

Vesna MARAŠ*

VJEKOVI ZA BUDUĆNOST: CRNOGORSKO VINOGRADARSTVO I VINARSTVO

Sažetak: U periodu 2014–2017. godine multidisciplinarni tim, predvođen crnogorskim i španskim istraživačima, realizovao je najobimnije istraživanje genetičkih resursa vinove loze u Crnoj Gori. Istraživanje je obuhvatilo genetičku karakterizaciju postojećeg diverziteta vinove loze u gajenih i divljih populacija, uključujući i njihovu pedigree analizu.

U radu je predstavljeno bogatstvo genetskog nasljeđa vinove loze u Crnoj Gori koje i dalje stvara veoma bogat diverzitet vrste *Vitis vinifera*. Od 476 genotipiziranih uzoraka, pomoću SSR i SNP markera izdvojen je 101 genotip koji odgovara gajenim sortama (*Vitis vinifera* ssp. *sativa*), 43 genotipa su odgovarala divljim formama (*Vitis silvestris*). U klasteru gajenih sorti identifikованo je 50 poznatih sorti, za 51 neidentifikovani genotip smatra se da su novootkrivene, potencijalno autohtone crnogorske sorte. Rezultati istraživanja su potvrdili da se crnogorsko vinogradarstvo bazira na porodici genetički povezanih sorti, što je karakteristično i u drugim čuvenim tradicionalnim regionima za gajenje vinove loze i proizvodnju vina. U Crnoj Gori ova porodica je stvorena oko sorti kratošija i razaklja. U istraživanjima je otkriveno 25 punih pedigree sorti (triosi) i 27 duosa. Pronađen je puni pedigree vranca, koji je potomak kratošije i duljenge. Proces domestifikacije vinove loze započet još prije 8000 godina, u doba neolita, i dalje se nastavlja u vinogradarskim područjima Crne Gore. Pronađeni su predstavnici svih stepena domestifikacije vinove loze. Istorija crnogorskog vinogradarstva sačuvana je u njenim sortama, koje su kroz vjekove gajena na ovim prostorima opstale i osigurale budućnost crnogorskog vinogradarstva. To nas obavezuje na njihovo očuvanje i potrebu da crnogorsko vinogradarstvo i vinarstvo sačuva svoju autentičnost.

Ključne riječi: *vinova loza, genetički resursi, diverzitet, sorta, autohtone sorte, kratošija, razaklja, vranac*

* Vesna Maraš, Kompanija „13. jul — Plantaže“, Podgorica

UVOD

Crna Gora je odigrala važnu ulogu u dugoj istoriji gajenja vinove loze na zapadnom Balkanu. Njeni veoma različiti klimatski uslovi, tipovi zemljišta i orografska stvarala su različite uslove okruženja, koje je zajedno sa svojim istorijskim i geografskim kontekstom promovisalo stvaranje bogatog genetičkog diverziteta vinove loze. Potreba za karakterizacijom i očuvanjem genetičkih resursa vinove loze u tradicionalnim vinogradarskim područjima, favorizujući gajenje autohtonih i lokalnih sorti posljednjih decenija, intezivira se uslijed globalizacije tržišta vina i klimatskih promjena. Grožđe od jedinstvenih domaćih sorti je osnova za proizvodnju vrlo prepoznatljivih vina sa stvarnim potencijalom da revitalizuju lokalnu vinsku industriju i istaknu se na tržištu, što je već postao trend u zemljama Starog svijeta. Pored toga, genotipizacija i analiza autohtonih i tradicionalnih sorti koristi se u utvrđivanju roditeljstva sorti^{8–10}, porijekla sorti, kao i načina širenja nekih sorti vinove loze u tradicionalnim vinogradarskim regionima.^{20, 26} Dominantno mjesto u sortimentu Crne Gore imaju autohtone sorte vinove loze, koje se pominju još u XV vijeku (Srednjovjekovni statut Budve).¹ U Staroj Crnoj Gori kratošija je bila najrasprostranjenija sorta vinove loze sa arealom gajenja 100–150 km. Zbog heterogenosti njene populacije, koja je rezultat dugog gajenja na našim prostorima u novijim vinogradima, sortu kratošiju potisnula je sorta vranac, koja je, za razliku od nje, stabilna u ekspresiji svojih najboljih osobina. Kao rezultat toga, zasadi pod sortom kratošija su se smanjili, dok je vranac tokom XX vijeka postao najčešće gajena i najreprezentativnija sorta za proizvodnju crvenih vina u Crnoj Gori⁴, i regionu. Pored ove dvije glavne vinske sorte, u Crnoj Gori gaje se i druge manje poznate autohtone sorte (krstač, žižak, bioka, čubrica), a prisutan je i veliki broj domaćih, odomaćenih i autohtonih sorti vinove loze, koje su nedovoljno poznate, manje zastupljene i nijesu u potpunosti identifikovane.⁵ Za neke postoje određena identifikacija (ampelografski opis) pomoću kodova OIV-a, ali to često nije dovoljno za njihovu potpunu i sigurnu identifikaciju. Zato se pored ampelografsko-ampelometrijskih metoda, kao najpouzdanijih, koriste molekularno-genetičke metode, kojima utvrđujemo strukturu DNK. Genetička identifikacija sorte vinove loze se radi u cilju sigurne identifikacije sorte kako bi se pouzdano utvrdili sinonimi i homonimi sorte, njihovo porijeklo i nastanak — pedigree (utvrđivanje njihovog srodstva, roditelja sorti i njihove povezanosti). Zahvaljujući ranijim rezultatima rada na genetičkoj identifikaciji sorti, i nakon uspostavljene saradnje sa ICVV-om (Institut za vinovu lozu i vino, Logrono, La Rioha, Španija), nastavili smo sa daljim istraživanjima i proučavanjem sorti vinove loze u Crnoj Gori. Cilj

naših zajedničkih istraživanja bio je usmjeren na genetičku identifikaciju i karakterizaciju postojećeg diverziteta vinove loze, gajenih i divljih popулација i definisanje značaja autohtonih i drugih odomaćenih sorti u crnogorskem vinogradarstvu, u cilju njihovog očuvanja, zaštite i bolje valorizacije. Kompletiranjem istraživanja crnogorskih sorti vinove loze, predstavljena je genetska istorija, sortiment i originalnost crnogorskog vinogradarstva, odnosno genetsko nasljeđe vinove loze u Crnoj Gori.

U radu su predstavljeni rezultati širokog istraživanja ugroženih genetičkih resursa u Crnoj Gori, uključujući gajene čokote iz starih vinograda i čokote koje rastu u divljini. Odabrani čokoti sorti su uzorkovani i genotipizovani pomoću SNP-a (polimorfizama jednostrukih nukleotida) i SSR markera (jednostavnih ponavljanja sekvenci), a jedinstveni genetski profili upoređivani su sa međunarodnim bazama podataka za pravilnu identifikaciju sorti i otkrivanje sinonima (različita imena za jednu sortu) i homonima (isto ime za različite sorte). Pored toga, analizirali smo genetsku raznolikost i strukturu vinove loze u Crnoj Gori i proučavali njihove genetske veze (pedigre analiza). Pomoću nekoliko hloroplastnih DNK markera utvrđen je tip hlorotipa u sorte (postoje četiri različita glavna tipa, A, B, C, D¹⁴), koji se nasljeđuju po majci. Hlorotipovi su korisni za određivanje ženskog roditelja u pedigree i za prikaz višestrukog porijekla gajenih sorti vinove loze, analizom distribucije hlorotipova u lokalnom sylvestrisu i gajenoj vinovoj lozi.¹⁵ Rezultati su otkrili porijeklo savremenih crnogorskih sorti od autohtonih i/ili introdukovanih sorti; postojanje anahronih prasorti u ovom regionu; događaje introgresije iz populacija divlje vinove loze, koji oblikuju genetsku strukturu pripitomljenih sorti vinove loze.

Ovo istraživanje je rezultat dugogodišnjeg rada kompanije „13. jul — Plantaže“ i njenog sektora za razvoj, na čelu sa prof. dr Vesnom Maraš, i saradnje sa vodećim svjetskim naučnim centrima u Španiji, Kanadi i Sloveniji. Crnogorski istraživači su sa naučnim timom iz Instituta za vinovu lozu i vino iz Španije — ICVV (Logronjo, La Rioha), predvođenim prof. dr Jo-seom Miguelom Martínezom Zapaterom, uz učešće prof. Miodraga Grbića sa Univerziteta u Kanadi, prof. dr Nataše Štajner sa Univerziteta u Ljubljani, članova Nacionalnog udruženja vinogradara i vinara Crne Gore, proizvođača grožđa i vina u Crnoj Gori, realizovali ovo, po vinogradarstvo i vinarstvo Crne Gore, izuzetno značajno istraživanje.

Kroz ovo istraživanje ostvarena je snažna saradnja privrede sa akademskim institucijama, Ministarstvom nauke i tehnološkog razvoja i Ministarstvom poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Crne Gore. U projektu su bile uključene najznačajnije institucije iz oblasti nauke i visokog školstva u

našoj zemlji, Crnogorska akademija nauka i umjetnosti (CANU), Univerzitet Crne Gore i Univerzitet Donja Gorica.

Multidisciplinarni tim predvođen crnogorskim i španskim istraživačima objavio je rezultate ovog najobimnijeg istraživanja vinove loze u Crnoj Gori. U radu² je predstavljeno bogatstvo genetskog nasljeđa vinove loze u Crnoj Gori, koje nesumnjivo stvara veoma bogat diverzitet u okviru vrste *Vitis vinifera*, obogaćujući domaće i evropsko vinogradarstvo i vinarstvo (<https://www.nature.com/articles/s41598-020-71918-7>).

Ovaj rad predstavlja prvi korak u promociji šire upotrebe autohtonih i tradicionalnih sorti vinove loze u savremenoj crnogorskoj vinskoj industriji, doprinoseći diverzifikaciji i obogaćivanju evropskog vinskog sektora. Imajući u vidu koliki je značaj autohtonih sorti u vinogradarstvu i vinarstvu naše zemlje, ovo je istraživanje doprinijelo kompletnijem upoznavanju, valorizaciji i još boljoj komercijalizaciji crnogorskih sorti, uz snažnije promovisanje i pozicioniranje Crne Gore kao značajne i kvalitetne vinske destinacije na vinskoj mapi svijeta.

MATERIJALI I METODE

Kolekcija biljnog materijala: Analizirano je ukupno 476 čokota gajene i divlje vinove loze, starosti 50–300 godina sa afirmisanih vinogradarskih područja Crne Gore. Svaki analizirani čokot posjeduje svoj originalni kôd pod kojim se vodi, fotografije, lokalno ime (ime na terenu pod kojim je pronađen), a evidentirani su i ime vlasnika čokota kao i podaci za lokaciju (region, nadmorska visina, GPS koordinate). Tokom terenskih istraživanja,



Slika 1. Mjesta uzorkovanja gajene i divlje vinove loze

uzorkovano je 419 čokota (379 čokota gajenih u starim vinogradima — *Vitis vinifera* ssp. *sativa* i 45 čokota koji samoniklo rastu u prirodi, pod pretpostavkom da pripadaju divljoj lozi — podvrsti *Sylvestris*). U istraživanju je bilo uključeno i 57 uzoraka iz kolekcije vinove loze (*ex situ Vitis* kolekcija) sa Oglednog imanja Biotehničkog fakulteta, koja je podignuta 1956/60. godine od strane akademika Marka Uličevića i njegovih saradnika.

Uzorci su prikupljeni u nekoliko terenskih ekspedicija u 2013, 2014, 2016. i 2017. godini. Mladi listovi sakupljani su na licu mjesta za svaki uzorak i čuvani u ledu do skladištenja na -80°C za DNK ekstrakciju i genotipizaciju. Pored toga, set od 57 uzoraka iz *ex situ Vitis* kolekcije na Biotehničkom fakultetu Univerziteta Crne Gore (BTF kolekcija) uključen je kao referenca u cilju identifikacije autohtonih sorti.

DNK izolacija, genotipizacija i sortna identifikacija. DNK je izolovana iz smrznutog lišća. Uzorci su u početku genotipizirani za osnovni set od 48 nuklearnih SNP markera¹², koristeći usluge genotipizacije SNP-a od strane Španskog nacionalnog centra za genotipizaciju (CEGEN), ili Jedinice za sekvenciranje i genotipizaciju Univerziteta Baskije, koristeći Fluidigm tehnologiju. Tri hloroplasta SNP-a, koja omogućavaju razlikovanje glavnih haplotipova hloroplasta vinove loze (A, B, C i D)¹⁴ korišćena su za određivanje hlorotipa uzorka. Izdvojeni genetički profili (144) za 48 SNP-a upoređivani su sa SNP bazom podataka Instituta za vinovu lozu i vino (ICVV-SNP) za identifikaciju sorti, koja uključuje genetske profile za više od 2800 genotipova za 48 SNP-a. U onim slučajevima u kojima se SNP profil nije podudarao sa identifikovanom sortom u bazi podataka ICVV-SNP, uzorci su dodatno genotipizirani za 9 SSR markera (*VVS2*, *VVMD5*, *VVMD7*, *VVMD25*, *VVMD27*, *VVMD28*, *VVMD32*, *VrZAG62* i *VrZAG79*) u platformi za genotipizaciju Centra za biomedicinska istraživanja iz La Rioje (CIBIR). SSR profili su upoređeni sa SSR profilima dostupnim u VIVC¹⁷ i u evropskoj *Vitis* bazi podataka¹⁶. Svi 144 genotipa genotipizovani su za dodatni set od 192 SNP markera¹⁹, koristeći prethodno navedene platforme za genotipizaciju. Nažalost, nijesu postignuti zadovoljavajući rezultati za 13 genotipova, pa je 131 genetički profil vinove loze genotipizovan na 240 lokusa, korišćen za analizu strukture populacije i genetičkog diverziteta.

Analiza strukture populacije i parametara genetičkog diverziteta. Stablo razdvajanja sa neponderisanim susjedom (UwNJ) i analiza glavne koordinate (PCoA) izračunati su kako bi se istražila veza između gajenih i divljih genotipova vinove loze prikupljenih širom Crne Gore. U tu svrhu izračunata je matrica različitosti sa 10.000 'bootstrap' koraka pomoću softverskog paketa DARwin v. 6.0.21²⁰ za 131 genotip, uzimajući u obzir 194 SNP-a (SNP-ovi koji nijesu genotipizirani u najmanje 10 genotipova su

odbačeni). Ova matrica različitosti korišćena je za analize PCoA i UwNJ, koja je napravljena na osnovu 1.000 'bootstrap' replika.

Zatim je korišćena Bayesova klaster metoda primenjena u STRUCTURE v. 2.3.4²¹ softveru da bi se utvrdio broj genetskih grupa prisutnih u skupu od 131 genotipa vinove loze. Tako smo testirali postojanje genetske strukture, uzimajući u obzir brojne hipotetičke genetske grupe (K) u rasponu od 1 do 10, koristeći ciklus od 100.000 'burn-in' koraka, praćenih sa 150.000 Markov Chain Monte Carlo ponavljanja (MCMC metoda). Da bi se procijenila konzistentnost rezultata, izvedeno je 10 ponavljanja po K vrijednosti, pri čemu je svaki uzimao u obzir model sa koreliranim frekvencijama alela među populacijama. Najvjerojatniji broj genetičkih grupa je dobijen korišćenjem ΔK kriterijuma primjenjenih u STRUKTURI HARVESTER v. 0.6.94²³, a CLUMPP v. 1.1.2²⁴ je korišćen za svrstavanje 10 različitih ponavljanja. Genotipovi su dodijeljeni genetskoj grupi, s obzirom na prag $q \geq 0,50$. Rezultati su grafički predstavljeni pomoću web-softvera STRUCTURE PLOT v. 2.0.²⁵

Parametri genetskog diverziteta (broj efektivnih alela (N_e), indeks informacija (I), uočena heterozigotnost (H_o), stvarna očekivana heterozigotnost (UHe) i koeficijent fiksacije (F)) izračunati su za genotipove dodijeljene dvjema genetičkim grupama identifikovanim sa STRUCTURE, odbacujući one identifikovane kao *Vitis* spp. interspecifične hibride zbog njihove *nevinifera* genetske pozadine. Da bi izbjegli efekat jedinki sa sličnim vrijednostima q predaka u obje genetske grupe, postavili smo prag vrijednosti q od 0,60 za grupno dodjeljivanje. Tako su gajene i divlje genetske grupe obuhvatale 82, odnosno 38 nesuvišnih genotipova. F_{ST} statistika je korišćena za analizu genetske distance između gajenih i divljih genotipova. Nepolimorfni markeri (5 i 26 za gajene, odnosno divlje podskupove) isključeni su za procjenu parametara raznolikosti. Proračuni su izvedeni pomoću GenAlEx v. 6.5.²⁶ Kao što je ranije naznačeno¹⁹, srednje vrednosti ovih pokazatelja podvrgnute su analizi t -testa, kako bi se otkrile značajne razlike između obje grupe, koje se smatraju značajnim pri $p < 0,05$. Ova analiza je izvršena korišćenjem IBM SPSS Statistics v. 25.0 (Chicago, IL, USA).

Konačno, izvršili smo drugi krug hijerarhijske analize STRUCTURE u cilju procjene dodatnih nivoa genetske stratifikacije²⁷, fokusirajući se na konačnu genetičku grupu gajenih sorti vinove loze (91 genotip koji se ne ponavlja). Korišćen je isti postupak opisan ranije, ali kao prag pripadnosti grupi smo izabrali strožiju q vrijednost (0,70). Konzistentnost rezultata genetske strukture, dobijena u ovom drugom krugu, procijenjena je PCoA i UwNJ analizom, obavljenom kao što je prethodno detaljno opisano.

Analiza roditeljstva. Izdvojeni genotipovi vinove loze (144) su objedini sa onima iz baze podataka ICVV-SNP da bi se upotpunili 1921 genotip podacima za 240 SNP-a i analizirani kako bi se otkrili mogući srođnički odnosi prvog reda (trio i parovi roditelj — potomstvo), primijenjenom metodom zasnovanom na vjerovatnoći u *Cervus v.* 3.0⁷¹, kao što je prethodno detaljno objašnjeno.^{15, 19} Vjerovatnoća svakog pronađenog trija i para roditelj — potomstvo (dvojac) procijenjena je, uzimajući u obzir prirodni logaritam ukupnog rezultata vjerovatnoće (LOD), razmatrajući maksimalni broj neu-skladenih lokusa od 1 SNP-a za duose, odnosno 2 SNP-a za triose. Za svaki trios, hlorotipovi su korišćeni da bi se utvrdilo ko se od pretpostavljenih roditelja ponaša kao majka, prema majčinom prenosu hloroplasta u vinovoj lozi.¹⁴

REZULTATI I DISKUSIJA

1. GENETIČKA IDENTIFIKACIJA GAJENIH SORTI VINOVE LOZE I DIVLJE LOZE U CRNOJ GORI

SNP genotipizacijom svih 476 uzoraka na 48 lokusa potvrđena su 144 različita genetska profila, među kojima 101 genotip (68 uzoraka sa terena i 33 iz kolekcije BTF) odgovara gajenim sortama (*Vitis vinifera* ssp. *sativa*), a 43 genotipa su odgovarala divjim formama (*Vitis silvestris*). Od 101 genotipa koji odgovara gajenim sortama (*Vitis vinifera* ssp. *sativa*), 50 genotipova je bilo moguće identifikovati u bazama podaka, dok 51 genotip nije bilo moguće povezati sa drugim poznatim sortama. Od 50 identifikovanih sorti, 29 su poznate vinske sorte, 6 stonih sorti i 15 sorti sa dvostrukom namjenom vinka / stona sorte, prema *Vitis* internacionalnom katalogu sorti¹⁷ (VIVC, www.vivc.de). Od 419 uzoraka/čokota sa terena najčešće pronađeni genotip odgovarao je sorti kratošija, koja je pronađena 107 puta, zatim vranac 76, lisica 35, razaklja 27, krstač 22 i bioka 8. Dvije najvažnije sorte za crnogorsko vinogradarstvo (kratošija i vranac)^{4, 6} su dva najčešće pronađena genotipa u starim crnogorskim vinogradima, što potvrđuje njihovu važnost i značaj kroz istoriju za vinogradarstvo i vinarstvo Crne Gore. Važno je istaći da je od 45 identifikovanih sorti u kolekciji Biotehničkog fakulteta, veliki broj, 33 genotipa, sačuvan samo u kolekciji što ukazuje na brz nestanak starih sorti i ističe važnost ovih istraživanja u cilju očuvanja lokalnih genetičkih resursa od izumiranja. Veliki broj od 50 identifikovanih sorti trenutno se smatra autohtonim sortama sa zapadnog Balkana, kao što su bratkovina bijela, coarna alba, hrvatica, kratošija, prokupac, vranac ili žilavka, dok se druge sorte smatraju izvornim iz istočnih zemalja poput Grčke (Heptakilo, Karistino ili Muscat a etits grains), Turske (Chaouch blanc, Kadaran ili razaklja), Libana (Afus ali), Jermenije (Krivalja bijela), Azerbejdžana (Sysak) i

Gruzije (Rkatsiteli). Pored toga, identifikovane su i sorte iz zapadnih zemalja poput Francuske (npr. Bicane, Cabernet franc i Merlot), Njemačke (npr. Mueller thurgau), Italije (npr. Malvasia bianca lunga) i Austrije (npr. Silvaner gruen), kao i oplemenjene sorte poput Angelo pirovano i Perlona i *Vitis* spp. interspecifični hibridi poput Isabelle i Varousseta. Ova identifikacija značajanog broja stranih sorti potvrđuje istorijske izvore, koji ukazuju na turbulentnu istoriju i događaje u Crnoj Gori, koji su omogućili unos sorti u zemlju iz različitih regiona u različito vrijeme i sa različitim ciljevima. Uvođenje sa istoka vjerovatno je posljedica širenja vinogradarstva iz regiona Bliskog istoka u zapadnoevropske zemlje, dok su novija uvođenja uglavnom pratila intenzivnu razmjenu sorti tokom druge polovine XIX vijeka u borbi protiv filoksere i drugih štetočina i bolesti u Evropi.

Rezultati ovog istraživanja otkrivaju i 51 neidentifikovani (nepoznat) genotip vinove loze, koji predstavljaju potencijalno nove sorte, i autohton crnogorski genetski materijal vinove loze. Devet od njih (crni krstač, belka, loza Svetog Vasilija Ostroškog, nepoznata bijela brijestovo, bijela krupna SR i dr.) je pronađeno na najmanje dvije lokacije, što potvrđuje da su one vegetativno razmnožavane (reznicama), da su gajene kao lokalne sorte i da su na ivici izumiranja. Zanimljivo je da je utvrđeno da su neki od neidentifikovanih genotipova potomci drugih poznatih lokalnih sorti (npr. belka je potomak razaklje i krstača, crni krstač je potomak kratošije i bioke), što ukazuje na njihovo crnogorsko porijeklo. Preostala 42 neidentifikovana genotipa pojavila su se samo jednom u uzorkovanju gajenih sorti i to 28 na vinogradarskim terenima Crne Gore (bijela nepoznata, bijela nepoznata Jelenak; crna loza; crna nepoznata, Crmnica; crna nepoznata, Masline; nepoznata bijela, Gornji Brčeli; nepoznata bijela, Gornji Morinj; nepoznata, Brijege; nepoznata, Kosić; nepoznata, Kući; nepoznata, Piperi; nepoznata, Žabljak i dr.), a 14 je nađeno samo u kolekciji Biotehničkog fakulteta pod imenima bijela bezimena, bijela sitnih bobica, bijela slatka iz opeke, cetinka, crna tomba, čelinac, duljenga, volovina iz Opeke, jasenka i dr. Neke od njih mogu predstavljati i autohtone sorte, na šta ukazuje genetička identifikacija potomaka za neke od ovih sorti (npr. crna nepoznata (Masline) potomak je sorte volovina iz Opeke). Dodatna posebnost crnogorskog vinogradarstva je trenutno prisustvo značajnog broja navodnih „prasorti“. To su čokoti koje su gajili samo lokalni proizvođači grožđa, tj. biljke koje direktno rastu iz sjemena ili su samo jednom razmnožene reznicama, od mjesta klijanja sjemena. One se mogu dalje umnožiti i distribuirati, i na taj način postati sorte. Na ovaj način je nastala većina sorti u prošlosti, ali ovaj proces više nije aktivan u zapadnoevropskim regionima.

Kada je u pitanju analiza populacije divlje loze *Vitis sylvestris*, svi uzorci (43) nose jedinstvene genotipove. Uzorci divlje MNE 273 pronađeni su

na dvije strane puta (lokalitet Crmnica), što ukazuje na njihovo vegetativno razmnožavanje.

Na kraju, analize hlorotipa otkrile su većinu sorti koje nose hlorotipove C (43 genotipa, 42,6%) i D (33, 32,7%), zatim hlorotipove A (13, 12,9%) i B (3, 3,0%). Suprotno tome, većina biljaka uzorkovanih u divljini nosi hlorotip A (30 genotipova, 69,8%), zatim hlorotipove D (7, 16,7%) i C (6, 13,9%).

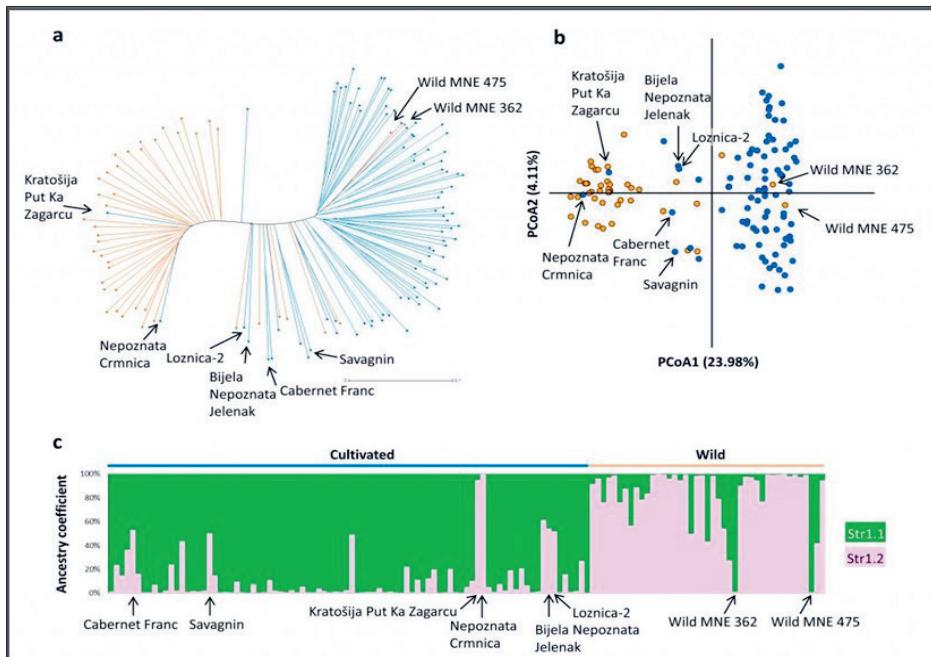
2. ANALIZA STRUKTURE POPULACIJE GAJENE I DIVLJE VINOVE LOZE U CRNOJ GORI

Izdvojenia 144 genotipa (101 gajena i 43 divlje loze) genotipizovano je na 192 dodatna SNP lokusa. Dobijeni su zadovoljavajući rezultati za 131 genotip, koji su korišćeni za dalju strukturu populacije, genetički diverzitet i pedigree analize. Stablo udaljenosti UwNJ (razdvajanja) generisalo je dva glavna klastera (Slika 2a), koja su uglavnom povezana sa porijekлом uzorkovanja genotipova obuhvaćenih analizom. Tako je jedan od klastera obuhvatio većinu genotipova prikupljenih kao divlja loza, dok je drugi obuhvatio većinu genotipova prikupljenih kao gajene biljke.

Zanimljivo je da su dva genotipa iz čokota gajenih u starim vinogradima (kratošija, put ka Zagaraču i nepoznata, Crmnica) smještena u klasteru divlje vinove loze, dok su dva genotipa sakupljena u divljini (divlja MNE 362 i divlja MNE 475) grupisani u klasteru gajene vinove loze. Rezultati su potvrđili ovu glavnu genetičku diferencijaciju, s tim što je PCoA1 jasno razdvajao genotipove prikupljene u divljini od onih prikupljenih kao gajene biljke (Slika 2b), potvrđujući i rezultate grupisanja za kratošiju (put ka Zagaraču), nepoznatu (Crmnica), divlju MNE 362 i divlju MNE 475.

Dva genotipa iz čokota uzorkovana kao gajene biljke (*sativa*) u starim vinogradima su sa genetičkog stanovišta potvrđene kao potpuno divlje — *sylvestris*, kratošija, put ka Zagaraču, i nepoznata, Crmnica. Ove biljke nose hlorotip A i jedinstvene genotipove bez podudaranja u konsultovanim bazama podataka, što ukazuje da potiču iz *Sylvestris* loze koja je vegetativno razmnožena.

Pronađen je drugi set gajenih biljaka sa sličnim procentom porijekla sa *Sativa* i *Sylvestris* genetskim podgrupama (poput bijela nepoznata, Jelenak, Loznica-2) i one su po svom postanku primjeri aktivnih mehanizama introrgesije (prijeđaz gena iz jedne vrste u drugu) genomskega regiona tj. iz *Sylvestrisa* u nove sorte. Ovi hibridi između dvije podvrste (*Sylvestris/Sativa*) vjerovatno su bili veoma važni u mnogim vinogradarskim oblastima, gdje su divlje loze dale važan doprinos genetskom fondu gajenih sorti. Svi ovi rezultati predstavljaju tragove prvih koraka u stvaranju novih sorti ili čak sekundarnu domestifikaciju divlje loze.



Slika 2: Analize različite genetske strukture vinove loze uzorkovane u Crnoj Gori kao gajena (plava) ili u divljini (narandžasta); a i b. strukturna analiza; c. svaki genotip (131) prikazan je kao vertikalna linija, sa segmentima boja čije su dužine proporcionalne njihovom prepostavljenom pretku sa Str 1.1 i Str 1.2 (prikazane zelenom i rozom bojom).

Pored toga, otkriveno je šest jedinki koje su uzorkovane kao divlja vinova loza sa većim *Sativa*, nego *Sylvestris* genetskim sastavom (četiri sa hlorotipom C). Dva genotipa čiji su uzorci sakupljeni u divljini, divlja MNE 362 (lokalitet Orasi) i divlja MNE 475, (lokalitet Meterizi), pokazuju izuzetno visoke koeficijente porijekla u genetskoj podgrupi gajenih sorti i kompatibilni su potomci kratošije i razaklje, što ih svrstava u podvrstu *Sativa*. Moguće je da potiču od sjemena proizvedenog u vinogradima, i raširenog u prirodnom okruženju od strane ljudi i životinja. Ostali genotipovi koji pokazuju visok procenat *Sativa* genetskog sastava (pripadaju genetskoj grupi Str 1.1) su: divlja MNE 361 (lokalitet Orasi), divlja MNE 476 (Podgorica), divlja MNE 285 (Rijeka Crnojevića) i divlja MNE 282 (Kamenik).

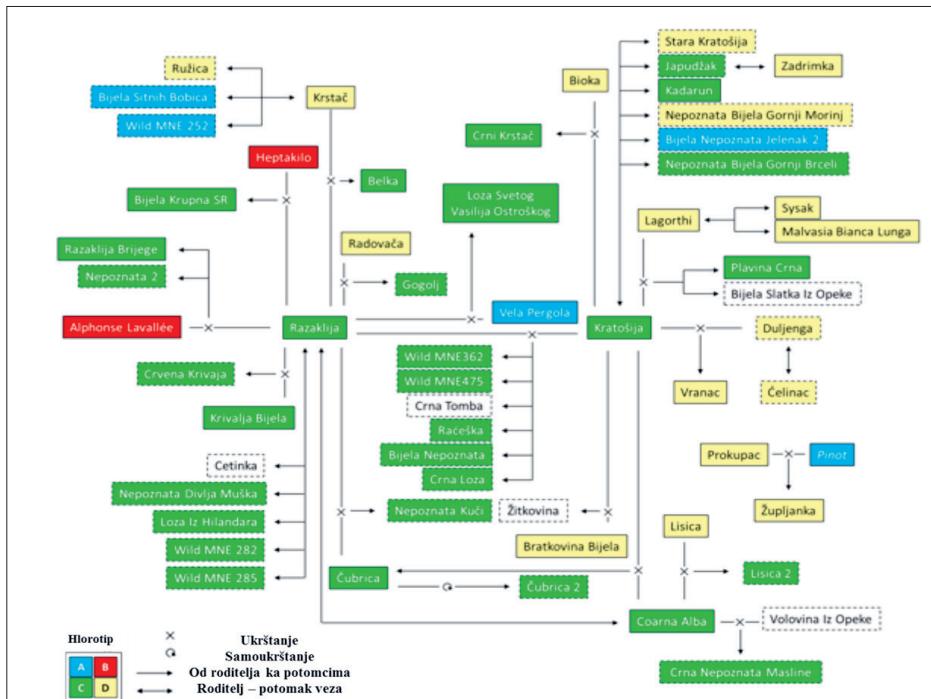
3. ANALIZA RODITELJSTVA GAJENE I DIVLJE VINOVE LOZE U CRNOJ GORI

U analizi roditeljstva 131 genetski profil vinove loze objedinjen je sa onima koji su sačuvani u bazi podataka ICVV-NP, za široku pretragu mogućih

srodničkih odnosa prvog reda, koristeći 240 SNP profila. Dobijeno je 25 kompatibilnih trojki (majka + otac + potomak) i 27 duosa (roditelj — potomci)². Pronađeni triosi (razaklja x heptakilo = bijela krupna SR; razaklja x Alphonse lavale = razaklja, Brijeg; Razaklja x Alphonse lavale = nepoznata 2; razaklja x Krivalja bijela = Crvena krivaja; razaklja x krstač = belka; razaklja x radovača = gogolj; razaklja x Vela pergola = loza Svetog Vasilija Ostroškog; razaklja x kratošija = divlja MNE 362* lokalitet Orasi; razaklja x kratošija = divlja MNE 475* lokalitet Meterizi; razaklja x kratošija = crna tomba; razaklja x kratošija = račeška; razaklja x kratošija = bijela nepoznata; razaklja x kratošija = crna loza; razaklja x čubrica = nepoznata, Kuči; kratošija x bratkovina bijela = žitkovina; kratošija x Coarna alba = čubrica; kratošija x duljenga = vranac; kratošija x Lagorthi = planina crna; kratošija x Lagorthi = bijela slatka iz opeke; kratošija x bioka = crni krstač; Coarna alba x lisica = lisica 2; Coarna alba x volovina iz opeke = crna nepoznata, Masline; Prokupacx pinot = župljanka; Coarna alba x Chasselas = Clairette mazel ; čubrica 2 x čubrica = čubrica).

Pronađeno je 27 duosa (Wild MNE 275 lokalitet Lesendo — Wild MNE 276, lokalitet Lesendro; Wild MNE 363, lokalitet Orasi — Wild MNE 364, lokalitet Orasi; kratošija — stara kratošija; Chaouch blanc — čauš crveni; Muscat a petits grains — Muscat rouge de madere; kratošija — nepoznata bijela, Gornji Morinj; zadrimka — japudžak; kratošija — kadarun; Koenigin der weingaerten — Afus ali; kratošija — bijela nepoznata, Jelenak 2; krstac — Wild MNE 252, lokalitet Danilovgrad; célinac — duljenga; kratošija — nepoznata bijela, Gornji Brceli; razaklja — loza iz Hilandara; razaklja — cetinka; kratošija — japudžak; Angelo pirovano — Muscat hamburg; Silvaner gruen — Savagnin; Malvasia bianca lunga — Lagorthi; krstac — ružica; razaklja — Coarna alba; Lagorthi — Sysak; điritkinja — Karystino; bijela sitnih bobica — krstac; razaklja — Wild MNE 285, lokalitet R. Crnojevića; razaklja — nepoznata divlja muška; razaklja — Wild MNE 282, lokalitet Kamenik.

Rezultati istraživanja ukazuju na vodeću ulogu razaklige i kratošije u stvaranju crnogorskog genetičkog diverziteta vinove loze, koji su uključeni kao roditelji u 14 (razaklja), odnosno 12 (kratošija) pedigreea. Zajedno imaju šest potomaka, uključujući dva genotipa uzorkovana kao divlja vinova loza (divlja MNE 362 i divlja MNE 475). Pored toga, od 27 duosa potvrđeno je šest kompatibilnih veza roditelja i potomaka za kratošiju i šest za razakliju od kojih su dva genotipa uzorkovana kao divlje vinove loze (divlja MNE 282, i divlja MNE 285). Pored toga, identifikovan je jedan gajeni genotip (čubrica-2) kao kompatibilni rezultat samoukrštanja sorte čubrica. Među divljom lozom nijesu pronađeni puni trojci, ali su otkrivena dva pouzdana



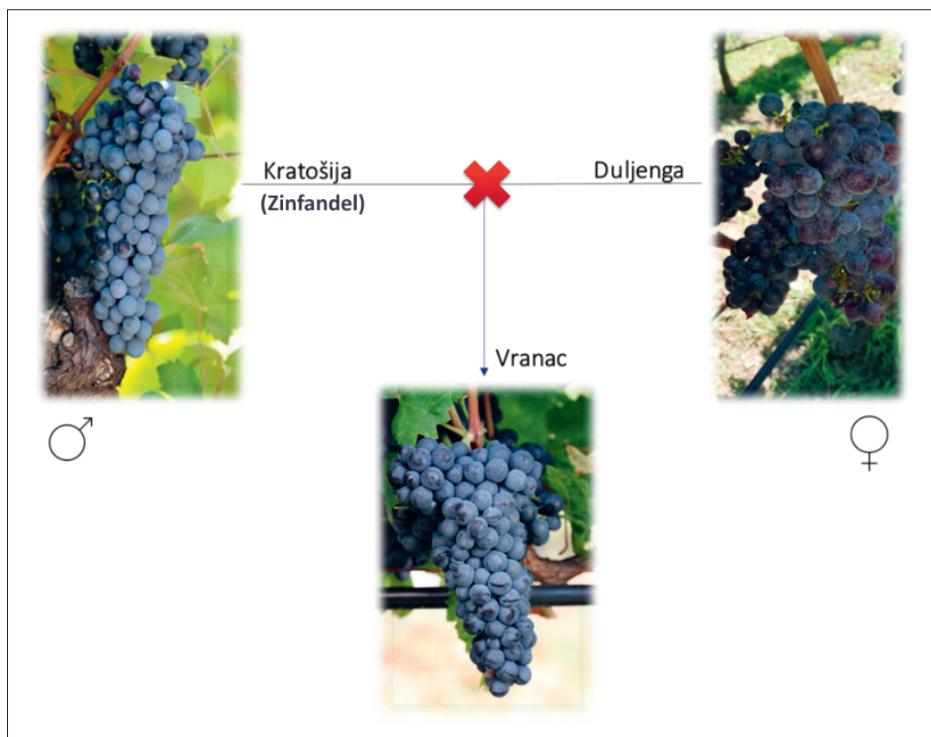
Slika 3. Prikaz pedigreea i genetičke povezanosti ispitivanih gajenih i divljih formi vinove loze u Crnoj Gori. Hlorotipovi (A, B, C ili D) su označeni različitim bojama, prema kodu. U slučaju bijele boje, informacije o hlorotipu nijesu dostupne. Neidentifikovani i jedinstveni genotipovi u bazi podataka ICVV-SNP prikazani su u okvirima s izlomljenim granicama.

duosa u dvije različite populacije, u tvrđavi Lesendro (koja uključuje divlu MNE 275 i divlu MNE 276) i Orasima (uključujući divlu MNE 363 i divlu MNE 364).

Rezultati istraživanja su potvrdili da se crnogorsko vinogradarstvo bazira na porodici genetski povezanih sorti što je karakteristično i u drugim čuvenim tradicionalnim regionima za gajenje vinove loze i proizvodnju vina. U Crnoj Gori ova porodica je uglavnom stvorena oko sorte kratošija i razaklja (Slika 3).

Kratošija je u središtu crnogorskog vinogradarstva kao što su Cabernet franc i Pinot noir u središtu Bordoa i Burgundije, čuvenih vinogradarskih regiona u Francuskoj. Kratošija je i najstarija sorta, koja se gajila u Crnoj Gori, ima skoro 20 potomaka u Crnoj Gori i roditelj (otac) je sorte vranac. Pored vranca, neki od potomaka kratošije u Crnoj Gori su čubrica, račeška, žitkovina, crni krstač, crna loza, crna tomba i dr.

Sorta vranac se danas smatra starom autohtonom crnogorskom sortom vinove loze. Od ranije je poznato postojanje odnosa prvog stepena između kratošije i vranača.¹³ Pedigre analiza omogućila je i otkrivanje genetskog porijekla vranača.² Rezultati pouzdano podržavaju da je vranač nastao hibridizacijom između sorti duljenga i kratošija. Ovaj pedigree je takođe potpomognut dodatnim setom od 20 SSR markera, a analize hlorotipa identifikovale su duljengu kao ženskog roditelja vranača i utvrdili da je potomak duljenge i kratošije, te na najbolji način potvrđili njegovu autohtonost i porijeklo (Slika 4).



Slika 4. Pedigre analiza sorte vranač (roditelji sorte vranača: kratošija i duljenga)

Značajno je navesti i utvrđivanje genetike loze iz Manastira Ostrog (loza Svetog Vasilija Ostroškog), koja datira prema pisanim podacima iz 1672. godine, što je jedan od najstarijih pisanih podataka o vinovoj lozi u Crnoj Gori i na Balkanu. Istraživanje je potvrđilo da je ova loza rezultat ukrštanja sorte razaklje sa sortom vinove loze pod imenom kosoranka (nađenom u blizini manastira), koja je ko Vela pergola registrovana u Vitis katalogu.

4. FORMIRANJE NACIONALNE KOLEKCIJE CRNOGORSKIH AUTOHTONIH I ODOMAĆENIH SORTI VINOVE LOZE

U cilju očuvanja i valorizacije genetskih resursa vinove loze u Crnoj Gori, sa potvrđenim genotipovima — sortama, podignuta je nacionalna kolekcija crnogorskih autohtonih i odomaćenih sorti vinove loze na Ćemovskom polju. Kroz učešće u Evropskom kooperativnom programu za očuvanje biljnih genetičkih resursa (ECPGR), za rod *Vitis* sorte su predstavljene i uključene u evropske *Vitis* baze: <http://www.eu-vitis.de/index.php> i VVIC (*Vitis International Variety Catalogue*) — <https://www.vivc.de/>. Dalje ispitivanje i karakterizacija njihovog agrobiološkog i enološkog potencijala će doprinijeti razvoju specifičnog crnogorskog vinogradarstva, zasnovanog na autohtonim sortama, obogaćujući assortiman crnogorskih vina u budućnosti. U cilju predstavljanja dobijenih rezulata domaćoj i međunarodnoj naučnoj i stručnoj javnosti, u saradnji sa španskim partnerima u 2017. godini, organizovali smo Prvu međunarodnu konferenciju o vrancu i drugim crnogorskim autohtonim sortama vinove loze u Podgorici. Rezultati koji su iznijeti na ovoj eminentnoj konferenciji, uz učešće naučnika iz 17 država, definisali su Crnu Goru kao jedan od centara diverziteta vinove loze na Balkanu, koja može dati doprinos globalnom diverzitetu vinove loze, istovremeno je pozicionirajući kao specifičnu i originalnu kvalitetnu vinsku destinaciju. Suorganizator konferencije je bila i Crnogorska akademija nauka i umjetnosti koja je štampala zbornik radova sa konferencije.²²

ZAKLJUČAK

Ovo genomsko istraživanje omogućilo je evidenciju i katalogizaciju genetskog diverziteta vinove loze u Crnoj Gori i predstavilo detaljan pedigree — porijeklo sorti i njihove međusobne genetske povezanosti. Višegodišnje istraživanje je pokazalo da se proces pripitomljavanja vinove loze, koji je započet još prije 8000 godina, u doba neolita, i dalje nastavlja u vinogradarskim područjima Crne Gore. Pronađeni su predstavnici svih stepena domestifikacije vinove loze. Istraživanje je otkrilo sortnu strukturu i vinogradarsku istoriju Crne Gore, potvrđujući da je diverzitet crnogorskih sorti mnogo bogatiji u poređenju sa okolnim balkanskim zemljama. Dio ovako velikog diverziteta ukazuje i potvrđuje i samu lokalnu istoriju, što ukazuje i na višestruka i intenzivna unošenja vinove loze, iz različitih vinskih regija, u različitim istorijskim periodima. Otkriven genetski fond uključuje mnoge autohtone sorte, neke na ivici izumiranja, povezane u složenu rodbinsku mrežu, gdje su dvije sorte kratošija i razaklija igrale glavnu ulogu u stvaranju autohtonih sorti. Od ispitivanih čokota/uzoraka, pomoću SSR i

SNP markera identifikovano je 144 različitih genetskih profila, među kojima je 101 genotip odgovarao gajenim sortama (*Vitis vinifera* ssp. *sativa*), a 43 genotipa su odgovarala divjim formama (*Vitis silvestris*). U klasiteru gajenih sorti (101) identifikovano je 50 poznatih sorti. Pronađen je 51 neidentifikovani genotip vinove loze, koji predstavlja nepoznate sorte za vinogradarsku nauku. Smatra se da se radi o novootkrivenim, potencijalno autohtonim crnogorskim sortama vinove loze.

Rezultati istraživanja su potvrdili da se crnogorsko vinogradarstvo bazira na porodici genetički povezanih sorti, što je karakteristično i u drugim čuvenim tradicionalnim vinogradarskim regionima. U Crnoj Gori, ova porodica uglavnom je stvorena oko vinske sorte kratošija i stone sorte razaklije, koje su roditelji mnogobrojnih crnogorskih autohtonih sorti. Pronađeno je 25 punih pedigree sorti (triosi) i 27 duosa. Razaklija je ženski roditelj u 14 punih pedigreea, dok je kratošija u 12, a zajedno imaju 6 potomaka. Kratošija je roditelj (trio i duo odnosi) u skoro 20 genotipova vinove loze gajenih u Crnoj Gori. Pored vranca, neki od potomaka kratošije u Crnoj Gori su čubrica, račeška, žitkovina, crni krstač, crna loza, crna tomba. Sorta kratošija je u ovim istraživanjima najčešće pronađen genotip u starim crnogorskim vinogradima (106 puta) što, pored ostalog, potvrđuje njenu važnost u istoriji crnogorskog vinogradarstva. To je najstarija sorta vinove loze, koja se gaji u Crnoj Gori i vjerovatno je nastala na ovim prostorima. Kratošija je najstarije ime za sortu vinove loze, koja se gaji u inostranstvu pod imenom Primitivo/Zinfandel — crljenak kaštelanski.

U istraživanjima je pronađen puni pedigree vranca, koji je potomak kratošije i duljenge. Pronađen je i puni pedigree loze iz Manastira Sveti Vasilije Ostroški, to su razaklija i sorta volovnik/kosoranka, pronađena u okolini manastira, koja je u Vitis katalogu registrovana pod imenom Vela pergola.

Potpunjivo, veliki diverzitet vinove loze u Crnoj Gori, bogatstvo sortimenta i genetskog nasljeda ukazuje na dugu tradiciju gajenja vinove loze u našoj zemlji kao i na potrebu njegovog očuvanja. Ova istraživanja su omogućila valorizaciju genetskog nasljeda vinove loze u Crnoj Gori, pronalaskom 51 nepoznatog genotipa za nauku, utvrđujući nove sorte, determinisanjem njihovog pedigreea, ali i spasavanje od njihovog nestajanja, kao fundamentalnog razvojnog resursa za dalji razvoj vinogradarstva u Crnoj Gori. U cilju njihovog očuvanja i valorizacije, potvrđeni genotipovi posađeni su u nacionalnoj kolekciji crnogorskih autohtonih i odomaćenih sorti vinove loze na Ćemovskom polju, čime je stvorena osnova za dalji razvoj crnogorskog vinogradarstva i vinarstva. To predstavlja resurs i temelj za razvoj i konkurentnost novih crnogorskih vina na tržištu za decenije koje dolaze.

Na osnovu predstavljenih rezultata može se zaključiti da je istorija crnogorskog vinogradarstva sačuvana u njenim sortmama, koje su kroz vjekove gajena na ovim prostorima ispisale i osigurale uspješnu budućnost crnogorskog vinogradarstva. Zahvaljujući rezultatima ovih istraživanja, Crna Gora ima najmoderne genetske i genomske naučne činjenice — podatke za svoje specifično autohtono vinogradarstvo, što je presudno za naučnu, stručnu, razvojnu i marketinšku promociju ove strateške grane crnogorske poljoprivrede.

LITERATURA

- [1] Ljubić, Š.: *Statuta et leges civitatis Buduae, civitatis Scardonae, et civitatis et insulae Lesinae. Monumenta historico iuridica Slavorum meridionalium*. Jugoslovenska akademija znanosti i umjetnosti JAZU. Zagreb (1882); Srednjovjekovni Statut Budve. Bibiloteka — anali Budve, urednik dr M. Luketić, Istoriski arhiv, Budva 1988.
- [2] V. Maraš, J. Tello, A. Gazivoda, M. Mugoša, M. Perišić, J. Raičević, N. Štajner, R. Ocete, V. Božović, T. Popović, E. García-Escudero, M. Grbić, J. M. Martínez-Zapater, J. Ibáñez: Population genetic analysis in old Montenegrin vineyards reveals ancient ways currently active to generate diversity in *Vitis vinifera*. *Scientific Report*, 1015000. (<https://www.nature.com/articles/s41598-020-71918-7>), 2020.
- [3] Maraš, V. et al.: Origin and characterization of Montenegrin grapevine varieties. *Vitis* 54, 2015, 135–137.
- [4] Maraš, V., Bozovic, V., Giannetto, S. & Crespan, M.: SSR molecular marker analysis of the grapevine germplasm of Montenegro. *J. Int. Sci. Vigne Vin.* 48, 2014, 87–97.
- [5] Maraš, V.: Ampelographic and genetic characterization of Montenegrin grapevine varieties, in: Advances in Grape and Wine Biotechnology. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.85676>, 2019.
- [6] Pejović, Lj.: Ampelografska proučavanja kratošije. Jugoslovensko vinogradarstvo i vinarstvo. Broj 3–4, 1988.
- [7] Drori, E. et al.: Collection and characterization of grapevine genetic resources (*Vitis vinifera*) in the Holy Land, towards the renewal of ancient winemaking practices. *Sci Rep* 7, 2017.
- [8] Štajner, N., et al.: Genetic clustering and parentage analysis of Western Balkan grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* 54, 2015, 67–72.
- [9] Boccacci, P, Torello-Marinoni, D, Gambino, G, Botta, R. & Schneider, A.: Genetic characterization of endangered grape cultivars of Reggio Emilia province. *Am. J. Enol. Vitic.* 56, 2005, 411–416.
- [10] Vouillamoz, J. F. et al.: Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia. *Plant Genetic Resources* 4, 2007, 144–158, doi: doi: 10.1079/PGR2006114.

- [11] De Lorenzis, G., et al.: SNP genotyping elucidates the genetic diversity of *Magna Graecia* grapevine germplasm and its historical origin and dissemination. *BMC Plant Biol.* 19, 2019.
- [12] Cabezas, J. A. et al.: A 48 SNP set for grapevine cultivar identification. *BMC Plant Biol.* 11, 153, 2011.
- [13] Calo, A., Costacurta, A., Maraš, V., Meneghetti, S. & Crespan, M.: Molecular correlation of Zinfandel (Primitivo) with Austrian, Croatian, and Hungarian cultivars and Kratošija, an additional synonym. *Am. J. Enol. Vitic.* 59, 2008, 205–209.
- [14] Arroyo-Garcia, R. et al.: Chloroplast microsatellite polymorphisms in *Vitis* species. *Genome* 45, 2002, 1142–1149.
- [15] Cunha, J. et al.: Genetic relationships among Portuguese cultivated and wild *Vitis vinifera* L. germplasm. *Front Plant Sci.* 11, 127, 2020.
- [16] Maul, E. et al.: The European *Vitis* Database (www.eu-vitis.de) — a technical innovation through an online uploading and interactive modification system. *Vitis* 51, 2012, 79–85.
- [17] Maul, E.: Vitis International Variety Catalogue — www.vivc.de — (accessed February 2020), 2020.
- [18] Lijavetzky, D., Cabezas, J. A., Ibáñez, A., Rodriguez, V. & Martínez-Zapater, J. M.: High throughput SNP discovery and genotyping in grapevine (*Vitis vinifera* L.) by combining a re-sequencing approach and SNPlex technology. *BMC Genomics* 8, 424, 2007.
- [19] Ghaffari, S. et al.: Genetic diversity and parentage of Tunisian wild and cultivated grapevines (*Vitis vinifera* L.) as revealed by single nucleotide polymorphism (SNP) markers. *Tree Genet. Genomes* 10, 2014, 1103–1113.
- [20] Perrier, X. & Jacquemond-Collet, J. P.: DARwin software. <http://darwin.cirad.fr> (2006).
- [21] Pritchard, J. K., Stephens, M. & Donnelly, P.: Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 2000, 945–959.
- [22] Prva međunarodna konferencija o vrancu i drugim crnogorskim autohtonim sortama vinove loze. Radovi sa naučnog skupa. Crnogorska akademija nauka i umjetnosti, 2021. ISBN 978–86–7215–491–7.
- [23] Earl, D. & vonHoldt, B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetic Resources* 4, 2012, 359–361.
- [24] Jakobsson, M. & Rosenberg, N. A. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics* 23, 2007, 1801–1806.
- [25] Ramasamy, R. K., Ramasamy, S., Bindroo, B. B. & Naik, V. G.: STRUCTURE PLOT: a program for drawing elegant STRUCTURE bar plots in user friendly interface. *SpringerPlus* 3, 2014.
- [26] Peakall, R. & Smouse, P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research — an update. *Bioinformatics* 28, 2012, 2537–2539.
- [27] Vähä, J. P., Erkinaro, J., Niemelä, E. & Primmer, C. R.: Life-history and habitat features influence the within-river genetic structure of Atlantic salmon. *Mol. Ecol.* 16, 2007, 2638–2654.

- [28] Kalinowski, S. T., Taper, M. L. & Marshall, T. C.: Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecol.* 16, 1099–1106, doi: 10.1111/j. 1365–294X. 2007.03089. x, 2007.

Vesna MARAŠ

CENTURIES FOR THE FUTURE: MONTENEGRIN VITICULTURE AND WINEMAKING — AN EXAMPLE OF COOPERATION BETWEEN THE SCIENTIFIC MOTHERLAND AND DIASPORA

Abstract

In the period 2014–2017, a multidisciplinary team led by Montenegrin and Spanish researchers carried out the most extensive research of grapevine genetic resources in Montenegro. The research included the genetic characterization of the existing grapevines diversity in cultivated and wild populations, encompassing their pedigree analysis.

The paper presents the richness of the grapevine genetic heritage in Montenegro, which still creates a very rich diversity of the *Vitis vinifera* species.

Out of 476 genotyped samples, using SSR and SNP markers, 101 genotypes corresponding to cultivated varieties (*Vitis vinifera* ssp. *sativa*) were identified, 43 genotypes corresponded to wild forms (*Vitis sylvestris*). In the cluster of cultivated varieties, 50 known varieties were identified, 51 unidentified genotypes are considered to be newly discovered, potentially autochthonous Montenegrin varieties. The results of the research confirmed that Montenegrin viticulture is based on a family of genetically related varieties, which is also characteristic of other famous traditional regions for the cultivation of vines and wine production. In Montenegro, this family was created around the Kratosija and Razaklijja varieties. The research revealed 25 full pedigree varieties (trios) and 27 duos. The full pedigree of Vranac, who is a descendant of Kratošija and Duljenga, was found. The process of grapevine domestication, that began 8,000 years ago, in the Neolithic Age, continues in the wine-growing areas of Montenegro. All levels representatives of grapevine domestication were found.

The history of Montenegrin viticulture is preserved in its varieties that have survived through cultivation centuries in these areas and ensured the future of Montenegrin viticulture. This obliges us to preserve them and the need for Montenegrin viticulture and winemaking to preserve its authenticity.

Key words: vine, genetic resources, diversity, variety, autochthonous varieties, Kratošija, Razaklijja, Vranac