

## **АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ЛОКУСОВ *CBF4* И *VVZFPL* В ДНК СОРТОВ ВИНОГРАДА С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ УСТОЙЧИВОСТИ К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ**

*Морозоустойчивость винограда – сложный комплексный признак, формирование которого зависит как от генотипа растения, так и от влияния внешних факторов. Проведены молекулярно-генетические исследования семи генотипов винограда с различным уровнем морозоустойчивости, направленные на изучение структурного полиморфизма локусов *VvZFPL* и *VvCBF4*, которые работами ученых определены как участвующие в контроле физиолого-биохимических процессов, обеспечивающих устойчивость винограда к низким температурам. Выявлен полиморфизм в нескольких точках секвенированных последовательностей в исследуемых генотипах, однако корреляции SNP-полиморфизма с уровнем морозостойкости сортов не обнаружено.*

**Ключевые слова:** виноград, морозоустойчивость, *CBF4*, *VVZFPL*, секвенирование.

Низкие температуры зимнего периода являются главным лимитирующим фактором, ограничивающим продвижение культуры винограда в северные районы и влияющим на возможность возделывания неустойчивых к морозам сортов и в традиционно виноградарских южных регионах умеренно-континентального и континентального климата. При этом именно сорта европейского винограда *Vitis vinifera* L., отличающиеся высоким качеством продукции, в разной степени, но наиболее подвержены негативному воздействию низкотемпературных стрессов. Амурский виноград и северо-американские виды характеризуются большей морозоустойчивостью, это свойство успешно используется в селекции с целью повышения устойчивости европейского винограда к низким отрицательным температурам путем создания сортов – межвидовых гибридов.

Виноградное растение обладает генетически наследуемой способностью противостоять воздействию низких температур в определенных пределах. Однако устойчивость растений винограда к неблагоприятным зимним условиям – сложный комплексный признак, зависящий не только от генетических свойств сорта, но и физиологического состояния растения, условий выращивания, применяемой агротехники, возрастных этапов и характера проявления низких температур.

С точки зрения генетики признак толерантности виноградного растения к низким температурам относится к одним из наименее изученных. Работами по исследованию молекулярно-генетических основ морозоустойчивости виноградного растения в мировых научных центрах был выявлен ряд локусов ДНК, детерминирующих факторы транскрипции, влияющие на физиолого-биохимические процессы, определяющие морозоустойчивость. В настоящее время гены *VvCBF2*, *VvCBF4*, *VvCBFL* (C-repeat-binding factors) и *VvZFPL* (B-box-type zinc finger protein) идентифицированы как участвующие в формировании морозоустойчивости винограда [1-4].

Проведенное нами молекулярно-генетическое исследование было направлено на изучение структурного полиморфизма локусов *VvZFPL* и *VvCBF4* в генотипах сортов винограда, характеризующихся разной степенью устойчивости к низким температурам зимнего периода.

В базе данных NCBI ([www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)) представлены последовательности аллелей генов *VvZFPL* и *VvCBF4* у образцов видов *Vitis riparia* и *Vitis vinifera*. С помощью системы Primer Blast базы данных NCBI ([www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)) были разработаны праймерные пары, фланкирующие от 82 до 100 % последовательности целевых участков. После апробации созданных праймерных пар в дальнейшую работу были включены следующие: CBF4-4 (Forward: ACCGTTCTCCTTAACTGCTCT, Reverse: TCATCTCCACCGTAGCCATC) и VV78X (Forward: CACTGCGCTTCTGCCTTCTA, Reverse: TGGTCTCCGTCTCTCCATCT) на изучаемые локусы *VvCBF4* и *VvZFPL*, соответственно.

С использованием созданных праймерных комбинаций были синтезированы целевые ПЦР-продукты и проведено их секвенирование. В работе использовали сорта винограда, обладающие различной степенью устойчивости к отрицательным температурам и имеющие различное генетическое происхождение: Кристалл (сложный межвидовой гибрид); Филлоксероустойчивый Джемте (неизвестное происхождение, предположительно сеянец американского генотипа); Красностоп АЗОС, Достойный (*V. vinifera* x Ф/У Джемте); Красностоп анапский, Яй изюм черный, Бархатный (европейские генотипы). Уровень морозостойкости сортов можно охарактеризовать следующими критическими температурами: Кристалл - 28 °С, Филлоксероустойчивый Джемте - 27 °С, Красностоп АЗОС, Достойный - 26 °С, Красностоп анапский - 24 °С, Яй изюм черный - 20-21 °С, Бархатный - 18-20 °С.

Образцы ДНК были выделены из типичных растений указанных сортов, произрастающих на Российской ампелографической коллекции (г. Анапа). ДНК выделяли из молодых листьев апикальной части побегов методом ЦТАБ [5]. Полимеразную цепную реакцию проводили согласно стандартной методике. Секвенирование амплифицированных фрагментов ДНК проводили на автоматическом генетическом анализаторе ABI Prism 3130.

Проведено сравнение сиквенсов амплифицированных последовательностей в он-лайн приложение "Clustal Omega" (режим доступа - <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Сравнение нуклеотидных последовательностей изучаемых локусов в генотипах сортов винограда с различным уровнем морозоустойчивости не выявило закономерностей.

Результаты сравнения секвенированных последовательностей локуса *VvCBF4*:

|  |          |        |
|--|----------|--------|
| Красностоп   | анапский |        |
| STCCGCCGCCGCSTTCTGAATGTCSTTGGCGTCGCGGGAGCTAGGCACATGCAGCCGCCA |          |        |
| Красностоп   | АЗОС     |        |
| STCCGCCGCCGCSTTCTGAATGTCSTTGGCGTCGCGGGAGCTAGGCACATGCAGCCGCCA |          |        |
| Яй   | изюм     | черный |
| STCCGCCGCCGCSTTCTGAATGTCSTTGGCGTCGCGGGAGCTAGGCACATGCAGCCGCCA |          |        |
| Ф/У  |          | Джемте |
| STCCGCTGCCGCSTTCTGAATGTCSTTGGCGTCGCGGGAGCTAGGCACATGCAGCCGCCA |          |        |
| Достойный  |          |        |
| STCCGCCGCCGCSTTCTGAATGTCSTTGGCGTCGCGGGAGCTAGGCACATGCAGCCGCCA |          |        |
| Кристалл   |          |        |
| STCCGCCGCCGCSTTCTGAATGTCSTTGGCGTCGCGGGAGCTAGGCACATGCAGCCGCCA |          |        |
| Бархатный  |          |        |
| STCCGCCGCCGCSTTCTGAATGTCSTTGGCGTCGCGGGAGCTAGGCACATGCAGCCGCCA |          |        |
| *****_   |          |        |
| *****  |          |        |
| Красностоп   | анапский |        |
| CGCAGAGTCCGCAAAATTGAGGCAAGCCCCACGTCCCCTCAGCGCCAATGCCGCCACGTC |          |        |
| Красностоп   | АЗОС     |        |
| CGCAGAGTCCGCAAAATTGAGGCAAGCCCCACGTCCCCTCAGCGCCAATGCCGCCACGTC |          |        |
| Яй   | изюм     | черный |
| CGCAGAGTCCGCAAAATTGAGGCAAGCCCCACGTCCCCTCAGCGCCAATGCCGCCACGTC |          |        |
| Ф/У  |          | Джемте |
| CGCAGAGTCCGCAAAATTGAGGCAAGCCCCACGTCCCCTCAGCGCCAATGCCGCCACGTC |          |        |
| Достойный  |          |        |
| CGCAGAGTCCGCAAAATTGAGGCAAGCCCCACGTCCCCTCAGCGCCAATGCCGCCACGTC |          |        |

Кристалл  
CGCAGAGTCCGCAAAATTGAGGCAAGCCCCACGTCCCCTCAGCGCCAATGCCGCCACGTC  
Бархатный  
CGCAGAGTCCGCAAAATTGAGGCAAGCCCCACGTCCCCTCAGCGCCAATGCCGCCACGTC

\*\*\*\*\*

Красноstop анапский  
GTGCGCGCGCAGCCATCTCCGCCGTCGGAAACGTCCCCAGCCATATCCTGGACGTCTT  
Красноstop АЗОС  
GTGCGCGCGCAGCCATCTCCGCCGTCGGAAACGTCCCCAGCCATATCCTGGACGTCTT  
Яй ИЗЮМ черный  
GTGCGCGCGCAGCCATCTCCGCCGTCGGAAACGTCCCCAGCCATATCCTGGACGTCTT  
Ф/У Джемете  
GTGCGCGCGCAGCCATCTCCGCCGTCGGAAACGTCCCCAGCCATATCCTGGACGTCTT  
Достойный  
GTGCGCGCGCAGCCATCTCCGCCGTCGGAAACGTCCCCAGCCATATCCTGGACGTCTT  
Кристалл  
GTGCGCGCGCAGCCATCTCCGCCGTCGGAAACGTCCCCAGCCATATCCTGGACGTCTT  
Бархатный  
GTGCGCGCGCAGCCATCTCCGCCGTCGGAAACGTCCCCAGCCATATCCTGGACGTCTT

\*\*\*\*\*

Красноstop анапский  
GTTGGGTCCTCACCTCGCATAACCACTTCCCGGAGTTCCTCCGCCGCACGCCCGGTA  
Красноstop АЗОС  
GTTGGGTCCTCACCTCGCATAACCACTTCCCGGAGTTCCTCCGCCGCACGCCCGGTA  
Яй ИЗЮМ черный  
GTTGGGTCCTCACCTCGCATAACCACTTCCCGGAGTTCCTCCGCCGCACGCCCGGTA  
Ф/У Джемете  
GTTGGGTCCTCACCTCGCATAACCACTTCCCGGAGTTCCTCCGCCGCACGCCCGGTA  
Достойный  
GTTGGGTCCTCACCTCGCATAACCACTTCCCGGAGTTCCTCCGCCGCACGCCCGGTA  
Кристалл  
GTTGGGTCCTCACCTCGCATAACCACTTCCCGGAGTTCCTCCGCCGCACGCCCGGTA  
Бархатный  
GTTGGGTCCTCACCTCGCATAACCACTTCCCGGAGTTCCTCCGCCGCACGCCCGGTA

\*\*\*\*\*

Красноstop анапский  
CACAGGGTGCCGCGTCTCCCGAAACTTCTTCTCCAGCTCGCTTCTTCGGGTGTGTGGA  
Красноstop АЗОС  
CACAGGGTGCCGCGTCTCCCGAAACTTCTTCTCCAGCTCGTTTCTTCGGGTGTGTGGA  
Яй ИЗЮМ черный  
CACAGGGTGCCGCGTCTCCCGAAACTTCTTCTCCAGCTCGTTTCTTCGGGTGTGTGGA  
Ф/У Джемете  
CACAGGGTGCCGCGTCTCCCGAAACTTCTTCTCCAGCTCGTTTCTTCGGGTGTGTGGA  
Достойный  
CACAGGGTGCCGCGTCTCCCGAAACTTCTTCTCCAGCTCGTTTCTTCGGGTGTGTGGA  
Кристалл  
CACAGGGTGCCGCGTCTCCCGAAACTTCTTCTCCAGCTCGTTTCTTCGGGTGTGTGGA  
Бархатный  
CACAGGGTGCCGCGTCTCCCGAAACTTCTTCTCCAGCTCGTTTCTTCGGGTGTGTGGA

\*\*\*\*\*\_

\*\*\*\*\*

Красноstop анапский  
GGCCAGCATCAACTCTTCGCTGCCTCCATCAGAATCAGGCAAATTCAGGGAATCCCAATT  
Красноstop АЗОС  
GGCCAGCATCAACTCTTCGCTGCCTCCATCAGAATCAGGCAAATTCAGGGAATCCCAATT  
Яй ИЗЮМ черный  
GGCCAGCATCAACTCTTCGCTGCCTCCATCAGAATCAGGCAAATTCAGGGAATCCCAATT

|           |  |         |
|-----------|--|---------|
| Ф/У       | GGCCAGCATCAACTCTTCGCTGCCTCCATCAGAATCAGGCAAATTCAGGGAATCCCAATT | Джемете |
| Достойный | GGCCAGCATCAACTCTTCGCTGCCTCCATCAGAATCAGGCAAATTCAGGGAATCCCAATT |         |
| Кристалл  | GGCCAGCATCAACTCTTCGCTGCCTCCATCAGAATCAGGCAAATTCAGGGAATCCCAATT |         |
| Бархатный | GGCCAGCATCAACTCTTCGCTGCCTCCATCAGAATCAGGCAAATTCAGGGAATCCCAATT |         |

\*\*\*\*\*

|            |  |          |
|------------|--|----------|
| Красноstop | GCATACGAGCGGGTGAGGGTCGGAATATGGTGGAGAAGTAGTATTCATAACGGTGAAGAC | анапский |
| Красноstop | GCATACGAGCGGGTGAGGGTCGGAATATGGTGGAGAAGTAGTATTCATAACGGTGAAGAC | АЗОС     |
| Яй         | GCATACGAGCGGGTGAGGGTCGGAATATGGTGGAGAAGTAGTATTCATAACGGTGAAGAC | черный   |
| Ф/У        | GCATACGAGCGGGTGAGGGTCGGAATATGGTGGAGAAGTAGTATTCATAACGGTGAAGAC | Джемете  |
| Достойный  | GCATACGAGCGGGTGAGGGTCGGAATATGGTGGAGAAGTAGTATTCATAACGGTGAAGAC |          |
| Кристалл   | GCATACGAGCGGGTGAGGGTCGGAATATGGTGGAGAAGTAGTATTCATAACGGTGAAGAC |          |
| Бархатный  | GCATACGAGCGGGTGAGGGTCGGAATATGGTGGAGAAGTAGTATTCATAACGGTGAAGAC |          |

\*\*\*\*\*

|                     |  |
|---------------------|--|
| Красноstop анапский | TGAAGTGTCTAGATTTTAGTAACAGCAGTTAAGGAGAACGGTAA-    |
| Красноstop АЗОС     | TGAAGTGTTCGAGATTTTAGTAAGAGCAGTTAAGAAAAAACGGTAAA  |
| Яй изюм черный      | TGAAGTGTTCGAGATTTTAGTAAGAGCAGTTAAGGAAAAAACGGTAAA |
| Ф/У Джемете         | TGAAGTGTTCGAGATTTTAGTAAGAGCAGTTAAGGAGAACGGTAA-   |
| Достойный           | TGAAGTGTTCGAGATTTTAGTAAGAGCAGTTAAGGAGAACGGTAA-   |
| Кристалл            | TGAAGTGTTCGAGATTTTAGTAAGAGCAGTTAAGGAGAACGGTAA-   |
| Бархатный           | TGAAGTGTTCGAGATTTTAGTAAGAGCAGTTAAGGAGAACGGTAA-   |

\*\*\*\*\*-\*\*\*\*\* \* \* \* \* \*

**Результаты сравнения секвенированных последовательностей локуса *VvZFPL*:**

|            |  |          |
|------------|--|----------|
| Ф/У        | GGCGCACGAAATCGCCGCCACGAGCGAGACGCGTAGAGGCAGAACGGTCAATTTGACТАА | Джемете  |
| Красноstop | GGCGCACGAAATCGCCGCCACGAGCGAGACGCGTAGAGGCAGAACGGTCAATTTGACТАА | анапский |
| Достойный  | GGCGCACGAAATCGCCGCCACGAGCGAGACGCGTAGAGGCAGAACGGTCAATTTGACТАА |          |
| Яй         | GGCGCACGAAATCGCCGCCACGAGCGAGACGCGTAGAGGCAGAACGGTCAATTTGACТАА | черный   |
| Красноstop | GGCGCACGAAATCGCCGCCACGAGCGAGACGCGTAGAGGCAGAACGGTCAATTTGACТАА | АЗОС     |
| Кристалл   | GGCGCACGAAATCGCCGCCACGAGCGAGACGCGTAGAGGCAGAACGGTCAATTTGACТАА |          |
| Бархатный  | GGCGCACGAAATCGCCGCCACGAGCGAGACGCGTAGAGGCAGAACGGTCAATTTGACТАА |          |

\*\*\*\*\*

|                     |  |
|---------------------|--|
| Ф/У Джемете         | ACACACACCGAGCGCGTGAGAAGCCACGGATGTGCAACTACCATTTAGCCCCAGCTTTCT |
| Красноstop анапский | ACACACACCGAGCGCGTGAGAAGCCACGGATGTGCAACTACCATTTAGCCCCAGCTTTCT |
| Достойный           | ACACACACCGAGCGCGTGAGAAGCCACGGATGTGCAACTACCATTTAGCCCCAGCTTTCT |
| Яй изюм черный      | ACACACACCGAGCGCGTGAGAAGCCACGGATGTGCAACTACCATTTAGCCCCAGCTTTCT |
| Красноstop АЗОС     | ACACACACCGAGCGCGTGAGAAGCCACGGATGTGCAACTACCATTTAGCCCCAGCTTTCT |
| Кристалл            | ACACACACCGAGCGCGTGAGAAGCCACGGATGTGCAACTACCATTTAGCCCCAGCTTTCT |
| Бархатный           | ACACACACCGAGCGCGTGAGAAGCCACGGATGTGCAACTACCATTTAGCCCCAGCTTTCT |

\*\*\*\*\*

Ф/У Джемете GCACCAATTTACTAAAAATGTCCTCCGCCTTCGCGTCCACGCTCGACCGTGCCC**A**GAGTTT  
Красноstop анапский GCACCAATTTACTAAAAATGTCCTCCGCCTTCGCGTCCACGCTCGACCGTGCCC**G**GAGTTT  
Достойный GCACCAATTTACTAAAAATGTCCTCCGCCTTCGCGTCCACGCTCGACCGTGCCC**G**GAGTTT  
Яй изюм черный GCACCAATTTACTAAAAATGTCCTCCGCCTTCGCGTCCACGCTCGACCGTGCCC**A**GAGTTT  
Красноstop АЗОС GCACCAATTTACTAAAAATGTCCTCCGCCTTCGCGTCCACGCTCGACCGTGCCC**G**GAGTTT  
Кристалл GCACCAATTTACTAAAAATGTCCTCCGCCTTCGCGTCCACGCTCGACCGTGCCC**G**GAGTTT  
Бархатный GCACCAATTTACTAAAAATGTCCTCCGCCTTCGCGTCCACGCTCGACCGTGCCC**G**GAGTTT  
\*\*\*\*\*\_\*\*\*\*\*

Ф/У Джемете CGACGGAAACCTCGAGTCCACGCCGGAGACCGCAGACACTGAGCTCGTGAAGCCGGTCCCT  
Красноstop анапский CGACGGAAACCTCGAGTCCACGCCGGAGACCGCAGACACTGAGCTCGTGAAGCCGGTCCCT  
Достойный CGACGGAAACCTCGAGTCCACGCCGGAGACCGCAGACACTGAGCTCGTGAAGCCGGTCCCT  
Яй изюм черный CGACGGAAACCTCGAGTCCACGCCGGAGACCGCAGACACTGAGCTCGTGAAGCCGGTCCCT  
Красноstop АЗОС CGACGGAAACCTCGAGTCCACGCCGGAGACCGCAGACACTGAGCTCGTGAAGCCGGTCCCT  
Кристалл CGACGGAAACCTCGAGTCCACGCCGGAGACCGCAGACACTGAGCTCGTGAAGCCGGTCCCT  
Бархатный CGACGGAAACCTCGAGTCCACGCCGGAGACCGCAGACACTGAGCTCGTGAAGCCGGTCCCT  
\*\*\*\*\*

Ф/У Джемете CTCCGCCTTCCGCCGCGAGACGCCGCCCTTCCTCGGAGCGGACTCGGTGGTGGAAACGCA  
Красноstop анапский CTCCGCCTTCCGCCGCGAGACGCCGCCCTTCCTCGGAGCGGACTCGGTGGTGGAAACGCA  
Достойный CTCCGCCTTCCGCCGCGAGACGCCGCCCTTCCTCGGAGCGGACTCGGTGGTGGAAACGCA  
Яй изюм черный CTCCGCCTTCCGCCGCGAGACGCCGCCCTTCCTCGGAGCGGACTCGGTGGTGGAAACGCA  
Красноstop АЗОС CTCCGCCTTCCGCCGCGAGACGCCGCCCTTCCTCGGAGCGGACTCGGTGGTGGAAACGCA  
Кристалл CTCCGCCTTCCGCCGCGAGACGCCGCCCTTCCTCGGAGCGGACTCGGTGGTGGAAACGCA  
Бархатный CTCCGCCTTCCGCCGCGAGACGCCGCCCTTCCTCGGAGCGGACTCGGTGGTGGAAACGCA  
\*\*\*\*\*

Ф/У Джемете **T**GACGACGATGAAGACTTGGAGTCGTGATCGGTGGAGGTCTCCGACTCCACCTCTGACGA  
Красноstop анапский AGACGACGATGAAGACTTGGAGTCGTGATCGGTGGAGGTCTCCGACTCCACCTCTGACGA  
Достойный **A**GGCGACGATGAAGACTTGGAGTCGTGATCGGTGGAGGTCTCCGACTCCACCTCTGACGA  
Яй изюм черный AGACGACGATGAAGACTTGGAGTCGTGATCGGTGGAGGTCTCCGACTCCACCTCTGACGA  
Красноstop АЗОС AGACGACGATGAAGACTTGGAGTCGTGATCGGTGGAGGTCTCCGACTCCAC**T**TCTGACGA  
Кристалл AGACGACGATGAAGACTTGGAGTCGTGATCGGTGGAGGTCTCCGACTCCAC**T**TCTGACGA  
Бархатный AGACGACGATGAAGACTTGGAGTCGTGATCGGTGGAGGTCTCCGACTCCAC**T**TCTGACGA  
\*\_\*\*\*\*\*\_\*\*\*\*\*

Ф/У Джемете GCAGGATCTACAGATCAGCCGGTGCGGCTGAAACCCGACGCCGAAGAACGTGTCCCTGC  
Красноstop анапский GCAGGATCTACAGATCAGCCGGTGCGGCTGAAACCCGACGCC**A**AAGAACGTGTCCCTGC  
Достойный GCAGGATCTACAGATCAGCCGGTGCGGCTGAAACCCGACGCC**A**AAGAACGTGTCCCTGC  
Яй изюм черный GCAGGATCTACAGATCAGCCGGTGCGGCTGAAACCCGACGCCGAAGAACGTGTCCCTGC  
Красноstop АЗОС GCAGGATCTACAGATCAGCCGGTGCGGCTGAAACCCGACGCCGAAGAACGTGTCCCTGC  
Кристалл GCAGGATCTACAGATCAGCCGGTGCGGCTGAAACCCGACGCCGAAGAACGTGTCCCTGC  
Бархатный GCAGGATCTACAGATCAGCCGGTGCGGCTGAAACCCGACGCCGAAGAACGTGTCCCTGC  
\*\*\*\*\*\_\*\*\*\*\*

Ф/У Джемете САААССГТТГСАТТСТГAGCACAGAGTGTGGCGGACGTGGCGAG-CCACC-AGAAAATTG  
Красноstop анапский САААССГТТГСАТТСТГAGCACAGAGTGTGGCGGAT**T**GTGGCGAG-CCACC-AGAAAATTG  
Достойный САААССГТТГСАТТСТГAGCACAGAGTGTGGCGGACGTGGCGAG-CCACC-AGAAAATTG  
Яй изюм черный САААССГТТГСАТТСТГAGCACAGAGTGTGGCGGACGTGGCGAG-CCACC-AGAAAATTG  
Красноstop АЗОС САААССГТТГСАТТСТГAGCACAGAGTGTGGCGGACGTGGCGAG-CCACC-AGAAAATTG  
Кристалл САААССГТТГСАТТСТГAGCACAGAGTGTGGCGGACGTGGCGAG-CCACC-AGAAAATTG  
Бархатный САААССГТТГСАТТСТГAGCACAGAGTGTGGCGGACGTGGCGAG-CCACC-AGAAAATTG  
\*\*\*\*\*\_\*\*\*\*\* \* \* \* \* \*

Различия, выявленные при сравнении нуклеотидных последовательностей исследуемых локусов в ДНК морозостойких и неморозостойких генотипов, вероятно являются сортоспецифичными. Выявленный полиморфизм в нескольких различных точках не коррелирует с уровнем морозостойкости сортов. Возможно, различия, связанные с

локусами *VvCBF4* и *VvZFPL* в разных по устойчивости к низким температурам генотипах, находятся в иных структурах или в регуляторных областях данных генов.

#### ***Использованные источники***

1. Characterization of thermotolerance-related genes in grapevine (*Vitis vinifera*) / M. Kobayashi, H. Katoh, T. Takayanagi, S. Suzuki // *J Plant Physiol.* – 2010. – V. 167. – P. 812-819.
2. Takuhara Y. Low-temperature-induced transcription factors in grapevine enhance cold tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants / Y. Takuhara, M. Kobayashi, S. Suzuki // *Journal of plant physiology.* – 2011. – V. 168. – P. 967-975.
3. Characterization of grape C-repeat-binding factor 2 and B-box-type zinc finger protein in transgenic *Arabidopsis* plants under stress conditions / M. Kobayashi, H. Horiuchi, K. Fujita, Y. Takuhara, S. Suzuki // *Molecular biology reports.* – 2012. – V. 39. – P. 7933-7939.
4. Xiao H. CBF4 is a unique member of the CBF transcription factor family of *Vitis vinifera* and *Vitis riparia* / H. Xiao, E. A. Tattersall, M. K. Siddiqua, G. R. Cramer, A. Nassuth // *Plant Cell Environ.* – 2008. – V. 31. – P. 1-10.
5. 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. – V. 19. – №1. – P. 69-76.

***E. T. Ilitskaya, I. I. Suprun***

#### **Sequence analysis of CBF4 and VVZFPL loci in grape varieties DNA with various degrees of resistance to low temperature stress**

*Frost resistance of grapevines - a complicated complex trait, the formation of which depends on the genotype of the plant, and from the influence of environmental factors. The molecular genetic study of seven grapevines genotypes with different levels of frost resistance was done, aimed to studying the structural polymorphism of VvZFPL and VvCBF4 loci, which identified by scientists works as involved in the control of physiological and biochemical processes that provide of grapevines resistance to low temperatures. Polymorphism was detected at several points in the sequence of test genotypes, but there was no correlation between SNP-polymorphism and frost tolerance level of varieties.*

**Keywords:** grape, low temperature tolerance, CBF4, VVZFPL, sequencing.