

УДК 634.8

06.00.00 Сельскохозяйственные науки

**ФЕНОТИПИРОВАНИЕ
ВЫСОКОКАЧЕСТВЕННЫХ ТЕХНИЧЕСКИХ
СОРТОВ ВИНОГРАДА СЕЛЕКЦИИ АЗОСВИВ
В АМПЕЛОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ**

Лукьянова Анна Александровна
канд. биол. наук
РИНЦ SPIN-код: 5479-4511

Никулушкина Галина Евгеньевна
научный сотрудник
РИНЦ SPIN-код: 2002-6850

Коваленко Александр Григорьевич
канд. с.-х. наук
РИНЦ SPIN-код: 9956-9864
*Анапская зональная опытная станция
виноградарства и виноделия – филиал
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Северо-Кавказский
федеральный научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия», Анапа, Россия
azosviv@mail.ru*

Ильницкая Елена Тарасовна
канд. биол. наук
РИНЦ SPIN-код: 7075-1328
*Федеральное государственное бюджетное
научное учреждения «Северо-Кавказский
федеральный научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия», Краснодар, Россия*

Сорт определяет направление использования виноградной продукции и играет ведущую роль в улучшении ее качества. Сохранение генетических ресурсов винограда, их изучение очень важно для современной науки. Изученный материал позволяет использовать выделенные генетические признаки для выведения новых сортов винограда, с учетом требований, и внедрения в производство, а также выделить наиболее ценные сорта для передачи их в государственное сортоиспытание. Среди большого разнообразия сортов винограда, в ампелографической коллекции представлены сорта селекции АЗОСВИВ технического направления Красностоп АЗОС и Достойный, по которым было проведено полное фенотипирование. Собрана фенологическая и агробиологическая информация по изучаемым сортам винограда за 2015-2017 гг. Представленные сорта винограда технического направления характеризуются высоким качеством продукции. Вина из сортов Красностоп АЗОС и Достойный конкурентоспособны, отличающиеся высокими потребительскими свойствами, они пользуются заслуженной славой и неоднократно являлись номинантами выставок и обладателями дипломов. По результатам микросателлитного профилирования сорта показали сорт-

UDC 634.8

Agricultural sciences

**PHENOTYPING OF HIGH-QUALITY
TECHNICAL GRAPES OF AZOSVIV
SELECTION IN THE AMPELOGRAPHIC
COLLECTION**

Lukyanova Anna Aleksandrovna
Cand.Biol.Sci.
SPIN-code: 5479-4511

Nikulushkina Galina Evgenievna
researcher
SPIN-code: 2002-6850

Kovalenko Alexander Grigorievich
Cand.Agr.Sci.
SPIN-code: 9956-9864
*Anapa zonal experimental station of viticulture and
winemaking – branch of the Federal state budgetary
scientific institution “North Caucasian federal
scientific center of horticulture, viticulture,
winemaking”, Anapa, Russia
azosviv@mail.ru*

Ilitskaya Elena Tarasovna
Cand.Biol.Sci.
SPIN-code: 7075-1328
*Federal state budget scientific institution "North
Caucasian federal scientific center for horticulture,
viticulture, winemaking", Krasnodar, Russia*

A variety determines the direction of use of grape products and plays a leading role in improving its quality. Preservation of genetic resources of grapes and their studying are very important for modern science. The studied material makes it possible to use the selected genetic characteristics for breeding new varieties of grapes, taking into account the requirements, and introducing them into production, as well as highlighting the most valuable varieties for transferring them to the state variety testing. Among a wide variety of grape varieties, in the ampelographic collection there are varieties of AZOSVIV selection of the technical direction: Krasnostop AZOS and Dostoiniy, for which complete phenotyping was carried out. The phenological and agrobiological information on the grape varieties studied for 2015-2017 is collected. The presented grades of grapes of the technical direction are characterized by high quality of production. The wines from the varieties Krasnostop AZOS and Dostoiniy are competitive, characterized with high consumer properties; they enjoy the well-deserved fame and were nominees of exhibitions and holders of diplomas repeatedly. Based on the results of microsatellite profiling, the varieties showed a sort-specific general combination of alleles. At the same time, in each locus there is one identical

специфическую общую комбинацию аллелей. При этом в каждом локусе есть одна одинаковая аллель, что соответствует тому, что сорта Красностоп АЗОС и Достойный имеют одного общего родителя (Филлоксероустойчивый Джемете). Полученные формулы сорта (ДНК-паспорта) на практике могут эффективно применяться для определения чистосортности посадочного материала и насаждений винограда, уточнения родительских форм образца и в спорных вопросах авторства сорта. Исследование поддержано программой развития биоресурсных коллекций ФАНО России

Ключевые слова: СЕЛЕКЦИЯ, ВИНОГРАД, АМПЕЛОГРАФИЧЕСКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ

allele, which corresponds to the fact that the varieties Krasnostop AZOS and Dostoiniy have one common parent (Phylloxer-resistant Gemete). The received formulas of a variety (DNA-passports) in practice can be effectively applied to determine the cleanliness of planting stock and plantations of grapes, specification of the parent forms of the sample and in the disputed questions of the authorship of the variety. The study was supported by Federal Agency for Scientific Organizations program for support the bioresource collections

Keywords: SELECTION, GRAPES, AMPELOGRAPHIC COLLECTION

Doi: 10.21515/1990-4665-134-019

Выведение сортов винограда, имеющих высокую продуктивность и качество урожая, устойчивость к абиотическим и биотическим факторам, является в настоящее время приоритетной задачей аграрной политики России, особенно в аспекте импортозамещения. Сорт определяет направление использования виноградной продукции и играет ведущую роль в улучшении ее качества.

По благоприятным почвенно-климатическим условиям Черноморская зона Краснодарского края является ведущим регионом в России, где сосредоточены основные площади (65%) по возделыванию винограда. Генетическое разнообразие сортов и перспективных гибридных форм винограда, сосредоточенное в Анапской ампелографической коллекции в настоящее время огромно (более 4000 сортов). Сохранение генетических ресурсов винограда, их изучение очень важно для современной науки. Кроме научного значения, Анапская ампелографическая коллекция оказывает существенное влияние на формирование и обогащение промышленного сортимента региона.

Агробиологическое, фенологическое изучение и технологическая характеристика сортообразцов в коллекции проводится по единой программе и методике, это дает возможность получать сопоставимую информацию данных по всему сортименту винограда данного региона.

Изученный материал позволяет использовать выделенные генетические признаки для выведения новых сортов винограда, с учетом требований, и внедрения в производство, а также выделить наиболее ценные сорта для передачи их в государственное сортоиспытание.

На базе ампелографической коллекции селекционерами регулярно проводятся изучения по подбору родительских комбинаций для создания конкурентоспособных новых сортов винограда, а также ценных генотипов для селекционной работы. Так как годичный цикл роста и развития виноградного растения тесно связан с метеорологическими условиями, сроки наступления отдельных фаз и характер их прохождения по годам могут значительно изменяться. Неодинаково они проходят в разных районах возделывания культуры у разных сортов винограда. Стремительное развитие молекулярной биологии в 80-90х годах прошлого столетия и изобретение ПЦР-технологии открыли новые возможности в вопросах изучения сортов и перевели на другой уровень процесс идентификации генотипов.

Среди большого разнообразия сортов винограда, в ампелографической коллекции представлены сорта селекции АЗОСВиВ технического направления Красностоп АЗОС и Достойный, по которым было проведено полное фенотипирование, согласно стандартной операционной процедуре «Фенотипическая оценка сортов винограда в Анапской ампелографической коллекции», разработанный на основе методик М.А. Лазаревского (1963), методики государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (1970), Г.С. Морозовой (1978), современных методологических аспектов организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве (2012) [1,2,3,4].

Сорт **Красностоп АЗОС** получен в результате скрещивания сортов Филлоксероустойчивый «Джемете» и Красностоп анапский. Селекционный номер 31-11-1. Имеет патент № 4477, а также внесён в

Госреестр (рисунок 1).



Рисунок 1 – Технический сорт винограда Красностоп АЗОС

Характеризуется следующими морфологическими признаками. Лист средней величины, трёх - и пятилопастной, слаборассечённый. Верхняя поверхность листа гладкая, тёмно-зелёная. Нижняя поверхность имеет на основных жилках слабые щетинки. Верхние боковые вырезки открытые, мелкие щелевидные, нижние вырезки едва намечены. Зубчики на концах лопастей узко треугольные. Черешковая выемка открытая, лировидная с округлым дном. Черешок меньше главной жилки листа. Цветок обоеполый. Грозди средней величины, средней плотности, конической формы, массой 130-160 гр. Ягоды средние, округлые, тёмно-синие. Кожица плотная, мякоть сочная, сок не окрашен. Семян в ягоде 2-3. Семя среднее, округло-овальное, серо-коричневое. Сорт Красностоп АЗОС относится к среднему сроку созревания. Продолжительность вегетационного периода от начала распускания почек до полной физиологической зрелости ягод составляет 135 дней. Устойчивость к грибным заболеваниям на уровне сорта Красностоп анапский.

Рост кустов сильный. Коэффициент плодоношения 1,3. Урожайность 120 ц/га, при сахаристости сока ягод от 19,0 до 26,0 г/100см³ при кислотности 7,0- 8,0 г/дм³. Способность сорта накапливать высокие сахара, даёт большие возможности в приготовлении из него высококачественные марочные и десертные вина. Виноделы разрабатывают новые марки, как сухих, так и десертных вин, которые характеризуются тёмно-рубиновым

цветом, полные с гармоничным сочетанием во вкусе пикантной свежести и тонов чёрной смородины. С дегустационной оценкой 9,0 баллов. Красностоп АЗОС считается одним из перспективных высококачественных и филлоксероустойчивых сортов. Сорт выращивается в корнесобственной культуре. Повышенная зимостойкость и сильно рослость сорта позволяет возделывать его с использованием штамбовой формировки «Спиральный кордон АЗОС-1», составляющий большой эффект от этих насаждений.

Сорт **Достойный** получен в результате скрещивания сортов Ф/У «Джемете» и Мускат Гамбургский. Селекционный номер 36- 12-2. Имеет авторское свидетельство №25864, а также внесён в Госреестр (рисунок 2).



Рисунок 2 - Технический сорт винограда Достойный

Характеризуется следующими морфологическими признаками. Лист крупный, тёмно-зелёный, округлый, пятилопастной, средней рассеченности. Верхняя поверхность листа слегка блестящая. Верхние вырезки глубокие, закрытые, лировидные с округлым дном. Нижние вырезки средней глубины открытые иногда закрытые. Зубчики на концах лопастей средние треугольные острые. Нижняя поверхность листа покрыта щетинистым опушением средней густоты. Черешковая выемка открытая иногда закрытая с округлым дном. Черешок чуть меньше главной жилки листа. Цветок обоеполый. Гроздь крупная и средняя (280-350 гр.), цилиндрической формы, средней плотности. Ягода средняя, округлой

формы, тёмно-синей окраски с восковым налетом. Мякоть сочная, вкус простой, приятно освежающий. Семян в ягоде 2-3, сок не окрашен. Кожица прочная. Сорт Достойный относится к позднему сроку созревания. Продолжительность вегетационного периода 149 дней. Вызревший побег светло-коричневого цвета. Сила роста большая, Рост побегов сильный, вызревание хорошее, к моменту листопада побеги вызревают на 75-80%. Плодоносных побегов 96%. Коэффициент плодоношения 1,4. Сорт рекомендуется выращивать в корнесобственной культуре. Урожайность высокая: до 150 ц/га. Сахаристость сока ягод 18,0-23,0 г/100 см³, при титруемой кислотности 6-7 /дм³. Зрелый урожай может долго находиться на кустах не увядая и не поражаясь гнилью. Выдерживает морозы до минус 22⁰С. Используется для приготовления красных сухих и десертных вин высокого качества с дегустационной оценкой вина 8,8 балла.

Собрана фенологическая и агробиологическая информация по изучаемым сортам винограда за 2015-2017 гг. Отмечены даты прохождения основных фенологических фаз, определен продукционный период, проведен учёт урожая (таблицы 1,2,3,4).

Таблица 1 - Данные фенологических наблюдений сортов винограда ампелографической коллекции (2015-2017 гг.)

Фенофаза		Сорт	
		Достойный	Красностоп АЗОС
Начало плача		10/03	08/03
Начало распускания глазков		23/04	15/04
Цветение	начало	07/06	05/06
	массовое	10/06	11/06
	конец	15/06	14/06
Созревание ягод	начало	28/07	17/07
	полное	19/09	29/08
Окончание роста побегов		16/08	17/08
Начало вызревания однолетних побегов		29/08	22/08
Кол-во дней от начала распускания почек до полной физиологической зрелости		149	135
Листопад	начало	28/09	26/09
	конец	12/10	15/10

Данные, приведенные в таблице 1, показывают, что сорт Достойный относится к более позднему сроку созревания, чем Красностоп АЗОС, фенологические фазы: начало созревание и полное созревание ягод имеют разницу в 10-17 дней, фаза цветения и фаза листопад у этих сортов проходят почти одновременно.

Таблица 2 - Агробиологические показатели сортов винограда в ампелографической коллекции, 2015-2017 гг.

Название сорта	Среднее количество глазков на куст, шт	Среднее количество зелёных побегов на куст, шт.	Среднее количество плодоносных побегов на куст, шт.	Среднее количество соцветий на куст, шт	Коэффициент плодоношения	Коэффициент плодоносности	Процент распускания глазков, %
Достойный	50,0	43,3	35,0	52,5	1,2	1,5	87,0
Красностоп АЗОС	51,5	47,0	40,0	53,0	1,1	1,3	91,2

Анализируя таблицу 2, можно сделать вывод, что коэффициент плодоношения и коэффициент плодоносности у сорта Достойный выше, а процент распускания глазков выше у сорта Красностоп АЗОС.

Таблица 3 - Учёт урожая сортов винограда в ампелографической коллекции (2015-2017 гг.)

Название сорта	Дата сбора и анализа	Средний вес грозди, гр.	Средний урожай с куста, кг.
Достойный	19/9	240,0	12,6
Красностоп АЗОС	22/08	110,0	5,8

Из данных представленных в таблице 3 видно, что сорт Достойный созревает позже сорта Красностоп АЗОС, имеет более высокую урожайность с куста и высокий средний вес грозди.

Таблица 4 – Оценка качества урожая сортов винограда в ампелографической коллекции (2015-2017 гг.)

Название сорта	Дата сбора и анализа	Сахаристость сока ягод г/100см ³	Кислотность сока ягод г/дм ³
Достойный	19/9	22,5	6,2
Красностоп АЗОС	22/08	25,5	5,6

Из данных представленных в таблице 4 видно, что Красностоп АЗОС характеризуется более ранним сроком созревания и высоким накоплением сахаристости сока ягод.

Вина из сортов Красностоп АЗОС и Достойный конкурентоспособны, отличающиеся высокими потребительскими свойствами, они пользуются заслуженной славой и неоднократно являлись номинантами выставок и обладателями дипломов (рисунок 3,4).



Рисунок 3 - Дипломы по результатам участия в различных международных конкурсах и выставках образцов вин из сорта Красностоп АЗОС



Рисунок 4 – Дипломы по результатам участия в различных международных конкурсах и выставках образцов вин из сорта Достойный

На современном этапе изучения генетических ресурсов винограда, ДНК-профили дополняют традиционные ампелографические описания, агробиологические характеристики и служат основой для достоверной

идентификации сортов и форм винограда.

Для генотипирования образцов винограда используют микросателлитные маркеры, которые позволяют идентифицировать сорта, изучать их происхождение, выявлять синонимы, омонимы и примеси в коллекциях. Данная маркерная система основана на вариабельности микросателлитных участков ДНК. Микросателлиты (SSR – simple sequence repeats) – тандемные повторы простых последовательностей в структуре ДНК, которые могут состоять из 4, 3, 2 или даже одного нуклеотида. Источник полиморфизма микросателлитных последовательностей – сайт-специфическое варьирование длины повтора, что в свою очередь обусловлено различием в числе единиц повтора.

В работе нами были использованы микросателлитные маркеры, рекомендованные в качестве основного минимального набора для ДНК-профилирования генотипов *Vitis vinifera* L.: VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62 и VrZAG79 [6]. SSR-маркеры были объединены с учетом диапазонов размеров амплифицируемых фрагментов по конкретным локусам и температуры отжига праймерных пар: VVS2 + VVMD7; VVMD27 + VVMD5; VrZAG62 + VrZAG79. Экстракцию ДНК проводили из молодых листьев методом ЦТАБ [5]. Амплификацию осуществляли с использованием прибора Eppendorf Mastercycler gradient (Германия). Разделение продуктов реакции методом капиллярного электрофореза и оценка результатов SSR-анализа проведена с использованием автоматического генетического анализатора ABI Prism 3130 и специального программного обеспечения GeneMapper и PeakScanner. В качестве контроля в работе использовали ДНК референсного сорта Шардоне. Молекулярно-генетические исследования выполнены в ЦКП «Геномные и постгеномные технологии» Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия.

По результатам микросателлитного профилирования сорта показали сорт-специфическую общую комбинацию аллелей (таблица 5). При этом в каждом локусе есть одна одинаковая аллель, что соответствует тому, что сорта Красностоп АЗОС и Достойный имеют одного общего родителя (Филлоксероустойчивый Джемете).

Таблица 5 – ДНК-профили сортов винограда Красностоп АЗОС и Достойный

Сорта	Аллели SSR-локусов, п.н.											
	VVS2		VVMD7		VVMD27		VVMD5		VrZAG62		VrZAG79	
Шардоне *	137	143	239	243	182	190	236	240	188	196	244	246
Красностоп АЗОС	125	145	239	253	176	190	224	238	188	200	238	244
Достойный	125	133	239	253	182	190	224	242	188	200	244	248

Полученные формулы сорта (ДНК-паспорта) на практике могут эффективно применяться для определения чистосортности посадочного материала и насаждений винограда, уточнения родительских форм образца и в спорных вопросах авторства сорта.

Сорта винограда, выделенные в ампелографической коллекции Достойный и Красностоп АЗОС на основании фенологического, хозяйственного изучения, исследование виноматериалов, а также генетических ресурсов ДНК-профилей дополняют агробиологические характеристики и служат основой для достоверной идентификации сортов, представляя большой интерес в виноградарстве и виноделии.

Литература

1. Лазаревский, М.А. Изучение сортов винограда / Под ред. А.М. Негруля. – Изд-во Ростовского университета, 1963. – 152 с.
2. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур: Выпуск 5 - Плодовые, ягодные, субтропические, цитрусовые, орехоплодные культуры, виноград и чай. Москва: «Колос», 1970. – 160 с.
3. Морозова, Г.С. Механический состав и механические свойства гроздей и ягод / Г.С. Морозова // Виноградарство с основами ампелографии. – Москва: Колос. - 1978. – С. 258-259.
4. Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012. – 569 с.

5. Rogers SO, Bendich AJ. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology*. 1985;19(1):69-76. doi:10.1007/bf00020088.

6. This P, Jung A, Boccacci P, et al. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 2004;109:1448-1458. doi:10.1007/s00122-004-1760-3.

References

1. Lazarevskiy. M.A. Izucheniye sortov vinograda / Pod red. A.M. Negrulya. – Izd-vo Rostovskogo universiteta. 1963. – 152 s.

2. Metodika gosudarstvennogo sortoispytaniya selskokhozyaystvennykh kultur: Vypusk 5 - Plodovyye. yagodnyye. subtropicheskiye. tsitrusovyye. orekhoplodnyye kultury. vinograd i chay. Moskva: «Kolos». 1970. – 160 s.

3. Morozova. G.S. Mekhanicheskiy sostav i mekhanicheskiye svoystva grozdey i yagod /G.S. Morozova // Vinogradarstvo s osnovami ampelografii. – Moskva: Kolos. - 1978. – S. 258-259.

4. Sovremennyye metodologicheskiye aspekty organizatsii selektsionnogo protsessa v sadovodstve i vinogradarstve. – Krasnodar: SKZNIISiV. 2012. – 569 s.

5. Rogers SO, Bendich AJ. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology*. 1985;19(1):69-76. doi:10.1007/bf00020088.

6. This P, Jung A, Boccacci P, et al. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 2004;109:1448-1458. doi:10.1007/s00122-004-1760-3.