



Определение аллельного состава гена *S-RNase* у образцов коллекции груши, поддерживаемой на Майкопской опытной станции ВИР

А. О. Гончаренко, Л. В. Багмет, М. Н. Петрова, О. Ю. Антонова

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Анастасия Олеговна Гончаренко, aogoncharenko97@gmail.com

Актуальность. Груша (*Pyrus* L.) – одна из важнейших плодовых культур, широко распространённых в мире. При этом в Европе и исторически с ней связанных странах (США, Австралия) выращиваются сорта одного одомашненного вида *Pyrus communis* L., а в азиатском регионе (Китай, Корея, Япония, Дальний Восток) культурные сорта создавались на базе отдельных ботанических видов, прежде всего *P. pyrifolia* (Burm.fil.) Nakai, *P. bretschneideri* Rehder., *P. ussuriensis* Maxim. и *P. × sinkiangensis* T.T. Yu. Одним из важнейших центров формирования сортифта груши европейской считают кавказский регион. Сосредоточение на Кавказе большого числа видов с перекрывающимися ареалами способствовало интенсивной межвидовой гибридизации и появлению полигибридных форм, которые могли использоваться в народной селекции. Коммерческое выращивание груши сталкивается с рядом трудностей, среди которых не последнее место занимает самонесовместимость сортов. Гаметофитная самонесовместимость у груши контролируется S-локусом, который включает в себя ген *S-RNase* и множество генов *SFBB*. Эти гены отличаются высоким уровнем полиморфизма, поэтому изучение S-локуса может быть применено не только для подбора опылителей в коммерческих садах груши, но и для молекулярного S-генотипирования. Целью данной работы была характеристика коллекции груши, поддерживаемой на Майкопской ОС – филиале ВИР, и прежде всего местных стародавних сортов кавказского и крымского происхождения, при помощи различных систем маркеров аллелей S-локуса. **Материалы и методы:** изучена выборка, состоящая из 194 образцов, включающая 182 сорта и четыре гибридные формы из коллекции Майкопской опытной станции – филиала ВИР, а также восьми образцов, собранных в рамках экспедиции ВИР по Северному Кавказу в 2022 году. Основными анализируемыми группами были сорта европейской селекции (49) и селекционных учреждений Кавказа (63), местные кавказские сорта (46) и группа крымских сортов (13). В работе были использованы консенсусные РусomC1/РусomC5 и аллель-специфичные праймеры, подобранные по данным из литературы. **Результаты:** при помощи обеих систем молекулярных маркеров нам удалось дифференцировать в выборке 25 различных аллелей S-локуса. Семь аллелей (S_{101} , S_{102} , S_{103} , S_{104-1} , S_{104-2} , S_{108} и S_{122}) присутствовали в выборке с частотой $\geq 10\%$, различия между частотами некоторых из них были статистически значимыми в группах местных кавказских, европейских и крымских сортов. Также данные группы различались по наличию редких и уникальных аллелей и по присутствию большого количества триплоидных форм. **Заключение:** в результате молекулярного скрининга значительной выборки образцов груши различного происхождения было установлено аллельное разнообразие S-локуса и выявлено своеобразие сортов народной селекции Кавказа и Крыма. Местные сорта с оригинальным профилем S-аллелей могут являться ценным материалом для селекции.

Ключевые слова: *Pyrus* L. sp., сорта народной селекции, S-локус, молекулярные маркеры, S-аллельный полиморфизм, самонесовместимость

Благодарности: Работа выполнена в рамках Государственных заданий согласно тематическому плану ВИР по темам №1021032424343-9-4.4.4 FGEM-2022-0008 и №1021032424911-4-4.1.1;4.4.4 FGEM-2022-0006

Для цитирования: Гончаренко А.О., Багмет Л.В., Петрова М.Н., Антонова О.Ю. Определение аллельного состава гена *S-RNase* у образцов коллекции груши, поддерживаемой на Майкопской опытной станции ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2025;8(3):19-31. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-02

Прозрачность финансовой деятельности: Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Гончаренко А.О., Багмет Л.В., Петрова М.Н., Антонова О.Ю., 2025

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-o2

Determination of the *S-RNase* gene allelic composition in pear accessions of the collection maintained at the Maikop Experiment Station of VIR

Anastasiia O. Goncharenko, Larisa V. Bagmet, Marina N. Petrova, Olga Yu. Antonova

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Anastasiia O. Goncharenko, aogoncharenko97@gmail.com

Background: Pear (*Pyrus* L.) is one of the most important fruit crops, widespread in the world. While in Europe and historically associated countries (USA, Australia), cultivars of one domesticated species *Pyrus communis* L. are grown, in the Asian region (China, Korea, Japan, Far East), cultivars were created based on individual botanical species, primarily *Pyrus pyrifolia* (Burm.fil.) Nakai, *P. bretschneideri* Rehder., *P. ussuriensis* Maxim., and *P. × sinkiangensis* T.T. Yu. The Caucasus region is considered as one of the most important centers for the formation of European pear cultivars. The concentration of a large number of species with overlapping ranges in the Caucasus promoted intensive interspecific hybridization and the emergence of polyhybrid forms that could be used in folk breeding. Commercial pear cultivation faces a number of difficulties, not the least of which is the self-incompatibility of cultivars. Gametophytic self-incompatibility in pear is controlled by the *S*-locus, which includes the *S-RNase* gene and multiple *SFBB* genes. These genes are highly polymorphic, so the study of the *S*-locus applies not only to the selection of pollinators in commercial pear orchards, but also to molecular *S*-genotyping. The aim of this work was to characterize the pear collection maintained at the VIR Maikop Experiment Station, and primarily landraces of Caucasian and Crimean origin, using various systems of *S*-locus allele markers. **Materials and methods:** we studied a subset of 194 accessions, including 182 cultivars and four hybrid forms from the collection of the Maikop Experiment Station of VIR, as well as eight accessions collected as part of the VIR expedition to the North Caucasus in 2022. The main analyzed groups were cultivars bred in Europe (49), those created by breeding institutions in the Caucasus (63), local Caucasian cultivars (46) and a group of Crimean cultivars (13). In the work, we used consensus PycomC1/PycomC5 and allele-specific primers selected from the literature data. **Results:** using both molecular marker systems, we were able to identify 25 *S*-alleles in the subset. Seven alleles (S_{101} , S_{102} , S_{103} , S_{104-1} , S_{104-2} , S_{108} and S_{122}) were present with a frequency of $\geq 10\%$, the differences between frequencies of some of them were statistically significant in groups of local Caucasian, European and Crimean cultivars. These groups also differed in the presence of rare and unique alleles and in the presence of a large number of triploid forms. **Conclusion:** molecular screening of a large subset of pear accessions has established the allelic diversity of the *S*-locus and the uniqueness of the folk cultivars from the Caucasus and Crimea. Local cultivars with the original *S*-allele profile can be valuable material for breeding.

Keywords: *Pyrus* L. sp., folk cultivars, *S*-locus, molecular markers, *S*-allelic polymorphism, self-incompatibility

Acknowledgements: The work was carried out within the framework of State assignments in accordance with the Thematic Plan of VIR on topics No. 1021032424343-9-4.4.4 FGEM-2022-0008 and No. 1021032424911-4-4.1.1;4.4.4 FGEM-2022-0006

For citation: Goncharenko A.O., Bagmet L.V., Petrova M.N., Antonova O.Yu. Determination of the *S-RNase* gene allelic composition in pear accessions of the collection maintained at the Maikop Experiment Station of VIR. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(3):19-31. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-o2

Financial transparency: The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Goncharenko A.O., Bagmet L.V., Petrova M.N., Antonova O.Yu., 2025

Введение

Груша (*Pyrus* L.) является одной из наиболее экономически важных плодовых культур с годовым мировым производством ~ 26,5 миллионов тонн (FAOSTAT, 2025). При этом в мире выращивают две группы груш: азиатские и европейские. Предполагается, что они были одомашнены независимо. В Восточной Азии, которая считается первичным центром формирования рода *Pyrus*, культурные сорта создавались на базе отдельных ботанических видов, прежде всего *Pyrus pyrifolia* (Burm.fil.) Nakai (груша грушелистная или японская), *P. bretschneideri* Rehder (груша Бретшнейдера или китайская белая груша), *P. ussuriensis* Maxim. (груша уссурийская) и *P. × sinkiangensis* T.T. Yu (груша Синьцзяна). Признаки этих видов прослеживаются и в полученных с их участием сортах (Tuz, 1983; Wu et al., 2018). Сорта груши европейской относятся к одному одомашненному виду *P. communis* L. (груша обыкновенная) (Bell, 1991), однако многие авторы считают, что этот вид имеет полигибридную природу. Основным видом, давшим начало *P. communis*, считается *P. pyraeaster* Burgsd., но в её формировании также принимали участие и другие виды: *P. elaeagnifolia* Pall., *P. nivalis* Jacq., *P. salicifolia* Pall., *P. syriaca* Boiss (Vavilov, 1931; Rubtsov, 1940; Tuz, 1983).

Одним из важнейших центров формирования сортикета груши европейской считают кавказский регион (Vavilov, 1931). На его территории культурная груша *P. communis* выращивается в непосредственной близости от диких видов груши, таких как, например, *P. caucasica* Fed. (груша кавказская), *P. elaeagnifolia* (груша лохолистная), *P. nivalis* (груша снежная), *P. pyraeaster*. Сосредоточение на Кавказе большого числа видов с перекрывающимися ареалами способствовало интенсивной межвидовой гибридизации и появлению полигибридных форм, которые могли использоваться в народной селекции (Tuz, 1983). При этом местные сорта в кавказском регионе раньше поддерживали путем прививок культурных форм в кроны дикорастущих деревьев.

На Майкопской опытной станции – филиале ВИР в настоящее время находится обширная коллекция, более 1000 образцов, в которой представлено 30 видов рода *Pyrus* из основных центров произрастания. Особый интерес представляет большое количество, около 120 образцов, сохраняемых староместных сортов народной селекции Кавказа и Крыма.

Промышленное выращивание груши сталкивается с рядом трудностей, таких как поражение грибными и бактериальными заболеваниями, неустойчивость к весенним заморозкам и к засухе, среди которых особо выделяется проблема самостерильности большинства сортов. Для получения стабильных урожаев в коммерческих садах используют особую систему размещения деревьев, где помимо основного сорта на участке высаживают сорта-опылители, которые являются донорами пыльцы для производственных деревьев. При подбо-

ре сортов-опылителей следует соблюдать определённые факторы, прежде всего сроки цветения и уборки. Идентификация S-аллелей у промышленных сортов и гибридных форм груши значительно облегчает процесс подбора опылителей, поэтому его изучению придается большое значение во всем мире (Claessen et al., 2019). Кроме того, мультиаллельность генов S-локуса может быть использована для генетической характеристики сортов в качестве дополнительных маркеров при молекулярном генотипировании, а также для выяснения происхождения сортов (Gharehaghaji et al., 2014; Suprun et al., 2014; Bennici et al., 2020).

Для груши, как и для других видов семейства Rosaceae, характерна самонесовместимость гаметофитного типа (GSI), которая определяется генотипом самой гаплоидной пыльцы, мужского гаметофита, на стадии пыльцевой трубки. Генетический контроль GSI у розоцветных в основном осуществляется S-локусом, кроме того, известен ряд генов-модификаторов (Wu et al., 2013). В наиболее простом варианте S-локус состоит из гена *S-RNase*, продукты которого работают в тканях пестика и катализируют деградацию РНК в прорастающей пыльцевой трубке, и гена *SFB*, экспрессирующегося в самой пыльцевой трубке. Продуктом последнего является белок SFB (от англ. S-specific F-box protein). При совпадении аллелей S-локуса в пестике (у спорофита) и в пыльцевом зерне (у гаметофита) рост пыльцевых трубок блокируется, соответственно, прорости могут только пыльцевые зерна с S-аллелями, отличающимися от двух S-аллелей в тканях пестика (Marchese et al., 2007).

В структуре гена *S-RNase* у рода *Pyrus* выделяют пять небольших консервативных областей (C1-C5) и одну гипервариабельную область (гипервариабельная область Rosaceae, RHV), которая содержит единственный высоко полиморфный по длине интрон. Все консервативные районы в генах *S-RNase* розоцветных показывают высокое сходство последовательностей с аналогичными районами у других культур, в частности, пасленовых. Исключение составляет район C4, который был переименован в «Консервативный район Rosaceae 4» (RC4) (Zisovich et al., 2004).

Характерной особенностью S-локуса у рода *Pyrus* является присутствие не одного гена *SFB*, а нескольких (18-20) таких генов, получивших название *SFBB* (*S-locus F-Box Brothers*). Впервые наличие множества генов *SFBB*, окружающих единственный ген *S-RNase*, было показано для груши японской (*P. pyrifolia*) с использованием секвенирования ВАС-клонов (Sassa et al., 2007). S-гаплотипы груши могут демонстрировать значительные различия в положении и ориентации генов *SFBB* относительно гена *S-RNase* (Okada et al., 2011). Более того, некоторые последовательности *SFBB* проявляют неполную связь с геном *S-RNase*, что позволяет предположить, что их положение выходит за пределы геномной области, которую можно строго определить как S-локус (De Franceschi et al., 2011a).

В настоящий момент считается, что каждый белок

SFBB специфически связывает один или несколько продуктов аллельных вариантов гена *S-RNase*, помечая их для деградации. Согласованное действие продуктов генов *SFBB* в пределах *S*-гаплотипа обеспечит возможность связывать все варианты РНКазы, кроме «своего»; только этот последний будет функционально активен и будет обеспечивать деградацию собственной пыльцы (Kubo et al., 2010). В соответствии с этой гипотезой, степень аллельного полиморфизма каждого отдельного гена *SFBB* намного ниже, чем у гена *S-RNase* (De Franceschi et al., 2011b; Aguiar et al., 2013); действительно, в некоторых случаях идентичные последовательности *SFBB* были обнаружены у разных *S*-гаплотипов (Minamikawa et al., 2010).

Полиморфизм в *S*-локусе у груши увеличивает присутствие многочисленных транспозоноподобных элементов, которые, как предполагается, дополнительно способствуют подавлению мейотической рекомбинации между генами *S-RNase* и *SFBB* (Okada et al., 2011).

В ранних исследованиях группы совместимости груши определяли путем контролируемых скрещиваний, после чего степень совместимости оценивалась на основе роста пыльцевой трубки или завязывания плодов, или комбинации того и другого (Lewis, Modlibowska, 1942; Jaumien, 1968). Эти методы как вспомогательные используются и сегодня, но основным способом генотипирования стали технологии молекулярно-генетического анализа. При этом создание систем молекулярного генотипирования груши предпочтительно осуществляется с использованием последовательностей гена *S-RNase*, что прежде всего объясняется его более высокой вариабельностью по сравнению с генами *SFBB* (De Franceschi et al., 2011b; Aguiar et al., 2013). Ген *S-RNase* имеет несколько основных характеристик, делающих его очень удобным для молекулярного *S*-генотипирования. Прежде всего, пять консервативных областей (C1-C3, RC4 и C5) и расположенная сразу за гипервариабельной областью RHV последовательность, кодирующая гексапептидную область «IIWPNV», могут быть использованы для разработки консенсусных праймеров, осуществляющих амплификацию большого количества полиморфных фрагментов. При этом основой детектируемого полиморфизма является расположенный в RHV интрон переменного размера. Кроме того, значительная вариация последовательности позволяет применять для анализа методы аллель-специфичной ПЦР и/или рестрикционного картирования.

Для определения аллельного состава *S*-локуса у *P. communis* изначально были созданы консенсусные вырожденные праймеры МРyC1F и МРyC5R (Sanzol et al., 2006), специфичные для консервативных областей C1 и C5, то есть позволявшие амплифицировать почти всю последовательность гена. Маркеры генерировали стабильные ПЦР-продукты для аллелей S_1 , S_3 , S_4 и S_5 , которые в дальнейшем были клонированы и частично секвенированы. Позднее была разработана новая пара консенсусных праймеров PycomC1/PycomC5 (Sanzol, Robbins, 2008),

которая способна генерировать не менее 14 различных ПЦР-продуктов. Однако при использовании этих праймеров один и тот же ПЦР-фрагмент может соответствовать нескольким аллелям (Sanzol, Robbins, 2008). Поэтому по результатам секвенирования и выравнивания последовательностей, полученных для разных генотипов, было разработано большое количество аллель-специфичных праймеров (Sanzol, Robbins, 2008; Sanzol, 2009a; Gharehaghaji et al., 2014).

Японскими исследователями (Takasaki et al., 2006; Moriya et al., 2007) была создана оригинальная система CAPS-маркеров (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences), позволяющая дифференцировать у европейской груши 17 аллелей. Этот подход сочетает консенсусную ПЦР с использованием праймеров на основе консервативной области C1 и гексапептидной области «IIWPNV» и рестрикцию амплифицированных продуктов.

Полученные системы молекулярного маркирования широко используются для анализа полиморфизма аллелей гена *S-RNase* *S*-локуса у сортов груши европейской (Zuccherelli et al., 2002; Sanzol, Herrero, 2002; Zisovich et al., 2004; Takasaki et al., 2006; Sanzol et al., 2006; Moriya et al., 2007; Sanzol, Robbins, 2008; Goldway et al., 2009; Sanzol, 2009a; 2009b; Suprun et al., 2014). Однако, в связи с большим количеством таких работ, не было разработано единой системы обозначения *S*-аллелей. Изначально аллельные последовательности гена *S-RNase* были обозначены в соответствии с буквенной номенклатурой – S_a - S_d и S_h - S_p (Zuccherelli et al., 2002; Zisovich et al., 2004). Параллельно с этим другая группа исследователей использовала для обозначения цифровую номенклатуру (Sanzol, Herrero, 2002; Sanzol, Robbins, 2008; Sanzol, 2009a), и, в результате, большинство аллелей гена *S-RNase* у груши европейской имели более одного обозначения. Позднее путем выравнивания и сопоставления последовательностей аллелей из буквенной и цифровой номенклатуры для сортов груши европейской была предложена единая система, в которой номера аллелей начинаются с S_{101} (Goldway et al., 2009).

В настоящее время за счет различий в вариабельном районе гена *S-RNase* у груши европейской описано не менее 29 *S*-аллелей (Sanzol et al., 2006; Sanzol, 2009a; Goldway et al., 2009; Gharehaghaji et al., 2014; Bennici et al., 2020). Среди них по меньшей мере одна аллель – S_{121}^0 , характеризующаяся вставкой транспозона в область интрона, ассоциирована с самофертильностью и может быть использована в селекционных программах (Sanzol, 2009b). Насколько нам известно, до сих пор нет маркеров для идентификации только трех аллелей – S_{118}^* , S_{119}^* , S_{120}^* .

Целью данной работы была характеристика коллекции груши, поддерживаемой на Майкопской ОС – филиале ВИР, и прежде всего местных стародавних сортов кавказского и крымского происхождения, при помощи различных систем маркеров аллелей *S*-локуса.

Материалы и методы

Материалом для скрининга послужили 186 образцов груши из коллекции Майкопской ОС – филиала ВИР, в том числе 182 сорта и четыре гибридных образца. Дополнительно были изучены восемь образцов груши, собранных в рамках экспедиции ВИР по Северному Кавказу. Все отобранные для анализа образцы принадлежали к видам *Pyrus communis* и *P. caucasica*.

Полный список 194 образцов приведен в Приложении/Supplement¹. Основу составили 109 кавказских сортов, из них 46 сортов народной селекции и 63 сорта, созданных в селекционных учреждениях Кавказа. Другая крупная подвыборка состояла из 49 сортов европейской селекции. Кроме того, в процессе анализа была выделена группа крымских сортов, представленная 13 образцами.

Экстракцию ДНК проводили из молодых листьев или почек побегов индивидуальных растений при помощи модифицированного СТАВ-метода (Antonova et al., 2020). В случае наличия полифенольных загрязнений растертые растительные ткани предварительно обрабатывали буфером на основе сорбитола (Inglis et al., 2018).

Молекулярный скрининг. Праймеры для работы были подобраны по опубликованным источникам информации. Мы использовали одну пару консенсусных праймеров PycomC1/PycomC5 (F: ATTTTCAATTTACGCGCAATATCA GC/ R: CTGCAAAGWSHGACCTCAACCAATTC) и аллель-специфичные праймеры для диагностики 26 различных аллелей гена *S-RNase* (табл. 1).

В случае консенсусных праймеров ПЦР осуществляли в 20 мкл реакционной смеси состава: 40 нг геномной ДНК, 1× реакционный буфер (Биолабмикс,

Кат. № SP020), 2,5 mM MgCl₂, 0,4 mM каждого из dNTP's, по 0,1 мкМ прямого и обратного праймеров, 1 U Taq-полимеразы (Биолабмикс, Россия).

Аллель-специфичную ПЦР проводили в тех же условиях, однако для разных праймеров варьировали концентрацию хлорида магния в реакционной смеси: в большинстве случаев она составляла 2,0 mM MgCl₂, но для пар праймеров MPyC1F/PycomS2R, PycomC1F/PycomS6R, PycomS7F/PycomS7R, MPyC1F/PycomS10R и PycomC1F/PycomS14R использовали 2,5 mM MgCl₂. Программы ПЦР во всех случаях соответствовали указанным в литературе (см. табл. 1).

Рестрикцию ПЦР-продуктов проводили в течение ночи по протоколу фирмы-изготовителя (СибЭнзим, Россия). Вместо эндонуклеазы рестрикции Avr II был использован её изоизомер AspA2 I.

После рестрикции полученные фрагменты разделяли путем электрофореза в 2% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, в буфере 1×TBE при напряжении в камере 5 В/см. Был использован маркер молекулярного веса ДНК Step 100 Long (Биолабмикс, Россия). Для визуализации использовали систему Gel-Doc XR, (Bio-Rad, США). Электрофорез ПЦР-продуктов, амплифицированных с использованием консенсусных праймеров, проводили в течение 8-10 часов, что позволило обеспечить четкую идентификацию фрагментов.

Статистические методы. Для сопоставления частоты встречаемости маркеров использовали точный тест Фишера (Fisher, 1922).

Для оценки уровня полиморфизма применяли индекс PIC (Polymorphic Index Content), вычисляя значение по формуле $PIC = 1 - \sum(p_i^2)$, где p_i – частота i аллели, выявленной в данной выборке (Nei, 1973).

Таблица 1. Идентификация S-аллелей при помощи консенсусных и аллель-специфичных праймеров

Table 1. Identification of S-alleles using consensus and allele-specific primers

№	Аллель/ Allele	Размер (пн) ПЦР-фрагментов с праймерами PycomC1F/ PycomC5R / Size (bp) of PCR fragments with primers PycomC1F/ PycomC5R	Аллель-специфичные праймеры F/R / Allele- specific primers F/R	Размер (пн) ПЦР фрагментов с аллель- специфичными праймерами / Size (bp) of PCR fragments with allele- specific primers	Авторы аллель- специфичных праймеров / Authors of allele-specific primers
1	S_{101}	1300	MPyC1F/PycomS2R	1103	Sanzol et al., 2006
2	S_{102}	1700	MPyC1F/PycomS2R	1519	Sanzol et al., 2006
3	S_{103}	1600	B39S3F1/B40S3R1	430	Sanzol, 2009a
4	S_{104-1}	750	A96S4F/A95S4R	991 (нет рестрикции AvrII)	Sanzol, 2010
5	S_{104-2}	750	A96S4F/A95S4R	831+160 (рестрикция AvrII)	Sanzol, 2010
6	S_{105}	650	PycomC1F/PycomS5R	438	Sanzol, Robbins, 2008

¹ Приложение доступно в онлайн версии статьи/ The supplement is available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-02

Таблица 1. продолжение

№	Аллель/ Allele	Размер (пн) ПЦР- фрагментов с праймерами PycomC1F/ PycomC5R / Size (bp) of PCR fragments with primers PycomC1F/ ycomC5R	Аллель-специфичные праймеры F/R / Allele- specific primers F/R	Размер (пн) ПЦР фрагментов с аллель- специфичными праймерами / Size (bp) of PCR fragments with allele- specific primers	Авторы аллель- специфичных праймеров / Authors of allele-specific primers
7	S_{106}	675	PycomC1F/PycomS6R	462	Sanzol, Robbins, 2008
8	S_{107}	650	PycomS7F/PycomS7R	443	Sanzol, Robbins, 2008
9	S_{108}	675	PycomS8F/PycomS8R	613	Sanzol, Robbins, 2008
10	S_{109}	650	PycomC1F/PycomS9R	546	Sanzol, Robbins, 2008
11	S_{110}	2200	MPyC1F/PycomS10R	1985	Sanzol, Robbins, 2008
12	S_{111}	675	PycomC1F/PycomS11R	560	Sanzol, Robbins, 2008
13	S_{112}	1600	MPyC1F/PycomS12R	1177	Sanzol, Robbins, 2008
14	S_{113}	1950	MPyC1F/PycomS13R	–	Sanzol, Robbins, 2008
15	S_{114}	650	PycomC1F/PycomS14R	297	Sanzol, Robbins, 2008
16	S_{115}	650	A83SmF1/B37SmR2	380	Sanzol, 2009a
17	S_{116}	675	PcS16F/PcS16R	430	Gharehaghaji et al., 2014
18	S_{117}	1600	PpS9f/PpS9r	400	Gharehaghaji et al., 2014
19	S_{118}	1600	–	–	Sanzol, 2009a
20	S_{119}	650	–	–	Sanzol, 2009a
21	S_{120}	800	–	–	Sanzol, 2009a
22	S_{121}	650	C15ProF1/C18S21R	673	Sanzol, 2009b
23	S_{121}^o	–	C15ProF1/C18S21R	673	Sanzol, 2009b
24	S_{122}	675	A84S22F1/A89S22R1	418	Sanzol, 2009a
25	S_{123}	650	A88S23F1/B38S23R2	523	Sanzol, 2009a
26	S_{124}	650	A85S24F1/A86S24F2	489	Sanzol, 2009a
27	S_{125}	–	PycomC1F/PcS25R	–	Gharehaghaji et al., 2014
28	S_{126}	675	PcS26f/PcS26r	100	Bennici et al., 2020
29	S_{127}	850	PcS27f/PcS27r	277	Bennici et al., 2020

Результаты и обсуждение

В работе была проведена оценка полиморфизма S-локуса у 194 образцов груши из коллекции МОС ВИР. Поскольку используемые нами праймеры были разработаны для *Pyrus communis*, то выборка для анализа включала образцы этого вида и родственного вида *P. caucasica*. Большую часть выборки (117 образцов или 60,3%) составляли сорта кавказской селекции, в том числе семь образцов *P. caucasica*, и один образец *P. communis*, собранные в ходе экспедиции по Северному Кавказу в 2022 году.

Молекулярный скрининг на первом этапе осуществляли с использованием консенсусных праймеров PycomC1/PycomC5 (Sanzol, Robbins, 2008), которые генерируют для разных аллелей фрагменты разных размеров. Дальнейшую идентификацию аллелей проводили при помощи аллель-специфичных праймеров (см. табл. 1). Результаты

изучения для каждого образца представлены в Приложении/ Supplement.

При анализе 194 образцов груши всего было выявлено 13 амплифицированных фрагментов с различной подвижностью (рис. 1). Однако из литературы известно, что консенсусные праймеры могут давать ампликоны одинаковой подвижности для разных S-аллелей. Например, ПЦР-продукту размером 675 пн в случае праймеров PycomC1/PycomC5 соответствуют аллели: S_{106} , S_{108} , S_{111} , S_{116} , S_{122} , S_{126} (Sanzol, Robbins, 2008). Другой проблемой работы с консенсусными праймерами является их неспособность генерировать фрагменты для аллелей S_{121}^o и S_{125} . Поэтому идентификация аллелей была проведена комплексно с использованием обеих маркерных систем – консенсусной и аллель-специфичной (рис. 2). Такой подход позволил выявить в выборке 25 аллелей, а именно: S_{101} , S_{102} , S_{103} , S_{104-1} , S_{104-2} , S_{105} , S_{106} , S_{107} , S_{108} , S_{109} , S_{110} , S_{111} , S_{113} , S_{114} , S_{115} , S_{116} , S_{120} , S_{121} , S_{121}^o , S_{122} , S_{123} , S_{124} , S_{126} , S_{127} (см. Приложение/ see the Supplement).

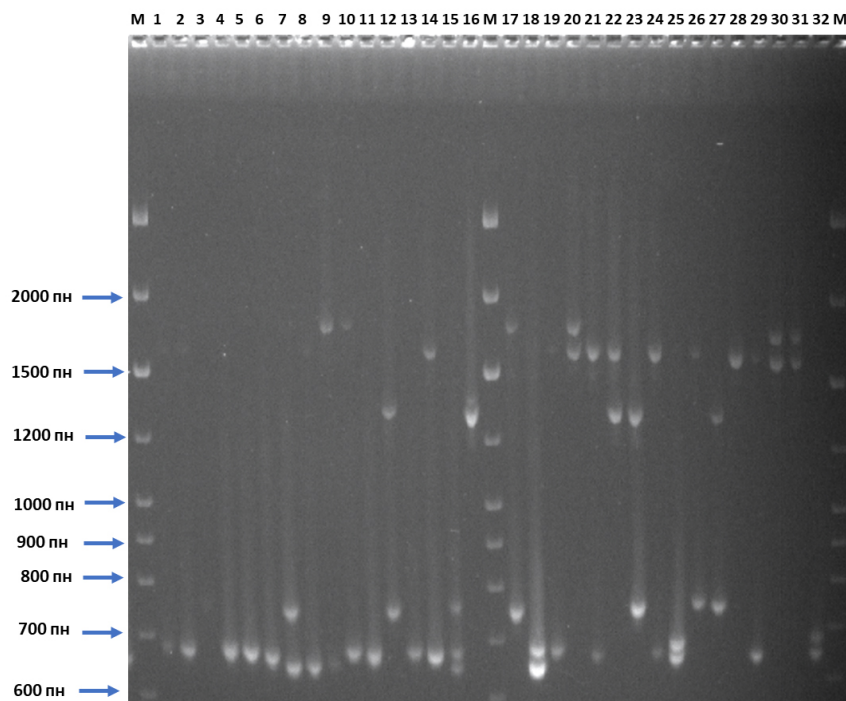


Рис. 1. Полиморфные ПЦР-продукты, полученные с использованием консенсусных праймеров PycomC1/PycomC5

- 1) 'Азад' (к-31305); 2) 'Горянка' (к-25842); 3) 'Августовская' (к-31760); 4) 'Кара Конжал' (к-2838); 5) 'Trompetenbirne' (к-3181); 6) 'Суринги' (к-3164); 7) 'Дуля Сладкая' (к-2790); 8) 'Busuioare' (к-13995); 9) 'Мальвина' (к-35495); 10) 'Машук' (к-17288); 11) 'Гизель' (к-20475); 12) Мер Джихар (к-24903); 13) 'Память Мичурина' (к-12113); 14) 'Деканка Красная' (к-35484); 15) Дзмернук (к-2771); 16) 'Гарджин Джахар' (к-24895); 17) 'Fondante de Noel' (к-3169); 18) Аббас Беги Поздняя (к-24888); 19) 'Тривинель' (к-24143); 20) 'Колобок' (к-31770); 21) 'Мехал Батона' (к-9544); 22) 'Комета' (к-32301); 23) 'Орбита' (к-27794); 24) 'Веснянка' (к-25840); 25) 'Ацыгалали' (к-24892); 26) 'Лимон Армуд' (к-9380); 27) 'Елена' (к-12114); 28) 'Saint Germain Blanc' (к-3126); 29) 'Noyabrskaya' (Moldavia) (к-31337); 30) Граф Мольтке (к-9343); 31) 'Арабеска' (к-32286); 32) 'Черинар' (к-24911); M – маркер молекулярного веса ДНК

Fig. 1. Polymorphic PCR-products obtained using consensus primers PycomC1/PycomC5

- 1) 'Azad' (k-31305); 2) 'Goryanka' (k-25842); 3) 'Vineuse d' Aout' (k-31760); 4) 'Kara Konzhal' (k-2838); 5) 'Trompetenbirne' (k-3181); 6) 'Suringi' (k-3164); 7) 'Dulya Sladkaya' (k-2790); 8) 'Busuioare' (k-13995); 9) 'Malvina' (k-35495); 10) 'Mashuk' (k-17288); 11) 'Gizel' (k-20475); 12) Mer Dzhikhar (k-24903); 13) 'Pamyat Michurina' (k-12113); 14) 'Dekanka Krasnaya' (k-35484); 15) Dzmernuk (k-2771); 16) 'Gardzhin Dzhakhar' (k-24895); 17) 'Fondante de Noel' (k-3169); 18) Abbas Begi Pozdnyaya (k-24888); 19) 'Trivinel' (k-24143); 20) 'Kolobok' (k-31770); 21) 'Mskhal Batona' (k-9544); 22) 'Kometa' (k-32301); 23) 'Orbita' (k-27794); 24) 'Vesnyanka' (k-25840); 25) 'Atsygalali' (k-24892); 26) 'Limon Armud' (k-9380); 27) 'Elena' (k-12114); 28) 'Saint Germain Blanc' (k-3126); 29) 'Noyabrskaya' (Moldavia) (k-31337); 30) Greve A.V. Moltke (k-9343); 31) 'Arabeska' (k-32286); 32) 'Cherinar' (k-24911); M –molecular weight DNA marker

К сожалению, мы не смогли дифференцировать аллели у ряда образцов с ПЦР-продуктами PycomC1/C5 размерами 650 пн и 1600 пн. Фрагмент с размером 1600 пн может соответствовать аллелям S_{103} , S_{112} , S_{117} , S_{118} , из которых получилось определить только одну аллель S_{103} . Для праймеров, специфичных для последовательностей аллелей S_{112} и S_{117} , мы не смогли подобрать условия ПЦР, а для определения аллели S_{118} специфичные праймеры не разработаны. Аналогично, ПЦР-продукт размером 650 пн соответствует нескольким аллельным вариантам (см. табл. 1), из которых нам не удалось идентифицировать аллель S_{119} из-за отсутствия аллель-специфичных праймеров.

Благодаря длительному электрофорезу в гелях нам удалось добиться хорошего разделения продуктов амплификации с использованием консенсусных праймеров и, при этом, выделить новые, не описанные в литературе, фрагменты, имеющие размеры ~1200 пн, ~1250 пн и ~1650 пн. Фрагмент размером ~1250 пн встречался у пяти образцов различного происхождения. Фрагменты размерами ~1200 пн и ~1650 пн оказались уникальны для сортов 'Pulteney' (США) и 'Дружба' (Майкоп) соответственно.

Также к потенциально новым S-аллелям можно отнести продукты амплификации с использованием консенсусных праймеров PycomC1/C5 размером 675 пн, кото-

рые не удалось дифференцировать с использованием всех аллель-специфичных праймеров, несмотря на то, что мы успешно применили праймеры для амплификации аллелей S_{106} , S_{108} , S_{111} , S_{116} , S_{122} , S_{126} . Характерно, что подавляющее большинство сортов с такими потенциально новыми аллелями (5 из 6) имели кавказское происхождение.

Как и следовало ожидать, S-локус у изученных образцов выборки отличался очень высоким уровнем полиморфизма аллелей – значение индекса PIC для всей выборки составило 0,934, а в подвыборках местных кавказских и крымских сортов – 0,996 и 0,999 соответственно.

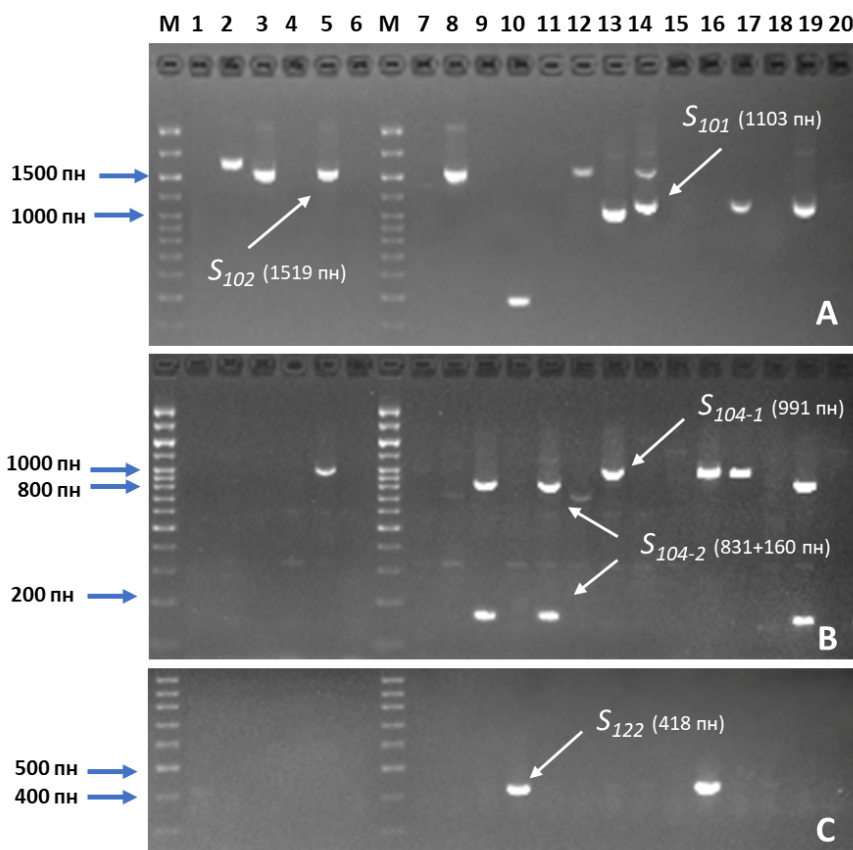


Рис. 2. ПЦР со специфичными праймерами для идентификации аллелей S_{101} и S_{102} (A), S_{104-1} и S_{104-2} (B), S_{122} (C)

1) Аббас Беги Поздняя (к-24888); 2) 'Нана Армуд' (к-3026); 3) 'Madame Verte' (к-2957); 4) 'Nouveau Poiteau' (к-3035); 5) 'Незабудка' (к-40336); 6) 'Noyabrskaya' (Moldavia) (к-31337); 7) 'Arbuzka' (к-2539); 8) 'Поддулька 325' (к-13071); 9) 'Паник' (к-12116); 10) 'Поддулька 504' (к-3070); 11) 'Romanische Smalzbirne' (к-3052); 12) 'Поддулька Сладкая' (к-3072); 13) 'Pulteney' (к-3059); 14) 'Progress' (к-31342); 15) 'Бурновка' (к-2685); 16) 'Ранняя Восковая' (к-9423); 17) 'Габар Закар' (к-2716); 18) 'Rannyaya Kaveka' (к-3092); 19) 'Pitmaston' (к-3067); 20) 'Cyprus' (к-2846); М – маркер молекулярного веса

Fig. 2. PCR with specific primers for identifying alleles S_{101} and S_{102} (A), S_{104-1} and S_{104-2} (B), S_{122} (C)

1) 'Abbas Begi Pozdnyaya' (k-24888); 2) 'Nana Armud' (k-3026); 3) 'Madame Verte' (k-2957); 4) 'Nouveau Poiteau' (k-3035); 5) 'Nezabudka' (k-40336); 6) 'Noyabrskaya' (Moldavia) (k-31337); 7) 'Arbuzka' (k-2539); 8) 'Poddulka 325' (k-13071); 9) 'Panik' (k-12116); 10) 'Poddulka 504' (k-3070); 11) 'Romanische Smalzbirne' (k-3052); 12) 'Poddulka Sladkaya' (k-3072); 13) 'Pulteney' (k-3059); 14) 'Progress' (k-31342); 15) 'Burnovka' (k-2685); 16) 'Rannyaya Voskovaya' (k-9423); 17) 'Gabar Zakar' (k-2716); 18) 'Rannyaya Kaveka' (k-3092); 19) 'Pitmaston' (k-3067); 20) 'Cyprus' (k-2846); M – molecular weight DNA marker

Только семь из выявленных 25 аллелей встречались в выборке с частотой более 10% (рис. 3). Наиболее распространенной из них оказалась аллель S_{101} (выявлена у 28,79% образцов), второй по частоте была аллель S_{103} (21,21%). Наши данные совпадали с описанными в лите-

ратуре – обе эти аллели были характерны для европейских сортов груши (Sanzol, 2009a; Bennici et al., 2020). Ещё одна аллель S_{102} у сортов экспериментальной выборки присутствовала в 15,2% случаев, однако она не была выявлена ни у местных кавказских, ни у крымских

сортов (рис. 4). При этом ее имели 22,5% (см. рис. 4) европейских сортов и 25,4% (16 из 63 изученных) сортов, созданных в селекционных учреждениях Кавказа (см. Приложение/ see the Supplement). Последние, таким образом, оказались ближе к европейским, чем к сортам народной селекции.

Мы сопоставили представленность наиболее распространенных ($\geq 10\%$) аллелей в трех основных подгруппах сортов (европейские, местные кавказские и крымские сорта). Было показано, что местные кавказские сорта достоверно отличаются от европейских по частоте встречаемости трех из семи таких аллелей: S_{101} ($P=0,002$), S_{104-1} ($P=0,01$) и S_{122} ($P=0,002$), кроме того, у них полностью отсутствует аллель S_{102} . Значительный контраст наблюдали и при сопоставлении подвыборок европейских и крымских сортов – частоты встречаемости аллели S_{120} достоверно различались ($P=0,005$), и полностью отсут-

ствовали распространенные в выборке аллели S_{102} и S_{103} (см. рис. 4). Образцы, собранные в рамках экспедиции ВИР по Северному Кавказу в 2022 году, также демонстрировали полное отсутствие аллелей S_{102} и S_{103} , то есть оказались близки к кавказским сортам народной селекции (см. Приложение/ see the Supplement).

Почти половина выявленных аллелей (14) относилась к редким, присутствующим менее чем у 5% образцов, а аллели РусомС1/С5-1650 и РусомС1/С5-1200 оказались уникальными. По частоте встречаемости редких аллелей три сопоставляемые подгруппы также отличались друг от друга (табл. 2). Например, кавказские сорта народной селекции не имели аллелей S_{110} и S_{116} , и наоборот, только в этой подгруппе присутствовали связанная с самофертильностью аллель S_{121} и аллель S_{109} (см. табл. 2). Эти же особенности (за исключением наличия аллели S_{121}) имели и образцы, собранные в черкесских лесосадах.

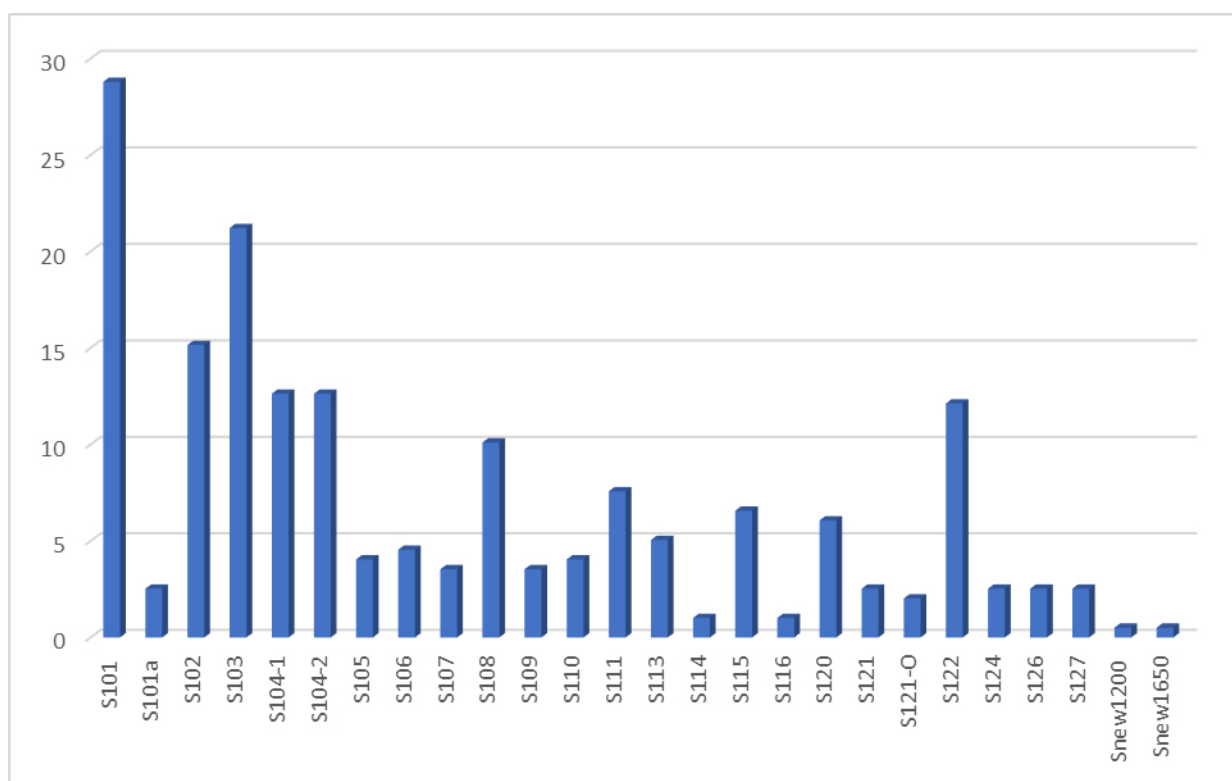


Рис. 3. Частота встречаемости аллелей в изученной выборке.

Fig. 3. Frequency of alleles in the studied subset.

Система GSI, контролируемая S-локусом, должна препятствовать опылению растения собственной пыльцой и, соответственно, поддерживать гетерозиготный статус организма. Поэтому ожидаемым результатом было наличие у генотипов выборки двух разных аллелей S-локуса (состояние дуплекса). Действительно, подавляющее большинство изученных генотипов имели этот статус. Однако нами были выявлены 12 сортов в состоянии

симплекса, то есть генерирующие в реакции с консенсусными праймерами только один ПЦР-продукт (см. Приложение/ see the Supplement). Возможным объяснением может служить гомозиготность этих сортов. Однако гомозиготные генотипы могут образоваться только при опылении собственной пыльцой, то есть при наличии у них мутаций самофертильности. При этом ни у одного такого образца не было выявлено аллели S_{121} , которая отли-

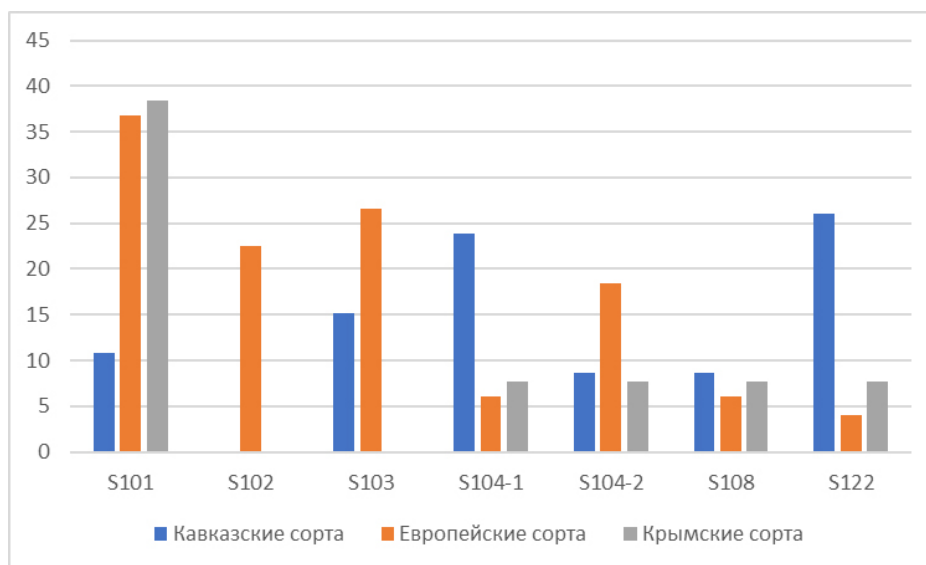


Рис. 4. Частота встречаемости семи аллелей, наиболее распространенных в выборке у европейских, местных кавказских и крымских сортов

Fig. 4. Frequency of occurrence of the seven most common alleles in the subset in European, Caucasian and Crimean cultivars

чается вставкой транспозона в области интрона и может приводить к самофертильности – у симплексов присутствовали аллели S_{101} , S_{101a} , S_{104-2} , S_{113} и S_{120} . Нельзя исключить, что в последовательностях этих аллелей произошли мутации, приводящие к самоплодности, которые мы не смогли идентифицировать при помощи использованных праймеров. Например, у черешни известна делеция в гене *SFB* размером 4 пн, произошедшая путем искусственного мутагенеза у линии John Innes 2420 с исходной аллелью $S4$. Мутантная аллель обозначается как $S4'$, она может быть идентифицирована путем электрофореза в ПААГ или же при использовании dCAPS-маркеров (от англ. derived Cleaved Amplified Polymorphic Sequences), а при анализе с консенсусными праймерами неотличима от интактной аллели $S4$ (Ikeda et al., 2004). Однако более логичным объяснением является наличие у геноти-

пов-симплексов неизвестных аллелей, которые не амплифицируются в реакции с консенсусными праймерами (аналогично аллелям S_{125} и S_{121}).

Еще 13 образцов выборки по результатам *S*-генотипирования демонстрировали триплоидную природу (см. Приложение/ see the Supplement). Большинство из них (11) относились к местным кавказским образцам, включая два экспедиционных, и к крымским сортам. Действительно, в описании приемов, свойственных народной селекции, приводится отбор наиболее гетерозисных форм и поддержание их путем прививок в кроны дикорастущих деревьев (Tuz, 1983). Такие гетерозисные формы вполне могли быть полиплоидными, в том числе межвидовыми гибридами, образовавшимися в местах совместного произрастания разных видов груши.

Группа/ Group	Доля (%) сортов с аллелью/ Percentage of cultivars with the allele												
	S_{101a}	S_{105}	S_{106}	S_{107}	S_{109}	S_{110}	S_{114}	S_{116}	S_{121}	S_{121}^o	S_{124}	S_{126}	S_{127}
Европейские сорта/ European cultivars (N=49)	6,1	8,2	4,1	6,1	0	6,1	2,0	2,0	0	0	0	2,04	0
Местные кавказские сорта/ Local Caucasian cultivars (N=46)	2,2	2,2	6,5	8,7	2,1	0	2,2	0	4,4	4,4	6,5	4,4	2,4
Крымские сорта/ Crimean cultivars (N=13)	0	0	7,7	0	0	0	0	0	7,7	0	0	15,4	15,4

Таблица 2. Частота встречаемости редких *S*-аллелей – частота встречаемости $\leq 5\%$ – в трех основных подгруппах изученных сортов

Table 2. Frequency of occurrence of rare *S*-alleles – frequency of occurrence at $\leq 5\%$ – in the three main subgroups of the studied cultivars

Заключение

Таким образом, у обширной выборки образцов груши из коллекции МОС ВИР (186) и дополнительно у восьми экспедиционных образцов был определен аллельный состав гена *S-RNase* в *S*-локусе, контролирующем самонесовместимость. Анализ проводили комплексно, с использованием как консенсусных, так и аллель-специфичных праймеров. На основании различий по частоте встречаемости аллелей, обнаружения новых, ранее не описанных в литературе ПЦР-продуктов, выявления уникальных аллелей и большого количества триплоидных форм можно сделать вывод о своеобразии сортов народной селекции Кавказа и Крыма по сравнению с сортами европейской селекции. Староместные сорта, поддерживаемые в коллекции груши на МОС ВИР, могут служить уникальным материалом для селекции и для изучения истории доместикации груши.

References/Литература

- Aguiar B., Vieira J., Cunha A.E., Fonseca N.A., Reboiro-Jato D., Reboiro-Jato M., Fdez-Riverola F., Raspé O., Vieira C.P. Patterns of evolution at the gametophytic self-incompatibility *Sorbus aucuparia* (Pyrinae) *S* pollen genes support the non-self recognition by multiple factors model. *Journal of Experimental Botany*. 2013;64(8):2423-2434. DOI: 10.1093/jxb/ert098
- Antonova O.Yu., Klimenko N.S., Rybakov D.A., Fomina N.A., Zheltova V.V., Novikova L.Yu., Gavrilenko T.A. SSR analysis of modern Russian potato varieties using DNA samples of nomenclatural standards. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(4):77-96. [in Russian] (Антонова О.Ю., Клименко Н.С., Рыбаков Д.А., Фомина Н.А., Желтова В.В., Новикова Л.Ю., Гавриленко Т.А. SSR-анализ современных российских сортов картофеля с использованием ДНК номенклатурных стандартов. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(4):77-96). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-4-o2
- Bell R.L. Pears (*Pyrus*). *Acta Horticulturae*. 1991;290:657-697. DOI: 10.17660/ActaHortic.1991.290.15
- Bennici S., Di Guardo M., Distefano G., Las Casas G., Ferlito F., De Franceschi P., Dondini L., Gentile A., La Malfa S. Deciphering *S-RNase* Allele Patterns in Cultivated and Wild Accessions of Italian Pear Germplasm. *Forests*. 2020;11(11):1228. DOI: 10.3390/f11111228
- Claessen H., Keulemans W., Van de Poel B., De Storme N. Finding a compatible partner: self-incompatibility in European pear (*Pyrus communis*); molecular control, genetic determination, and impact on fertilization and fruit set. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:407. DOI: 10.3389/fpls.2019.00407
- De Franceschi P., Pierantoni L., Dondini L., Grandi M., Sanzoli J., Sansavini S. Cloning and mapping multiple *S*-locus *F*-box genes in European pear (*Pyrus communis* L.). *Tree Genetics and Genomes*. 2011a;7(2):231-240. DOI: 10.1007/s11295-010-0327-5
- De Franceschi P., Pierantoni L., Dondini L., Grandi M., Sansavini S., Sanzoli J. Evaluation of candidate *F*-box genes for the pollen *S* of gametophytic self-incompatibility in the *Pyrinae* (Rosaceae) on the basis of their phylogenomic context. *Tree Genetics and Genomes*. 2011b;7(4):663-683. DOI: 10.1007/s11295-011-0365-7
- FAOSTAT. The Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. FAO statistics. Available from: <https://www.fao.org/faostat/en/#compare>; <https://www.fao.org/faostat/ru/#compare> [accessed June 10, 2025].
- Fisher R.A. On the interpretation of χ^2 from contingency tables, and the calculation of *P*. *Journal of the Royal Statistical Society*. 1922;85(1):87-94. Available from: <http://hdl.handle.net/2440/15173> [accessed June 10, 2025].
- Gharehaghaji A.N., Arzani K., Abdollahi H., Shojaeiyan A., Dondini L., De Franceschi P. Genomic characterization of self-incompatibility ribonucleases in the Central Asian pear germplasm and introgression of new alleles from other species of the genus *Pyrus*. *Tree Genetics and Genomes*. 2014;10:411-428. DOI: 10.1007/s11295-013-0696-7
- Goldway M., Takasaki-Yasuda T., Sanzoli J., Mota M., Zisovich A., Stern R.A., Sansavini S. Renumbering the *S-RNase* alleles of European pears (*Pyrus communis* L.) and cloning the S109 *RNase* allele. *Scientia Horticulturae*. 2009;119(4):417-422. DOI: 10.1016/j.scienta.2008.08.027
- Ikeda K., Watari A., Ushijima K., Yamane H., Hauck N.R., Lezzoni A.F., Tao R. Molecular markers for the self-compatible S4'-haplotype, a pollen-part mutant in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2004;129(5):724-728. DOI: 10.21273/JASHS.129.5.724
- Inglis P.W., Pappas M.D.C.R., Resende L.V., Grattapaglia D. Fast and inexpensive protocols for consistent extraction of high quality DNA and RNA from challenging plant and fungal samples for high-throughput SNP genotyping and sequencing applications. *PLoS One*. 2018;13(10):e0206085. DOI: 10.1371/journal.pone.0206085
- Jaumien F. The causes of poor bearing of pear trees of the variety 'Doyenne du Comice'. *Acta Agrobotanica*. 1968;21:75-106. DOI: 10.5586/aa.1968.003
- Kubo K., Entani T., Takara A., Wang N., Fields A.M., Hua Z., Toyoda M., Kawashima S., Ando T., Isogai A., Kao T.H., Takayama S. Collaborative non-self recognition system in *S-RNase*-based self-incompatibility. *Science*. 2010;330:796-799. DOI: 10.1126/science.1195243
- Lewis D., Modlibowska I. Genetical studies in pears. *Journal of Genetics*. 1942;43:211-222. DOI: 10.1007/BF02982754
- Marchese A., Tobutt K.R., Raimondo A., Motisi A., Bošković R.I., Clarke J., Caruso T. Morphological characteristics, microsatellite fingerprinting and determination of incompatibility genotypes of Sicilian sweet cherry cultivars. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2007;82:41-48. DOI: 10.1080/14620316.2007.11512197
- Minamikawa M., Kakui H., Wang S., Kotoda N., Kikuchi S., Koba T., Sassa H. Apple *S* locus region represents a large cluster of related, polymorphic and pollen-specific *F*-box genes. *Plant Molecular Biology*. 2010;74:143-154. DOI: 10.1007/s11103-010-9662-z
- Moriya Y., Yamamoto K., Okada K., Iwanami H., Bessho H., Nakanishi T., Takasaki T. Development of a CAPS marker system for genotyping European pear cultivars harboring 17 *S* alleles. *Plant Cell Reports*. 2007;26:345-354. DOI: 10.1007/s00299-006-0254-y
- Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1973;70(12):3321-3323. DOI: 10.1073/pnas.70.12.3321
- Okada K., Tonaka N., Taguchi T., Ichikawa T., Sawamura Y., Nakanishi T., Takasaki-Yasuda T. Related polymorphic *F*-box protein genes between haplotypes clustering in the BAC contig sequences around the *S-RNase* of Japanese pear. *Journal of Experimental Botany*. 2011;62(6):1887-1902. DOI: 10.1093/jxb/erq381
- Rubtsov G.A. Origin and evolution of cultivated pear (*Proiskhozhdeniye i evolyutsiya kul'turnoy grushi*). *Proceedings of the USSR Academy of Sciences*. 1940;28(4):351-354. [in Russian] (Рубцов Г.А. Происхождение и эволюция культурной груши. Доклады Академии наук СССР. 1940;28(4):351-354).
- Sanzoli J. Genomic characterization of self-incompatibility ribonucleases (*S-RNases*) in European pear cultivars and development of PCR detection for 20 alleles. *Tree Genetics and Genomes*. 2009a;5:393405. DOI: 10.1007/s11295-008-0194-5
- Sanzoli J. Pistil-function breakdown in a new *S*-allele of European pear, S21 confers self-compatibility. *Plant Cell Reports*. 2009b;28(3):457-467. DOI: 10.1007/s00299-008-0645-3
- Sanzoli J. Two neutral variants segregating at the gametophytic self-incompatibility locus of European pear (*Pyrus communis* L.) (Rosaceae, Pyrinae). *Plant Biology*. 2010;12(5):800-805. DOI: 10.1111/j.1438-8677.2009.00277.x
- Sanzoli J., Herrero M.B. Identification of self-incompatibility alleles in pear cultivars (*Pyrus communis* L.). *Euphytica*. 2002;128:325-331. DOI: 10.1023/A:1021213905461

- Sanzol J., Robbins T.P. Combined analysis of S-Alleles in European pear by pollinations and PCR-based S-genotyping; correlation between S-phenotypes and S-RNase genotypes. Journal of American Society for Horticultural Science. 2008;133(2):213-224. DOI: 10.21273/JASHS.133.2.213
- Sanzol J., Sutherland B.G., Robbins T.P. Identification and characterization of genomic DNA sequences of the S-ribonuclease gene associated with self-incompatibility alleles S1 to S5 in European pear. Plant Breeding. 2006;125(5):513-518. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2006.01269.x
- Sassa H., Kakui H., Miyamoto M., Suzuki Y., Hanada T., Ushijima K., Kusaba M., Hirano H., Koba T. S Locus F-Box Brothers: multiple and pollen-specific F-Box genes with S haplotype-specific polymorphisms in apple and Japanese pear. Genetics. 2007;175:1869-1881. DOI: 10.1534/genetics.106.068858
- Suprun I.I., Tokmakov S.V., Makarkina M.V. Analysis of allelic polymorphism of self-incompatibility in some Russian varieties of pears (*Pyrus communis* L.) using consensus and S5, S8, allele-specific DNA markers. Polythematic Online Electronic Scientific Journal of Kuban State Agrarian University. 2014;103(09): 607-618. [in Russian] (Супрун И.И., Токмаков С.В., Макаркина М.В. Анализ аллельного полиморфизма гена самонесовместимости у некоторых отечественных сортов груши (*Pyrus communis* L.) с использованием консенсусных и S5, S8, аллель-специфичных ДНК маркеров. Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2014;103(09): 607-618).
- Takasaki T., Moriya Y., Okada K., Yamamoto K., Iwanami H., Bessho H., Nakanishi T. cDNA cloning of nine S alleles and establishment of a PCR-RFLP system for genotyping European pear cultivars. Theoretical and Applied Genetics. 2006;112:1543-1552. DOI: 10.1007/s00122-006-0257-7
- Tuz A.S. *Pyrus* L. – Pear (*Pyrus* L. – Grusha). In: Likhonos F.D., Tuz A.S., Lobachev A.J. The USSR flora of cultivated plants. Vol. 14. Pome fruits (Kulturnaya flora SSSR. T. 14. Semechkovye). Moscow; 1983. p.126-225. [in Russian] (Туз А.С. *Pyrus* L. – Груша. В кн.: Лихоноса Ф.Д., Туза А.С., Лобачева А.Я. Культурная флора СССР. Т. 14. Семечковые. Москва; 1983. С.126-225).
- Vavilov N.I. Wild progenitors of the fruit trees of Turkestan and the Caucasus and the problem of the origin of fruit trees. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 1931;26(3):85-107. [in Russian] (Вавилов Н.И. Дикие родичи плодовых деревьев Азиатской части СССР и Кавказа и проблема происхождения плодовых деревьев. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1931;26(3):85-107).
- Wu J., Li M., Li T. Genetic features of the spontaneous self-compatible mutant, 'Jin Zhui' (*Pyrus bretschneideri* Rehd.). PloS One. 2013;8(10):e76509. DOI: 10.1371/journal.pone.0076509
- Wu J., Wang Y., Xu J., Korban S.S., Fei Z., Tao S., Ming R., Tai S., Khan A.M., Chao Gu C., Yin H., Zheng D., Qi K., Li Y., Wang R., Deng C.H., Kumar S., Chagné D., Li X., Wu J., Huang X., Zhang H., Xie Z., Li X., Zhang M., Li Y., Yue Z., Fang X., Li J., Li L., Jin C., Qin M., Zhang J., Wu X., Ke Y., Wang J., Yang H., Zhang S. Diversification and independent domestication of Asian and European pears. Genome Biology. 2018;19:1-16. DOI: 10.1186/s13059-018-1452-y
- Zisovich A.H., Stern R., Sapir G., Shafir S., Goldway M. The RHV region of S-RNase in the European pear (*Pyrus communis*) is not required for the determination of specific pollen rejection. Sexual Plant Reproduction. 2004;17:151-156. DOI: 10.1007/s00497-004-0225-9
- Zuccherelli S., Tassinari P., Broothaerts W., Tartarini S., Dondini L., Sansavini S. S-Allele characterization in self-incompatible pear (*Pyrus communis* L.). Sexual Plant Reproduction. 2002;15:153-158. DOI: 10.1007/s00497-002-0145-5

Информация об авторах

Анастасия Олеговна Гончаренко, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, aogoncharenko97@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0007-2474-752X>

Лариса Владимировна Багмет, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, отдел агроботаники и *in situ* сохранения генетических ресурсов растений, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, l.bagmet@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0768-0056>

Марина Николаевна Петрова, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий специалист, отдел генетических ресурсов плодовых культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, adresspb-petrova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5700-0384>

Ольга Юрьевна Антонова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, и.о. заведующего, лаборатория молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

Information about the authors

Anastasiia O. Goncharenko, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Breeding and DNA Passportization, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, aogoncharenko97@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0007-2474-752X>

Larisa V. Bagmet, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Department of Agrobotany and *in situ* Conservation of Plant Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, l.bagmet@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0768-0056>

Marina N. Petrova, Cand. Sci. (Agriculture), Leading specialist, Department of Fruit Crop Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, adresspb-petrova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5700-0384>

Olga Yu. Antonova, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Acting Head, Laboratory of Molecular Breeding and DNA Passportization, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42,44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 12.07.2025; одобрена после рецензирования 26.08.2025; принята к публикации 16.09.2025.

The article was submitted on 12.07.2025; approved after reviewing on 26.08.2025; accepted for publication on 16.09.2025.