

УДК 577.213.3:575.174.015.3:630\*165:634.232

## ІДЕНТИФІКАЦІЯ АЛЕЛІВ САМОНЕСУМІСНОСТІ В СОРТІВ ЧЕРЕШНІ (*PRUNUS AVIUM* L.) УКРАЇНСЬКОЇ СЕЛЕКЦІЇ

Я. І. ІВАНОВИЧ<sup>1</sup>, Н. В. ТРЯПІЦИНА<sup>1</sup>, К. М. УДОВИЧЕНКО<sup>1</sup>, Р. А. ВОЛКОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут садівництва НААН України  
Україна, Київ-27, 03027, с. Новосілки, вул. Садова, 23  
e-mail: ivanovych.yar@gmail.com

<sup>2</sup>Кафедра молекулярної генетики та біотехнології,  
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
Україна, 58012, м. Чернівці, вул. Коцюбинського, 2  
e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

**Мета.** Українськими селекціонерами створено велику кількість сортів черешні, які все ще залишаються майже недослідженими на молекулярно-генетичному рівні. Метою роботи було провести ідентифікацію алелів самонесумісності (*S*-алелів) в українських сортів і форм черешні та з'ясувати їх приналежність до груп перехресної несумісності. **Методи.** Для генетичного профілювання сортів черешні було застосовано ПЛР із вродженими праймерами до першого та другого інтронів гена *S-PHКази* та до єдиного інтрону гена *SFB*. Електрофоретичний аналіз ПЛР-продуктів другого інтрону *S-PHКази* проводили в агарозному гелі, а детекцію флуоресцентно мічених фрагментів ДНК першого інтрону *S-PHКази* та інтрону *SFB* — на генетичному аналізаторі. **Результати.** Ідентифіковано *S*-алелі у 25 сортів черешні української селекції та десяти культивованих форм (ландрас). Оцінено частоти зустрічальності *S*-алелів та розподіл сортів та ландрас по групах перехресної несумісності, що може бути використано в селекційній роботі та при плануванні промислових насаджень. **Висновки.** У досліджуваній вибірці виявлено 12 різних *S*-алелів та 79 *S*-гаплотипів. Алелі *S*<sub>1</sub>, *S*<sub>3</sub>, *S*<sub>4</sub>, *S*<sub>5</sub>, *S*<sub>6</sub> та *S*<sub>9</sub> є найбільш поширеними серед українських сортів і форм черешні. Високі частоти зустрічальності алелів *S*<sub>5</sub> та особливо *S*<sub>9</sub> характерні для українських сортів і відрізняють їх від інших європейських. XXXVII (*S*<sub>5</sub>*S*<sub>9</sub>) група перехресної несумісності є найчисленнішою серед українських сортів черешні.

**Ключові слова:** українські сорти черешні, *S*-локус, *S*-генотипи, перехресна несумісність, *Prunus avium*.

**Вступ.** За наявності та використанням генетичного різноманіття культурних рослин Україна є однією з найбагатших країн світу, входить до десятки країн, що зробили найбільший вклад у розвиток селекції черешні [1] та до десятки найбільших виробників плодів цієї культури [2]. Для подальшої цілеспрямованої селекції рослин вкрай важливим видається вивчення їх походження, генетичної спорідненості та різноманіття з використанням сучасних молекулярних методів [3, 4, 5]. Нещодавно аналогічні дослідження було проведено і для черешні [6, 7, 8]. Зокрема, застосування у селекційній роботі молекулярних маркерів, зчеплених із господарсько-цінними ознаками суттєво полегшує та прискорює отримання нових сортів [9, 10]. До таких ознак у черешні належать маса та забарвлення плодів, самонесумісність, діаметр штамбу тощо [9, 11–13].

Черешня (*Prunus avium* L.) є аллогамною рослиною. Як і в інших представників родин Розові (*Rosaceae*), у черешні запилення контролюється системою гаметофітної самонесумісності (ГСН; gametophytic self-incompatibility, GSI). Ця система генетично контролюється одним мультиалельним локусом (*S*) з двома генами, які кодують специфічні детермінанти реакції самонесумісності. Запліднення у видів із ГСН відбувається лише тоді, коли *S*-алелі, що експресуються у пилковій трубці та стовпчику маточки відрізняються.

Якщо S-алель гаплоїдного пилку збігається з одним із алелів диплоїдної тканини стовпчика маточки, ріст пилкової трубки зупиняється, пилкок відторгається і запліднення не відбувається [12–16]. У кісточкових культур (триба Amygdaleae) відомо два зчеплені S-локусні гени, що беруть участь у відповіді на розпізнавання несумісності: ген рибонуклеази (*S-PHКази*) кодує компонент стовпчика маточки — основний глікопротеїн з PHКазною активністю, а ген *SLF/SFB* (*S*-locus F-box/*S*-haplotype-specific F-box) кодує компонент, присутній у пилковій трубці — білок з F-бокс мотивами [15]. У черешні S-локус локалізований в шостій парі хромосом [17]. Згідно з останніми даними, в черешні ідентифіковано 33 S-алелі та запропоновано 56 груп перехресної несумісності (ГПН; cross-incompatibility group, CIG) культивованих сортів [12, 13, 18, 18]. Сукупність специфічних S-алелів (*S*-гаплотипів) називають S-генотипом.

У самобезплідних (самонесумісних; self-incompatible, SI) видів, зокрема у черешні, при створенні промислових насаджень сорти-продуценти мають поєднуватись із відповідними запилювачами для забезпечення перехресного запилення й утворення достатньої кількості плодів. Оскільки взаємне запилення сортів із однієї групи несумісності виключене, знання S-генотипів сортів є економічно важливим [20]. Сорти з унікальними S-генотипами відносять до нульової групи (O). Такі сорти (напр., сорт Moscatella з  $S_{17}S_{21}$ ) в насадженнях можна використовувати як універсальні запилювачі, тобто поєднувати з сортами, що належать до будь-якої із груп перехресної несумісності. Знання S-генотипів є важливим і для селекційної роботи: якщо S-генотипи батьківських форм були, наприклад,  $S_1S_2$  та  $S_1S_3$ , а гібриду —  $S_1S_3$ , то зворотне схрещування з одним із батьків стає неможливим, що ускладнює проведення гібридологічного аналізу [12].

Недостатня продуктивність насаджень часто спричинена сортами-запилювачами, тому пошук самоплідних (самосумісних; self-compatible, SC) сортів становить пріоритетну задачу в селекції черешні [15]. Порівняно із самобезплідними, самоплідні сортами зазвичай краще забезпечують високі стабільні врожаї та легше адаптуються до широкого діапазону умов навколишнього середовища. Також самоплідні сорти можуть використовуватись як універсальні запилювачі для самобезплідних [1]. Самоплідні сорти черешні української селекції невідомі. Наразі близько 40 сортів та гібридів черешні вітчизняної селекції досліджува-

лись закордоном, а їх S-генотипи були ідентифіковані [13, 21–23].

Незважаючи на значні досягнення українських селекціонерів, для переважної більшості створених сортів інформація про їх S-генотипи все ще відсутня, а підбір кращих запилювачів базується виключно на польових даних [24]. Відповідно, нами було проведено визначення S-генотипів для 25 сортів української та п'яти сортів закордонної селекції, а також для десяти українських ландрас черешні.

### Матеріали і методи

Рослинний матеріал сортів черешні було відібрано в колекційних насадженнях Інституту садівництва НААН, Мелітопольської ДСС ім. М. Ф. Сидоренка ІС, Артемівської ДСР ІС та Дослідній станції помології ім. Л. П. Симиренка ІС НААН. Зразки ДНК п'яти сортів черешні закордонної селекції було ласкаво надані Dr. José Quero García (INRA-Bordeaux, Франція). Надані зразки ДНК були виділені із рослинного матеріалу, що зберігається в Центрі генетичних ресурсів кісточкових культур INRA (Centre de Ressources Génétiques (CRG) *Prunus*) і входить до Європейської спільної програми з генетичних ресурсів рослин (European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources, ECPGR). Було досліджено 25 сортів української та п'яти — закордонної селекції, а також десять ландрас (культивованих форм) черешні, зібраних у Чернівецькій та Київській областях. Переважна більшість сортів була представлена одним зразком, проте для деяких сортів було досліджено до 4 зразків.

Загальну геномну ДНК виділяли з молодих листків ЦТАБ-методом [25] з деякими модифікаціями або за допомогою DNeasy® Plant Mini Kit (Quiagen, Німеччина) згідно інструкцій виробника. Концентрацію препаратів ДНК визначали електрофоретично.

Для ампліфікації фрагментів генів S-локусу було використано раніше опубліковані консенсусні праймери до першого та другого інтрону S-PHКази та інтрону SFB (таблиця 1). Реакції ампліфікації було проведено згідно рекомендацій щодо приготування ПЛР-сумішей та програм із оригінальних статей [20, 26, 27]. ПЛР проводили на ампліфікаторах Терцик (ДНК-Технологія, Російська Федерація), Mastercycler® 5341 (Eppendorf, Німеччина) та Veriti® (Applied Biosystems®, США).

**Таблиця 1.** Послідовності праймерів використаних для ідентифікації алелів S-локусу

Праймери	Послідовність	Посилання
PaConsl-F PaConsl-R2	MCT TGT TCT TGS TTT YGC TTT CTT C GCC ATT GTT GCA CAA ATT GA	[26]
PaConslI-F PaConslI-R	GGC CAA GTA ATT ATT CAA ACC CAW AAC AAA RTA CCA CTT CAT GTA AC	[20]
F-BOX5'A F-BOXintronR	TTK SCH ATT RYC AAC CKC AAA AG CWG GTA GTC TTD SYA GGA TG	[27]

Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації, отриманих із використанням праймерів до першого інтрону *S-PHKazi* та інтрону *SFB* було проведено на CEQ™ 8000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter, США). В якості маркера молекулярних мас використовували CEQ™ DNA Size Standard Kit — 400 та 500. Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації, отриманих з використанням праймерів до другого інтрону *S-PHKazi* було проведено в 1,5 % агарозному гелі SeaKem® GTG™ (Lonza) та TopVision (Thermo Scientific) на приладах для горизонтального гелі-електрофорезу StarPhoresis N2023-1410 (STARLAB, Німеччина) та Hoefer HE 100 SuperSub™ (Hoefer Scientific, США). Агарозні гелі забарвлювали GelRed™ або етидій бромідом (EtBr). В якості маркера молекулярних мас використовували GeneRuler 1kb DNA Ladder та GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific). Електрофореграми продуктів ампліфікації аналізували з використанням програми TotalLab TL120.

#### Результати та обговорення

Аналіз досліджених зразків черешні, переважно сортів української селекції, за допомогою трьох пар консенсусних (вироджених) праймерів

дозволив отримати чіткі ампліфікаційні продукти в електрофореграмах для переважної більшості досліджених екземплярів. Це дозволило нам ідентифікувати 12 різних S-алелів та 79 S-гаплотипів по всій вибірці (таблиця 2). У трьох ландрас черешні — AVCV3, AVCV5 та AVCV6 — було виявлено лише один S-алель, тоді як у двох інших — GEN/1 та AVCV4 — було знайдено по три S-алелі. Одночасну присутність трьох S-алелів можна пояснити тим, що останні дві ландраси можуть бути триплоїдами. В раніше опублікованих дослідженнях повідомлялось про триплоїди, виявлені в популяціях дикої черешні з Бельгії, Франції, Німеччини, Іспанії та в сортів із Туреччини [16, 18, 28, 29]. Триплоїдність дикої черешні Gardeline та десяти інших форм французького походження було встановлено після дослідження міросателітних локусів, S-локусу та підтверджено цитофлуориметрично [28]. При дослідженні дикої черешні з Німеччини в однієї із форм було ідентифіковано лише один S-алель [30]; при дослідженні триплоїдних форм дикої черешні із Франції, у двох із них було охарактеризовано лише по два S-алелі [28]. Відсутній S-гаплотип в такому випадку прийнято позначати  $S_{null}$  (чи  $S_n$  і т. п.).

**Таблиця 2.** S-генотипи досліджених сортів та форм черешні

Сорт	S-генотип	ГПН (CIG)	Довжина ампліфікатів (пн) для праймерів PaConsl	Довжина ампліфікатів (пн) для праймерів PaConslI	Довжина ампліфікатів (пн) для праймерів F-BOX	Оригінатор
Аборигенка	$S_1S_3$	II	234/380	898	189/202	ДСП
Regina	$S_1S_3$	II	234/380	898	189/202	Німеччина
Аннушка	$S_3S_4$	III	234/451	898/1064	189/202	АДСР
Темпоріон	$S_3S_4$	III	234/451	898/1064	189	МДСС
Наполеон (Наполеон рожева)	$S_3S_4$	III	234/451	898/1064	189/202	Німеччина

*Ідентифікація алелів самонесумісності в сортів черешні (Prunus avium L.) української селекції*

Сорт	S-генотип	ГПН (CIG)	Довжина ампліфікатів (пн) для праймерів PaConsl	Довжина ампліфікатів (пн) для праймерів PaConslI	Довжина ампліфікатів (пн) для праймерів F-BOX	Оригінатор
Дончанка	S <sub>4</sub> S <sub>5</sub>	V	393/451	1064	189	АДСР
Любава	S <sub>4</sub> S <sub>5</sub>	V	393/451	1064	189	ІС
Ніжність	S <sub>4</sub> S <sub>5</sub>	V	393/451	1064	-	ІС
Döpnissens Gelbe (Денисена жовта)	S <sub>3</sub> S <sub>6</sub>	VI	234/443	577/898	202	Німеччина
Шанс	S <sub>3</sub> S <sub>6</sub>	VI	234/443	577/898	202	МДСС
Донецький угольок	S <sub>3</sub> S <sub>5</sub>	VII	234/393	898	190/202	АДСР
Отрада	S <sub>3</sub> S <sub>5</sub>	VII	234/393	898	190/202	АДСР
Ярославна	S <sub>3</sub> S <sub>5</sub>	VII	234/393	898	190/202	АДСР
Garnet	S <sub>1</sub> S <sub>4</sub>	IX	380/451	874/1064	189	США
Валерія	S <sub>1</sub> S <sub>4</sub>	IX	380/451	874/1064	189	АДСР
Джерело	S <sub>6</sub> S <sub>9</sub>	X	357/443	577/798	180	АДСР
Легенда Млієва	S <sub>6</sub> S <sub>9</sub>	X	357/443	577/798	180	ДСП
Присадибна	S <sub>6</sub> S <sub>9</sub>	X	357/443	577/798	180	МДСС
Дар Млієва	S <sub>5</sub> S <sub>6</sub>	XV	393/443	577	180/190	ДСП
Донецька красавиця	S <sub>3</sub> S <sub>9</sub>	XVI	234/357	798/898	202	АДСР
Burlat	S <sub>3</sub> S <sub>9</sub>	XVI	234/357	798/898	189/202	Франція
Аншлаг	S <sub>1</sub> S <sub>9</sub>	XVIII	357/380	798/874	189	МДСС
Казка	S <sub>1</sub> S <sub>9</sub>	XVIII	357/380	798/874	189	МДСС
Коралова	S <sub>1</sub> S <sub>6</sub>	XX	380/443	577/874	180/189	ДСП
Анонс	S <sub>5</sub> S <sub>9</sub>	XXXVII	357/393	798	189/190	МДСС
Василиса прекрасна	S <sub>5</sub> S <sub>9</sub>	XXXVII	357/393	798	189/190	АДСР
Крупноплідна	S <sub>5</sub> S <sub>9</sub>	XXXVII	357/393	798	189/190	МДСС
Ласуня	S <sub>5</sub> S <sub>9</sub>	XXXVII	357/393	798	189/190	МДСС
Прощальна Тараненко	S <sub>5</sub> S <sub>9</sub>	XXXVII	357/393	798	189/190	АДСР
Єдина	S <sub>6</sub> S <sub>17</sub>	O	396/443	577/788	180/190	ДСП
AVCV1	S <sub>1</sub> S <sub>4</sub>	IX	380/451	874/1064	189	Ландр.
AVCV3	S <sub>18</sub> S <sub>null</sub>	–	342	935	183	Ландр.
AVCV4	S <sub>6</sub> S <sub>14</sub> S <sub>X1</sub>	–	334/367/443	577/719/1000	180/183	Ландр.
AVCV5	S <sub>10</sub> S <sub>null</sub>	–	365	734	138/175	Ландр.
AVCV6	S <sub>3</sub> S <sub>null</sub>	–	234	898	202	Ландр.
AVCV7	S <sub>3</sub> S <sub>4</sub>	III	234/451	898/1064	189/202	Ландр.
AVCV8	S <sub>6</sub> S <sub>7</sub>	XXX	345/443	577	180/202	Ландр.
AVLV1	S <sub>1</sub> S <sub>4</sub>	IX	380/451	874/1064	189	Ландр.
AVKV1	S <sub>12</sub> S <sub>17</sub>	O	346/396	788	185	Ландр.
GEN/1	S <sub>1</sub> S <sub>9</sub> S <sub>X1</sub>	–	357/367/380	798/874/1000	189	Ландр.

**Примітки.** Наведено розміри отриманих ампліфікатів. ІС — Інститут садівництва НААН, АДСР — Артемівська дослідна станція розсадництва ІС НААН, МДСС — Мелітопольська дослідна станція садівництва ім. М. Ф. Сидоренко ІС НААН, ДСП — Дослідна станція помології ім. Л. П. Симиренка ІС НААН; Ландр. — ландраса.

Із відомих 33 S-алелів, у сортів черешні найбільш поширеними у світі є лише 13 ( $S_1$ - $S_7$ ,  $S_9$ ,  $S_{10}$ ,  $S_{12}$ - $S_{14}$ ,  $S_{16}$ ), тоді як решта є рідкісними. Розподіл алелів демонструє залежність від географічного походження сортів черешні [13]. Рідкісні алелі переважно поширені у дикорослих форм черешні, місцевих сортів (ландрас) та сортів із країн, що належать до центру походження

цього виду (напр., Туреччина, Іран) [12, 13]. Для сортів черешні європейського походження найбільш характерними є  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$ ,  $S_4$ ,  $S_5$ ,  $S_6$ ,  $S_9$  і в меншій мірі —  $S_7$  та  $S_{12}$ . Натомість для сортів, що походять із Західної та Середньої Азії (Туреччина, Іран) типовими є  $S_2$ ,  $S_3$ ,  $S_4$ ,  $S_6$ ,  $S_7$ ,  $S_9$ ,  $S_{10}$ ,  $S_{12}$ ,  $S_{14}$  і в меншій мірі  $S_1$  та  $S_5$  [13].

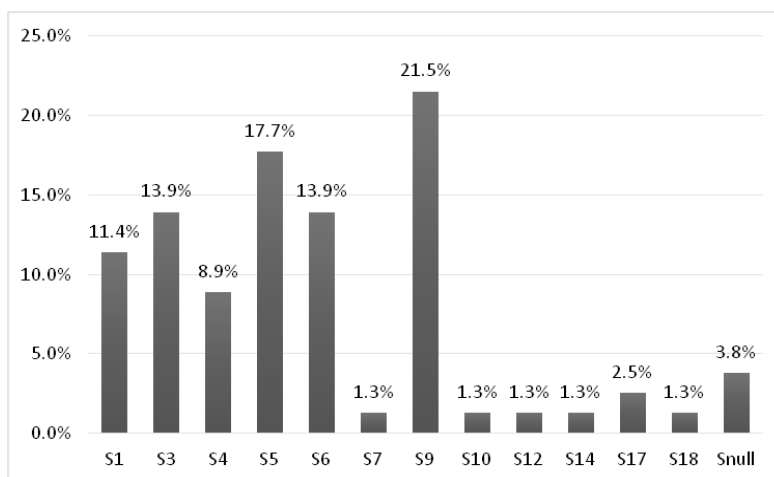


Рисунок 1. Відсотковий розподіл S-алелів серед українських сортів та форм черешні, (%).

В дослідженій нами вибірці з 35 українських сортів та форм черешні домінують алелі  $S_9$  (21,5%),  $S_5$  (17,7%),  $S_3$  (15,2%),  $S_6$  (13,9%),  $S_1$  (11,4%) та  $S_4$  (8,9%). На загал такий «алельний профіль» узгоджується із описаною раніше картиною розповсюдження алелів серед культивованих у Європі сортів черешні. В цілому, наші

результати підтверджують попередні дослідження [23], де автори дійшли висновку, що східноєвропейські сорти черешні характеризуються високою частотою зустрічальності алелю  $S_5$ . Водночас, значна висока поширеність алелів  $S_5$  та  $S_9$  в українських сортів суттєво відрізняє їх від сортів з інших регіонів Європи [23].

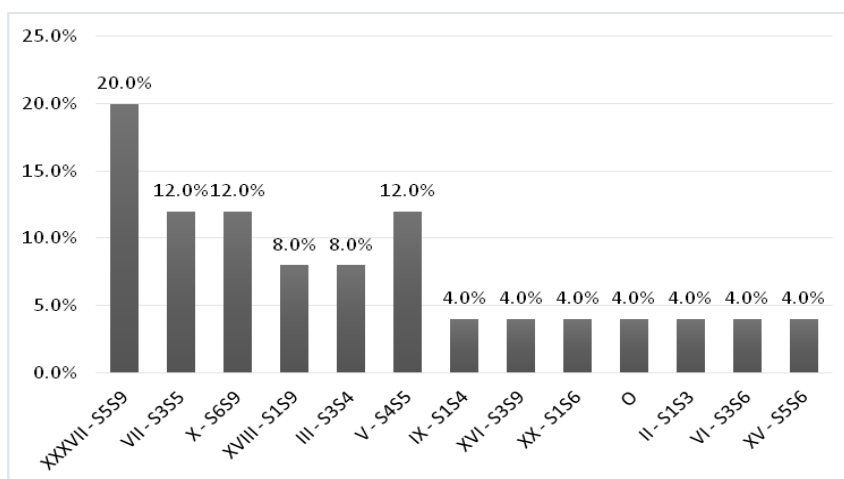


Рисунок 2. Розподіл українських сортів черешні по групах перехресної несумісності, (%).

Проаналізовані сорти черешні належать до 12 відомих ГПН. Виключенням є лише сорт Єдина із генотипом  $S_6S_{17}$ , що було віднесено до групи О (універсальні запилювачі). Найбільш численною групою (рисунок 2) є сорти, котрі належать до ГПН XXXVII ( $S_5S_9$ ), а також до ГПН VII ( $S_3S_5$ ), X ( $S_6S_9$ ) та V ( $S_4S_5$ ).

Порівнюючи результати нашого дослідження з оприлюдненими даними про поширення S-алелів в українських, східноєвропейських та західноєвропейських сортів [13] було виявлено ряд відмінностей. Зокрема, алель  $S_1$  у всіх трьох групах зустрічається із подібною частотою; алель  $S_5$  в українських сортів черешні зустрічається дещо рідше, ніж в цілому серед східноєвропейських сортів; водночас частота алеля  $S_9$  в українських сортів черешні вдвічі вища в порівнянні із східноєвропейськими сортами та втричі — порівняно із референтною групою західноєвропейських сортів; алелі  $S_3$ ,  $S_4$  та  $S_6$  в українських сортів зустрічаються рідше у порівнянні з двома іншими групами; алель  $S_{17}$  є рідкісним в українських сортів черешні; алелі  $S_7$ ,  $S_{10}$ ,  $S_{12}$ ,  $S_{14}$  та  $S_{18}$  було виявлено лише в культивованих форм дикої черешні. Припускається, що причиною відмінностей у поширенні S-гаплотипів в різних регіонах Європи може бути спільне походження сортів на обмеженій території або зв'язок специфічних S-гаплотипів із адаптацією до кліматичних умов різних регіонів [31].

### Висновки

Встановлено алельний стан S-локусу та приналежність до груп перехресної несумісності у 35 українських сортів та форм черешні. З'ясовано, що для українських сортів черешні найбільш типовими є алелі  $S_1$ ,  $S_3$ ,  $S_4$ ,  $S_5$ ,  $S_6$  та  $S_9$ . Характерним є домінування алелів  $S_5$  та  $S_9$ , що відрізняє українські від інших європейських сортів. Водночас висока частота зустрічальності алеля  $S_9$  виділяє українські сорти серед східноєвропейських. Найбільш розповсюдженою серед українських сортів черешні виявилась XXXVII ( $S_5S_9$ ) група перехресної несумісності. Серед досліджених сортів до групи універсальних сортів-запилювачів відноситься лише сорт Єдина із генотипом  $S_6S_{17}$ .

### Перелік літератури

1. Sansavini S., Lugli S. Sweet cherry breeding programs in Europe and Asia. *Acta Hort.* 2008. Vol. 795. P. 41–58. doi: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.795.1>.
2. FAOSTAT database collections. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.

URL: <http://faostat3.fao.org/> (дата звернення: 25.10.2016).

3. Komarova N. Y., Grimm G. W., Hemleben V., Volkov R. A. Molecular evolution of 35S rDNA and taxonomic status of *Lycopersicon* within *Solanum* sect. *Petota*. *Plant Syst. Evol.* 2008. Vol. 276, No. 1–2. P. 59–71. doi: <https://doi.org/10.1007/s00606-008-0091-2>.
4. Laidò G., Mangini G., Taranto F., Gadaleta A., Blanco A., Cattivelli L., De Vita P. Genetic diversity and population structure of tetraploid wheats (*Triticum turgidum* L.) estimated by SSR, DArT and pedigree data. *Plos One*. 2013. Vol. 8, No. 6. P. 1–17. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067280>.
5. Boucheffa S., Miazzi M. M., di Rienzo V., Mangini G., Fanelli V., Tamendjari A., Montemurro C. The coexistence of oleaster and traditional varieties affects genetic diversity and population structure in Algerian olive (*Olea europaea*) germplasm. *Genet. Resour. Crop Evol.* 2017. Vol. 64, No. 2. P. 379–390. doi: <https://doi.org/10.1007/s10722-016-0365-4>.
6. Guarino C., Santoro S., De Simone L., Cipriani G. *Prunus avium*: nuclear DNA study in wild populations and sweet cherry cultivars. *Genome*. 2009. Vol. 52, No. 4. P. 320–337. doi: <https://doi.org/10.1139/g09-007>.
7. Іванович Я. І., Удовиченко К. М., Бублик М. О., Волков Р. А. Генетичне профілювання українських сортів черешні (*Prunus avium* L.) з використанням ISSR-ПЛР маркерів. *Цитологія і генетика*. 2017. Т. 51, № 1. С. 51–60. doi: <https://doi.org/10.3103/S0095452717010066>.
8. Іванович Я., Волков Р. Genetic relatedness of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars from Ukraine determined by microsatellite markers. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 2017. P. 1–9. doi: <https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1342568>.
9. Cai L., Voorrips R. E., van de Weg E., Peace C., Iezzoni A. Genetic structure of a QTL hotspot on chromosome 2 in sweet cherry indicates positive selection for favorable haplotypes. *Mol. Breed.* 2017. Vol. 37. P. 1–10. doi: <https://doi.org/10.1007/s11032-017-0689-6>.
10. Biscarini F., Nazzicari N., Bink M., Arús P., Aranzana M. J., Verde I., Rossini, L. Genome-enabled predictions for fruit weight and quality from repeated records in European peach progenies. *BMC Genomics*. 2017. Vol. 18, No. 1. P. 1–15. doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3781-8>.
11. Іванович Я. І., Волков Р. А. Алельний стан гена *PavCNR12* у сортів черешні (*Prunus avium* L.) української селекції. *Вісник УТГІС*. Т. 15, № 1. С. 40–46.
12. Szikriszt B., Doğan A., Ercisli S., Akca M. E., Hegedűs A., Halász J. Molecular typing of the self-incompatibility locus of Turkish sweet cherry genotypes reflects phylogenetic relationships among cherries and other *Prunus* species. *Tree Genet. Genomes*. 2012. Vol. 9, No. 1. P. 155–165. doi: <https://doi.org/10.1007/s11295-012-0543-2>.

13. Schuster M. Incompatible (S-) genotypes of sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.). *Sci. Hortic.* 2012. Vol. 148. P. 59–73. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.09.012>.
14. Cachi A. M., Wunsch A. Characterization and mapping of non-S gametophytic self-compatibility in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *J. Exp. Bot.* 2011. Vol. 62, No. 6. P. 1847–1856. doi: <https://doi.org/10.1093/jxb/erq374>.
15. Ikeda K., Watari A., Ushijima K. Molecular markers for the self-compatible S<sub>4</sub>-haplotype, a pollen-part mutant in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 2004. Vol. 129, No. 5. P. 724–728.
16. De Cuyper B., Sonneveld T., Tobutt, K. R. Determining self-incompatibility genotypes in Belgian wild cherries. *Mol. Ecol.* 2005. Vol. 14, No. 4. P. 945–955. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02460.x>.
17. Cabrera A., Rosyara U. R., De Franceschi P., Sebolt A., Sooriyapathirana S. S., Dirlewanger E., van der Knaap E. Rosaceae conserved orthologous sequences marker polymorphism in sweet cherry germplasm and construction of a SNP-based map. *Tree Genet. Genomes.* 2012. Vol. 8, No. 2. P. 237–247. doi: <https://doi.org/10.1007/s11295-011-0436-9>.
18. Cachi A. M., Wunsch A., Vilanova A., Guardia M., Ciordia M., Aleta N. S-locus diversity and cross-compatibility of wild *Prunus avium* for timber breeding. *Plant Breed.* 2017. Vol. 136, No. 1. P. 126–131. doi: <https://doi.org/10.1111/pbr.12450>.
19. Marchese A., Giovannini D., Leone A., Mafrica R., Palasciano M., Cantini C., Marra F. P. S-genotype identification, genetic diversity and structure analysis of Italian sweet cherry germplasm. *Tree Genet. Genomes.* 2017. Vol. 13, No. 5. P. 93. doi: <https://doi.org/10.1007/s11295-017-1176-2>.
20. Sonneveld T., Tobutt K. R., Robbins T. P. Allele-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (S) alleles S<sub>1</sub> to S<sub>16</sub> using consensus and allele-specific primers. *Theor. Appl. Genet.* 2003. Vol. 107, No. 6. P. 1059–1070. doi: <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1274-4>.
21. Hegedűs A., Teller D., Papp N., Szikriszt B., Erőcsi S., Halász J., Stefanovits-Bányai É. Fruit antioxidant capacity and self-incompatibility genotype of Ukrainian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars highlight their breeding prospects. *Euphytica.* 2013. Vol. 191, No. 1. P. 153–164. doi: <https://doi.org/10.1007/s10681-013-0919-x>.
22. Sharma K., Cachi A. M., Sedlák P., Skřivanová A., Wunsch A. S-genotyping of 25 sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars from the Czech Republic. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 2016. Vol. 91, No. 2. P. 117–121. doi: <https://doi.org/10.1080/14620316.2015.1110997>.
23. Lisek A., Rozpara E., Głowacka A., Kucharska D., Zawadzka M. Identification of S-genotypes of sweet cherry cultivars from central and Eastern Europe. *Hort. Sci.* 2015. Vol. 42, No. 1. P. 13–21. doi: <https://doi.org/10.17221/103/2014-HORTSCI>.
24. Литовченко О. М., Павлюк В. В., Омельченко І. К. Кращі сорти плодових і горіхоплідних культур української селекції. — К. : Преса України, 2011. — 144 с.
25. Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 1987. Vol. 19. P. 11–15.
26. Sonneveld T., Robbins T. P., Tobutt K. R. Improved discrimination of self-incompatibility S-RNase alleles in cherry and high throughput genotyping by automated sizing of first intron polymerase chain reaction products. *Plant Breed.* 2006. Vol. 125, No. 3. P. 305–307. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01205.x>.
27. Vaughan S. P., Russell K., Sargent D. J., Tobutt K. R. Isolation of S-locus F-box alleles in *Prunus avium* and their application in a novel method to determine self-incompatibility genotype. *Theor. Appl. Genet.* 2006. Vol. 112, No. 5. P. 856–866. doi: <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0187-9>.
28. Serres-Giardí L., Dufour J., Russell K., Buret C., Laurens F., Santi F. Natural triploids of wild cherry. *Can. J. For. Res.* 2010. Vol. 40. P. 1951–1961. doi: <https://doi.org/10.1139/X10-100>.
29. Ipek A., Gulen H., Akcay M. E., Ipek M., Ergin S., Eris A. Determination of self-incompatibility groups of sweet cherry genotypes from Turkey. *Genet. Mol. Res.* 2011. Vol. 10, No. 1. P. 253–260. doi: <https://doi.org/10.4238/vol10-1gmr1024>.
30. Schueler S., Tusch A., Scholz F. Comparative analysis of the within-population genetic structure in wild cherry (*Prunus avium* L.) at the self-incompatibility locus and nuclear microsatellites. *Mol. Ecol.* 2006. Vol. 15, No. 11. P. 3231–3243. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.03029.x>.
31. Cachi A. M., Wunsch A. S-genotyping of sweet cherry varieties from Spain and S-locus diversity in Europe. *Euphytica.* 2014. Vol. 197, No. 2. P. 229–236. doi: <https://doi.org/10.1007/s10681-014-1061-0>.

## References

1. Sansavini S., Lugli S. Sweet cherry breeding programs in Europe and Asia. *Acta Hortic.* 2008. Vol. 795. P. 41–58. doi: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.795.1>.
2. FAOSTAT database collections. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. URL: <http://faostat3.fao.org/> (дата звернення: 25.10.2016)
3. Komarova N. Y., Grimm G. W., Hemleben V., Volkov R. A. Molecular evolution of 35S rDNA and taxonomic status of *Lycopersicon* within *Solanum* sect. *Petota*. *Plant Syst. Evol.* 2008. Vol. 276, No. 1–2. P. 59–71. doi: <https://doi.org/10.1007/s00606-008-0091-2>.
4. Laidò G., Mangini G., Taranto F., Gadaleta A., Blanco A., Cattivelli L., De Vita P. Genetic diversity and population structure of tetraploid wheats (*Triticum turgidum* L.) estimated by SSR, DArT and pedigree data. *Plos One.* 2013. Vol. 8, No. 6. P. 1–17. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067280>
5. Boucheffa S., Miazzi M. M., di Rienzo V., Mangini G., Fanelli V., Tamendjari A., Montemurro C. The coexistence of oleaster and traditional varieties affects genetic diversity and population structure in Algerian

- olive (*Olea europaea*) germplasm. *Genet. Resour. Crop Evol.* 2017. Vol. 64, No. 2. P. 379–390. doi: <https://doi.org/10.1007/s10722-016-0365-4>.
6. Guarino C., Santoro S., De Simone L., Cipriani G. *Prunus avium*: nuclear DNA study in wild populations and sweet cherry cultivars. *Genome*. 2009. Vol. 52, No. 4. P. 320–337. doi: <https://doi.org/10.1139/g09-007>.
  7. Ivanovych Ya. I., Udovychenko K. M., Bublyk M. O., Volkov R. A. ISSR-PCR fingerprinting of Ukrainian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *Cytology and Genetics*. 2017. Vol. 51, No. 1. P. 40–47. doi: <https://doi.org/10.3103/S0095452717010066>.
  8. Ivanovych Ya., Volkov R. Genetic relatedness of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars from Ukraine determined by microsatellite markers. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 2017. P. 1–9. doi: <https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1342568>.
  9. Cai L., Voorrips R. E., van de Weg E., Peace C., Iezzoni A. Genetic structure of a QTL hotspot on chromosome 2 in sweet cherry indicates positive selection for favorable haplotypes. *Mol. Breed.* 2017. Vol. 37. P. 1–10. doi: <https://doi.org/10.1007/s11032-017-0689-6>.
  10. Biscarini F., Nazzicari N., Bink M., Arús P., Aranzana M. J., Verde I., Rossini, L. Genome-enabled predictions for fruit weight and quality from repeated records in European peach progenies. *BMC Genomics*. 2017. Vol. 18, No. 1. P. 1–15. doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3781-8>.
  11. Ivanovych Ya., Volkov R. Allelic status of *PavCNR12* gene in Ukrainian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *Bul. Vavilov Soc. Geneticists and Breeders of Ukraine*. Vol. 15, No. 1. P. 40–46.
  12. Szikriszt B., Doğan A., Ercisli S., Akcay M. E., Hegedűs A., Halász J. Molecular typing of the self-incompatibility locus of Turkish sweet cherry genotypes reflects phylogenetic relationships among cherries and other *Prunus* species. *Tree Genet. Genomes*. 2012. Vol. 9, No. 1. P. 155–165. doi: <https://doi.org/10.1007/s11295-012-0543-2>.
  13. Schuster M. Incompatible (S-) genotypes of sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.). *Sci. Hortic.* 2012. Vol. 148. P. 59–73. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.09.012>.
  14. Cachi A. M., Wünsch A. Characterization and mapping of non-S gametophytic self-compatibility in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *J. Exp. Bot.* 2011. Vol. 62, No. 6. P. 1847–1856. doi: <https://doi.org/10.1093/jxb/erq374>.
  15. Ikeda K., Watari A., Ushijima K. Molecular markers for the self-compatible S<sub>4</sub>-haplotype, a pollen-part mutant in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 2004. Vol. 129, No. 5. P. 724–728.
  16. De Cuyper B., Sonneveld T., Tobutt K. R. Determining self-incompatibility genotypes in Belgian wild cherries. *Mol. Ecol.* 2005. Vol. 14, No. 4. P. 945–955. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02460.x>.
  17. Cabrera A., Rosyara U. R., De Franceschi P., Sebolt A., Sooriyapathirana S. S., Dirlwanger E., van der Knaap E. Rosaceae conserved orthologous sequences marker polymorphism in sweet cherry germplasm and construction of a SNP-based map. *Tree Genet. Genomes*. 2012. Vol. 8, No. 2. P. 237–247. doi: <https://doi.org/10.1007/s11295-011-0436-9>.
  18. Cachi A. M., Wunsch A., Vilanova A., Guardia M., Ciordia M., Aleta N. S-locus diversity and cross-compatibility of wild *Prunus avium* for timber breeding. *Plant Breed.* 2017. Vol. 136, No. 1. P. 126–131. doi: <https://doi.org/10.1111/pbr.12450>.
  19. Marchese A., Giovannini D., Leone A., Mafrica R., Palasciano M., Cantini C., Marra F. P. S-genotype identification, genetic diversity and structure analysis of Italian sweet cherry germplasm. *Tree Genet. Genomes*. 2017. Vol. 13, No. 5. P. 93. doi: <https://doi.org/10.1007/s11295-017-1176-2>.
  20. Sonneveld T., Tobutt K. R., Robbins T. P. Allele-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (S) alleles S<sub>1</sub> to S<sub>16</sub> using consensus and allele-specific primers. *Theor. Appl. Genet.* 2003. Vol. 107, No. 6. P. 1059–1070. doi: <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1274-4>.
  21. Hegedűs A., Teller D., Papp N., Szikriszt B., Ercisli S., Halász J., Stefanovits-Bányai É. Fruit antioxidant capacity and self-incompatibility genotype of Ukrainian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars highlight their breeding prospects. *Euphytica*. 2013. Vol. 191, No. 1. P. 153–164. doi: <https://doi.org/10.1007/s10681-013-0919-x>.
  22. Sharma K., Cachi A. M., Sedlák P., Skřivanová A., Wünsch A. S-genotyping of 25 sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars from the Czech Republic. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 2016. Vol. 91, No. 2. P. 117–121. doi: <https://doi.org/10.1080/14620316.2015.1110997>.
  23. Lisek A., Rozpara E., Głowacka A., Kucharska D., Zawadzka M. Identification of S-genotypes of sweet cherry cultivars from central and Eastern Europe. *Hort. Sci.* 2015. Vol. 42, No. 1. P. 13–21. doi: <https://doi.org/10.17221/103/2014-HORTSCI>.
  24. Lytovchenko O. M., Pavliuk V. V., Omelchenko I. K. The best varieties of fruit, berry and nut crops of Ukrainian selection. Kyiv : Presa Ukrainy, 2011. 144 p.
  25. Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 1987. Vol. 19. P. 11–15.
  26. Sonneveld T., Robbins T. P., Tobutt K. R. Improved discrimination of self-incompatibility S-RNase alleles in cherry and high throughput genotyping by automated sizing of first intron polymerase chain reaction products. *Plant Breed.* 2006. Vol. 125, No. 3. P. 305–307. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01205.x>.
  27. Vaughan S. P., Russell K., Sargent D. J., Tobutt K. R. Isolation of S-locus F-box alleles in *Prunus avium* and their application in a novel method to determine self-incompatibility genotype. *Theor. Appl. Genet.* 2006. Vol. 112, No. 5. P. 856–866. doi: <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0187-9>.
  28. Serres-Giardi L., Dufour J., Rusell K., Buret C., Laurens F., Santi F. Natural triploids of wild cherry. *Can. J. For. Res.* 2010. Vol. 40. P. 1951–1961. doi: <https://doi.org/10.1139/X10-100>.



29. Ipek A., Gulen H., Akcaay M. E., Ipek M., Ergin S., Eris A. Determination of self-incompatibility groups of sweet cherry genotypes from Turkey. *Genet. Mol. Res.* 2011. Vol. 10, No. 1. P. 253–260. doi: <https://doi.org/10.4238/vol10-1gmr1024>.
30. Schueler S., Tusch A., Scholz F. Comparative analysis of the within-population genetic structure in wild cherry (*Prunus avium* L.) at the self-incompatibility locus and nuclear microsatellites. *Mol. Ecol.* 2006. Vol. 15, No. 11. P. 3231–3243. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.03029.x>.
31. Cachi A. M., Wunsch A. S-genotyping of sweet cherry varieties from Spain and S-locus diversity in Europe. *Euphytica*. 2014. Vol. 197, No. 2. P. 229–236. doi: <https://doi.org/10.1007/s10681-014-1061-0>.

Представлено О. В. Дубровною  
Надійшла 10.11.2017

### ИДЕНТИФИКАЦИЯ АЛЛЕЛЕЙ САМОНЕСОВМЕСТИМОСТИ У СОРТОВ ЧЕРЕШНИ (*PRUNUS AVIUM* L.) УКРАИНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Я. І. Іванович<sup>1</sup>, Н. В. Тряпціна<sup>1</sup>,  
Е. Н. Удовиченко<sup>1</sup>, Р. А. Волков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт садоводства НААН Украины  
Украина, 03027, Киев-27,  
с. Новоселки, ул. Садовая, 23  
e-mail: ivanovych.yar@gmail.com

<sup>2</sup>Кафедра молекулярной генетики и биотехнологии,  
Черновицкий национальный университет  
имени Юрия Федьковича  
Украина, 58012, Черновцы, ул. Коцюбинского, 2  
e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

**Цель.** Украинскими селекционерами создано большое количество сортов черешни, которые все еще остаются малоисследованными на молекулярно-генетическом уровне. Целью работы было провести идентификацию аллелей самонесовместимости (S-аллелей) у украинских сортов и форм черешни и выяснить их принадлежность к группам перекрестной несовместимости. **Методы.** Для генотипирования сортов черешни была использована ПЦР с выродженными праймерами к первому и второму интронам гена *S-PHKазы* и к единственному интрону гена *SFB*. Электрофоретический анализ ПЦР-продуктов второго интрона *S-PHKазы* проводили в агарозном геле, а детектирование флуоресцентно меченых фрагментов ДНК первого интрона *S-PHKазы* и интрона *SFB* — на генетическом анализаторе. **Результаты.** Идентифицированы S-аллели у 25 сортов черешни украинской селекции и десяти культивируемых форм (ландрас). Оценены частоты встречаемости S-аллелей и распределение сортов и ландрас по группам перекрестной несовместимости, что может быть использовано в селекционной работе и при планировании промышленных насаждений. **Выводы.** В исследуемой выборке обнаружены 12 различных S-

аллелей и 79 S-гаплотипов. Аллели S<sub>1</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>, S<sub>6</sub> и S<sub>9</sub> являются наиболее распространенными среди украинских сортов и форм черешни. Высокие частоты встречаемости аллелей S<sub>5</sub> и особенно S<sub>9</sub> характерны для украинских сортов и отличают их от других европейских. XXXVII (S<sub>5</sub>S<sub>9</sub>) группа перекрестной несовместимости является самой многочисленной среди украинских сортов черешни.

**Ключевые слова:** украинские сорта черешни, S-локус, S-генотипы, перекрестная несовместимость, *Prunus avium*.

### SELF-INCOMPATIBILITY ALLELE IDENTIFICATION IN UKRAINIAN SWEET CHERRY (*PRUNUS AVIUM* L.) CULTIVARS

Ya. I. Ivanovych<sup>1</sup>, N. V. Tryapitsyna<sup>1</sup>,  
K. M. Udovychenko<sup>1</sup>, R. A. Volkov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Horticulture NAAS  
Ukraine, 03027, Kyiv-27, Novosilky, Sadova str., 23  
e-mail: ivanovych.yar@gmail.com

<sup>2</sup>Dept. of Molecular Genetics and Biotechnology  
Yuri Fedkovych National University of Chernivtsi  
Ukraine, 58012, Chernivtsi, Kotsiubynski str., 2  
e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

**Aim.** Ukrainian breeders have created a large number of sweet cherry cultivars, which still remain almost unexplored at the molecular level. The aim of our study was to identify the self-incompatibility alleles (S-alleles) in Ukrainian sweet cherry cultivars and landraces, and to elucidate, to which cross-incompatibility group the cultivars belong. **Methods.** The PCR was conducted using consensus primers to the first and second introns of *S-RNAse* gene and to the single intron of *SFB* gene. The electrophoretic analysis of the PCR products of the second intron of *S-RNAase* was carried out in agarose gel, whereas detection of fluorescently labeled DNA fragments of the first *S-RNAase* intron and the *SFB* intron was performed using a genetic analyzer. **Results.** The S-alleles of 25 Ukrainian sweet cherry cultivars and 10 landraces were identified. The S-alleles frequencies and affiliation of cultivars and landraces to the groups of cross-incompatibility were determined. The obtained data can be used in breeding programs and by planning of industrial plantings. **Conclusions.** In the study, 12 different S-alleles and 79 S-haplotypes were identified. The S<sub>1</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>, S<sub>6</sub> and S<sub>9</sub> alleles are the most widespread among Ukrainian sweet cherry cultivars and landraces. The high frequencies of S<sub>5</sub> and especially of S<sub>9</sub> alleles are characteristic for the Ukrainian cultivars and distinguish them from other European ones. For the Ukrainian sweet cherry cultivars, the XXXVII (S<sub>5</sub>S<sub>9</sub>) cross-incompatibility group appeared to be the most numerous.

**Keywords:** Ukrainian sweet cherry cultivars, S-locus, S-genotypes, self- and cross-incompatibility, *Prunus avium*.