

Il germoplasma georgiano di vite: utilizzo, conservazione e studio

David Maghradze^{1*}, Osvaldo Failla², Roberto Bacilieri³, Serena Imazio², Larisa Vashakidze¹, Ramaz Chipashvili¹, Irma Mdinaradze¹, Nodar Chkhartishvili¹, Patrice This³, Attilio Scienza²

¹ Institute of Horticulture, Viticulture and Oenology, Tbilisi, Georgia

² Dipartimento di Produzione Vegetale, Università di Milano

³ INRA - Génétique de la Vigne, Montpellier, Francia

Georgian *Vitis* germplasm: usage, conservation and investigation

Abstract. Georgian grapevine germplasm (*V. vinifera* L.) originated in several different regions of the Country over a long historical period; during the XX century new bred varieties enriched it. Georgia is a country where *V. vinifera sylvestris* is commonly present in woods and forests, providing an important initial impulse to the domestication of grapevine. The main cultivated varieties in Georgia are autochthonous varieties, having a high-market value; the best among those are also cultivated in Eastern Europe and Middle Asia. Conservation initiatives for Georgian *Vitis* germplasm started since XIX century and had some difficulties at the beginning of the XXI century mainly related to post soviet economic crisis. However, Georgia was able to establish new field collections and collaborative works, in the framework of international projects and local initiatives. This germplasm is the object of intensive investigations; attracting international collaborations due to its genetic diversity. Investigations based on SSR fingerprinting and ampelographic methods are used for the variety classification and for the understanding of phylogenetic relationships.

Key words: ampelography, fenotyping, genotyping, germplasm, *Vitis vinifera*.

Introduzione

Il germoplasma viticolo georgiano comprende 525 varietà che costituiscono la piattaforma ampelografica delle diverse regioni a vocazione viticola. A.M. Negrul, nella sua nota Ampelografia (1946), raggruppò la maggior parte delle varietà georgiane nell'ambito della *Proles Pontica*, subproles *Georgica* Negr.; le poche escluse trovano posto nella *Proles Orientalis*, subproles *Caspica* Negr. Nel secolo scorso numerosi interventi di *breeding* hanno arricchito il germoplasma georgiano di nuove accessioni.

La Georgia non ospita solo vitigni coltivati, ma anche numerose popolazioni di *Vitis vinifera* ssp *sylvestris* (Ramishvili, 1988) e si pensa che gli antichi abitanti di questo paese a sud del Caucaso abbiano dedicato a queste piante le prime attenzioni cui conseguirono autoctoni fenomeni di domesticazione.

Le principali varietà coltivate in Georgia possono quindi a buon diritto essere considerate autoctone (Censimento, 2004); le migliori sono il Rkatsiteli, Saperavi, Tavkveri ed altre che hanno un mercato importante poiché sono anche coltivate nel nell'Europa dell'Est, in Asia Minore e in altre nazione del Caucaso.

La consapevolezza dell'importanza del patrimonio viticolo georgiano ha portato alla definizione di protocolli di tutela e salvaguardia già a partire dal XIX secolo (Staroselskii, 1893) che si sono ulteriormente raffinati e ampliati nel XX secolo e solo attualmente vivono un periodo di relativa difficoltà legata prevalentemente alla situazione economica locale e regionale. Ciononostante, negli anni più recenti la Georgia è riuscita a ricostituire le sue principali collezioni ampelografiche definendo anche rapporti di collaborazione con i principali centri di ricerca europei e contribuendo, in tal modo, al miglioramento delle conoscenze sulle sue principali varietà coltivate del Paese.

Parallelamente alle iniziative volte alla conservazione delle risorse genetiche georgiane, il germoplasma di questo paese attrae l'interesse di molti ricercatori internazionali a causa della sua biodiversità (Vouillamoz *et al.* 2006, Maghradze *et al.*, 2009b). Le ricerche basate sui marcatori molecolari microsatellite e i moderni metodi ampelografici sono stati applicati con successo in viticoltura per definire la struttura genetica delle forme domestiche e delle viti selvatiche e per studiare relazioni di parentela e rapporti filogenetici tra le cultivar.

Lo scopo di questo progetto scientifico è quello di fornire una caratterizzazione multidisciplinare di varietà autoctone e viti selvatiche e di mostrare la loro importanza per l'enologia e la viticoltura. In particolare ci si propone di fornire una descrizione molecolare

* d_maghradze@geo.net.ge

della piattaforma ampelografica georgiana, basata su marcatori SSR.

In questo contesto, possono essere individuati due approcci complementari: da un lato la descrizione della struttura genetica di piante coltivate (da tavola e da vino) già oggetto di investigazione (Maghradze *et al.*, 2009a) e viti selvatiche, dall'altro la contestualizzazione dei genotipi georgiani nel panorama viticolo mondiale tramite confronto con i 2305 genotipi inseriti nella collezione dell'INRA di Montpellier a Vassal (INRA Domain de Vassal, 2004). L'utilizzo contemporaneo di questi due approcci dovrebbe, non solo consentire una tipizzazione del germoplasma georgiano, ma anche verificare il contributo di questa viticoltura alla piattaforma ampelografica di altri paesi.

Materiali e metodi

Materiale vegetale

Gli individui analizzati in questo lavoro provengono da 5 collezioni ampelografiche: Vashlijvari, Skra, Telavi (Georgia), Gorizia (Italia) e Vassal (Francia). Centotrentanove accessioni, rappresentative del germoplasma coltivato georgiano, sono state selezionate per condurre le analisi molecolari. A queste sono stati aggiunti 22 campioni di vite (*V. vinifera* ssp *sylvestris* Gmel.).

Ampelografia e ampelometria

I principali descrittori OIV (1983, 2007), IPGRI (1997), GENRES 081 e UPOV (1999) sono stati utilizzati per la caratterizzazione agronomica e citologica. 81 descrittori fogliari, 3 per il grappolo, 2 per la bacca e 3 per il seme sono stati sondati grazie al software "SuperAmpelo" (Soldavini *et al.* 2007).

Fenologia

Nell'ambito della collezione di Gorizia, 134 varietà georgiane sono state selezionate e seguite per il rilievo della fenologia. Le epoche fenologiche sono state rilevate secondo la scala di Baggiolini (in Coombe, 1995), la maturità tecnologica è stata registrata su un periodo di 3 anni: 2004-2006. Gli andamenti meteorologici e i relativi rilievi sono stati, per il periodo di osservazione, compatibili con quelli stagionali descritti nell'ambiente considerato (Maghradze *et al.*, 2010).

Analisi degli antociani

Ottantanove accessioni pigmentate provenienti dalla collezione di Gorizia e 10 cultivar europee sono state analizzate tramite HPLC secondo il protocollo di Mattivi *et al.* (1990).

Analisi citologica

Ai fini dell'analisi citologica, i tessuti provenienti dalle varietà analizzate sono state sottoposte a fissazione una soluzione Karnau (etalono/acido acetico 3:1). La morfologia e struttura del polline e dello stigma sono stati descritti utilizzando i protocolli di Pausheva, (1970) e Chkhartishvili e collaboratori (2006). Le analisi di trenta, tra varietà e cloni, sono state condotte presso l'Istituto di Orticoltura, Viticoltura ed Enologia di Tblisi e i risultati sono stati pubblicati nel lavoro di Vashakidze (2006).

Analisi statistica

I risultati ottenuti nel periodo di indagine 2003-2009 sono stati analizzati tramite analisi statistica uni- e multivariata con il software SPSS (V. 14.0).

Caratterizzazione tramite marcatori SSR

Campioni provenienti da giovani foglioline sono stati selezionati da ciascuna accessione per condurre le analisi molecolari. Il DNA è stato estratto tramite kit commerciale Qiagen. Venti loci SSR sono stati selezionati in base ai lavori di Doligez *et al.*, (2006) e di Laucou *et al.* (2011). Questi loci sono stati preferiti ad altri per la loro riproducibilità e distribuzione omogenea nel genoma di vite. I prodotti di amplificazione sono stati caricati su un sequenziatore monocapillare ABI Prism® 310 (Applied Biosystems – Life Technologies, Foster City, CA, USA). Le dimensioni alleliche sono state attribuite tramite l'utilizzo del software GeneMapper 3.10 (Applied Biosystems – Life Technologies) e successivamente standardizzate in funzione di varietà di riferimento note.

Per definire la struttura e attribuire eventuali rapporti di parentela di primo grado, i dati ottenuti da queste analisi sono stati confrontati con quelli provenienti dagli individui presenti nella collezione di Vassal; INRA (Francia) che comprendono circa 2262 cultivars.

Analisi della struttura genetica del gemoplasma georgiano

L'isolamento della Georgia dagli scambi di materiale vegetale con altri Paesi Europei rende lo studio della struttura genetica delle sue varietà tradizionali particolarmente interessante. Per queste ragioni abbiamo utilizzato il software *Identity* (Wagner and Sefc, 1999) per calcolare il numero di alleli totali (n), l'eterozigosità attesa (H_e) e osservata (H_o), la probabilità di avere alleli nulli (r) e la probabilità di Identità (P.I.). La distanza genetica di Nei (1978) è stata calcolata per descrivere la struttura di queste popolazioni e fornire una caratterizzazione delle frequenze alleliche.

Confronto tra varietà georgiane e collezione di Vassal e analisi di parentela

Il software FaMoZ (Gerber *et al.*, 2003; Di Vecchi Staraz *et al.*, 2007) è stato usato per verificare il contributo della piattaforma ampelografica georgiana alla viticoltura. L'analisi è stata condotta su un gruppo di 2305 individui caratterizzati con 20 loci SSR. Il software ML-Relate (Kalinowski *et al.*, 2006) è stato utilizzato per verificare quale fosse la relazione di parentela più probabile all'interno del gruppo delle varietà georgiane e tra queste e quelle inserite nella collezione di Vassal. ML-Relate è utile nella definizione di quale sia l'eventuale rapporto di parentela più verosimile attribuendo valori probabilistici a 4 delle relazioni più frequenti e facili da investigare: non imparentati (U), fratellastri (HS), fratelli (FS) e genitore-figlio (PO). Per ciascuna delle relazioni citate viene attribuita una verosimiglianza che aiuta nel definire i rapporti di parentela tra le accessioni considerate.

Risultati e discussione

Utilizzo

La principale destinazione d'uso dei prodotti della viticoltura georgiana è la produzione di vino. Infatti, l'elenco delle varietà autorizzate in Georgia, (48 cultivar totali) ne comprende ben 34 che sono autoctone e tra queste 27 sono molto antiche (Leggi, 1998). Queste varietà sono presenti nella maggior parte dei vigneti del paese e producono vini di qualità, ben quotati dagli esperti di tutto il mondo. Tra le varietà più importanti ricordiamo le cvs: Rkatsiteli, Saperavi, Tavkveri, Mtsvane Kakhuri Tsolikouri, Ojaleshi, Krakhuna, Alexandrouli, Chinuri e molte altre.

Nel corso del XX secolo le varietà autoctone georgiane sono state inserite in programmi di *breeding* in Georgia e altri paesi portando alla selezione di 193 nuove varietà a partire da 13 varietà autoctone georgiane (Vakhtangadze *et al.*, 2010).

Conservazione

All'inizio del XXI secolo la conservazione del germoplasma georgiano ha avuto un nuovo impulso dopo un periodo di difficoltà che ha coinciso con gli anni '90 del secolo scorso. In questo contesto, e nell'ambito di un progetto internazionale, avente l'obiettivo di salvaguardare e recuperare la viticoltura del Mar Nero, fu costituita la collezione Vashlijvari (Tbilisi, Georgia) con 300 accessioni. A partire dal materiale recuperato in questa collezione l'Istituto di Orticultura, Viticoltura ed Enologia, nel 2008, costituì altre 3 collezioni: a Telavi (573 accessioni), Skra

(440) e Vachebi (312). Altre tre vennero poi costituite a Saguramo, presso il Centro per la propagazione della vite e delle piante da frutto (circa 400 accessioni), e presso le Cantine di Kindzmarauli e Shumi (149). Tre nuove collezioni vennero poi impostate in Italia dall'Università degli Studi di Milano. Ciononostante il germoplasma Georgiano è ancora a rischio di erosione, e solo un numero relativamente esiguo di varietà è tuttora coltivato. Tra le varietà originate per *breeding*, inoltre, solo pochissime sono state inserite in collezioni varietali e la vite selvatica è scarsamente rappresentata in questo contesto. Per questo motivo consideriamo importante definire delle strategie di conservazione per il materiale georgiano.

Ampelografia

Le schede ampelografiche sono state preparate utilizzando i principali descrittori IPGRI e OIV; tra le cultivar descritte: Gorula (con 138 descrittori), Gorula clone 23 (138), Tavkveri (114) e Satsuravi (96). Centocinquanta schede ampelografiche definite sulla base di 56 descrittori sono state prodotte sulle varietà presenti nella collezione di Gorizia. Varietà locali sono state descritte nelle collezioni di Vashlijvari (216 varietà, 14 descrittori), Telavi (27 e 17) e Skra (28 e 20).

Un *database* contenente le informazioni provenienti dalle collezioni georgiane è stato costituito nel 2004. Le 875 accessioni presenti nelle collezioni sono state descritte tramite i descrittori IPGRI-FAO Multicrop Passport Descriptors e i dati relativi sono stati pubblicati nel *Vitis International Variety Catalogue* (VIVC) (<http://www.vivc.de/index.php>). Nel corso del 2010 è inoltre iniziato l'inserimento dei rilievi fotografici a completamento delle informazioni già presenti nel *database*.

Una nuova ampelografia relative alle varietà georgiane è stata prodotta in questi anni (Del Zan *et al.*, 2004 e 2009). Il libro comprende l'analisi completa di 45 varietà e l'illustrazione fotografica di 105.

Fenologia

La media dei dati fenologici raccolti in diverse annate dimostra che il germogliamento e la fioritura sono leggermente più tardive rispetto alle varietà più occidentali. L'invasatura è decisamente tardiva e molto variabile. Anche la maturazione è mediamente più ritardata e variabile. Le varietà georgiane possono essere raggruppate in 4 gruppi principali in funzione dell'epoca di maturazione: il più precoce, raccolto tra il 269 e il 278 giorno giuliano (settembre), include solo 9 varietà, mentre gli altri 3 gruppi mediamente si collocano nel periodo 280-300 giorni giuliani (otto-

bre). Il massimo accumulo di zuccheri è di 25.9 Brix (19.4 valore medio), l'acidità totale minima è di 3.5 g/l (8.9 in media) e il pH è compreso tra 2.8 e 3.5 (3.1 in media).

Antociani

L'analisi statistica ha permesso di classificare i campioni analizzati in 4 gruppi principali, dei quali 2 sono ulteriormente suddivisibili in sottogruppi per un totale di 10 gruppi (Rossoni *et al.*, 2007; Maghradze *et al.*, 2009a). Quattro accessioni (Otskhanuri Sapere, Ojaleshi, Saperavi Grdzelmtevana e Argvetula) hanno mostrato un accumulo elevato di antociani totali (>3000 mg/kg uva). La *cluster analysis* ha permesso di classificare tutti i campioni in gruppi di prossimità fenotipica. Un'accessione interessante per il profilo antocianico è risultata essere la cv. Rkatsiteli Vardisperi, le cui bacche sono rosa e che possiede solo Delfinidina non acilata. Questa caratteristica la rende una fonte interessante per l'industria chimico-farmaceutica.

Analisi citologica

Il numero di cromosomi isolato nelle cellule somatiche dei campioni analizzati è risultato compatibile a quello della specie *V. vinifera* ($2n=38$), con l'eccezione di 5 accessioni che sono risultate essere tetraploidi, triploidi o cloni diploidi-tetraploidi individuati nelle cvs. Tsoikouri, Rkatsiteli, Saperavi e Gorula. Negli apici radicali la mitosi procede regolarmente con una percentuale sufficientemente alta di divisioni cellulari (4.8-8.6%). La frequenza di cellule abortive varia in funzione delle varietà (0.3-2.3%) ed è presente nelle fasi di G_1 e G_2 della mitosi. I parametri relativi al polline sono per le varietà ermafrodite: lunghezza del granulo disidratato: 21.1-38.8 μm , larghezza 14.7-23.0 μm , e diametro 8.1-27.9 μm . Il polline ha normalmente 3 pori. Il polline delle varietà femminili è privo di pori ma, anche se molto di rado si segnalano anche granuli con 3 pori (0.4-2.5%). Le varietà ermafrodite sono altamente fertili (69.2-98.9%). Si sono registrati pochi casi di polline fertile ($0.6 \pm 0.4\%$) nelle varietà femminili. La germinazione del polline è variabile (40-90%) e la vitalità è di 7-10 giorni. Il numero degli stomi è di 135-227 per mm^2 della foglia. Essi sono caratterizzati dai seguenti parametri: lunghezza 191-295 μm , larghezza 16.3-21.5 μm , numero di cloroplasti per stoma varia tra 21.5 e 27.8.

Analisi dei marcatori SSR (struttura genetica del germoplasma georgiano)

Le 135 accessioni analizzate a livello di 20 loci SSR sono rappresentative di 130 profili unici. Come

già discusso in vite la probabilità di avere individui diversi con lo stesso profilo microsatellite è molto basso ($P.I.=2.95 \times 10^{-7}$), quindi possiamo considerare effettivamente identici gli individui che condividono tutti gli alleli dei 20 loci. Le stesse considerazioni possono essere estese anche agli altri parametri normalmente calcolati in questo tipo di analisi, quali: probabilità di alleli nulli (n), intervallo delle dimensioni alleliche, eterozigosità attesa e osservata (H_e , H_o) probabilità di identità (P.I.), che risultano tutti rispecchiare la situazione già descritta in letteratura per *Vitis vinifera*.

A partire dai marcatori SSR sono state calcolate le distanze genetiche tra i campioni analizzati e i risultati mostrano il buon livello di ricchezza genetica osservata tra i campioni analizzati. Questo risultato appare interessante soprattutto alla luce delle teorie che vogliono la Georgia come culla della biodiversità viticola. Nonostante l'isolamento, e probabilmente proprio grazie a questo, il germoplasma georgiano sembra scongiurare la perdita di assortimenti genetici, o la loro erosione, e ciò lo rende particolarmente interessante dal punto di vista dello studio della sua struttura genetica. D'altra parte è evidente una stretta relazione tra la viticoltura georgiana e il territorio, quest'ultima considerazione appare suffragata dai risultati dell'analisi genetica che evidenziano una separazione marcata in due gruppi distinti che coincidono con aree geografiche ben definite. La correlazione tra distanze genetiche e geografiche è ben nota e già descritta nel caso della viticoltura europea ed è una delle evidenze più dirette dell'esistenza di diverse zone di domesticazione. Nell'ambito di questo lavoro 23 accessioni di vite selvatica, raccolte in diverse zone della Georgia, sono state inserite per verificare il loro rapporto di vicinanza con i vitigni georgiani. Come già riferito per altre zone, importanti dal punto di vista viticolo, anche nel caso della Georgia queste accessioni risultano strutturate dal punto di vista genetico in maniera differente rispetto al comparto coltivato. Anche se in questo caso le differenze rispetto ai vitigni coltivati sembrano essere più sfumate. Sempre rispetto al comparto selvatico le analisi hanno anche messo in evidenza la presenza di errori di campionamento o di raccolta di ibridi interspecifici. Tali campioni sono stati esclusi dalle analisi.

Confronto tra il materiale georgiano e la collezione di Vassal

La seconda parte del lavoro di caratterizzazione molecolare ha riguardato il confronto tra materiale proveniente dalla Georgia e accessioni presenti nell'ambito della collezione di Vassal, come rappresenta-

tive della viticoltura mondiale.

Per definire eventuali rapporti di parentela sono stati utilizzati i software FaMoZ e ML-Relate. I risultati di questa complessa ricerca hanno confermato che i rapporti più interessanti sono quelli che riguardano le varietà georgiane e quelle catalogate come provenienti dalle zone dell'ex Unione Sovietica. Quasi nessuno dei vitigni internazionali più coltivati sembra avere alcun rapporto di parentela con il materiale georgiano. Questo dato mostra come il materiale vegetale proveniente dalla Georgia sia lontano dal punto di vista genetico da quello raccolto nella collezione di Vassal. Queste differenze sono anche dovute al fatto che la struttura genetica dei vitigni georgiani sembra essere costituita da una serie di assortimenti allelici poco diffusi nel resto d'Europa. Questo risultato conferma l'isolamento della viticoltura georgiana dal resto d'Europa e proprio per questo ne attesta l'importanza e l'unicità dal punto di vista della salvaguardia del germoplasma.

Conclusioni

I risultati ottenuti in questo lavoro mettono in evidenza una volta ancora la grande ricchezza genetica della viticoltura georgiana e la sua profonda correlazione con i territori di coltivazione. Le accessioni selvatiche sono nettamente distinte dal comparto coltivato e non sono stati individuati casi di discendenza diretta dei vitigni coltivati dalle viti selvatiche. Inoltre nessuna della varietà più rappresentative della viticoltura internazionale sembra discendere direttamente o indirettamente dalle accessioni georgiane, coltivate e selvatiche, considerate in questo lavoro.

Riassunto

Il germoplasma di vite georgiano (*V. vinifera* L.) si è originato in differenti aree del Paese nel corso di un lungo periodo storico. La consapevolezza dell'importanza della conservazione del germoplasma risale al XIX sec. Dopo le difficoltà per i problemi economici della fine del XX sec., la Georgia è stata in grado di costituire nuove collezioni e attività di collaborazione, locali e internazionali. Il germoplasma è oggetto di intense attività di ricerca anche perché, a causa della sua diversità genetica, suscita grande interesse. I marcatori SSR e le moderne tecniche ampelografiche sono utilizzate per la sua caratterizzazione e studio.

Parole chiave: ampelografia, fenotipizzazione, genotipizzazione, germoplasma, *Vitis vinifera*.

Ringraziamenti

Questo lavoro multidisciplinare è stato supportato e realizzato grazie ai finanziamenti ottenuti nell'ambito dei progetti: "Conservation and sustainable use of grapevine genetic resources in the Caucasus and Northern Black Sea region" finanziato dal Governo del Lussemburgo e realizzato grazie alla collaborazione con Bioversity International (Maghradze *et al.* 2009b), "ECO-Net project" con supporto finanziario di EJIDE, France; "GrapeGen06 – management and conservation of grapevine genetic resources" (Bacilieri, 2008), "Agricultural Research-Extension and Training" finanziato dalla Banca Mondiale.

Bibliografia

- BACILIERI R., 2008. *GrapeGen06 - management and conservation of grapevine GR*. Bioversity newsletter for Europe, 34: 16
- CENSIMENTO 2004. *Agro census of Georgia in 2004*. www.statistics.ge
- COOMBE G.B., 1995. *Adoption of a system for identifying growth stage*. Austr. J. Grape Wine Res. 1:104-110.
- CHKHARTISHVILI N., VASHAKIDZE L., GURASASHVILI V., MAGHRAZDE D., 2006. *Type of pollination and indices of fruit set of some Georgian grapevine varieties*. Vitis, 45 (4): 153-156.
- DEL ZAN F., FAILLA O., SCIENZA A. (a cura di), 2004 e 2009. *La vite e l'uomo. Dal rompicapo delle origini al salvataggio delle reliquie. Evidenze storico-ampelografiche per ripercorrere il viaggio della vite da Oriente alle soglie dell'Occidente*. ERSA – Agenzia regionale per lo sviluppo rurale, Gorizia, pp. 999
- DI VECCHI STARAZ M., BOSELLI M., GERBER S., LAUCOU V., LACOMBE T., THIS P., VARÈS D., 2007. *FaMoz: A software for large scale parentage analysis in Vitis vinifera L. species*. Acta Horticulturae, 754: 79-84.
- DOLIGEZ A., ADAM-BLONDON A.F., CIPRIANI G., LAUCOU V., MERDINOGLU D., MEREDITH C.P., RIAZ S., ROUX C., THIS P., DI GASPERO G., 2006. *An integrated SSR map of grapevine based on five mapping populations*. Theoretical and Applied Genetics, 113: 369-382.
- GENRES, 2001. *Primary and secondary list of descriptors for grapevine cultivars and species (Vitis L.)*. Institute for Grapevine Breeding, Geilweilerhof, Germania. 2 vol.
- GERBER S., CHABRIER P., KREMER A., 2003. *FaMoz: a software for parentage analysis using dominant, codominant and uniparentally inherited markers*. Molecular Ecology Notes, 3: 479-481.
- INRA Domaine de Vassal, 2004. Centre de ressources génétiques de la vigne website (INRA: Montpellier) <http://www.montpellier.inra.fr/vassal/>.
- IPGRI - INTERNATIONAL PLANT GENETIC RESOURCES INSTITUTE, 1997. *Descriptors for grapevine (Vitis spp.)*. IPGRI, Roma. 62 pp.
- KALINOWSKI S.T., WAGNER A.P., TAPER M.L., 2006. *ML-Relate: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship*. Molecular Ecology Notes, 6: 576-579.
- LAUCOU V., LACOMBE T., DECHESNE F., SIRET R., BRUNO J.-P., DESSUP M., DESSUP T., ORTIGOSA P., PARRA P., ROUX C., SANTONI S., VARÈS D., PÉROS J.-P., BOURSQUOT J.-M., THIS P., 2011. *High throughput analysis of grape genetic diversity as a tool for germoplasm collection management*. Theor. Appl.

- Genet. Published online 14 January, 2011. 13 pages.
- LEGGI 1998. *Law of Georgia on Vine and Wine*. Tbilisi.
- MAGHRADZE D., ROSSONI M., IMAZIO S., MAITTI C., FAILLA O., DEL ZAN F., CHKHARTSHVILI N., SCIENZA A., 2009a. *Genetic and Phenetic Exploration of Georgian Grapevine Germplasm*. Acta Horticulturae, 827: 107-114.
- MAGHRADZE D., FAILLA O., TUROK J., AMANOV M., AVIDBZA A., CHKHARTSHVILI N., COSTANTINI L., CORNEA V., HAUSMAN J.F., GASPARIAN S., GOGISHVILI K., GORISLAVETS S., MAUL E., MELYN G., POLLULYACK A., RISOVANAYA V., SAVIN G., SCIENZA A., SMURIGIN A., TROSHIN L., TSERTSVADZE N., VOLYNKIN V., 2009b. *Conservation and sustainable use grapevine genetic resources in the Caucasus and Northern Black Sea area*. Acta Horticulturae. 827: 155-158.
- MAGHRADZE D., FAILLA O., BREGANT F., GALLAS A., DEL ZAN F., SCIENZA A., 2010. *Vitigni georgiani in Italia: fenologia e profili di maturità tecnologica*. Italus Hortus, 17 (Suppl. n. 3 Parte 2): 552-556.
- MATTIVI F., SCIENZA A., FAILLA O., VILLA P., ANZANI R., TEDESCO G., GIANAZZA E., RIGHETTI P., 1990. *Vitis vinifera - a chemotaxonomic approach: anthocyanins in the skin*. Vitis, Special issue: 119-33.
- NEI M., 1978. *Molecular evolutionary genetics*. Columb. Univ. press, New York: 106-107.
- NEGRUL A.M., 1946. *Origin of cultivated grapevine and its classification*. Ampelography of the Soviet Union. Editor of Chief A.M. Frolov-Bagreev. Moscow, editor "Pishchepromizdat", Vol.1: 159-216 (in Russo)
- O.I.V. - OFFICE INTERNATIONAL DE LA VIGNE ET DU VIN 1983 e 2007. *Descriptors for grapevine cultivars and Vitis species*. Office international de la vigne et du vin (O.I.V.), Parigi.
- PAUSHEVA Z.P., 1970. *Methods of plant cytology*. Kolos ed., Mosca, pp 255 (in russo).
- RAMISHVILI R., 1988. *Wild grapevine of the trans-Caucasus*. Tbilisi. 124 p. (in russo).
- ROSSONI M., MAGHRADZE D., BREGANT F., FAILLA O., SCIENZA A., 2007. *Uso del profilo antocianico per la valutazione del potenziale qualitativo del germoplasma georgiano*. Italus Hortus, 14 (3): 63-67.
- SOLDAVINI C., SCHNEIDER A., STEFANINI M., DALLASERRA M., POLICARPO M., 2007. *Superampelo – a software for ampelometric and ampelographic descriptions in Vitis*. Acta Horticulturae, 827: 253-257.
- STAROSELSKII V.A., 1893. *Grapevine varieties of the Caucasus – Shorapani and Kutaisi uezds of Kutaisi Gubernia*. Materials on the ampelography of the Caucasus. Vol.1. 20p. (in russo)
- UPOV, 1999. *Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability for grapevine*. Geneva.
- VASHAKIDZE L., 2006. *Basi scientifiche per l'identificazione dei genotipi georgiani di vite e l'ottimizzazione di alcune attività agronomiche*. Tbilisi, tesi di dottorato, 98 p. (in georgiano).
- VAKHTANGADZE T., DANDURISHVILI N., MAGHRADZE D., 2010. *Participation of Georgian Native Varieties of Grapevine in Breeding*. Bulletin of the Academy of Agricultural Science of Georgia. 27: 186-192 (in Geo)
- VOUILLAMOZ J.F., MCGOVERN P., REGUL A., SÖYLEZOĞLU G., TEVZADZE G., MEREDITH C.P., GRANDO S.M., 2006. *Genetic characterization and relationship of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia*. Plant Genetic Resources, 4 (2): 144-158.
- WAGNER H.W., SEFC K.M., 1999. *IDENTITY 1.0*. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Sciences, Vienna.