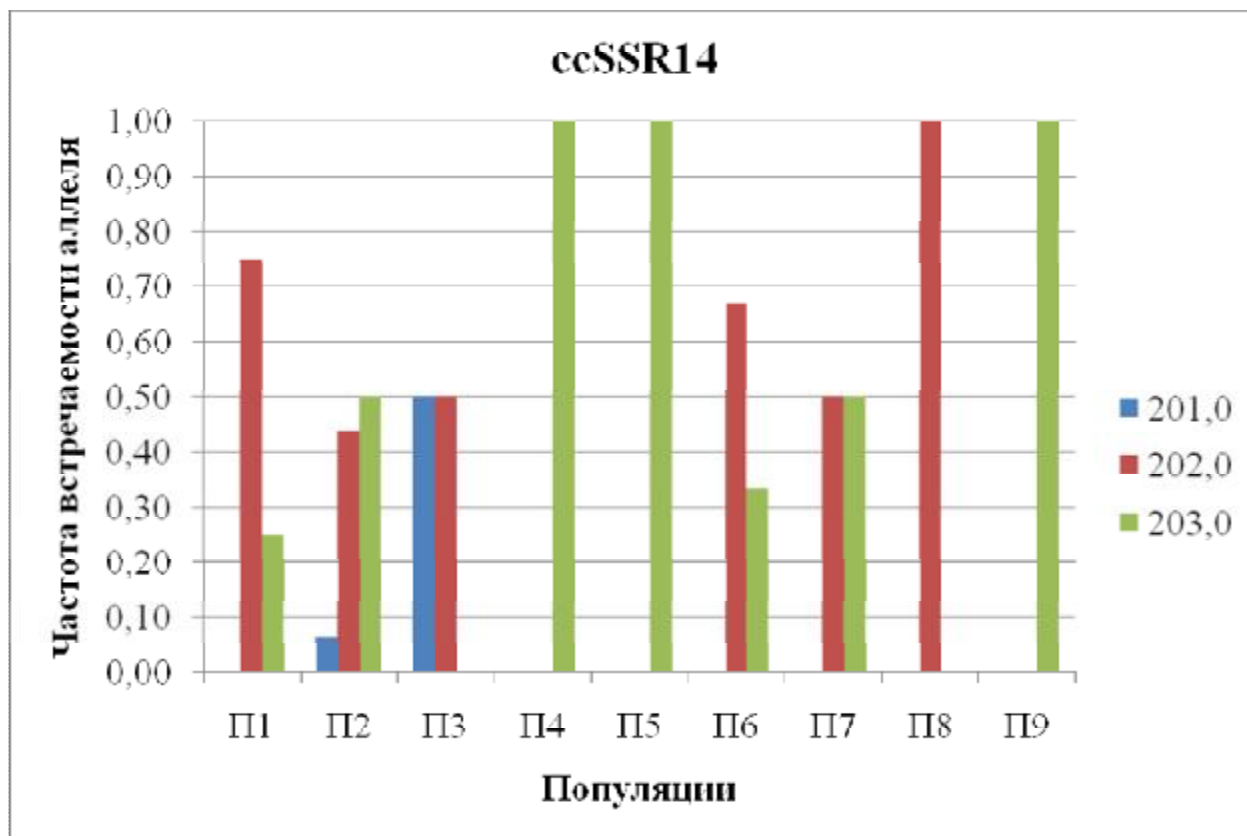


Рисунок 6. Частота встречаемости аллелей праймера ccSSR14 у аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

Праймер ccSSR14 во всех популяциях показал три аллеля: ccSSR14201, ccSSR14202 и ccSSR14203.

Редким является аллель ccSSR14201 - присутствует в двух популяциях: донской (П2) – 6% и Краснодарского края (П3) – 50%.

Наиболее распространенным является аллель ccSSR14203 - присутствует в 7 популяциях: дагестанской (П1) – 25%, донской (П2) – 50%, астраханской (П4) – 100%, туркменской (П5) – 100%, грузинской (П6) – 33%, таджикской (П7) – 50%, узбекской (П9) – 100%.

Аллель ccSSR14202 присутствует в 6 популяциях: дагестанской (П1) – 75%, донской (П2) – 44%, у аборигенов Краснодарского края (П3) – 50%, грузинской (П6) – 67%, таджикской (П7) – 50% и армянской (П8) – 100%.

Самой богатой является донская (П2) – присутствуют все три аллеля, по два аллеля встречаются у дагестанской (П1), Краснодарского края (П3), грузинской (П6) и таджикской (П7).

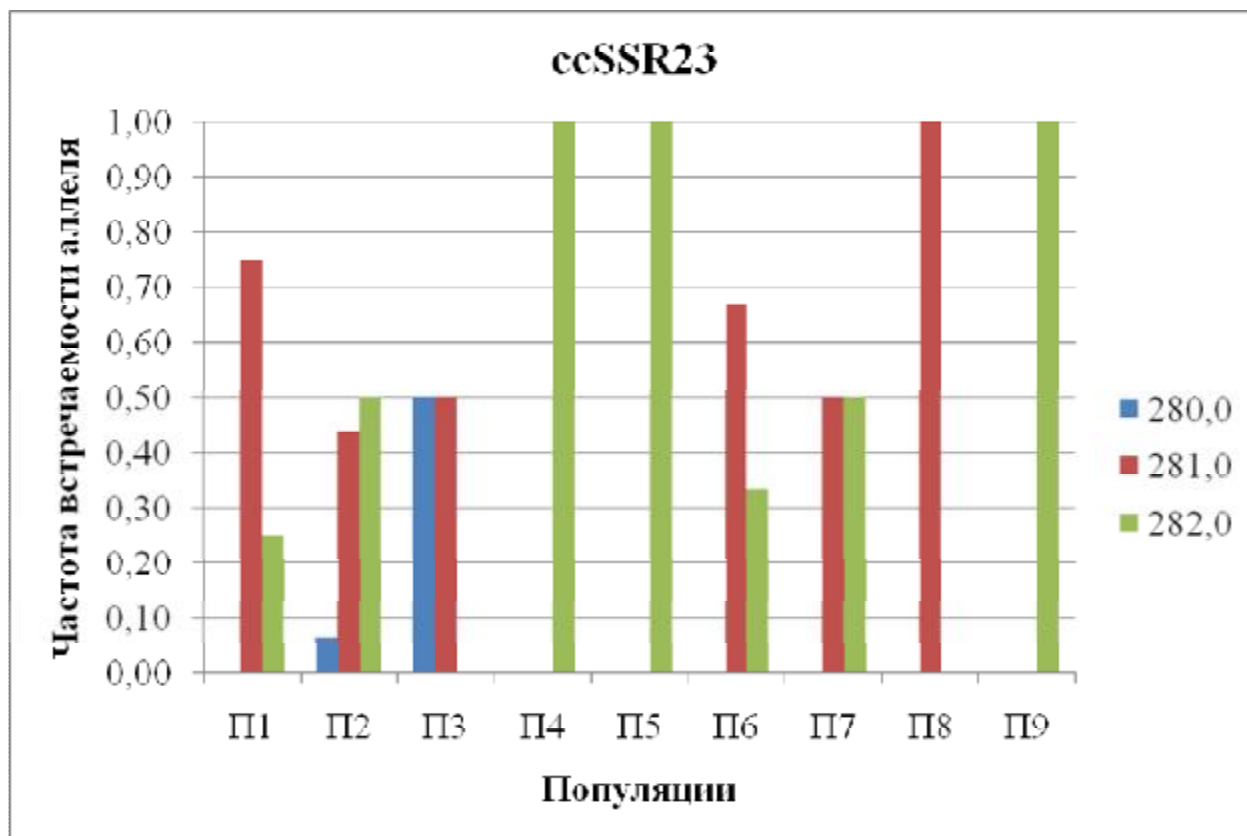


Рисунок 7 – частота встречаемости аллелей праймера ccSSR23 у аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

Праймер ccSSR23 в популяциях выявил три аллеля: ccSSR23²⁸⁰, ccSSR23²⁸¹ и ccSSR23²⁸².

Редким является аллель ccSSR23²⁸⁰ - был обнаружен у двух популяций: донской (П2) – 6% и Краснодарского края (П3) – 50%.

Аллель ccSSR23²⁸¹ встречается в 6 популяциях: дагестанской (П1), донской (П2), Краснодарского края (П3), грузинской (П6), таджикской (П7) и армянской (П8).

Аллель ccSSR23²⁸² – в 7 популяциях, за исключением популяции из Армении и Краснодарского края, при этом с частотой в 100% встречается у астраханской, туркменской и узбекской популяциях.

Все три аллеля выявлены у донской популяции.

По два аллеля выявлены у аборигенных сортов Краснодарского края, грузинских и таджикских.

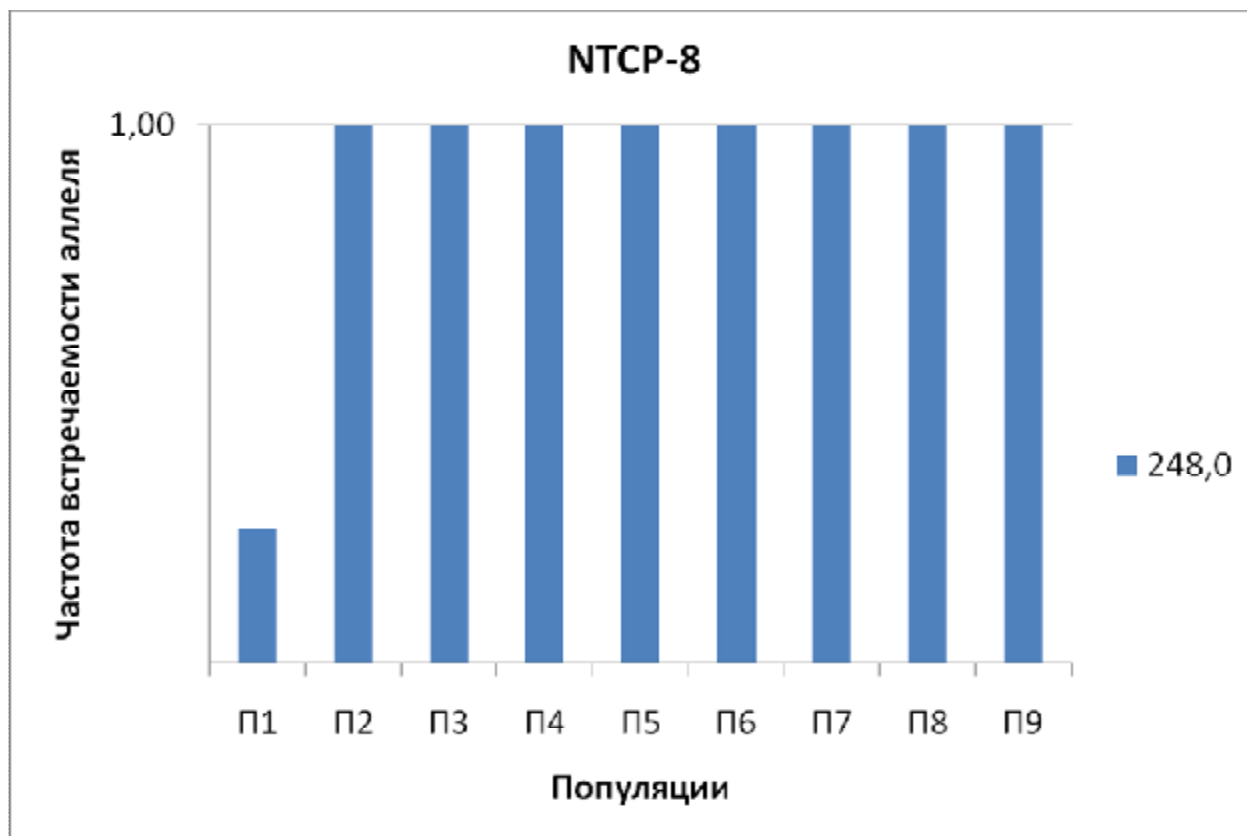


Рисунок 8. Частота встречаемости аллелей праймера NTCP8 у аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

Праймер NTCP8 выявил один аллель NTCP8²⁴⁸.

В ходе исследования аборигенных популяций Северного Кавказа праймер NTCP12 показал два аллеля: NTCP12¹¹⁸ и NTCP12¹¹⁹.

Аллель NTCP12¹¹⁹ присутствует в 8 популяциях, за исключением популяции из Армении. В четырех аборигенных популяциях: астраханской (П4), грузинской (П5), таджикской (П6) и узбекской (П9) данный аллель присутствует с частотой 100% (рис. 9).

Аллель NTCP12¹¹⁸ присутствует в дагестанской (П1) с частотой 54%, донской (П2) – 31%, Краснодарского края (П3) – 50%, таджикской (П7) – 50% и армянской (П8) – 100%.

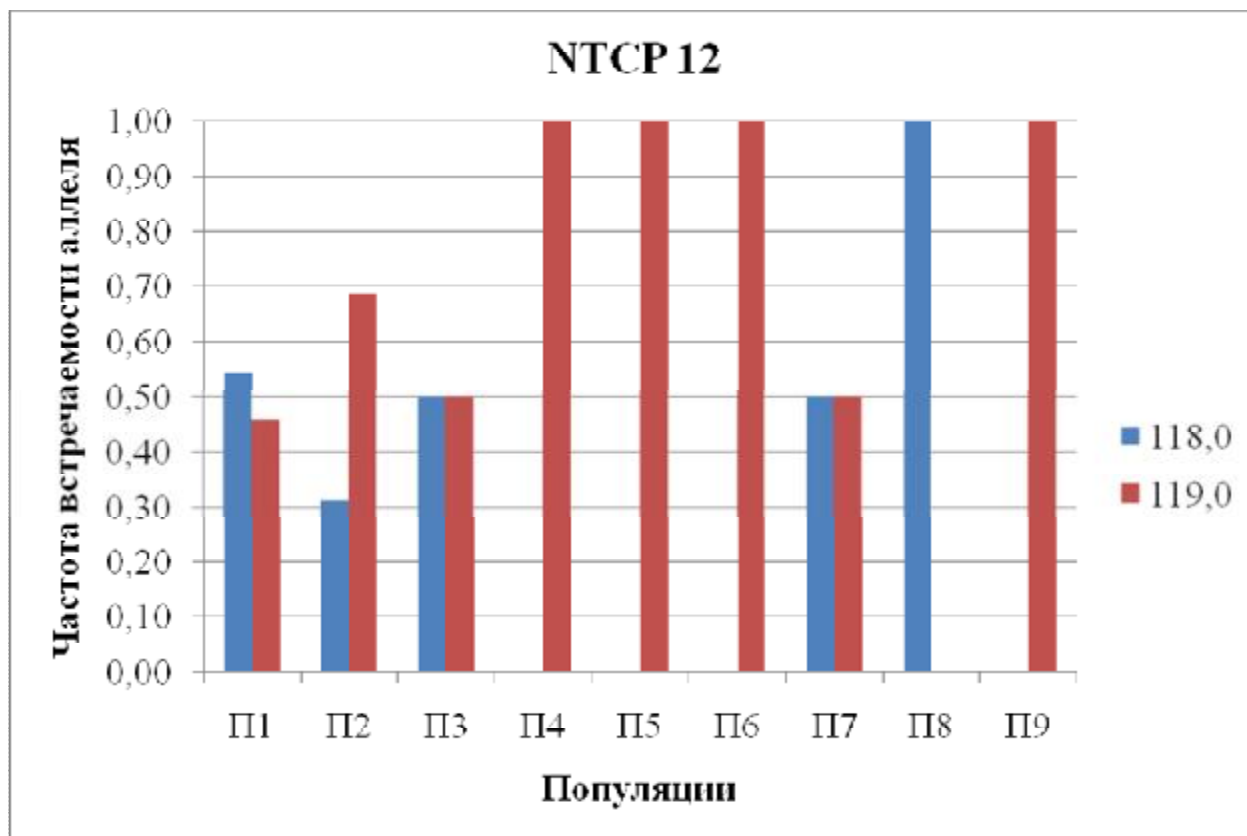


Рисунок 9. Частота встречаемости аллелей праймера NTCP12 у аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

Оба аллеля присутствуют в четырех популяциях: дагестанской (П1), донской (П2), Краснодарского края (П3) и таджикской (П7).

Согласно данным встречаемости аллелей 8 микросателлитных хлоропластных праймеров были составлены гаплотипы у исследуемых аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

Всего было выявлено 4 гаплотипа (табл. 2). Каждый гаплотип представлен уникальным аллельным разнообразием.

Согласно данным частоты встречаемости гаплотипов у популяций, можно выявить следующую тенденцию: гаплотип-3 (23 раза) и гаплотип-4 (21 раз) являются наиболее встречаемыми.

Гаплотип-3 встречается во всех популяциях, за исключением аборигенных сортов Краснодарского края (П3) и узбекской (П9) (рис. 10). Самым редким является гаплотип-1: встречается в донской и Краснодарского края (табл. 2).

Таблица 2. - Гаплотипный состав исследуемых аборигенных популяций Северного Кавказа.

Номер гаплотипа	Количество гаплотипов	Аллельный состав гаплотипа
Гаплотип-1	2	106 105 114 255 166 201 280 248 119
Гаплотип-2	9	106 105 115 255 165 202 281 248 119
Гаплотип-3	23	106 105 116 255 165 203 282 248 119
Гаплотип-4	21	107 104 115 254 165 202 281 248 118

В ходе исследования генного разнообразия аборигенов винограда Северного Кавказа самыми выдающимися оказались донская популяция (П2) и дагестанская (П1): в них присутствуют все гаплотипы. Также для них характерно присутствие редкого гаплотипа-1. Причины присутствия редкого гаплотипа может быть связано с происхождением данных популяций от дикого местного винограда, или же завоз из других регионов возделывания винограда.

При этом дагестанская популяция (П1) состоит из 3 гаплотипов: 2, 3, 4, чаще всего встречается гаплотип-4.

Таблица 3. - Частота встречаемости гаплотипов у аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

Гаплотип	Популяции								
	П1	П2	П3	П4	П5	П6	П7	П8	П9
Гаплоти-1	0,00	0,06	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Гаплоти-2	0,21	0,13	0,00	0,00	0,00	0,67	0,00	0,00	0,00
Гаплоти-3	0,25	0,50	0,00	1,00	1,00	0,33	0,50	1,00	0,00
Гаплоти-4	0,54	0,31	0,50	0,00	0,00	0,00	0,50	0,00	1,00

Донская популяция (П2) представлена 4 гаплотипами: чаще всего присутствует 3, за тем 4, 2 и редким 1 (6%).

Аборигенная популяция Краснодарского края (П3) представлена двумя гаплотипами: гаплотип-1 и гаплотип-4.

Астраханская популяция (П4) включает один гаплотип-3.

Туркменская популяция (П5) состоит из гаплотипа-3.

Грузинская популяция (П6) состоит из двух гаплотипов: 2 и 3.

Таджикская популяция (П7) состоит из двух гаплотипов: 3 и 4 в одинаковом соотношении.

Аборигенная популяция Армении (П8) представлена гаплотипом-3.

Узбекская популяция (П9) представлена гаплотипом-4 (рис. 10).

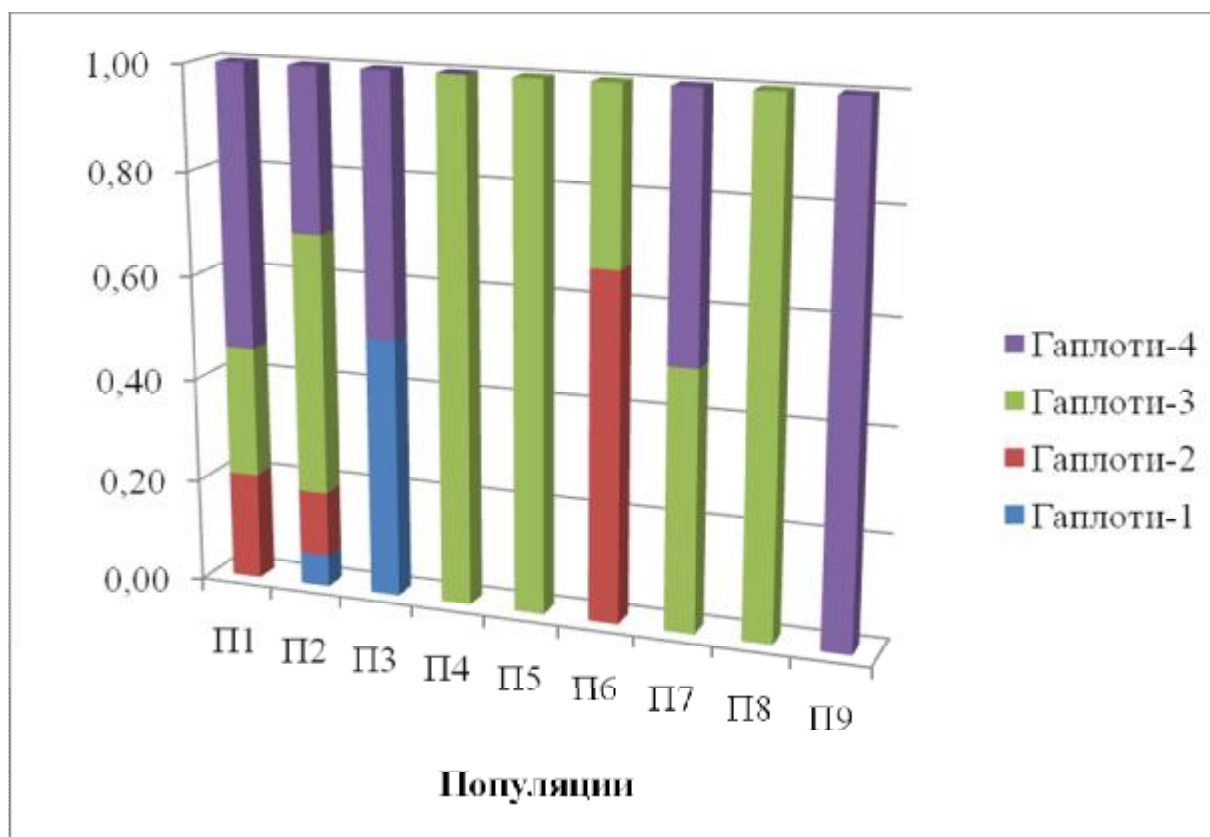


Рисунок 10. Частота встречаемости гаплотипов у аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

В ходе исследования генетического расстояния с использованием коэффициента генетической дистанции Нея (D_n) было выявлено, что все популяции являются близкородственными, за исключением аборигенных

сортов из Армении. Максимальные отличия (100%) были обнаружены между узбекской и астраханскими, туркменскими, армянскими популяциями (табл. 4).

Таблица 4. – Значение дистанции Нея для исследуемых аборигенных популяций винограда Северного Кавказа.

Популяции	П1	П2	П3	П4	П5	П6	П7	П8	П9
П1	0,00								
П2	0,06	0,00							
П3	0,18	0,25	0,00						
П4	0,45	0,18	0,75	0,00					
П5	0,45	0,18	0,75	0,00	0,00				
П6	0,26	0,21	0,53	0,44	0,44	0,00			
П7	0,05	0,03	0,25	0,25	0,25	0,36	0,00		
П8	0,45	0,18	0,75	0,00	0,00	0,44	0,25	0,00	
П9	0,16	0,37	0,25	1,00	1,00	0,78	0,25	1,00	0,00

Нами также был проведен внутренний и межпопуляционный анализы генетических ресурсов. Они показали, что дагестанская, донская, Краснодарского края, грузинская и таджикская популяции характеризуются высоким общим генетическим разнообразием среди всех исследуемых образцов ($H_s > 50\%$). Это также подтверждается средней генетической дистанцией среди исследуемых образцов: ее значение достаточно высокое ($D_{sh}^2 = 3,21$).

Общее генное разнообразие у исследуемых популяций составляет 62,4% ($H_t = 0,624$).

В целом низким генетическим разнообразием характеризуются астраханская, туркменская, армянская и узбекская популяции (рис. 11).

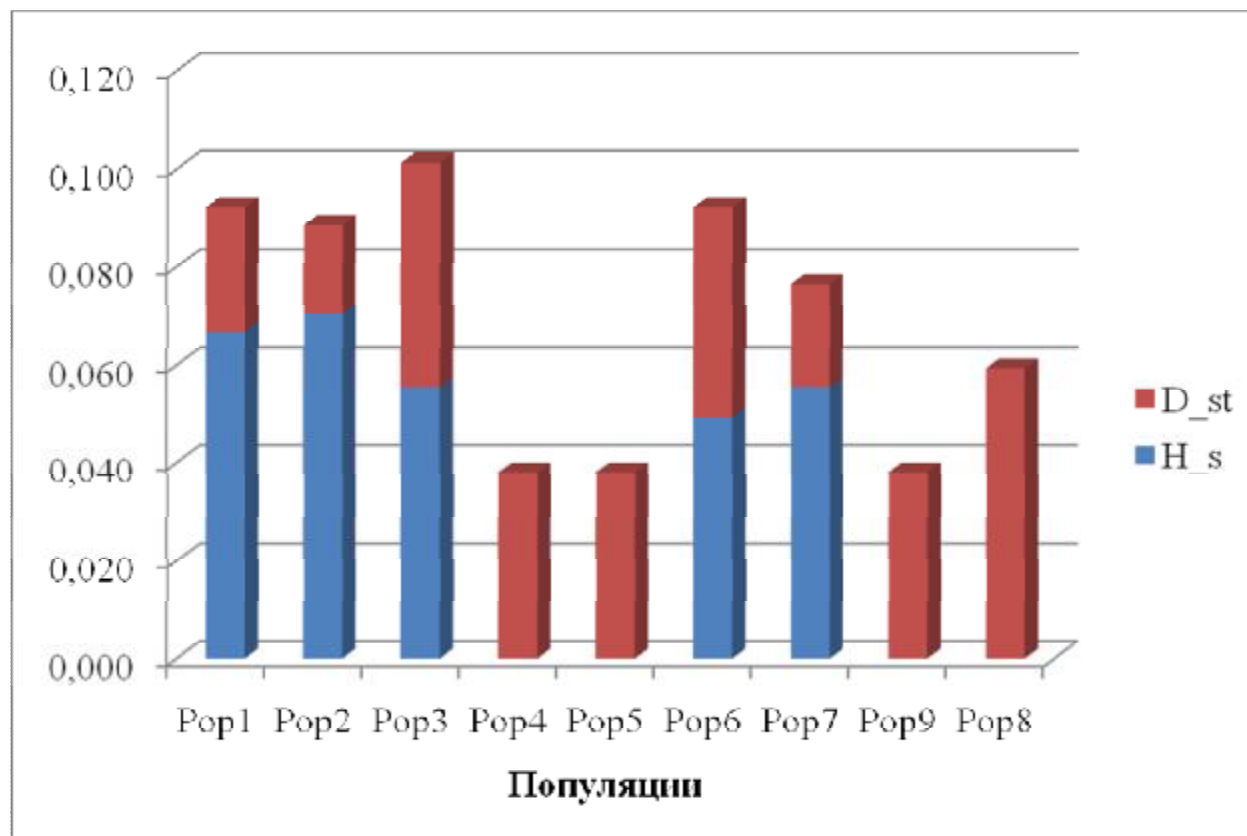


Рисунок 11. Исследование генетического разнообразия аборигенных популяций на Северном Кавказе.

Выводы

В ходе исследования аборигенных популяций на Северном Кавказе был выявлен 21 аллель. Практически все праймеры оказались полиморфными, за исключением NTCP-8. По каждому праймеру было выявлено от 2 до 3 аллелей, что является типичным для хлоропластных праймеров, так как отличия обычно выявляются в пределах 1 п.н.

На основании данных о частоте встречаемости аллелей были выявлены 4 гаплотипа.

Согласно данным частоты встречаемости гаплотипов у популяций можно выявить следующую тенденцию: гаплотип-3 (23 раза) и гаплотип-4 (21 раз) являются наиболее встречаемыми.

Гаплотип-3 встречается во всех популяциях, за исключением аборигенных сортов Краснодарского края и узбекской. Самым редким является гаплотип-1: встречается в донской и Краснодарского края.

При этом дагестанская популяция состоит из 3 гаплотипов: 2, 3, 4, чаще всего встречается гаплотип-4.

Донская популяция представлена 4 гаплотипами: чаще всего присутствует 3, затем 4, 2 и редким 1.

Аборигенная популяция Краснодарского края представлена двумя гаплотипами: гаплотип-1 и гаплотип-4.

Астраханская, армянская и туркменская популяции включают гаплотип-3.

Грузинская популяция состоит из двух гаплотипов: 2 и 3.

Таджикская популяция состоит из двух гаплотипов: 3 и 4 в равном соотношении.

Узбекская популяция представлена гаплотипом-4.

В ходе исследования общего генного разнообразия аборигенов винограда Северного Кавказа самой генетически разнообразной оказалась донская и дагестанская популяции, в них присутствуют большинство гаплотипов. Также для них характерно присутствие редкого гаплотипа-1. Причины присутствия редкого гаплотипа могут быть связаны, либо с происхождением данных популяций от дикого местного винограда, или же завоз из других регионов возделывания винограда.

Все популяции оказались близкородственными в ходе исследования с использованием коэффициента генетической дистанции Нея (D_n), за исключением аборигенных сортов из Армении. Максимальные отличия были обнаружены между узбекской популяцией и астраханской, туркменской, армянской популяциями.

Список литературы

1. Звягин А.С. Выделение ДНК из гербарных листьев *Vitis vinifera* // Научный журнал КубГАУ [Электронный ресурс]. - 2010. - № 58 (4). Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2010/04/pdf/22.pdf>.
2. Итоги изучения сортов и клонов винограда в разных зонах Краснодарского края / Л.П. Трошин, Д.Е. Хлевный, А.С. Звягин, П.П. Подваленко, Т.И. Гугучкина, А.И. Мисливский // Технологии производства элитного посадочного материала и виноградной продукции, отбора лучших протоклонов. – Краснодар: АлВи-Дизайн, 2005. – С. 96-107.
3. Краткий анализ мирового генофонда винограда и принципы формирования ампелографической коллекции России / В.А. Носульчак, Л.П. Трошин // Виноград и вино России. – 1998. - Специальный выпуск. – С. 11-14.
4. Трошин Л.П. Ампелография и селекция винограда. – Краснодар: РИЦ «Вольные мастера», 1999. – 138 с.: цв. вкладка.
5. Трошин Л.П., Рисованная В.И., Полулях А.И. Ампелографические признаки в изучении таксономических отношений сортов *Vitis vinifera sativa pontica* Negr. // Труды Научного центра виноградарства и виноделия. – 1999. – С. 10-12.
6. Энциклопедия виноградарства - Т. 1-3. – Кишинев: Изд-во МСЭ, 1986-1987.
7. Eliades N-G., Eliades D. G. HAPLOTYPE ANALYSIS: software for analysis of haplotypes data // Distributed by the authors. Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Georg-Augst University Goettingen, Germany. – 2009. – 1-20 p.
8. Goldstein D.B. An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci / D.B. Goldstein, A.R. Linares, L.L. Cavallisforza, M.W. Feldman // Genetics. – 1995. - № 139. - P. 463-471.
9. Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1973. - № 70. – P. 3321-3323.
10. Morgante M. Analysis of hypervariable chloroplast microsatellites in *Pinus halepensis* reveals a dramatic bottleneck / M. Morgante, N. Felice, G.G. Vendramin // Karp A eds Molecular tools for

screening biodiversity: plants and animals, Chapman and Hall. – 1998. – P. 402-412.

11. Weising K. A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphism in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms / K. Weising and R. Gardner // Genome. – 1999. - № 42. – P. 9–19.