

УДК 575.113.2

UDC 575.113.2

06.01.05 – Селекция и семеноводство  
(сельскохозяйственные науки)06.01.05 – Breeding and seed production (agricultural  
sciences)**ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО  
РАЗНООБРАЗИЯ ТРЕХ ПОПУЛЯЦИЙ  
ДИКОРАСТУЩЕГО ВИНОГРАДА  
КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ И РЕСПУБЛИКИ  
АДЫГЕЯ****ASSESSMENT OF THE GENETIC DIVERSITY  
OF THREE WILD GRAPEVINE POPULATIONS  
OF THE KRASNODAR REGION AND THE  
REPUBLIC OF ADYGEA**Милованов Александр Валериевич  
к.б.н., SPIN-код: 3476-2862, AuthorID: 694432  
e-mail: milovanov1991@mail.ruMilovanov Alexander Valerievich  
Cand.Biol.Sci., RSCI SPIN-code: 3476-2862  
AuthorID: 694432, e-mail: milovanov1991@mail.ruСавенкова Дарья Сергеевна  
студентка, e-mail: dasha\_19.99s@mail.ruSavenkova Darya Sergeevna  
student, e-mail: dasha\_19.99s@mail.ruЕлисютикова Анастасия Васильевна  
студентка  
e-mail: nas-elisyutikova@yandex.ruElisyutikova Anastasia Vasilievna  
student  
e-mail: nas-elisyutikova@yandex.ruЗвягин Андрей Сергеевич  
к.б.н., SPIN-код: 7433-9326,  
AuthorID: 801875Zviagin Andrei Sergeevich  
Cand. Biol. Sci., RSCI SPIN-code: 7433-9326,  
AuthorID: 801875Трошин Леонид Петрович  
д-р б.н., профессор кафедры виноградарства  
SPIN-код: 3386-2768, AuthorID: 509081  
e-mail: lptroshin@mail.ru  
*ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный  
университет имени И.Т. Трубилина», Краснодар,  
Россия*Troshin Leonid Petrovich  
Dr.Sci.Biol., Professor of Viticulture Department RSCI  
RSCI SPIN-code: 3386-2768, AuthorID: 509081. e-  
mail: lptroshin@mail.ru  
*Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia.*

В статье представлены результаты изучения дикорастущих форм винограда Краснодарского края и Республики Адыгея. Для изучения впервые были применены маркеры, принцип действия которых основывается на присутствии в геноме растений ретротранспозонов. Все собранные образцы были разделены по трем популяциям на основании их места произрастания (Абинск, Даманка и Майкоп). В результате исследования всего было получено 586 ДНК-полос, из которых почти все (96.92%) были полиморфными. При этом, наиболее высокий уровень разнообразия был обнаружен для первой популяции, произрастающей в Абинском районе Краснодарского края, возле хутора Нечаевский. Такие данные указывают на присутствие межвидовых гибридов или же примесей в популяции. Далее, при выполнении AMOVA также было установлено, что внутри исследованных групп имеется высокое генетическое разнообразие, что подтверждает предыдущее предположение. Проведение PCoA анализа и кластеризации генотипов позволило выявить схожие и отличающиеся группы внутри выборки. В целом, было выявлено, что все образцы разделены на 3 группы (в случае PCoA) или 2 группы (при кластеризации их методом Maximum

The article presents the results of studying wild forms of grapes in the Krasnodar region and the Republic of Adygea. For the first time, markers were used for the study, the principle of operation of which is based on the presence of retrotransposons in the plant genome. All collected samples were divided into three populations based on their habitat (Abinsk, Damanka and Maikop). As a result of the study, we obtained a total of 586 DNA bands, of which almost all (96.92%) were polymorphic. At the same time, the highest level of diversity was found for the first population growing in the Abinsky district of the Krasnodar region, near the Nechaevsky village. Such data indicate the presence of interspecific hybrids or admixtures in the population. Further, when performing AMOVA, it was also found that there is a high genetic diversity within the studied groups, which confirms the previous assumption. Conducting PCoA analysis and clustering of genotypes made it possible to identify similar and different groups within the sample. In general, it was found that all samples were divided into 3 groups (in the case of PCoA) or 2 groups (when clustered by the Maximum Likelihood). The distribution of genotypes into groups helped to establish the similarity between the samples and suggest that they belong to the same biological species. Based on the obtained data, two

Likelihood). Распределение генотипов по группам помогло установить схожесть между образцами и предположить их принадлежность к одному биологическому виду. На основании полученных данных были сформированы еще две группы генотипов в программе GenAlEx. Проведение дополнительного анализа AMOVA с этими группами как самостоятельными популяциями подтвердило предположение о том, что генотипы A5, A6, A9, A1, A2.6 и A2, скорее всего, являются представителями иного вида или же межвидовыми гибридами. Дальнейшее описание всей выборки программой STRUCTURE также подтвердило предположение о том, что некоторые изученные геномы имеют комплексное строение. При этом неожиданным было и то, что некоторые формы, идентифицированные как *V. sylvestris* (например, образец A\_Balesta и вся майкопская популяция), также имеют сложное строение генотипа по результатам анализа данных, полученных на основе применения iPBS маркеров. В целом, полученные результаты подтвердили предположения о наличии вида *V. sylvestris*, межвидовых гибридов, которые могли произойти от спонтанного скрещивания и, по-видимому, сортовой примеси

Ключевые слова: *V. SYLVESTRIS*, ВИНОГРАД, РЕТРОТРАНСПОЗОНЫ, IPBS, БИОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ДИКОРАСТУЩИЕ ФОРМЫ

more groups of genotypes were formed in the GenAlEx program. An additional AMOVA analysis with these groups as separate populations confirmed the assumption that the A5, A6, A9, A1, A2.6, and A2 genotypes are most likely representatives of a different species or interspecific hybrids. Further description of the entire sample by the STRUCTURE program also confirmed the assumption that some of the studied genomes have a complex structure. At the same time, it was also unexpected that some forms identified as *V. sylvestris* (for example, the A\_Balesta accession and the entire Maikop population) also have a complex genotype structure according to the results of analysis of data obtained using iPBS markers. In general, the results obtained confirmed the assumptions about the presence of the species *V. sylvestris*, interspecific hybrids that could have occurred from spontaneous crossing and, apparently, varietal admixture

Keywords: *V. SYLVESTRIS*, GRAPEVINE, RETROTRANSPOSONS, IPBS, BIODIVERSITY, WILD FORMS

<http://dx.doi.org/10.21515/1990-4665-181-025>

## Введение

Евразийский виноград (*Vitis vinifera* L.) является одной из наиболее широко культивируемой и экономически важной плодовой культурой в мире [13, 12]. Вид *Vitis vinifera* L. включает в себя два подвида: культивируемую форму *V. vinifera* ssp. *vinifera* и дикую форму *V. vinifera* ssp. *sylvestris*, которые рассматриваются так на основании их морфологических различий. Это утверждение основывается на том, что данные различия являются результатом процесса одомашнивания [11, 17]. Дикая форма, считающаяся предполагаемым предком культивируемой формы, представляет собой эндемичный таксон семейства *Vitaceae* в Европе [28, 14], одомашнивание, распространение и такой большой аграрный успех которой, очевидно, связано с возможностью потребления

<http://ej.kubagro.ru/2022/07/pdf/25.pdf>

его как в свежем виде, так и после переработки в вино [7, 4]. Несмотря на то, что дикие виноградные лозы были широко распространены в Южной Европе, Западной и Центральной Азии еще в период неолита, археологические и исторические данные свидетельствуют о том, что первые события одомашнивания произошли на Ближнем Востоке [30, 25].

В настоящее время популяции дикого винограда, встречающиеся в естественных местах их обитания, считаются смесью диких форм, культивируемых одичавших сортов и подвоев, а также гибридов, полученных в результате спонтанной гибридизации между этими видами и формами [27, 5]. Ранее был выявлен поток генов между культурным и диким виноградом [9]. По оценкам, между культурными виноградниками и близко расположенными популяциями дикого винограда происходит обмен до 3% миграции пыльцы [6]. Очевидно, что такое переопыление между растениями могут оказать значительное влияние на эволюцию дикорастущих популяций [29, 22]. В настоящее время дикий виноград находится под угрозой исчезновения на всем протяжении своего ареала [2], и необходимы усилия по сохранению для поддержания генетической целостности и выживания оставшихся популяций [10]. В этом контексте информация о количестве и распределении генетического разнообразия дикой виноградной лозы имеет решающее значение для разработки стратегий сохранения.

Молекулярно-генетический анализ дал представление о генетическом разнообразии *V. vinifera* по отношению к диким родственникам, генеалогии сортов и специфических аллелях, связанных с изученными признаками [18]. И большая часть информации о генетическом разнообразии получена из образцов, которые содержатся в различных хранилищах гермплазмы [26]. Генотипирование диких и культивируемых образцов из широкого круга виноградарских зон в двух крупных хранилищах виноградной лозы предоставило значительный

набор данных, способных прояснить отношения внутри и между двумя подвидами на глобальном уровне [1]. Результаты этих исследований показывают, что виноградная лоза распространилась с востока на запад после первого процесса одомашнивания. Также, полученные данные свидетельствуют об интрогрессии местных особей *V. sylvestris* с культивируемыми образцами и о влиянии на генетическую структуру, в связи с географическим происхождением и селекционной деятельностью человека.

Одним из важнейших регионов выращивания винограда является Краснодарский край. Было установлено, что здесь и в близлежащей Республике Адыгея имеются точки произрастания дикого лесного винограда *V. Sylvestris* [31, 32]. Ранее уже проводились исследования генетического разнообразия *V. sylvestris* Северного Кавказа и Крыма с использованием молекулярно-генетических маркеров [31]. В результате чего все образцы были не только разделены по четырем хлоротипам, но и выявлен уникальный, характерный для Азербайджанской популяции. В нашем исследовании была поставлена цель изучить генетическое разнообразие и взаимосвязь популяций Краснодарского края и Республики Адыгея с использованием ретротранспозонных маркеров.

### **Материалы и методы**

В качестве растительного материала были отобраны формы дикорастущего винограда, локализованные в Краснодарском крае: Абинский район (хутор Нечаевский) и село Даманское; и в Республике Адыгея (возле города Майкоп). Таким образом, данные генотипы были записаны как А1, А2, А2.4, А2.6, А1.1, А5, А6, А9 и А\_Balesta (Абинский район); Д1 и Д2 (Даманка) и М1, М2, М3, М4, М5, М7 и М7.2 (Майкоп).

Выделение ДНК производилось из листьев, отобранных в местах локализации дикого винограда, ЦТАБ-методом [24]. Концентрация ДНК

была измерена при помощи прибора IMPLEN NanoPhotometer NP80 (Implen GmbH), после чего доведена до 20 нг/мкл.

ПЦР проводили с параметрами указанными Kalendar et al. (2010) [15]. Для амплификации были выбраны следующие праймеры: ISSR (GA)<sup>9</sup>C; 2415 и 2074. Разделение продуктов амплификации проводили в 1% ТАЕ-агарозном геле при параметрах 150V и 150A, в течении 1 часа. После чего пластины были сфотографированы с использованием прибора GelDoc Go Gel Imaging System (Bio-Rad). Описание полученных картинок проводили с использованием программы GelPro Analyzer 3.1 (Media Cybernetics). После чего данные были переведены в бинарную таблицу, где 1 – присутствие ДНК-полосы, 0 – её отсутствие.

Анализ полученных результатов проводили с использованием встроенной программы-макроса GenAlEx 6.3 [23]. С её помощью была рассчитаны такие параметра как частота встречаемости аллелей в популяциях, генетическое расстояние между образцами, AMOVA [19] и PCoA [20]. Для построения кластерного древа была использована программа MEGA X [16]. Кластеризация была выполнена методом Maximum Likelihood [21], с 999 бутстрепами. Программа STRUCTURE [3] была использована для анализа выборки на предполагаемое число популяций. При помощи вэб-сервиса STRUCTURE HARVESTER [8] данные, полученные в результате анализа всей выборки программой STRUCTURE, были визуализированы. Для структурирования всей популяции были выбраны следующие параметры: 10000 MCMC Reps, 100000 Burnin Period, как модель использовали «admixture model» и пять повторностей для количества популяций от 1 до 10.

## **Результаты**

Впервые были исследованы дикорастущие лианы винограда вида *Vitis sylvestris* Gmel. Краснодарского края и Республики Адыгея с использованием ретротранспозонных и интросателлитных маркеров.

Общая статистика приведена в таблице 1. Всего было исследовано три популяции дикорастущего винограда: Абинская популяция; Даманская популяция и Майкопская популяция.

Таблица 1 – Общая статистика полученных результатов

№	Название	Популяция	NBPG	TNB	% PB	NPB	Индекс Шеннона	Разнообразие
1	A1	1	27					
2	A2.6	1	32					
3	A2	1	34					
4	A2.4	1	27					
5	A1.1	1	39					
6	A9	1	38					
7	A_Balesta	1	43					
8	A5	1	42					
9	A6	1	39					
10	A1.3	1	42	363	88.46%	321	0.475	0.317
11	D2	2	32					
12	D1	2	35	67	19.23%	11	0.133	0.096
13	M7.2	3	17					
14	M7	3	26					
15	M2	3	22					
16	M3	3	9					
17	M1	3	15					
18	M5	3	36					
19	M4	3	31	156	53.85%	84	0.287	0.190
	Всего			586	96.92%	567	0.464	0.300

\* – NBPG – количество ДНК-полос на генотип; TNB – количество ДНК-полос на популяцию; % PB – процент полиморфных ДНК-полос; NPB – количество полиморфных ДНК-полос.

Как мы можем видеть из приведенной выше таблице, всего было получено 586 ДНК-бендов для всех генотипов. При этом, наименьшее число полос было сгенерировано образцов M3 (9), в то время как A5 показал наибольшее (42).

Изначально вся выборка генотипов была представлена как единая популяция, в результате чего было выявлено, что 96.92% (или 567 штук) полученных ДНК-бендов являются полиморфными. Это также и отразилось на высоких показателях Индекса Шеннона (0.464) и показатели Разнообразия (0.300). Такие данные говорят нам о том, что

представленные популяции как единая группа являются высоко полиморфной. Вполне возможно, что среди изученных генотипов имеются межвидовые гибриды, так как расположение мест обитания данных лиан может свидетельствовать в пользу перекрестного опыления с местным культурным виноградом.

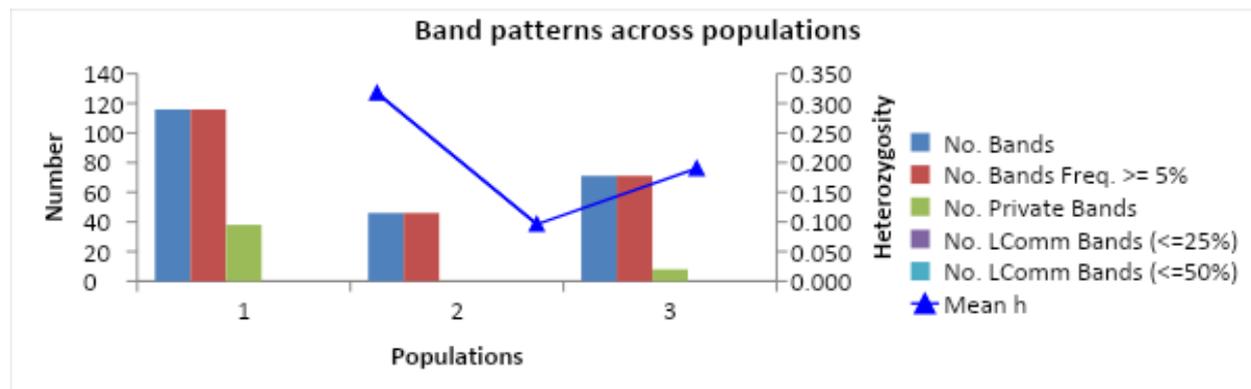


Рисунок 1 – Статистика ДНК-полос по популяциям

Что касается самих выборок, то здесь достаточно интересные данные, подтверждающие предыдущее предположение были получены при расчете тех же индексов для каждой популяции отдельно. В частности, стоит подчеркнуть, что Индекс Шеннона и показатель Разнообразия для первой популяции были выше, чем по всей выборке. У второй и третьей популяции эти же показатели были значительно ниже. Это говорит об обратном: между генотипами в популяциях 2 и 3 имеются более тесные родственные связи. В самом деле, расположение этих образцов (из второй и третьей популяции) является более изолированных, чем у первой популяции, которая расположена возле х. Нечаевский.

Таблица 2 – Результаты AMOVA анализа

Показатель	SS	MS	Est. Var.	%
Между популяциями	65.050	32.525	2.455	11%
Внутри популяций	305.371	19.086	19.086	89%
Всего	370.421		21.541	100%

\* – SS – сумма квадратов; MS – среднее значение квадратов; Est. Var. – оценочная вариация; % – процент полиморфности.

Как мы можем видеть из рисунка 1 и таблицы 2, такие показатели как полиморфность между популяциями была значительно меньше (11%), чем внутри популяций (89%). Тем не менее, такие данные не являются неожиданными, в свете предположения того, что в выборке присутствуют межвидовые гибриды. Таким образом, это объясняет достаточно высокий показатель полиморфности между популяциями, так как при анализе одного вида он, обычно, ниже. Соответственно, показатель полиморфности внутри популяция представляется также достаточно высоким. В остальном же, ожидаемо, что сумма квадратов была выше для показателя внутри популяций, равно как и оценочная вариабельность.

Для того, чтобы изучить родственные взаимосвязи между организмами внутри всей выборки, нами было рассчитано генетическое расстояние между образцами (Таблица 3) и, на основе него, построена РСoA координатная плоскость.

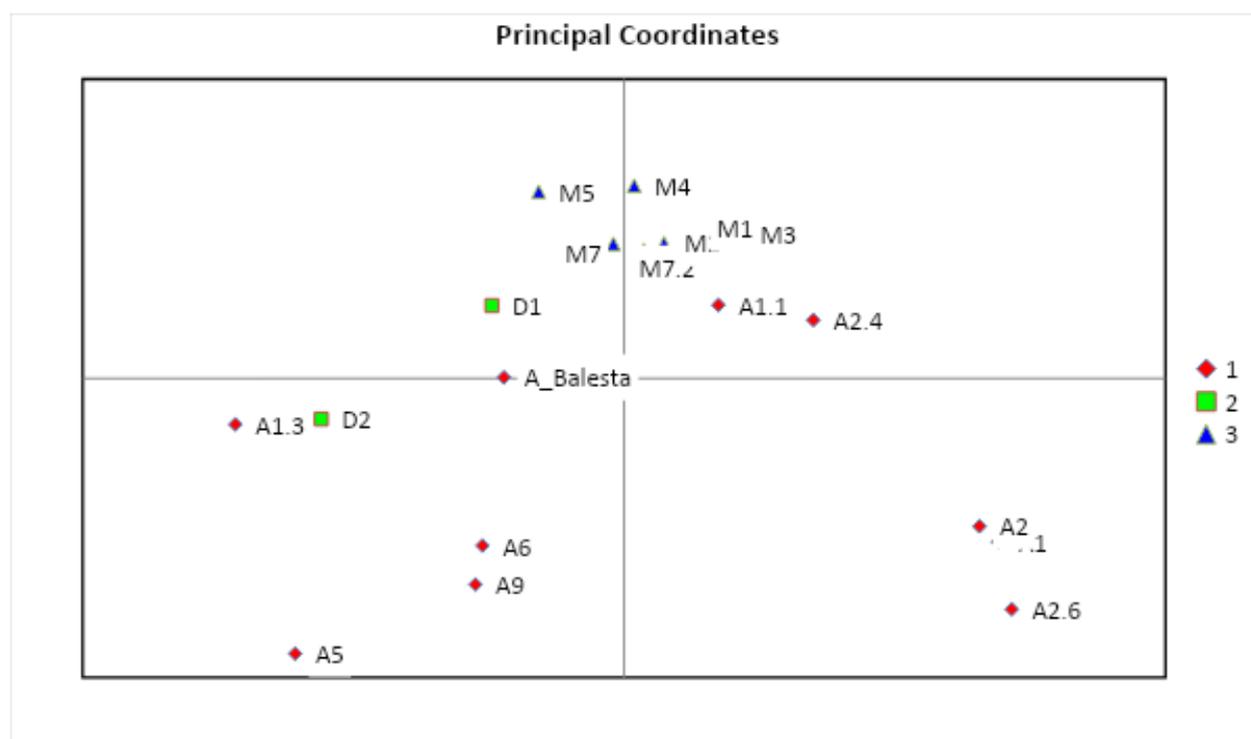


Рисунок 2 – Распределение генотипов на координатной плоскости

Как мы можем увидеть из рисунка 2, генотипы были распределены программой на три кластера. В первый, как и предполагалось, вошли

образцы Абинска и Даманки. Во втором были объединена Майкопская группа образцов и, неожиданно, несколько абинских генотипов. И, третий кластер, по-видимому, состоит из образцов, которые являются межвидовыми гибридами и, поэтому, были отделены от общей группы. Как можно видеть, среди образцов, которые были расположены отдаленно и, видимо представляют собой межвидовые гибриды, присутствует деление на две суб-популяции. Это указывает на их происхождение от опыления различными растениями, выступивших в роли родительских форм. Таким образом, предполагается, что генотипы А1, А2, А2.6 и А5, А6 и А9 являются гибридными формами и имеют разных родителей, что также подтверждается и их морфологическим строением листьев [31, 34]. При этом из рисунка 2 видно, что, в целом, дикорастущие лианы вида *V. sylvestris* формируют кластер, который включает в себя генотипы из всех трех ареалов обитания. Также очевидно, что изолированная популяция, растущая в Майкопской зоне, была наиболее «сплоченной» констелляцией генотипов.

A1	A2.6	A2	A2.4	A1.1	A9	A_Balesta	A5	A6	A1.3	D2	D1	M7.2	M7	M2	M3	M1	M5	M4
0																		
21	0																	
33	30	0																
42	45	31	0															
50	51	41	32	0														
47	50	52	47	47	0													
46	53	49	48	46	49	0												
53	50	52	49	55	36	47	0											
52	49	51	38	48	45	52	29	0										
55	56	54	51	53	48	41	40	49	0									
45	50	50	47	49	40	43	34	43	26	0								
50	45	41	40	36	49	42	45	44	35	25	0							
40	43	47	34	38	43	42	45	40	45	33	34	0						
45	48	48	35	45	48	49	44	37	46	40	37	25	0					
41	40	46	37	45	46	41	46	45	48	34	33	29	30	0				
34	39	39	30	38	41	44	47	38	45	33	34	16	25	25	0			
36	41	41	28	40	43	38	47	36	43	31	34	22	25	23	10	0		
49	56	48	39	39	50	41	48	55	40	44	41	39	40	38	37	37	0	
42	45	45	36	42	49	40	51	50	41	41	30	38	35	29	30	30	23	0

Таблица 3 – Генетические расстояния между исследованными образцами

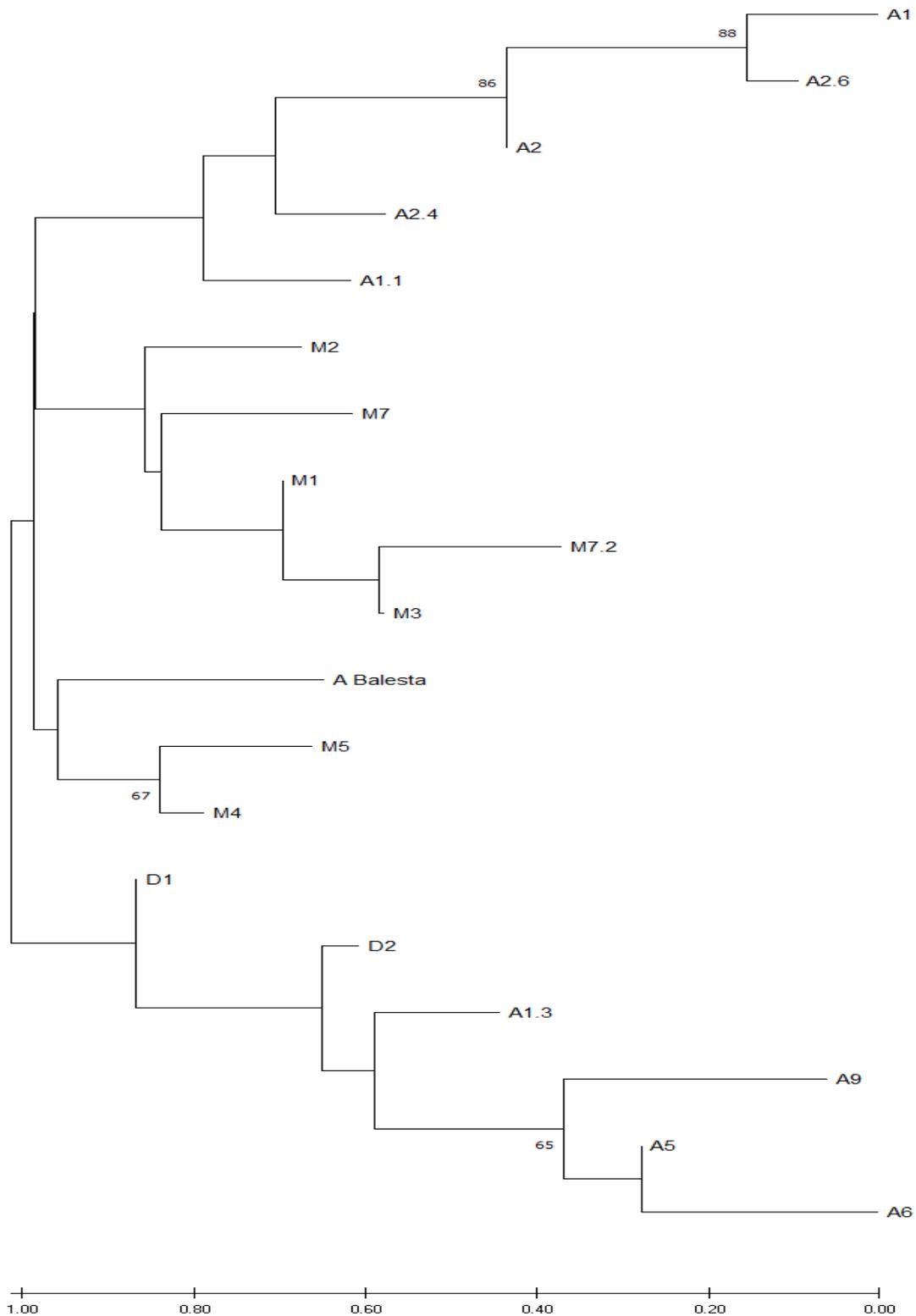


Рисунок 3 – Распределение диких лиан винограда методом Maximum Likelihood в программе MEGA X

Распределение генотипов методом Maximum Likelihood (Рисунок 3) показало разделение на два основных макрокластера, внутри одного из которых выделено три суб-кластера. Интересно, что как и при распределении генотипов PCoA, A Balesta был расположен вблизи не только к Майкопской популяции, но при этом отличие состояло в том, что он был кластеризован рядом с образцами M4 и M5. Скорее всего это указывает нам на то, что данные образцы являются настоящим *V. sylvestris*, так как принадлежность к данному виду у образца A Balesta была установлена ранее [33, 31]. Также, как и в PCoA, данный метод анализа расположил образцы Д1 и Д2 рядом с абинской группой. С одной стороны, это может служить основанием предполагать схожесть данных генотипов с образцами, имеющими подтверждение видовой принадлежности. С другой стороны, расположение их при кластеризации рядом с генотипами, которые, по-видимому, являются межвидовыми гибридами (из-за чего как в PCoA, так и в кластерном древе были выделены в отдельную группу), может указывать на то, что даманская группа может иметь более сложное происхождение, что, на первый взгляд, кажется неочевидным. Поэтому для того, чтобы установить предполагаемое число популяций и, соответственно, распределение аллелей внутри генотипов, нами был проведен анализ всей выборки в программе STRUCTURE с использованием моделей смешения генотипов и независимого наследования.

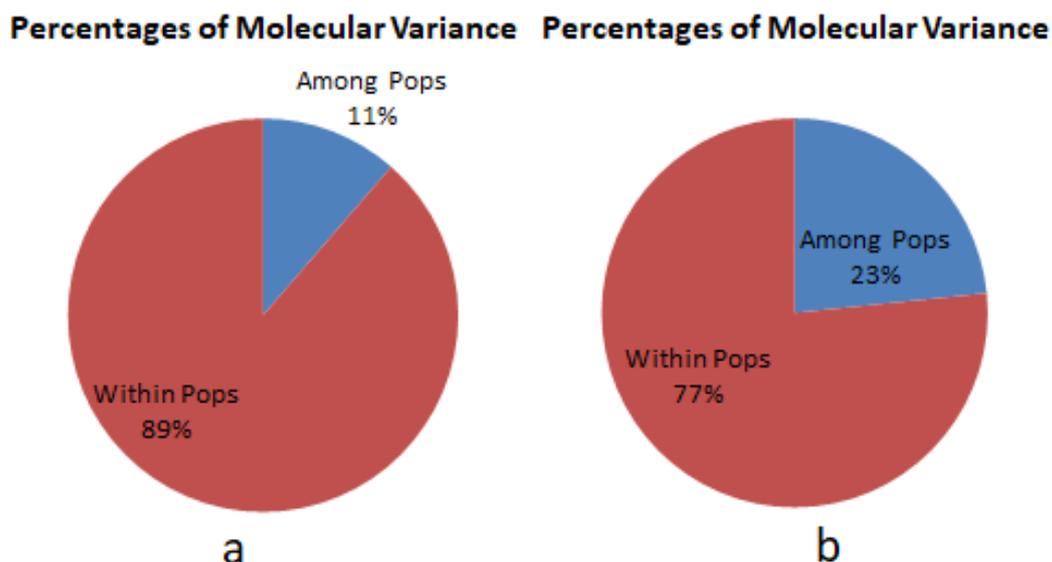


Рисунок 4 – Диаграмма результатов AMOVA анализа

С целью подтверждения наличия гибридных форм в выборке нами был проведен дополнительный анализ AMOVA, но уже при разделении генотипов в соответствии с PCoA. Таким образом, диаграммы «а» и «б» рисунка 4 представляют результаты анализа всей выборки, но уже представленной пятью популяциями. В популяцию 4 вошли образцы А5, А6 и А9. В популяцию 5 были включены генотипы А1, А2.6 и А2. И, как можно видеть, под-рисунок «а» представляет результаты первичного AMOVA (молекулярная дисперсия составила: 11% между популяциями и 89% внутри популяций). После исключения из первой популяции генотипов молекулярная дисперсия между популяциями увеличилась в два раза (23%), в то время как внутри популяций уменьшилась (77%, под-рисунок «б»). Это также указывает на то, что исключение образцов из первой популяции позволило создать две группы, которые значительно отличаются по своей генетической структуре от остальных популяций, что также свидетельствует в пользу того, что включенные в эти группы генотипы имеют другую видовую принадлежность.

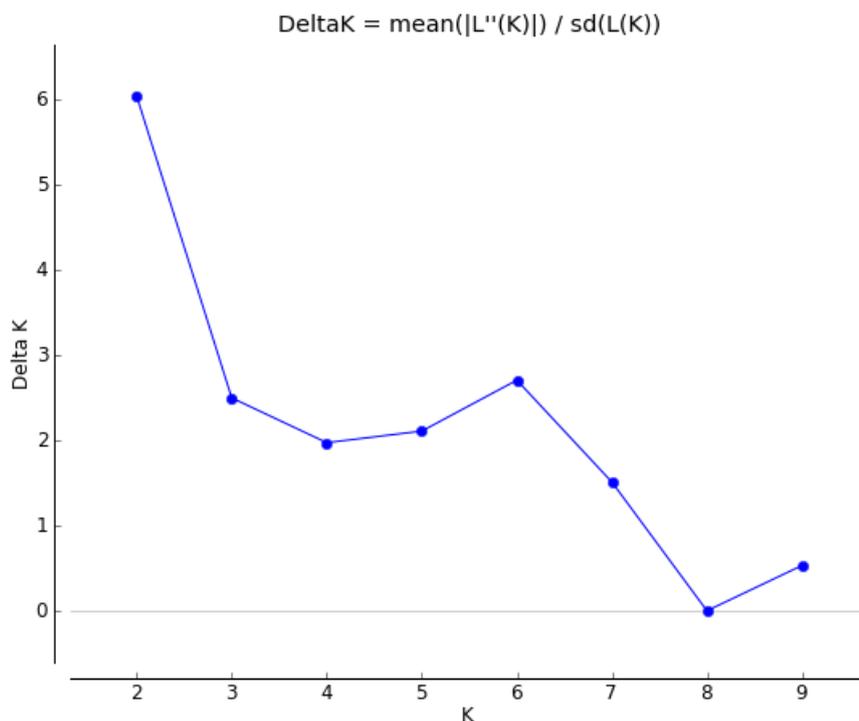


Рисунок 5 – Результаты анализа в программе STRUCTURE HARVESTER

Таким образом, нами было проведено изучение всей выборки при симуляции от 1 до 10 мнимых популяций с пятикратной повторностью каждой симуляции. Интересно отметить, что результаты анализа в программе STRUCTURE HARVESTER (Рисунок 5) показали наличие достаточно разного количества возможных популяций (2, 3, 4, 5, 6, 7 или 9). Тем не менее, изменение графика DeltaK, указывают, что наибольшая вероятность представляется при двух и шести популяциях. Вместе с результатами AMOVA и генетического разнообразия, данные результаты не представляются удивительными, а только лишь подтверждают предыдущее предположение о том, что внутри выборки имеются межвидовые гибриды.

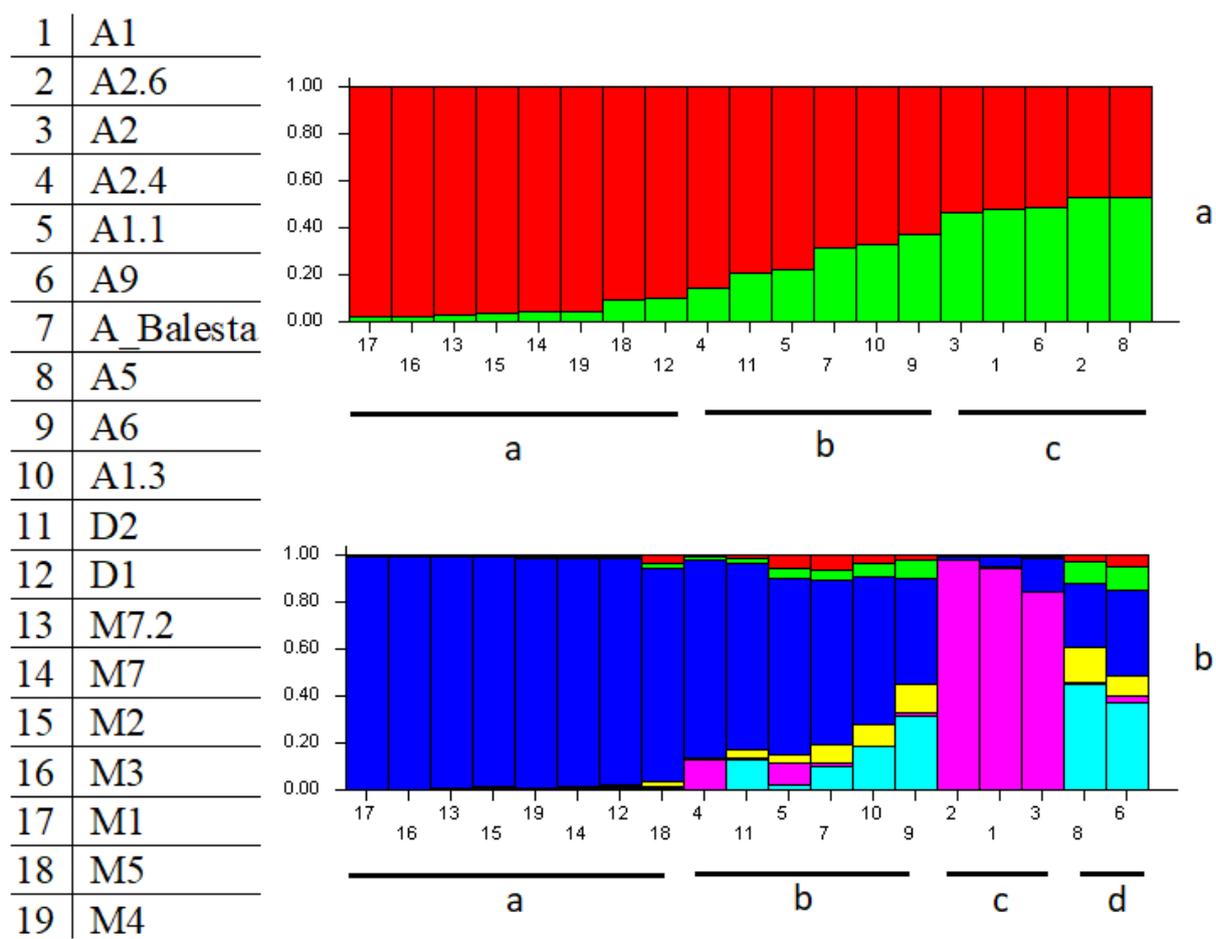


Рисунок 6 – Распределение аллелей в генотипах в соответствии с показателями  $K=2$  и  $K=6$

Визуализация результатов анализа распределения аллелей внутри изученных генотипов в программе STRUCTURE (Рисунок 6) показала, что при симуляции двух популяций вся выборка разделяется на условные три кластера генотипов. В свою очередь, цветовое разделение преобладания аллелей указывает от доминирования «красной» популяции, до условного разделения «пополам». При этом в данном случае достаточно сложно судить о комплексности строения самих генотипов, так как смена доминирования аллелей, унаследованных от одной из популяций, идет плавно и не перетекает в доминирование условной «зеленой» популяции. Поэтому нами были сформированы результаты анализа при симуляции шести популяций, которое показало разделение всех организмов уже на 4 суб-популяции.

Цветовое разделение строения изученных генотипов дикорастущего винограда показало появление новых секторов внутри гистограмм. Несмотря на это, некоторые генотипы остались «стабильны» в своем разделении, то есть результаты, указанные на суб-рисунках «а» и «b» были практически одинаковыми. Например, у части из них было, как и в случае с под-рисунком «а», было явное преобладание одного из цветов (в данном случае – синего). При этом, у остальных генотипов было выявлено дробление гистограмм на большее количество цветов, что свидетельствует об их комплексном строении. Как видно из строения гистограмм, генотипы 1, 2 и 2.6 имеют уникальное строение, выражающееся в том, что набор их аллелей представлен, в основном, лиловым цветом. Такие результаты могут указывать на то, что данные образцы могут вообще принадлежать к другому виду. Помимо этого, интересно, что у некоторых генотипов (A9, A\_Balesta, A5, A6 и A1.3) имелось присутствие «лиловых» аллелей, что также указывает на их уникальное строение, несмотря на то что основное строение полученного профиля представлено «синими» аллелями.

При сравнении результатов можно заключить, что, в целом, полученные данные подтверждаются кластеризацией и PCoA анализом. Такой анализ дает основание полагать, что в выборке присутствуют как отдельные виды, так и межвидовые гибриды. В целом, вместе с проведенными анализами ранее, это дает основание полагать, что в выборке присутствует *V. sylvestris*.

### **Выводы**

В результате работы были изучены три популяции дикорастущего винограда Краснодарского края и Республики Адыгея. Использование ретротранспозонных маркеров позволило выявить всего 586 ДНК-полос, из которых 96.92% (567) были полиморфными. Такие результаты были отражены по всей выборки в виде Индекса Шеннона (0.464) и

Разнообразие (0.300). При анализе каждой популяции отдельно было обнаружено, что данные индексы у Популяции 1 выше, чем по всей выборке, что указывает на ее комплексный состав и возможное присутствие межвидовых гибридов. Эти данные были также и подтверждены результатами AMOVA. Распределение генотипов при помощи PCoA и их кластеризация также подтвердили данное предположение, так как некоторые образцы были отдалены от общей констелляции точек генотипов. При этом их отдаление было расположено таким образом, что дает основание предполагать наличие разных родительских форм. Подтверждением тому служил и анализ в программе STRUCTURE, так как при анализе всей выборки как представителей шести популяций было выявлено существенное разделение гистограмм по цветам, отображающим количество аллелей, унаследованных от той или иной мнимой популяции. Поэтому, вместе с предыдущими данными, полученными при фенотипировании и генотипировании, это дает основание сделать вывод, что в выборке присутствует как *V. sylvestris*, так и межвидовые гибриды, полученные от скрещивания с ним.

#### **Финансирование.**

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для молодых ученых кандидатов наук № МК-2070.2022.5.

#### **Список литературы**

1. Aradhya, M. K. Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. / M. K. Aradhya, G. S. Dangl, B. H. Prins, J. M. Boursiquot, M. A. Walker, C. P. Meredith, C. J. Simon // *Genetics Research*. - 2003. - №81(3). - P. 179-192. - DOI: 10.1017/s0016672303006177
2. Barth, S. Genotypes and phenotypes of an ex situ *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris* (Gmel.) Beger germplasm collection from the Upper Rhine Valley. / S. Barth, A. Forneck, F. Verzeletti, R. Blaich, F. Schumann // *Genetic resources and crop evolution*. - 2009. - №56(8). - P. 1171-1181. - DOI: 10.1007/s10722-009-9443-1
3. Besnier, F. ParallelStructure: A R package to distribute parallel runs of the population genetics program STRUCTURE on multi-core computers. / F. Besnier, K. A. Glover // *PloS one*. - 2013. - №8(7). e70651. - DOI: 10.1371/journal.pone.0070651
4. Bouby L. Tracking the history of grapevine cultivation in Georgia by combining geometric morphometrics and ancient DNA. / L. Bouby, N. Wales, M. Jalabadze, N.

Rusishvili, V. Bonhomme, J. Ramos-Madriral, A. Evin // *Vegetation History and Archaeobotany*, Springer Verlag. - 2020. - №30 (1). - P. 63-76. - DOI: 10.1007/s00334-020-00803-0

5. De Andrés, M. T. Genetic diversity of wild grapevine populations in Spain and their genetic relationships with cultivated grapevines. / M. T. De Andrés, A. Benito, G. Pérez-Rivera, R. Ocete, M. A. Lopez, L. Gaforio, R. ARROYO-GARCÍA // *Molecular Ecology*. - 2012. - №21(4). - P. 800-816. - DOI: 10.1111/j.1365-294X.2011.05395.x

6. Di Vecchi-Staraz M. Low level of pollen-mediated gene flow from cultivated to wild grapevine: consequences for the evolution of the endangered subspecies *Vitis vinifera* L. subsp. *Silvestris*. / M. Di Vecchi-Staraz, V. Laucou, G. Bruno, T. Lacombe, S. Gerber, T. Bourse, P. This // *Journal of Heredity*. - 2009. - №100(1). - P. 66-75. - DOI: 10.1093/jhered/esn084

7. Drori, E. Collection and characterization of grapevine genetic resources (*Vitis vinifera*) in the Holy Land, towards the renewal of ancient winemaking practices. / E. Drori, O. Rahimi, A. Marrano, Y. Henig, H. Brauner, M. Salmon-Divon, M. S. Grando // *Scientific reports*. - 2017. - №7(1). P. 1-12. - DOI: 10.1038/srep44463

8. Earl, D. A. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. / D. A. Earl, B. M. VonHoldt // *Conservation genetics resources*. - 2012. - №4(2). - P. 359-361. - DOI: 10.1007/s12686-011-9548-7

9. Ekhvaia, J. Genetic diversity of *Vitis vinifera* in Georgia: relationships between local cultivars and wild grapevine, *V. vinifera* L. subsp. *Sylvestris*. / J. Ekhvaia, M. Gurushidze, F. R. Blattner, M. Akhalkatsi // *Genetic resources and crop evolution*. - 2014. - №61(8). - P. 1507-1521. - DOI: 10.1007/S10722-014-0125-2

10. Forneck A. Genetic diversity in *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris* Gmelin from Europe, the Middle East and North Africa. / A. Forneck, M. A. Walker, A. Schreiber, R. Blaich, F. Schumann // *Acta horticulturae*. - 2003. - DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.603.72

11. Grassi, F. Evidence of a secondary grapevine domestication centre detected by SSR analysis. / F. Grassi, M. Labra, S. Imazio, A. Spada, S. Sgorbati, A. Scienza, F. Sala // *Theoretical and Applied Genetics* 107. - 2003. - № 7. -P. 1315-1320. - DOI: 10.1007/s00122-003-1321-1

12. Grassi, F. Phylogeographical structure and conservation genetics of wild grapevine. / F. Grassi, M. Labra, S. Imazio, R. Ocete Rubio, O. Failla, A. Scienza, F. Sala // *Conservation Genetics*. - 2006. - № 7 - P. 837-845. - DOI: 10.1007/s10592-006-9118-9

13. Grimplet, J. The grapevine gene nomenclature system. / A. F. Adam-Blondon, P. F. Bert, O. Bitz, D. Cantu, C. Davies, S. Delrot, M. Pezzotti, S. Rombauts, G. R. Cramer. // *BMC genomics*. - 2014. - №15(1). - P. 1-14. - DOI: 10.1186/1471-2164-15-1077.

14. Imazio S. From the cradle of grapevine domestication: molecular overview and description of Georgian grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm. / S. Imazio, D. Maghradze, G. De Lorenzis, R. Bacilieri, V. Laucou, P. This, A. Scienza, O. Failla // *Tree Genetics & Genomes*. - 2013. - №9. P. 641-658. - DOI: 10.1007/s11295-013-0597-9

15. Kalendar, R. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. / R. Kalendar, K. Antonius, P. Smýkal, A. H. Schulman // *Theoretical and Applied Genetics*. - 2010. - №121(8). P. 1419-1430. - DOI: 10.1007/s00122-010-1398-2

16. Kumar, S. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. / S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, K. Tamura // *Molecular biology and evolution*. - 2018. - №35(6). - P. 1547. - DOI: 10.1093/molbev/msy096

17. Lopes, M. S. New insights on the genetic basis of Portuguese grapevine and on grapevine domestication. / M. S. Lopes, D. Mendonça, M. Rodrigues dos Santos, J. E. Eiras-

Dias, A. da Câmara Machado // *Genome*. - 2009. - №52(9). - P. 790-800. - DOI: 10.1139/g09-048

18. Maraš, V. Population genetic analysis in old Montenegrin vineyards reveals ancient ways currently active to generate diversity in *Vitis vinifera*. / V. Maraš, J. Tello, A. Gazivoda, M. Mugoša, M. Perišić, J. Raičević, J. Ibáñez // *Scientific reports*. - 2020. - №10(1). - P. 1-13. - DOI: 10.1038/s41598-020-71918-7

19. Meirmans, P. G. AMOVA-based clustering of population genetic data. // *Journal of Heredity*. - 2012. - №103(5). - P. 744-750. - DOI: 10.1093/jhered/ess047

20. Mohammadi, S. A. Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. / S. A. Mohammadi, B. M. Prasanna // *Crop science*. - 2003. - №43(4). - P. 1235-1248. - DOI: 10.2135/cropsci2003.1235

21. Murshudov G. N. Refinement of macromolecular structures by the maximum-likelihood method. / G. N. Murshudov, A. A. Vagin, E. J. Dodson // *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*. - 1997. - №53(3). - P. 240-255. - DOI: 10.1107/S09074444996012255

22. Ortigosa, P. Evidence of gene flow between wild and cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.) in France. / P. Ortigosa, V. Laucou, T. Lacombe, D. Varès, S. Gerber, M. Boselli, P. This // *IX International Conference on Grape Genetics and Breeding*. - 2006. - №827. - P. 103-106. - DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.827.13

23. Peakall R. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. / R. Peakall, P. E. Smouse // *Molecular ecology notes*. - 2006. - №6(1). - P. 288-295. - DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

24. Porebski S. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. / S. Porebski, L. G. Bailey, B. R. Baum // *Plant molecular biology reporter*. - 1997. - №15(1). - P. 8-15. - DOI: 10.1007/BF02772108

25. Terral J. F. Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. / J. F. Terral, E. Tabard, L. Bouby, S. Ivorra, T. Pastor, I. Figueiral, P. This // *Annals of botany*. - 2010. - №105(3). - P. 443-455. - DOI: 10.1093/aob/mcp298

26. Yılmaz F. Genetic analysis of central Anatolian grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm by simple sequence repeats. / F. Yılmaz, M. Shidfar, N. Hazrati, K. Kazan, C. Yüksel Özmen, T. Uysal, A. Ergül // *Tree Genetics & Genomes*. - 2020. - №16(4). - P. 1-11. - DOI: <https://doi.org/10.1007/s11295-020-01429-z>

27. Zdunić G. Genetic Diversity of Wild Grapevine (*Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris* Gmel. Hegi) in the Eastern Adriatic Region. / G. Zdunić, E. Maul, K. Hančević, M. Leko, L. Butorac, A. Mucalo, E. Maletić // *American Journal of Enology and Viticulture*. - 2017. - №68(2). - P.252-257. - DOI: 10.5344/ajev.2016.16072

28. Zhou Y. The population genetics of structural variants in grapevine domestication. / Y. Zhou, A. Minio, M. Massonnet, E. Solares, Y. Lv, T. Beridze, D. Cantu, B. S. Gaut // *Nature plants*. - 2019. - №5(9). - P. 965-979. - DOI: <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0507-8>

29. Zoghliami N. Genetic structure of endangered wild grapevine *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris* populations from Tunisia: Implications for conservation and management. / N. Zoghliami, L. Riahi, V. Laucou, A. Mliki, A. Ghorbel, P. This // *Forest ecology and management*. - 2013. - №310. - P. 896-902. - DOI: 10.1016/j.foreco.2013.09.039

30. Zohary D. The domestication of the grapevine *Vitis vinifera* L. in the Near East. // *The origins and ancient history of wine*. Routledge. 2003. P. 44-51.

31. Звягин, А. С. Исследование дикого винограда *Vitis silvestris* Gmel. на Северном Кавказе / А. С. Звягин, Л. П. Трошин // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ. - 2010. - №58. - С. 376-387. - Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2010/04/pdf/21.pdf>

32. Звягин, А. С. О происхождении дикого и культурного винограда / А. С. Звягин, Л. П. Трошин // Труды Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ. - 2010. - №25. - С. 84-88. - IDA [article ID]: 15271022

33. Милованов, А. В. Амело-генетический анализ сортов и клонов *Vitis vinifera* L. / А. В. Милованов // Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Всерос. науч.-исслед. ин-т риса. - 2016.

34. Трошин, Л. П. Морфометрия листьев кубанских дикорастущих лиан винограда / Л. П. Трошин // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ. - 2011. - №72. - С. 312-330. - IDA [article ID]: 17034998.

### References

1. Aradhya, M. K. Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. / M. K. Aradhya, G. S. Dangl, B. H. Prins, J. M. Boursiquot, M. A. Walker, C. P. Meredith, C. J. Simon // Genetics Research. - 2003. - №81(3). - P. 179-192. - DOI: 10.1017/s0016672303006177

2. Barth, S. Genotypes and phenotypes of an ex situ *Vitis vinifera* ssp. *silvestris* (Gmel.) Beger germplasm collection from the Upper Rhine Valley. / S. Barth, A. Forneck, F. Verzeletti, R. Blaich, F. Schumann // Genetic resources and crop evolution. - 2009. - №56(8). - P. 1171-1181. - DOI: 10.1007/s10722-009-9443-1

3. Besnier, F. ParallelStructure: A R package to distribute parallel runs of the population genetics program STRUCTURE on multi-core computers. / F. Besnier, K. A. Glover // PloS one. - 2013. - №8(7). e70651. - DOI: 10.1371/journal.pone.0070651

4. Bouby L. Tracking the history of grapevine cultivation in Georgia by combining geometric morphometrics and ancient DNA. / L. Bouby, N. Wales, M. Jalabadze, N. Rusishvili, V. Bonhomme, J. Ramos-Madrugal, A. Evin // Vegetation History and Archaeobotany, Springer Verlag. - 2020. - №30 (1). - P. 63-76. - DOI: 10.1007/s00334-020-00803-0

5. De Andrés, M. T. Genetic diversity of wild grapevine populations in Spain and their genetic relationships with cultivated grapevines. / M. T. De Andrés, A. Benito, G. Pérez-Rivera, R. Ocete, M. A. Lopez, L. Gaforio, R. ARROYO-GARCÍA // Molecular Ecology. - 2012. - №21(4). - P. 800-816. - DOI: 10.1111/j.1365-294X.2011.05395.x

6. Di Vecchi-Staraz M. Low level of pollen-mediated gene flow from cultivated to wild grapevine: consequences for the evolution of the endangered subspecies *Vitis vinifera* L. subsp. *Silvestris*. / M. Di Vecchi-Staraz, V. Laucou, G. Bruno, T. Lacombe, S. Gerber, T. Bourse, P. This // Journal of Heredity. - 2009. - №100(1). - P. 66-75. - DOI: 10.1093/jhered/esn084

7. Drori, E. Collection and characterization of grapevine genetic resources (*Vitis vinifera*) in the Holy Land, towards the renewal of ancient winemaking practices. / E. Drori, O. Rahimi, A. Marrano, Y. Henig, H. Brauner, M. Salmon-Divon, M. S. Grando // Scientific reports. - 2017. - №7(1). P. 1-12. - DOI: 10.1038/srep44463

8. Earl, D. A. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. / D. A. Earl, B. M. VonHoldt //

Conservation genetics resources. - 2012. - №4(2). - P. 359-361. - DOI: 10.1007/s12686-011-9548-7

9. Ekhvaia, J. Genetic diversity of *Vitis vinifera* in Georgia: relationships between local cultivars and wild grapevine, *V. vinifera* L. subsp. *Sylvestris*. / J. Ekhvaia, M. Gurushidze, F. R. Blattner, M. Akhalkatsi // Genetic resources and crop evolution. - 2014. - №61(8). - P. 1507-1521. - DOI: 10.1007/S10722-014-0125-2

10. Forneck A. Genetic diversity in *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris* Gmelin from Europe, the Middle East and North Africa. / A. Forneck, M. A. Walker, A. Schreiber, R. Blaich, F. Schumann // *Acta horticulturae*. - 2003. - DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.603.72

11. Grassi, F. Evidence of a secondary grapevine domestication centre detected by SSR analysis. / F. Grassi, M. Labra, S. Imazio, A. Spada, S. Sgorbati, A. Scienza, F. Sala // *Theoretical and Applied Genetics* 107. - 2003. - № 7. -P. 1315-1320. - DOI: 10.1007/s00122-003-1321-1

12. Grassi, F. Phylogeographical structure and conservation genetics of wild grapevine. / F. Grassi, M. Labra, S. Imazio, R. Ocete Rubio, O. Failla, A. Scienza, F. Sala // *Conservation Genetics*. - 2006. - № 7 - P. 837-845. - DOI: 10.1007/s10592-006-9118-9

13. Grimplet, J. The grapevine gene nomenclature system. / A. F. Adam-Blondon, P. F. Bert, O. Bitz, D. Cantu, C. Davies, S. Delrot, M. Pezzotti, S. Rombauts, G. R. Cramer. // *BMC genomics*. - 2014. - №15(1). - P. 1-14. - DOI: 10.1186/1471-2164-15-1077.

14. Imazio S. From the cradle of grapevine domestication: molecular overview and description of Georgian grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm. / S. Imazio, D. Maghradze, G. De Lorenzis, R. Bacilieri, V. Laucou, P. This, A. Scienza, O. Failla // *Tree Genetics & Genomes*. - 2013. - №9. P. 641-658. - DOI: 10.1007/s11295-013-0597-9

15. Kalendar, R. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. / R. Kalendar, K. Antonius, P. Smýkal, A. H. Schulman // *Theoretical and Applied Genetics*. - 2010. - №121(8). P. 1419-1430. - DOI: 10.1007/s00122-010-1398-2

16. Kumar, S. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. / S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, K. Tamura // *Molecular biology and evolution*. - 2018. - №35(6). - P. 1547. - DOI: 10.1093/molbev/msy096

17. Lopes, M. S. New insights on the genetic basis of Portuguese grapevine and on grapevine domestication. / M. S. Lopes, D. Mendonça, M. Rodrigues dos Santos, J. E. Eiras-Dias, A. da Câmara Machado // *Genome*. - 2009. - №52(9). - P. 790-800. - DOI: 10.1139/g09-048

18. Maraš, V. Population genetic analysis in old Montenegrin vineyards reveals ancient ways currently active to generate diversity in *Vitis vinifera*. / V. Maraš, J. Tello, A. Gazivoda, M. Mugoša, M. Perišić, J. Raičević, J. Ibáñez // *Scientific reports*. - 2020. - №10(1). - P. 1-13. - DOI: 10.1038/s41598-020-71918-7

19. Meirmans, P. G. AMOVA-based clustering of population genetic data. // *Journal of Heredity*. - 2012. - №103(5). - P. 744-750. - DOI: 10.1093/jhered/ess047

20. Mohammadi, S. A. Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. / S. A. Mohammadi, B. M. Prasanna // *Crop science*. - 2003. - №43(4). - P. 1235-1248. - DOI: 10.2135/cropsci2003.1235

21. Murshudov G. N. Refinement of macromolecular structures by the maximum-likelihood method. / G. N. Murshudov, A. A. Vagin, E. J. Dodson // *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*. - 1997. - №53(3). - P. 240-255. - DOI: 10.1107/S0907444996012255

22. Ortigosa, P. Evidence of gene flow between wild and cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.) in France. / P. Ortigosa, V. Laucou, T. Lacombe, D. Varès, S. Gerber, M. Boselli,

P. This // IX International Conference on Grape Genetics and Breeding. - 2006. - №827. - P. 103-106. - DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.827.13

23. Peakall R. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. / R. Peakall, P. E. Smouse // Molecular ecology notes. - 2006. - №6(1). - P. 288-295. - DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

24. Porebski S. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. / S. Porebski, L. G. Bailey, B. R. Baum // Plant molecular biology reporter. - 1997. - №15(1). - P. 8-15. - DOI: 10.1007/BF02772108

25. Terral J. F. Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. / J. F. Terral, E. Tabard, L. Bouby, S. Ivorra, T. Pastor, I. Figueiral, P. This // Annals of botany. - 2010. - №105(3). - P. 443-455. - DOI: 10.1093/aob/mcp298

26. Yılmaz F. Genetic analysis of central Anatolian grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm by simple sequence repeats. / F. Yılmaz, M. Shidfar, N. Hazrati, K. Kazan, C. Yüksel Özmen, T. Uysal, A. Ergül // Tree Genetics & Genomes. - 2020. - №16(4). - P. 1-11. - DOI: <https://doi.org/10.1007/s11295-020-01429-z>

27. Zdunić G. Genetic Diversity of Wild Grapevine (*Vitis vinifera* L. subsp. *silvestris* Gmel. Hegi) in the Eastern Adriatic Region. / G. Zdunić, E. Maul, K. Hančević, M. Leko, L. Butorac, A. Mucalo, E. Maletić // American Journal of Enology and Viticulture. - 2017. - №68(2). - P.252-257. - DOI: 10.5344/ajev.2016.16072

28. Zhou Y. The population genetics of structural variants in grapevine domestication. / Y. Zhou, A. Minio, M. Massonnet, E. Solares, Y. Lv, T. Beridze, D. Cantu, B. S. Gaut // Nature plants. - 2019. - №5(9). - P. 965-979. - DOI: <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0507-8>

29. Zoghalmi N. Genetic structure of endangered wild grapevine *Vitis vinifera* ssp. *silvestris* populations from Tunisia: Implications for conservation and management. / N. Zoghalmi, L. Riahi, V. Laucou, A. Mliki, A. Ghorbel, P. This // Forest ecology and management. - 2013. - №310. - P. 896-902. - DOI: 10.1016/j.foreco.2013.09.039

30. Zohary D. The domestication of the grapevine *Vitis vinifera* L. in the Near East. // The origins and ancient history of wine. Routledge. 2003. P. 44-51.

31. Zvyagin, A. S. Issledovanie dikogo vinograda *Vitis silvestris* gmel. na Severnom Kavkaze/ A. S. Zvyagin, L. P. Troshin // Politematicheskij setevoj e`lektronny`j nauchny`j zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchny`j zhurnal KubGAU) [E`lektronny`j resurs]. – Krasnodar: KubGAU. - 2010. - №58. - S. 376-387. - Rezhim dostupa: <http://ej.kubagro.ru/2010/04/pdf/21.pdf>

32. Zvyagin, A. S. O proisxozhdenii dikogo i kul`turnogo vinograda / A. S. Zvyagin, L. P. Troshin / Trudy` Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchny`j zhurnal KubGAU) [E`lektronny`j resurs]. – Krasnodar: KubGAU. - 2010. - №25. - S. 84-88. - IDA [article ID]: 15271022

33. Milovanov, A. V. Ampelo-geneticheskij analiz sortov i klonov *Vitis vinifera* L / A. V. Milovanov // Dissertaciya na soiskanie uchenoj stepeni kandidata biologicheskix nauk. Vseros. nauch.-issled. in-t risa. - 2016.

34. Troshin, L. P. Morfometriya list`ev kubanskix dikorastushhix lian vinograda/ L. P. Troshin // Politematicheskij setevoj e`lektronny`j nauchny`j zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchny`j zhurnal KubGAU) [E`lektronny`j resurs]. – Krasnodar: KubGAU. - 2011. - №72. - S. 312-330. - IDA [article ID]: 17034998.