

Научная статья

УДК 634.22:575.174:577.21

DOI: 10.30901/2658-6266-2026-1-06



Оценка эффективности маркеров S-локуса для выявления самофертильных форм на материале коллекции косточковых культур Майкопской опытной станции – филиала ВИР

А. К. Макаов¹, О. Е. Радченко¹, А. И. Яремкив², О. Ю. Антонова¹

¹ Федеральное исследовательское учреждение Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

² Адыгейский государственный университет, Майкоп, Россия

Автор, ответственный за переписку: Макаов Адам Капанович, a.makaov@vir.nw.ru

Актуальность. S-локус, контролирующей систему гаметофитной несовместимости у видов семейства Розовые, отличается высокой степенью аллельного разнообразия, которое с успехом используется для S-генотипирования и молекулярной паспортизации, а также для уточнения филогенетических взаимоотношений между видами. В практическом плане изучение S-локуса важно также для выявления мутантных аллелей, приводящих к самофертильности. Недавно у сливы домашней *Prunus domestica* L. была установлена ассоциация данного признака с присутствием в геноме аллеля *S17*, и были разработаны специфичные праймеры для его идентификации. Целью нашей работы было выявление маркеров данного аллеля в выборке образцов коллекций косточковых, поддерживаемых на Майкопской опытной станции – филиале ВИР и НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», а также определение их эффективности в параллельном фенотипическом анализе. **Материалы и методы.** Молекулярный скрининг проводили с использованием праймеров, специфичных для аллеля *S17*, и консенсусных праймеров PruC2/PCER. Параллельно в течение двух лет (2024 и 2025 годов) образцы сливы и алычи были фенотипированы по признаку самофертильности с использованием методики, принятой в ВИР. **Результаты и обсуждение.** Изучена выборка из 266 образцов косточковых культур коллекции Майкопской опытной станции, из них 76 образцов алычи *Prunus cerasifera* Ehrh., 150 образцов сливы домашней *P. domestica*, один образец сливы североамериканской *Prunus americana* Marsh., один образец сливы канадской *Prunus nigra* Aiton, три образца сливы русской *Prunus × rossica* Erem. и 35 образцов терна *Prunus spinosa* L. Выявлено 16 образцов – носителей аллеля *S17*. Параллельно в течение двух сезонов (2024 и 2025 годов) для значительной части выборки, 124 образцов алычи и сливы домашней, оценили способность растений формировать плоды при опылении собственной пыльцой. Число самофертильных образцов у гексаплоидной сливы домашней составило 56,1%, а у алычи – только 5,9%. Данные результаты полностью согласуются с описанным в литературе явлением широкого распространения самофертильных форм среди полиплоидных организмов. При этом большинство самофертильных образцов не имели аллеля *S17*, то есть их самоплодность должна объясняться какими-то другими причинами. С другой стороны, почти все образцы сливы домашней с аллелем *S17* оказались самофертильными. **Заключение.** Сопоставление результатов молекулярного скрининга и фенотипического анализа показало, что аллель *S17* у сливы домашней действительно проявляет ассоциацию со свойством самосовместимости, однако у *P. domestica* должны существовать и другие мутантные варианты, приводящие к нарушению механизмов деградации собственных пыльцевых трубок. У диплоидной алычи такой ассоциации не наблюдается. Выявленные в процессе анализа самофертильные образцы с маркерами аллеля *S17*, представляют большой интерес для селекции, поскольку их можно непосредственно использовать в маркер-вспомогательном отборе.

Ключевые слова: *Prunus domestica*, *P. cerasifera*, S-локус, самофертильность, молекулярные маркеры

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания FGEM-2022-0008 «Совершенствование подходов и методов *ex situ* сохранения идентифицированного генофонда плодовых, ягодных культур, винограда и их диких родичей, разработка технологий их эффективного использования в селекции»

Для цитирования: Макаов А.К., Радченко О.Е., Яремкив А.И., Антонова О.Ю. Оценка эффективности маркеров S-локуса для выявления самофертильных форм на материале коллекции косточковых культур Майкопской опытной станции – филиала ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2026;9(1):29-37. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-1-06

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.

© Макаов А.К., Радченко О.Е., Яремкив А.И., Антонова О.Ю., 2026

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2026-1-06

The evaluation of the effectiveness of S-locus markers for identifying self-fertile forms using the material from the stone fruit collection of the Maykop Experimental Station – Branch of VIR

Adam K. Makaov¹, Olga E. Radchenko¹, Alexander I. Yaremkiy², Olga Yu. Antonova¹¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia²Adyghe State University, Maikop, Russia**Corresponding author:** Adam K. Makaov, a.makaov@vir.nw.ru

Background. The S-locus, which controls the system of gametophytic incompatibility in the species of the Rosaceae family, is characterized by a high degree of allelic diversity, which is successfully used for S-genotyping and molecular certification, as well as for clarifying the phylogenetic relationships between species. In practical aspect, the study of the S locus is also important for identifying self-fertility mutations affecting pollen specificity. Recently, an association of this trait with the presence of the *S17* allele in the genome of the domestic plum *Prunus domestica* L. has been established, and specific primers for its identification developed. The aim of our work was to identify markers of this allele in accessions of stone fruit collections maintained at the Maykop Experimental Station – a branch of VIR and the Pushkin and Pavlovsk Laboratories of VIR, and to determine their effectiveness in parallel phenotypic analysis. **Materials and methods.** Molecular screening was performed using *S17* allele specific primers and consensus primers PruC2/PCER. In parallel, over the course of two years (2024 and 2025), plum and cherry plum accessions were phenotyped for self-fertility using the methodology adopted at VIR. **Results and discussion.** A subset of 266 stone fruit accessions was studied, including 76 accessions of cherry plum *Prunus cerasifera* Ehrh., 150 accessions of domestic plum *P. domestica*, one accession of North American plum *Prunus americana* Marsh., one accession of Canadian plum *Prunus nigra* Aiton, three samples of Russian plum *Prunus × rossica* Erem. and 35 of blackthorn *Prunus spinosa* L. Sixteen accessions were identified as carriers of the *S17* allele. In parallel, a significant part of the experimental subset, 124 accessions of domestic plum and cherry plum, was phenotyped, and the ability of plants to form fruits when pollinated with their own pollen assessed. The portion of self-fertile accessions of hexaploid European plum was 56.1%, while for cherry plum only 5.9%. These results are fully consistent with the phenomenon of widespread self-fertile forms among polyploid organisms described in the literature. Most self-fertile accessions did not have the *S17* allele, that is, their self-fertility should be explained by some other reasons. On the other hand, almost all accessions of European plum with the *S17* allele were self-fertile. **Conclusions.** Comparison of the molecular screening results and phenotypic analysis data showed that the *S17* allele in the domestic plum does indeed exhibit an association with the self-compatibility property, but *P. domestica* may also have other mutant variants that disrupt the degradation mechanisms of its own pollen tubes. No such association is observed in diploid cherry plum. The self-fertile accessions with markers of the *S17* allele identified during the analysis are of great interest for breeding, since they can be directly used in marker-assisted selection.

Keywords: *Prunus domestica*, *P. cerasifera*, S-locus, self-compatibility, molecular markers

Acknowledgements: the research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the State Assignment to VIR, Theme Plan Project No. FGEM-2025-0004 “Improving the approaches and methods for *ex situ* conservation of the identified genetic diversity of vegetatively propagated crops and their wild relatives, and development of technologies for their effective utilization in plant breeding”

For citation: Makaov A.K., Radchenko O.E., Yaremkiy A.I., Antonova O.Yu. The evaluation of the effectiveness of S-locus markers for identifying self-fertile forms using the material from the stone fruit collection of the Maykop Experimental Station – Branch of VIR. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2026;9(1):29-37. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2026-1-06

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.

© Makaov A.K., Radchenko O.E., Yaremkiy A.I., Antonova O.Yu., 2026

Введение

Система самонесовместимости (self-incompatibility, SI) – широко распространённый в мире цветковых растений механизм, препятствующий самооплодотворению либо за счет строения цветка (гетероморфный тип), либо путем отторжения собственной пыльцы – гомоморфный тип, который, в свою очередь, представлен двумя вариантами: гаметофитная (GSI) и спорофитная (SSI) самонесовместимость (Kao, Huang, 1994). В случае GSI несомовместимость определяется генотипом самой гаплоидной пыльцы, мужского гаметофита, на стадии роста пыльцевой трубки, в то время как при SSI решающую роль играет генотип тканей пестика диплоидного материнского растения, а именно спорофита.

Механизм GSI у семейства Rosaceae (Розовые) в основном контролируется одним локусом S со множественными аллелями; кроме того, существуют гены “модификаторы” (Matsumoto et al., 2012). Строение S-локуса у видов рода *Prunus* очень своеобразно. Он имеет размер всего около 70 тпн, содержит один ген S-РНКазы (*S-RNase*), продукты которого работают в тканях пестика и катализируют деградацию РНК в прорастающей пыльцевой трубке, а также один ген *SFB*, кодирующий F-box-белок (S specific F-box protein), и экспрессирующийся в пыльце (Wu et al., 2013; Xu et al., 2013). Присутствие единичного гена *SFB* является специфичным для рода *Prunus* L., поскольку для других родов семейства Розовые, таких как *Pyrus* L. и *Malus* Mill., характерно наличие его множественных копий, получивших название *SFBBs* (*S locus F-box brothers*). Локус S фланкирован несколькими копиями генов *SLFL* (*S-locus F-box-like*), которые, однако, не участвуют в определении специфичности пыльцы (Matsumoto, Tao, 2016a; 2016b).

S-РНКазы – это гликопротеин, проявляющий рибонуклеазную активность и расщепляющий РНК в прорастающих пыльцевых трубках. У видов семейства Розовые ген *S-RNase* имеет пять консервативных доменов, один из которых специфичен только для этого семейства, и один гипервариабельный домен, внутри которого находится полиморфный по длине интрон. В кодирующей последовательности генов *S-RNase* у рода *Prunus* L. имеется также дополнительный интрон (Tao et al., 1999a). Филогенетический анализ S-РНКазы и родственных последовательностей показал, что система GSI, основанная на активности S-РНКазы, имеет единое эволюционное происхождение, восходящее к временам примерно 120 миллионов лет назад (Igis, Kohn, 2001; Vieira et al., 2008a).

В гене *SFB* у *Prunus* присутствуют три вариабельных (Vn, V1 и V2) и два гипервариабельных участка HVa и HVb (Nunes et al., 2006). Четыре из пяти вариабельных и гипервариабельных участков расположены в С-концевой области и могут влиять на аллель-специфичное распознавание субстрата. Функции F-box-белка у видов рода *Prunus* уникальны по сравнению с таковыми у растений других родов, даже сестринской подтрибы Malinae Rev.

(подсемейство Amygdaloideae Arn. семейства Розовые). У большинства растений белок F-box входит в состав комплекса SCF: комплекс белков F-box, Skp1, Cullin1 и Rbx1, который опосредует целевую деградацию белка через убиквитин-26S протеасому. В этом комплексе белок F-box специфически распознает чужеродные S-РНКазы, после чего они полиубиквитируются и подвергаются деградации (Matsumoto, Tao, 2016a; 2016b); соответственно, собственная РНКазы остается активной и разрушает РНК в пыльцевых трубках.

У рода *Prunus* белок SFB наоборот – специфически распознает собственные S-РНКазы и индуцирует их цитотоксические функции. Эта модель предполагает наличие общего для всех РНКаз ингибитора GI (General Inhibitor), который образует комплексы со всеми присутствующими в клетке молекулами S-РНК. Белок F-box в составе комплекса SCF распознает комплекс собственной S-РНКазы с ингибитором, после чего GI-S-РНКазы подвергается полиубиквитинированию и деградации убиквитин-протеасомной системой, что приводит к высвобождению активных собственных S-РНКаз.

Оригинальность гена *SFB* у *Prunus* подтверждается и тем, что его последовательность при проведении кластерного анализа отходит в отдельную кладу, отличную от той, которая содержит последовательности, кодирующие F-box-белок у других представителей семейства Розовые, таких как яблоня и груша (триба Maleae в семействе Розовые) и у семейств Solanaceae и Plantaginaceae (Aguiar et al., 2015; Vieira et al., 2009). Показано, что у предковых видов розоцветных произошли затрагивающие S-локус дупликации, и при этом растения рода *Prunus* и трибы Maleae развили детерминант специфичности на основе различных паралофов (Aguiar et al., 2015; Morimoto et al., 2015).

Считается, что S-локус находится под действием балансирующего отбора (Wright, 1939), при котором редкие гаплотипы имеют селективное преимущество и с меньшей вероятностью теряются в результате генетического дрейфа. Поэтому в нем поддерживается значительная степень аллельного разнообразия, которое с успехом используется для генотипирования и молекулярной паспортизации, а также для изучения филогенетических взаимоотношений между видами секции *Euprunus* подрода *Prunophora*. Так, Sutherland с соавторами (Sutherland et al., 2008) выявили высокую степень консерватизма некоторых аллелей (*S1*, *S2*, *S17* и других) генов *S-RNase* и *SFB* между алычой, сливой домашней и другими видами рода *Prunus*, то есть определённые S-аллели сохранились на протяжении миллионов лет, передаваясь новым видам в процессе дивергентной эволюции. Наибольшая степень сходства была обнаружена между последовательностями гена *S-RNase* у видов *Prunus cerasifera* Ehrh, *Prunus domestica* L., *Prunus spinosa* L. и *Prunus salicina* Lindl. (Sutherland et al., 2008; Fernandez i Marti et al., 2021). Аналогично, при исследовании генетического разнообразия S-локуса у терна *P. spinosa* (Halász et al., 2021)

было показано перекрытие пулов *S*-аллелей между дикими популяциями терна и терносливой *Prunus domestica subsp. insititia* (Jusl.) Schneid, что подтверждает их эволюционную связь и возможность естественной гибридизации и, следовательно, значимость вклада аллельных вариантов *S*-локуса терна в формирование полиморфизма *S*-локуса у сливы домашней.

Первые работы по молекулярному определению аллелей *S*-локуса у представителей рода *Prunus* были проведены на черешне *Prunus avium* L. (секция *Cerasus* подрода *Cerasus*). Воšković с соавторами в 1996 году идентифицировали ген *S*-РНКаза как ключевой компонент самонесовместимости у черешни (Воšković et al., 1996). Позднее для детекции аллелей этого гена был создан ряд праймеров (Sonneveld et al., 2001; 2003). Праймеры были разработаны в двух вариантах – консенсусные праймеры PaConsI и PaConsII, выявляющие полиморфизм соответственно первого и второго интрона гена *S-RNase* путем генерации для каждого аллеля ампликонов определенной длины, и аллель-специфичные праймеры. Праймеры PaConsI и PaConsII позднее широко использовали для анализа многих розоцветных культур, в том числе для сливы домашней и родственных ей алычи и терна. Следует, однако, отметить, что для этих культур чаще использовали праймеры PaConsI (полиморфизм первого интрона), причем нередко в сочетании с другими консенсусными праймерами EM-PC1consRD и/или EM-PC2consRD (Sutherland et al., 2009; Halász et al., 2014; Abdallah et al., 2019; Fernandez i Marti et al., 2021). Для анализа полиморфизма во втором интроне более успешной признана другая пара праймеров PruC2/PCER, разработанная японскими исследователями (Tao et al., 1999b; Yamane et al., 2001).

Все эти праймеры генерируют у сливы домашней значительное количество полиморфных фрагментов, для которых, однако, до сих пор не существует общепризнанной классификации. Каждый автор в своей работе просто нумеровал выявляемые фрагменты, причем даже не опираясь на более ранние работы, использовавшие те же самые маркеры. Например, в работе Abdallah с соавторами (Abdallah et al., 2019) аллель *S1* генерирует с праймерами PRUC2/PCER фрагмент размером 470 пн. Другая группа исследователей (Fernandez i Marti et al., 2021) с теми же самыми праймерами определяет этот аллель по фрагменту 780 пн, а фрагмент 470 пн считает аллелем *S9*. В более ранней статье венгерских авторов (Halász et al., 2014) аллели *S*-локуса сливы вообще обозначены буквами латинского алфавита без привязки к размерам: приведены только фотографии электрофоретических спектров.

Аллель-специфичные праймеры разработаны в настоящее время для алычи (Sutherland et al., 2009) и терна (Vieira et al., 2008b). Что касается сливы домашней, то при помощи аллель-специфичной ПЦР можно идентифи-

цировать аллель *S17*, который авторы (Fernandes i Marti et al., 2021) ассоциируют с самоплодностью.

Анализ аллельных вариантов гена *SFB* у сливы обычно проводят при помощи праймеров Fbox5'F/FboxIntronR (Abdallah et al., 2019; Fernandez i Marti et al., 2021), исходно разработанных для черешни (Vaughan et al., 2006), или же праймеров PsSFB-F1 /PsSFB-R1 (Abdallah et al., 2021), созданных для сливы китайской *P. salicina* (Zhang et al., 2007).

Изучение *S*-локуса у сливы и родственных ей видов важно также для выявления мутантных аллелей, приводящих к утрате растениями способности разрушать пыльцевые трубки собственной прорастающей пыльцы, то есть к самофертильности. Недавно у сливы домашней была выявлена ассоциация данного признака с присутствием в геноме аллеля *S17*, и были разработаны специфичные праймеры для его идентификации. Целью нашей работы было выявление маркеров данного аллеля в выборке образцов коллекции косточковых, поддерживаемой на Майкопской опытной станции – филиале ВИР, а также на НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР», и определение их эффективности в фенотипическом анализе.

Материалы и методы

Растительный материал. Выборка для определения аллельного разнообразия гена *S-RNase* включала 266 образцов, из них 76 образцов алычи *Prunus cerasifera* Ehrh., 150 образцов сливы домашней *P. domestica* L., один образец сливы североамериканской *P. americana* Marsh. (вид из секции *Prunoseranus* подрода *Prunus*), один образец сливы канадской *P. nigra* Aiton (вид из секции *Prunoseranus* подрода *Prunus*) три образца сливы русской (*Prunus* × *rossica*) и 35 образцов терна *P. spinosa* L. Частично использованные в работе образцы происходили из коллекции НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (Приложение/ Supplement¹).

Значительная часть выборки, изученной в молекулярном скрининге, была использована также в фенотипическом анализе для определения самофертильности/ самостерильности образцов (см. Приложение/ see the Supplement).

Методы. Выделение ДНК проводили методом СТАВ-экстракции в модификации, принятой в отделе биотехнологии ВИР (Antonova et al., 2020), для устранения полифенольных соединений применяли предварительную обработку растертой растительной ткани буфером на основе сорбитола (Inglis et al., 2018).

ПЦР-анализ выборки сливы, алычи и терна проводили с использованием праймеров, специфичных для идентификации аллеля *S17*, и консенсусных праймеров PruC2/PCER (табл. 1). ПЦР осуществляли в 20 мкл реакционной

¹ Приложение доступно в онлайн версии статьи/ The supplement is available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2026-1-06

смеси, содержащей 40 нг ДНК, 1× реакционный буфер (Диалат), 2,0 мМ MgCl₂, по 0,5 мМ каждого из dNTP's, 250 нМ прямого и обратного праймеров, и 1 ед. Таq-полимеразы. Операции по смешиванию компонентов выполняли на льду. Условия реакции соответствовали рекоменда-

циям авторов праймеров (Fernandez i Marti et al., 2021).

Фенотипирование растений сливы и алычи по признаку самофертильности проводили с использованием методики, принятой в ВИР и опубликованной в Методических указаниях (Sedov, Ogol'tsova, 1999).

Таблица 1. Праймеры, использованные в работе

Table 1. The primers used in the study

№ п/п/ No. in order	Тип праймеров/ Primer type	Название/ Name	Последовательность 5'→3'/ Sequence 5'→3'	Ожидаемые размеры ПЦР- продуктов*/ Expected PCR product size	T ^o m, °C	Источник/ Reference
1	Консенсусные	PruC2	ctatggccaagtaattattcaaac	310-1350*	57	Tao et al., 1999b
		PCER	tgtttgttccattcgcyytccc			Yamane et al., 2001
2	Аллель- специфичные	S17_F	tcttcccttgcttggtgtct	205	57	Fernandez i Marti et al., 2021
		S17_R	tccatgtctgtgtcggatgt			

* Размеры ампликонов приведены по Fernandez i Marti et al., 2021/

* The amplicon sizes are given according to Fernandez i Marti et al., 2021

Результаты и обсуждение

Молекулярный скрининг. При анализе с праймерами для идентификации аллеля *S17* у 18 образцов выборки были выявлены ПЦР-продукты размером примерно 250 пн (рис. 1 А). Этот результат не соответствовал ожидаемому, поскольку авторы маркера в качестве диагностического указывали фрагмент 205 пн (Fernandez i Marti et al., 2021). В реакции с консенсусными праймерами PruC2/PCER подавляющее большинство образцов с фрагментом S17-250 (16 из 18) генерировали в числе прочих ПЦР-продукт размером около 350 пн (рис. 1 В), что также не соответствовало размеру аллеля *S17*, описанному в статье Fernandez i Marti с соавторами как 395 пн.

Для прояснения ситуации мы обратились к исходной последовательности данного аллеля, депонированной в Генбанке NCBI под номером MW407938.1 (Fernandez i Marti et al., 2021). В ней были определены (рис. 2) места отжига специфичных праймеров S17-F 'TCTTCCCTTGCTTGGTGTCT' и S17-R 'TCCATGTCTGTGTGCGGATGT' (на рисунке последовательность представлена в ориентации reverse-complement 'ACATCCGACACAGACATGGA'), а также консенсусных праймеров PruC2 'STATGGCCAAGTAATATTCAAACC' и PCER 'TGTTTGTTCATTCGCTTCCC' (также представлен в ориентации reverse-complement 'GGGAARGCGAATGGAACAACA'). Интересно, что все праймеры, кроме S17-R, не полностью соответствовали последовательностям мест своего отжига (см. рис. 2),

тем не менее, ПЦР-реакция с ними протекала достаточно успешно.

После определения в последовательности аллеля *S17* мест отжига праймеров были установлены ожидаемые размеры ПЦР-продуктов: 247 пн для специфичных праймеров S17-F/R и 357 пн для консенсусных праймеров PruC2/PCER, что полностью соответствовало полученным нами результатам.

Таким образом, с помощью молекулярного скрининга нам действительно удалось идентифицировать образцы, несущие аллель *S17*, который, согласно опубликованным данным, связан с самоопылением у сливы домашней. Аллель диагностировали только в случае совпадения результатов ПЦР с обеими парами праймеров. В изученной выборке присутствовало всего 16 таких образцов, из них:

девять сортов сливы домашней – 'Zhucechella', к-28407; 'Аль Эрик', к-3316; 'Аусбухер', к-3353; 'Афъезка №4', к-30688; 'Бутылочная', к-10213; 'Венгерка Ажанская Красная', к-3405; 'Екатерина (Синяя)', к-12870; 'Империл', к-9697; 'Цуккета Имперiale', к-4124);

шесть образцов алычи – Алыча УС-1-11, к-15597А; 'Бал Алыча', к-43208; Желток, к-12067; Ткемали 1, к-12074; Ткемали 88, к-12084; Ткемали Розовая 63, к-9783; **один** образец терна – Терн 67-Б3-13, к-2763А.

Следует отметить, что продукт амплификации с консенсусными праймерами размером 350 пн был выявлен еще у 10 образцов, у которых, однако, аллель-специфичная ПЦР оказалась неуспешной. В эту группу входили

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 M 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

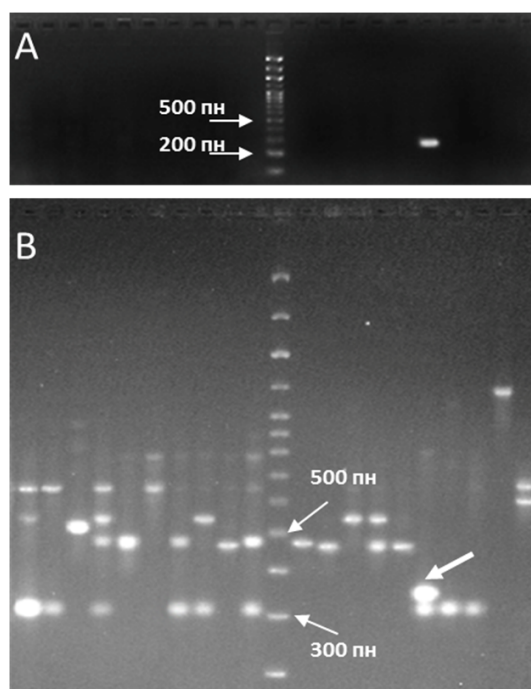


Рис. 1. ПЦР-продукты ДНК сливы и алычи с аллель-специфичными праймерами S17 F/R (А) и с консенсусными праймерами PruC2/PCER (В)

На рисунке В стрелкой обозначен ПЦР-продукт, соответствующий аллелю S17.

- 1 – *P. domestica*, Мирабель Крупная; 2 – *P. domestica*, ‘Венгерка Ранняя Майнская’; 3 – *P. domestica*, ‘Габровска’;
 4 – *P. domestica*, Венгерка Сизая; 5 – *P. domestica*, Венгерка Ранняя ‘Франкфуртская’; 6 – *P. domestica*, Венгерка Шунтучка;
 7 – *P. domestica*, Венгерка Цвикла; 8 – *P. domestica*, ‘Грас Румынский’; 9 – *P. domestica*, ‘Vision’; 10 – *P. domestica*, ‘Де Бистрита’;
 11 – *P. domestica*, Деккен; 12 – *P. domestica*, Дряновска Слива; 13 – *Prunus* × *rossica* Erem., ‘Десертная’;
 14 – *P. domestica*, ‘Джефферсон’; 15 – *P. domestica*, Дряновска Слива; 16 – *P. domestica*, ‘Екатерина’ (Синяя);
 17 – *P. domestica*, ‘Диापре Ранняя’; 18 – *P. domestica*, ‘Гилберт’; 19 – *P. cerasifera*, ‘Baracan’; 20 – *P. domestica*, Империял Росса

Fig. 1. PCR products of plum and cherry plum DNA with allele-specific primers S17 F/R (A) and with consensus primers PruC2/PCER (B)

In B, the arrow indicates the PCR product corresponding to the S17 allele.

- 1 – *P. domestica*, Mirabel' Krupnaya; 2 – *P. domestica*, ‘Vengerka Rannyaya Majnskaya’; 3 – *P. domestica*, ‘Gabrovska’;
 4 – *P. domestica*, Vengerka Sizaya; 5 – *P. domestica*, Vengerka Rannyaya ‘Frankfurtskaya’; 6 – *P. domestica*, Vengerka Shuntuchka;
 7 – *P. domestica*, Vengerka Czikla; 8 – *P. domestica*, ‘Gras Romy' niaska’; 9 – *P. domestica*, ‘Vision’;
 10 – *P. domestica*, ‘De Bistrita’; 11 – *P. domestica*, Dekken; 12 – *P. domestica*, Dryanovska Sliva; 13 – *Prunus* × *rossica* Erem., ‘Desertnaya’;
 14 – *P. domestica*, ‘Dzhefferson’; 15 – *P. domestica*, Dryanovska Sliva; 16 – *P. domestica*, ‘Ekaterina’ (Sinyaya);
 17 – *P. domestica*, ‘Diapre Rannyaya’; 18 – *P. domestica*, ‘Gilbert’; 19 – *P. cerasifera*, ‘Baracan’; 20 – *P. domestica*, Imperial Rossa

два сорта алычи: ‘Гульрипшская 19’, к-43492; ‘Крупная Красная’ (Сбор 36), к-12858; **три** сорта сливы домашней: ‘Измамот’, к-28408; ‘Мзры Дамбуль’, к-43434; ‘Слива сб. 69’, к-9716) и **пять** образцов терна: Гребенского №6 сеянец, к-15943А; №24-8, к-7343А; №9-7, к-14586А; Нестеровского №4 сеянец 10-7, к-16017А; Терн Волжский, к-15084). Вполне вероятно, что фрагмент PruC2/PCER_350 в этих образцах может также соответствовать некоторым другим аллелям. Характерно, что большую часть этой группы составляли образцы терна, последовательности S-локуса у которых могут сильно отличаться от таковых у сливы домашней.

Фенотипический анализ. Параллельно в течение двух сезонов, 2024 и 2025 гг., для значительной части

выборки – 124-х образцов алычи и сливы домашней, мы оценили способность растений формировать плоды при опылении собственной пыльцой (см. Приложение/ see the Supplement). При этом к самофертильным относили сорта, у которых число завязавшихся плодов составило более 10% от числа опыленных цветков (Yushev et al., 2016).

По результатам эксперимента число образцов сливы домашней, успешно завязавших плоды при опылении собственной пыльцой (Yushev et al., 2016), составило 56,1% (32 из 57 изученных). В то же время, у алычи было обнаружено только **четыре** самофертильных образца: Алыча 37А, к-4313; ‘Бал Алыча’, к-43208; Крупная Красная (Сбор 18), к-9748; ‘Мечубухе’ (Сбор 82), к-9758 – из 67 изученных, то есть 5,9% (табл. 2). Данные резуль-

GenBank: MW407938.1

ttcacaattcatggcctatggccaagtaactattcaaacccaacgatgccagtaattgcaatgggtcaaactttgag
gcaaggaaagtggatcgtataggattgtattccacatactcttttagcattacqttttagaaaaattagaccqtc
atataaaaaatcttccacgtacatcaaaaattaaaagtcagtataatagtcaggtttagttaaaaaacaatcqtat
ccagaaatgaagatcttcccttaaaaatcttcccttacttgaatctcagtacccctcaattgcatccgaactggaga
tatcttggcccgcgtggaagcggcagtgatataaaactttgggaaggagaatggaacaacaatggtagatgtcc
gaacaaacacttaaccaaagtcaatacttgaacgatcccacgaaatgtggaactcgcaaatattacagagatcct
taaaaacgcttcaatagtagccacatccgacacagacatggaataactcgacatagtagcagcattaaagcagca
actaaaagaacaccctccttctgtgcaaacctcttccagcacagcctaacacacattcagcacagactaagagccc
gccgaagcctcagttgttcatgaagtgttattt

Рис. 2. Результаты анализа последовательности MW407938.1, депонированной в Генбанке NCBI как последовательность аллеля *S17 Prunus domestica* (по Fernandez i Marti et al., 2021)

Последовательности аллель-специфичных праймеров выделены зеленым, последовательности консенсусных праймеров – желтым. Подчеркнутым курсивом обозначена область интрона.

Fig. 2. Analysis of the #MW407938.1 sequence deposited in the NCBI GenBank as the reference of the *S17* allele of *P. domestica* (according to Fernandez i Marti et al., 2021)

The sequences of allele-specific primer are highlighted in green, consensus primer sequences are highlighted in yellow. The intron region is indicated in underlined italics.

таты полностью согласуются с описанным в литературе явлением широкого распространения самофертильных форм среди полиплоидных организмов. Считается, что функционирование системы GSI у полиплоидов значительно сложнее и может определяться многими факторами. У пасленовых полиплоидия приводит к конкурентному взаимодействию между аллелями в пыльцевом зерне и тем самым к нарушению в работе системы GSI (Golz et al., 1999), аналогичное явление показано по крайней мере для одного вида подрода *Prunophora* рода *Prunus*: *P. pseudocerasus* (Huang et al., 2008). Однако у видов под-

рода *Cerasus* рода *Prunus*, в частности у тетраплоидной вишни *P. cerasus*, потеря GSI объясняется накоплением в генотипе мутантных аллелей (Nauck et al., 2006). У сливы домашней в качестве такого мутантного аллеля был предложен аллель *S17*.

Обобщение данных молекулярного скрининга и фенотипического анализа представлено в таблице 2. Было показано, что и в случае гексаплоидной сливы, и в случае диплоидной алычи большинство самофертильных образцов не имели аллеля *S17*, то есть их самоплодность должна объясняться какими-то другими причинами. Ана-

Таблица 2. Сопоставление результатов фенотипического анализа и молекулярного скрининга
Приведены данные по тем образцам, которые участвовали в обоих исследованиях

Table 2. Comparison of phenotypic and molecular screening data
Data are provided only for those accessions that participated in both studies

№/ No.	Вид (число образцов)/ Species (the number of accessions)	Результаты фенотипического анализа/ Results of phenotypic analysis		Результаты молекулярного скрининга/ Results of molecular screening	
		Число (%) само- совместимых образцов/ The number (%) of self-compatible accessions	Из них – число (%) образцов с аллелем <i>S17</i> / Of these, the number (%) of samples with the <i>S17</i> allele	Число образцов с аллелем <i>S17</i> / The number of accessions with <i>S17</i> allele	Из них – число (%) само-совместимых образцов/ Of these, the number (%) of self-compatible accessions
1	<i>Prunus cerasifera</i> Ehrh. (N=67)	4 (5,9%)	1 (25%)	4	1 (25%)
2	<i>Prunus domestica</i> L. (N=57)	32 (56,1%)	4 (12,1%)	5	4 (80%)

логично, у алычи не было выявлено корреляции между присутствием аллеля *SI7* и способностью завязывать плоды при опылении своей пылью: из **четырёх** образцов-носителей данного аллеля самофертильным оказался только **один**. Наоборот, у *P. domestica* самосовместимыми оказались почти все образцы, имеющие в своем генотипе аллель *SI7* (см. табл. 2).

Для образцов сливы русской, сливы американской и сливы канадской не удалось выявить взаимосвязи между наличием аллеля *SI7* и способностью завязывать плоды при опылении своей пылью.

Заключение

Таким образом, аллель *SI7* у сливы домашней действительно проявляет ассоциацию со свойством самосовместимости, однако у этого вида должны существовать и другие мутантные варианты, приводящие к нарушению механизмов деградации пыльцевых трубок при прорастании собственной пыльцы. Выявленные в процессе анализа самофертильные образцы, прежде всего образцы диплоидной алычи, могут представлять значительный интерес для селекции. Особенно ценными в этом плане являются самосовместимые образцы с маркерами аллеля *SI7*, поскольку их можно непосредственно использовать в маркер-вспомогательном отборе.

References/Литература

Abdallah D., Baraket G., Ben Mustapha S., Angeles Moreno M.A., Salhi Hannachi A. Molecular and evolutionary characterization of pollen *S* determinant (*SFB* alleles) in four diploid and hexaploid plum species (*Prunus* spp.). *Biochemical Genetics*. 2021;59(1):42-61. DOI: 10.1007/s10528-020-09990-x

Abdallah D., Baraket G., Perez V., Ben Mustapha S., Salhi-Hannachi A., Hormaza J.I. Analysis of self-incompatibility and genetic diversity in diploid and hexaploid plum genotypes. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:896. DOI: 10.3389/fpls.2019.00896

Aguilar B., Vieira J., Cunha A.E., Fonseca N.A., Iezzoni A., van Nocker S., Vieira C.P. Convergent evolution at the gametophytic self-incompatibility system in *Malus* and *Prunus*. *PLoS ONE* 2015;10(5):e0126138. DOI: 10.1371/journal.pone.0126138

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: 10.30901/2658-6266-2020-4-02

Bošković R., Tobutt K.R. Correlation of stylar ribonuclease isoenzymes with incompatibility alleles in sweet cherry. *Euphytica*. 1996;90(2):245-250. DOI: 10.1023/A:1003516902123

Fernandez i Marti A., Castro S., DeJong T.M., Dodd R.S. Evaluation of the *S*-locus in *Prunus domestica*, characterization, phylogeny and 3D modelling. *PLoS One*. 2021;16(5):e0251305. DOI: 10.1371/journal.pone.0251305

Golz J.F., Su V., Clarke A.E., Newbigin E. A molecular description of mutations affecting the pollen component of the *Nicotiana glauca* *S* locus. *Genetics*. 1999;152:123-1135. DOI: 10.1093/genetics/152.3.1123

Halász J., Makovics - Zsuhár N., Szöke F., Ercisli S., Hegedűs A.

Simple sequence repeat and *S*-locus genotyping to assist the genetic characterization and breeding of polyploid *Prunus* species, *P. spinosa* and *P. domestica* subsp. *insititia*. *Biochemical Genetics*. 2021;59(4):1065-1087. DOI: 10.1007/s10528-021-10090-7

Halasz J., Kurilla A., Hegedus A. Preliminary characterization of the self-incompatibility genotypes of European plum (*Prunus domestica* L.) cultivars. *International Journal of Horticultural Science*. 2014;20(3-4):23-26. DOI: 10.31421/IJHS/20/3-4/1128

Hauck N. R., Yamane H., Tao R., Iezzoni A. F. Accumulation of nonfunctional *S*-haplotypes results in the breakdown of gametophytic self-incompatibility in tetraploid *Prunus*. *Genetics*. 2006;172:1191-1198. DOI: 10.1534/genetics.105.049395

Huang S. - X., Wu H. - Q., Li Y. - R., Wu J.S. - J., Heng W., Zhang S. - L. Competitive interaction between two functional *S*-haplotypes confer self-compatibility on tetraploid Chinese cherry (*Prunus pseudocerasus* Lindl. CV. Nanjing Chuisi). *Plant Cell Reports*. 2008;27:1075-1085. DOI: 10.1007/s00299-008-0528-7

Igic B., Kohn J.R. Evolutionary relationships among self-incompatibility RNases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(23):13167-13171. DOI: 10.1073/pnas.231386798

Inglis P.W., Pappas M.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):1-14. DOI: 10.17504/protocols.io.tzfp3n

Kao Th., Huang S. Gametophytic self-incompatibility: a mechanism for self/nonself discrimination during sexual reproduction. *Plant Physiology*. 1994;105(2):461-466. DOI: 10.1104/pp.105.2.461

Matsumoto D., Tao R. Distinct self-recognition in the *Prunus* S-RNase-based gametophytic self-incompatibility system. *The Horticulture Journal*. 2016a;85(4):289-305. DOI: 10.2503/hortj.MI-IR06

Matsumoto D., Tao R. Recognition of a wide-range of S-RNases by S locus F-box like 2, a general-inhibitor candidate in the *Prunus*-specific S-RNase-based self-incompatibility system. *Plant Molecular Biology*. 2016b;91(4-5):459-69. DOI: 10.1007/s11103-016-0479-2

Matsumoto D., Yamane H., Abe K., Tao R. Identification of a Skp1-like protein interacting with SFB, the pollen *S* determinant of the gametophytic self-incompatibility in *Prunus*. *Plant Physiology*. 2012;159(3):1252-1261. DOI: 10.1104/pp.112.197343

Morimoto T., Akagi T., Tao R. Evolutionary analysis of genes for S-RNase-based self-incompatibility reveals *S* locus duplications in the ancestral Rosaceae. *The Horticulture Journal*. 2015;84(3):233-242. DOI: 10.2503/hortj.mi-060

Nunes M.D., Santos R.A., Ferreira S.M., Vieira J., Vieira C.P. Variability patterns and positively selected sites at the gametophytic self-incompatibility pollen *SFB* gene in a wild self-incompatible *Prunus spinosa* (Rosaceae) population. *New Phytologist*. 2006;172(3):577-587. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2006.01838.x

Sedov E.N., Ogol'tsova T.P. (eds). Program and methodology for studying varieties of fruit, berry and nut crops (Programma i metodika sortoizucheniya plodovyykh, yagodnykh i orekhoplodnykh kul'tur). Orel: Publishing House of VNIISPК; 1999. [in Russian] (Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / под ред. Е.Н. Седова, Т.П. Огольцовой. Орел: Изд-во ВНИИСПК; 1999).

Sonneveld T., Robbins T.P., Bošković R., Tobutt K.R. Cloning of six cherry self-incompatibility alleles and development of allele-specific PCR detection. *Theoretical and Applied Genetics*. 2001;102:1046-1055. DOI: 10.1007/s001220000525

Sonneveld T., Tobutt K.R., Robbins T.P. Allele-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (*S*) alleles *SI* to *SI6* using consensus and allele-specific primers. *Theoretical and Applied Genetics*. 2003;107(6):1059-1070. DOI: 10.1007/s00122-003-1274-4

Sutherland B.G., Cerovic R., Robbins T.P., Tobutt K.R. The myrobalan (*Prunus cerasifera* L.): a useful diploid model for studying the molecular genetics of self-incompatibility in plums. *Euphytica*. 2009;166:385-398. DOI: 10.1007/s10681-008-9821-3

- Sutherland B.G., Tobutt K.R., Robbins T.P. Trans-specific *S-RNase* and *SFB* alleles in *Prunus* self-incompatibility haplotypes. *Molecular Genetics and Genomics*. 2008;279:95-106. DOI: 10.1007/s00438-007-0300-7
- Tao R., Yamane H., Sugiura A. Cloning of genomic DNA sequences encoding *S1-*, *S3-*, *S4-*, and *S6-RNases* (Accession Nos. AB031815, AB031816, AB031817 and AB031818) from sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Plant Physiology*. 1999a;121:1057.
- Tao R., Yamane H., Sugiura A., Murayama H., Sassa H., Mori H. Molecular typing of *S*-alleles through identification, characterization and cDNA cloning for *S-RNases* in sweet cherry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1999b;124(3):224-233.
- 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. *Theoretical and Applied Genetics*. 2006;112:856-866. DOI: 10.1007/s00122-005-0187-9
- Vieira J., Fonseca N.A., Vieira C.P. An *S-RNase*-based gametophytic self-incompatibility system evolved only once in eudicots. *Journal of Molecular Evolution*. 2008a;67:179-190. DOI: 10.1007/s00239-008-9137-x
- Vieira J., Fonseca N.A., Vieira C.P. *RNase*-based gametophytic self-incompatibility evolution: questioning the hypothesis of multiple independent recruitments of the *S*-pollen gene. *Journal of Molecular Evolution*. 2009;69:32-41. DOI: 10.1007/s00239-009-9249-y
- Vieira J., Santos R.A., Ferreira S.M., Vieira C.P. Inferences on the number and frequency of *S*-pollen gene (*SFB*) specificities in the polyploid *Prunus spinosa*. *Heredity*. 2008b;101(4):351-358. DOI: 10.1038/hdy.2008.60
- Wright S. The distribution of self-sterility alleles in populations. *Genetics*. 1939;24:538-552.
- Wu J., Gu C., Tao R. Molecular determinants and mechanisms of gametophytic self-incompatibility in fruit trees of Rosaceae. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2013;32(1):53-68.
- Xu C., Li M., Wu J., Guo H., Li Q., Zhang Y., Chai J., Li T., Xue Y. Identification of a canonical SCF^{SELF} complex involved in *S-RNase*-based self-incompatibility of *Pyrus* (Rosaceae). *Plant Molecular Biology*. 2013;81(3):245-257. DOI: 10.1007/s11103-012-9995-x
- Yamane H., Tao R., Sugiura A., Hauck N.R., Iezzoni A.F. Identification and characterization of *S-RNases* in tetraploid sour cherry (*Prunus cerasus*). *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2001;126(6):661-667.
- Yushev A.A., Sorokin A.A., Tikhonova O.A., Orlova S.Yu., Kislin E.N., Radchenko O.E., Pupkova N.A., Shlyavav A.V. The collection of fruit and berry plant genetic resources: preservation, replenishment, and study: Guidelines (Kolleksiya geneticheskikh resursov plodovykh i yagodnykh rasteniy: sokhraneniye, popoleniye, izucheniye: Metodicheskiye ukazaniya). A.A. Yushev, I.G. Chukhina (eds). St. Petersburg: VIR; 2016. [in Russian] [Юшев А.А., Сорокин А.А., Тихонова О.А., Орлова С.Ю., Кислин Е.Н., Радченко О.Е., Пупкова Н.А., Шлявас А.В. Коллекция генетических ресурсов плодовых и ягодных растений: сохранение, пополнение, изучение: Методические указания / под ред. А.А. Юшева, И.Г. Чухиной. Санкт-Петербург: ВИР; 2016).
- Zhang S.L., Huang S.X., Kitashiba H., Nishio T. Identification of *S*-haplotype-specific *F*-box gene in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Sexual Plant Reproduction*. 2007;20(1):1-8. DOI: 10.1007/s00497-006-0037-1

Информация об авторах

Адам Капранович Макаов, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, a.makaov@vir.nw.ru <https://orcid.org/0009-0006-0142-9433>

Ольга Емельяновна Радченко, научный сотрудник, отдел генетических ресурсов плодовых культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, o.radchenko@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1712-2018>

Александр Иванович Яремкив, магистрант, Адыгейский государственный университет, 385000 Россия, Республика Адыгея, г. Майкоп, ул. Первомайская, 208, canka98@ya.ru, <https://orcid.org/0009-0001-7313-737X>

Ольга Юрьевна Антонова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая, лаборатория молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. 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

Adam K. Makaov, 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, a.makaov@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0009-0006-0142-9433>

Olga E. Radchenko, Researcher, Fruit Crop Genetic Resources Department, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, o.radchenko@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1712-2018>

Alexandr I. Yaremkev, Master's Student, Adyge State University, 208, Pervomayskaya Street, Maikop, Republic of Adygea, 385000 Russia, canka98@ya.ru, <https://orcid.org/0009-0001-7313-737X>

Olga Yu. Antonova, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, 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 17.07.2025; одобрена после рецензирования 17.11.2025; принята к публикации 20.03.2026.

The article was submitted on 17.07.2025; approved after reviewing on 17.11.2025; accepted for publication on 20.03.2026.