

СУЧАСНИЙ СТАН ВИВЧЕННЯ ГЕНОМУ ЧЕРЕШНІ (*PRUNUS AVIUM* (L.) L.)

Я. І. ІВАНОВИЧ, аспірант*

Інститут садівництва НААН України

Якісне покращення і суттєве пришвидшення селекції черешні можливе при використанні маркер-опосередкованої селекції. В останнє десятиріччя активно тривають дослідження генетики господарсько цінних ознак черешні. Багато молекулярних досліджень ще тривають, але вже сьогодні відомі гени, що детермінують самоплідність, самобезплідність та розмір плодів у черешні.

Ключові слова: *S-локус, локуси кількісних ознак, маркер- опосередкована селекція, розмір плодів, черешня.*

Черешня є однією з важливих промислових плодових культур в Україні. За останні десятиріччя українськими селекціонерами створено велику кількість сортів черешні перспективних для промислового вирощування та конкурентоспроможних на світовому ринку. Метою нашого дослідження був пошук у літературних джерелах маркерів господарсько цінних ознак, які можна використати в маркер-опосередкованій селекції (MAS) черешні. За даними Продовольчої та сільськогосподарської організації ООН (FAO) у світі спостерігається стабільне зростання площі насаджень і вирощування плодів черешні. У зв'язку зі збільшенням попиту на плоди черешні на світовому ринку актуальною є потреба цілеспрямованого покращення сортименту в короткі строки.

Традиційна стратегія селекційних схем має ряд недоліків, серед яких

* Науковий керівник – доктор сільськогосподарських наук, професор М. О. Бублик.

потреба у великих площах насаджень, висока вартість і розтягнутість у часі. Тривалість селекційного процесу від схрещування до створення сорту в родині *Rosaceae* може коливатись в межах 12-20 років. Зважаючи на це, впровадження молекулярних підходів для пришвидшення добору генотипів може бути ключем до покращення ефективності селекційних програм [24].

Розвиток молекулярних маркерів значно полегшив вивчення генетики кількісних ознак через проведення аналізу локусів кількісних ознак (QTL) і ідентифікацію ділянок геному, що контролюють важливі ознаки і визначення їх генетичного ефекту. Молекулярні маркери можуть використовуватись на практиці через маркер-опосередковану селекцію, де добір базується на послідовності ДНК, а не на фенотипі [39].

Представників роду *Prunus* часто використовують як об'єкти досліджень в генетиці і селекції із застосуванням молекулярних маркерів через свою практичну цінність. Деякі види і міжвидові гібриди є модельними об'єктами молекулярно-генетичних досліджень (зокрема, потомство від схрещування *P. dulcis* Texas × *P. persica* Earlygold лягло в основу узагальненої генетичної карти кісточкових).

Черешня належить до підроду Вишня (*Cerasus* Pers.), роду Слива (*Prunus*). Вважається, що вона походить із Близько-Східного центру культурних рослин чи Кавказького регіону в результаті одомашнення дикої черешні. Черешня – зазвичай диплоїдна ($2n = 2x = 16$; проте є $3x = 24$; $4x = 32$) плодова порода із розміром геному близько 218 млн. нуклеотидів [8, 20, 21, 37].

У всьому світі селекція черешні проводиться за найважливішими характеристиками – якісними і кількісними. Якісними (моно- чи олігогенними) є: самоплідність/самобезплідність, колір м'якоті, соку й екзокарпу, альбінізм, карликовість габітусу, стійкість проти борошнистої роси. Проте більшість ознак є кількісними (полігенними): сила росту, швидкоплідність, строки цвітіння і дозрівання плодів (ранньо-, пізньостиглість), їх величина, урожайність, сила утримання плодів на плодоніжках, стійкість проти розтріскування плодів, бактеріального раку та ін. [3, 23, 25, 35, 40].

На відміну від персика, в якого багато якісних ознак плодів контролюються моно- чи олігогенно, у черешні більшість ознак є полігенними і мають складне успадкування [12].

Головною метою досліджень морфологічних та фізіологічних ознак є зменшення розмірів дерева, самоплідність, покращення якості плодів та урожайності [31]. Для полегшення вивчення генетики габітусу черешні Sansavini визначив три класи: компактні, спурові (шпорцеві) та стандартні крони. Компактний і спуровий габітуси контролюються багатьма рецесивними генами, через те, що схрещування між класами призводить до утворення в основному стандартної крони [18].

У представників родин Розові, Пасльонові та Подорожникові запилення контролюється системою гаметофітної само-несумісності (ГСН, GSI). Ця система генетично детермінована одним мультиалельним локусом (S) з двома генами, що кодують специфічні детермінанти (у стовпчику маточки та пилкових зернах) реакції само-несумісності. Запліднення у видів із ГСН відбувається лише тоді, коли S -алелі, що експресуються у пилковій трубці та стовпчику маточки відрізняються. Якщо S -алель гаплоїдного пилку збігається з одним із алелів диплоїдної тканини стовпчика – ріст пилкової трубки зупиняється, пилек відторгається і запліднення не відбувається (рис. 1) [6, 19, 34].

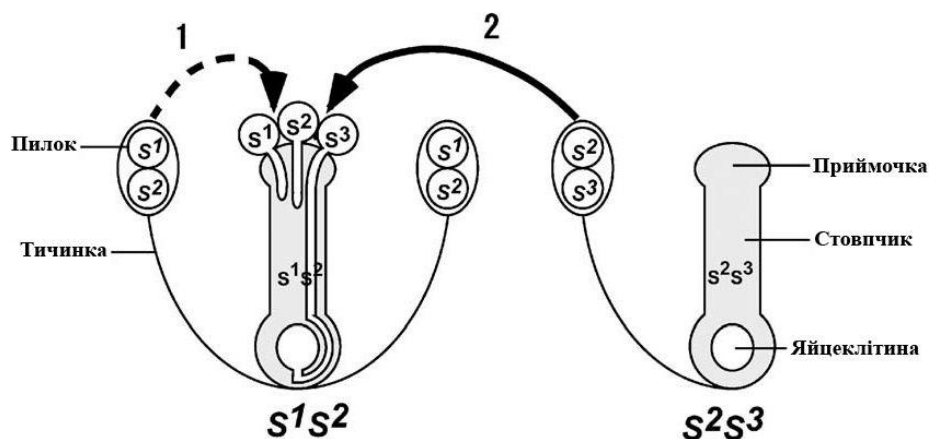


Рис. 1. Генетичний контроль системи гаметофітної само-несумісності. Самозапилення (1) та перехресне запилення (2) у самонесумісних сортів (за Тао, 2010).

У кісточкових культур (триба *Amygdaleae*) два зчеплені *S*-локусні гени беруть участь у відповіді на розпізнавання несумісності - *S-PHKазні* гени (кодують компонент стовпчика маточки – основний глікопротеїн з РНКазною активністю) та *SLF/SFB* (*S*-locus F-box/*S*-haplotype-specific F-box; кодують компонент пилку – білок з F-бокс мотивами). F-бокс домен білка є посередником підчас убіквітінування цільових білків SCF (Skp1–Cullin–F-box) E3-убіквітинлігазним комплексом, що руйнує 28S протеосоми. Сукупність специфічних *S*-алелів називають *S*-гаплотипом. *S*-локусні гени ідентифіковані у різних видів зерняткових та кісточкових: мигдалю, персика, черешні, вишні, звичайного та японського абрикоса, домашньої та японської сливи [6, 19].

Локус *S-PHKазні* у черешні локалізований в шостій парі хромосом (LG) [5]. Ген *S-PHKазні* включає п'ять консервативних ділянок (C1-C3, RC4 та C5), а також одну гіперваріабельну ділянку (HVR), яка грає важливу роль у розрізненні *S*-алелів. *S-PHKазний* ген також має два інтрони, для яких характерне алель-специфічне варіювання довжини (рис. 2) [34].

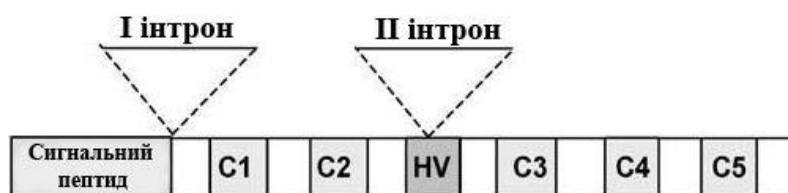


Рис. 2. Структура гена *S-PHKазні* у кісточкових (за Sonneveld, 2003).

Згідно з останніми даними Szikriszt, відомо 37 *S*-алелів та 45 перехресно-несумісних груп (CIG) (напр. у XLV групі – сорти із S_2S_{18}). Запилення сортів із однієї групи несумісності виключене. Сорти з унікальними несумісними генотипами можна поєднувати з деревами, що належать до будь-якої із груп перехресної несумісності, як універсальні запилювачі (наприклад сорт із S_1S_2 для сорту із S_3S_4). Унеможлиблюється зворотне схрещування з одним із батьків, якщо батьківські сорти були із гаплотипами, наприклад S_1S_2 та S_1S_3 , що ускладнює детальні генетичні дослідження [34, 35]. Алельний стан *S*-локусу сортів черешні вітчизняної селекції частково досліджувався і наведений у таблиці, самосумісні сорти невідомі.

Для черешні притаманний ауткросинг (схрещування рослин з різних ліній), який стимулюється ГСН [18]. У самонесумісних (SI) видів, зокрема черешні, сорти-продуценти мають поєднуватись із запилювачами для забезпечення взаємозапилення й утворення достатньої кількості зав'язі. Недостатня продуктивність насаджень часто спричинена сортами-запилювачами, тому самосумісні (SC) сорти пріоритетні в селекції черешні [19]. Порівняно із самонесумісними сортами, самоплідні (SF) зазвичай краще забезпечують високі стабільні врожаї та легше адаптуються до широкого діапазону умов навколишнього середовища. Також самоплідні сорти можуть використовуватись як універсальні запилювачі для самонесумісних [31].

S – гаплотипи деяких українських сортів черешні

Сорт	S-гаплотип	Група несумісності	Посилання
Перспективна	S ₁ S ₂	I	Hegedus, 2013
Кримська ніч	S ₁ S ₃	II	Hegedus, 2013
Транспортабельна	S ₁ S ₃	II	Hegedus, 2013
	S ₃ S ₄	III	Shuster, 2007
Червнева рання	S ₄ S ₅	V	Hegedus, 2013
Кутузовка	S ₃ S ₅	VII	Hegedus, 2013
Мелітопольська крапчаста	S ₃ S ₅	VII	Hegedus, 2013
Трудівниця степу	S ₂ S ₅	VIII	Hegedus, 2013
Гібрид 2115	S ₆ S ₉	X	Hegedus, 2013
Валерій Чкалов	S ₁ S ₉	XVIII	Bekefi, 2006 Shuster, 2007
	S ₁ S ₆	XX	Bekefi, 2006
19-21Б	S ₂ S ₉	–	Cabrera, 2012
Мелітопольська рання	S ₅ S ₁₄	XXXV	Shuster, 2007
Крупноплідна	S ₄ S ₅	V	Hegedus, 2013
	S ₅ S ₉	XXXVII	Bekefi, 2006 Shuster, 2007 Cabrera, 2012

У 1954 році в Інституті Джона Іннеса (Великобританія) шляхом опромінення пилку рентгенівським випромінюванням було створено лінію JI2420 (Emperor Francis (S₃S₄) × опромінений пилкок Napoleon (S₃S₄) з частковою мутацією пилку (PPM). У JI2420 було виявлено S-гаплотип S₄S₄'. Кодомінантний алель S₄' відрізняється від S₄ 4-нуклеотидною делецією в *SFB*, внаслідок чого стала можливою самосумісність. Розроблено підходи для диференціації сортів черешні з гаплотипами S₄S₄, S₄S₄' та S₄'S₄'. Метод

передбачає гніздову ПЛР із dCAPS-праймерами, а продукти ампліфікації можуть бути додатково розрізані рестриктазами *EcoRV* та *MboI* [19].

У промислових насадженнях, генетичних дослідженнях і селекційних програмах на сьогодні активно використовуються самосумісні сорти черешні, серед них: Lapins, Skeena (S_1S_4'); Stella, Sweetheart, Sunburst (S_3S_4'); Kronio ($S_5'S_6$); Maiolina a Rappu (S_3S_5'); Temprana de Sot і його спорт Cristobalina (S_3S_6) та багато ін. [6, 19, 22, 36].

Самосумісність було виявлено у різних представників роду *Prunus*, а більшість мутацій, що її спричиняють знайдено в *S*-локусі. Мутації *S-PHKazi* були виявлені у мигдалю, японської сливи та вишні. Часткові мутації пилку знайдено у японського абрикоса, вишні й черешні: штучно-індуковані – у JI2434 та JI2420; природними самосумісними сортами є Kronio та Maiolina a Rappu. Водночас Sachi та ін. знайшли генотипи, що несуть мутації, локалізовані поза *S*-локусом. Серед кісточкових, самосумісність, що, можливо, зв'язана з поза-*S*-локусними факторами відома у мигдалю (функція стовпчика) та абрикоса сорту Canino й черешні сорту Cristobalina (функція пилку). Лocus поза-*S*-локусної само-сумісності у Cristobalina знайдено в третій парі хромосом у F_1 -гібридів Brooks \times Cristobalina [6, 22].

Серед характеристик плодів, основна увага приділяється розміру, зовнішньому вигляду, забарвленню, смаковим якостям і тривалості зберігання. Хоча ці ознаки сильно зв'язані з генотипом, на них значною мірою впливають ґрунтово-кліматичні умови, сорто-підщепні комбінування та агротехнічні заходи [31, 40].

Нещодавно Ganopoulos та ін. дослідили зв'язки між мікросателітними (SSR і ISSR) маркерами і важливими характеристиками плодів черешні: масою плоду, його полярним діаметром, кольором екзокарпу, вмістом сухих розчинних речовин та часом дозрівання плодів із застосуванням множинного регресійного аналізу (MRA). Дослідники використали 21 сорт черешні, серед яких 19 грецьких сортів та два міжнародні [13]. В результаті стали відомими

асоціації господарсько цінних ознак і групи маркерів, проте залишаються невідомими гени, що детермінують ці ознаки.

Діаметр плодів черешні є важливим фактором у виборі споживача й основною складовою для формування відпускнуої і ринкової ціни. Великоплідні черешні придатні для більш ефективного збору урожаю, скорочення часу сортування та ін. робіт, особливо за однорідної величини плодів [31]. Плід черешні, як і інших представників роду, складається з тонкої захисної шкірки (екзокарпу), м'якоті (мезокарпу) і порожнистої кісточки (ендокарпу) з насінною. Морфологічно культурна і дика черешні дуже схожі, зокрема, формою плодів. Єдиною вагомою відмінністю є тільки їх розмір. Традиційно дослідження QTL у черешні зосереджені саме на ідентифікації функціональних генів, зокрема, тих, що відповідають за величину плодів.

Незважаючи на важливість цієї селекційної ознаки збільшення величини плодів у черешні залишалось складним через недостатню вивченість генетичного контролю. Тільки нещодавні дослідження виявили гени зв'язані з величиною плодів [9, 39].

Зв'язок між величиною плодів та кількістю і розмірами клітин досліджувався у плодових, у тому числі й у черешні. Yamaguchi дійшов висновку, що різниця між величиною плодів у черешні спричинена як розміром, так і кількістю клітин мезокарпу. Подібно, Olmstead повідомляв, що відмінність сортів за цією ознакою в першу чергу зумовлена кількістю клітин мезокарпу, хоча їх розмір має значення, але знаходиться під слабшим генетичним контролем. Крім кількості та розміру клітин мезокарпу не знайдено більше надійних генетично зумовлених чинників величини плодів [39].

Розмір плодів черешні вважається кількісною ознакою і як наслідок її важко аналізувати використовуючи класичні генетичні методи. Серед культурних представників родини Rosaceae генетичний аналіз величини плодів розпочався досить недавно [39].

Дослідивши популяцію від схрещування Emperor Francis (EF, ~8 г) та дикої черешні New York 54 (NY, ~2 г), Zhang ідентифікував три QTL розміру

плодів. У другій парі хромосом локуси картовано у EF та NY та в шостій – лише у NY. Виявлено, що локуси розміру плодів: довжини (три QTL), діаметру (три QTL) та маси (три QTL) збігаються за локалізацією і перекриваються. У другій групі зчеплення EF ідентифіковано також один локус кількості клітин мезокарпу, що утворює кластер із QTL розміру плодів. Виходячи з цього – основою зростання величини плодів у черешні є збільшення кількості клітин мезокарпу. Крім того, у шостій групі зчеплення в NY локуси довжини й діаметра кісточки та величини плодів розміщені одним кластером, тобто основи морфологічного збільшення розміру плодів і кісточки відрізняються [39].

Нещодавно Rosyara та ін. провели більш повний аналіз QTL, пов'язаних із величиною плодів у черешні. Досліджувались чотири двобатьківські родини повних сибсів: NY × EF, Regina × Lapins, Namati × Summit та Namati × Крупноплідна. В підсумку було ідентифіковано шість QTL маси плодів (FW): у першій парі хромосом – *FW_G1*, у другій – *FW_G2a*, *FW_G2b*, *FW_G2c*, у третій – *FW_G3*, в шостій – *FW_G6*. Сумарно локуси пояснюють 76% усіх фенотипових варіацій, це свідчить про те, що ознака значною мірою контролюється генетично, а описані QTL пояснюють основні компоненти генетичної варіації [30]. Встановлено також, що локус маси плодів у третій парі хромосом колокалізований із головним локусом, зчепленим із кольором плодів і м'якоті та з локусом самоплідності типу *Cristobalina*; локус маси плодів у шостій парі хромосом колокалізований із *S*-локусом, що контролює самоплідність та перехресну сумісність [16].

Перші два локуси (*FW_G2a* та *FW_G2b*) з другої групи зчеплення мають найбільший адитивний вплив на величину плодів. Дещо менший, проте також значний вклад *FW_G3*, зменшується у *FW_G1*, *FW_G6* та *FW_G2c*. Маркери (CPST038 та BPPCT034), що фланкують *FW_G2a*, можуть використовуватись для визначення алельного стану локусу. Позитивний гаплотип (*QQ*) у потомстві R × L та NY × EF за алелем *FW_G2a* характеризується ампліконами довжиною 190/204 нп (CPST038) та 255/255 нп (BPPCT034). Фрагмент BPPCT034₂₅₅ корелює із предомінантно позитивним адитивним ефектом на величину плодів.

Проте цій моделі не відповідає ампліфікація у черешні Крупноплідна фрагментів 190/192 нп (CPSCT038) та 223/223 нп (BPPCT034). Вважається, що найбільш перспективними локусами для селекції в цьому напрямі є *FW_G2a*, *FW_G2b* та *FW_G3*, оскільки алелі великоплідності на сьогодні недостатньо закріплені в сортименті черешні [30].

Паралельно із картуванням QTL De Franceschi та ін. проводили ідентифікацію генів, пов'язаних із збільшенням розмірів (маси) плодів черешні. Раніше Cabrera [4] пропонував кілька генів-кандидатів, проте істинні гени було встановлено після використання синтениї з геномом персика. Вперше ген маси плоду *FW2.2* був описаний як результат одомашнення і селекції томатів. Члени родини генів *FW2.2* у кукурудзи отримали назву регуляторів кількості клітин (*CNR*). В родину *FW2.2/CNR* входять гени, які беруть участь у регуляції кількості клітин, що в результаті відображається на рості рослин і розмірі органів [9, 14, 17].

У геномі персика виявлено 23 гени, що є членами цієї родини та локалізовані на восьми парах хромосом. Два з цих *CNR*-генів знаходяться в раніше відкритих QTL в другій та шостій парах хромосом у черешні та отримали назву *PavCNR12* і *PavCNR20*, відповідно [9].

При порівнянні послідовностей *PavCNR12* із 17 сортів черешні було виявлено три алельних варіанти (*PavCNR12-1*, *PavCNR12-2* та *PavCNR12-3*), що мають 14 поліморфних нуклеотидів у некодуючих ділянках (у другому та третьому інтронах і промоторній ділянці). Стосовно *PavCNR20*, у сортів Emperor Francis, Ambrunes та Cristobalina ідентифіковано один мономорфний алель, а в New York 54 – ще один алель; вони дивергентні між собою або можливо є паралогами, а не одним геном. У потомства (NY × EF та R × L) із гомозиготним алелем *PavCNR12-1/1* найвища маса плодів та мезокарпу, водночас, *PavCNR12-2* є дрібноплідним алелем. Третій – *PavCNR12-3* асоційований із найменш сприятливим локусом у потомстві NY × EF [9].

Варіації гена *PavCNR12* у черешні можуть використовуватись для пошуку гомозигот за алелем *PavCNR12-1*, такі генотипи демонструють на 9-16% більшу

масу плодів [9]. Встановити алельний стан локусу можна використовуючи метод елонгації алель-специфічних праймерів (ASPE) [4] з подальшим секвенуванням ПЛР-продуктів із однонуклеотидним поліморфізмом (SNP) і вирівнюванням первинної нуклеотидної послідовності. Таким чином було встановлено, що алель *PavCNR12-1* у черешні Крупноплідна знаходиться в гомозиготному стані.

Щільність (твердість) плодів – одна з ознак, що найбільше цінується, забезпечує краще дозрівання плодів на дереві, більшу транспортабельність, триваліший термін зберігання, придатність для холодильного зберігання і експортну цінність [31]. Найважливіший і найстабільніший QTL щільності плодів черешні, що пояснює високий відсоток варіації, виявив Quero-García у другій парі хромосом у *Lapins* [28].

Колір екзокарпу і самого плоду у черешні варіює в червоних та жовтих відтінках. Створюють забарвлення плодів черешні антоціани, які синтезуються в результаті транскрипційної регуляції шляхів метаболізму флавоноїдів; цими ж обмінними шляхами синтезуються споріднені вторинні метаболіти – таніни й флавоноли [27].

Успадкування кольору плодів у популяціях черешні вивчається вже тривалий час. На сьогодні відомо три генетичні фактори. Фактор кольору м'якоті (*F*) і головний фактор кольору шкірки (*A/a*) є ключовими детермінантами кольору плодів, коли червоне забарвлення проявляє неповне домінування над жовтим. Третім є мінорний фактор кольору шкірки (*B/b*), що може надавати їй рум'янець, але епістатично маскується домінантним алелем *A* [27].

Нещодавно Parker дослідив шляхи метаболізму флавоноїдів у черешні та їх транскрипційну регуляцію. У червоноплідної черешні *Lapins* виділено гени, що кодують ферменти із метаболічних шляхів флавоноїдів та можливі регулятори їх синтезу. Ген *PaMYBA1* кодує R2R3-MYB фактор, який має високу подібність послідовності із специфічними антоціановими регуляторами. *PaMYBA1* характеризується здатністю до активації промоторів генів

антоціанів, флавоноїдів і танінів. Припускається, що *PaMYBA1* є важливим фактором кольору, тому що між накопиченням антоціанів та експресією *PaMYBA1* у *Lapins* і *Rainier* та флавоноїдів у *Sam* виявлена кореляція. Транскрипційний аналіз показав, що *PaMYBA1* необхідний для утворення забарвлення плодів у черешні, в той час як *PaMYBA1* не експресується у позбавлених антоціанів жовтих плодах *Yellow Glass*. Натомість, подібні рівні експресії *PaMYBA1* у рум'яних, червоних і чорних плодах черешні свідчать про наявність додаткових факторів, які викликають відмінність інтенсивності забарвлення [27].

Згідно з існуючою моделлю регуляції метаболічних шляхів флавоноїдів, включені також додаткові антоціанінові фактори типу MYB: *PaMYBA2* та *PaMYBA3*, які беруть участь у формуванні пігментації [27].

Для з'ясування локалізації QTL картували популяцію від схрещування EF (рум'яна шкірка, жовта м'якоть) та NY (коричнево-червона шкірка, темно-червона м'якоть). Sooriyathirana з колегами виявили три QTL: по одному локусу в третій, шостій та восьмій парах хромосом. Припускається, що ген *PavMYB10* із третьої групи зчеплення є головним детермінантом кольору шкірки та м'якоті плодів черешні, а локуси із шостої та восьмої пари хромосом є мінорними і беруть участь в епістатичних взаємодіях. У досліджених сортів черешні виявлено два алельні стани гена *PavMYB10* – *h* та *k*, що відрізняються одонуклеотидними замінами у промоторній ділянці [33]. Wünsch та ін. з'ясували, що диференційна експресія *PavMYB10* у білих і червоних сортів черешні впливає на рівень антоціанів. Так, у білих сортів є велика інсерція послідовностей *PavMYB10* в одному алелі та відсутня транскрипція. Вважається, що ця мутація і невеликі зміни в послідовності промотора *PavMYB10* є причиною низької експресії цього гена в білих сортів [38].

Фенологія, особливо репродуктивної сфери, є критичною для плодових дерев, через те що урожай і якість плодів прямо залежать від правильного розвитку квітки [7]. В цьому напрямі селекцію проводять за такими

параметрами: пізніє цвітіння, раннє і пізніє дозрівання плодів, їх одномірність, низька й висока потреба в холоді [31].

У черешні процеси цвітіння індукуються специфічними коливаннями холоду і тепла. Якщо температура стає середньою процес порушується [7].

Використовуючи шеститисячний набір SNP, створений Pease та ін. для черешні, картовано дві внутривидові популяції F_1 : Regina \times Lapins (R \times L) та Regina \times Garnet (R \times G). Локуси кількісних ознак, що контролюють потребу в холоді були знайдені в першій-сьомій парах хромосом. Для обох ознак більшість локусів виявляли в четвертій групі зчеплення. Гени-кандидати ідентифіковані поєднанням функціональних даних з геному персика і локусів обох досліджуваних кількісних ознак [7]. У подальшому встановлено, що найбільш стабільні локуси дати розкриття бруньок локалізовані в четвертій та восьмій парах хромосом [29].

З огляду на глобальні кліматичні зміни, фенологія цвітіння деревних культур є ключовим фактором, тому що впливає на врожай. У плодкових садах вона має непрямий вплив на пошкодження весняними заморозками, запилення, період спокою і дозрівання плодів [11].

Dirlewanger та ін., поряд із популяціями персика та абрикоса досліджували F_1 -потомство R \times L [11]. У результаті аналізу багаторічних даних популяції R \times L, у Regina було виявлено дві найбільш стабільні QTL дати цвітіння в четвертій парі хромосом, з яким пов'язують 47,2% загальної варіації, а також у п'ятій групі зчеплення. У Lapins найбільш стабільний локус виявлено в першій групі зчеплення, що пояснює 20,6% варіації. Сумарно QTL дати цвітіння знайдені в першій-сьомій хромосомах черешні (рис. 3) [11, 29].

У черешні рівень успадкування строку цвітіння вищий за успадкування строків дозрівання плодів, що узгоджується з величиною коефіцієнта кореляції [11]. Припускають, що деякі гени, включені в контроль часу цвітіння можуть збігатися у різних видів, а потреба в холоді і дата цвітіння можуть бути детермінованими тими ж чи сильно зчепленими генами. Локалізація QTL дати цвітіння з четвертої пари хромосом у Regina збігається із ділянкою гена

Late blooming (Lb) у мигдалю. QTL дати цвітіння з першої групи зчеплення виявлено у двох популяціях персика та у черешні *Larins* в тих самих ділянках, що й два QTL дати цвітіння, потреби у холоді та локус постійного росту (*Evg*) у персика. В п'ятій парі хромосом виявлено два QTL дати цвітіння, що були знайдені у персика *Ferjalou Jalousia* × *Fantasia* (J×F) та черешні *Regina* [11].

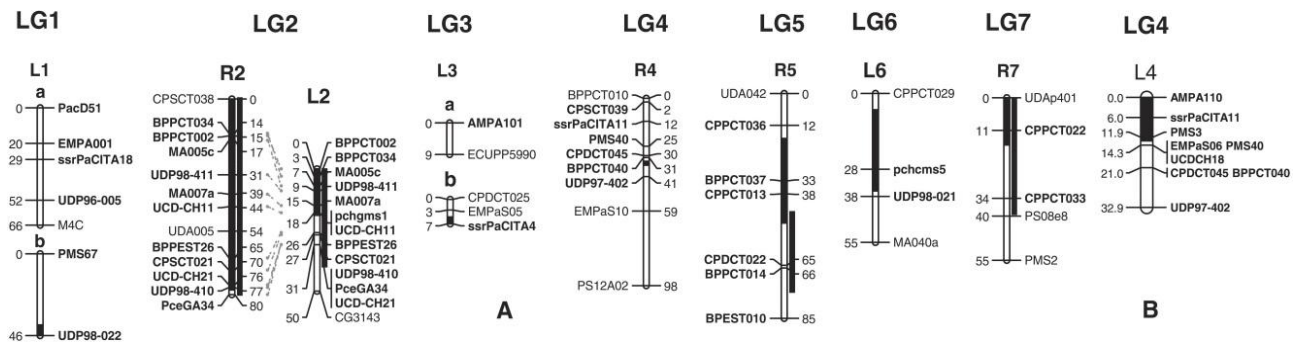


Рис. 3. Розміщення локусів кількісних ознак, що контролюють дату цвітіння (A) та час дозрівання плодів черешні (B) на генетичній карті популяції R×L. Маркери, спільні для кількох груп зчеплення показані жирним та з'єднані лініями. Суцільними смугами показані довірчі інтервали на 1000 «бутстрепів». Наведені тільки багаторічні дані (за Dirlewanger, 2012).

Тривалість сезону дозрівання плодів і як наслідок періоду їх реалізації є першочерговою перевагою для черешні. Водночас її постачання у регіонах із помірним кліматом часто не довше п'яти-шести тижнів. Серед кісточкових черешня дозріває найшвидше, починаючи з кінця травня і до кінця липня із середнім строком дозрівання – у середині червня. Для збільшення періоду дозрівання плодів черешні проводиться селекція на створення конвеєра сортів, від надранніх до дуже пізніх [11, 31].

Поряд із дослідженнями дати цвітіння Dirlewanger та ін. вивчали локуси зв'язані із часом дозрівання плодів у черешні. У популяціях черешні, персика й абрикоса виявлено значно менше локусів асоційованих зі строками дозрівання плодів, на відміну від QTL строків цвітіння. В результаті аналізу багаторічних даних популяції R×L, у *Larins* було знайдено один QTL з четвертої пари хромосом, що пояснює 20,4% варіації у строках дозрівання плодів. У персика, абрикоса і в популяції T×E цей консервативний локус було картовано в тій

самій хромосомній позиції, а в мигдалю він колокалізований із геном *Lb*. Локуси, що контролюють строк дозрівання плодів черешні, крім четвертої пари хромосом, знаходяться також у першій, п'ятій та шостій групах. Лише два QTL із *Larins* пояснюють більше 20% варіацій ознаки: в шостій (47.5%) та четвертій (21.8%) парах хромосом (рис. 3) [11, 29].

Поглиблений аналіз послідовностей QTL із четвертої пари хромосом, оснований на прогнозуванні функцій білків і їх потенційної участі у строках цвітіння та дозрівання плодів, сприяв виділенню чотирьох генів-кандидатів [11]. Послідовність одного з них, високо подібна до ERF4 (*Arabidopsis ethylene-responsive transcription factor 4*). ERF4 є хорошим геном-кандидатом стосовно контролю строків дозрівання плодів. Родина генів ERF є однією із найбільших родин транскрипційних факторів у рослин, що включають консервативні ДНК-зв'язуючі домени (ERF-домени). Більшість ERF-генів зв'язані із дозріванням плодів чи з метаболізмом етилену і відомі у помідорів, сливи, яблуні та ківі. Зокрема VII підродина (включає ERF4) генів ERF частково пов'язана із дозріванням плодів. Гіпотеза, що ERF4 контролює строки дозрівання плодів у клімактеричних культур, може пояснити зв'язок цього QTL та строків дозрівання плодів, тому що у персика й абрикоса (клімактеричні плодови культури) проявляється значно сильніший ефект, ніж у черешні (неклімактерична порода) [11].

Ознаки стійкості проти абіотичних та біотичних чинників є економічно важливими. Продовжуються дослідження генетики стійкості, толерантності до розтріскування плодів у черешні [1]. Дослідження стійкості проти борошнистої роси (*Podosphaera clandestina* (Wallr. Fr.) Lév.) сприяли виявленню гена *Pmr1*. Наразі, сорти-донори *Pmr1* активно впроваджуються в селекційні програми [26].

Висновок. За результатами останніх досліджень, маркер-опосередкована селекція черешні може бути проведена тільки за деякими господарсько цінними ознаками – можливе визначення алельного стану гена *PavCNR12*, пов'язаного з величиною плодів і *S*-локусу, ідентифікація геноплазми із дефектним локусом

самоплідності S_4' . Нами розроблено і планується впровадження нового методу ідентифікації алельних варіантів *PavCNR12* за допомогою CAPS-маркерів. Незабаром імовірно стане можливим визначення кольору плодів черешні через ідентифікацію алелів гена *PavMYB10*. Повногеномне сиквенування ще триває, а активне впровадження SNP-маркерів пришвидшить ідентифікацію генів важливих господарсько цінних ознак та маркер-опосередковану селекцію черешні.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Balbontín C. Cracking in sweet cherries: a comprehensive review from a physiological, molecular, and genomic perspective / C. Balbontín, H. Ayala, R.M. Bastías // Chilean JAR. – 2012. – Vol. 73, №1. – P. 66–72.
2. Bekefi Zs. Review of sweet and sour cherry incompatibility / Zs. Bekefi // International Journal of Horticultural Science. – 2006. – Vol. 12, № 2. – P. 111 – 116.
3. Botu M. Stone fruit germplasm resource and exploitation and links with ECPGR and EUFRIN / M. Botu // Join meeting of European COST&ISHS – 1st int. congress for bacterial diseases of stone fruits and nuts. – Zurich, 2012. – 53 p.
4. Cabrera A. Genetic analysis and fruit weight QTL fine mapping in sweet cherry (*Prunus avium* L.). Theses of doctoral (Ph.D.) dissertation / A. Cabrera. – Ohio, 2011. – 20 p.
5. Cabrera A. Rosaceae conserved orthologous sequences marker polymorphism in sweet cherry germplasm and construction of a SNP-based map / A. Cabrera, U.R. Rosyara, P. De Franceschi // Tree Genetics & Genomes. – 2012. – Vol. 8. – P. 237–247.
6. Cachi A. M. Characterization and mapping of non-S gametophytic self-compatibility in sweet cherry (*Prunus avium* L.) / A. M. Cachi, A. Wünsch // J. of Exp. Bot. – 2011. – Vol. 62, №6. – P. 1847–1856.
7. Castede S. Genetic determinism and candidate genes for chilling requirement and flowering date in sweet cherry (*Prunus avium*) / S. Castede, J.A. Campoy, M., Lafargue // 6th Rosaceous Genomics Conference. – Mezzocorona, 2012. – P. 80.

8. Das B. *Prunus* diversity - early and present development: A review / B. Das, N. Ahmed, P. Singh // Int. J. Biodivers. Conserv. – 2011. – Vol. 3, №14. – P. 721-734.
9. De Franceschi P. Cell number regulator genes in *Prunus* provide candidate genes for the control of fruit size in sweet and sour cherry / P. De Franceschi, T. Stegmeir, A. Cabrera // Mol. Breeding. – 2013. – Vol. 32, № 2. – P.311-326.
10. Dirlewanger E. Cherry. Chapter 3 / E. Dirlewanger, J. Claverie, A. Wunsch // Genome mapping and molecular breeding in plants. Vol. 4. Fruits and nuts [Ed. C. Kole]. – Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007. – P. 103 - 118.
11. Dirlewanger E. Comparison of the genetic determinism of two key phenological traits, flowering and maturity dates, in three *Prunus* species: peach, apricot and sweet cherry / E. Dirlewanger, J. Quero-García, L. Le Dantec // Heredity. – 2012. – Vol. 109, № 5. – P. 280–292.
12. Dirlewanger E. The genetic control of fruit quality traits in two *Prunus* species: peach and cherry / E. Dirlewanger, L. Le Dantec, J.A. Campoy // 6th Rosaceous Genomics Conference. – Mezzocorona, 2012. – P. 36.
13. Ganopoulos I.V. Genetic diversity, structure and fruit trait associations in Greek sweet cherry cultivars using microsatellite based (SSR/ISSR) and morpho-physiological markers / I.V. Ganopoulos, K. Kazantzis, I. Chatzicharisis // Euphytica. – 2011. – Vol. 181, № 2. – P. 237-251.
14. Guo M. Cell number counts – The *fw2.2* and *CNR* genes and implications for controlling plant fruit and organ size / M. Guo, C.R. Simmons // Plant Science. – 2011. – Vol. 181. – P. 1 – 7.
15. Hegedus A. Fruit antioxidant capacity and self-incompatibility genotype of Ukrainian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars highlight their breeding prospects / A. Hegedus, D. Taller, N. Papp // Euphytica. – 2013. – Vol. 191. – P. 153 – 164.
16. Iezzoni A. Final project report. Consulting for the Pacific Northwest sweet cherry breeding program / A. Iezzoni, N. Oraguzie, M. Whiting. – 2013. – P. 7.
17. Iezzoni A. The genetic control of fruit size in cherry (*Prunus*): from phenotype to candidate genes / A. Iezzoni, A. Cabrera, P. De Franceschi // 6th Rosaceous Genomics Conference. – Mezzocorona, 2012. – P. 32.

18. Iezzoni A.F. Cherries / A.F. Iezzoni // Temperate Fruit Crop Breeding [Ed. by J.F. Hancock]. – Ruel-Malmaison: Springer Science+Business Media B.V., 2008. – P. 151-175.
19. Ikeda K. Molecular markers for the self-compatible S4'-haplotype, a pollen-part mutant in sweet cherry (*Prunus avium* L.) / K. Ikeda, A. Watari, K. Ushijima // J. Amer. Soc. Hort. Sci. – 2004. – Vol. 129, №5. – P. 724-728.
20. Kappel F. Cherry. Chapter 13 / F. Kappel, A. Granger, K. Hrotkó // Fruit Breeding, Handbook of Plant Breeding 8 [Ed. M.L. Badenes, D.H. Byrne]. – Ruel-Malmaison: Springer Science+Business Media LLC, 2012. – P. 459-504.
21. Lacis G. Characterisation of the Latvian and Swedish sweet and sour cherry genetic resources: doctoral thesis / G. Lacis. – Alnarp, 2010. – 39 p.
22. Marchese A. A new self-compatibility haplotype in the sweet cherry 'Kronio', S₅, attributable to a pollen-part mutation in the SFB gene / A. Marchese, R.I. Boskovic, T. Caruso // Journal of Experimental Botany. – 2007. – Vol. 58, № 15-16. – P. 4347-4356.
23. Martínez-Gómez P. Application of recent biotechnologies to *Prunus* tree crop genetic improvement / P. Martínez-Gómez, R. Sánchez-Pérez, M. Rubio // Cien. Inv. Agr. – 2005. – Vol. 32, № 2. – P. 73-96.
24. Meneses C. Using genomics to improve fruit quality / C. Meneses, A. Orellana // Biol Res. – 2013. – Vol. 46. – P. 347-352.
25. Olmstead J. W. *Pmr1*, a gen for resistance to powdery mildew in sweet cherry / J.W. Olmstead, G.A. Lang // HortScience. – 2002. – Vol. 37, № 7. – P. 1098-1099.
26. Oraguzie N. Identification of QTLs associated with powdery mildew resistance in sweet cherry (*Prunus avium* L.) / N. Oraguzie, M. Bellamkonda, C. Peace // 2011 Washington State Annual Report to the W-6 Technical Advisory Committee [C. Miles, J. King]. – 2011. – 20 p.
27. Parker J.-L. An investigation into flavonoid pathway regulation in sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit: theses of doctoral (Ph.D.) / J.-L. Parker. – Adelaide, 2010. – 199 p.

- 28.Quero-García J. QTL detection for fruit weight, fruit firmness and fruit cracking tolerance in sweet cherry / J. Quero Garcia, J. A. Campoy, J. Joly // Plant and Animal Genome XX Conference. – San Diego, 2012. – P. 496.
- 29.Quero-García J. QTL Detection of Important Agronomic Traits for Sweet Cherry Breeding / J. Quero-García, A. Fodor, A. Reignier // Acta Hort. (ISHS). – 2014. – Vol. 1020. – P. 57-64.
- 30.Rosyara U.R. Fruit size QTL identification and the prediction of parental QTL genotypes and breeding values in multiple pedigreed populations of sweet cherry / U.R. Rosyara, M.C.A.M. Bink, E. van de Weg // Mol. Breeding. – 2013. – Vol. 32, № 4. – P.875-887.
- 31.Sansavini S. Sweet cherry breeding programs in Europe and Asia / S. Sansavini, S. Lugli // Acta Hort. (ISHS). – 2008. – Vol. 795. – P. 41-58.
- 32.Schuster M. Determination of self-incompatible genotypes in sweet cherry (*Prunus avium* L.) accessions and cultivars of the German Fruit Gene Bank and from private collections / M. Schuster, H. Flachowsky, D. Kohler // Plant Breeding. – 2007. – Vol. 126. – P. 533 – 540.
- 33.Sooriyapathirana S.S. QTL analysis and candidate gene mapping for skin and flesh color in sweet cherry fruit (*Prunus avium* L.) / S.S. Sooriyapathirana, A. Khan, A.M. Sebolt // Tree Genetics & Genomes. – 2010. – Vol. 6. – P. 821 – 832.
- 34.Szikriszt B. Variability of the sweet cherry *S*-locus in the gene centre. Theses of doctoral (Ph.D.) dissertation / B. Szikriszt. – Budapest, 2012. – 20 p.
- 35.Theiler-Hedtrich R. Inheritance of tree and fruit characters in progenies from crosses of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars / R. Theiler-Hedtrich // Euphytica. – 1994. – Vol. 77, №1-2. – P. 37-44.
- 36.Tobutt K.R. Cherry (in)compatibility genotypes – an updated cultivar table / K.R. Tobutt, T. Sonneveld, Z. Bekefi // Acta Hort. (ISHS). – 2004. – Vol. 663. – P. 667 – 672.
- 37.United States Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service. Plants Profile for *Prunus avium* (sweet cherry). [Online Database]. <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?29844> (05 December 2014)

38. Wünsch A. Differential expression of cherry MYB10 in white and red varieties is responsible for anthocyanin levels / A. Wünsch, K. Lin-Wang, A. C. Allan // 7th International Rosaceae Genomics Conference. – Seattle, 2014. – P.95.

39. Zhang G. Fruit size QTL analysis of an F₁ population derived from a cross between a domesticated sweet cherry cultivar and a wild forest sweet cherry / G. Zhang, A. M. Sebolt, S. S. Sooriyapathirana // The Genetics & Genomes. – 2010. – Vol. 6. – P. 25-36.

40. Zhao Y. Pedicel-fruit retention force in sweet cherry (*Prunus avium* L.) varies with genotype and year / Y. Zhao, B. Athanson, M. Whiting // Scientia Horticulturae. – 2013. – Vol. 150. – P. 135-141.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНОМА ЧЕРЕШНИ (*PRUNUS AVIUM* (L.) L.)

Я.И. Иванович

Качественное улучшение и существенное ускорение селекции черешни возможно при использовании маркер-сопутствующей селекции. В последнее десятилетие активно продолжаются исследования генетики хозяйственно-ценных признаков черешни. Много молекулярных исследований еще продолжаются, но уже сегодня известны гены, детерминирующие самоплодность, самобесплодность и размер плодов у черешни.

Ключевые слова: *S-локус, локусы количественных признаков, маркер-сопутствующая селекция, размер плодов, черешня.*

**CURRENT STATUS OF STUDYING THE SWEET CHERRY
(*PRUNUS AVIUM* (L.) L.) GENOME**

Y. I. Ivanovych

Qualitative improvement and a significant acceleration of breeding sweet cherry possible under using marker assisted selection. The genetics research of agronomically-important traits in sweet cherry was actively continues in the last decade. Many molecular studies are still ongoing, but already known genes that determine self-compatibility, self-incompatibility and fruit size in sweet cherry.

Keywords: *S-locus, quantitative trait loci, marker assisted selection, the fruit size, cherry.*