

**ПОЛІМОРФІЗМ ІНТРАГЕННОГО МІКРОСАТЕЛІТНОГО ЛОКУСУ
R3_VVAGL11, ЗЧЕПЛЕНОГО З ОЗНАКОЮ БЕЗНАСІННЄВОСТІ
У ВИНОГРАДУ (*VITIS VINIFERA* L.)**

О. Карастан, Н. Мулюкіна, О. Папіна, Г. Плачинда

*Національний науковий центр
«Інститут виноградарства і виноробства імені В.Є. Таїрова»
вул. 40-річчя Перемоги, 55/8, смт Таїрове, Овідіопольський р-н,
Одеська обл. 65496, Україна
e-mail: olga.karastan@gmail.com*

Визначено та проаналізовано алельний склад інтрагенного мікросателітного локусу r3_VvAGL11 15 безнасінневих і 30 насінневих сортів винограду столового, технічного та підшепного напрямку використання. Виявлено 10 алелів, у т. ч. два раніше не опублікованих, та вираховані їхні частоти. Визначення основних показників різноманіття дослідженого локусу ($PIC (H_c) = 0,743$; $H_o = 0,600$; $r = 0,082$) виявило рівень поліморфізму, в цілому, зіставний із показниками поліморфності інших мікросателітних локусів, що використовуються для внутрішньосортової дискримінації у винограду. У генотипах безнасінневих сортів, які походять від стародавніх сортів Султаніна та Кишмиш чорний, виявлено алель 198 п. н., асоційований із ознакою безнасінневості у винограду. У деяких насінневих і безнасінневих сортів визначено другий алельний варіант 198 п. н., що не пов'язаний із проявом ознаки безнасінневості винограду та обумовлює фальш-позитивні результати. Шляхом аналізу родоводів сортів встановлені можливі джерела такого алельного варіанта – насінневі сорти Чауш білий, Ічкімар, Катта курган, Вассарга чорна і Конкорд – та показано його успадкування досліджуваними сортами винограду.

Ключові слова: мікросателіт, r3_VvAGL11, безнасіннєвість, маркер-супутній добір у винограду, *V. vinifera* L.

Безнасіннєвість є найбільш популярною у споживачів властивістю столового винограду [3]. Вважається [4], що ознака безнасінневості виникла в результаті мутації у сорту Султаніна та в подальшому була успадкована більшістю існуючих тепер безнасінневих сортів винограду.

Серед генетичного різноманіття винограду було виявлено два типи безнасінневості: партенокарпія, що обумовлена розростанням зав'язі квітки без участі процесів запилення та запліднення, та стеноспермокарпія, яка виникає в результаті припинення розвитку насіння у 2–4 тижні після запліднення яйцеклітин [2, 9]. Ягоди стеноспермокарпічних сортів містять «сліди», тобто рудименти насіння різного ступеня розвитку, які практично не відчуються при споживанні свіжого винограду.

Смірновим К. [2] у 1987 р. була запропонована класифікація стеноспермокарпічних безнасінневих сортів винограду за критерієм розміру рудиментів насіння.

У сучасній літературі виділяють так звані «класи або рівні безнасінневості» (англ. seedless class/level) [3]: перший – повна відсутність насіння; другий – сліди абортіваного насіння; третій – неповністю лігніфіковані насінини; четвертий – повністю лігніфіковані насінини. Оскільки безнасінневі ягоди апріорі не можуть містити повністю лігніфіковані насінини, які продукують лише насінневі сорти, то, на нашу думку, «класи безнасінневос-

ті» скоріш за все характеризують рівні розвитку насіння, де перший – це відсутність розвитку, другий і третій – частковий розвиток, четвертий – повний розвиток.

Найбільш поширеною моделлю генетичного контролю стеноспермокарпічної безнасіненності є взаємодія трьох незалежних комплементарних генів, які регулюються домінантним алелем гена-кандидата VvAGL11, що входить до складу родини генів MADS-box [4, 6, 11]. У промоторній ділянці цього гена був виявлений мікросателітний локус p3_VvAGL11, один із алелів якого (198 п. н.) зчеплений з домінантним алелем гена і, відповідно, проявом ознаки безнасіненності у фенотипі. Тестуванням p3_VvAGL11 на довільній вибірці сортів і гібридних сіянців була підтверджена [11] кореляція алеля 198 п. н. (значення критерію Крускала-Волліса дорівнювало 66,3 при $P < 0,0001$) із ознакою безнасіненності й показана придатність для раннього добору рослин із ознакою безнасіненності, за умови оцінки даного локусу.

Так, для оцінки варіабельності й «діагностичної» потужності (англ. diagnostic power) p3_VvAGL11 Бергаміні зі співавторами [3] було проаналізовано генотипи загалом 475 рослин винограду та виявлено вісім алелів (176, 178, 184, 188, 190, 192, 196, 198 п. н.). Усі безнасіненні рослини у складі вибірки показали наявність у генотипі алеля 198 п. н. Проте у п'яти насінневих рослин також був виявлений алель 198 п. н. (так званий «фальш-позитив»).

Проведена в роботі Хюр та ін. [8] ідентифікація за допомогою локусу p3_VvAGL11 також підтвердила наявність алеля 198 п. н. в усіх 18 досліджених безнасіневих сортах винограду (здебільшого американського походження), що походять від сортів Султаніна та Кишмиш чорний.

Слід зазначити, що в вищенаведених опублікованих роботах досліджені безнасіненні сорти представляють переважно американське та західноєвропейське генетичне різноманіття винограду, в той час як азійські безнасіненні сорти (Ваткана, Кишмиш Хішрау тощо) та їхні нащадки не аналізувалися, можливо, через відсутність у складі регіональних колекцій.

Тому **мета** нашої роботи полягала в оцінці поліморфізму мікросателітного локусу p3_VvAGL11 для можливості його використання в маркер-супутньому доборі за ознакою безнасіненності.

Матеріали та методи

Рослинний матеріал був представлений 15 безнасіневими та 30 насінневими сортами винограду (табл. 1) колекції Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства ім. В.Є. Таїрова» (далі ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова»), люб'язно наданими відділом Селекції, генетики та ампелографії.

Листовий матеріал був відібраний на виноградних насадженнях колекції інституту і заморожений при -20°C . Виділення ДНК було проведено з використанням комерційного набору DNA Plant Kit (QIAGEN) згідно з рекомендаціями виробника.

Реакційна суміш для проведення ПЛР (обсягом 25 мкл) включала: буфер для ПЛР, 200 мкМ кожного дНТФ, 2 мМ MgCl_2 , 1 од. Тор-полімерази ДНК, 20 нг геномної ДНК, 0,2 мкМ прямого (CTCCCTTTCCCTCTCCCTCT) та зворотного (AAACGCGTATCCCAATGAAG) праймерів до мікросателітного локусу p3_VvAGL11.

Ампліфікація була проведена на термоциклері «Терцик» («ДНК-технологія», Росія) у режимі: початковий цикл – 5 хв при 94°C ; основний етап 35 циклів – 30 с при 94°C , 30 с при 64°C , 30 с при 72°C ; фінальний етап 10 хв при 72°C ; зберігання при 4°C .

Візуалізацію продуктів ампліфікації було проведено шляхом електрофорезу у 8% поліакриламідному гелі (30% розчин акриламідну та бісакриламідну (29 : 1), 5 x TBE, 3%

APS і TEMED) з подальшим забарвленням у розчині 0,012M аргентум нітрату (10% етанол, 5 хв; 1% HNO₃, 3 хв; 0,012 M AgNO₃, 20 хв; 0,28% Na₂CO₃ та 0,019% формальдегід; 10% CH₃COOH – 2 хв).

Розмір продуктів ампліфікації визначали за допомогою маркера молекулярної маси – pBR322 DNA / Bsu R1 (Hae III) (Fermentas) та комп'ютерної програми «Launch Vision WorksLS».

Показники різноманіття локусу p3_VvAGL11 були обчислені за допомогою комп'ютерної програми Identity 4. 0 [13].

Результати і їхнє обговорення

Результати мікросателітного аналізу з використанням локусу p3_VvAGL11 45 сортів винограду ампелографічної колекції ННЦ «IBiB ім. В.С. Таїрова» надані в табл. 1 та на рис. 1.

Сорти Аліготе, Шардоне, Шасла біла, Піно чорний, Флейм сідлес були використані як референсні.

Таблиця 1

Алельні характеристики (п. н.) локусу p3_VVAGL11 досліджуваних сортів винограду

Безнасінневі сорти		Насінневі сорти			
Назва сорту	p3_VVAGL11	Назва сорту	p3_VVAGL11	Назва сорту	p3_VVAGL11
Белградський безнасінневий	188:198 ⁺	Августін	186:188	Королева виноградників	188:198 ⁻
Ваткана	198 ⁺ :198 ⁻	Айваз	188:188	Мускат гамбурзький	176:188
Інтерлейкін	198 ⁺ :198 ⁻	Аліготе	178:188	Мускат жемчужний	198 ⁻ :198 ⁻
Кишмиш ВІРа	188:198 ⁺	Альфонт Лавалле	176:188	Огоньок таїровський	184:186
Кишмиш лучистий	188:198 ⁺	Аркадія	186:188	Одеський чорний	184:188
Кишмиш ОСГІ	198 ⁺ :198 ⁻	Восток	178:188	Опаловий	188:198 ⁻
Кишмиш таїровський	188:198 ⁺	Геркулес	190:190	Піно чорний	188:188
Мечта	198 ⁺ :198 ⁻	Дністровський рожевий	188:188	Ркацителі	180:190
Ромулус	198 ⁺ :198 ⁻	Етюд	186:186	Смена	186:186
Русалка 1	188:198 ⁺	Жемчуг Саба	188:198 ⁻	СО4	164:184
Русалка 3	188:198 ⁺	Загрей	188:188	Таїр	190:190
Рушакі	188:198 ⁺	Кардинал	188:188	Флора	190:190
Сірануш	180:198 ⁺	Кобзар	188:198 ⁻	Чауш рожевий	188:198 ⁻
Юпітер	198 ⁺ :198 ⁻	Каберне Совінйон	188:196	Шардоне	178:188
Флейм сідлес	188:198 ⁺	Карабурну	180:188	Шасла біла	188:188

Примітка. Символами «+» та «-» позначено варіанти алеля 198 п. н. (детальне пояснення в подальшому тексті).

Оцінка досліджуваних сортів виявила 10 алелів локусу p3_VvAGL11 (табл. 1–2), в той час як у літературних джерелах [3, 14] були опубліковані лише вісім із них. Алелі 164 та 186 п. н. були вперше виявлені у нашому дослідженні, можливо, через входження до складу вибірки підщепного сорту СО4 та нащадків *V. amurensis* Ruprech. – сортів Етюд, Смена (рис. 1).

Аналогічно результатам авторів [3, 8, 14], показано, що найчастіше у вибірці трапляється алель 188 п. н. (табл. 2). Найменші частоти продемонстрували алелі 164 та 196 п. н., що були виявлені в єдиному екземплярі.

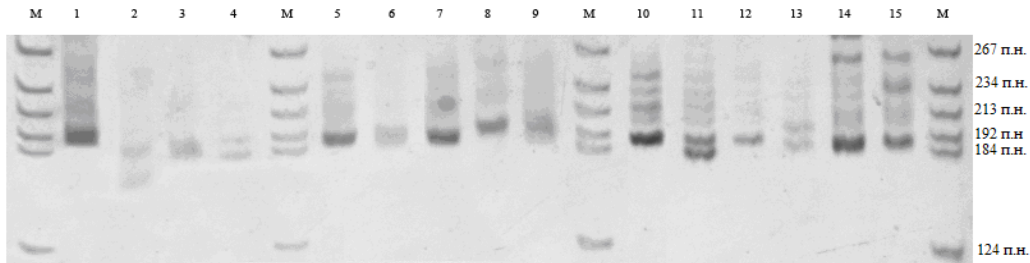


Рис. 1. Результати електрофорезу продуктів ампліфікації ДНК сортів винограду за мікросателітним локусом p3_VvAGL11 (М – молекулярний маркер; 1 – Каберне Совін'йон, 2 – СО4, 3 – Огоньок таїровський, 4 – Ркацителі, 5 – Шасла біла, 6 – Дністровський рожевий, 7 – Кардинал, 8 – Мускат жемчужний, 9 – Чауш рожевий, 10 – Піно чорний, 11 – Шардоне, 12 – Геркулес, 13 – Опаловий, 14 – Смена, 15 – Таїр).

Таблиця 2

Частоти алелів локусу p3_VvAGL11, виявлені у досліджуваних сортів винограду

Алель (п. н.)	164	176	178	180	184	186	188	190	196	198
Частота	0,011	0,022	0,033	0,033	0,044	0,078	0,389	0,078	0,011	0,311
Стандартне відхилення	0,011	0,016	0,019	0,019	0,021	0,028	0,051	0,028	0,011	0,049

Показники різноманіття локусу p3_VvAGL11, визначені в рамках нашої роботи, в цілому відповідали значенням, раніше опублікованим різними дослідницькими групами (табл. 3).

Кількість алелів, залежно від складу вибірок сортів, коливалась від 5 до 8. Очікувана гетерозиготність H_e у нашому дослідженні становила трохи більшу за наявну гетерозиготність H_o величину, подібно до Хюр та ін., 2014.

Розрахункова частота r при цьому виявилася позитивною, на відміну від результатів попередніх досліджень авторів. Слід зауважити, що позитивне значення нульового алеля не обов'язково означає наявність нульового алеля, а скоріш вказує на надлишок гомозигот [6]. Справді, відсоток гомозигот у нашій вибірці становив 40%, що значно більше за опубліковані результати. На нашу думку, це може пояснюватись особливостями вибірки та гомозиготністю близько половини з усіх представлених у колекції інституту безнасінних сортів.

Таблиця 3

Показники різноманіття локусу p3_VvAGL11

Виконані дослідження	N_a	PIС (H_e)	H_o	r	Кількість гетерозигот	Кількість гомозигот
Наше дослідження	10	0,743	0,600	0,082	27	18
Zarouri B. та ін., 2014 [14]	8	0,593	0,609	- 0,030	252	81
Hur Y. Y. та ін. 2014 [8]	5	0,844	0,592	- 0,166	17	3
Bergamini C. та ін. 2013 [3]	8	0,637	0,663	- 0,016	–	–
Mejia N. та ін., 2011 [10]	6	–	–	–	–	–

Примітка. N_a – число алелів; H_e – очікувана гетерозиготність; H_o – наявна гетерозиготність; r – розрахункова частота нульових алелів; рискою позначено неопубліковані дані.

В цілому, для локусу p3_VvAGL11 був виявлений достатній рівень поліморфізму, зіставний із показниками поліморфності інших мікросателітних локусів, що широко застосовуються для ідентифікації внутрішньосортової варіабельності винограду [14].

Алель 198 п. н. мікросателітного локусу $p3_VvAGL11$ представляє значний інтерес завдяки асоціації з ознакою безнасінності у винограду.

В нашому дослідженні даний алель був виявлений у всіх безнасінних сортів і в деяких сортах із насінним фенотипом (табл. 1).

Аналогічні випадки існування так званих «фальш-позитивних» рослин, що містили у складі генотипу алель 198 п. н. та демонстрували насінний фенотип, були виявлені дослідниками [3, 10]. Причини цього явища детально не розглядалися.

На нашу думку, в природному різноманітті винограду існують два варіанти алеля 198 п. н., котрі мають різну асоціацію з ознакою безнасінності, подібно до виявлених авторами [9] варіантів алеля 198 п. н. мікросателітного локусу $VMC7F2$, з яких лише один був пов'язаний із проявом ознаки безнасінності у винограду.

Для обґрунтування зробленого нами припущення ми детально проаналізували наведені у європейському каталозі сортів *Vitis* (англ. *Vitis International Varieties Catalogue*, *VIVC*) [12] родоводи досліджених нами й опублікованих авторами [3, 8, 14] зразків винограду, які містили алель 198 п. н.

Символом «+» було позначено варіант алеля 198 п. н. локусу $p3_VvAGL11$, що пов'язаний із проявом ознаки безнасінності, символом «-» – не асоційований із даною ознакою. Варіанти розрізняли за фенотипом рослин, у яких вони були виявлені.

Можливий спосіб успадкування обох алельних варіантів у досліджуваних сортів показаний на рис. 2–3.

У рамках досліджуваної вибірки, варіант 198^+ п. н. був виявлений у всіх безнасінних сортів винограду, більшість із яких походить від сорту Султаніна (рис. 2) [12]. Деякі з них (Белградський безнасінний, Кишмиш ВІРа, Кишмиш ОСГІ та Мечта) є нащадками сорту Кишмиш чорний [12].

Султаніна та Кишмиш чорний – це стародавні сорти із невідомим походженням. Значна подібність їхніх генотипів, які демонструють наявність однакового алеля у кожному з дев'яти локусів, опублікованих у *VIVC*, може свідчити про близькі родинні зв'язки на кшталт «нащадок – батьківський сорт». Також вони можуть бути сібсами або напівсібсами.

У роботі Хюр та ін. [8] зазначені сорти розглядали як два окремі джерела успадкування алеля 198 п. н. локусу $p3_VvAGL11$.

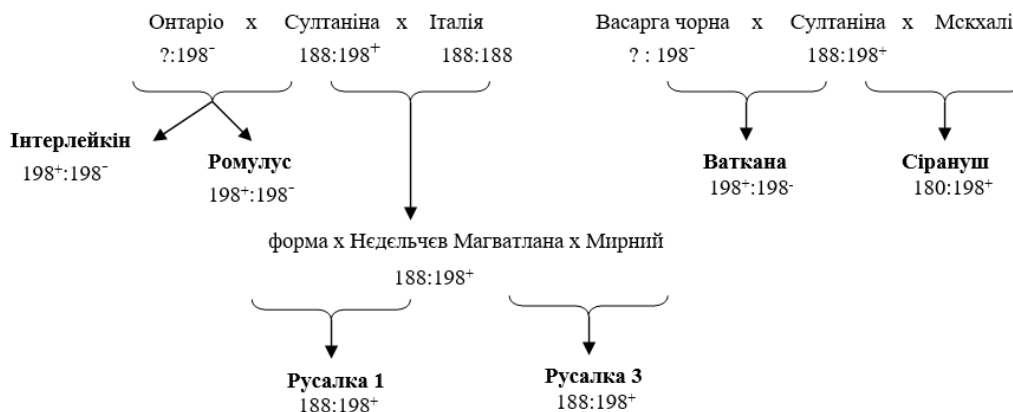


Рис 2. Успадкування від сорту Султаніна досліджуваними безнасінними сортами винограду алеля 198^+ п. н. локусу $p3_VvAGL11$. Алельні характеристики сортів Султаніна, Італія, Недельчев Магватлана наведені згідно з даними [14]. Виділеним шрифтом позначено сорти досліджуваної вибірки.

Варіант 198⁻ п. н., не пов'язаний із впливом на здатність формувати повноцінне насіння, міг виникнути у природі незалежно від варіанта 198⁺ п. н., оскільки для мікросателітних локусів характерний високий рівень варіабельності. Входження до складу генотипу рослин варіанта 198⁻ п. н. обумовлює фальш-позитивні випадки та гомозиготний стан локусу p3_VvAGL11.

Незначний відсоток фальш-позитивних рослин (1,68%), виявлених Бергаміні зі співавт. у вибірці з 475 генотипів, може свідчити про непоширеність у різноманітті сортів винограду даного варіанта.

Фальш-позитивні випадки із гетерозиготним станом локусу p3_VvAGL11 (-:198⁻) в досліджуваній вибірці були представлені сортами Чауш рожевий, Жемчуг Саба, Королева виноградників, Мускат жемчужний, Опаловий і Кобзар, які (окрім сорту Кобзар) є нащадками сорту Чауш білий (рис. 2). Сорт Кобзар (188:198⁻) був виведений від схрещування сорту Катга курган та форми (Датьє де Сен Вальє x Декоративний).

Фальш-позитивні рослини, виявлені Бергаміні зі співавт. представляли сорти (мовою оригіналу) Duca di Magenta, Pirovano 77, Martellata, Prosperi 105 та Pizutello bianco, а також гібридні сіянці від комбінацій схрещування Альфонс Лавалле x Perlette, Італія x Perlette та Італія x Pirobela.

Ми проаналізували інформацію з європейського каталогу сортів Вітіс щодо походження сорту Duca di Magenta (родовід інших чотирьох сортів не був представлений) та виявили цікаву особливість: він був отриманий від схрещування сортів Schiras Dr. Houdbine x Шасла біла, при цьому Schiras Dr. Houdbine є прямим нащадком сорту Чауш білий.

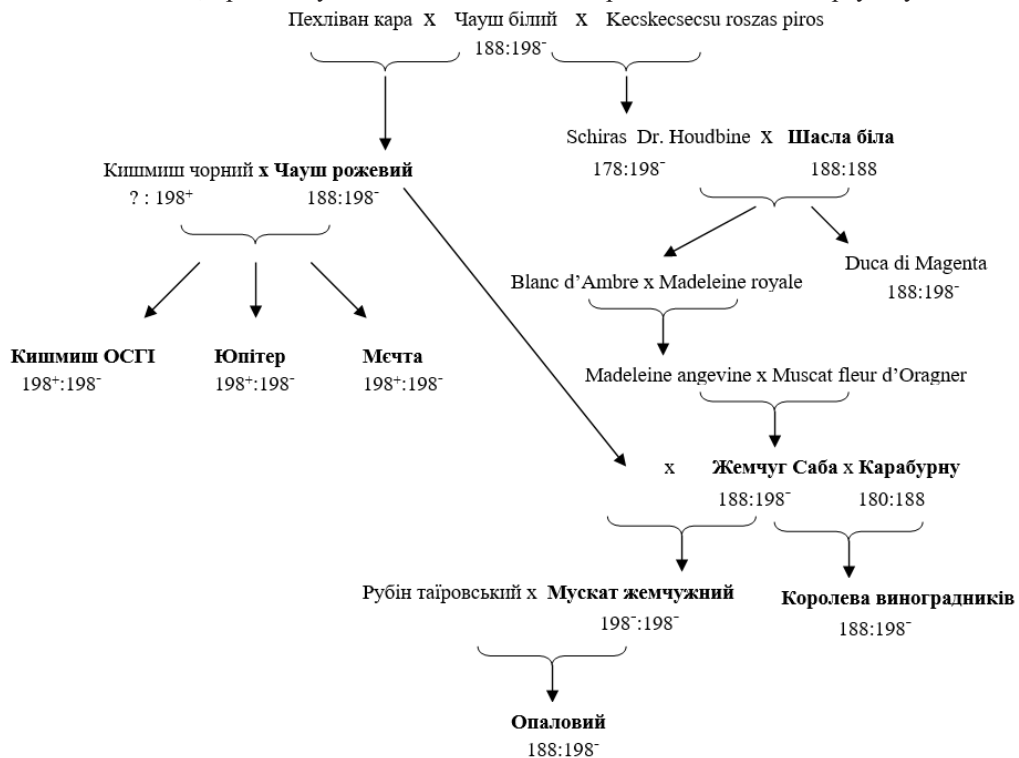


Рис. 3. Успадкування сортами винограду алейного варіанта 198⁻ п. н. від сорту Чауш білий. Виділеним шрифтом відмічені сорти досліджуваної вибірки. Алейний склад сортів Чауш білий, Schiras Dr. Houdbine, Duca di Magenta наведені згідно з даними [3, 14].

Безнасінневий сорт Perlette (Королева виноградників х Султаніна), який також виявився непрямим нащадком сорту Schiras Dr. Houdbine, скоріш за все, характеризується гомозиготним станом локусу $r3_VvAGL11$, комбінуючи в генотипі варіанти 198^+ та 198^- п. н.

Донором варіанту 198^- п. н. у генотипі сорту Pirobela (Піровано 15 х Ізабела) так само є сорт Schiras Dr. Houdbine, оскільки Піровано 15 був отриманий від сорту Мадлен Анжеві, прабатьківський сорт якого – Schiras Dr. Houdbine.

Значна кількість носіїв алеля 198^- п. н., виявлених у роботі Зароурі зі співавт. [14], походять від сорту Султаніна. Деякі з них (Black Alicante, Black monukka, Pirovano 166A) є непрямыми нащадками узбецького сорту Ічкімар.

Таким чином, у переважній більшості розглянутих фальш-позитивних випадків донором варіанту 198^- п. н. є сорт Чауш білий, рідше – Ічкімар і, можливо, Катта курган. Дослідження Зароурі із співавт. [14] підтверджують наявність алеля 198^- п. н. в генотипі сорту Чауш білий.

Гомозиготність за алелем 198^- п. н. виникає найчастіше в результаті поєднання у генотипі обох варіантів – 198^+ та 198^- п. н., оскільки гібридизація безнасінневих батьківських форм не призводить до отримання потомства і унеможливорює сполучення двох варіантів 198^+ п. н. в межах одного генотипу.

Проте в останні роки набирає масштабів [15] використання технології «відновлення зародка» (англ. embryo rescue) в умовах *in vitro*, яка стимулює розвиток повноцінних рослин із незрілих зародків безнасінневих ягід, отриманих від схрещування безнасінневих батьківських форм. Тому найближчим часом, цілком очікувано, в світовому асортименті з'являться безнасінневі сорти винограду, що комбінують у складі генотипу два варіанти 198^+ п. н.

У літературних джерелах [3] розглядаються три гіпотези виникнення гомозиготного стану локусу $r3_VvAGL11$: успадкування другого алеля 198^- п. н. від батьківської форми; успадкування або виникнення нульового алеля; соматична мутація, що призвела до зміни розміру вихідного алеля.

У складі нашої вибірки гомозиготні генотипи були виявлені серед безнасінневих сортів, отриманих від гібридизації насінневої х безнасінневої (Інтерлейкін, Ромулус, Кишмиш ОСГІ, Мечта, Юпітер, Ваткана), а також у насінневого сорту Мускат жемчужний.

Сорти Кишмиш ОСГІ, Мечта і Юпітер є прямими нащадками сорту Чауш рожевий, відповідно, варіант 198^- п. н. був успадкований від нього, а варіант 198^+ п. н. – від другого батьківського сорту – Кишмиш чорний.

Сорти Інтерлейкін і Ромулус були отримані в результаті гібридизації сортів Онтаріо та Султаніна.

Хюр та ін. [7] виявили гомозиготний стан локусу $r3_VvAGL11$ сортів Nimrod (Онтаріо х Султаніна) та Suffolk red (Fredonia х Кишмиш чорний), тобто 198^- п. н. міг бути успадкований від сортів Онтаріо та Fredonia.

Проведений нами аналіз складу родоводів сортів Онтаріо та Fredonia показав, що сорт Concord є прабатьківським для них обох. Таким чином, можна говорити, що варіант 198^- п. н. існує у генотипі сорту Concord і міг бути переданий будь-яким його нащадкам, до числа яких належать сорти Ontario та Fredonia. Точне походження сорту Concord невідоме, тому наразі важко говорити, чи був алель 198^- п. н. успадкований, чи він виник у сорту Concord у результаті мутації.

Гомозиготність сорту Ваткана (Васарга чорна х Султаніна) може свідчити про наявність алельного варіанту 198^- п. н. у сорту Васарга чорна.

Насінневий сорт Мускат жемчужний, що також виявився гомозиготним (198:198), імовірно за все, поєднує у генотипі два однакових алельних варіанти 198 п. н., які були успадковані від сортів Чауш рожевий і Жемчуг Саба.

У дослідженнях Зароурі зі співавт. [14] було виявлено гомозиготний стан (198:198) локусу p3_VvAGL11 у сортів Black Monissa (Ічкімар х Султаніна) та Lunguen (походження невідоме).

Проаналізувавши гомозиготні (198⁺:198⁻; 198⁻:198⁺) та гетерозиготні (-:198⁺, -:198⁻) у локусі p3_VvAGL11 сорти з відомими родоводами, для яких на сьогоднішній день опубліковані [11] алельні характеристики, ми виявили, що вони походять від азійських сортів Чауш білий, Ічкімар, Васарга чорна та, можливо, Катта курган.

Васарга чорна, Ічкімар і Катта курган були отримані в Узбекистані, а Чауш білий – у Туреччині. Наявність у їхніх генотипах варіанта 198⁻ п. н. може бути індикатором близьких родинних зв'язків.

Таким чином, алель 198 п. н. у складі генотипу, з одного боку, обумовить виникнення складнощів при ранньому доборі за ознакою безнасінності, а, з іншого боку, буде корисним в аналізі родоводів, особливо для сортів із невідомим походженням.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Карастан О. М., Мулюкіна Н. А. Ідентифікація та походження безнасінневих сортів винограду колекції ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В.С. Таїрова» // 36. наук. праць СГІ. 2014. Вип. 24 (64). С. 76–84.
2. Смирнов К. В., Калмыкова Т. И., Морозова Г. С. Виноградарство / под ред. К.В. Смирнова. М.: Агропромиздат, 1987. 367 с.
3. Bergamini C., Cardone M. F., Anaclerio A. et al. Validation assay of p3_VvAGL11 marker in a wide range of genetic background for early selection of stenospermocarp in *Vitis vinifera* L. // Mol Biotechnol. 2013. Vol. 54. N 3. P. 1021–1030.
4. Bouquet A., Danglot Y. Inheritance of seedlessness in grapevine (*Vitis vinifera* L.) // Vitis. 1996. Vol. 35. P. 35–42.
5. Cabezas J. A., Cervera M. T., Ruiz-Garcia L. et al. A genetic analysis of seed and berry weight in grapevine // Genome. 2006. Vol. 49. N 12. P. 1572–1585.
6. Cipriani G., Marrazzo M. T., Di Gaspero G. et al. A set of microsatellite markers with long core repeat optimized for grape (*Vitis* spp.) genotyping // BMC Plant Biol. 2008. Vol. 8. N 127. P. 1–13.
7. Costantini L., Battilana J., Lamaj F. et al. Berry and phenology-related traits in grapevine (*Vitis vinifera* L.): from quantitative trait loci to underlying genes // BMC Plant Biol. 2008. Vol. 8. N 38. P. 1–17.
8. Hur Y. Y., Jung C. J., Noh J. H., Jung S. M. Analysis of genetic relationship of seedless germplasm and validation assay of the p3_VvAGL11 marker linked to seedlessness in grapevines // Korean J. Breed. Sci. 2014. Vol. 46. N 1. P. 28–36.
9. Karaagac E., Vargas A., De Andres M. T. et al. Marker assisted selection for seedlessness in table grape breeding // Tree Genetics & Genomes. 2012. Vol. 8. N 5. P. 1003–1015.
10. Mejia N., Gebauer M., Munoz L. et al. Identification of QTLs for seedlessness, berry size, and ripening date in a seedless x seedless table grape progeny // Am. J. Enol. Vitic. 2007. Vol. 58. N 4. P. 499–507.
11. Mejia N., Soto B., Guerrero M. et al. Molecular, genetic and transcriptional evidence for a role of VvAGL11 in stenospermocarpic seedlessness in grapevine // BMC Plant Biol. 2011. Vol. 11. N 57. P. 1–18.

12. Vitis International Variety Catalogue [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.vivc.de/>
13. Wagner H. W., Sefc K. M. Identity 4.0. Centre for applied genetics. Vienna: University of Agricultural Sciences. 1999.
14. Zarouri B., Vargas A. M., Gaforio L. et al. Whole-genome genotyping of grape using a panel of microsatellite multiplex PCRs // Tree Genetics & Genomes. 2015. Vol. 11. N 17. P. 1–15.
15. Zhiqian L., Tiemei L. Breeding new seedless grapes using in ovulo embryo rescue and marker-assisted selection // In Vitro Cell. Dev. Biol.–Plant. 2015. Vol. 51. N 3. P. 241–248.

Стаття: надійшла до редакції 02.04.15

доопрацьована 22.07.15

прийнята до друку 21.09.15

POLYMORPHISM OF INTRAGENIC MICROSATELLITE MARKERS P3_VVAGL1 LINKED WITH (*VITIS VINIFERA* L.) GRAPES SEEDLESSNESS TRAIT

O. Karastan, N. Mulyukina, O. Papina, G. Plachinda

National Scientific Centre

“Institute of Viticulture and Wine-making named after V.Ye. Tairov”

55/8, 40 let Pobedy St., Tairovo, Odessa Region 65496, Ukraine

e-mail: olga.karastan@gmail.com

Fifteen seedless and thirty seeded table, wine grape and rootstock varieties allelic composition of intragenic microsatellite loci p3_VvAGL1 was identified and analyzed. 10 alleles were found out, including two ones previously unpublished and their frequencies were also calculated. The main diversity parameters of studied locus (PIC (He) – 0,743; Ho – 0,600; r – 0,082) revealed the level of polymorphism comparable to polymorphism indicators of other microsatellite loci which are used for grapes varieties discrimination. In genotypes of seedless varieties which derived from variety Sultanina and Kishmish chernyi the allele 198 b. p. linked with grapes seedlessness trait was defined. In some seeded and seedless varieties the second allelic variant 198 b. p., which is not related of seedlessness trait and leads to false positive results was found. By analyzing the cultivars origin such allelic variant possible sources (seeded varieties Chaouch blanc, Ichkimar, Katta kurgan, Vasarga chernaya and Concord) and its inheritance were shown.

Keywords: microsatellite, p3_VvAGL1, seedlessness, grapes marker-assisted selection, *V. vinifera* L.

**ПОЛИМОРФИЗМ ИНТРАГЕННОГО МИКРОСАТЕЛЛИТНОГО
ЛОКУСА p3_VVAGL11, СЦЕПЛЕННОГО С ПРИЗНАКОМ
БЕЗСЕМЯННОСТИ ВИНОГРАДА (*VITIS VINIFERA* L.)**

О. Карастан, Н. Мулюкина, Е. Папина, Г. Плачинда

*Национальный научный центр
«Институт виноградарства и виноделия им. В. Е. Таирова»
ул. 40 лет Победы, 55/8, пгт Таирова, Овидиопольский р-н,
Одесская обл. 65496, Украина*

Определен и проанализирован аллельный состав интрагенного микросателлитного локуса p3_VvAGL11 15 бессемянных и 30 семянных сортов винограда столового, технического и подвойного направления использования. Выявлено 10 аллелей, в т. ч. два ранее не опубликованных, и вычислены их частоты. Определение основных показателей разнообразия исследованного локуса ($PIC (H_c) - 0,743$; $H_o - 0,600$; $g - 0,082$) выявило уровень полиморфизма, в целом сопоставимый с показателями полиморфности других микросателлитных локусов, которые используются для внутрисортовой дискриминации у винограда. В генотипах бессемянных сортов, которые произошли от стародавних сортов Султанина и Кишмиш черный, обнаружен аллель 198 п. н., ассоциированный с признаком бессемянности у винограда. У некоторых семянных и бессемянных сортов определен второй аллельный вариант 198 п. н., который не связан с проявлением признака бессемянности и приводит к фальш-положительным результатам. Путем анализа родословных установлены возможные источники такого аллельного варианта – семянные сорта Чауш белый, Ичкимар, Катта курган, Вассарга черная и Конкорд – и показано его унаследование изучаемыми сортами винограда.

Ключевые слова: микросателлит, p3_VVAGL11, бессемянность, маркер-сопутствующий отбор у винограда, *V. vinifera* L.