

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ АЛЛЕЛЕЙ САМОНЕСОВМЕСТИМОСТИ СОРТОВ ЧЕРЕШНИ В БЕЛАРУСИ

Т. А. ГАШЕНКО, И. Г. ПОЛУБЯТКО, Ю. Г. КОНДРАТЕНОК, А. А. ТАРАНОВ

*РУП «Институт плодоводства»,  
ул. Ковалёва, 2, аг. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,  
e-mail: tanygashenko@yandex.by*

### АННОТАЦИЯ

Исследование самонесовместимости у черешни является актуальной научной проблемой, имеющей огромное практическое значение, обусловленное необходимостью подбора оптимальных сортов-опылителей и сортовых схем при закладке промышленных насаждений. По этой причине основной задачей нашего исследования являлась молекулярно-генетическая идентификация аллелей гена самонесовместимости (S-гена) районированных сортов черешни. Для решения данной задачи использовали консенсусные праймерные пары PaConsl и PaConslI, а также аллель-специфичные ДНК-маркеры для дополнительного подтверждения. Установлен аллельный состав S-гена у 14 районированных сортов черешни, представленный 7 аллелями из 33 известных. Для сортов Беліца, Овстуженка, Северная, Гронковая, Медунца и Тютчевка аллельный состав определен частично, возможно эти сорта несут малораспространенные аллели. Оценены частоты встречаемости S-аллелей; установлено, что среди изученных сортов черешни наиболее распространены аллели S3, S6 и S5. Сорта черешни, для которых установлен полный аллельный состав S-гена, распределены по группам самонесовместимости и отнесены к восьми группам. Наиболее многочисленной является VII группа (аллели S3S5), представленная 5 сортами.

Полученные данные об аллельном составе S-гена и распределении сортов по группам несовместимости будут использованы в селекционной работе и при планировании промышленных насаждений черешни.

*Ключевые слова:* S-аллели, S-ген, консенсусные и аллель-специфичные маркеры, самонесовместимость сортов черешни, Беларусь.

### ВВЕДЕНИЕ

Подбор опылителей при закладке насаждений в плодоводстве и родительских пар при гибридизации в селекции тесно связан с проблемой самонесовместимости. Исследование самонесовместимости, предотвращающей самоопыление у перекрестноопыляемых видов, – одна из важных фундаментальных научных проблем в генетике как плодовых, так и других культурных растений. В связи с ростом сортимента плодовых культур данная проблема становится все более актуальной и значимой.

Черешня является типичным энтомофильным (опыляемым насекомыми) растением. В основной массе сорта являются самобесплодными, что не обеспечивает полной реализации их потенциала продуктивности. Установлено, что генетической основой стерильности при перекрестном опылении является ген самонесовместимости S, представленный множественными аллелями (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub> и т. д.). В основе механизма его работы лежит взаимодействие специфичных ферментов S-рибонуклеаз тканей пестика с компонентами пыльцевых зерен. При совпадении S-аллелей в тканях пестика цветка и пыльцевой трубки происходит торможение и остановка роста последней, обусловленное воздействием специфичной для пестика S-рибонуклеазы, завязывание не происходит [1–3]. Полная совместимость сортов черешни происходит, когда оба S-аллеля родительских форм различаются, что обеспечивает максимальное завязывание плодов.

Высокая востребованность плодов черешни на рынке, обусловленная вкусовыми качествами и богатым биохимическим составом ягод, растущий интерес производителей к закладке насаждений обусловили проведение исследований по изучению биологических особенностей опыления и оплодотворения черешни и выделение лучших сортов-опылителей.

Ранее изучение совместимости черешни проводилось на небольшом наборе сортов путем оценки фертильности и жизнеспособности пыльцы в лабораторных условиях, а также непосредственно при помощи скрещиваний и тестов роста пыльцевых трубок в полевых условиях.

Однако результаты определения совместимости сортов по данной методике во многом зависят от факторов окружающей среды, что для обеспечения надежности идентификации S-аллелей требует повторения исследований в годы с разными погодными условиями, что занимает много времени и требует значительных затрат труда. Для объективного определения аллельного состава S-гена сегодня активно используются методы молекулярной генетики, в частности генетические маркеры, что позволяет быстро получить объективную информацию об аллельном составе S-гена сортов и выявлять их заведомо совместимые и несовместимые комбинации.

С развитием молекулярно-генетических методов в изучении самонесовместимости черешни достигнуты значительные успехи [3, 4]. Особенности структуры S-гена, связанные с наличием варьирующих по размерам интронов у разных аллелей и консервативных областей, позволили ученым разработать две пары консенсусных праймеров PaConsI и PaConsII для первого и второго интронов соответственно [5]. Наряду с консенсусными маркерами для S-гена черешни были созданы аллель-специфичные праймерные пары для аллелей  $S_1$ – $S_{16}$  [5, 6], что позволяет уточнять и подтверждать результаты, полученные с использованием консенсусных маркеров [5, 6]. Наличие ДНК-маркеров, позволяющих точно идентифицировать аллели S-гена, дало возможность выполнить ряд исследований для изучения аллельного разнообразия S-гена.

Развитие молекулярно-генетических методов определения совместимости черешни при опылении стимулировало активное генотипирование и группирование сортов по признаку совместимости или несовместимости на основе данных ДНК-анализа. В ряде зарубежных стран S-аллели определены для каждого сорта черешни, что значительно облегчает подбор сортов-опылителей при закладке интенсивных насаждений. Так, были проанализированы около 70 сортов черешни США и Канады [4]. Определили частоту встречаемости аллелей и выделили основные группы самонесовместимости [7]. Похожую, но несколько меньшую по масштабам работу выполнили в Хорватии и Турции [8]. Аналогичные исследования проводят по генетическим коллекциям черешни в различных странах [9–12].

В настоящее время выявлено 33 аллеля S-гена, у черешни наиболее распространенными являются только 13 ( $S_1$ – $S_7$ ,  $S_9$ ,  $S_{10}$ ,  $S_{12}$ – $S_{14}$ ,  $S_{16}$ ), тогда как остальные встречаются редко. Частота встречаемости тех или иных аллелей зависит от географического происхождения сортов [4]. Редкие аллели распространены у дикорастущих форм черешни, местных сортов и сортов из стран, относящихся к центру происхождения этого вида (например, Турция, Иран) [4, 13].

Проблема идентификации S-аллелей актуальна для черешни, так как информация об их комбинациях у сортов данной культуры – основа для прогнозирования качества перекрестного опыления и, соответственно, подбора эффективных сортов-опылителей. Кроме того, данные об аллельном составе S-гена могут быть использованы для идентификации генотипов и составления генетических паспортов сортов.

Научные исследования по данному вопросу в Беларуси не проводились, к тому же ранее разработанные рекомендации не охватывают современный сортимент и не могут считаться достаточно объективными.

*Цель исследования* – провести молекулярно-генетическую идентификацию аллелей S-гена у районированных сортов черешни РУП «Институт плодоводства» и выяснить их принадлежность к группам перекрестной несовместимости.

### ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследований являлись 20 районированных сортов черешни – источники хозяйственно ценных признаков:

Антарес, Минчанка, Регула, Таврическая – источники крупноплодности и плотной мякоти (бигарро) плодов;

Витязь, Гасцинец, Гронковая, Ипуть, Красная плотная, Мария, Медунца, Народная, Наслаждение, Овстуженка, Северная, Соперница, Сябаровская, Тютчевка – источники зимостойкости;

Беліца – источник раннего срока созревания плодов;

Красавица – источник высоких вкусовых качеств плодов.

Экстракцию ДНК проводили из молодых листьев методом *CTAB*. Определение концентрации ДНК в выделенных пробах осуществляли на спектрофотометре Implen P330. Для проведения идентификации S-аллелей использовали консенсусные праймерные пары PaConsI и PaConsII и аллель-специфичные ДНК-маркеры [5, 6]. Праймеры синтезированы компанией «Праймтех» (Беларусь).

В состав ПЦР-смеси с конечным объемом 12,5  $\mu$ l входили: 6,25  $\mu$ l Quick-Load TAQ 2X Master Mix, 10 мкМ каждого праймера, 0,5  $\mu$ l ДНК-матрица (50 мкг/мкл), смесь доводили до объема 12,5  $\mu$ l Milli-Q-водой.

Амплификацию с праймерами PaConsI и PaConsII проводили в следующих условиях: I этап, 1 цикл: 94 °C – 2 мин; II этап, 35 циклов: 94 °C – 30 с, 55 °C (PaConsI) и 54 °C (PaConsII) – 60 с, 72 °C – 45 с (PaConsI) и 2 мин (PaConsII); III этап, 72 °C – 5 мин.

ПЦР-амплификацию с аллель-специфичными праймерами осуществляли в следующих условиях: I этап, 1 цикл: 94 °C – 2 мин; II этап, 35 циклов: 94 °C – 30 с, 50–62 °C – 60 с, 72 °C – 1 мин; III этап, 72 °C – 5 мин. ПЦР проводили на термоциклере C1000 Touch Thermal Cycler BioRad.

Электрофоретический анализ продуктов ПЦР выполняли в 1,5–2,0%-ном агарозном геле 0,5 $\times$  TBE-буфере, гель был окрашен с добавлением бромид аэтидия и визуализирован под ультрафиолетовым излучением с использованием системы документации геля Bio-Rad.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе идентификации аллелей S-гена у районированного сортимента черешни с использованием консенсусных праймеров PaConsI и PaConsII были определены отдельные аллели, а также их группы (рис. 1).

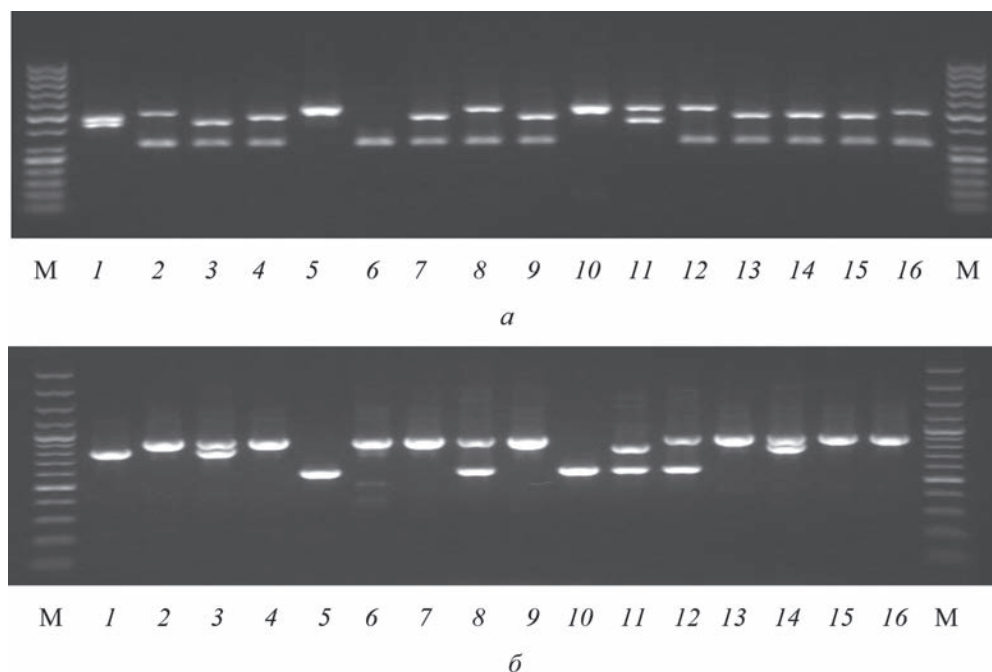


Рис. 1. Электрофоретические профили при амплификации с консенсусными праймерами: *a* – PaConsI; *б* – PaConsII. М – маркер GeneRuler 50 bp (*a*), 100 bp (*б*):

1 – Антарес; 2 – Беліца; 3 – Витязь; 4 – Гасцинец; 5 – Гронковая; 6 – Ипутъ; 7 – Красавица; 8 – Красная плотная; 9 – Мария; 10 – Медуница; 11 – Минчанка; 12 – Народная; 13 – Наслаждение; 14 – Овстуженка; 15 – Регула; 16 – Северная

Для подтверждения и более точной идентификации аллелей от  $S_1$  до  $S_{16}$  была проведена ПЦР с использованием специфических праймеров. Размеры ДНК-фрагментов, полученных с помощью консенсусных и специфических праймеров, соответствовали размеру фрагментов, характеризующих S-аллели согласно Т. Sonneveld с соавт. [5, 6].

Сопоставление и анализ полученных данных позволили нам идентифицировать у районированных сортов черешни 7 S-аллелей из 33 известных:  $S_1$ ,  $S_3$ – $S_6$ ,  $S_9$ ,  $S_{13}$ . Аллели  $S_2$ ,  $S_7$ ,  $S_{10}$ ,  $S_{12}$ ,  $S_{14}$  и  $S_{16}$  не обнаружены. Для 14 сортов S-аллельный состав установлен полностью, для 6 – определен только один аллель. В генотипах исследованных нами 20 районированных сортов черешни доминируют аллели в ряду  $S_3$  (35 %),  $S_6$  (20 %) и  $S_5$  (15 %). Аллель  $S_3$  также является наиболее распространенным в мировом генофонде черешни. Аллель  $S_9$  выявлен у трех сортов (7,5 %). К аллелям с частотой распространения до 2,5 % отнесены  $S_1$ ,  $S_4$  и  $S_{13}$ . Аллель  $S_{13}$  встречался с частотой от 2 до 5 % у сортов черешни из Западной Европы, а также у итальянских (Сицилия), венгерских и греческих сортов [14–16] (рис. 2).

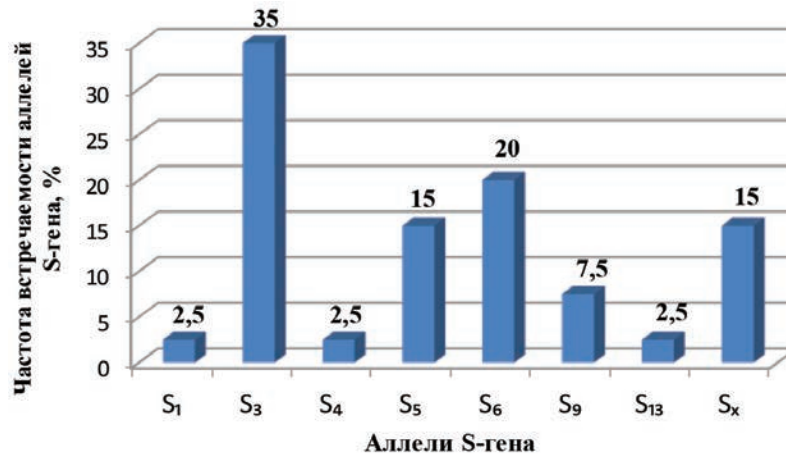


Рис. 2. Встречаемость аллелей S-гена у районированных сортов черешни

Анализ литературных источников показал, что в украинских сортах и формах черешни доминируют аллели в ряду  $S_9$  (21,5 %),  $S_5$  (17,7 %),  $S_3$  (15,2 %),  $S_6$  (13,9 %),  $S_1$  (11,4 %) и  $S_4$  (8,9 %) [17]. Аллель  $S_5$  встречался с низкой частотой (от 2,5 до 7,0 %) в итальянских, шведских, венгерских, греческих, турецких и хорватских сортах [8, 15, 16, 18–20]. Аллель  $S_5$  отсутствовал в бельгийской дикой черешне и испанских местных сортах черешни [21–23], но часто наблюдался у черешен из Латвии [18]. Эти результаты свидетельствуют о том, что сорта черешни из Восточной Европы характеризуются высокой частотой встречаемости аллеля  $S_5$ . Аллель  $S_9$  довольно редко встречается среди западноевропейских сортов черешни. Высокая частота аллелей  $S_5$  и  $S_9$  в украинских сортах черешни существенно отличает эти сорта от происходящих из других регионов Европы.

Для сортов Белица, Овстуженка, Северная, Гронковая, Медунца и Тютчевка аллельный состав определен частично, возможно эти сорта несут редкие, малораспространенные аллели, ДНК-маркеры для которых отсутствовали в использованных нами наборах. Необходим дополнительный анализ данных сортов по аллель-специфичным маркерам, чтобы установить второй аллель.

Однако для объективной оценки соответствия частот встречаемости анализируемых аллелей у сортов отечественной селекции и сортов зарубежного генофонда данной культуры необходимо выполнение ДНК-анализа значительно большей выборки генотипов. В настоящее время выполняется данная работа, по результатам которой будут определены комбинации аллелей гена самонесовместимости у остальных сортов черешни отечественной селекции и коллекционных зарубежных сортов.

Изученные сорта черешни, для которых установлен полный аллельный состав S-гена, были отнесены к восьми группам самонесовместимости (см. таблицу).

Наиболее многочисленной является VII группа (аллели  $S_3S_5$ ), включающая 5 сортов (Гасцинец, Красавица, Наслаждение, Регула, Соперница), а также группа VI (аллели  $S_3S_6$ ) – 3 сорта (Красная плотная, Народная, Сюзаровская) (см. таблицу, рис. 3). Выделены группы, представленные одним сортом: II (аллели  $S_1S_3$ ) – Мария, XVI (аллели  $S_3S_9$ ) – Витязь, XIX (аллели

## Распределение районированных сортов черешни по группам самонесовместимости на основе их S-генотипа

Сорт	Происхождение	S-генотип	ГСН*	Страна-оригинатор
Полный аллельный состав S-локуса				
Антарес	Аэлита св. оп.	S <sub>5</sub> S <sub>9</sub>	XXXVII	Беларусь
Витязь	Красная плотная × Валерий Чкалов	S <sub>3</sub> S <sub>9</sub>	XVI	Беларусь
Гасцинец	Красная плотная × Аэлита	S <sub>3</sub> S <sub>5</sub>	VII	Беларусь
Ипутъ	(Ленинградская черная × Победа) × сеянец Гоше черной	S <sub>3</sub> S <sub>13</sub>	XIX	Россия
Красавица	Красавица Огайо св. оп.	S <sub>3</sub> S <sub>5</sub>	VII	Беларусь
Красная плотная	Козловская св. оп.	S <sub>3</sub> S <sub>6</sub>	VI	Россия
Мария	Народная × Валерий Чкалов	S <sub>1</sub> S <sub>3</sub>	II	Беларусь
Минчанка	Красная плотная × Уголек	S <sub>6</sub> S <sub>9</sub>	X	Беларусь
Народная	Черешня Пашкевича × смесь пыльцы черешни	S <sub>3</sub> S <sub>6</sub>	VI	Беларусь
Наслаждение	Красная плотная × Уголек	S <sub>3</sub> S <sub>5</sub>	VII	Беларусь
Регула	Донецкая красавица св. оп.	S <sub>3</sub> S <sub>5</sub>	VII	Беларусь
Соперница	Красная плотная × (Валерий Чкалов + Уголек)	S <sub>3</sub> S <sub>5</sub>	VII	Беларусь
Сюбаровская	Северная × Победа	S <sub>3</sub> S <sub>6</sub>	VI	Беларусь
Таврическая	Не установлено	S <sub>4</sub> S <sub>6</sub>	XVII	Украина
Частичный аллельный состав S-локуса				
Беліца	Медуница × Ипутъ	S <sub>3</sub> S <sub>x</sub>	–	Беларусь
Овстуженка	Компактная Веняминова × Ленинградская черная	S <sub>3</sub> S <sub>x</sub>	–	Россия
Северная	Сеянец свободного опыления сортов черешни	S <sub>3</sub> S <sub>x</sub>	–	Беларусь
Гронковая	Северная × смесь пыльцы черешни	S <sub>6</sub> S <sub>x</sub>	–	Беларусь
Медуница	Народная × Ярославна	S <sub>6</sub> S <sub>x</sub>	–	Беларусь
Тютчевка	(Ленинградская черная × Победа) × Красная плотная	S <sub>6</sub> S <sub>x</sub>	–	Россия

\*ГСН – группа самонесовместимости.

S<sub>3</sub>S<sub>13</sub>) – Ипутъ, XVII (аллели S<sub>4</sub>S<sub>6</sub>) – Таврическая, XXXVII (аллели S<sub>5</sub>S<sub>9</sub>) – Антарес, X (аллели S<sub>6</sub>S<sub>9</sub>) – Минчанка.

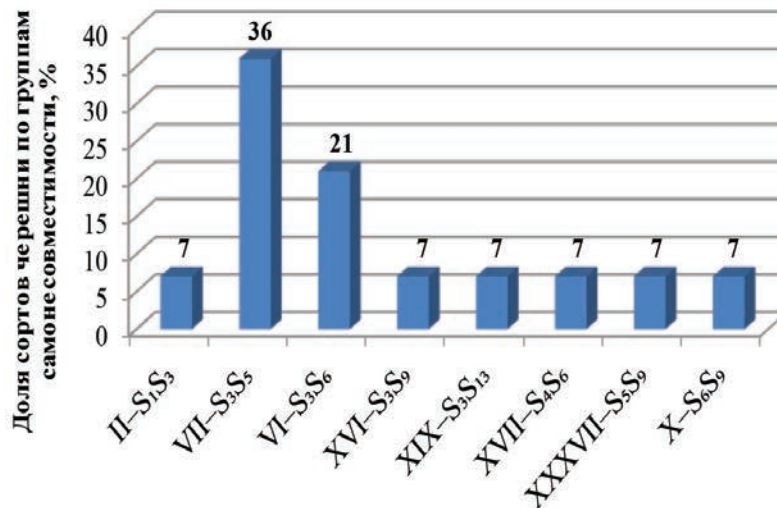


Рис. 3. Распределение районированных сортов черешни по группам самонесовместимости

Анализ районированного сортимента черешни по генетическому происхождению показал, что при их создании был использован небольшой набор родительских форм. Так, сорт Красная плотная привлекался в качестве исходной формы для создания 6 районированных сортов, Победа, Уголек, Валерий Чкалов, Ленинградская черная – 3 сортов. Для получения большего разнообразия S-аллелей в генотипах новых сортов следует привлекать исходные формы с высокой вариабельностью аллельного состава гена самонесовместимости. Это обуславливает необходимость выбора в качестве объектов исследования также и сортов зарубежной селекции,



имеющих принципиально другое генетическое происхождение, что может позволить повысить вероятность обнаружения новых S-аллелей и их комбинаций.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенной идентификации аллельного состава S-гена самонесовместимости у 20 районированных сортов черешни выявлено 7 аллелей из 33 известных. Наиболее распространенным аллелем является  $S_3$  (35 %), который выявлен у 14 сортов,  $S_6$  (20 %) и  $S_5$  (15 %), идентифицированные у 8 и 6 сортов соответственно. Сорта с полным аллельным составом отнесены к восьми группам самонесовместимости. Наиболее многочисленной является VII группа (аллели  $S_3S_5$ ), которая включает 5 сортов – Гасцинец, Красавица, Наслаждение, Регула, Соперница. Для выявления полного аллельного состава S-локуса сортов отечественной селекции (Беліца, Овстуженка, Северная, Гронковая, Медуница, Тютчевка), установления перекрестной совместимости и лучших опылителей необходимо дополнительное проведение ПЦР-анализа по другим S-аллелям.

Идентификация аллельных комбинаций S-гена позволит сформировать совместимые группы сортов, что обусловит эффективный выбор сортов-опылителей при закладке насаждений данной культуры, обеспечивающий максимальную реализацию потенциала плодоношения сорта, а также при формировании родительских пар при гибридизации для получения наибольшего количества гибридного потомства.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Малецкий, С. И. Гены самонесовместимости контролируют у цветковых растений перекрестное оплодотворение / С. И. Малецкий // Соросовский образовательный журнал. – 1996. – № 12. – С. 19.
2. Суриков, И. М. Несовместимость и эмбриональная стерильность растений / И. М. Суриков. – М. : Агропромиздат, 1991. – 220 с.
3. Tao, R. The S-RNase-based gametophytic self-incompatibility system in *Prunus* exhibits distinct genetic and molecular features / R. Tao, A. F. Iezzoni // Scientia Horticulturae. – 2010. – Vol. 124. – P. 423–433.
4. Schuster, M. Incompatible (S-) genotypes of sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.) / M. Schuster // Scientia Horticulturae. – 2012. – Vol. 148. – P. 59–73.
5. Sonneveld, T. Allele-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (S) alleles  $S_1$  to  $S_{16}$  using consensus and allele-specific primers // T. Sonneveld, K. R. Tobutt, T. P. Robbins // Theoretical and Applied Genetics. – 2003. – Vol. 107. – P. 1059–1070.
6. Cloning of six cherry self-incompatibility alleles and development of allele-specific PCR detection / T. Sonneveld, T. P. Robbins, R. Boskovic, K. R. Tobutt // Theoretical and Applied Genetics. – 2001. – Vol. 102. – P. 1046–1055.
7. Identification of new self-incompatibility alleles in sweet cherry (*Prunus avium* L.) and clarification of incompatibility groups by PCR and sequencing analysis / P. A. Wiersma, Z. Wu, L. Zhou [et al.] // Theoretical and Applied Genetics. – 2001. – Vol. 102. – P. 700–708.
8. S-RNase based S-genotyping of Croatian sweet cherry (*Prunus avium* L.) genotypes / S. Ercisli, M. Radunic, J. Gadze [et al.] // Scientia Horticulturae. – 2012. – Vol. 139. – P. 21–24.
9. Молекулярно-генетическая идентификация аллелей гена самонесовместимости черешни с использованием консенсусных праймеров / И. И. Супрун, С. В. Токмаков, И. В. Степанов, И. М. Балапанов // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2014. – № 2. – С. 22–24.
10. Супрун, И. И. Использование молекулярно-генетического анализа и фенотипической оценки для определения совместимости сортов черешни при опылении / И. И. Супрун, Е. М. Алёхина, С. В. Токмаков // Садоводство и виноградарство. – 2015. – № 6. – С. 35–39.
11. Супрун, И. И. Идентификация аллельного состава гена самонесовместимости у сортов черешни Республики Дагестан с использованием молекулярно-генетического анализа / И. И. Супрун, И. М. Балапанов, Ф.-Х. Г. Касумова // Вестник Российской сельскохозяйственной науки. – 2015. – № 2. – С. 33–35.
12. Безлепкина, Е. В. Аллельный полиморфизм гена самонесовместимости у сортов черешни селекции ВНИИСПК / Е. В. Безлепкина, А. А. Гуляева, А. В. Пикунова // Вестник Российской сельскохозяйственной науки. – 2020. – № 4. – С. 26–28.
13. Molecular typing of the self-incompatibility locus of Turkish sweet cherry genotypes reflects phylogenetic relationships among cherries and other *Prunus* species / B. Szikriszt, A. Doğan, S. Ercisli [et al.] // Tree Genetics & Genomes. – 2012. – Vol. 9, № 1. – P. 155–165.
14. Bošković, R. Genotyping cherry cultivars assigned to incompatibility groups, by analyzing stylar ribonucleases / R. Bošković, K. R. Tobutt // Theoretical and Applied Genetics. – 2001. – Vol. 103. – P. 475–485.

15. Morphological characteristics, microsatellite fingerprinting and determination of incompatibility genotypes of Sicilian sweet cherry cultivars / A. Marchese, K. R. Tobutt, A. Raimondo [et al.] // *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. – 2007. – Vol. 82. – P. 41–48.
16. Békefi, Z. Determination of incompatibility (S) genotypes of sweet cherries in the Hungarian gene-bank by a PCR-based method / Z. Békefi, S. P. Vaughan, K. R. Tobutt // *Acta Agronomica Hungarica*. – 2010. – Vol. 58. – P. 377–384.
17. Ідентифікація алелів самонесумісності в сортів черешні (*Prunus avium* L.) української селекції / Я. І. Іванович, Н. В. Тряпичина, К. М. Удовиченко, Р. А. Волков // *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. – 2017. – Т. 15, № 2. – С. 150–158.
18. Identification of self-incompatibility (S) alleles in Latvian and Swedish sweet cherry genetic resources collections by PCR based typing / G. Lacis, E. Kaufmane, I. Rashal [et al.] // *Euphytica*. – 2008. – Vol. 160. – P. 155–163.
19. Ganopoulos, I. V. Determination of self-incompatible genotypes in 21 cultivated sweet cherry cultivars in Greece and implications for orchard cultivation / I. V. Ganopoulos, A. Argiriou, A. S. Tsaftaris // *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. – 2010. – Vol. 85. – P. 444–448.
20. Determination of self-incompatibility groups of sweet cherry genotypes from Turkey / A. Ipek, H. Gulen, M. E. Akcay [et al.] // *Genetics and Molecular Research*. – 2011. – Vol. 10. – P. 253–260.
21. Cuyper, B. Determining self-incompatibility genotypes in Belgian wild cherries / B. de Cuyper, T. Sonneveld, K. R. Tobutt // *Molecular Ecology*. – 2005. – Vol. 14. – P. 945–955.
22. Determination of the S-allele composition of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars grown in the southeast of Spain by PCR analysis / A. D. Gisbert, M. L. Badenes, K. R. Tobutt [et al.] // *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. – 2008. – Vol. 83. – P. 246–252.
23. Cachi, A. M. S-genotyping of sweet cherry varieties from Spain and S-locus diversity in Europe / A. M. Cachi, A. Wunsch // *Euphytica*. – 2014. – Vol. 197. – P. 229–236.

#### APPLICATION OF MOLECULAR GENETIC ANALYSIS FOR IDENTIFICATION OF SELF-INCOMPATIBILITY ALLELES IN SWEET CHERRY CULTIVARS IN BELARUS

T. A. GASHENKO, I. G. POLUBYATKO, YU. G. KONDRATENOK, A. A. TARANOV

#### Abstract

The study of self-incompatibility in sweet cherry is a relevant scientific issue with significant practical importance, primarily due to the necessity of selecting optimal pollinizer cultivars and designing effective orchard planting schemes. Therefore, the main objective of this research was the molecular-genetic identification of self-incompatibility gene (S-gene) alleles in zoned sweet cherry cultivars. To achieve this, consensus primer pairs PaConsI and PaConsII, as well as allele-specific DNA markers, were used for additional confirmation. The S-gene allele composition was determined for 14 zoned sweet cherry cultivars, with seven alleles identified out of the 33 known. For the cultivars Belitsa, Ovstuzhenka, Severnaya, Gronkovaya, Medunitsa, and Tyutchevka, only partial allele composition was established, suggesting the presence of rare alleles. Allele frequencies were assessed, revealing that S3, S6, and S5 are the most common among the studied cultivars. Cultivars with fully identified S-gene alleles were grouped into self-incompatibility groups, resulting in eight distinct groups. The largest was Group VII (alleles S3S5), represented by five cultivars.

The data obtained on the S-gene allele composition and the grouping of cultivars by incompatibility types will be used in breeding programs and for planning commercial sweet cherry orchards.

**Keywords:** S-alleles, S-gene, consensus and allele-specific markers, self-incompatibility in sweet cherry, Belarus.

Поступила в редакцию 07.03.2025