

УДК 834:8.631.527.6

UDC 834:8.631.527.6

**КЛОН СОРТА КАБЕРНЕ-СОВИНЬОН,
ВЫДЕЛЕННЫЙ В ПРОМЫШЛЕННЫХ
НАСАЖДЕНИЯХ ВИНОГРАДА
АГРОФИРМЫ «ЮЖНАЯ»
С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДОВ
ТРАДИЦИОННОЙ СЕЛЕКЦИИ
И ДНК-АНАЛИЗА**

**CLONE OF CABERNET SAUVIGNON
IN THE INDUSTRIAL GRAPES
ALLOCATED PLANTATIONS OF
FARMING COMPANY 'YUZHNAJA'
USING TRADITIONAL BREEDING
METHODS AND DNA-ANALYSIS**

Ильницкая Елена Тарасовна
канд. биол. наук,
зав. лабораторией сортоизучения
и селекции винограда

Ilitskaya Elena
Cand. Biol. Sci.
Head of Laboratory of Variety's Study
and Breeding of Grapes

Макаркина Марина Викторовна
мл. науч. сотрудник лаборатории
сортоизучения и селекции винограда

Makarkina Marina
Junior Research Associate of Laboratory
of Variety's Study and Breeding of Grapes

Токмаков Сергей Вячеславович
канд. биол. наук,
науч. сотрудник лаборатории генетики
и микробиологии

Tokmakov Sergrey
Cand. Biol. Sci.
Research Associate of Laboratory
of Genetics and Microbiology

Нудьга Татьяна Александровна
науч. сотрудник лаборатории селекции
и сортоизучения винограда

Nudga Tatiana
Research Associate of Laboratory
of Variety's Study and Breeding of Grapes

Петров Валерий Семенович
д-р с.-х. наук,
зав. НЦ «Виноградарство»

Petrov Valeriy
Dr. Sci. Agr.
Head of the Scientific Center of Viticulture

Сундырева Мария Андреевна
канд. с.-х. наук,
науч. сотрудник лаборатории
физиологии растений

Sundyreva Maria
Cand. Agr. Sci.
Research Associate of Laboratory
of Plant Physiology

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский зональный научно-
исследовательский институт садоводства и ви-
ноградарства»
Краснодар, Россия*

*Federal State Budget Scientific
Organization "North Caucasian
Regional Research Institute
of Horticulture and Viticulture",
Krasnodar, Russia*

Даурова Елена Александровна
канд. техн. наук,
старший научный сотрудник

Daurova Elena
Cand. Tech. Sci.
Senior Research Associate

*Темрюкский опорный пункт СКЗНИИСиб,
Краснодарский край, Россия*

*Temryuk's Main Base of NCRRIH&V,
Krasnodar Region, Russia*

Возделывание клонов востребованных классических винных сортов винограда, адаптированных к местным условиям произрастания, дает возможность получения урожая традиционно высокого качества с меньшими издержками производства. Примерно 60 % виноградников Краснодарского края расположено в Темрюкском районе, поэтому проведение массовой клонной селекции на сортах винограда в данной сельскохозяйственной зоне имеет особое значение. В промышленных насаждениях винограда методом клонной селекции и ДНК-анализа в агроклиматических условиях Темрюкского района выделены высокопродуктивные протоклоны сорта Каберне-Совиньон. В данной работе приведены результаты изучения клона ЧК1-10. Он в среднем достоверно превосходит контрольные кусты исходного сорта на 73 % по урожайности, по сохранности глазков после перезимовки на 15 %, а также по другим показателям. Оценка вегетативного потомства на клоноиспытательном участке также показывает хорошие результаты. Кусты выровнены по силе роста, отличаются слабым поражением грибными болезнями, высокая урожайность сочетается с хорошим качеством вина. В настоящее время, наряду с изучением ампелографических, ампелометрических и биохимических признаков, ДНК-анализ стал основой для достоверной идентификации и изучения генетического полиморфизма винограда. Сравнительный микросателлитный анализ ДНК растений-протоклонов и типичных кустов сорта Каберне-Совиньон выявил отличие образца 1-10. Планируется передача клона в государственное сортоиспытание. Совместное применение традиционных селекционных подходов и методов молекулярного анализа позволяет ожидать большую эффективность в работе по идентификации клонов винограда.

Ключевые слова: ВИНОГРАД,
КЛОНОВАЯ СЕЛЕКЦИЯ,
SSR-МАРКЕРЫ

Cultivation of popular classical wine grapes cultivars clones adapted to local growing conditions makes the possibility to obtain the traditionally high quality harvest at a lower cost of production. Approximately 60 % of the vineyards of the Krasnodar Territory are located in the Temryuk area, thus, the conducting of the mass clonal breeding on grapes cultivars in this agricultural region is of particular importance. The highly productive protoclonal clones of cultivar Caberne Sauvignon were allocated in the industrial vineyards using the clonal breeding and DNA-analysis. In this paper we present the results of study of CHK1-10 clone. In average it significantly superior to the original variety control bushes at 73 % by yield, at 15 % on buds safety after overwintering, as well as other traits. The evaluation of vegetative progeny of clones on the clon-test sector also shows the good results. The bushes are aligned by vigor, they characterized by weak fungal diseases, the high yield capacity combined with good wine quality. Currently, along with the ampelographic and biochemical study, DNA analysis became the basis for a reliable identification and for study of grapes genetic polymorphism. Comparative microsatellite analysis of DNA of protoklon plants and typical vines of Cabernet Sauvignon reveals the difference in the sample 1-10. It is planned to transfer of this clone to State variety testing. The combined use of traditional breeding approaches and molecular analysis methods allows to expect the greater efficiency in the identification of grapes clones.

Key words: GRAPES, CLONAL
BREEDING, SSR-MARKERS

Введение. Характерное свойство виноградной лозы – высокая мутабельность генотипов – стало основой клонной селекции винограда, ус-

пешно проводимой во всем мире. При длительной эксплуатации сортов в процессе спонтанных мутаций в насаждениях появляются ослабленные лозы с высокой восприимчивостью к болезням и вредителям, низкой продуктивностью и качеством ягод, но и, напротив, с повышенной адаптацией к биотическим и абиотическим стресс-факторам, высокой продуктивностью и хорошим качеством винограда. В таких насаждениях могут быть выделены отдельные растения, отличающиеся от исходного сорта набором положительных характеристик, закрепленных на генетическом уровне, – клоны. Определение природы выявленных положительных изменений – наиболее сложный этап клоновой селекции: являются ли они проявлением модификационной изменчивости или же носят генетический характер [1]. Полный ответ на данный вопрос можно получить после изучения, как правило, двух-трех вегетативных поколений.

Уже зарегистрировано более 3,5 тыс. клонов, большая часть которых превосходит маточные насаждения по продуктивности в 2-5 раз, по качеству урожая – на 1-3 % и повышению устойчивости к стрессам и бионтам – на 1-2 балла. Зачастую новые клоны лучше базовых сортов и по биохимическому составу [2]. Однако в Российской Федерации клоновая селекция достаточно долго практически не проводилась. Примерно 60 % виноградников Краснодарского края сосредоточено в Темрюкском районе, около половины сортимента составляют классические европейские сорта для высококачественного виноделия [3]. Проведение массовой клоновой селекции на сортах винограда в данной сельскохозяйственной зоне имеет особое значение.

В настоящее время, наряду с изучением ампелографических, ампелометрических и биохимических признаков, ДНК-анализ стал основой для достоверной идентификации и изучения генетического полиморфизма винограда. Наиболее распространенными являются ДНК-маркерные системы, основанные на вариабельности микросателлитных участков генома [4].

Микросателлиты (SSR – simple sequence repeats; STR – simple tandem repeats) – тандемные повторы простых последовательностей в структуре ДНК, которые могут состоять из 4, 3, 2 нуклеотидов и распространены повсеместно в геноме высших растений [5]. Микросателлитный анализ (SSR-анализ) также дает возможность оценивать степень генетического родства клонов между собой и исходным сортом винограда [6].

Целью работы является выделение высокоадаптивных к агроклиматическим условиям Темрюкского района клонов винограда сорта Каберне-Совиньон.

Объекты и методы исследований. Работа проведена в агроклиматических условиях Темрюкского района Краснодарского края на промышленных виноградниках ОАО АФ «Южная» – отделение «Черноморец». Объектом исследования является интродуцированный технический сорт винограда для качественного виноделия Каберне-Совиньон 1991 года посадки. Площадь насаждения – 16 га. Схема посадки 3,5 x 2,0 м.

Кусты сформированы по типу высокоштамбового двуплечего кордона со свободным свисанием прироста. Сила роста средняя. На участке поддерживается высокий агрофон. Кусты в насаждении неравноценны по урожаю и его качеству.

Отбор кандидатов в клоны осуществляли на основании стабильности плодоношения, толерантности к биотическим и абиотическим факторам среды, проявлявшихся ежегодно в период 2005-2012 гг. По показателям продуктивности и качества проведена статистическая обработка, позволявшая оценить достоверность различий протоклонов и средних кустов.

Молекулярные исследования проведены на автоматическом генетическом анализаторе ABI prism 3130 с использованием специального программного обеспечения GeneMapper и PeakScanner, что дает возможность получить высокоточные данные. В работе использованы SSR-маркеры

VVS2, VMC3a9, VMC5g7, VVMD30, VVMD32 – перспективные для идентификации клонов по литературным данным [6]. ДНК выделяли из молодых листьев апикальной части побегов методом СТАВ [7].

Обсуждение результатов. В результате проведенной клоновой селекции в насаждениях сорта Каберне-Совиньон выделено 9 протоклонов, имеющих значимые положительные отклонения по основным характеристикам от кустов исходного сорта. Нами проводится оценка выделенных растений по их вегетативному потомству на клоноиспытательном участке, заложенном в 2009 году, что позволяет определить лучшие образцы и отбраковать случайные модификации, при этом продолжены наблюдения на маточных кустах, и параллельно протоклоны изучались методами молекулярного маркирования.

Следует отметить, что условия зим 2006, 2010 и 2012 гг. создали благоприятный фон для оценки кустов на устойчивость к экстремальным низким зимним температурам агрорайона, что позволило выявить формы с повышенной адаптацией к данному неблагоприятному фактору.

По результатам пятилетних исследований в промышленных насаждениях, протоклон ЧК1-10 в среднем достоверно превосходит контрольные кусты исходного сорта: по урожайности – на 73 %, по сохранности глазков после перезимовки – на 15 %, по доле плодоносных побегов на кусте – на 15 %, по продуктивности побега – на 10 % и по другим показателям (табл.).

Результаты ряда работ по генотипированию клонов винограда показывают, что определенный набор маркеров может давать разную информативность на отдельных сортах. Так, в работе F. Pelsy и др. в идентификации клонов Каберне-Совиньон показана эффективность SSR-маркеров VMC5g7 и VMC3a9 [6].

Агробиологическая характеристика клона ЧК 1-10 и средних кустов маточного сорта в насаждениях ОАО АФ «Южная», 2009-2012 гг.

Показатель	Клон 1-10					Контроль				
	2009	2010	2011	2012	Среднее	2009	2010	2011	2012	Среднее
Сохранность глазков после перезимовки, %	70	73	70	87	75	68	62	59	70	65
Плодоносных побегов, %	73	65	87	74	75	65	59	73	64	65
Продуктивность побега, г	91	135	129	138	105	92	82	101	104	95
Урожай с куста, кг	17,6	9,9	11,4	13,8	13,2	7,0	8,0	7,0	8,4	7,6
Глюкоацидометрический показатель (ГАП)	2,35	2,5	2,5	2,4	2,4	2,4	2,2	2,2	2,3	2,3
Дегустационная оценка, балл	7,9	8,1	8,2	8,1	8,1	7,9	7,9	8,0	7,8	7,9

В нашей работе маркер VMC5g7 также был эффективен. ПЦР-анализ ДНК растений-протоклонов и типичных кустов сорта Каберне-Совиньон выявил отличие образца 1-10 по аллельному составу локуса VMC5g7.

Оценка вегетативного потомства на клоноиспытательном участке также показывает хорошие результаты. Кусты вегетативного потомства ЧК1-10 выровнены по силе роста, отличаются слабым поражением грибными болезнями на фоне отсутствия регулярных защитных мероприятий, их высокая урожайность сочетается с хорошим качеством вина (рис.). Планируется передача клона в государственное сортоиспытание.

Заключение. Сотрудниками СКЗНИИСиВ выделен клон сорта винограда Каберне-Совиньон, обладающий повышенной адаптивностью к агроклиматическим условиям Темрюкского района. Возделывание насаждений клонов востребованных классических винных сортов, адаптированных к местным условиям произрастания дает возможность получения урожая традиционно высокого качества с меньшими издержками производства.



Рис. Вегетативное потомство клона сорта Каберне-Совиньон ЧК1-10, клонотестовый участок, 2014 г.

Совместное применение традиционных селекционных подходов и методов молекулярного анализа позволяет ожидать большую эффективность в работе по идентификации клонов винограда, ускорение селекционного процесса.

Литература

1. Ильницкая, Е.Т. Идентификация клоновых вариаций сортов винограда Каберне-Совиньон и Саперави на основе анализа микросателлитных локусов / Е.Т. Ильницкая, И.И. Супрун, С.В. Токмаков // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2013. – № 21 (3). – С. 1-8. – Режим доступа: <http://www.journal.kubansad.ru/pdf/13/03/01.pdf>.

2. Подваленко, П.П. Клоновая селекция современная основа продуктивности виноградников / П.П. Подваленко, А.С. Звягин, Л.П. Трошин // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2009. – № 51 (7). – С. 1-25. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2009/07/pdf/19.pdf>.

3. Петров, В.С. Агробиологические и технологические характеристики протоклонов винограда сорта Алиготе в насаждениях агрофирмы «Фанагория-Агро» / В.С. Петров, Т.А. Нудьга, Е.Т. Ильницкая [и др.] // Высокоточные технологии производства, хранения и переработки винограда. – Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ, 2010. – Т. 1. – С. 38-42.

4. Thomas, M. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs) / M. Thomas, N.S. Scott // *Theor. Appl. Genet.* – 1993. – V. 86. – P. 985-990.

5. This, P. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars / P. This, A. Jang, P. Boccacci [et al.] // *Theor. Appl. Genet.* – 2004. – Vol. 109. – P. 1448-1458.

6. Pelsy, F. An extensive study of the genetic diversity within seven French wine grape variety collections / F. Pelsy, S.Hocquigny, X.Moncada [e tal.] // *Theor. Appl. Genet.* – 2010. – Vol. 120. – P. 1219-1231.

7. Rogers, S.O. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues / S.O Rogers, A.J. Bendich // *Plant Molecular Biology.* – 1985. – P. 69-76.

References

1. Il'nickaja, E.T. Identifikacija klonovyh variacij sortov vinograda Kaberne-Sovin'on i Saperavi na osnove analiza mikrosatellitnyh lokusov / E.T. Il'nickaja, I.I. Suprun, S.V. Tokmakov // *Plodovodstvo i vinogradarstvo Juga Rossii [Jelektronnyj resurs].* – Krasnodar: SKZNIISiV, 2013. – № 21 (3). – S. 1-8. – Rezhim dostupa: <http://www.journal.kubansad.ru/pdf/13/03/01.pdf>.

2. Podvalenko, P.P. Klonovaja selekcija sovremennaja osnova produktivnosti vinogradnikov / P.P. Podvalenko, A.S. Zvjagin, L.P. Troshin // *Politematicheskij setevoj jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [Jelektronnyj resurs].* – Krasnodar: KubGAU, 2009. – № 51 (7). – S. 1-25. – Rezhim dostupa: <http://ej.kubagro.ru/2009/07/pdf/19.pdf>.

3. Petrov, V.S. Агробиологические и технологические характеристики протоклонов винограда сорта Алиготе в насаждениях агрофирмы «Фанагория-Агро» / V.S. Petrov, T.A. Nud'ga, E.T. Il'nickaja [i dr.] // *Vysokotochnye tehnologii proizvodstva, hranenija i pererabotki vinograda.* – Krasnodar: GNU SKZNIISiV, 2010. – Т. 1. – С. 38-42.

4. Thomas, M. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs) / M. Thomas, N.S. Scott // *Theor. Appl. Genet.* – 1993. – V. 86. – P. 985-990.

5. This, P. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars / P. This, A. Jang, P. Boccacci [et al.] // *Theor. Appl. Genet.* – 2004. – Vol. 109. – P. 1448-1458.

6. Pelsy, F. An extensive study of the genetic diversity within seven French wine grape variety collections / F. Pelsy, S.Hocquigny, X.Moncada [e tal.] // *Theor. Appl. Genet.* – 2010. – Vol. 120. – P. 1219-1231.

7. Rogers, S.O. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues / S.O Rogers, A.J. Bendich // *Plant Molecular Biology.* – 1985. – P. 69-76.