

КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ГИБРИДНЫХ ФОРМ ВИНОГРАДА СЕЛЕКЦИИ ФГБНУ СКФНЦСВВ

Ильницкая Е.Т., канд. биол. наук, Котляр В.К., Пята Е.Г., Макаркина М.В.,
Прах А.В., канд. с.-х. наук, Митрофанова Е.А., канд. с.-х. наук, Козина Т.Д.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский
федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»
(Краснодар)*

Реферат. Проводится комплексное изучение перспективных гибридных форм винограда для белого виноделия, созданных в ФГБНУ СКФНЦСВВ. Представлены результаты изучения качества образцов виноматериалов из урожая гибридных форм, идентификации локусов устойчивости к милдью и оидиуму, оценки засухоустойчивости.

Ключевые слова: гибриды винограда, белые виноматериалы, ДНК-маркеры.

Summary. A comprehensive study of promising hybrids of grapes for white winemaking, created in FSBSI NCFSCHVW, is being carried out. The results of studying the quality of samples of wines from the harvest of hybrid forms, identification of loci of resistance to downy mildew and oidium, assessment of drought resistance are presented in this article.

Key words: hybrids of grapes, white wines, DNA-markers.

Введение. Одним из приоритетных направлений развития современной селекции винограда является улучшение сортимента путем создания новых форм с повышенной адаптивностью к неблагоприятным факторам среды и более полной реализацией потенциала продуктивности и качества.

В последние десятилетия во многих регионах России участились погодные аномалии, как следствие изменения климата. Почвенно-климатические условия Анапо-Таманской зоны Краснодарского края в целом благоприятны для возделывания винограда, но глобальные изменения климата привели к его засушливости. В связи с этим актуальны исследования засухоустойчивости новых создаваемых сортов, проведение анатомо-морфологических и физиолого-биохимических исследований растений винограда для выделения сортов с повышенной засухоустойчивостью [1].

При этом создание насаждений из сортов винограда, обладающих повышенной устойчивостью к основным болезням и обладающих высоким качеством урожая – важнейший фактор повышения рентабельности виноградовинодельческой отрасли. Таким образом, создание новых гибридов, обладающих генетическими факторами устойчивости и высокими показателями качества вина – приоритетная задача.

Поэтому, с позиции актуальных требований, в целях пополнения и совершенствования сортимента винограда научными сотрудниками Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия (ФГБНУ СКФНЦСВВ) проводится работа по комплексному изучению новых гибридных форм винограда. В научном центре создаются конкурентоспособные сорта, адаптированные к местным агроклиматическим условиям, наибольшие успехи достигнуты в создании технических сортов для приготовления красных вин. В настоящее время активно ведётся работа по выделению

наиболее перспективных генотипов среди гибридных форм для белого виноделия с привлечением различных методик и научных подходов [2-4].

Объекты и методы исследований. Проведены исследования на перспективных гибридных формах винограда селекции ФГБНУ СКФНЦСВВ – Тана 19 (Зала дендь х Бейсуг), Тана 72 (Сейв Виллар 12-309 х Мускат кубанский), Тана 73 (Мускат кубанский х Вертеш Чилага), Тана 74 (СВ 12-309 х Мускат кубанский), Тана 82 (Мадлен Анжевин х Виллар Блан), Тана 88/1 (СВ 12-309 Мускат кубанский), Тана 92 (Зала дендь х Мцване). Гибридные формы произрастают в условиях Анапской ампелографической коллекции (г. Анапа). Из урожая этих форм на базе научного центра «Виноделие» приготовлены вино-материалы, их физико-химические исследования выполнены в Центре коллективного пользования технологичным оборудованием ФГБНУ СКФНЦСВВ.

Потенциал засухоустойчивости форм определяли по RWC (относительное содержание воды) проводили по методике Р.А. Гаксиола [5]. В условиях вегетационной площадки (г. Краснодар) в летний период 2021 года нами были включены в изучение две отборные селекционные формы винограда для белого виноделия Тана 72 (СВ 12-309 х Мускат кубанский) и Тана 82 (Мадлен Анжевин х Виллар Блан) и в качестве контроля использовали растения сорта Первенец Магарача. Сбор листьев для исследования проводили в три этапа (утро, день, вечер). Из отобранных листьев вырезали диски одинакового размера и производили их взвешивание. После взвешивания диски помещали в пробирки с дистиллированной водой и оставляли в холодильнике при температуре 4 °С на ночь, после чего взвешивали повторно. Далее листовые диски помещали в сушильный шкаф, где оставили при температуре 70 °С в течении 12 часов. По завершению этого этапа было проведено контрольное взвешивание сухой массы листовых дисков. Следует отметить, что оценка засухоустойчивости гибридных форм винограда Тана 72 и Тана 82 проведена на корнесобственных кустах, контроль - Первенец Магарача произрастает на подвое, все кусты 2020 года посадки.

ДНК-маркерный анализ локусов устойчивости к милдью (*Rpv3*) и оидиуму (*Ren3*, *Ren9*) выполняли методом ПЦР с разделением продуктов реакции на автоматическом генетическом анализаторе Нанофор 05 (Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Россия) в Центре коллективного пользования технологичным оборудованием ФГБНУ СКФНЦСВВ. Для идентификации локуса *Rpv3* использовали маркеры UDV305 и UDV737 [6]. Для детекции аллелей *Ren3* были использованы маркеры ScORGF15-02 и GF15-42 [7], а для определения локуса устойчивости *Ren9* – CenGen6 маркер [8]. ДНК выделяли методом ЦТАБ из апикальных листьев молодых побегов растений изучаемых форм винограда [9].

Обсуждение результатов. Изучение качества урожая. Одним из наиболее значимых показателей качества урожая сортов винограда, предназначенных для приготовления вина, является дегустационный балл образцов вин, приготовленных из данных сортов. Проведена рабочая дегустация по определению органолептической оценки образцов вин, приготовленных из урожая 2020 года гибридных форм Тана 19, Тана 73, Тана 74, Тана 82, Тана 88/1, Тана 92. Наилучшие дегустационные оценки показали образцы сухих вин из винограда гибридных форм Тана 88/1, Тана 82, Тана 92 (табл. 1).

Физико-химические показатели также положительно характеризовали полученные образцы вин. Массовая концентрация приведенного экстракта в белых столовых винах и вино-материалах должна быть не менее 16,0 г/дм³, в изучаемых образцах показатель варьировал от 16,9 г/дм³ (Тана 88/1) до 22,1 г/дм³ (Тана 74). Также образцы имели достаточно

высокую спиртуозность (наименьшее значение у Тана 92-11,7 %, наибольшее у образца Тана 19-13,8 %), что свидетельствует о высокой микробиологической стабильности, свойственной столовым винам высокого качества (табл. 2).

Таблица 1 – Результаты дегустации вин из урожая гибридных форм винограда 2020 г.

Форма винограда	Описание образца вина	Дегустационный балл
Тана 19	Цвет соломенный. Аромат яркий, с тонами свежих ягод винограда, фруктов. Вкус чистый, спиртуозный	7,9
Тана 73	Цвет соломенный. Аромат сложный, с цветочными тонами. Вкус очень свежий, легкий	7,6
Тана 74	Цвет соломенный. В аромате яркие цветочные тона. Вкус полный, насыщенный	7,7
Тана 82	Цвет соломенный. Аромат фруктово-цветочный. Вкус чистый, гармоничный, умеренно-свежий	8,1
Тана 88/1	Цвет соломенный. Аромат яркий с тонами экзотических фруктов (ананас, дыня). Вкус чистый	8,2
Тана 92	Цвет соломенный. Аромат яркий с тонами грейпфрута. Вкус чистый, свежий с горчинкой	8,1

Таблица 2 – Физико-химические показатели качества виноматериалов гибридных форм винограда (г.-к. Анапа, 2020 г.)

Форма винограда	Объемная доля этилового спирта, %	Массовая концентрация				
		сахаров, г/дм ³	титруемых кислот, г/дм ³	летучих кислот, г/дм ³	общего диоксида серы, мг/дм ³	приведённого экстракта, г/дм ³
Тана 19	13,8	3,7	9,0	0,36	114	20,0
Тана 73	13,2	2,5	7,6	0,56	125	20,6
Тана 74	13,6	5,0	8,5	0,42	148	22,1
Тана 88/1	12,6	5,0	6,3	0,85	169	16,9
Тана 92	11,7	3,4	8,6	0,44	98	21,6

Изучение засухоустойчивости. Исследование проводили в последнюю декаду июля и первую декаду августа 2021 года в погодных условиях г. Краснодара. Средняя температура воздуха в последней декаде июля составляла 25,4 °С при максимальной температуре в 35,5 °С, а в первой декаде августа средняя температура воздуха была 27,6 °С при максимальной 37,7 °С. Осадки в этот период отсутствовали. Изучаемые образцы (Тана 72, Тана 82, Первенец Магарача) показали разную засухоустойчивость при максимальной дневной температуре воздуха 34 °С (в день исследования), согласно результатам прове-

дённых исследований. Наибольшую способность сохранять влагу проявил сорт Первенец Магарача. Меньшую способность удерживать воду в тканях листа проявила форма Тана 72, процентное содержание воды составило 79 %, что согласно методике, является положительным значением. Ещё более низкие значения были у Тана 82 (табл. 3). При максимальной дневной температуре 37 °С все образцы имели схожие значения водоудерживающей способности, показатели формы Тана 72 незначительно превысили контроль.

Таблица 3 – Анализ водоудерживающей способности растений винограда при различных максимальных дневных температурах

Образец	Масса свежей выечки листа, г	Регидрированная масса, г	Масса сухого остатка, г	RWC, %
	Среднее	Среднее	Среднее	
Максимальная дневная температура воздуха 34 °С				
Первенец Магарача	0,363	0,404	0,095	87
Тана 72	0,356	0,425	0,096	79
Тана 82	0,352	0,453	0,114	70
Максимальная дневная температура воздуха 37 °С				
Первенец Магарача	0,327	0,396	0,095	76
Тана 72	0,35	0,432	0,094	77
Тана 82	0,334	0,411	0,118	74

По предварительным данным можно сделать вывод о том, что Тана 72 является более засухоустойчивой, чем Тана 82. Кроме того, согласно ранее проведённым нами исследованиям, Тана 72 характеризуется и повышенной устойчивостью к низкотемпературному стрессу [10]. Исследования будут продолжены.

Идентификация локусов устойчивости к патогенам. Милдью и оидиум – одни из наиболее вредоносных сезонных заболеваний виноградных растений. В отдельные годы данные заболевания могут наносить значительный урон виноградникам. Большинство сортов *V. vinifera* L не устойчивы к милдью и оидиуму, создание устойчивых сортов ведётся путём межвидовой гибридизации. В настоящее время идентифицированы ДНК-маркеры к ряду генов устойчивости к милдью и оидиуму, позволяющие методом ДНК-анализа определять наличие локусов устойчивости в генотипах винограда. В работу были взяты локусы устойчивости к милдью *Rpv3* и оидиуму *Ren3* и *Ren9*, так как согласно происхождению гибридов данные гены могут присутствовать в анализируемых образцах винограда.

По результатам ДНК-маркерного анализа генотипов Тана 19, Тана 72, Тана 73, Тана 74, Тана 82, Тана 92 установлено, что локус устойчивости к милдью *Rpv3* присутствует в растениях гибридных форм Тана 73, Тана 74, Тана 19 и Тана 92. Так как при анализе ДНК данных форм с помощью сцепленных ДНК-маркеров определены целевые аллели, наличие которых свидетельствует о присутствии гена устойчивости (UDV305 – 299 пар нуклеотидов (п.н.), UDV737 – 279 п.н.).

Эти же генотипы (Тана 19, Тана 72, Тана 73, Тана 74, Тана 82 и Тана 92) были изучены на предмет наличия локусов резистентности к оидиуму с помощью ДНК-маркеров GF15-42, ScORGF15-02 (выявляют ген *Ren3*) и CenGen6 (*Ren9*). Целевые аллели 199 (GF15-42) и 242 п.н (ScORGF15-02), коррелирующие с локусом устойчивости *Ren3* обнаружены в гибридных формах Тана73 и Тана74; с помощью ДНК маркера CenGen6 в

гибридных формах Тана 73, Тана 74 и Тана 92 идентифицирована целевая аллель размером 287 п.н., коррелирующая с локусом *Ren9* [11]. Таким образом, гибридные формы Тана 73 и Тана 74 несут гены устойчивости к оидиуму *Ren3* и *Ren9*, Тана 92 – *Ren9*.

Выявленные гены устойчивости унаследованы гибридными формами от североамериканских видов, присутствующих в их родословных, как родительские формы гибридов прямых производителей Сейв Виллара, используемых при селекции.

Выводы. Проводится изучение гибридных форм винограда по комплексу хозяйственно ценных показателей с привлечением метода ДНК-маркерной оценки генотипов, изучения физиологических показателей растений, а также оценки качества конечной продукции, получаемой из винограда гибридных форм. По результатам многолетних исследований наиболее выделяющиеся по комплексу положительных характеристик гибридные формы винограда будут переданы на государственное сортоиспытание для пополнения сортимента винограда, адаптированного к условиям юга России.

Литература

1. Схаляхо Т.В., Ненько Н.И., Киселева Г.К. Оценка степени засухоустойчивости сортов винограда в условиях Анапо-Таманской зоны по физиолого-биохимическим и анатомо-морфологическим показателям [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2012. № 17(5). С. 69-78. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/12/05/09.pdf>. (дата обращения: 19.05.2022).
2. Пята Е.Г., Ильницкая Е.Т., Шелудько О.Н., Прах А.В. Перспективные гибриды винограда для белого виноделия // Виноделие и виноградарство. 2020. № 1. С. 34-38.
3. Ильницкая Е.Т., Пята Е.Г., Щеглов С.Н., Марморштейн А.А. Агробиологический потенциал новых технических форм винограда в условиях Анапо-Таманской зоны возделывания [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2020. № 66(6). С. 59-70. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/20/06/06.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2020-6-66-59-70 (дата обращения: 24.05.2022).
4. Ильницкая Е.Т., Пята Е.Г., Антоненко М.В., Макаркина М.В., Прах А.В. Изучение новых гибридных форм винограда традиционными методами селекции и с использованием ДНК-маркеров // Наука Кубани. 2018. № 2. С. 49-55.
5. Gaxiola R.A., Li J., Undurraga S., Dang L.M., Allen G.J., Alper S.L., Fink G.R. Drought and salt-tolerant plants result from overexpression of the AVP1 H⁺-pump // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2001. V. 98(20). P. 11444-11449.
6. Di Gaspero G., Copetti D., Coleman C., Castellarin S.D., Eibach R., Kozma P., Lacombe T., Gambetta G., Zvyagin A., Cindrić P., Kovács L., Morgante M., Testolin R. Selective sweep at the *Rpv3* locus during grapevine breeding for downy mildew resistance // Theor. Appl. Genet. 2012. Vol. 124. P. 227-286.
7. Zendler D., Schneide P., Töpfe R., Zyprian E. Fine mapping of *Ren3* reveals two loci mediating hypersensitive response against *Erysiphe necator* in grapevine // Euphytica. 2017. Vol. 213(68). P. 1029.
8. van Heerden C. J., Burger P., Vermeulen A., Prins R. Detection of downy and powdery mildew resistance QTL in a 'Regent' 9 'RedGlobe' population // Euphytica. 2014. Vol. 200. P. 281-295.
9. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Mol. Biol. 1985. Vol. 19(1). P. 69-76.
10. Пята Е.Г., Сундырева М.А., Ильницкая Е.Т., Котляр В.К. Исследование показателей морозоустойчивости перспективных селекционных форм винограда // Виноградарство и виноделие. 2020. Т. 49. С. 87-89.
11. Ильницкая Е.Т., Макаркина М.В., Козина Т.Д., Кожевников Е.А., Пята Е.Г. ДНК-маркерное определение генов устойчивости к оидиуму *Ren3* и *Ren9* в элитных формах винограда селекции СКФНЦСВВ [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2022. № 73(1). С. 124-133. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/22/01/11.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2022-1-73-124-133 (дата обращения: 19.05.2022).