

Ivan Pejić
Edi Maletić

UDK: 634.84(497.5)Rudina)
Izvorni znanstveni članak
Rukopis prihvaćen za tisak: 23.4.2013.

ISTRAŽIVANJE GENETSKIH RESURSA VINOVE LOZE NA PODRUČJU RUDINE (PSUNJ)

Sažetak

Na lokalitetu Rudina na Psunju, u blizini napuštene benediktinske opatije sv. Mihovila i njezine okolice, vizualno je determinirana prisutnost plemenite (*Vitis vinifera*, ssp. *vinifera* L.) i divlje (*Vitis vinifera*, ssp. *sylvestris* Gmel.) loze, što izaziva pozornost s obzirom na činjenicu da na tom prostoru već dugo nema ljudi i poljoprivrede.

Prisutnost plemenite vinove loze svjedoči o negdašnjem uzgoju, vjerojatno prije više stotina godina. S obzirom na to da se loza prirodno održava i sjemenom i vegetativno (dijelovima biljke), postoji mogućnost utvrđivanja genetske sličnosti ili identičnosti tih loza s današnjim sortama. Uzorci osam fenotipski različitih biljaka s lokaliteta Rudina u postupku genetičke identifikacije primjenom devet DNA-SSR markera pokazali su međusobno različiti genotip. Preliminarni rezultati pokazuju da se analizirani uzorci ne podudaraju ni s jednom poznatom hrvatskom ili europskom sortom. Analiza genetske srodnosti s poznatim predstavnicima plemenite i divlje loze upućuje na veću vjerojatnost da se radi o divljem ili hibridnom materijalu.

Posebno je interesantna populacija od najmanje 50 vrlo starih i vrlo razvijenih loza koje po svom habitusu i karakteristikama lista podsjećaju na divlju lozu. Prema našim spoznajama, to je jedino takvo nalazište u kontinentalnoj Hrvatskoj, do sada potpuno nepoznato stručnoj javnosti. Divlja loza tijekom zadnjih stoljeća uglavnom je iščezla s prostora cijele Europe i danas su vrlo rijetka staništa poput ovoga na Rudini. Potencijalno vrijedni geni iz navedenih biljaka mogu biti metodama klasičnog oplemenjivanja iskorišteni u poljoprivredi budućnosti. Isto tako detaljna ampelografska i genetička analiza može dati odgovor na pitanje o strukturi i porijeklu srednjovjekovnih vinograda i populacija divlje loze na Psunju.

Ključne riječi: Vitis; SSR; sorta; ampelografija; genetička identifikacija.

Uvod

Vinova loza jedna je od najstarijih poljoprivrednih kultura. Materijalni dokazi početka vinarstva vežu se uz prostor sjevernog Irana i datiraju oko 5.400 g. pr. Kr. (McGovern, 2003.). Danas se vinova loza uzgaja pretežno u umjerenom klimatskom pojasu, ali sve više i u suptropskom. U globalnoj svjetskoj proizvodnji voća vinova je loza na prvome mjestu. Uzgoj vinove loze i vinarstva ima dugu povijest i tradiciju i na prostoru današnje Hrvatske, gdje je gospodarski i kulturološki iznimno važna. U Hrvatskoj se vinova loza danas uzgaja na oko 35.000 ha, a glavina uroda (preko 90%) prerađuje se u vino.

U svijetu, pa tako i kod nas, kvalitetna vina proizvode se od plemenite (europske) vinove loze (*Vitis vinifera*, ssp. *vinifera* L.). Velika većina vinskih sorti pripada toj botaničkoj vrsti. Nekada je u Europi i zapadnoj Aziji obitavala i divlja loza (*Vitis vinifera*, ssp. *sylvestris* Gmel.), iz koje je evoluirala plemenita, a koja je danas gotovo potpuno iščezla. Treba naglasiti da postoji veći broj drugih (američkih i azijskih) vrsta loze koje se primjenjuju u oplemenjivanju vinove loze i njezinih podloga, ali su u svjetskoj proizvodnji vina beznačajne. Procjenjuje se da u svijetu trenutno egzistira između 5.000 i 10.000 različitih sorata, međutim tek ih nekih 300 – 400 ima veću komercijalnu važnost (Maletić i sur., 2008.). U većini zemalja tek nekoliko sorata, najčešće internacionalnih, zauzima glavninu površinu, a onda slijede sorte manje zastupljenosti koje su najčešće lokalne (autohtone). Baš te posljednje često daju prepoznatljivost pojedinim vinskim regijama. Primjerice, u Hrvatskoj je najzastupljenija sorta graševina (oko 25% ukupnih površina pod lozom), koja vjerojatno nije hrvatska autohtona sorta već se uzgaja u široj regiji, gdje ima različite nazive kao npr. talijanski rizling, Welschriesling, laški rizling i dr. Ipak, iz inozemne perspektive Hrvatsku kao vinsku zemlju mnogi primarno prepoznaju po vinima autohtonih sorti kao što su Plavac mali, Malvazija istarska, Babić, Pošip i sl., stoga su za opstojnost i razvoj nacionalnoga vinogradarstva i vinarstva autohtone sorte izuzetno važne. Osim njihove uloge u diverzifikaciji i posebnosti vinske ponude, te sorte mogu imati i veliko značenje u oplemenjivanju vinove loze (razvoju novih sorata) te mogu biti važne za budućnost vinogradarstva (Pejić i sur., 2000.).

Stare sorte vinove loze stoljećima, a neke vjerojatno i tisućama godina, održavaju svoj karakteristični genotip vegetativnom reprodukcijom (kloniranjem). Na taj način svojstva grožđa pojedinih sorti ostaju relativno stabilna, a time i njihova vina kao sortno prepoznatljiva. Svi trsovi jedne sorte nastali su višekratnim kloniranjem od jedne početne biljke koja je nastala iz sjemena. Dakle, stare (a i nove) sorte nastale su prirodnom (spontanom) ili namjernom (planskom) hibridizacijom različitih biljaka. Kao rezultat hibridizacije (križanja) u bobicama grožđa razvije se sjeme, a iz sjemena su nastale različite biljke originalnoga genotipa. Ako se neka od tih biljaka pokaže gospodarski interesantnom, njezinim daljnjim kloniranjem nastaje i održava

se populacija sorte. Smatra se da su sve stare (autohtone) sorte nastale na taj način. Ako su dobre, ljudi ih kloniranjem održavaju stoljećima, a ako ne, one postupno iščezavaju iz proizvodnje. Održavanje loze preko samoniklih biljaka u današnje vrijeme na području naše i drugih razvijenih vinskih zemalja svedeno je na zanemarive iznimke, pa se tako vinova loza u pravilu može pronaći samo tamo gdje ima ljudi, a na napuštenim terenima loze gotovo da i nema.

Smatra se da je europska plemenita vinova loza nastala procesom domestikacije koji je započeo na prostoru Transkavkazije te kasnijom prirodnom hibridizacijom autohtone divlje loze i introduciranih kultiviranih loza koje su kolonizatori i nomadi antičkih civilizacija donijeli u Europu s prostora Male Azije (Maul, 2011.). Bolja gospodarska vrijednost (količina i kvaliteta) plemenite loze dovela je do njezina širenja i postupnog istiskivanja divlje loze. Tako je divlja loza u mnogim europskim zemljama, pa i u Hrvatskoj, gotovo potpuno iščezla. Tijekom opsežnih istraživanja sortimenta vinove loze u Hrvatskoj provedenih u zadnjih 15 – 20 godina nije otkrivena nijedna lokacija s populacijom divlje loze. U starijoj literaturi spominju se pojedinačni nalazi u Bosni i Hercegovini oko Konjica i Boračkog jezera (Turković, 1960.), ali opisani primjerci nisu razmnoženi i sačuvani u genskim bankama vinove loze kod nas. Interesantno je da se neki genotipi materijala koji je prikupio Turković danas čuvaju jedino u kolekciji divljih loza u Njemačkoj (Barth i sur., 2009.).

Divlja loza odlikuje se posebnim oblikom lista i grožđa, a u njenim populacijama pojavljuju se zasebne biljke muškog i biljke ženskog cvijeta. Stoga se one razmnožavaju spontano sjemenom, a da bi se razvilo sjeme, mora doći do međusobnog oprašivanja polenom koji prenosi vjetar. Iz današnje perspektive gledano, grožđe divlje loze nije prikladno kao hrana za ljude ili sirovina za vino. Međutim, divlja loza danas je vrlo aktualna u znanstvenim istraživanjima jer je izvor vrijednih gena za adaptaciju koji se mogu planskim križanjem i metodama selekcije prenijeti u plemenitu lozu.

Stoga je vinogradarska struka zanemarila tu divlju vrstu (uslijed njezinih loših gospodarskih svojstava), a kako je ona osjetljiva na filokseru i američke bolesti, dovedena je do samog ruba opstanka, te se zadnjih godina poduzimaju brojni znanstveni projekti u svijetu radi spašavanja i karakterizacije preostalih primjeraka. Taj proces nestajanja i zanemarivanja otpočeo je još prije nekoliko stoljeća, pa je količina dostupne literature i spoznaja o osnovnim biološkim karakteristikama divlje loze vrlo oskudna. Dodatni problem u karakterizaciji i preciznoj determinaciji danas dostupnih živih formi divlje loze vjerojatno je postojanje hibridnih formi nastalih slobodnom oplodnjom između divljih i plemenitih loza.

Bez obzira na to, svako pronalaženje samoniklih i spontanih populacija loze koje su zadržale sposobnost preživljavanja u prirodi „bez pomoći čovjeka“ ima golemu vrijednost za znanost i nudi mogućnost budućeg iskorištavanja u poljoprivredi. Jednu od takvih populacija pronašli smo u okolini Rudine na Psunju, u blizini bene-

diktinske opatije sv. Mihovila. Uz pretpostavku da su se na prostoru Psunja ipak održale neke stare sorte vinove loze, genetičkom analizom bilo bi moguće utvrditi njihov identitet (Sefc i sur., 2009). S obzirom na povijest Rudine takve sorte mogle bi biti podrijetlom ne samo iz Hrvatske već i iz drugih europskih zemalja. U ovom radu iznosimo spoznaje proistekle iz preliminarnih ampelografskih i genetičkih istraživanja manjeg broja identificiranih samoniklih biljaka loze na tom lokalitetu.

Evaluacija i konzervacija genetskih resursa vinove loze

U zadnjih 15 – 20 godina proveli smo cijeli niz projekata s namjerom da sustavno evaluiramo i konzerviramo hrvatske autohtone sorte plemenite vinove loze. Taj posao uvijek započinje (1) opsežnim terenskim ekspedicijama (obilazak starih vinograda), nakon čega slijedi (2) detaljna ampelografska i genetička identifikacija radi pozitivne identifikacije sorte uz pomoć stručne literature i analitičkih poljskih i laboratorijskih metoda. Identificirane se sorte (3) razmnožavaju u tzv. „*ex situ* kolekcijske nasade“ (popularno genske banke) u kojima se nastavlja sustavna višegodišnja evaluacija morfoloških, bioloških i enoloških karakteristika. Nakraju se (4) sorte dobrih karakteristika – a koje su tijekom vremena iz raznih razloga zanemarene i koje su nestale iz komercijalne proizvodnje – pokušavaju vratiti u proizvodnju (revitalizirati), gdje im se u svjetlu novih tehnologija i potrošačkih trendova pruža nova prilika da postanu komercijalno interesantne. Kroz gore spomenute projekte do danas je otkriveno i proučeno više od 140 hrvatskih autohtonih sorti vinove loze koje se održavaju u nacionalnom kolekcijskom nasadu unutar pokušališta Jazbina Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (Pejić i Maletić, 2010.).

Vjerojatno najbolji primjer koji ilustrira opravdanost i uspješnost ovog opsežnog posla jest gotovo iščezla dalmatinska sorta crljenak kaštelanski (Maletić i sur., 2009.). Naime, to je vrlo rijetka autohtona sorta od koje smo na nekoliko lokacija u Dalmaciji tijekom 10 godina istraživanja uspjeli pronaći samo 25 preživjelih loza. Sorta je iz nama nepoznatih razloga tijekom vremena zanemarivana i postupno je nestajala, a umjesto nje u proizvodnju su dolazile druge. Postala je interesantna kada je njezin genetički profil načinjen primjenom DNA markera te je u sklopu međunarodne suradnje uspoređen s genetičkim profilima brojnih svjetskih sorti. Otkriveno je da genotip istovjetan s genotipom te sorte ima i poznata američka sorta zinfandel (u Kaliforniji se uzgaja na površini većoj od 20.000 ha), tj. da se radi o potpuno istoj sorti s dva različita imena (Maletić i sur., 2004.). Kako su sve sorte plemenite loze koje se uzgajaju u Americi podrijetlom iz Europe, a u Europi nijedna sorta nema naziv zinfandel, više od 170 godina vladao je misterij o podrijetlu zinfandela jer je zagubljen podatak o tome tko ga je i kada introducirao u Ameriku. Potvrdom istovjetnosti genotipa pomoću DNA markera te izravnim genetskim srodstvom crljenka kaštelanskog (zinfandela) s nekoliko drugih autohtonih dalmatinskih sorata, među

kojima i plavcem malim kao izravnim potomkom crljenka kaštelanskog, hrvatsko podrijetlo zinfandela postala je najvjerojatnija i široko prihvaćena hipoteza. To otkriće dobilo je velik publicitet u Americi i svijetu. Nekoliko godina kasnije primjenom sofisticiranih molekularno-genetičkih metoda uspjeli smo dokazati da je genotip te sorte istovjetan genotipu danas potpuno nestale sorte tribidrag preko uzorka lista iz herbarija starog više od 90 godina (Malenica i sur., 2011.). Originalan herbarij većeg broja dalmatinskih sorata ostavština je čuvenog ampelografa Stjepana Bulića (1865. – 1937.) i čuva se u Prirodoslovnom muzeju u Splitu. Za razliku od imena crljenak kaštelanski, pod kojim nismo uspjeli pronaći korisne podatke o povijesti te sorte, pomoću imena tribidrag uspješno je rekonstruirana dugačka i slavna povijest te sorte koja pisanim dokumentima seže unatrag sve do 15. stoljeća (Tudor, 2010.). Navedenim istraživanjima tribidrag (zinfandel) danas je u svijetu poznat kao jedna od sorata s najbolje istraženom poviješću. Velik publicitet tog istraživanja doveo je i do velikog interesa za vino te sorte te je u zadnjih 7 – 8 godina u Hrvatskoj posađeno više od 50 ha novih vinograda i u posljednjih se nekoliko godina na tržištu može pronaći vino dobiveno od te sorte pod raznim nazivima (crljenak kaštelanski, pribidrag, zinfandel i dr.). Stara, gotovo iščezla, autohtona sorta tribidrag, od koje nismo pili vino više od 100 godina, ponovo je popularna i ima dobru gospodarsku perspektivu.

Preliminarna karakterizacija uzoraka vinove loze sa Psunja

Tragom informacija i fotografija g. Ljubiše Aleksića iz Požege, zaljubljenika u prirodne ljepote Psunja, ujesen 2008. godine prvi smo put posjetili lokalitet Rudina na Psunju radi determinacije biljaka vinove loze u neposrednoj blizini ruševina benediktinske opatije sv. Mihovila. Tom prilikom utvrdili smo postojanje više biljaka plemenite vinove loze u neposrednoj blizini samostana koje svojim ampelografskim karakteristikama nisu upućivale na nama poznate sorte. U dodatku nam je g. Aleksić, u krugu 1 – 2 km od samostana, pokazao dijelove šume gdje smo vidjeli primjerke vinove loze velike starosti i nesvakidašnjih dimenzija (visine i preko 15 metara) koje spontano rastu unutar šumske zajednice ili na rubovima šume. Uviđom u strukturu stabla i formu lista (grožđa ili nije bilo ili je bilo nedostupno s tla) pretpostavili smo da bi se moglo raditi o divljoj vinovoj lozi ili „podivljalim“ biljkama plemenite vinove loze (slika 1). Materijalne okolnosti omogućile su nam ponovni dolazak i uzorkovanje za DNA analizu tek dvije godine kasnije (jesen 2010.), kada smo uzeli devet uzoraka za laboratorijsku analizu genotipa pomoću mikrosatelitskih (SSR) markera.

S obzirom na vrijeme uzorkovanja (jesen), kada tkivo lista zbog starosti počinje propadati, izolacija DNA iz takvog tkiva nije polučila DNA visoke kvalitete, pa je nakraju uspješno genotipizirano samo osam uzoraka. Svi analizirani uzorci među-

sobno su se razlikovali u genotipu, iako su neki bili fenotipski slični. Time je isključeno da su neki od uzoraka bili vegetativno razmnoženi od zajedničke roditeljske biljke (sorte). Kako prema dostupnim informacijama navedeni prostor više od 100 godina nije naseljen i u sustavu poljoprivrede (možda čak od vremena odlaska Turaka), jasno je da dugo vrijeme tamo nije bilo razmnožavanja loze rukom čovjeka. Ta bi spoznaja mogla dovesti do toga da su pronađene biljke samonikli sjemenjaci porijeklom od sorata uzgajanih prije više stoljeća. U ovom slučaju uzorkovane biljke ne bi bile klonski potomci starih sorata i ne bi predstavljale originalne genotipe iz vremena uzgoja već njihove potomke koji su prošli određenu prirodnu selekciju. To može biti iznimno važno iz perspektive oplemenjivanja vinove loze jer bi – kao posljedica prirodne selekcije – pronađene biljke mogle biti vrijedan izvor gena otpornosti prema biotskim i abiotskim čimbenicima. Za dobivanje preciznijeg odgovora o genetskom statusu tog materijala bilo bi potrebno uzeti znatno veći uzorak i u analizi povećati broj DNA markera.



Slika 1. Primjerci starih loza na lokalitetu Rudina (Psunj) odlikuju se velikom starošću i neobičnom veličinom i rastu u konsocijaciji sa šumskim biljem (foto: Lj. Aleksić)

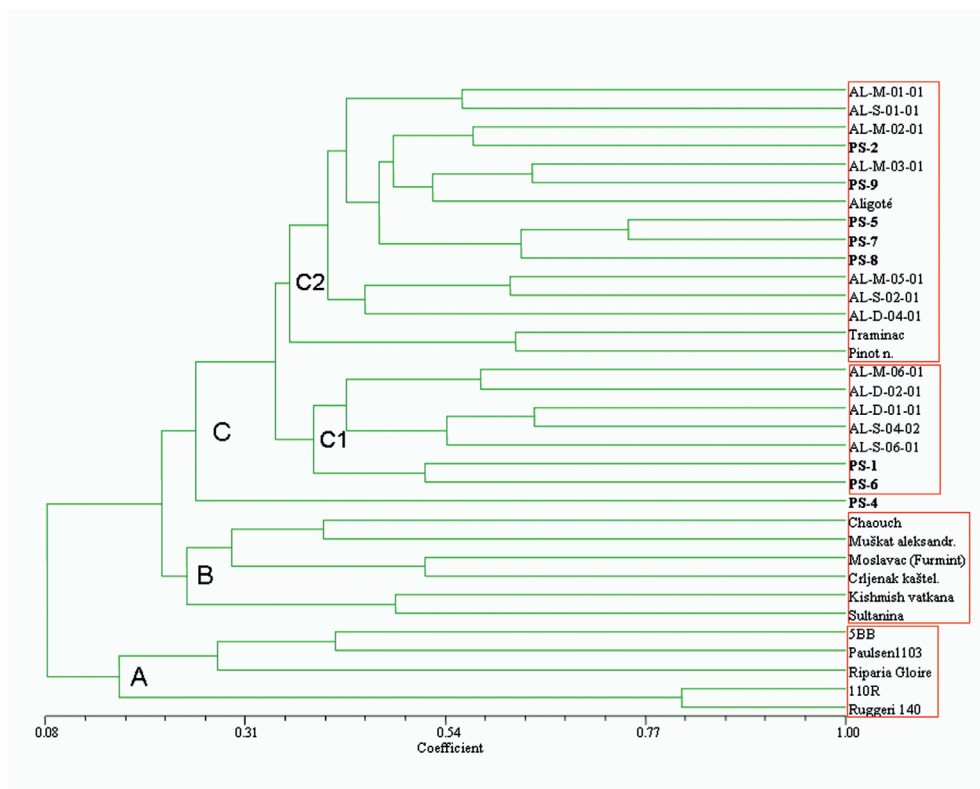
Usporedbom uzoraka sa Psunja s više od 200 sorata iz jugoistočne Europe nije otkrivena bliska genetska veza tog materijala ni s jednom današnjom sortom, što govori o njegovoj genetskoj posebnosti i dugotrajnoj izoliranosti. Ilustraciju genetske posebnosti analiziranih uzoraka sa Psunja prikazuje dendrogram konstruiran na uzorku sorata koje su rabljene u usporedbi (slika 2). Očekivano, u smislu genetske divergentnosti najviše se izdvaja pet sorata podloge (klaster A) koje su podrijetlom od američkih vrsta loze (*Vitis riparia*, *Vitis berlandieri* i dr.). Također, skupina starih (pretežno orijentalnih) sorti plemenite vinove loze čini zasebni klaster (B). Uzorci sa Psunja dolaze grupirani s 12 uzoraka divlje vinove loze (*V. sylvestris*) podrijetlom iz Albanije, a koji su sakupljeni u jednom prethodnom suradničkom projektu (Kullaj i sur., 2012.). Unutar te veće skupine (C) uvezane su i tri dobro poznate sorte plemenite vinove loze (pinot, traminac i aligote). Njihovo grupiranje s divljim lozama nije sasvim iznenađujuće s obzirom na činjenicu da su Regner i sur. (2000) izvijestili o dokazima koji upućuju na mogućnost da je traminac izravni potomak nastao iz križanja divljih loza, a prema njihovu istraživanju pinot i aligote također su bili vrlo srodni s tramincom. To potvrđuje našu pretpostavku da je materijal sa Psunja genetski vrlo poseban i da unutar njega vrlo vjerojatno ima primjeraka divlje loze, kao i mogućih hibrida između divlje i plemenite vinove loze.

Tri uzorka sa Psunja uvrštena su u istraživanje znatno većih razmjera koja je proveo dr. Goran Zdunić na Sveučilištu Davis u Kaliforniji. On je primjenom DNA markera analizirao razinu genetskog srodstva 502 različita genotipa plemenite i divlje loze iz cijelog svijeta, unutar kojih i uzorke sa Psunja (Zdunić i sur., 2013.). Uzorci sa Psunja svrstani su u grupu genotipa koji su bili genetski najrodniji divljim europskim lozama.

Zaključno se može konstatirati da postoje solidni dokazi da su uzorci loze iz okolice Rudine vrlo stari i da nisu rezultat recentne introdukcije. Sigurno je determinirana prisutnost plemenite vinove loze (*V.v. ssp. vinifera* L.), a vrlo vjerojatno i divlje loze (*V.v. ssp. sylvestris* Gmel.). Preliminarna genetička analiza uzoraka nije potvrdila istovjetnost ili genetsku sličnost s nekom od modernih sorti. Primjerci s Rudine godinama uspješno preživljavaju oštru prirodnu selekciju i kao takvi mogli bi biti vrijedan genetski materijal za oplemenjivanje vinove loze. Nažalost, opseg planiranog posla unutar projekta nije omogućavao opsežnije istraživanje.

Pretpostavke i smjernice za buduća istraživanja

Lokalitet Rudina na Psunju u smislu ampelografskih istraživanja zaslužuje veliku znanstvenu pažnju. Potrebno je napraviti detaljnu inventarizaciju šireg prostora oko Rudine i locirati veći broj loza te napraviti njihovo precizno kartiranje uz pomoć GPS tehnologije i primarnu deskripciju pojedinih loza u vrijeme cvatnje i zriobe grožđa.



Slika 2. Dendrogram genetske sličnosti osam analiziranih uzoraka loze sa Psunja (PS), 12 uzoraka divlje loze iz Albanije (AL), 5 sorata podloge američkog podrijetla (klaster A) te nekoliko dobro poznatih i raširenih sorata plemenite vinove loze. Dendrogram je konstruiran nakon provedene klusterske analize (UPGMA algoritam) na temelju koeficijenata sličnosti (Dice, 1945) izračunatih iz DNA markera s devet SSR lokusa.

U suradnji s botaničarima i/ili ekspertima za šumske vrste potrebno je pokušati procijeniti starost nekih primjeraka. Nadalje, bilo bi važno analizirati genotip korijena radi odbacivanja hipoteze o prisutnosti američke loze i recentne introdukcije (prije 100 ili manje godina).

U vrijeme cvatnje potrebno je analizirati strukturu cvijeta i uzorkovati polen za sigurnu determinaciju *V.v. ssp. sylvestris*. Za temeljito istraživanje genotipa i upotrebne vrijednosti loza iz prirodne populacije bilo bi nužno uzeti dormantne pupove i/ili zelene reznice s većeg broja primjeraka za potrebu vegetativne reprodukcije (i tkiva za DNA analizu).

Nakraju, bilo bi potrebno napraviti detaljnu DNA analizu najmanje 50 jedinki populacije (metoda mikrosatelita i/ili SNP) i provjeriti njihovu genetsku sličnost s

europskim sortimentom i populacijama divlje loze. Ako bi se buduće istraživanje provelo prema gore navedenim smjernicama, bilo bi moguće sa sigurnošću utvrditi (ne)postojanje populacija divlje loze (*V.v. ssp. sylvestris*).

Publiciranje rezultata o njihovoj detaljnoj morfološkoj i genetskoj karakterizaciji bilo bi vrlo relevantno za modernu genetiku vinove loze.

S obzirom na činjenicu da je dio populacije po podrijetlu sigurno plemenita loza, postoji mogućnost otkrivanja pojedinih biljaka koje bi bile genetski identične nekoj od sorata koje su još uvijek u uzgoju ili genskim bankama. Njihovo razmnožavanje, uzgoj i analiza vegetativnog potomstva najinteresantnijih loza u uvjetima modernog vinogradarstva (vinogradarsko-vinarska evaluacija) moglo bi biti vrlo relevantno za oplemenjivanje vinove loze ili ekološko vinogradarstvo.

Nakraju, proizvodnja sadnica genetski istovjetnih onima pronađenim na lokalitetu Rudine omogućila bi rekonstrukciju i podizanje vinograda s originalnim genotipima, što bi bitno pridonijelo autentičnosti benediktinskog samostana sv. Mihovila na Rudini u sklopu njegove buduće obnove i konzervacije te iskorištenja u turističke svrhe.

Zahvale

Za prve spoznaje i buđenje interesa za ovaj rijetki i vrijedni materijal vinove loze na Psunju te za nesebičnu pomoć u obilasku terena dugujemo zahvalnost g. Ljubiši Aleksiću. Ovom prilikom zahvalu iskazujemo i svojem kolegi dr. sc. Goranu Zduniću s Instituta za jadranske kulture i melioraciju krša iz Splita koji je u sklopu svog istraživanja na Sveučilištu Davis u Kaliforniji (*Fullbright* program) analizirao i nekoliko uzoraka sa Psunja te kritički pregledao rukopis. Genotipizaciju uzoraka sa Psunja metodom DNA markera izvela je doktorantica Maja Žulj, dipl. ing. agr., u okviru SEE-ERA.Net Plus projekta ERA-091 *Preservation and establishment of true-to-type and virus free material of endangered grapevine cultivars in Croatia and Montenegro*.

Literatura

- Barth, S., A. Forneck, F. Verzeletti, R. Blaich and F. Schumann (2009), Genotypes and phenotypes of an ex situ *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris* (Gmel.) Beger germplasm collection from the Upper Rhine Valley. *Genet Resour Crop Evol* (2009) 56:1171-1181.
- Kullaj, E., A. Çakalli, S. Šimon and I. Pejić. (2012), Molecular Characterization of Wild Grapevine (*Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*) Populations of Northern Albania. *Acta Horticulturae* 948, str. 129-133.
- Malenica, N., Šimon, S.; Besendorfer, V.; Maletić, E.; Kontić, J. K.; Pejić, I. (2011), Whole genome amplification and microsatellite genotyping of herbarium DNA revealed the identity of an ancient grapevine cultivar. *Naturwissenschaften* 98 (9) 763-772.
- Maletić E., Pejić, I., Karoglan-Kontić, J., Piljac, J., Dangl, G. S., Vokurka, A., Lacombe, T., Mirošević, N., Meredith, C.P. (2004), Zinfandel, Dobričić and Plavac mali - the genetic relationship among three cultivars of the Dalmatian coast in Croatia. *Am J Enol Vitic* 55(2): 174-180.
- Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Pejić, I. (2008), *Vinova loza - ampelografija, ekologija, oplemenjivanje*. Školska knjiga, Zagreb.
- Maletić, E., Pejić, I., Karoglan Kontić, J. (2009), *Plavac Mali - A Croatian Grape for Great Wines*. Klaster Plavac mali d.o.o., Zagreb.
- Maul, Erika (2011), Domestication of Grapevine viewed in Fast Motion. U: Ralf Tempel (ur.), *Proceedings of 21. Internationale Reberedlertagung*. Institut fuer Rebenzüchtung und Rebenveredlung Geisenheim, str. 227-240.
- McGovern, E. P. (2003), *Ancient Wine*. Princeton University Press, Princeton, USA.
- Pejić, I., E. Maletić, J. Karoglan Kontić, B. Kozina and N. Mirošević (2000), Diversity of autochthonous grapevine genotypes in Croatia. The VIIth International symposium on grapevine genetics and breeding, Montpellier, France, July 6-10, 1998. *Acta Horticulturae* 528 (Vol. 1), str. 67-73.
- Pejić, I., Maletić, E. (2010), Conservation, evaluation and revitalization of native grapevine varieties in Croatia. *Mitteilungen Klosterneuburg* 60 (3), str. 363-368.
- Regner, F., Stadlhuber, A., Eisenheld, C., Kaserer, H. (2000), Considerations about the evolution of grapevine and the role of traminer. *Acta Horticulturae* 528 (Vol. 1), str. 177-181.
- Sefc, K.M., I. Pejić, E. Maletić, M.R. Thomas & F. Lefort (2009), *Microsatellite Markers for Grapevine: Tools for Cultivar Identification & Pedigree Reconstruction*. Springer Publ., The Netherlands, str. 565-596.
- Tudor, A. (2010), Nekoliko povijesnih podataka o tribidragu (zinfandel, crljenak kaštelanski, tribidrag). *Mogućnosti: književnost, umjetnost, kulturni problemi, I* (7-9); str. 103-109.
- Turković, Z. (1960), Stanje istraživanja *Vitis silvestris* Gmel. 1960. godine. *Jugoslaven-ska akademija znanosti i umjetnosti u Zagrebu, Ljetopis* br. 67, str. 237-244.

Zdunić, G., Preece, J.E., Aradhya, M., Velasco, D., Koehmstedt, A., Dangl, G.S. (2013), Genetic diversity and differentiation within and between cultivated (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) and wild (*Vitis vinifera* L. ssp. *sylvestris*) grapes. *Vitis* (in press).

Investigation of Grapevine Genetic Resources in the Area of Rudina (Psunj)

Summary

On the locality of Rudina (mount Psunj), in vicinity of abandoned Benedictine Abby of St. Michael, the presence of noble (*Vitis vinifera*, ssp. *vinifera* L.) and wild (*Vitis vinifera*, ssp. *sylvestris* Gmel.) grape have been visually determined. This takes attention because at that mount area people and agriculture were absent for centuries and the presence of noble grapevine witnesses former viticulture. Since the grapevine is naturally propagated both by seed and vegetative parts there is a possibility for determination of genetic similarity, or even identity, among detected vines and contemporary grapevine cultivars. The tissue samples of eight by appearance different plants from Rudina have been fingerprinted by nine DNA-SSR markers. All samples showed to be among selves genetically divergent and matching no with any known Croatian or European grapevine cultivar. The analysis of genetic relatedness with representatives of both noble and wild grapes suggest wild or semi-wild status of this material.

Particular interest has been paid to the population of at least 50 very old and large vines which stature and leaf characteristics reminds on wild grape. According to our knowledge this is an unique location in continental Croatia, so far completely unknown to scientific community. During last centuries wild grapes have been almost completely disappeared from entire Europe and nowadays, ecotypes like the Rudina one are extremely rare. Potentially valuable genes from these plants can be used in future grapevine breeding. Also, the answer on structure and origin of medieval vineyards, as well as wild grape populations on the mount Psunj could be unveiled by thorough ampelographic and genetic analysis.

Key words: *Vitis*; SSR; variety; ampelography; genetic fingerprinting.

Prof. dr. sc. Ivan Pejić; Prof. dr. sc. Edi Maletić
Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu
Svetošimunska cesta 25
10 000 Zagreb
ipejic@agr.hr

