

УДК 634.8.09

РАЗВИТИЕ СЕЛЕКЦИИ СОРТОВ ВИНОГРАДА КАК ЭФФЕКТИВНОГО СПОСОБА СОЧЕТАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ И КАЧЕСТВА. НАУЧНЫЙ ОБЗОР

И.А. Васылык, С.В. Левченко 

ФГБУН «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН», 298600, ул. Кирова, 31, г. Ялта, Республика Крым, Россия

Аннотация

В настоящее время с развитием геномных технологий становится все более возможным установить в геноме винограда гены устойчивости к патогенам и перейти от традиционной генеративной селекции сортов винограда к маркерной селекции (MAS) на уровне генов и геномов. По сравнению с традиционными подходами применение MAS в контексте фонового отбора является своего рода прорывом по обеспечению доступности ценных признаков диких видов в программах селекции в управляемые сроки. MAS позволяет целенаправленно пирамидировать локусы устойчивости. Комбинация различных локусов резистентности представляет интерес не только в отношении степени резистентности, но и для ожидания более высокой устойчивости. Применение MAS также делает возможным выбор подходящих родителей с оптимизированным пирамидальным потенциалом. Одним из направлений селекционной работы по созданию новых сортов, стала селекция на устойчивость филлоксеры, оидиуму и милдью. Однако предубеждения, касающиеся качества вин новых устойчивых сортов препятствовали выходу их на рынок. Эти предубеждения до сих пор популярны и могут быть причиной того, что большая часть винодельческого сообщества игнорирует существенный прогресс в селекции и придерживается использования на практике хорошо известных сортовых вин или купажей. Новым является необходимость повышения устойчивости виноградарства и адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды. Изменение климата с его экстремальными погодными условиями уже вызвала необходимость смены сортов во многих винодельческих регионах. Поэтому в дверь стучится смена парадигмы: новые сорта (PIWI) против традиционных сортов для адаптированного к климату и устойчивого виноградарства.

Ключевые слова: селекция, устойчивость, толерантность, филлоксеры, милдью, оидиум, доноры признака, MAS селекция, пирамидирование, ген

DEVELOPMENT OF GRAPE BREEDING AS AN EFFECTIVE WAY TO COMBINE RESISTANCE AND QUALITY. SCIENTIFIC REVIEW

I.A. Vasylyk, S.V. Levchenko 

All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking «Magarach» RAS, 298600, Kirova str., 31, Yalta, Republic of Crimea, Russia

Abstract

Nowadays, with the development of genomic technologies, it is becoming increasingly possible to establish pathogen resistance genes in the grape genome and to move from traditional generative breeding of grape cultivars to marker assisted selection (MAS) at the gene and genome level. Compared to traditional approaches, the application of MAS in the context of background selection is a breakthrough in making valuable traits of wild species available in breeding programs in a manageable time frame. MAS allows targeted pyramiding of resistance loci. The combination

of different resistance loci is of interest not only for the degree of resistance but also for the expectation of higher resistance. The application of MAS also makes possible the selection of suitable parents with optimized pyramiding potential. One of the directions of breeding work on the creation of new cultivars was breeding for resistance to phylloxera, downy mildew and powdery mildew. However, preconceptions regarding the wine quality of the new resistant varieties prevented their entry into the market. These prejudices are still popular and may be the reason why much of the wine community ignores significant progress in breeding and sticks to using well-known varietal wines or blends in practice. What is new is the need to increase viticulture resilience and adaptation to changing environmental conditions. Climate change with its extreme weather conditions has already necessitated a change of cultivars in many wine regions. A paradigm shift is therefore knocking on the door: new cultivars (PIWI) versus traditional cultivars for climate-adapted and sustainable viticulture.

Key words: breeding, resistance, tolerance, phylloxera, downy mildew, powdery mildew, trait donors, marker assisted selection, pyramiding, gene

Введение

Vitis vinifera L. является наиболее культивируемым видом в мире для производства винограда, покрывая около 94 % коммерческой площади виноградников. Большая часть винограда используется для виноделия, за ним следует употребление в свежем виде, изюма, соков, желе и мармелада. *V. vinifera* защищают от болезней аэрозольными обработками, которые оказывают воздействие на окружающую среду, экономику и общество. Дикие виноградные лозы, с другой стороны, устойчивы к болезням, но имеют низкое качество винограда. Способом сочетать устойчивость к болезням с качеством винограда является селекция, целью которой является получение новых сортов. Программы разведения были разработаны в XIX веке как в Старом (Европе), так и в Новом Свете, как способ продвижения устойчивого виноградарства.

Исторические аспекты селекционной работы

Целевая селекционная работа началась примерно в начале 19-го века преимущественно в Северной Америке. Переселившиеся туда европейцы не могли получать привычный урожай лозы *Vitis vinifera* L. из-за сильных повреждений от мороза, а также из-за уничтожения винограда местными вредителями, такими как филлоксеры (*Dactylospheera vitifoliae* F.), или грибными заболеваниями, такими как оидиум (*Uncinula necator* B.) и милдью (*Plasmopara viticola* B.&C.). При возделывании местного винограда получались вина с грубым вкусом, менее утонченные и элегантные. Уже в 1822 году исследователи из Гарвардского университета пришли к выводу о необходимости создания гибридов европейских лоз и местного винограда для сочетания морозостойкости и устойчивости к заболеваниям американского винограда с приятным ароматом винограда *Vitis vinifera* L. (Cattell, Miller, 1980). В последующем селекционерами-энтузиастами – Уильям В. Валк, Николас Хербемонт, Герман Йегер, Томас Мансон – выведены новые сорта, такие как Ада, Хербемонт, Брайтон и Даймонд. Большинство сортов, полученных в этот период, было выделено в группу так называемых американских гибридов (рисунок 1).

В Европе селекционная работа по созданию резистентных сортов винограда была начата после завоза филлоксеры и милдью из Северной Америки во второй половине 19 века. Особенно пострадала Франция, где филлоксеры уничтожила сотни тысяч гектаров виноградников, здесь многие частные французские селекционеры начали свои собственные программы селекции. Селекционеры, такие как Гуйлард, Бертиль Сиив, Зибель, Кудерк,

Кульманн, Бако, Сиив Виллард, Ландо и другие, создали тысячи новых сортов с целью сочетания устойчивости к филлоксеру и грибным болезням с высоким качеством, так называемых прямых производителей. Но многие сорта успешными не стали. Вероятно, причиной неудачи послужило недостаточное исследование качественных характеристик получаемых вин, помимо наличия характеристик устойчивости. Это стало одной из главных причин, почему в общественном восприятии резистентные лозы стали ассоциироваться с плохим качеством вина (Eibach, Töpfer, 2014).

Открытие в 1885 году фунгицидных свойств меди и серы привели в конечном итоге к полному сворачиванию частной селекционной деятельности во Франции, поскольку дали виноградарям надежный инструмент в борьбе с грибными болезнями виноградной лозы. Однако историческая заслуга этих селекционеров заключалась в создании очень ценного генетического ресурса. Созданные ими культурные сорта, названные французскими гибридами, интенсивно использовались в дальнейшей селекционной деятельности во второй половине XX века.

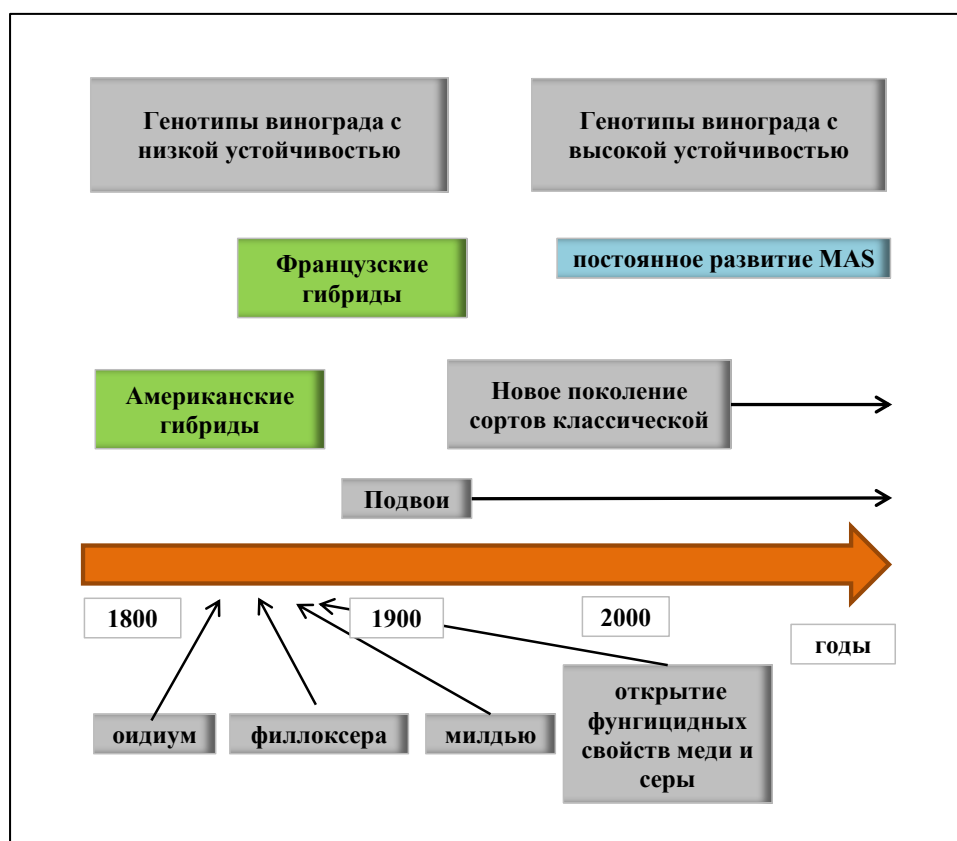


Рисунок 1 – Этапы в селекции винограда

Ранее началась работа по селекции сортов в качестве подвойного материала, с целью создать толерантные к филлоксеру сорта. Первые успешные прививки были выполнены в 1872 году Базилем. Прорывом в области селекции подвоя стало открытие Виалом в 1887 году *Vitis berlandieri*, широко распространенного в Техасе и хорошо приспособленного к известняковым почвам. Около 1896 года Кобер и Телеки отобрали подвойные сорта из комбинаций скрещиваний между *V. berlandieri* и *V. riparia*, используемые до сих пор. Повышение устойчивости к филлоксеру могло быть достигнуто за счет использования генофонда *Vitis cinerea*. Результатом стали такие сорта, как, например, Бернер,

представляющий собой комбинацию скрещивания между *Vitis riparia* и *Vitis cinerea*. Итак, современное виноградарство во всем мире практически полностью основано на использовании привитого посадочного материала с участием недавно выведенных филлоксероустойчивых подвоев (Eibach, Töpfer, 2014).

В других странах селекционная деятельность, направленная на развитие резистентности, началась позже. В Германии она была начата Э. Бауром в 1926 году. Первое поколение скрещиваний привело к появлению таких сортов, как Арис или Зигфридребе. Арис стал первым сортом (межвидовым гибридом), доказавшим возможность сочетания высокой устойчивости к болезням и хорошего качества вина. Но из-за наличия других виноградарских недостатков сорт не получил успеха на рынке. Успехом дальнейшей работы стало создание таких сортов, как Йоханнитер, Мерцлинг, Солярис, Рондо, Регент и Феникс (Töpfer, Trapp, 2022). Феникс и Регент стали первыми сортами, полученными в результате селекции на устойчивость, принятыми для производства качественного вина в Европейском союзе (Röckel et al., 2021; 2022; Bavaresco, Squer, 2022; De Rosso et al., 2023).

В мировых селекционных центрах ведутся исследования по сортоизучению и выделению доноров и источников хозяйственно-ценных признаков и показателей качества урожая. Во многих странах мира были разработаны селекционные программы с участием ведущих селекционеров: Брюс Райш, Энди Уокер, Виолета Цолова (США), Беккер и Аллелелдт, Рейнхард Топер, Ричард Айбах (Германия), Буке, Кристоф Шнайдер, Мердиноглы (Франция), Ксимазия и Козьма (Венгрия), Ян Драй (Австралия), Энрико Петерлунгер, Марко Стефанини, Луиджи Бавареско, Риккардо Веласко, Ди Гасперо (Италия) и др., что привело к созданию целого ряда новых сортов, среди которых Сторгосия, Поморийский бисер, Дунайски лазурь, Мерцлинг, Солярис, Приор, Монарх, Гелиос, Орион, Феникс, Сириус, Регент, Виктор, Циллам, Артабан, Видок, Блан дю Буа, Каюга Вайт, Горизонт, Флертай, Сорели, Юлиус и др. (Bavaresco, 1990; 2017; Töpfer, Trapp, 2022). Их можно объединить как сорта нового поколения, полученные методом классической селекции.

Российскими учеными для решения этих же задач разработаны научные основы создания исходного материала, совершенствования генетического разнообразия и выведения новых высокопродуктивных сортов винограда (Кострикин и др., 2002; Волынкин и др., 2009; Клименко, 2014; Ильницкая и др., 2016). В работе селекционеров института «Магарач» одним из ключевых направлений является выведение сортов винограда, обладающих качественными характеристиками традиционно возделываемых в конкретной виноградарской зоне, с коротким вегетационным периодом, устойчивых к болезням, вредителям и неблагоприятным факторам среды, адаптивных к конкретным условиям культивирования (Лиховской, 2019). Базовой основой для работы стала гипотетическая модель «идеального сорта» винограда, разработанная под руководством П.Я. Голодриги (Голодрига, Трошин, 1978). Она получила развитие в иммуноселекционной программе «Аналог», концепция которой предусматривала создание сортов винограда в зональном разрезе, с высокой урожайностью, качеством продукции, раннеспелостью и устойчивостью к болезням, вредителям и неблагоприятным условиям среды. Решением поставленных задач занимались Усатов В.Т., Киреева Л.К., Волынкин В.А., Клименко В.П., Олейников Н.П. Результатом стало создание модели сортов винограда с комплексной устойчивостью к патогенам и хорошим качеством продукции – Рубиновый Магарача, Ранний Магарача, послужившие основой создания сортов Антей магарачский, Аврора Магарача, Первенец Магарача, Подарок Магарача, Тавквери Магарача, Юбилейный Магарача, Цитронный Магарача, Данко, Альминский, Южнобережный, Ассоль и представляющие 3...11-е поколение от межвидовых скрещиваний (Volynkin et al., 2020; 2021a; Vasylyk et al., 2022).

Итогом более чем 100-летней работы по селекции на резистентность и качество, стал значительный прогресс в плане улучшения сортов, сочетающих в себе качество с признаками устойчивости. Этот прогресс потребовал огромных усилий и временных затрат. Причиной тому стали биологические особенности культуры: длинный цикл воспроизводства и получения урожая.

Маркер-вспомогательная селекция (MAS) в создании сортов винограда

Важной причиной трудностей проводимого селекционного процесса являлось недостаточность точных знаний о наследовании важных признаков. В последние десятилетия в отношении генетики винограда достигнут огромный успех. Интенсивная исследовательская деятельность в разных странах привела к разработке различных генетических карт в сочетании с фенотипированием (для идентификации локусов количественных признаков (QTL) по ряду характеристик (Dalbo et al., 2001; Merdinoglu et al., 2003; Riaz et al., 2006; Welter et al., 2007; Hoffmann et al., 2008; Bellin et al., 2009; Volynkin et al., 2021b; Fort et al., 2023).

Метод микросателлитного профилирования широко используется как наиболее информативный для анализа генотипов растений. Метод базируется на генотипировании специфических микросателлитных локусов (SSK-маркеры). Преимущества SSK-маркеров заключаются в возможности тестировать генотипы на любой стадии развития, при кодоминантном типе наследования, в объективности полученных результатов. Система SSK-маркеров имеет высокую дифференцирующую способность и характеризуется высоким уровнем стандартизации. Всё это позволяет получать уникальные генетические профили (молекулярно-генетические паспорта) исследуемых образцов, т.е. идентифицировать их (This et al., 2004; This, 2007; Рисованная, 2009; Рисованная, Гориславец, 2013; Власов и др., 2015; Likhovskoi et al., 2023). Число видов растений и животных, геном которых полностью отсеквенирован (как модельных, так и тех, что используются в сельском хозяйстве), стремительно возрастает. В 2007 году было завершено полногеномное секвенирование винограда (Хлесткина, 2013; Zharkikh et al., 2008).

Использование молекулярных маркеров позволяет значительно ускорять процесс селекции (Altukhov, Salmenkova, 2002; Банникова, 2004; Сулимова, 2004; Смарагдов, 2009; Матвеева и др., 2011; Хлесткина, 2011). В традиционной селекции отбор ведется на основании анализа фенотипа, где при полном доминировании невозможно отличить доминантные гомозиготы от гетерозигот и, следовательно, выбрать индивидуумы для скрещивания в текущем поколении. С помощью молекулярных маркеров можно проводить отбор по генотипу, подобрать подходящие пары и осуществить гибридизацию в текущем поколении; уже на ранней стадии развития можно оценить наследование и провести последующий отбор генотипов гибридных сеянцев, что существенно ускоряет селекционный процесс (Рисованная, Гориславец, 2013; Хлесткина, 2013).

Кроме того, секвенирование различных геномов винограда (Jaillon et al., 2007; Velasco et al., 2007; Myles et al., 2010) стимулировало развитие молекулярных маркеров, связанных с определенными признаками. Это все чаще приводило к регулярному внедрению маркер-вспомогательной селекции (MAS) в программы разведения виноградной лозы.

Пирамидирование различных источников резистентности

Традиционные программы селекции виноградной лозы, направленные на устойчивость к грибам, в целом следуют схеме, показанной на рисунке 2. Сеянцы проходят этап отбора на устойчивость к оидиуму или милдью на искусственно созданном и/или естественном инфекционном фоне.

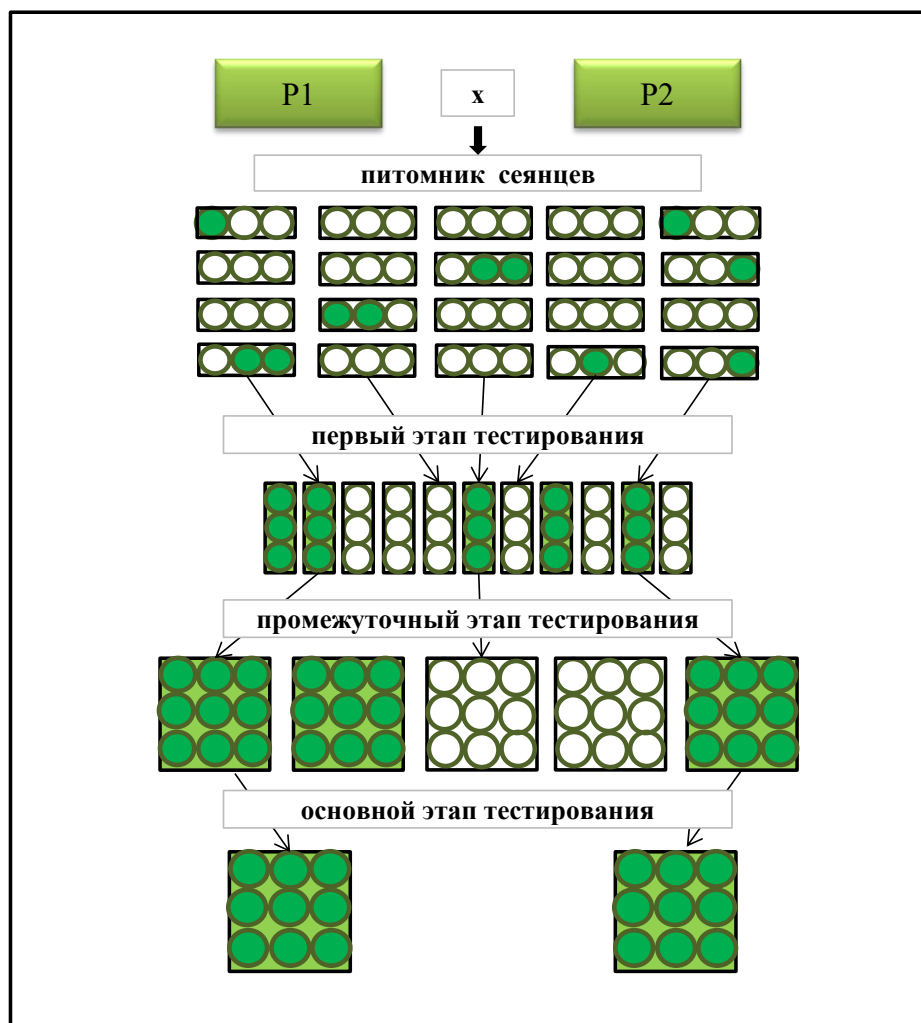


Рисунок 2 – Традиционные программы селекции винограда

Этот вид фенотипического отбора работает достаточно хорошо, если учитывать один источник резистентности, расположенный в одном локусе генома. Крайне желательна комбинация различных источников устойчивости к одному и тому же патогену, расположенных в разных локусах генома, так как это позволит получить более высокую резистентность в долгосрочной перспективе (Eibach, Törfer, 2014). Но фенотипически эти генотипы с комбинированными локусами резистентности могут быть трудно дифференцируемыми. Применение молекулярных маркеров, связанных с локусами, имеющими отношение к резистентности, решают данную проблему. В рамках практической селекционной программы фенотипический и генотипический отбор часто сочетается. На первом этапе применяют фенотипический скрининг для устранения восприимчивых саженцев, а на втором этапе проводят маркер-вспомогательную селекцию (MAS), для определения генотипов с пирамидальной устойчивостью. Рисунок 3 демонстрирует пример данного подхода.

Так исследуемая популяция (150 растений) была получена от скрещивания между Gf.1984-58-988 и VRH3082-1-49. Гибридная форма Gf.1984-58-988 является результатом скрещивания Домина × Регент, и несет в себе локус, отвечающий за устойчивость к милдью *Rpv3*, и локус, связанный с устойчивостью к оидиуму *Ren3*, унаследованный от Регента

(Fischer et al., 2004; Welter et al., 2007). Г.ф. VRH3082-1-49 – это BC4 от *Vitis rotundifolia* и несет локус для *Run1* соотв. *Rpv1* (Merdinoglu et al., 2003; Barker, et al., 2005). Фенотипический отбор, основанный на естественном инфицировании в полевых условиях, не выявил симптомов заболевания оидиумом. Симптомы заболевания милдью либо отсутствовали, либо были незначительными у 66 генотипов из всей популяции (44 %). MAS после этого применяли только для фенотипически устойчивых сеянцев. 64 из 66 сеянцев показали локус *Run1/Rpv1*, что свидетельствует о достоверности фенотипического отбора. Идентифицированы 17 генотипов по комбинации всех локусов устойчивости, что особенно ценно для отбора новых сортов либо дальнейшей селекционной работы.

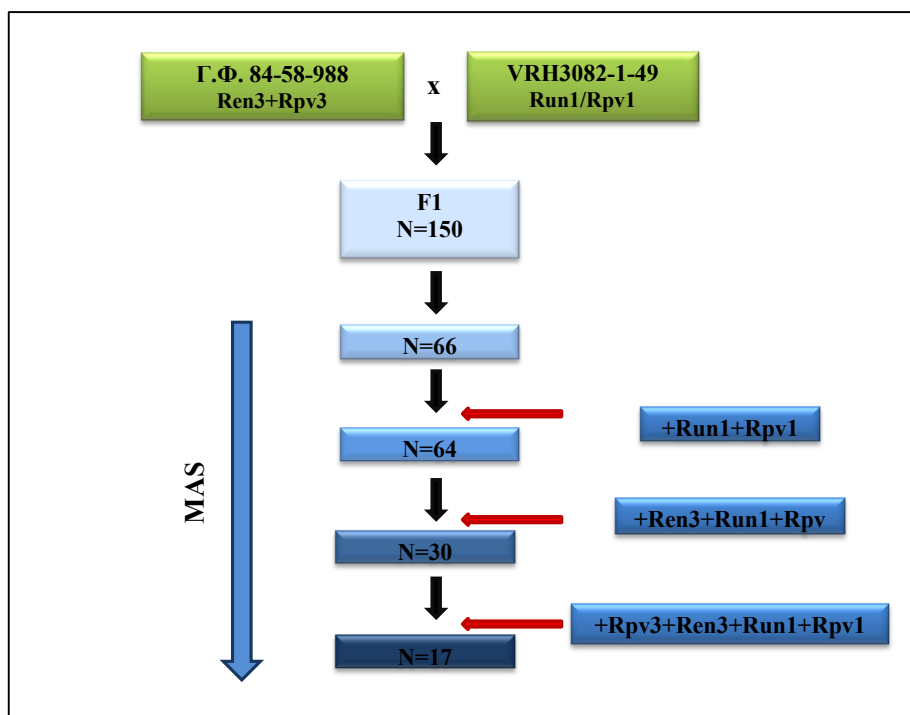


Рисунок 3 – Схема с примером для отбора генотипов с пирамидированными локусами устойчивости

До настоящего времени идентифицированные локусы устойчивости к милдью и оидиуму демонстрируют доминантно-рецессивное наследование, что означает скрещивание генотипа, демонстрирующего гетерозиготный локус устойчивости, и генотипа, являющегося гомозиготным рецессивным в этом локусе, что приводит к уровню сегрегации 1:1 (устойчивый : восприимчивый). Для пирамидирования большего числа несвязанных локусов устойчивости от доноров с гетерозиготными локусами устойчивости решающим моментом может стать размер популяции. В целом можно утверждать, что требуемый для получения одного сеянца с полными пирамидированными локусами устойчивости у потомства размер популяции должен составлять $2N$ (N = количество несвязанных локусов). Учитывая тот факт, что селекция по другим признакам, таким как качество, требует дальнейшей генетической вариации, значительно возрастет требуемый размер потомства.

Для эффективной стратегии пирамидальной резистентности может быть полезным создание линий размножения с пирамидированными гомозиготными локусами устойчивости. Преимущество использования такого рода генотипов в селекции связано с тем, что все потомство, полученное от таких линий, несет все локусы устойчивости, и,

следовательно, вся генетическая вариация может использоваться для выбора других признаков, таких как качественные характеристики. Это может компенсировать тот факт, что размеры популяций, необходимых для идентификации генотипов с комбинированными локусами гомозиготной устойчивости, значительно выше ($22N$; N = количество несвязанных локусов). Особенно, в случае, когда популяции создаются методом перекрестного опыления вследствие самоопыления подходящих генотипов, создание популяции достаточных размеров не должно стать такой уж большой проблемой.

На рисунке 3 продемонстрирован процесс и результаты подхода к идентификации генотипов с локусами устойчивости, гомозиготными для *Run1/Rpv1*, *Ren3* и *Rpv3*.

Помимо этих селекционных линий с полной гомозиготностью по всем локусам устойчивости были идентифицированы другие сеянцы с частично гомозиготными локусами устойчивости, которые также могут быть очень ценными для дальнейшей селекционной работы (рисунок 4).

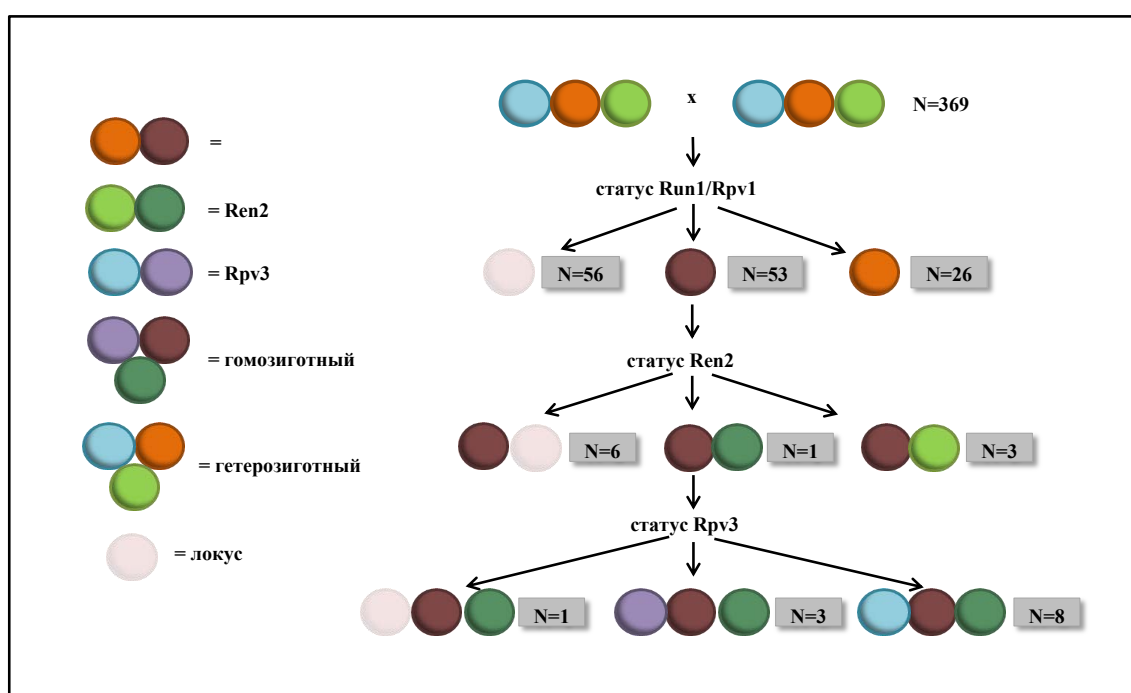


Рисунок 4 – Схема идентификации генотипов с гомозиготными локусами устойчивости, полученными из популяции, полученной путем открытого опыления генотипа с пирамидированными локусами устойчивости *Run1/Rpv1*, *Ren3* и *Rpv3*

Отбор родительских сортов с потенциалом пирамидирования

Для милдью и оидиума была выявлена связь нескольких локусов устойчивости с молекулярными маркерами (Wiedemann-Merdinoglu et al., 2006; Welter et al., 2007; Bellin et al., 2009; Peressotti et al., 2010; Marguerit et al., 2009; Hoffmann et al., 2008; Dalbo et al., 2001; Barker et al., 2005) Их можно использовать для проверки родительских сортов на способность пирамидировать различные локусы устойчивости. Очевидно, что пирамидирования всех связанных с резистентностью локусов за один шаг скрещивания достичь невозможно. Только комбинации группы сортов 5 с группой сортов 7 или 8 (таблица 1) имеют потенциал для объединения четырех связанных с резистентностью локусов (*Ren1 + Ren3 + Run1/Rpv1 + Rpv3* соотв. *Ren3 + Run1/Rpv1 + Rpv3 + Rpv10*). Предполагая конструкцию будущих сортов, имеющих как минимум локус *Run1/Rpv1* и один дополнительный локус и для оидиума, и для

милдью (для повышения долгосрочной устойчивости), селекционерам следует принять во внимание третью резистентность (например, к вредителям) на будущее, чтобы обеспечить перспективность новых сортов.

Таблица 1 – Классификация родительских сортов по наличию (+) соотв. отсутствию (-) локусов, связанных с устойчивостью к милдью

Группа сортов	оидиум милдью				
	Ren1	Ren3	Run1/Rpv1	Rpv3	Rpv10
1*	-	-	-	-	-
2	-	-	+	-	-
3	-	-	+	+	-
4	-	+	+	-	-
5	-	+	+	+	-
6	-	+	-	+	-
7	-	-	-	-	+
8	+	-	-	-	-

* – все традиционные сорта *Vitis vinifera* без устойчивости к милдью и оидиуму

Применяемый к родительским сортам маркер-вспомогательный отбор не только позволяет отобрать родителей с потенциалом пирамидирования, но и избежать скрещиваний с отсутствием потенциального пирамидирования, которые ранее, когда родительский отбор основывался только на фенотипической оценке, было невозможно исключить.

Новые инструменты селекции, такие как MAS, открывают новые возможности для введения характеристик устойчивости от резистентных видов в геном *Vitis vinifera* L., становятся очень эффективны, а также ускоряют селекционную работу. Пирамидирование локусов устойчивости с помощью MAS обещает сочетание качества и высокую устойчивость к болезням. Стратегии селекции, основанные на эмпирическом опыте в прошлом, в ближайшей перспективе будут заменены селекцией, основанной на знаниях, в значительной степени при поддержке селекции с помощью маркеров (Eibach et al., 2010).

Использование устойчивых сортов винограда, полученных в рамках селекционных программ, представляет собой потенциальную альтернативу для борьбы с милдью и оидиумом винограда, хотя этот подход ограничен пределами естественной устойчивости. Последние достижения в изучении взаимодействия инфекции и виноградной лозы приводит к идентификации локусов резистентности с ассоциированными молекулярными маркерами для использования в эффективном скрининге генотипов виноградной лозы и для программ предварительной селекции. Разработка протоколов контролируемой инфекции и современные стратегии «омики» (секвенирование/геномика следующего поколения, QTLOmics, транскриптомика, протеомика и метаболомика), интегрированные со сравнительными исследованиями, проливают свет на ранние реакции хозяина на атаку милдью и сложные защитные механизмы растений, которые запускаются. (Buonassisi et al., 2017).

Оптимизация программы псевдо-обратного скрещивания с дикими видами на генетическом фоне *Vitis vinifera* L. с применением MAS

Дикие виды являются ценным ресурсом резистентности от целого ряда вредителей и болезней. С другой стороны, им не хватает качественных признаков, в то время как сорта, принадлежащие к генофонду *Vitis vinifera* L., характеризуются отличными качественными

характеристиками. До настоящего времени имеется очень мало знаний о генетике комплекса соединений, влияющих на качество. Вполне вероятно, что в геноме существует целый ряд локусов, отвечающих за различные влияющие на качество соединения. Поэтому целесообразно установить интрогрессионные линии, обладающие, помимо целевого локуса устойчивости, преимущественно высоким процентом генома *Vitis vinifera* L. Применение MAS для определения таких интрогрессионных линий может не только существенно повысить эффективность, но и ускорить маркер-вспомогательное обратное скрещивание (МАВС). Данная процедура показана на примере введения устойчивости против филлоксеры в генофонд *Vitis vinifera* L. (Zhang et al., 2009; Hausmann et al., 2014). На основе популяции F₁ от скрещивания сорта *Vitis vinifera* 'Gf.V3125' и подвойного сорта Бернер, обладающего высокой устойчивостью к филлоксере на корнях, Занг и др. (Zhang et al., 2009) создали генетическую карту и идентифицировали QTL (локус количественных признаков) по устойчивости к филлоксере на корнях по группе сцепления 13.

Исследования, проводимые в последнее десятилетие Хаусманом и группой исследователей (Hausmann et al., 2014; Frommer et al., 2022) выявили узкие фланкирующие маркеры, подходящие для определения локуса устойчивости *Rdv1*. Демонстрирующие локус устойчивости растения F₁ использовали для создания поколения возвратного скрещивания (pBC₁). 117 сеянцев продемонстрировали отвечающие за устойчивость аллели по всем протестированным маркерам. Для 17 из 25 сеянцев получилось определить связанные с устойчивостью аллели для непосредственно фланкирующих маркеров, но произошла рекомбинация между нисходящими/восходящими маркерами. Девять из 14 сеянцев показали наличие связанных с резистентностью к филлоксере аллелей, только в восходящем/нисходящем от локуса *Rdv1*. Для этих сеянцев события рекомбинации происходили вблизи локуса *Rdv1*, и они представляют интерес для дальнейших исследований по выявлению дополнительных маркеров ближе к локусу-мишени. Для 157 сеянцев, демонстрирующих маркеры устойчивости, непосредственно фланкирующие локус *Rdv1*, была проведена фоновая селекция (Zhang et al., 2009; Hausmann et al., 2014). Всего было проанализировано 99 равномерно распределенных по всему геному SSR-маркеров. Родители и прародители были включены в исследования, что позволило дифференцировать, были ли аллели унаследованы от *Vitis vinifera* L. в насыщающих скрещиваниях или от генотипа диких видов в родословной. Максимальное количество сеянцев классифицируются в диапазоне от 72,5 до 77,5 %, подтверждая уровень ожиданий в 75 % от доли генома *Vitis vinifera* L. в pBC₁. С другой стороны, наблюдали значительное отклонение от среднего значения. Удалось идентифицировать шесть сеянцев с унаследованными от *Vitis vinifera* L. аллелями, в диапазоне от 82,5 % до 87,5 %. Если предположить, что маркеры равномерно распределены по всему геному, можно сделать вывод, что родитель *Vitis vinifera* L. передал от 65 % до 75 % своего генома этим сеянцам.

Результатом геномного чтения подвойного сорта винограда Boerner (*Vitis riparia* GM183 × *Vitis cinerea* Arnold) стало создание полнофазной высококачественной последовательности генома, названной BoeRC. Для описания локуса устойчивости к филлоксере *Rdv1* была проведена комплексная аннотация генов обоих гаплотипов 'Boerner', обозначенных как BoeRip и BoeCin. С помощью картографической популяции, полученной от чувствительного сорта *V. vinifera* и 'Boerner', локус *Rdv1* был дополнительно разграничен. *Rdv1*, происходящий от *V. cinerea* и включенный в гаплотип BoeCin, был сравнен с последовательностями восприимчивых к филлоксере и устойчивых к филлоксере сортов. Между фланкирующими областями, которые демонстрировали высокую синтению, обнаружены и точно охарактеризованы разнообразные области последовательностей, которые охватывают от 202 до 403 кбп в разных гаплотипах. В BoeCin были

идентифицированы пять предполагаемых генов устойчивости к болезням, которые представляют собой вероятных кандидатов для придания устойчивости к филлоксеру (Frommer et al., 2020; 2022).

По сравнению с традиционными подходами применение MAS в контексте фонового отбора является своего рода прорывом по обеспечению доступности ценных признаков диких видов в программах селекции в управляемые сроки. Это сравнение показывает, что при применении фонового отбора число поколений для установления интрогрессионных линий может быть уменьшено с пяти до трех поколений. С учетом четырехлетнего цикла от семени до сеянца винограда, полезную для дальнейшего размножения линию интрогрессии можно получить через 12 лет после установления популяции F₁. Оптимизацией агротехники сеянцев можно сократить цикл от семени до сеянца до двух лет, а это означает, что линию интрогрессии можно получить уже через восемь лет после формирования популяции F₁.

Редактирование генома

В последнее время стали доступны многообещающие методы быстрого получения устойчивых к болезням лоз при сохранении остальных признаков. Наиболее мощным является редактирование генома, такое как CRISPR/Cas (clustered regularly short palindromic repeats – короткие палиндромные повторы, последовательно расположенные группами), которое требует знания нуклеотидной последовательности и функции сайт-мишени. Традиционные винные сорта винограда с различными правками известных мишеней могут быть получены за один этап и отобраны для углубленных испытаний по фенотипическим признакам. Селекция с помощью геномики извлекает выгоду из этих достижений, позволяя быстро идентифицировать гены, связанные с климатическими агрономическими признаками, для селекции культур, адаптированных к меняющемуся климату (Scheben et al., 2016; 2017). Создание новых сортов методом редактирования генома возможно благодаря значительному прогрессу в области геномики, поскольку у генетиков появляется возможность использования больших баз данных.

В мировой практике получены первые положительные опыты с использованием данного метода для целевого мутагенеза и эффективного создания мутаций посредством нокаута на винограде *V. vinifera* L., которые условно можно разделить на 2 группы. Первая группа генов-мишеней – гены восприимчивости к фитопатогенам. Мутации этих генов могут приводить к сдвигу рамки считывания гена, и нарушению его функции, обеспечивающей восприимчивость, что влечет за собой повышение устойчивости полученных модифицированных растений к заболеванию. У винограда *V. vinifera* L. мишенями для нокаута послужили 2 гена MLO-7 WKKY52, ответственность за чувствительность к оидиуму и серой гнили соответственно (Тихонова, Хлесткина, 2019; Malnoy, et al., 2016; Wang, et al., 2018). Вторая группа генов-мишеней – это потенциальные репрессоры цветения и роста растений. На винограде сорта Шардоне в качестве гена-мишени был применен ген L-идонатдегидрогеназы (*IdnDH*), контролирующей биосинтез винной кислоты (Osakabe, et al., 2018; Ren et al., 2022). Нокаут гена *IdnDH* не демонстрировал изменения фенотипа трансгенных растений, но три линии существенно отличались по содержанию винной кислоты, что представляет интерес для выведения сортов винограда столового направления.

Выводы

Непрерывная селекционная деятельность, проводившаяся в течение многих десятилетий в различных странах, привела к значительному успеху с точки зрения создания новых сортов, сочетающих высокое качество с признаками устойчивости, в основном по

отношению к грибным болезням. В настоящее время с развитием геномных технологий становится все более возможным установить в геноме винограда гены устойчивости к патогенам и перейти от традиционной генеративной селекции сортов винограда к маркерной селекции (MAC) на уровне генов и геномов. Однако нельзя забывать также об эволюционной изменчивости возбудителей, с одной стороны, так и о преодолении защитного действия отдельных генов устойчивости растений винограда.

Предубеждения, касающиеся качества вин новых устойчивых сортов до сих пор популярны и могут быть причиной того, что большая часть винодельческого сообщества игнорирует существенный прогресс в селекции. В тоже время, новым вызовом для селекционеров является необходимость повышения устойчивости виноградарства и адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Банникова А.А. Молекулярные маркеры и современная филогенетика млекопитающих // Журнал общей биологии. 2004. Т. 65, № 4. С. 278-305. EDN: [OWARQF](#)
2. Власов В.В., Мулюкина Н.А., Тулаева М.И., Ковалева И.А., Чисников В.С., Конуп Л.А., Карастан О.М., Лосева Д.Ю. Применение ДНК-технологий в ННЦ «ИВиВ им. В.Е. Таирова» // Русский виноград. 2015. Т. 1. С. 55-62. EDN: [VEDGKZ](#)
3. Вольнкин В.А., Зленко В.А., Лиховской В.В. Селекция винограда на бессемянность, крупногодность и раннеспелость на полиплоидном уровне // Виноградарство и виноделие. 2009. Т. 39. С. 9-13. EDN: [VKAEGX](#)
4. Голодрига П.Я., Трошин Л.П. Биолого-техническая программа создания комплексно-устойчивых высокопродуктивных сортов винограда // Перспективы селекции и генетики винограда на иммунитет. Киев: Наукова думка. 1978. С. 259-264.
5. Ильницкая Е.Т., Петров В.С., Нудьга Т.А., Ларькина М.Д., Никулушкина Г.Е. Совершенствование сортимента и методов селекции винограда для нестабильных климатических условий юга // Виноделие и виноградарство. 2016. № 4. С. 36-41. EDN: [XILYFD](#)
6. Клименко В.П. Научные основы создания исходного материала и выведения новых высокопродуктивных сортов винограда: дис. ... д-ра. с.-х. наук / ВНИИВиВ «Магарач». Ялта, 2014. 402 с. EDN: [YRDBUT](#)
7. Кострикин И.А., Сьян И.Н., Майстренко Л.А., Майстренко А.Н. Межвидовая гибридизация винограда // Виноделие и виноградарство. 2002. № 1. С. 36-38. EDN: [WECQUP](#)
8. Лиховской В.В. Методология совершенствования генетического разнообразия и сортимента винограда. ВНИИВиВ «Магарач». Симферополь, 2019. 367 с. EDN: [YVEMVR](#)
9. Матвеева Т.В., Павлова О.А., Богомаз Д.И., Демкович Л.А., Лутова А.Е. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений // Экологическая генетика. 2011. Т. 9, № 1. С. 32-43. EDN: [NUDWXN](#)
10. Рисованная В.И. Молекулярно-генетическое кодирование микросателлитных профилей сортов винограда // Магарач. Виноградарство и виноделие. 2008. № 4. С. 9-10. EDN: [ZDCCVL](#)
11. Рисованная В.И., Гориславец С.М. Молекулярно-генетические маркеры в селекции винограда // Научные труды Государственного научного учреждения Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства Российской академии сельскохозяйственных наук. 2013. Т. 1. С. 174-180. EDN: [RBXVFR](#)

12. Смарагдов М.Г. Тотальная геномная селекция с помощью SNP как возможный ускоритель традиционной селекции // Генетика. 2009. Т. 45, № 6. С. 725-728. EDN: [KMLMWR](#)
13. Сулимова Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения // Успехи современной биологии. 2004. Т. 124, № 3. С. 260-271. EDN: [OXMHRV](#)
14. Тихонова Н.Г., Хлесткина Е.К. Генетическое редактирование для улучшения плодовых и ягодных культур // Садоводство и виноградарство. 2019. № 4. С. 10-15. <https://doi.org/10.31676/0235-2591-2019-4-10-15>. EDN: [SEDBIE](#)
15. Хлесткина Е.К. Молекулярные методы анализа структурно-функциональной организации генов и геномов высших растений // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2011. Т. 15, № 4. С. 757-768. EDN: [OOZBTB](#)
16. Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17, № 4-2. С. 1044-1054. EDN: [RVGWOT](#)
17. Altukhov Yu.P., Salmenkova E.A. DNA polymorphism in population GENETICS // Genetika. 2002. Vol. 38, № 9. P. 1173-1195. EDN: [MPNTEB](#)
18. Barker C., Donald L., Pauquet T., Ratnaparkhe J., Bouquet A., Adam-Blondon A.-F., Thomas M.R., Dry I. Genetic and physical mapping of the grapevine powdery mildew resistance gene, *Run1*, using a bacterial artificial chromosome library // Theoretical and Applied Genetics. 2005. Vol. 111. P. 370-377. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-2030-8>
19. Bavaresco L. Progress in grapevine breeding for disease resistance // Vignevini. 1990. Vol. 17. P. 29-38.
20. Bavaresco L. Attualita e prospettive sui nuovi vitigni resistenti alle malattie // L'Enologo. 2017. Vol. 10. P. 56-59. <http://hdl.handle.net/10807/111731>
21. Bavaresco L., Squer C. Outlook on disease resistant grapevine varieties // BIO Web of Conferences. 2022. Vol. 44. P. 06001. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20224406001>
22. Bellin D., Peressotti E., Merdinoglu D., Wiedemann-Merdinoglu S., Adam-Blondon A.-F., Cipriani G., Morgante M., Testolin R., Di Gaspero G. Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine 'Bianca' is controlled by a major dominant gene causing localized necrosis at the infection site // Theoretical and Applied Genetics. 2009. Vol. 120. P. 163-176. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1167-2>
23. Buonassisi D., Colombo M., Migliaro D., Dolzani C., Peressotti E., Mizzotti C., Velasco R., Masiero S., Perazzolli M., Vezzulli S. Breeding for grapevine downy mildew resistance: a review of «omics» approaches // Euphytica. 2017. Vol. 213, № 103. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1882-8>
24. Cattell H., Miller L. The Wines of the East. III. Native American Grapes. Lancaster: L&H Photojournalism. 1980.
25. Dalbo M.A., Ye G.N., Weeden N.F., Wilcox W.F., Reisch B.I. Marker assisted selection for powdery mildew resistance in grapes // Journal of the American Society for Horticultural Science. 2001. Vol. 126. P. 83-89. <https://doi.org/10.21273/JASHS.126.1.83>
26. De Rosso M., Panighel A., Migliaro D., Possamai T., De Marchi F., Velasco R., Flamini R. The pivotal role of high-resolution mass spectrometry in the study of grape glycosidic volatile precursors for the selection of grapevines resistant to mildews // Journal of Mass Spectrometry. 2023. Vol. 58. P. e496. <https://doi.org/10.1002/jms.4961>
27. Eibach R., Töpfer R., Hausmann L. Use of genetic diversity for grapevine resistance breeding // Mitteilungen Klosterneuburg. 2010. Vol. 60. P. 332-337.

28. Eibach R., Töpfer R. Progress in Grapevine Breeding // Acta Horticulture. Proceedings of the X International Conference on Grapevine Breeding and Genetics, Geneva, New York, USA. 2014. Vol. 1046. P. 197-209. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1046.25>
29. Fischer B.M., Salakhutdinov I., Akkurt M., Eibach R., Edwards K.J., Töpfer R., Zyprian E. Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine // Theoretical and Applied Genetics. 2004. Vol. 108. P. 501-515. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1445-3>
30. Frommer B., Holtgräwe D., Hausmann L., Viehöver P., Huettel B., Töpfer R., Weisshaar B. Genome sequences of both organelles of the grapevine rootstock cultivar 'Börner' // Microbiology Resource Announcements. 2020. Vol. 9. <https://doi.org/10.1128/mra.01471-19>
31. Frommer B., Hausmann L., Holtgräwe D., Viehöver P., Hüttel B., Reinhardt R., Töpfer R., Weisshaar B. A fully phased interspecific grapevine rootstock genome sequence representing *V. riparia* and *V. cinerea* and allele-aware annotation of the phylloxera resistance locus *Rdv1* // Preprint. 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.07.07.499180>
32. Fort F., Lin-Yang Q., Ricardo Suarez-Abreu L., Sancho-Galan P., Miquel Canals J., Zamora F. Study of Molecular Biodiversity and Population Structure of *Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera* on the Volcanic Island of El Hierro (Canary Islands, Spain) by Using Microsatellite Markers // Horticulturae. 2023. Vol. 9, N 12. P. 1297. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9121297>
33. Hausmann L., Eibach R., Zyprian E., Töpfer R. Sequencing of the Phylloxera Resistance Locus *Rdv1* of Cultivar 'Börner' // Acta Horticulturae. 2014. Vol. 1046. P. 73-78. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1046.7>
34. Hoffmann S., Di Gaspero G., Kovacs L., Howard S., Kiss E., Galbacs Z., Testolin R., Kozma P. Resistance to *Erysiphe necator* in the grapevine 'Kishmish vatkana' is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth // Theoretical and Applied Genetics. 2008. Vol. 116. P. 427-438. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0680-4>
35. Jaillon O., Aury J.-M., Noel B., Choisne N., Jubin C., Dasilva C., Poulain J., Billault A., Segurens B., Gouyvenoux M., Ugarte E., Anthouard V., Vico V., Scarpelli C., Artiguenave F., Weissenbach J., Quétier F., Wincker P. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla // Nature. 2007. Vol. 449. P. 463-467. <https://doi.org/10.1038/nature06148>
36. Likhovskoi V.V., Zlenko V.A., Spotar G.Y., Klimenko V.P. Marker-Assisted Selection of Grape Hybrids // Nanotechnol Russia. 2023. Vol. 18. P. 458-461. <https://doi.org/10.1134/S2635167622600080>
37. Malnoy M., Viola R., Jung M.-H., Koo O.-J., Kim S., Kim J.-S., Velasco R., Nagamangala Kanchiswamy C. DNA-Free Genetically Edited Grapevine and Apple Protoplast Using CRISPR/Cas9 Ribonucleoproteins // Frontiers in Plant Science. 2016. Vol. P. 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01904>
38. Marguerit E., Boury C., Manicki A., Donnart M., Butterlin G., Nemorin A., Wiedemann-Merdinoglu S., Merdinoglu D., Ollat N., Decroocq S. Genetic dissection of sex determinism, inflorescence morphology and downy mildew resistance in grapevine // Theoretical and Applied Genetics. 2009. Vol. 118. P. 1261-1278. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-0979-4>
39. Merdinoglu D., Wiedemann-Merdinoglu S., Coste P., Dumas V., Haetty S., Butterlin G., Greif C. Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia* // Acta Horticulturae. 2003. Vol. 603. P. 451-456. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.603.57>
40. Myles S., Chia J.M., Hurwitz B., Simon C., Yuan Zhong G., Buckler E., Ware D. Rapid genomic characterization of the genus *Vitis* // PLoS ONE. 2010. Vol. 5. P. e8219. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008219>

41. Osakabe Y., Liang Z., Ren C., Nishitani C., Osakabe K., Wada M., Komori S., Malnoy M., Velasco R., Poli M., Jung M.-H., Koo O.-J., Viola R., Nagamangala Kanchiswamy C. CRISPR/Cas9-mediated genome editing in apple and grapevine // Nature Protocols. 2018. Vol. 13. P. 2844-2863. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0067-9>
42. Peressotti E., Wiedemann-Merdinoglu S., Delmotte F., Bellin D., Di Gaspero G., Testolin R., Merdinoglu D., Mestre P. Breakdown of resistance to grapevine downy mildew upon limited deployment of a resistant variety // BMC Plant Biology. 2010. № 10. P. 147. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-147>
43. Ren C., Lin Y., Li H., Li S., Liang Z. Targeted genome editing in grape using multiple CRISPR-guided editing systems // Preprint. 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.08.22.504768>
44. Riaz S., Krivanek A.F., Xu K., Walker M.A. Refined mapping of the Pierce's disease resistance locus, *PdR1*, and *Sex* on an extended genetic map of *Vitis rupestris* × *V. arizonica* // Theoretical and Applied Genetics. 2006. Vol. 113. P. 1317-1329. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0385-0>
45. Röckel F., Trapp O., Zyprian E., Hausmann L., Migliaro D., Vezzulli S., Töpfer R., Maul E. A 'Regent' pedigree update: ancestors, offspring and their confirmed resistance loci // Vitis. 2021. Vol. 60. P. 189-193. <https://doi.org/10.5073/vitis.2021.60.189-193>
46. Röckel F., Schreiber T., Schüler D., Braun U., Krukenberg I., Schwander F., Peil A., Brandt C., Willner E., Gransow D., Scholz U., Kecke S., Maul E., Lange M., Töpfer R. PhenoApp: A mobile tool for plant phenotyping to record field and greenhouse observations // F1000Research. 2022. Vol. 11:12. <https://doi.org/10.12688/f1000research.74239.2>
47. Scheben A., Yuan Y., Edwards D. Advances in Genomics for Adapting Crops to Climate Change // Current Plant Biology. 2016. Vol. 6. P. 2-10. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2016.09.001>
48. Scheben A., Wolter F., Batley J., Puchta H., Edwards D. Towards CRISPR/Cas crops – bringing together genomics and genome editing // New phytologist. 2017. Vol. 126. P. 682-698. <https://doi.org/10.1111/nph.14702>
49. This P., Jung A., Boccacci P., Borrego J., Botta R., Costantini L., Crespan M., Dangl G.S., Eisenheld C., Ferreira-Monteiro F., Grando S., Ibanez J., Lacombe T., Laucou V., Magalhaes R., Meredith C.P., Milani N., Peterlunger E., Regner F., Zulini L., Maul E. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars // Theoretical and Applied Genetics. 2004. Vol. 109. P. 1448-1458. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1760-3>
50. This P., Lacombe T., Cadle-Davidson M., Owens C. Wine grape (*Vitis vinifera* L.) color associates with allelic variation in the domestication gene *VvmybA1* // Theoretical and Applied Genetics. 2007. Vol. 114. P. 723-730. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0472-2>
51. Töpfer R., Trapp O. A cool climate perspective on grapevine breeding: climate change and sustainability are driving forces for changing varieties in a traditional market // Theoretical and Applied Genetics. 2022. Vol. 135. P. 3947-3960. <https://doi.org/10.1007/s00122-022-04077-0>
52. Vasylyk I., Gorislavets S., Matveikina E., Lushchay E., Grigoreva E., Volkov V., Volodin V., Spotar G., Risovannaya V., Likhovskoi V., Volynkin V., Potokina E., Lytkin K., Karzhaev D. SNPs associated with foliar phylloxera tolerance in hybrid grape populations carrying introgression from *Muscadinia* // Horticulturae. 2022. Vol. 8. P. 16. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8010016>. EDN: SUMMXK
53. Volynkin V.A., Polulyakh A.A., Levchenko S.V., Vasylyk I.A., Likhovskoy V.V. Aspects of the particular genetics of grapes prolonged for all horticulture crops // Horticultural Crops. London. 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.90566>. EDN: MYXMQV
54. Volynkin V., Likhovskoi V., Levchenko S., Vasylyk I., Ryff I., Berezovskaya S., Boyko V., Belash D. Modern trends of breeding cultivars for recreational areas of viticulture // Acta Horticulturae. 2021a. Vol. 1307. P. 13-20. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1307.3>. EDN: YWPFEB

55. Volynkin V.A., Levchenko S.V., Vasylyk I.A. Genetically determined expression and inheritance of grapes resistance to pathogens as a manifestation of co-evolution // *Acta Horticulturae*. 2021b. Vol. 1315. P. 335-340. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1315.50>. EDN: **IBMMCM**
56. Velasco R., Zharkikh A., Troggio M., Cartwright D.A., Cestaro A., Pruss D., Pindo M., FitzGerald L.M., Vezzulli S., Reid J., Malacarne G., Iliev D., Coppola G., Wardell B., Micheletti D., Macalma T., Facci M., Mitchell J.T., Perazzolli M., Eldredge G., Gatto P., Oyzerski R., Moretto M., Gutin N., Stefanini M., Chen Y., Segala C., Davenport C., Dematte L., Mraz A., Battilana J., Stormo K., Costa F., Tao Q., Si-Ammour A., Harkins T., Lackey A., Perbost C., Taillon B., Stella A., Solovyev V., Fawcett J.A., Sterck L., Vandepoele K., Grandó S.M., Toppo S., Moser C., Lanchbury J., Bogden R., Skolnick M., Sgaramella V., Bhatnagar S.K., Fontana P., Gutin A., Van de Peer Y., Salamini F., Viola R. A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety // *PLoS ONE*. 2007. Vol. 2. P. e1326. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001326>
57. Wang Z., Wang S., Li D., Zhang Q., Li L., Zhong C., Liu Y., Huang H. Optimized paired-sgRNA/Cas9 cloning and expression cassette triggers high-efficiency multiplex genome editing in kiwifruit // *Plant Biotechnology Journal*. 2018. Vol. 16. P. 1424-1433. <https://doi.org/10.1111/pbi.12884>
58. Welter L.J., Gökürk-Baydar N., Akkurt M., Maul E., Eibach R., Töpfer R., Zyprian E. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.) // *Molecular Breeding*. 2007. Vol. 20. P. 359-374. <https://doi.org/10.1007/s11032-007-9097-7>
59. Wiedemann-Merdinoglu S., Prado E., Coste P., Dumas V., Butterlin G., Bouquet A., Merdinoglu D. Genetic analysis of resistance to downy mildew from *Muscadinia rotundifolia* // 9th International Conference on Grape Genetics and Breeding. 2006. Udine, Italy.
60. Zhang J., Hausmann L., Eibach R., Welter L., Töpfer R., Zyprian E. A framework map from grapevine V3125 (*Vitis vinifera* 'Schiava grossa' × 'Riesling') × rootstock cultivar 'Börner' (*Vitis riparia* × *Vitis cinerea*) to localize genetic determinants to phylloxera root resistance // *Theoretical and Applied Genetics*. 2009. Vol. 119. P. 1039-1051. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1107-1>
61. Zharkikh A., Troggio M., Dmitry T., Cestaro A., Eldredge G., Pindo M., Mitchell J.T., Vezzulli S., Bhatnagar S., Fontana P., Viola R., Gutin A., Salamini F., Skolnick M., Velasco R. Sequencing and assembly of highly heterozygous genome of *Vitis vinifera* L. cv. Pinot Noir: Problems and solutions // *Journal of Biotechnology*. 2008. Vol. 136. P. 38-43. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2008.04.013>

References

1. Bannikova, A.A. (2004). Molecular markers and modern phylogenetics of mammals. *Journal of general biology*, 65, 278-305. EDN: **OWARQF** (In Russian, English abstract).
2. Vlasov, V.V., Muljukina, N.A., Tulaeva, M.I., Kovaljova, I.A., Chisnikov, V.S., Konup, L.O., Karastan, O.M., & Losjeva, D.Ju. (2015). DNA-technologies for grapevine researches in NSC «Tairov research institute of viticulture and wine-making». *Russian grapes*, 1, 55-62. EDN: **VEDGKZ** (In Russian, English abstract).
3. Volynkin, V.A., Zlenko, V.A., & Likhovskoi, V.V. (2009). Grape breeding for seedlessness, large-fruitedness and early maturity at the level of polyploidy. *Viticulture and winemaking*, 39, 9-13. EDN: **VKAEGX** (In Russian, English abstract).
4. Golodriga, P.Ya., & Troshin, L.P. (1978). *Biological and technical program for the creation of complex-resistant, highly productive grape varieties*. Perspectives on selection and genetics of grapes for immunity. Kyiv: Naukova dumka. (In Russian).

5. Il'nickaja, E.T., Petrov, V.S., Nud'ga, T.A., Lar'kina M.D., & Nikulushkina, G.E. (2016). Improvement of assortment and grapes breeding methods for unstable climatic conditions of south of Russia. *Winemaking and viticulture*, 4, 36-41. EDN: [XILYFD](#) (In Russian, English abstract).
6. Klimenko, V.P. (2014). *Scientific basis for creating source material and breeding new highly productive grape varieties (Agri. Sci. Cand. Thesis)*. ARNRIVW «Magarach». Yalta. EDN: [YRDBUT](#) (In Russian).
7. Kostrikin, I.A., Syan, I.N., Maystrenko, L.A., & Maystrenko, A.N. (2002). Interspecific hybridization of grapes. *Winemaking and Viticulture*, 1, 36-38. EDN: [WECQUP](#) (In Russian).
8. Likhovskoi, V.V. (2019). *Methodology for improving genetic diversity and assortment of grapes*. ARNRIVW «Magarach». Simferopol. EDN: [YVEMVR](#) (In Russian).
9. Matveeva, T.V., Pavlova, O.A., Bogomaz, D.I. Demkovich, L.A., & Lutova, A.E. (2011). Molecular markers for plant species identification and phylogenetics. *Ecological genetics*, 9, 32-43. EDN: [NUDWXN](#) (In Russian).
10. Risovannaya, V.I (2008). Molecular genetic coding of microsatellite profiles of grape varieties. *Magarach. Viticulture and winemaking*, 4, 9-10. EDN: [ZDCCVL](#) (In Russian).
11. Risovannaia, V., & Gorislavets, S. (2013). Molecular-genetic markers in the grapes breeding. *Scientific works of the State Scientific Institution of the North Caucasus Zonal Research Institute of Horticulture and Viticulture of the Russian Academy of Agricultural Sciences*, 1, 174-180. EDN: [RBXVFR](#) (In Russian, English abstract).
12. Smaragdov, M.G. (2009). Genomic selection as a possible accelerator of traditional selection. *Russian Journal of Genetics*, 45, 633-636. EDN: [KMLMWR](#) (In Russian, English abstract).
13. Sulimova, G.E. (2004). DNK-markers in genetic studies: types of markers, their characteristics and application. *Uspekhi sovremennoi biologii*, 124, 260-271. EDN: [OXMHRV](#) (In Russian, English abstract).
14. Tikhonova, N.G., & Khlestkina, E.K. (2019). Genetic editing for improvement of fruit and small fruit crops. *Horticulture and viticulture*, 4, 10-15. <https://doi.org/10.31676/0235-2591-2019-4-10-15>. EDN: [SEDBIE](#) (In Russian, English abstract).
15. Khlestkina, E.K. (2011). Molecular methods of the analysis of the structural and functional organization of genes and genomes in higher plants. *Vavilov journal of genetics and breeding*, 15, 757-768. EDN: [OOZBTB](#) (In Russian, English abstract).
16. Khlestkina, E.K. (2013). Molecular markers in genetic research and breeding. *Vavilov journal of genetics and breeding*, 17, 1044-1054. EDN: [RVGWOT](#) (In Russian, English abstract).
17. Altukhov, Yu.P., & Salmenkova, E.A. (2002). DNA polymorphism in population GENETICS. *Genetika*, 38, 1173-1195. EDN: [MPNTEB](#)
18. Barker, C., Donald, L., Pauquet, T., Ratnaparkhe, J., Bouquet, A., Adam-Blondon, A.-F., Thomas, M.R., & Dry, I. (2005). Genetic and physical mapping of the grapevine powdery mildew resistance gene, *Run1*, using a bacterial artificial chromosome library. *Theoretical and Applied Genetics*, 111, 370-377. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-2030-8>
19. Bavaresco, L. (1990). Progress in grapevine breeding for disease resistance. *Vignevini*, 6, 29-38.
20. Bavaresco, L. (2017). Attualità e prospettive sui nuovi vitigni resistenti alle malattie. *L'Enologo*, 10, 56-59. <http://hdl.handle.net/10807/111731>
21. Bavaresco, L., & Squer, C. (2022). Outlook on disease resistant grapevine varieties. *BIO Web of Conferences*, 44, 06001. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20224406001>
22. Bellin, D., Peressotti, E., Merdinoglu, D., Wiedemann-Merdinoglu, S., Adam-Blondon, A.-F., Cipriani, G., Morgante, M., Testolin, R., & Di Gaspero, G. (2009). Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine 'Bianca' is controlled by a major dominant gene causing localized necrosis

- at the infection site. *Theoretical and Applied Genetics*, 120, 163-176. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20224406001>
23. Buonassisi, D., Colombo, M., Migliaro, D., Dolzani, C., Peressotti, E., Mizzotti, C., Velasco, R., Masiero, S., Perazzolli, M., & Vezzulli S. (2017). Breeding for grapevine downy mildew resistance: a review of «omics» approaches. *Euphytica*, 213(103). <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1882-8>
24. Cattell, H., & Miller, L. (1980). *The Wines of the East. III. Native American Grapes*. Lancaster: L&H Photojournalism.
25. Dalbo, M.A., Ye, G.N., Weeden, N.F., Wilcox, W.F., & Reisch, B.I. (2001). Marker assisted selection for powdery mildew resistance in grapes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126, 83-89. <https://doi.org/10.21273/JASHS.126.1.83>
26. De Rosso, M., Panighel, A., Migliaro, D. Possamai, T., De Marchi, F., Velasco, R., & Flamini, R. (2023). The pivotal role of high-resolution mass spectrometry in the study of grape glycosidic volatile precursors for the selection of grapevines resistant to mildews. *Journal of Mass Spectrometry*, 58, e496. <https://doi.org/10.1002/jms.4961>
27. Eibach, R., Töpfer, R., & Hausmann, L. (2010). Use of genetic diversity for grapevine resistance breeding. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 60, 332-337.
28. Eibach, R., & Töpfer, R. (2014). Progress in Grapevine Breeding. *Acta Horticulture*, 1046, 197-209. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1046.25>
29. Fischer, B.M., Salakhutdinov, I., Akkurt, M., Eibach, R., Edwards, K.J., Töpfer, R., & Zyprian, E. (2004). Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, 108, 501-515. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1445-3>
30. Frommer, B., Holtgrawe, D., Hausmann, L., Viehöver, P., Huettel, B., Töpfer, R., & Weisshaar, B. (2020). Genome sequences of both organelles of the grapevine rootstock cultivar 'Börner'. *Microbiology Resource Announcements*, 9. <https://doi.org/10.1128/mra.01471-19>
31. Frommer, B., Hausmann, L., Holtgrawe, D., Viehover, P., Huttel, B., Reinhardt, R., Töpfer, R., & Weisshaar, B. (2022). A fully phased interspecific grapevine rootstock genome sequence representing *V. riparia* and *V. cinerea* and allele-aware annotation of the phylloxera resistance locus *Rdv1*. *Preprint*. <https://doi.org/10.1101/2022.07.07.499180>
32. Fort, F., Lin-Yang, Q., Ricardo Suarez-Abreu, L., Sancho-Galan, P., Miquel Canals, J., & Zamora, F. (2023). Study of Molecular Biodiversity and Population Structure of *Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera* on the Volcanic Island of El Hierro (Canary Islands, Spain) by Using Microsatellite Marker. *Horticulturae*, 9, 1297. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9121297>
33. Hausmann, L., Eibach, R., Zyprian, E., & Töpfer, R. (2014). Sequencing of the Phylloxera Resistance Locus *Rdv1* of Cultivar 'Börner'. *Acta Horticulturae*, 1046, 73-78. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1046.7>
34. Hoffmann, S., Di Gaspero, G., Kovacs, L., Howard, S., Kiss, E., Galbacs, Z., Testolin, R., & Kozma P. (2008). Resistance to Erysiphe necator in the grapevine 'Kishmish vatkana' is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth. *Theoretical and Applied Genetics*, 116, 427-438. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0680-4>
35. Jaillon, O., Aury, J.-M., Noel, B., Choisne, N., Jubin, C., Dasilva, C., Poulain, J., Billault, A., Segurens, B., Gouyvenoux, M., Ugarte, E., Anthouard, V., Vico, V., Scarpelli, C., Artiguenave, F., Weissenbach, J., Quetier, F., & Wincker, P. (2007). The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature*, 449, 463-467. <https://doi.org/10.1038/nature06148>

36. Likhovskoi, V.V., Zlenko, V.A., Spotar, G.Y., & Klimenko, V. P. (2023). Marker-Assisted Selection of Grape Hybrids. *Nanotechnol Russia*, 18, 458-461. <https://doi.org/10.1134/S2635167622600080>
37. Malnoy, M., Viola, R., Jung, M.-H., Koo, O.-J., Kim, S., Kim, J.-S., Velasco, R., & Nagamangala Kanchiswamy, C. (2016). DNA-Free Genetically Edited Grapevine and Apple Protoplast Using CRISPR/Cas9 Ribonucleoproteins. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01904>
38. Marguerit, E., Boury, C., Manicki, A., Donnart, M., Butterlin, G., Nemorin, A., Wiedemann-Merdinoglu, S., Merdinoglu, D., Ollat, N., & Decroocq, S. (2009). Genetic dissection of sex determinism, inflorescence morphology and downy mildew resistance in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, 118, 1261-1278. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-0979-4>
39. Merdinoglu, D., Wiedemann-Merdinoglu, S., Coste, P., Dumas, V., Haetty, S., Butterlin, G., & Greif, C. (2003). Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia*. *Acta Horticulture*, 603, 451-456. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.603.57>
40. Myles, S., Chia, J.M., Hurwitz, B., Simon, C., Yuan Zhong, G., Buckler, E., & Ware, D. (2010). Rapid genomic characterization of the genus *Vitis*. *PLoS ONE*, 5, e8219. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008219>
41. Osakabe, Y., Liang, Z., Ren, C., Nishitani, C., Osakabe, K., Wada, M., Komori, S., Malnoy, M., Velasco, R., Poli, M., Jung, M.-H., Koo, O.-J., Viola, R., & Nagamangala Kanchiswamy, C. (2018). CRISPR/Cas9-mediated genome editing in apple and grapevine. *Nature Protocols*, 13, 2844-2863. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0067-9>
42. Peressotti, E., Wiedemann-Merdinoglu, S., Delmotte, F., Bellin, D., Di Gaspero, G., Testolin, R., Merdinoglu, D., & Mestre, P. (2010). Breakdown of resistance to grapevine downy mildew upon limited deployment of a resistant variety. *BMC Plant Biology*, 10, 147. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-147>
43. Ren, C., Lin, Y., Li, H., Li, S., & Liang, Z. (2022). *Targeted genome editing in grape using multiple CRISPR-guided editing systems*. Preprint. <https://doi.org/10.1101/2022.08.22.504768>
44. Riaz, S., Krivanek, A.F., Xu, K., & Walker, M.A. (2006). Refined mapping of the Pierce's disease resistance locus, PdR, and Sex on an extended genetic map of *Vitis rupestris* × *V. arizonica*. *Theoretical and Applied Genetics*, 113, 1317-1329. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0385-0>
45. Röckel, F., Trapp, O., Zyprian, E., Hausmann, L., Migliaro, D., Vezzulli, S., Töpfer, R., & Maul, E. (2021). A 'Regent' pedigree update: ancestors, offspring and their confirmed resistance loci. *Vitis*, 60, 189-193. <https://doi.org/10.5073/vitis.2021.60.189-193>
46. Röckel, F., Schreiber, T., Schüler, D., Braun, U., Krukenberg, I., Schwander, F., Peil, A., Brandt, C., Willner, E., Gransow, D., Scholz, U., Kecke, S., Maul, E., Lange, M., & Töpfer, R. (2022). PhenoApp: A mobile tool for plant phenotyping to record field and greenhouse observations. *F1000Research*, 11:12. <https://doi.org/10.12688/f1000research.74239.2>
47. Scheben, A., Yuan, Y., & Edwards, D. (2016). Advances in Genomics for Adapting Crops to Climate Change. *Current Plant Biology*, 6, 2-10. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2016.09.001>
48. Scheben, A., Wolter, F., Batley, J., Puchta, H., & Edwards, D. (2017). Towards CRISPR/Cas crops – bringing together genomics and genome editing. *New phytologist*, 126, 682-698. <https://doi.org/10.1111/nph.14702>
49. This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R., Costantini, L., Crespan, M., Dangl, G.S., Eisenheld, C., Ferreira-Monteiro, F., Grando, S., Ibanez, J., Lacombe, T., Laucou, V., Magalhaes, R., Meredith, C.P., Milani, N., Peterlunger, E., Regner, F., Zulini, L., & Maul, E. (2004). Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 109, 1448-1458. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1760-3>

50. This, P., Lacombe, T., Cadle-Davidson, M., & Owens, C. (2007). Wine grape (*Vitis vinifera* L.) color associates with allelic variation in the domestication gene *VvmybA1*. *Theoretical and Applied Genetics*, 114, 723-730. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0472-2>
51. Töpfer, R., & Trapp, O. (2022). A cool climate perspective on grapevine breeding: climate change and sustainability are driving forces for changing varieties in a traditional market. *Theoretical and Applied Genetics*, 135, 3947-3960. <https://doi.org/10.1007/s00122-022-04077-0>
52. Vasylyk, I., Gorislavets, S., Matveikina, E., Lushchay, E., Grigoreva, E., Volkov, V., Volodin, V., Spotar, G., Risovannaya, V., Likhovskoi, V., Volynkin, V., Potokina, E., Lytkin, K., & Karzhaev, D. (2022). SNPs associated with foliar phylloxera tolerance in hybrid grape populations carrying introgression from *Muscadinia*. *Horticulturae*, 8, 16. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8010016>. EDN: SUMMXK
53. Volynkin, V.A., Polulyakh, A.A., Levchenko, S.V., Vasylyk, I.A., & Likhovskoy, V.V. (2020). Aspects of the particular genetics of grapes prolonged for all horticulture crops. *Horticultural Crops*. London. <https://doi.org/10.5772/intechopen.90566>. EDN: MYXMQV
54. Volynkin, V., Likhovskoi, V., Levchenko, S., Vasylyk, I., Ryff, I., Berezovskaya, S., Boyko, V., & Belash, D. (2021a). Modern trends of breeding cultivars for recreational areas of viticulture. *Acta Horticulturae*, 1307, 13-20. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1307.3>. EDN: YWPFEB
55. Volynkin, V.A., Levchenko, S.V., & Vasylyk, I.A. (2021b). Genetically determined expression and inheritance of grapes resistance to pathogens as a manifestation of co-evolution. *Acta Horticulturae*, 1315, 335-340. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1315.50>. EDN: IBMMCM
56. Velasco, R., Zharkikh, A., Troggio, M., Cartwright, D.A., Cestaro, A., Pruss, D., Pindo, M., FitzGerald, L.M., Vezzulli, S., Reid, J., Malacarne, G., Iliev, D., Coppola, G., Wardell, B., Micheletti, D., Macalma, T., Facci, M., Mitchell, J.T., Perazzolli, M., Eldredge, G., Gatto, P., Oyzerski, R., Moretto, M., Gutin, N., Stefanini, M., Chen, Y., Segala, C., Davenport, C., Dematte, L., Mraz, A., Battilana, J., Stormo, K., Costa, F., Tao, Q., Si-Ammour, A., Harkins, T., Lackey, A., Perbost, C., Taillon, B., Stella, A., Solovyev, V., Fawcett, J.A., Sterck, L., Vandepoele, K., Grando, S.M., Toppo, S., Moser, C., Lanchbury, J., Bogden, R., Skolnick, M., Sgaramella, V., Bhatnagar, S.K., Fontana, P., Gutin, A., Van de Peer, Y., Salamini, F., & Viola, R. (2007). A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety. *PLoS ONE*, 2, e1326. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001326>
57. Wang, Z., Wang, S., Li, D., Zhang, Q., Li, L., Zhong, C., Liu, Y., & Huang, H. (2018). Optimized paired-sgRNA/Cas9 cloning and expression cassette triggers high-efficiency multiplex genome editing in kiwifruit. *Plant Biotechnology Journal*, 16, 1424-1433. <https://doi.org/10.1111/pbi.12884>
58. Welter, L.J., Göktürk-Baydar, N., Akkurt, M., Maul, E., Eibach, R., Töpfer, R., & Zyprian, E. (2007). Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Molecular Breeding*, 20, 359-374. <https://doi.org/10.1007/s11032-007-9097-7>
59. Wiedemann-Merdinoglu, S., Prado, E., Coste, P., Dumas, V., Butterlin, G., Bouquet, A., & Merdinoglu, D. (2006). Genetic analysis of resistance to downy mildew from *Muscadinia rotundifolia* // *9th International Conference on Grape Genetics and Breeding*. Udine. Italy.
60. Zhang, J., Hausmann, L., Eibach, R., Welter, L., Töpfer, R., & Zyprian, E. (2009). A framework map from grapevine V3125 (*Vitis vinifera* 'Schiava grossa' × 'Riesling') × rootstock cultivar 'Börner' (*Vitis riparia* × *Vitis cinerea*) to localize genetic determinants to phylloxera root resistance. *Theoretical and Applied Genetics*, 119, 1039-1051. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1107-1>

61. Zharkikh, A., Troggio, M., Dmitry, T., Cestaro, A., Eldridge, G., Pindo, M., Mitchell, J.T., Vezzulli, S., Bhatnagar, S., Fontana, P., Viola, R., Gutin, A., Salamini, F., Skolnick, M., & Velasco, R. (2008). Sequencing and assembly of highly heterozygous genome of *Vitis vinifera* L. cv. Pinot Noir: Problems and solutions. *Journal of Biotechnology*, 136, 38-43. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2008.04.013>

Авторы:

Ирина Александровна Васылык, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории генеративной и клоновой селекции, ФГБУН «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН» kalimera@inbox.ru

SPIN: [5333-3333](#) ORCID: [0000-0002-8231-0613](#)

Светлана Валентиновна Левченко, доктор сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, главный научный сотрудник лаборатории хранения винограда, ФГБУН «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН», svelevchenko@rambler.ru

SPIN: [6665-0084](#) ORCID: [0000-0001-5423-0520](#)

Authors details:

Irina Vasylyk, PhD in Agriculture, senior researcher in the laboratory of generative and clonal selection of All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking «MAGARACH» RAS, kalimera@inbox.ru

SPIN: [5333-3333](#) ORCID: [0000-0002-8231-0613](#)

Svetlana Levchenko, Doctor of agricultural sciences, senior researcher, chief researcher in the laboratory of grape storage of All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking «MAGARACH» RAS, svelevchenko@rambler.ru

SPIN: [6665-0084](#) ORCID: [0000-0001-5423-0520](#)

Отказ от ответственности: заявления, мнения и данные, содержащиеся в публикации, принадлежат исключительно авторам и соавторам. ФГБНУ ВНИИСПК и редакция журнала снимают с себя ответственность за любой ущерб людям и/или имуществу в результате использования любых идей, методов, инструкций или продуктов, упомянутых в публикации.