

## Determinacija S-alelne konstitucije nekih sorti trešnje (*Prunus avium* L.)

Sladana Marić<sup>1</sup>, Sanja Radičević<sup>1</sup>, Radosav Cerović<sup>2</sup>, Dragana Vranić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut za voćarstvo, Kralja Petra I/9, 32000 Čačak, Srbija

E-mail: nidzovicladja@yahoo.com

<sup>2</sup>Inovacioni centar Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, Carnegieva 4, 11120 Beograd, Srbija

Primljeno: 31. marta 2015; prihvaćeno: 3. aprila 2015.

**Rezime.** U radu su predstavljeni rezultati S-genotipizacije sorti trešnje Germersdorfer, Hedelfinger i Junska rana iz kolekcionalih i proizvodnih zasada u Republici Srbiji i Rumuniji. Primenom lančane reakcije polimeraze (PCR metoda) sa konsenzus prajmerima za drugi intron i alel-specifičnim prajmerima kod ispitivanih uzoraka su utvrđene alelne konstitucije  $S_3S_4$  (Germersdorfer 1),  $S_3S_{12}$  (Germersdorfer 2–8 i Hedelfinger 1–2) i  $S_3S_5$  (Hedelfinger 3). Rezultati istraživanja su potvrdili da su korišćene metode determinacije S-genotipa veoma pogodne za pouzdanu i relativno brzu genotipizaciju sorti trešnje. Po prvi put je određena S-alelna konstitucija sorte Junska rana ( $S_3S_9$ ), na osnovu koje se ova sorta svrstava u grupu inkompatibilnosti XVI.

**Ključne reči:** *Prunus avium*, sorta, S-alelna konstitucija, genotipizacija, grupa inkompatibilnosti

### Uvod

Trešnja (*Prunus avium* L.) je samobesplodna vrsta voćaka, čija je auto-inkompatibilnost gametofitnog tipa, regulisana ekspresijom dva gena S-lokusa (*S-RNaza* i *SFB*) (Bošković & Tobutt, 1996; Yamane et al., 2003). Visoka polimorfnost S-lokusa trešnje (do sada identifikovano 25 alela *S-RNaza*; Vaughan et al., 2008) čini ga veoma pogodnim kako za genotipizaciju, tako i za preciznu determinaciju S-alelnih konstitucija genotipova koje do sada nisu određene.

Sorte trešnje su klasifikovane u grupe inkompatibilnosti na osnovu S-genotipa, a prema Schuster (2012) poznato je 47 grupa. Isti autor navodi da kod trešnje postoje brojne nedoumice u genotipizaciji sorti, s obzirom na to da u različitim regijama postoje raz-

ličiti nazivi za istu sortu (sinonimi), kao i homonimi u nazivima različitih genotipova. Kao tipičan primer se navode sorte koje imaju alelnu konstituciju  $S_3S_{12}$  i pripadaju grupi inkompatibilnosti XXII (Schneiders Spalte Knorpelkirsche, Germersdorfi, Ziraat 0900 i dr.), zato što još uvek nije razjašnjeno da li su neke sorte ove grupe različiti genotipovi, ili su njihovi nazivi sinonimi. Bargioni (1996) navodi da postoji velika varijabilnost među genotipovima poznatim pod imenom Germersdorfer u različitim delovima Evrope. Prema istom autoru, sorta Hedelfinger u Evropi se na osnovu grupe inkompatibilnosti razlikuje od klonova iste sorte u severnoj Americi.

U tipičnim područjima gajenja trešnje u Republici Srbiji (Grocka, Ritopek), sorte Germersdorfer i Hedelfingen se takođe teško identifikuju. Nikolić (2008)

navodi da su one sličnog oblika, krupnoće i boje pokožice ploda, pa i vremena sazrevanja plodova, zbog čega se smatra da se radi o istoj sorti, koja nosi ime Karminka u Grockoj, odnosno Erc u Ritopeku. Prema ovom autoru, proizvođači u Grockoj smatraju da postoje dve sorte Karminka, odnosno u Ritopeku dve sorte Erc.

I pored postepene izmene sortimenta introdukcijom novijih sorti, Germersdorfer i Hedelfinger se i danje svrstavaju u grupu najboljih poznih sorti trešnje, izvanrednog kvaliteta mezokarpa (Milatović et al., 2015), dok je sorta Junska rana interesantna zbog ranog vremena sazrevanja plodova i odlične rodnosti (Radičević et al., 2000). Cilj ovih istraživanja je *S*-genotipizacija sorti Germersdorfer i Hedelfingersa iz kolekcionih i proizvodnih zasada (Republika Srbija i Rumunija), kao i određivanje *S*-alelne konstitucije i grupe inkompatibilnosti sorte Junska rana koje do sada nisu publikovane.

## Materijal i metode

**Biljni materijal i ekstrakcija genomske DNK.** U okviru ovih istraživanja proučavane su sorte trešnje Germersdorfer, Hedelfinger i Junska rana (*Юнска раннаја*). Uzorci lista sorte Germersdorfer sakupljeni su sa šest lokaliteta: objekti Ljubić (Germersdorfer 1) i Preljinsko brdo (Germersdorfer 2), Instituta za voćarstvo u Čačku; objekat Radmilovac, Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu (Germersdorfer 3); u zasadima individualnih proizvođača u selima Prislonica (Germersdorfer 4) i Banjica (Germersdorfer 5) u okolini Čačka, i naselju Grocka u okolini Beograda (Germersdorfer 6–8). Sorta Hedelfinger uzorkovana je sa tri lokaliteta: u zasadima proizvođača u naselju Grocka (Hedelfinger 1–2) i kolekcionom zasadu trešnje, Research Institute for Fruit Growing, Pitesti, Rumunija (Hedelfinger 3). Uzorci lista sorte Junska rana sakupljeni na objektu Ljubić, Instituta za voćarstvo u Čačku (Junska rana 1) i u zasadu proizvođača u selu Prislonica u okolini Čačka (Junska rana 2). Mlado lišće ispitivanih sorti čuvano je na -80 °C, do početka izolacije genomske DNK.

Ukupna genomska DNA ekstrahovana je primenom modifikovane CTAB mini prep metode (Doyle & Doyle, 1987), i čuvana na -20 °C do upotrebe.

**Umniožavanje genomskog fragmenta *S-RNaze*.** Amplifikacija drugog introna *S-RNaze* je izvedena u skladu

sa metodama publikovanim od strane Sonneveld et al. (2003) i Marić & Radičević (2014).

Za umnožavanje genomskog fragmenta *S-RNaze* sa prajmerima specifičnim za alele *S<sub>3</sub>*, *S<sub>4</sub>*, *S<sub>5</sub>*, *S<sub>9</sub>*, *S<sub>10</sub>* i *S<sub>12</sub>* korišćene su PCR smeše i uslovi u skladu sa Sonneveld et al. (2001, 2003) i Marić & Radičević (2014). Temperature sparivanja za navedene alele bile su: 52 °C (za alel *S<sub>5</sub>*), 61 °C (za alele *S<sub>9</sub>* i *S<sub>10</sub>*), 62 °C (za alel *S<sub>12</sub>*), 63 °C (za alel *S<sub>4</sub>*) i 66 °C (za alel *S<sub>3</sub>*). **Detekcija i vizuelizacija fragmenata DNK.** Za razdvajanje fragmenata DNA elektroforezom (3–4 h, 70 V cm<sup>-1</sup>) korišćeni su gelovi od polisaharida agaroze, koncentracije 1,5% (fragmenti dobijeni sa alel-specifičnim prajmerima) i 2% (fragmenti dobijeni sa konsenzus prajmerima specifičnim za drugi intron *S-RNaze*).

Nakon završenog umnožavanja, u PCR reakciju smešu dodato je 2  $\mu$ l indikator boje (0,25% bromfenol plavo i 40% saharoza) i na gel naneto 15  $\mu$ l uzorka. Gelovi su bojeni u rastvoru etidijum bromida (0,5  $\mu$ g ml<sup>-1</sup>), a razdvojeni proizvodi umnožavanja DNA vizuelizovani primenom sistema za fotodokumentaciju BIO-PRINT-1500/26M (Vilber Lourmat). Kao marker molekulskih masa korišćen je 1 Kb Plus DNA ladder (Invitrogen).

## Rezultati i diskusija

**Determinacija *S*-alelne konstitucije sorti trešnje na osnovu umnožavanja drugog introna.** Drugi intron *S-RNaze*, koji se nalazi u hipervarijabilnom regionu (RHV; Marić & Radičević, 2014), umnožen je korišćenjem konsenzus prajmera specifičnih za konzervirane sekvene u C2 i C5 regionima. Detektovani su PCR proizvodi sledećih veličina: ~800, ~900, ~1.060, ~1.650, ~1.800 i ~2.200 bp (Sl. 1). Fragment DNA od ~800 bp, koji prema Sonneveld et al. (2003) odgovara alelu *S<sub>9</sub>* (798 bp) ili *S<sub>10</sub>* (734 bp), identifikovan je kod uzorka Junska rana 1–2. Kod svih ispitivanih uzorka utvrđen je PCR proizvod veličine ~900 bp, koji je u skladu sa veličinom fragmenta od 898 bp za alel *S<sub>3</sub>* (Sonneveld et al., 2003). Amplifikacijom drugog introna kod uzorka Germersdorfer 1 detektovan je fragment od ~1.060 bp, koji prema rezultatima Sonneveld et al. (2003) odgovara alelu *S<sub>4</sub>* (1.064 bp). Kod uzorka Germersdorfer 2–8 i Hedelfinger 1–2 detektovan je PCR proizvod veličine ~1.800 bp, koji je u skladu sa veličinom fragmenta od 1.773 bp za alel *S<sub>12</sub>* (Sonneveld et al., 2003).

veld et al., 2003). Isti autori navode da su za alel  $S_5$  karakteristična dva fragmenta od 2.159 i 1.650 bp, koji su u ovom radu utvrđeni jedino kod uzorka Hedelfinger 2 (~2.200 i ~1.650 bp).

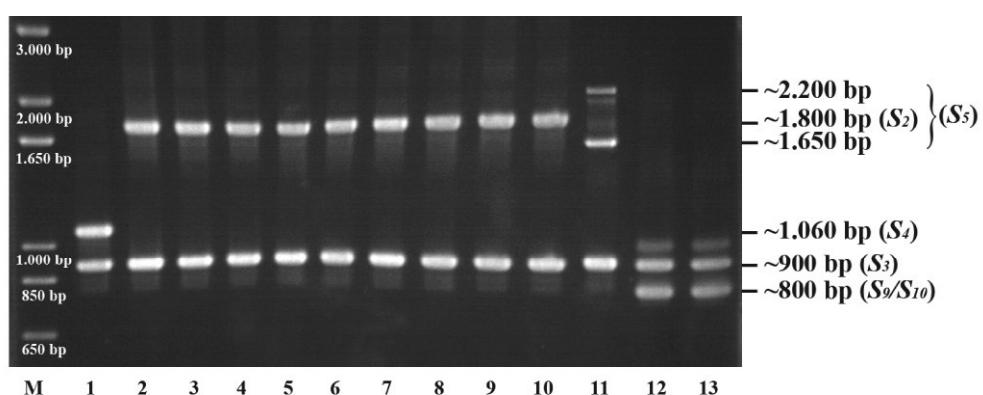
Rezultati umnožavanja drugog introna *S-RNaze* ukazuju da sorte Germersdorfer uzorkovana na objektu Ljubić (Germersdorfer 1) ima alelnu konstituciju  $S_3S_4$ , dok je alelna konstitucija ove sorte sa ostalih lokaliteta (Germersdorfer 2–8)  $S_3S_{12}$ . Amplifikacija drugog introna pokazala je i da sorta Hedelfinger uzorkovana u naselju Grocka (Hedelfinger 1–2) ima alelnu konstituciju  $S_3S_{12}$ , dok kod sorte Hedelfinger dobijene iz kolekcionog zasada trešnje Research Institute for Fruit Growing iz Rumunije (Hedelfinger 3), ukazuje na alelnu konstituciju  $S_3S_5$ . Umnožavanje drugog introna *S-RNaze* sorte Junska rana sa oba lokaliteta ukazuje na alelnu konstituciju  $S_3S_9$ .

**Determinacija S-alelne konstitucije sorti trešnje primenom alel-specifičnih prajmera.** Za definitivnu potvrdu *S*-genotipa ispitivanih sorti trešnje korišćeni su prajmeri specifični za alele  $S_3$ ,  $S_4$ ,  $S_5$ ,  $S_9$ ,  $S_{10}$  i  $S_{12}$  (Sl. 2 a–e). Umnožavanjem fragmenta *S-RNaze* korišćenjem  $S_3$  alel-specifičnih prajmera detektovan je PCR proizvod veličine ~960 bp kod svih ispitivanih sorti (Sl. 2 a). Veličina fragmenata DNK od ~820 bp i ~300 bp utvrđena je nakon upotrebe specifičnih prajmera za alele  $S_4$  i  $S_5$  kod uzorka Germersdorfer 1 (Sl. 2 b) i

Hedelfinger 3 (Sl. 2 c), respektivno. Alel-specifičnim PCR-om sa prajmerima za  $S_9$  dobijen je fragment veličine ~500 bp kod uzorka sorte Junska rana 1–2 (Sl. 2 d). S obzirom da se umnožavanjem drugog introna *S-RNaze* za alele  $S_9$  i  $S_{10}$  dobijaju fragmenti sličnih veličina (798 bp za alel  $S_9$  i 734 bp za alel  $S_{10}$ ; Sonneveld et al., 2003), kao i da S-alelna konstitucija sorte Junska rana nije ranije određena, bilo je neophodno uraditi i PCR sa prajmerima specifičnim za alel  $S_{10}$ . Izostanak amplifikacije fragmenta veličine ~500 bp koji odgovara alelu  $S_{10}$ , potvrđuje odsustvo ovog alela kod sorte Junska rana. Amplifikacija genomskega fragmenta *S-RNaze* prajmerima specifičnim za alel  $S_{12}$  (PCR proizvod veličine ~560 bp; Sl. 2 e) dobijena je kod uzorka Germersdorfer 2–8 i Hedelfinger 1–2. Veličine PCR proizvoda dobijene umnožavanjem genomskega fragmenta *S-RNaze* sa alel-specifičnim prajmerima su 960, 820, 300, 495, 505 i 562 bp, i prema Sonneveld et al. (2001, 2003) odgovaraju alelima  $S_3$ ,  $S_4$ ,  $S_5$ ,  $S_9$ ,  $S_{10}$  i  $S_{12}$ , po redosledu.

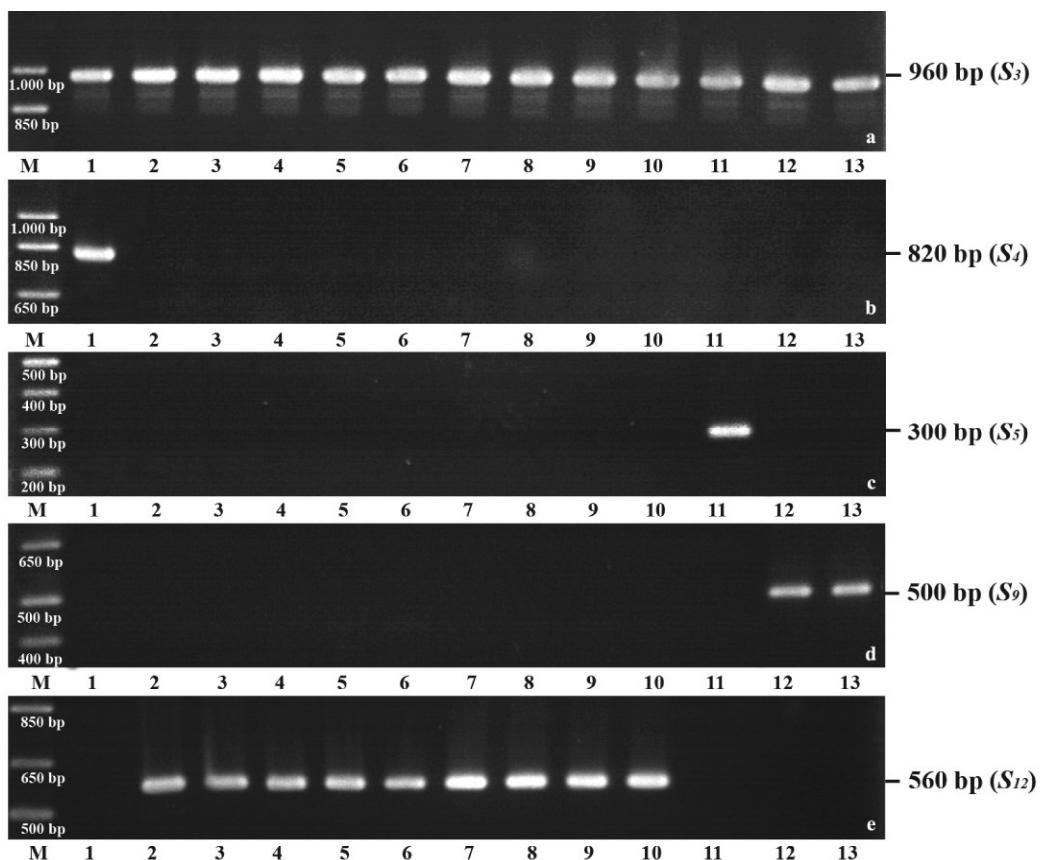
Alel-specifičnim PCR-om potvrđena je alelna konstitucija  $S_3S_4$  uzorka Germersdorfer 1,  $S_3S_{12}$  uzorka Germersdorfer 2–8 i Hedelfinger 1–2,  $S_3S_5$  uzorka Hedelfinger 3 i  $S_3S_9$  uzorka Junska rana 1–2.

Rezultati dobijeni za uzorce Germersdorfer 2–8 ( $S_3S_{12}$ ) koji su sakupljeni sa pet lokaliteta, u skladu su sa rezultatima publikovanim od strane Bekefi (2006) i



Sl. 1. PCR proizvodi dobijeni umnožavanjem genomskega fragmenta *S-RNaze* sa konsenzus prajmerima specifičnim za drugi intron kod ispitivanih uzorka sorti trešnje: 1 – Germersdorfer 1; 2 – Germersdorfer 2; 3 – Germersdorfer 3; 4 – Germersdorfer 4; 5 – Germersdorfer 5; 6 – Germersdorfer 6; 7 – Germersdorfer 7; 8 – Germersdorfer 8; 9 – Hedelfinger 1; 10 – Hedelfinger 2; 11 – Hedelfinger 3; 12 – Junska rana 1; 13 – Junska rana 2; M – marker molekulske mase 1 Kb Plus DNA ladder (Invitrogen)

Fig. 1. PCR products of the *S-RNase* amplified genomic fragment obtained with consensus primers for the second intron of assessed sweet cherry samples: 1 – ‘Germersdorfer’ 1; 2 – ‘Germersdorfer’ 2; 3 – ‘Germersdorfer’ 3; 4 – ‘Germersdorfer’ 4; 5 – ‘Germersdorfer’ 5; 6 – ‘Germersdorfer’ 6; 7 – ‘Germersdorfer’ 7; 8 – ‘Germersdorfer’ 8; 9 – ‘Hedelfinger’ 1; 10 – ‘Hedelfinger’ 2; 11 – ‘Hedelfinger’ 3; 12 – ‘Junska Rana’ 1; 13 – ‘Junska Rana’ 2; M – 1 Kb plus DNA ladder (Invitrogen)



Sl. 2. PCR proizvodi dobijeni umnožavanjem genomskog fragmenta S-RNaze sa prajmerima specifičnim za alele  $S_3$  (a),  $S_4$  (b),  $S_5$  (c),  $S_9$  (d) i  $S_{12}$  (e) kod uzoraka sorti trešnje: 1 – Germersdorfer 1; 2 – Germersdorfer 2; 3 – Germersdorfer 3; 4 – Germersdorfer 4; 5 – Germersdorfer 5; 6 – Germersdorfer 6; 7 – Germersdorfer 7; 8 – Germersdorfer 8; 9 – Hedelfinger 1; 10 – Hedelfinger 2; 11 – Hedelfinger 3; 12 – Junks rana 1; 13 – Junks rana 2; M – marker molekulske mase 1 Kb Plus DNA ladder (Invitrogen)

Fig. 2. PCR products of the S-RNase amplified genomic fragment obtained with primers specific for  $S_3$  (a),  $S_4$  (b),  $S_5$  (c),  $S_9$  (d) i  $S_{12}$  (e) in sweet cherry samples: 1 – ‘Germersdorfer’ 1; 2 – ‘Germersdorfer’ 2; 3 – ‘Germersdorfer’ 3; 4 – ‘Germersdorfer’ 4; 5 – ‘Germersdorfer’ 5; 6 – ‘Germersdorfer’ 6; 7 – ‘Germersdorfer’ 7; 8 – ‘Germersdorfer’ 8; 9 – ‘Hedelfinger’ 1; 10 – ‘Hedelfinger’ 2; 11 – ‘Hedelfinger’ 3; 12 – ‘Junks Rana’ 1; 13 – ‘Junks Rana’ 2; M – 1 Kb plus DNA ladder (Invitrogen)

Schuster (2012). Alelna konstitucija  $S_3S_4$  je utvrđena kod uzorka Germersdorfer 1 (kolekcioni zasad trešnje Instituta za voćarstvo), što odgovara alelnoj konstituciji koju je Bargioni (1996) publikovao za ovu sortu. Identifikovane su dve S-alelne konstitucije za sortu Germersdorfer, na osnovu kojih se sa sigurnošću može reći da su to dva različita genotipa. Dobijeni rezultati ukazuju na problem koji Schuster (2012) navodi za trešnju, a odnosi se na činjenicu da postoji različiti genotipovi koji se označavaju istim imenom.

Alelna konstitucija  $S_3S_5$  sorte Hedelfinger uzorkovane u kolekcionom zasadu trešnje Research Institute for Fruit Growing u Rumuniji (Hedelfinger 3), od-

govara alelnoj konstituciji koju su Bekefi (2006) i Schuster (2012) saopštili za ovu sortu. Na osnovu analize uzorka Hedelfinger 1–2, sakupljenih u zasadima proizvođača u naselju Grocka, utvrđena je alelna konstitucija  $S_3S_{12}$ . Ova alelna konstitucija isključuje sortu Hedelfinger, i ukazuje na sortu Germersdorfer, ili neki drugi genotip iz grupe XXII, koji fenotipski odgovara sorti Hedelfinger. Osmogodišnja ispitivanja feno-faze cvetanja u kolekcionom zasadu trešnje Instituta za voćarstvo ukazuju na to da sorta Hedelfinger cveta poznije u odnosu na sortu Germersdorfer (Radičević et al., 2011).

*S*-genotip sorte Junska rana ( $S_3S_9$ ) određen je prvi put u okviru ovih istraživanja, umnožavanjem genomskog fragmenata *S-RNase* sa konsenzus prajmerima specifičnim za drugi intron i prajmerima specifičnim za alele  $S_3$  i  $S_9$ . Na osnovu dobijenih rezultata, sorta Junska rana pripada grupi inkompatibilnosti XVI. Ovoj grupi inkompatibilnosti pripada i sorta Burlat (Schuster, 2012), jedna od najpoznatijih i široko rasprostranjenih sorti trešnje u svetu. I pored dovoljno dugog vremenskog preklapanja tokom fenofaze punog cvetanja sorti Burlat i Junska rana (Radičević et al., 2008), ove sorte se zbog iste *S*-alelne konstitucije i grupe inkompatibilnosti ne mogu gajiti u istom zasadu kao međusobni opašivači, ukoliko nije prisutna kompatibilna sorta adekvatnog vremena cvetanja, koja će obezbediti efikasno opašivanje i oplođenje.

## Zaključak

Rezultati ovog rada su potvrdili da su metode za određivanje *S*-alelne konstitucije pouzdane u determinaciji genotipova trešnje, a naročito u slučajevima kada se dva različita genotipa odlikuju sličnim fenotipskim karakteristikama (fenofaze cvetanja i sazrevanja plodova, pomološke osobine i dr.). Određivanje *S*-genotipa sorte Junska rana ( $S_3S_9$ ; grupa inkompatibilnosti XVI) je od posebnog značaja kako za planiranje ukrštanja u okviru oplemenjivačkih programa, tako i za planiranje sortnih kompozicija opašivača u proizvodnim zasadima trešnje.

## Zahvalnica/Acknowledgements

Istraživanja u ovom radu su realizovana sredstvima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja RS, kroz projekat TR-31064 „Stvaranje i očuvanje genetičkog potencijala kontinentalnih vrsta voćaka“. Autori se posebno zahvaljuju dr Sergiu Budan, Tihomiru Nikoliću, dipl. inž., dr Milici Fotirić, dr Nebojši Miloševiću i Iliju Stovragu, koji su svojim angažovanjem obezbedili biljni material za ovaj rad.

## Literatura

- Bargioni G. (1996): Sweet cherry scions: Characteristics of the principal commercial cultivars, breeding objectives and methods. In: 'Cherries: Crop physiology, production and uses', Webster A.D., Looney N.E. (eds.), CAB International, Wallingford, UK, pp. 73–112.
- Bekesi Zs. (2006): Review of sweet and sour cherry incompatibility. International Journal of Horticultural Science, 12, 2: 111–116.
- Bošković R., Tobutt K.R. (1996): Correlation of stylar ribonuclease zymograms with incompatibility alleles in sweet cherry. Euphytica, 90: 245–250.
- Doyle J.J., Doyle J.L. (1987): A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin, 19: 11–15.
- Nikolić T. (2008): Vek gročanskog voćarstva. Voćarsko-vinogradarsko društvo „Grocka“, Grocka.
- Marić S., Radičević S. (2014): Primena PCR metode u određivanju *S*-genotipa trešnje (*Prunus avium* L.) u Institutu za voćarstvo u Čačku. Voćarstvo, 48, 185/186: 29–37.
- Milatović D., Nikolić M., Miletić N. (2015): Trešnja i višnja – drugo dopunjeno izdanje. Naučno voćarsko društvo Srbije, Čačak.
- Radičević S., Nikolić M., Cerović R. (2000): Biološko-pomološke karakteristike novijih sorti trešnja. Jugoslovensko voćarstvo, 34, 131/132: 153–160.
- Radičević S., Cerović R., Đorđević M., Marić S. (2008): Ispitivanje fenofaze cvetanja i klijavosti polena novijih sorti trešnje. Voćarstvo, 42, 163/164: 89–95.
- Radičević S., Cerović R., Marić S., Đorđević M. (2011): Flowering time and incompatibility groups – cultivar combination in commercial sweet cherry (*Prunus avium* L.) orchards. Genetika, 43, 2: 397–406.
- Schuster M. (2012): Incompatible (*S*-) genotypes of sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.). Scientia Horticulturae, 148: 59–73.
- Sonneveld T., Robbins T.P., Bošković R., Tobutt K.R. (2001): Cloning of six cherry self-incompatibility alleles and development of allele-specific PCR detection. Theoretical and Applied Genetics, 102: 1046–1055.
- Sonneveld T., Tobutt K.R., Robbins T.P. (2003): Allele-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (*S*) alleles  $S_1$  to  $S_{16}$  using consensus and allele-specific primers. Theoretical and Applied Genetics, 107: 1059–1070.
- Vaughan S.P., Bošković R.I., Gisbert-Climent A., Russell K., Tobutt K.R. (2008): Characterisation of novel *S*-alleles from cherry (*Prunus avium* L.). Tree Genetics and Genomes, 4: 531–541.
- Yamane H., Ikeda K., Ushijama K., Sassa H., Tao R. (2003): A pollen-expressed gene for a novel protein with an F-box motif that is very tightly linked to a gene for *S-RNase* in two species of cherry, *Prunus cerasus* and *P. avium*. Plant and Cell Physiology, 44, 7: 764–769.

**DETERMINATION OF S-ALLELIC CONSTITUTION IN SOME SWEET CHERRY CULTIVARS  
(*Prunus avium* L.)**

**Sladana Marić<sup>1</sup>, Sanja Radičević<sup>1</sup>, Radosav Cerović<sup>2</sup>, Dragana Vranić<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Fruit Research Institute, Kralja Petra I/9, 32000 Čačak, Serbia*

*E-mail: nidzovicsladja@yahoo.com*

<sup>2</sup>*Innovation Centre at Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Karnegijeva 4, 11120 Belgrade, Serbia*

**Abstract**

The paper presents the results of S-genotyping for sweet cherry cultivars ‘Germersdorfer’, ‘Hedelfinger’ and ‘Junska Rana’ from collections and commercial orchards in the Republic of Serbia and Romania. The use of the polymerase chain reaction (PCR method) with consensus primers for the second intron and allele-specific primers enabled determination of the following S-allelic constitutions in the assessed samples:  $S_3S_4$  (‘Germersdorfer’ 1),  $S_3S_{12}$  (‘Germersdorfer’ 2–8 and ‘Hedelfinger’ 1–2) and  $S_3S_5$  (‘Hedelfinger’ 3).

The results of this investigation confirmed that the methods used for determination of S-genotype are very suitable for reliable and relatively rapid genotyping of sweet cherry cultivars. This is the first report of S-allelic constitution for ‘Junska Rana’ ( $S_3S_9$ ), based on which this cultivar has been assigned to incompatibility group XVI.

**Key words:** *Prunus avium*, cultivar, S-allelic constitution, genotyping, incompatibility group