Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (3), 165-179
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Многообразие в генотипа в ампелографското хранилище на Националния научен център на „Научен институт по лозарство и винарство Таиров“

Ирина Ковалова, Вячеслав Скрипник, Нина Мулюкина, Людмила Герус, Марина Федоренко, Олена Салий

Изследователски институт за лозарство и винопроизводство, 40-richchia Peremohy Str, 27, Таирове, Одеса, 65496, Украйна

Genotype Diversity in the Ampelographic Repository of the National Scientific Center “Tairov Research Institute of Viticulture and Wine-Making”

Irina Kovalova, Vjacheslav Skrypnyk, Nina Muliukina, Ljudmila Gerus, Marina Fedorenko, Olena Salij

Tairov Research Institute of Viticulture and Winemaking, 40-richchia Peremohy Str., 27, Tairove, Odesa, 65496, Ukraine
E-mail: Tairmna2005@ukr.net

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Анализиране на разновидностите в съдържанието на семена при безсеменни сортове позволи да се разграничат сортовете от първа категория безсеменност, които по-късно могат да бъдат използвани като родителски сортове в кръстоски. Анализът на устойчивостта срещу гъбични заболявания на някои регистрирани сортове показа тенденция към повишаване на адаптивността на сортовете от ново поколение. Направени са ароматни профили на вина, произведени от нови винени сортове и хибридни форми и е потвърдена изключителността на техния вкус и аромат. Обещаващите трапезни сортове са подбрани според размера на грозда и гроздовите зърна, както и тяхната възможност за продажба.. Използването на SSR анализ ни позволи да потвърдим произхода на

SUMMARY

Analysis of variation in seed content in a group of seedless varieties allowed to distinguish varieties with the first category of seedlessness, which can be later used as parent varieties in crosses. The analysis of the resistance against fungal diseases of some registered varieties showed a tendency to increase the adaptability of new generation varieties.

Flavor profiles of wines produced from new wine varieties and hybrid forms were made and the exclusivity of their taste and flavor complex was confirmed. Promising table varieties were selected by the size of a bunch and berries, as well as marketability of bunches on the vine.

The usage of SSR analysis allowed us to confirm the origin of the studied varieties,

изследваните сортове, което бе решаващо за сортове, получени чрез смесено опрашване.

Ключови думи: генотип, устойчивост, безсеменност, разнообразие, органолептичен профил, продаваемост, едър плод, SSR анализ

УВОД

Украйна е лозарска страна с обща площ от лозови насаждения около 40 000 ha. Дългата история на украинското лозарство започва от древногръцки колонии в Северния Черноморски регион (700 - 600 г. пр.н.е.).

Първият официален държавен регистър на разпространението на сортове в Украйна (1936 г.) включва 30 интродуцирани сорта и само един местен. Що се отнася до август 2019 г., той се състоеше от 57% украински сорта, 55% от които са отгледани в Института по лозарство и винопроизводство в Таиров. Тези сортове са отглеждани според климатичните особености на Северното Черноморие (континентален и сух климат, със зимни студове от -26 или -28 ° C) и гъбични заболявания, които причиняват епифитотия два или повече пъти за 10 години. Повечето от новите сортове грозде са създадени на базата на 3 - 4 различни рода *Vitis*. Те са петият и шестият потомък от първите кръстоски, получени в резултат на две масивни селекционни програми: „Rainbow" за трапезни сортове грозде и „Устойчивост + Качество". Повечето от новите сортове се нуждаят само от 5 (7 при условия на епифитотия) фунгицидни третирания вместо 8 (10 пri епифитотия) за сортове *Vitis vinifera*, така че те са приложими за адаптивно или дори био лозарство (Gerus et al., 2015; Kovalova and Gerus, 2016).

Търсенето на съвременния пазар на лозарски продукти, особено за сортове без семена, създава нови селекционни задачи (Akkurt et al., 2019). За да се определят донорските разновидности на характеристиката „безсемен-

which was crucial for varieties obtained via mixed pollination.

Key words: genotype, resistance, seedlessness, variety, organoleptic profile, marketability, large-berry, SSR analysis

INTRODUCTION

Ukraine is a viticultural country with a total vineyard area of nearly 40,000 ha. The long history of Ukrainian viticulture started from ancient Greek colonies in the Northern Black Sea region (700 - 600 BC).

First official State Register of plant varieties for dissemination in Ukraine (1936) included 30 introduced and only one local cultivar. As for August of 2019, it consisted of 57 % Ukrainian cultivars, 55 % of which were bred at the Tairov Institute of Viticulture and Winemaking.

These cultivars were bred regarding the climate peculiarities of the Northern Black Sea region (continental and dry, with winter frosts of -26 or -28 °C) and fungal diseases, which cause epiphytoties twice or more per 10 years. Most of the new grape cultivars were created on the basis of 3 - 4 different Vitis genera.

They are the fifth and sixth progenies from the first crosses obtained as a result of two massive breeding programs: "Rainbow" for table grape varieties and "Resistance + Quality". Most of new cultivars need only 5 (7 under epiphytoty conditions) fungicide treatments instead of 8 (10 under epiphytoty) for Vitis vinifera varieties, so they are applicable for adaptive or even organic viticulture (Gerus et al., 2015; Kovalova and Gerus, 2016).

The demand of the modern market for viticultural products, especially for seedless varieties, creates new breeding tasks (Akkurt et al., 2019). In order to determine donor varieties of "seedlessness" trait, 36 seedless varieties

ност“, в ампелографската колекция на Института по лозарство и винопроизводство „Таиров“ са изследвани 36 сорта без семена с различен генетичен и географски произход. Най-добрите от тях вече се използват за размножаване.

Целта на настоящето изследване е да се анализират част от регистрираните сортове по отношение на устойчивостта към гъбични заболявания, да се оцени степента на проявление на безсеменност при сортове без семена, да се оценят новите винени и трапезни сортове грозде според техните вкусови профили, големината на плода и търговските характеристики, като се използват методи на SSR анализ за потвърждаване на произхода на изследваните сортове.

of different genetic and geographical origins were studied in the ampelographic collection of theTairov Institute of Viticulture and Winemaking. The best of them are already being used in the breeding process.

The purpose of this research was to analyze part of the registered varieties regarding resistance to fungal diseases, to assess a level of manifestation of seedlessness trait in seedless varieties, to evaluate new wine and table grape varieties by their flavor profiles and large-fruit and marketability characteristics, respectively, using methods of SSR analysis to confirm the origin of the studied cultivars.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Проучването е проведено през последните четири години (2016-2019). Лозята са разположени на експериментални обекти на Института по лозарство и винопроизводство "В. Е. Таиров" (Таирово, Одеса, Украйна). Теренни проучвания за резистентност са извършени през периода на вегетация и плододаване (от май до септември) в естествения инфекциозен фон по 9-точкова скала на OIV (Международна организация по лозарство и винарство) по метода на М. Г. Банковска (Bankovska, 2007). Безсеменността е изследвана по метода на К. В. Смирнов (1962) (Smirnov et al., 1996; Smirnov et al., 2002).

ДНК е изолирана от замразен листен материал (-20°C) с помощта на ДНК растителен кит (QIAGEN). SSR анализът е извършен върху 80 интродуцирани и украински сорта, включително 54 трапезни и винени сорта и 19 сорта без семена, избрани от обекти за размножаване и събиране на Института по лозарство и винопроизводство "В. Е. Таиров" от девет микросателитни локуса (VVS2, ZAG62, ZAG79, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32).

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted during the last four years (2016-2019). Vineyards are located on experimental sites of the Institute of Viticulture and Winemaking named after V. E. Tairov (Tairovo, Odesa, Ukraine). Field surveys of resistance were performed during vegetation and production periods (from May until September) in the natural infectious background according to a 9-point OIV scale using the method of M. G. Bankovska (Bankovska, 2007). Seedlessness was investigated using the method of K. V. Smirnov (1962) (Smirnov et al., 1996; Smirnov et al., 2002).

DNA was isolated from frozen leaf material (-20 °C) using DNA Plant Kit (QIAGEN). SSR analysis was performed on 80 introduced and Ukrainian cultivars, including 54 table and wine cultivars and 19 seedless varieties selected on breeding and collection sites of the Institute of Viticulture and Winemaking named after V.E. Tairov by nine microsatellite loci (VVS2, ZAG62, ZAG79, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32).

За определянето на винен ароматен комплекс (сортове Zagrey, Odeskyi zhemchug и Yarilo) е използван органолептичен анализ и метод за профилиране на виното.

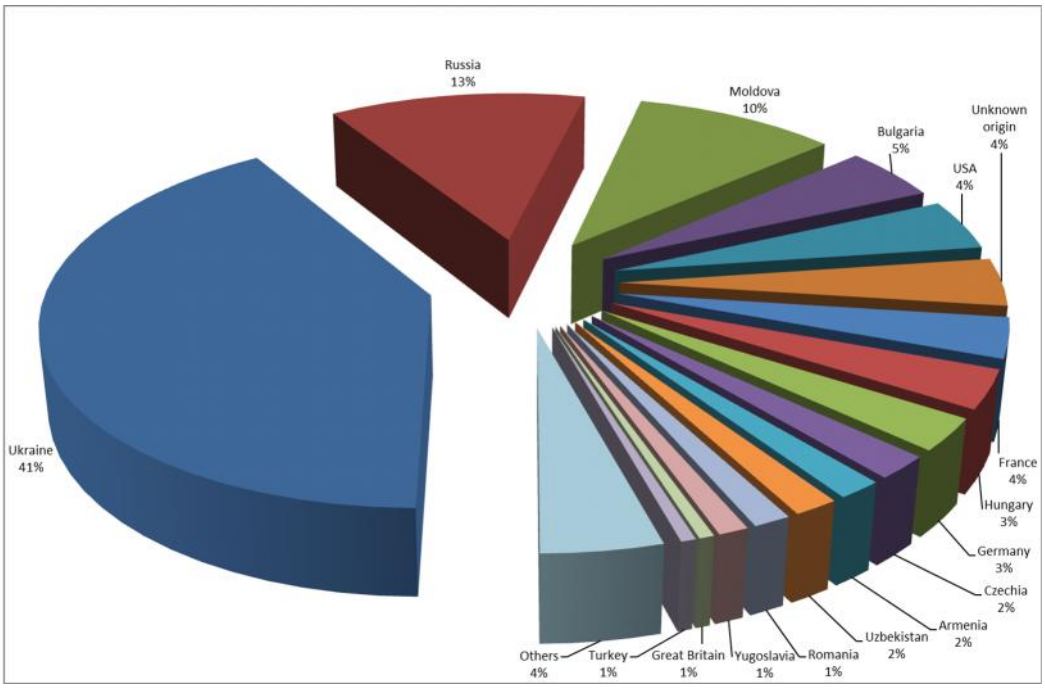
For the characterization of wine flavor complex (Zagrey, Odeskyi zhemchug, and Yarilo cultivars) organoleptic analysis and method of wine profiling were used.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

За да се попълни базата данни с донорски сортове с ценни характеристики, особено носители на характеристиката "безсеменност", е анализирано изменение в съдържанието на семената при 36 сорта без семена от ампелографската колекция на Института по лозарство и винопроизводство "Таиров". Тези сортове се различават по генетичен и географски произход (Фигура 1).

RESULTS AND DISCUSSION

In order to replenish the database of donor varieties of valuable traits, especially carriers of seedlessness trait, we analyzed variation in seed content in 36 seedless varieties from the ampelographic collection of the Tairov Institute of Viticulture and Winemaking. These cultivars varied by genetic and geographical origins (Figure 1).



Фиг. 1. Географско разпространение на сортове без семена от ампелографската колекция на Института по лозарство и винопроизводство на В. Е. Таиров

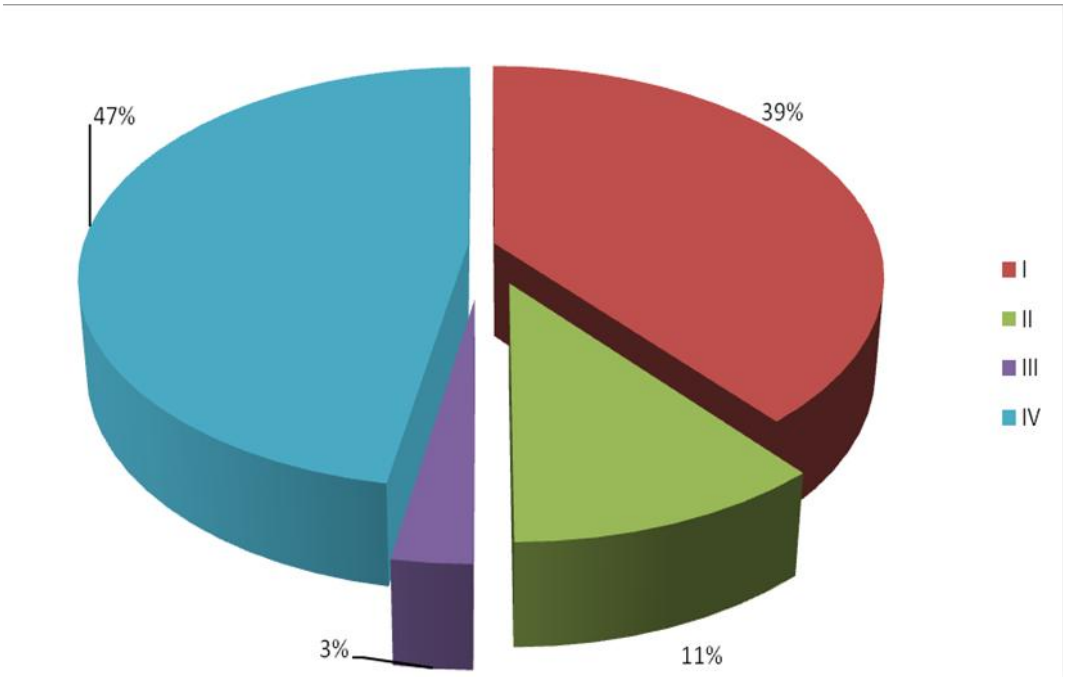
Fig. 1. Origin distribution of seedless varieties from the ampelographic collection of the Institute of Viticulture and Winemaking named after V. E. Tairov

Повечето от избраните сортове са от американски и украински произход.

За да се определи категорията на безсеменност, се изследва сухото тегло на семената на плодове (Фигура 2).

Most of the selected cultivars were varieties of American and Ukrainian origins.

To determine a seedlessness category, seed dry weight per berry was investigated (Figure 2).



Фиг. 2. Разпространение на сортове без семена според категорията безсеменност
Fig. 2. Distribution of seedless varieties by seedlessness category

Теглото на 100 гроздови зърна в група от сортове без семена варира от 70 (Kishmish chernyi) до 500 (Rusalka 3) грама (Таблица 1). Гроздовите зърна съдържат само следи от семена, въпреки че се различават по количество и тегло. Така 100 гроздови зърна съдържат от 13 до 445 семена с тегло от 0,7 до 5 g. По-малко от 100 семена в 100 гроздови зърна са открити в сортове Rusalka 3 (74 бр.), Centennial Seedless (70 бр.), Rushaki (51 бр.), Interlaken без семена (49 бр.) и сортове Lakemont (48 бр.).

The weight of 100 berries in a group of seedless varieties ranged from 70 (Kishmish chernyi) to 500 (Rusalka 3) grams (Table 1). Berries contained only seed traces, although they differed in amount and weight. Thus, 100 berries contained from 13 to 445 seeds weighing from 0.7 to 5 g. Less than 100 seeds in 100 berries were found in Rusalka 3 (74 pcs), Centennial Seedless (70 pcs), Rushaki (51 pcs), Interlaken seedless (49 pcs) and Lakemont varieties (48 pcs).

Таблица 1. Изследване на категорията безсеменност при сортове без семена

Table 1. Investigation of seedlessness categories in seedless varieties

Сорт/Variety	Тегло на 100 зърна, Weight of 100 berries, g	Количество семена, брой Amount of seeds, pcs	Тегло на семена при 100 зърна Seed weight in 100 berries, g	Сухо тегло на семената за зрънце Seed dry weight per berry, mg	Категория сортове без семена Seedlessness category
Rusensko bez seme	240	170	2,2	22	IV
Rusalka	140	74	0,2	2	I
Rusalka 3	500	212	2,7	27	IV
Kishmish rozovyi	130	102	0,2	2	I
Attika seedless	410	260	3	30	IV
Kishmish luchistii	410	220	3	30	IV
Kishmish chernyi	70	274	1,5	15	IV
Rusbol	170	294	4,1	41	IV
Elf	150	270	2,5	25	IV
Princess	390	137	0,4	4	I
Centennial seedless	260	70	0,1	1	I
Rushaki	130	51	0,07	0,7	I
Perlette	160	157	0,2	2	I
Sultanina	110	135	0,2	2	I
Romulus	160	128	1	10	II
Flame seedless	220	198	1	10	II
Interlaken seedless	130	49	0,06	0,6	I
Jupiter	340	224	3	30	IV
Einset seedless	200	244	1,5	15	IV
Gleanora	190	120	0,5	5	I
Himrod	170	51	0,08	0,8	I
Lakemont	200	48	0,1	1	I
Marquis seedless	240	164	0,2	2	I
Mars	230	160	1	10	II
Prime seedless	180	102	0,15	1,5	I
Venus	220	200	2	20	IV
Kishmish Vatkana	200	274	1,8	18	IV
Kishmish Vir	300	309	2,5	25	IV
Siranush	280	348	2,8	28	IV
Kishmish uzunbashly	220	251	3	30	IV
Sverkhrannii bessemyannyi	120	246	2	20	IV
Kishmish OSKHI	170	253	1,2	12	III
Kishmish tairovskii	160	128	1	10	II
Mechta	200	209	3	30	IV
Yaltinskii bessemyannyi	220	445	9,4	94	IV
Beogradska besemena	330	100	0,5	5	I

Безспорен лидер е сорт Sultanina (Karaagac et al., 2012). Неговите потомци, дори растения от пето и шесто поколение, показаха първата категория сортове без семена. В техните гроздови зърна, семената или напълно липсват, или имат 1 или 2 меки и малки следи от семена. В допълнение към гореспоменатите сортове могат да се добавят Princess, Perlette, Himrod, Marquis и Beogradska, които също са

An indisputable leader is Sultanina variety (Karaagac et al., 2012). Its descendants, even plants of fifth and sixth generations, showed the first seedlessness category. In their berries seeds were either completely absent, or there were 1 or 2 soft and small seed traces. In addition to the above mentioned, Princess, Perlette, Himrod, Marquis and Beogradska besemena varieties are Sultanina descendants as

потомци на Sultanina. Въпреки че имат повече от 100 семена в 100 гроздови зърна, те са малки, фини и не се усещат по време на хранене. Тези сортове ще бъдат използвани и вече се използват в процеса на размножаване за получаване на сортове от различни категории без семена.

Разнообразието на видовия състав в генотипи на различни сортове грозде обяснява разликата в нивото на устойчивост към основни гъбични заболявания (Таблица 2).

well. Although they had more than 100 seeds in 100 berries, they were small, herbaceous and were not felt during eating. These varieties will be used and are already being used in the breeding process to obtain varieties of different seedlessness categories.

Diversity of the species composition in genotypes of different grape varieties explains the difference in a level of resistance to major fungal diseases (Table 2).

Таблица 2. Ниво на устойчивост към основни гъбични заболявания при сортове, включени в Държавния регистър на растителни сортове за разпространение в Украйна от 1936 до 2015 г.
Table 2. A level of resistance to major fungal diseases in varieties included in State Register of plant varieties for dissemination in Ukraine from 1936 to 2015

Сорт/Variety	Година, в която сорта е включен в Държавния регистър A year, when a variety was included in State Register	Мана/Downy mildew	Брашнеста мана Powdery mildew	Сиво гниене/Bunch rot	Сорт/Variety	Година, в която сорта е включен в Държавния регистър A year, when a variety was included in State Register	Мана/Downy mildew	Брашнеста мана Powdery mildew	Сиво гниене/Bunch rot
Aligote	1936	l	l	l	Lesya	1985	l	l	m
Cabernet Sauvignon	1936	l	l	l	Odeskii suvenir	1985	m	l	m
Karaburnu	1936	l	l	l	Ukr 85	1985	l	l	m
Muscat blanc	1936	l	l	l	Yantar OSKHI	1985	m	m	m
Muscat de Hambourg	1936	l	l	l	Asma	1986	m	m	m
Muscat rose	1936	l	l	l	Muskat Yantarnyi	1986	l	l	m
Riesling	1936	m	l	l	Yuzhanka OSKHI	1986	m	m	m
Senso	1936	l	l	l	Moldova	1987	h	h	h
Chasselas	1936	l	m	l	Muscat zhemchyuzhnyii	1988	m	m	l
Koroleva vinogradnikov	1944	l	l	l	Antei magarachskii	1988	h	h	h
Muskat Ottonel	1944	l	m	l	Zolotistyi ustoichivyi	1990	m	l	l
Pearl of Csaba	1944	m	l	m	Kishmish OSKHI	1990	l	l	l
Chaush belyi	1944	l	l	l	Lanka	1990	m	m	m
Agadai	1958	l	m	m	Novoukrainskii rannii	1990	l	l	l
Aleatiko	1958	l	l	l	Osobyi	1991	l	l	l
Albillo krimskii	1958	m	m	l	Vostorg	1992	h	m	h
Verdelho	1958	m	l	m	Suruchenskii belyi	1992	h	h	h
Gars levelyu	1958	m	l	m	Muskat odesskii	1993	h	h	h
Ekim kara	1958	m	m	h	Pervenets Magaracha	1994	h	m	h
Irsai Oliver	1958	m	m	h	Avrora Magaracha	1995	h	h	h
Kleret belii	1958	m	m	l	Kefessiya	1995	m	m	h
Kokur beli	1958	l	l	m	Kapselski belyi	1995	l	l	l
Matrasa	1958	l	l	l	Krona	1995	l	l	l
Mathias Ianos	1958	l	m	l	Sari Pandas	1995	l	l	l
Morastel	1958	l	m	m	Arkadia	1995	m	l	m
Muskat aleksandriiskii	1958	l	l	l	Murvedr	2001	l	l	l
Muskat chernyi	1958	m	m	m	Semillon	2001	l	l	l
Muller Thurgau	1958	l	l	l	Kok Pandas	2002	l	l	l

Muscadel	1958	m	l	l	Original	2002	m	m	h
Nimrang	1958	l	m	l	Pinot blanc	2002	l	l	l
Rkaziteli	1958	m	l	h	Soldaiya	2002	l	l	l
Saperavi	1958	l	l	l	Tsitronny Magaracha	2002	h	h	h
Sersial	1958	l	l	l	Danko	2003	h	h	h
Sauvignon blanc	1958	m	l	l	Assol	2005	h	h	h
Taifi rozovyi	1958	m	m	l	Bordo	2006	l	l	l
Gewuerztraminer	1958	m	m	m	Bukovinka	2006	h	h	h
Feteasca alba	1958	m	m	l	Gurzufskyi rozovyi	2006	h	h	h
Furmint	1958	l	l	l	Zagrey	2006	h	h	h
Hindogni	1958	l	m	l	Zagadka	2006	m	m	m
Shabash	1958	l	m	m	Intervitis Magaracha	2006	m	m	m
Shardone	1958	l	l	l	Kobzar	2006	m	m	m
Pinot gris	1959	l	l	l	Lyubitelskii	2006	h	h	h
Pinot noir	1959	m	m	m	Livadiiskyi chernyi	2006	h	h	h
Welschriesling	1959	m		l	Muskat Livadiya	2006	h	h	h
Tashli	1959	m	m		Muskat Golodrigi	2006	h	h	h
Alphonse Lavallee	1960	l	l	l	Oleg	2006	h	h	h
Italia	1969	m	l	m	Risus	2006	h	m	m
Kardinal	1969	l	l	l	Rubin Golodrigi	2006	h	h	h
Cegled szepe	1969	m	m	h	Rodnichok	2006	m	h	m
Limberger	1969	l	l	m	Smena	2006	m	h	h
Marselskij chernyj rannij	1969	l	l	l	Tavkveri Magaracha	2006	h	h	h
Pesci Szagos	1969	m	m	l	Anatelykon	2007	m	m	m
Rannii Magaracha	1969	l	m	h	Alminskii	2007	h	h	h
Rubinovyi Magaracha	1969	m	h	m	Gerkules	2007	l	m	m
Sauvignon vert	1969	m	l	l	Etud	2007	h	h	h
Sorok lyet Oktyabrya	1969	l	l	l	Kishmish tairovskii	2007	l	m	m
Suholimanski belii	1969	l	l	l	Ogoniok tairovskiy	2007	m	m	l
Tilki Kuyrugu	1969	m	l	l	Riesling Magaracha	2007	h	h	h
Dnestrovskii rozovyi	1972	h	m	h	Spartanets Magaracha	2007	h	h	h
Odesskii chernyi	1972	m	m	m	Tair	2007	h	h	h
Odesskii rannii	1973	l	l	l	Yaltinskii bessemyannyi	2007	h	h	h
Lisova troyanda	1975	m	m	h	Granatovyi Magaracha	2008	h	h	h
Muskat tairovskii	1976	l	l	l	Gviene	2008	l	l	l
Tavrida	1977	m	m	m	Krasen	2008	h	h	h
Vostok	1978	m	m	m	Pamyati Golodrigi	2008	h	h	h
Saperavi severnyi	1978	h	m	h	Flora	2008	h	h	h
Karmrahyut	1979	m	m	m	Aromatny	2009	h	h	h
Guzal Kara	1980	m	m	m	Kometa	2009	m	h	h
Madlen muskatnyi	1980	m	l	m	Livija	2010	m	m	m
Fioletovyi rannii	1980	m	l	m	Pivdennoberezhnyi	2010	h	h	h
Chaush muskatnyi	1980	m	m	m	Pamyati dzheneeva	2011	m	m	m
Golubok	1981	m	m	m	Sira	2011	m	m	m
Kirgizskii rannii	1981	m	m	m	Lanjeron	2015	h	h	h
Muskat Usbekistanskii	1981	h	h	h	Odissey	2015	h	h	h
Pervomajski	1981	m	m	m	Iskorka	2015	m	m	m
Ranni Vira	1981	m	m	m	Persei	2019	h	m	h
Stepnyak	1982	h	m	m	Yarylo	2019	h	h	h
Kyivskyi zolotystyi	1983	m	m	m	Odeskyi zhemchug	2019	h	h	m
Merlot	1983	m	l	m	Zagrava	2019	h	m	h
Mechta	1983	m	m	l	Kardishach	2019	m	m	h
Chasselas severnaya	1984	**m**	m	l					

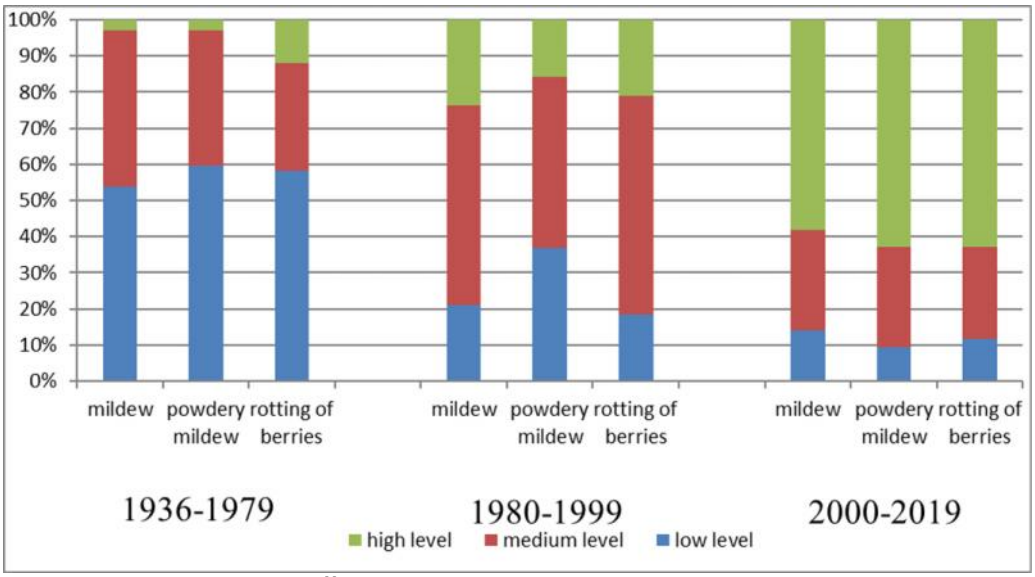
l - ниско ниво на устойчивост / low level of resistance
m - средно ниво на устойчивост / medium level of resistance
h - високо ниво на устойчивост / high level of resistance

Фигура 3 схематично показва анализ на ниво на устойчивост към основни гъбични заболявания при сортове, включени в Държавния регистър на растителни сортове за разпростра-

Figure 3 schematically shows an analysis of a level of resistance to major fungal diseases in varieties included in State Register of plant varieties for dissemination in Ukraine from 1936 to

нение в Украйна от 1936 до 2019 г., когато сортовете от ново поколение са създадени на базата на сложни междувидови хибриди. Очевидна е тенденция за увеличаване на съдържанието на устойчиви сортове в Държавния регистър в сравнение с последните десетилетия на миналия век, особено с данните от 1936-1979 години, когато Държавният регистър се състои от 90 до 75% интродуцирани сортове *Vitis vinifera.*

2019, when new generation varieties were created on the basis of complex interspecific hybrids. There is clearly a tendency of increasing the content of resistant varieties in State Register, compared with the last decades of the last century, especially with the data of 1936-1979 years, when the State Register consisted of 90 to 75% introduced *Vitis vinifera* varieties.



Фиг. 3. Ниво на устойчивост към основни гъбични заболявания при сортове, включени в Държавния регистър на растителни сортове за разпространение в Украйна от 1936 до 2019 г.
Fig. 3. A level of resistance to major fungal diseases in varieties included in State Register from 1936 to 2019

Генотипите от ново поколение, които комбинират няколко вида *Vitis vinifera* в своя геном, притежават както висока адаптивност, така и постоянно високо качество на продукцията (Migicovsky, 2016). Най-добрите от тях се приемат като родителски сортове за по-нататъшния размножителен процес и могат да бъдат използвани за попълване и обогатяване на регионални асортименти, да станат основа за адаптивно лозарство в Украйна и да станат предци на генотипи, което ниво на адаптивност ще ни позволи да

New generation genotypes, that combine several species of Vitis vinifera in their genome, possess both high adaptability and consistently high product quality (Migicovsky, 2016).

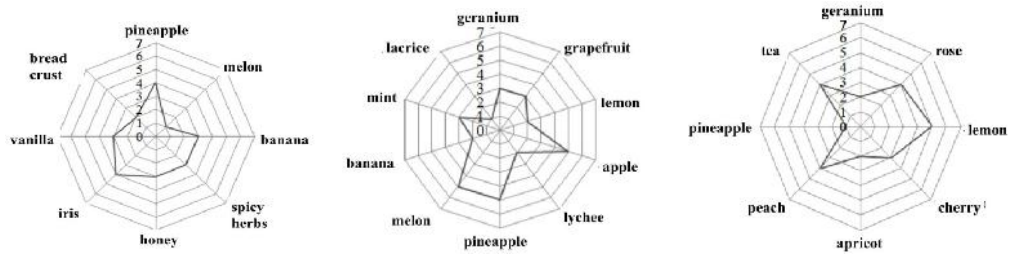
The best of them are taken as parent varieties for further breeding process and can be used for replenishment and enrichment of regional assortments, become the basis for adaptive viticulture in Ukraine, and become ancestors of genotypes, which adaptability level will allow us to consider the application of

разгледаме приложението на биологичното лозарство.

Най-новите сортове грозде трябва да отговарят на високо ниво не само на адаптивните показатели, но и на качеството на продукцията (Фигура 4). Потребителите и производителите на гроздови продукти предпочитат ексклузивни сортове с интересен вкус и аромат на вино или необичайна форма и цвят на гроздовите зърна при трапезните сортове.

organic viticulture.

The newest grape varieties must meet a high level of not only adaptive performance but also of product quality (Figure 4). Consumers and producers of grape products prefer exclusive varieties with an interesting taste and wine flavor or an unusual shape and color of berries in table cultivars.



1 2 3

Фиг. 4. Ароматни профили на вино Aromatny (1), Zagrey (2) и Muskat odesskii (3)
Fig. 4. Flavor profiles of Aromatny (1), Zagrey (2) and Muskat odesskii (3) wines

Семплият вкус и аромат на гроздовите зърна на Zagrey се превръщат в сложна композиция от плодове и цветя с нотки на мед и кисел трън във виното. Чистият, фин ябълков вкус на гроздовите зърна на Charivnyi показва елегантни нотки на теменужки, боровинки и сини сливи във виното. Вкусът на цитрусови плодове и манго, който се отличава добре в плодовете на Yarilo, също присъства във виното и се допълва от забележима нотка на праскови. Лекият карамелен аромат на горски плодове в Aromatny се превръща в ясно изразена нотка на ананас и ягоди, подчертана от пикантна горчивина и сладък вкус. За разлика от пресните горски плодове, виното от сорт Odeskyi zhemchug няма аромат на мускат. Той се трансформира във флорален аромат на чаена роза, допълнена от нотки на пресни малини и силната нотка на кисел трън (Фигура 5). Новите винени генотипове в растенията от шесто и седмо поколение, които навлизат в пе-

Simple taste and aroma of Zagrey berries turn into a complex fruit and flower composition with notes of honey and barberry in wine. Simple, subtle apple flavor of Charivnyi berries shows elegant violet, berry and prune notes in wine.

Citrus and mango taste, which is well distinguishable in Yarilo berries, is also present in wine and is complemented by a noticeable peach note. Light caramel flavor of Aromatny berries turns into a pronounced note of pineapple and strawberries, accentuated by spicy bitterness and pastry flavor. Unlike fresh berries, wine of Odeskyi zhemchug variety does not have a muscat flavor.

It transforms into a floral aroma of tea rose, complemented by notes of fresh raspberries and a powerful note of barberry (Figure 5). New wine genotypes in plants of sixth and seventh generations, which are entering a ripening period, show notes of blueberries, fresh apricot,

риод на зреене, показват нюанси на боровинки, пресни кайсии, сушени праскови, сушени кайсии и др. в аромата и вкусовите си профили. Цялостно проучване ще ни позволи да определим най-обещаващите от тях и да потвърдим устойчивостта на нивото на производителност и качество на продукцията.

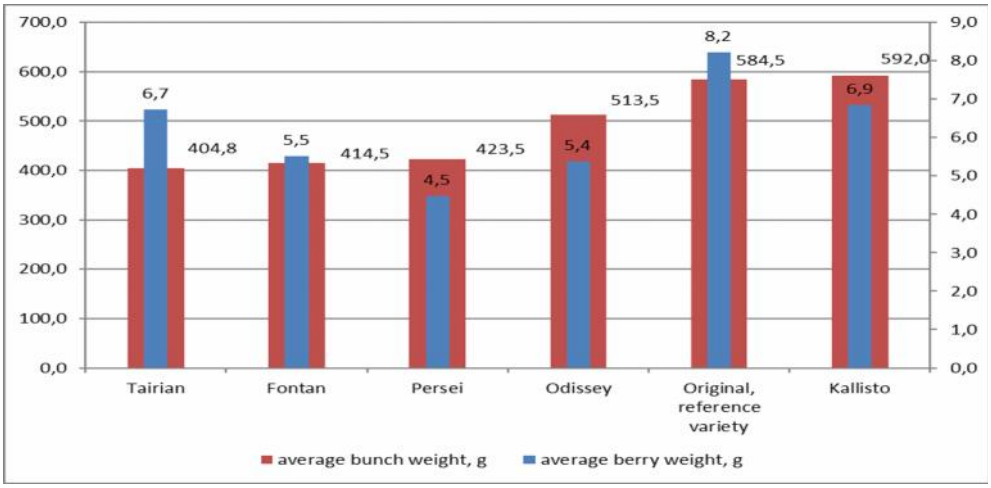
dried peach, dried apricots, etc. in their aroma and flavor profiles.

A comprehensive study will allow us to determine the most promising of them and confirm the stability of a level of productivity and product quality.

Фиг. 5. Визуално представяне на ароматните компоненти в обещаващи сортове вино
Fig. 5. Visual representation of flavor components in promising wine varieties

Размерът на грозда и гроздовите зърна е много важна характеристика за разнообразието на трапезните сортове, като най-търсените на пазара. Фигура 6 показва ниво на проявление на характеристиката „средно тегло на грозд“ и „средно тегло на гроздово зърно“ през период от 2016 г. до 2019 г. Сортовете и хибридните форми показват средно тегло на грозда от 405 до 592 g и средно тегло на зърната от 4,5 до 8,2 g. Хибридната форма на Kallisto се откроява със средно тегло на грозда от 592 g и средно тегло на гроздовото зърно от 6,9 g (Фигура 6).

Size of a bunch and berries is a very important trait for a table variety, as the most demandable on the market. Figure 6 shows a level of manifestation of "an average bunch weight" and "an average berry weight" traits during a period from 2016 to 2019. Varieties and hybrid forms showed an average bunch weight of 405 to 592 g and an average berry weight of 4.5 to 8.2 g. Kallisto hybrid form stood out with an average bunch weight of 592 g and an average berry weight of 6.9 g (Figure 6).

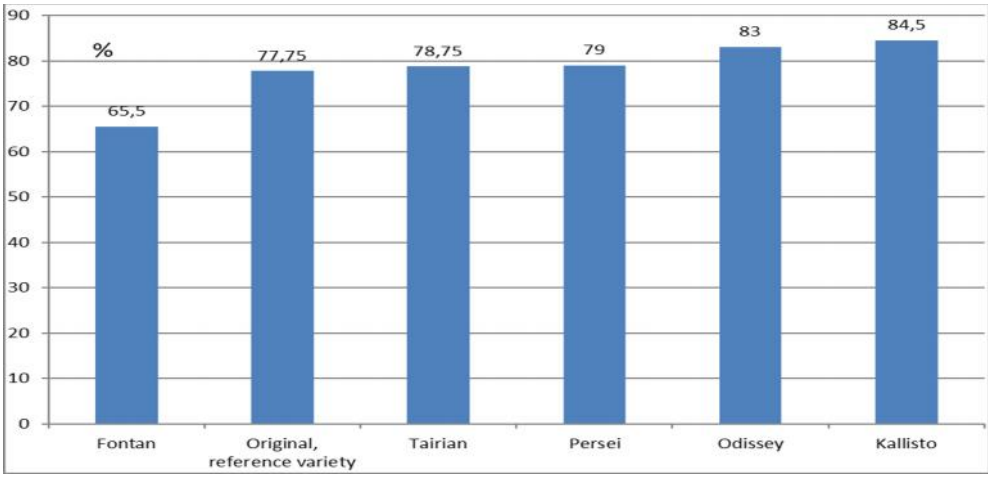


Фиг. 6. Ниво на проявление на "средно тегло на грозд" и "средно тегло на гроздово зрънце" на обещаващи сортове трапезни и хибридни форми, средно тегло през 2016-2019

Fig. 6. A level of manifestation of "average bunch weight" and "average berry weight" characteristics of promising table varieties and hybrid forms, average weight during 2016-2019

Не по-малко важна характеристика за икономическата ефективност при отглеждане на трапезни сортове е годността за продажба и брой гроздове върху лоза. Средно годността за пазара варира от 65,5 (Fontan) до 84,5% (Kallisto) в рамките на четири години от настоящето изследване при различни условия през вегетационния период (Фигура 7).

No less important trait for the economic efficiency of table variety cultivation is the marketability of bunches on the vine. On average, marketability ranged from 65.5 (Fontan) to 84.5% (Kallisto) within four years of this research with different conditions during a vegetation period (Figure 7).



Фиг. 7. Възможност за продажба на грозде, среден процент през 2016-2019

Fig. 7. Marketability of bunches, average percentage during 2016-2019

SSR анализът на 80 сорта грозде (включително сортовете, подбрани в Института по лозарство и винопроизводство "Таиров", показа висок полиморфизъм на следните локуси: VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, ZAG62. Поради това те могат да бъдат използвани за разграничаване дори на близко свързани сортове. Таблица 3 представя индивидуални резултати от микросателитен анализ за по-нататъшно сертифициране и регистрация на сортове без семена в Банката на растителните генетични ресурси на Украйна.

SSR analysis of 80 grape varieties (including varieties, selected in the Tairov Institute of Viticulture and Winemaking showed a high polymorphism of the following loci: VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD32, ZAG62. Due to this, they can be used to differentiate even closely related varieties.

Table 3 presents individual results of microsatellite analysis for further certification and registration of seedless varieties in the Bank of Plant Genetic Resources of Ukraine.

Таблица 3. Резултати от микросателитен анализ на сортове без семена
Table 3. Results of microsatellite analysis of seedless varieties

№	Сорт/Variety	ZAG62	ZAG79	VVMD 5	VVS2	VVMD 32
1	Jupiter	200	262	260	-	-
2	Prime seedless	194	266	-	133:100	287:264
3	Marquis seedless	200	264	245	113	288
4	Gleanora	200:190	281	-	129:103	261
5	Attika seedless	200:190	291	246	128:108	283
6	Kishmish luchistii	190	288	243	128:116	284:260
9	Mars	196	272	251		280
10	Elf	196:180	278	-	124	280
11	Sverkhrannii bessemyannyi	194	278	-	135	280
12	Lakemont	200:190	272	-	143:115	240
13	Himrod	200:190	272	-	143:119	235
14	Jupiter 2	196	270	-	-	244
15	Kishmish tairovskii	200:190	292	286:241	-	260
16	Rusensko bez seme	194:190	281	-	127	260
17	Einset Seedless	190	287	240	-	-
18	Venus	194	294	240	-	-
19	Kishmish chernyi	190	279	285:241	-	-

Произходът на 74 от 80 проби е потвърден от генотипи на два родителски сорта (Karastan et al., 2017).

Родителски сортове са определени за шест проби, получени чрез смесено опрашване. Irsai Oliver, Muscat zhemchyuzhnyii, Kobzar, Sorok lyet Oktyabrya, Muskat odesskii са родителски сортове съответно за сортове Ukr 85, Shkoda и Opalovyi, Lanjeron, Golubok, Iskorka (Karastan et al., 2017).

Основните характеристики на генетичното разнообразие на гроздето,

The origin of 74 from 80 samples was confirmed by genotypes of two parent varieties (Karastan et al., 2017).

For six samples obtained via mixed pollination, parent varieties were determined. Irsai Oliver, Muscat zhemchyuzhnyii, Kobzar, Sorok lyet Oktyabrya, Muskat odesskii are parent varieties for Ukr 85, Shkoda and Opalovyi, Lanjeron, Golubok, Iskorka cultivars, respectively (Karastan et al., 2017).

Main characteristics of grape genetic diversity, detected using allelic

открити с помощта на алелни профили на интродуцирани сортове и разновидности, отглеждани в Института по лозарство и винопроизводство "Таиров" (въпреки наличието на няколко групи с проби с близка връзка), показват значителна генетична хетерогенност и липса на инбридинг влияние върху генотипите на изследвани сортове (Karastan et al., 2018). Този факт, заедно с висока устойчивост на биотични и абиотични фактори, прави тези генотипи потенциални донори за нови селекционни програми.

profiles of introduced cultivars and varieties bred at the Tairov Institute of Viticulture and Winemaking (despite the presence of several groups of closely related samples), demonstrate significant genetic heterogeneity and absence of inbreeding influence on the genotypes of studied varieties (Karastan et al., 2018). This fact along with a high resistance to biotic and abiotic factors makes these genotypes the potential donors for new breeding programs.

ИЗВОДИ

Анализиране на група от разновидности на грозде без семена според различията в съдържанието на семената позволи да се разграничат сортове от първа категория безсеменност, които по-късно могат да бъдат използвани като родителски сортове при кръстоски.

Анализът на устойчивостта срещу гъбични заболявания на някои регистрирани сортове показа тенденция към повишаване на адаптивността на сортовете от ново поколение.

Направени са ароматни профили на вина, произведени от нови винени сортове и хибридни форми и се потвърди изключителността на техния вкус и аромат. Обещаващите трапезни сортове са подбрани според размера на грозда и гроздовите зърна, както и годността за пазара и брой гроздове върху лоза.

Използването на SSR анализ ни позволи да потвърдим произхода на изследваните разновидности, което бе решаващо за сортове, получени чрез смесено опрашване. Предварителните резултати показват генетична хетерогенност в значителна част от колекцията от лози.

CONCLUSIONS

Analysis of a group of seedless varieties by variation in seed content made it possible to distinguish seedless cultivars of the first seedlessness category, which can later be used as parent varieties in crosses.

Analysis of resistance to fungal diseases in certain registered varieties showed a tendency of increasing the adaptability of new generation varieties.

Flavor profiles of wines produced from new wine varieties and hybrid forms were made. The exclusivity of their taste and flavor complex was confirmed.

Promising table varieties were selected by the size of a bunch and berries, as well as marketability of bunches on the vine.

The usage of SSR analysis allowed us to confirm the origin of the studied varieties, which was crucial for varieties obtained via mixed pollination. Preliminary results indicate genetic heterogeneity in a significant part of the grapevine collection.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Akkurt, M., H. Tahmaz and S. Veziroğlu**, 2019. Recent Developments in Seedless Grapevine Breeding. *S. Afr. J. Enol. Vitic.,* 40 (2).

2. **Bankovska, M. G.**, 2007. Evaluation of Resistance to Fungal Diseases in Grape Varieties. *Viticulture and winemaking: an interagency thematic collection of scientific*

papers, 45 (1), 20-25.
3. **Gerus, L. V., I. A. Kovalova, E. V. Salii, M. G. Fedorenko, N. A. Muliukina, O. M. Karastan and E. S. Papina**, 2015. Results of Stage Breeding for Genetically Related High Level of Manifestation of Valuable Traits in Grape Varieties Bred at the Tairov Institute of Viticulture and Winemaking. *Viticulture and winemaking: an interagency thematic collection of scientific papers,* 52, 54-60.
4. **Karaagac, E., A. M. Vargas, M. T. de Andrés, I. Carreño, J. Ibáñez, J. Carreño, J. Martínez-Zapater and J. Cabezas**, 2012. Marker Assisted Selection for Seedlessness in Table Grape Breeding. *Tree Genetics & Genomes*, vol. 8, 1003-1015.
5**. Karastan, O.M., N.A. Muljukina and O.S. Papina,** 2017. Molecular and Genetic Analysis of Parental and Great-parental Selections for Grapevine Samples Origin Verification. Science Herald of East European Lesja Ukrainka University, 13 (362), 15-20.
6. **Karastan, O.M., N.A. Muljukina, O.S. Papina and G.V. Plachinda**, 2018. Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Genetic Diversity Evaluation by the Microsatellite Markers. *Lviv University Herald. Biological series,* 77: 53-61.
7. **Kovalova, I. A. and L. V**. **Gerus**, 2016. Grape Breeding in a Global Context: Problems and Trends, Genetic and Variety Diversity of Plants for Improving Human Life Quality. In: Int. Sci. Conf. dedicated to 25th anniversary of The National Center for Plant Genetic Resources of Ukraine in Kharkiv: Abstracts of Papers, Kiev, pp. 187-188.
8. **Migicovsky, Z., J. Sawler, D. Money, R. Eibach, A. Miller, J. Luby, A. Jamieson, D. Velasco, S. Kintzel, J. Warner, W. Wührer, P. Brown and S. Myles**, 2016. Genomic Ancestry Estimation Quantifies Use of Wild Species in Grape Breeding. *BMC Genomics,* 17: 478.
9. **Smirnov, K.V., I. A. Kostrikin, L. A. Maistrenko et al.**, 1996. Breeding for Seedlessness in Table Grape Varieties. *Viticulture and Medicinal Plants.* Tr. TSHA. M.: MSHA, 267, 16-18.
10. **Smirnov, K.V., I. A. Kostrikin, L. A. Maistrenko et al.**, 2002. Seedless Grape Varieties and Hybrid Selections. Novocherkassk – Zaporozhe, 54 p.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (3), 180-194 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Скорост на растеж на поленовите тръбички и формиране на завръз при сливови генотипи (*Prunus domestica* L.) при различен начин на опрашване

Ивана Глишич[1]*, Радосав Церович[2], Милена Джорджевич[1], Саня Радичевич[1], Небойша Милошевич[1], Сладжана Марич[1], Милан Лукич[1]

[1]Изследователски институт по овощарство, "Краля Петра I" 9, 32000 Чачак, Република Сърбия
[2]Белградски университет, Иновационен център, Технологичен и металургичен факултет, "Карнегийева" 4, 11120 Белград, Република Сърбия

Pollen tubes growth Rate and Initial Fruit Set in Some Plum (*Prunus domestica* L.) Genotypes under Different Pollination Modes

Ivana Glišić[1]*, Radosav Cerović[2], Milena Đorđević[1], Sanja Radičević[1], Nebojša Milošević[1], Slađana Marić[1], Milan Lukić[1]

[1]Fruit Research Institute, Kralja Petra I/9, 32000 Čačak, Republic of Serbia
[2]University of Belgrade, Innovation Centre at Faculty of Technology and Metallurgy, Karnegijeva 4, 11120 Belgrade, Republic of Serbia
**E-mail: iglisic@institut-cacak.org*

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Скоростта на растеж на поленовите тръбички през три етапа (72 ч., 144 ч. и 240 ч. след опрашването), както и първоначалният плоден завръз от шест обещаващи сливови генотипа, разработени в Изследователски институт по овощарство, Чачак (хибридите 38/62/70, IV/63/81, 32/21/87, 34/41/87, 22/17/87, сорт „Nada“) са изследвани при самоопрашване, кръстосано опрашване („Čačanska Lepotica" като опрашител) и варианти на свободно опрашване за период от две години (2010/2011). Динамиката на растеж на поленовите тръбички е различна в зависимост от генотипа, варианта на опрашване и годината. 72 часа след опрашването,

SUMMARY

Pollen tubes growth rate in three fixation terms (72 h, 144 h and 240 h after pollination), as well as the initial fruit set of six promising plum genotypes developed at Fruit Research Institute, Čačak (the hybrids 38/62/70, IV/63/81, 32/21/87, 34/41/87, 22/17/87, and the cultivar ‘Nada’) were investigated under self-, cross- (‘Čačanska Lepotica’ as pollenizer) and open pollination variants over the two years (2010/2011).

Dynamics of pollen tubes growth varied depending on genotype, pollination variant and year. 72 h after pollination, location of the longest pollen tube was between the medium part of the style and

местоположението на най-дългата поленова тръбичка е между средната част на стълбчето и нуцелуса. Поленовите тръбички се наблюдават предимно в яйчника, 144 ч. след опрашване, докато 240 ч. след опрашване само при хибрид 32/21/87, във вариант на самоопрашване не се наблюдава проникване на поленова тръбичка в нуцелуса. Най-голямото количество опрашени плодници, с проникване в нуцелуса 240 ч. след опрашване, е получено при вариант на кръстосано опрашване във всички изследвани генотипи и през двете години, с изключение на хибриди IV/63/81 и 22/17/87 през 2011 г., когато този показател достига най-висока стойност във варианта на самоопрашване и свободно опрашване. Средната стойност на първоначалния плоден завръз варира от 1,08% (хибрид 32/21/87, самоопрашване) до 54,06% („Nada“, кръстосано опрашване). Най-висок процент на първоначален плоден завръз, при поголямата част от изследваните генотипи е регистриран във вариант на кръстосано опрашване, с изключение на хибрид 34/41/87, където най-добрият резултат е получен във варианта на самоопрашване.

Ключови думи: сливов генотип, самоопрашване, свободно и кръстосано опрашване, динамика на цветни тръбички, плоден завръз

the nucellus.

Pollen tubes were predominantly observed in the ovary 144 h after pollination, while 240 h after pollination, penetration of pollen tube into the nucellus was not observed only in hybrid 32/21/87, in self-pollination variant.

The highest amount of pistils with penetration into the nucellus 240 h after pollination was obtained in cross-pollination variant in all investigated genotypes and in both years, except in hybrids IV/63/81 and 22/17/87 in 2011 where this parameter achieved the highest value in self-pollination and open-pollination variants, respectively.

The average value of initial fruit set varied from 1.08% (32/21/87, self-pollination) to 54.06% ('Nada', cross-pollination). The highest percentage of the initial fruit set for the majority of investigated genotypes recorded in the cross-pollination variant, except in hybrid 34/41/87, where the best result was obtained in self-pollination variant.

Key words: plum genotype, self-, open- and cross-pollination, pollen tubes dynamics, fruit set

УВОД

Оптималният плоден завръз и добивът от генотипи на европейска слива (*Prunus domestica* L.) се контролира от голям брой фактори, които влияят върху процесите на опрашване и оплождане. Първата стъпка в опрашването е пренасяне на поленови зърна от прашниците към близалцето и тяхното прилепване, последвано от хидратацията и покълването им. Фактори, които оказват значително влияние върху успеха на тази фаза са съвместимостта и припокриването при цъфтежа на сортовете (Koskela et al., 2010), достатъчно количество и качество на пра-

INTRODUCTION

Optimal fruit set and yield of genotypes of European plum (*Prunus domestica* L.) is under strong control of a large number of factors that affect pollination and fertilization processes.

The first step of pollination is transfer of pollen grains from the anthers to the stigma and their adhesion followed by their hydration and germination.

Factors that significantly influence the success of this phase are flowering overlap (Koskela et al., 2010), pollen of adequate quantity and quality (Surányi,

шеца (Surányi, 2006), осигуряване на преноса му и възприемчивост на близалцето (Nikolić et al., 2012).

В следващата стъпка поленовите тръбички порастват през стълбчето. Тяхното удължаване може да бъде прекъснато в случаите, когато идентични *S*-алели присъстват в поленовите зърна и в плодниците (Nikolić и Milatović, 2010). Скоростта на растеж на поленовите тръбички е под влиянието на редица фактори като мъжки (Kuzmanović, 2008) и женски (Neumüler, 2011) генотипи, режим на опрашване (Stott et al., 1973), колебания на температурата през периода на цъфтеж (Hedhly et al., 2005). Също така, съществуват генотип-зависими реакции на мъжки и женски сортове при различни температури (Petropoulou and Alston, 1998, Radičević et al., 2016).

Последните фази на растеж на поленовите тръбички настъпват в тъканта на яйчника. Когато поленовите тръбички навлизат в тъканта на яйчника те се разрастват през обтураторната област и микропилират в нуцелуса, а след това през един от синергидите в ембрионалния сак и проникват в яйцето. Сперматозоидите се доставят в ембрионалната торбичка на яйчника чрез поленовата тръбичка. Прорастването на поленовата тръбичка през яйчника се насочва от няколкото структури на женския гаметофит (McCormick, 2004; Yadegari and Drewsb, 2004; Palanivlu and Tsukamoto, 2011). По време на процеса на двойно оплождане, една сперматозоидна клетка опложда яйцеклетката и се образува зигота, докато другите сперматозоиди оплождат две полярни ядра на централната клетка и образуват тетраплоидния ендосперм. Наличието на семена е решаващо за развитието на плода, така че плодният завръз е в пряка връзка с оплождането (Cerović и Mićić, 1999). Зрелите яйцеклетки имат ограничен живот, затова оплождането трябва да се извършва през цялото

2006), assurance of its transfer and stigma receptivity (Nikolić et al., 2012).

In the next step pollen tubes grow through the style. Their elongation can be interrupted in cases when the same *S*-alleles is present in the pollen grains and in the pistils (Nikolić and Milatović, 2010).

Pollen tubes growth rate is under the influence of a number of factors such as male (Kuzmanović, 2008) and female (Neumüler, 2011) genotypes, pollination mode (Stott et al., 1973), temperature fluctuation during the blooming period (Hedhly et al., 2005). Also, genotype-dependent reactions of male and female cultivars on different temperatures exist (Petropoulou and Alston, 1998, Radičević et al., 2016).

The final phases of pollen tubes growth occur in the tissue of the ovary. When pollen tubes enter the ovarian tissue, they growth through the obturator area and micropyle into the nucellus, and then through one of the synergids in the embryo sac and penetrate the ovule.

Sperm cells are delivered to the embryo sac of the ovary through the pollen tube. The growth of pollen tubes through the ovary is directed by the several structures of the female gametophyte (McCormick, 2004; Yadegari and Drewsb, 2004; Palanivlu and Tsukamoto, 2011).

During the double fertilisation process, one sperm cell fertilizes the egg cell and zygote is formed, while the other sperm cells fertilize two polar nuclei of the central cell and form the tetraploid endosperm.

The presence of seeds is decisive for fruit development so that the fruit set is in direct correlation with fertilization (Cerović and Mićić, 1999).

Mature ovules have a limited lifetime, so fertilization must occur throughout this

това време (Cerović and Mićić, 1996), където връзката на тези параметри е определена като ефективен период на опрашване (Sanzol and Herrero, 2001). Некачественият плоден завръз може да бъде резултат от съкратения период на ефективно опрашване, т.е. времевият интервал между продължителността на живот на яйцеклетката и времето, необходимо за проникване на поленовата тръба в яйцеклетката (Stöser and Anvari, 1982). Краткият период на опрашване може да бъде резултат от бавен растеж на поленовите тръбички и/или къса продължителност на живот на яйцеклетките (Yerko and Miller-Azarenko, 1992). Според условията на околната среда температурата на въздуха по време на цъфтеж е най-важният фактор, който влияе както върху скоростта на растеж на поленовата тръбичка, така и върху продължителността на живот на яйцеклетката (Beltrán et al., 2019). Увеличаването на температурата на въздуха ускорява растежа на поленовите тръбички (Hedhly et al., 2004), но съкращава живота на яйцеклетките (Cerović et al., 2000).

За да се осигури рентабилност в сливопроизводството, преди въвеждането на нови сортове е важно да се познават различни аспекти на тяхната репродуктивна биология. Целта на настоящото проучване е да се изследва динамиката на растеж на поленовите тръбички и първоначален завръз, определени за шест обещаващи генотипа на синя слива, разработени в Изследователски институт по овощарство, Чачак, т.е. пет хибрида и нов сорт, при различни начини на опрашване.

time (Cerović and Mićić, 1996), where the relationship of these parameters is defined aseffective pollination period (Sanzol and Herrero, 2001).

Poor fruit set may result from the shortened effective pollination period, i.e. the time interval between ovule longevity and time required for the pollen tube to penetrate the ovule (Stöser and Anvari, 1982).

A short pollination period can result from slow pollen tubes growth rate and/or short ovules longevity (Yerko and Miller-Azarenko, 1992).

Among the environmental conditions, air temperature during flowering is the most important factor having impact on both pollen tube growth rate and ovule longevity (Beltrán et al., 2019).

An increase in air temperature accelerates the growth of pollen tubes (Hedhly et al., 2004), but shortens the ovules longevity (Cerović et al., 2000).

In order to ensure profitability of plum growing before introducing new cultivars into production, knowledge of different aspects of their reproductive biology is essential. The aim of this study was to investigate pollen tubes growth rate and initial fruit set in six promising plum genotypes developed at Fruit Research Institute, Čačak, i.e. five hybrids and newly released cultivar, under different pollination modes.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Растителен материал

Изследването включва пет обещаващи хибрида [38/62/70 (’Hall’ × ’California Blue’), IV / 63/81 (‘Large Sugar Prune’ × ’Scoldus’), 32/21/87 (’Stanley’ × ’Scoldus’), 34/41/87 (’Valjevka’ × ‘Čačanska Lepotica’), 22/17/87 (’Čačanska Najbolja’ ×

MATERIAL AND METHODS

Plant material

The research included five promising hybrids [38/62/70 (‘Hall’ × ‘California Blue’), IV/63/81 (‘Large Sugar Prune’ × ‘Scoldus’), 32/21/87 (‘Stanley’ × ‘Scoldus’), 34/41/87 (‘Valjevka’ × ‘Čačanska Lepotica’), 22/17/87 (‘Čačanska Najbolja’ ×

’Zelta Boutilcovidna’)] и нов сорт “Nada“ (’Stanley ’×’ Scoldus’), разработен в Изследователски институт по овощарство, Чачак в рамките на селекционната програма за Европейска слива (*P. domestica*). Опитът е извършен в експериментална овощна градина на съоръжение Любич, близо до Чачак, което е създадено през пролетта на 2003 г. със стандартен едногодишен посадъчен материал, присадени върху джанка (*Prunus cerasifera* Ehrh). Изследваните генотипи са засадени в три повторения с 15 дървета, при схема 6,0 m × 5,0 m и формирани с пирамидална корона.

Процедура на опрашване и вземане на проби от плодниците

През двугодишния период (2010/2011 г.) клони с приблизително 500 цвята (в етапа на късен бял бутон) на всеки генотип бяха избрани на случаен принцип от всички дървета,, са кастрирани и изолирани с хартиени торби. В същото време, за да се подготви цветен прашец за самоопрашване и кръстосано опрашване, са взети полеви проби от клони с цветни пъпки в етапа на късен бял бутон от всеки изследван генотип и сорт „‘Čačanska Lepotica’.

В лабораторията прашниците от всеки генотип се събират и съхраняват в хартиени кутии при стайна температура до тяхното отваряне и освобождаване на цветен прашец. В началото на етап на пълен цъфтеж, кастрираните и изолирани цветове от всеки генотип са самоопрашени и кръстосано опрашени ръчно.

За да се предотврати неконтролирано опрашване, опрашените цветове се изолират отново със същите хартиени торбички в продължение на 15 дни. Тридесет плодници от всеки изследван генотип и в двата варианта на опрашване са взети на 72 ч., 144 ч. и 240 ч. след опрашване. Взетите проби веднага са натопени в разтвор на FPA (70% етанол, пропионова киселина и

‘Zelta Boutilcovidna’)] and a new cultivar ‘Nada’ (‘Stanley’ × ‘Scoldus’), developed at Fruit Research Institute, Čačak within the European plum (*P. domestica*) breeding programme. The trial was performed in an experimental orchard on the Ljubić facility, near Čačak, which was established in spring 2003 with standard one-year old plantings of aforementioned genotypes grafted on myrobalan seedlings (*Prunus cerasifera* Ehrh). Investigated genotypes were planted in three replications with 15 trees, with spacing of 6.0 m × 5.0 m and pyramidal crown training system.

Pollination procedure and pistils sampling

During the two-year period (2010/2011) the branches with approximately 500 flowers at the late balloon stage of each genotype were randomly selected from all trees, emasculated and isolated with paper bags. At the same time, in order to prepare pollen for self- and cross-pollination, branches with flower buds at the late balloon stage of each studied genotype and cultivar ‘Čačanska Lepotica’ were sampled in the field.

In the laboratory, anthers of each genotype were collected and stored in paper boxes at room temperature until their opening and releasing of pollen grains. At the beginning of full flowering emasculated and isolated flowers of each genotype were self- and cross-pollinated by hand.

In order to prevent uncontrolled pollination subsequently pollinated flowers were isolated again with the same paper bags during 15 days. Thirty pistils of each investigated genotype in both pollination variants were sampled 72 h, 144 h and 240 h after pollination.

Sampled pistils were immediately soaked in FPA solution (70% ethanol, propionic

формалдехид, при обем от 90: 5: 5 процента) и са съхранени при 4° С. По същия начин и при същите условия са взети проби от всеки изследван генотип на слива от свободно опрашване.

Израстване на поленови тръбички *in vivo*

За да се изследва растежът на поленовите тръбички *in vivo* в стълбчето и в яйчника, е използван метод за оцветяване с анилиново синьо (Kho and Baër, 1971). Направено е отделяне на стълбчето от яйчника под стерео микроскоп. За по-добро наблюдение, стълбчето се отваря по протежение на шева и се смачква, докато яйчникът се отделя по шева и се реже надлъжно и тангенциално. Наблюдението на стълбчетата и яйчниците се извършва под UV светлини на микроскоп Olympus BX61 (Токио, Япония). Скоростта на растеж на поленовите тръбички се определя в три периода (72 ч., 144 ч. и 240 ч. след опрашването) като процент на плодниците с най-дълга поленова тръбичка, проникваща в определени части от стълбчето или яйчника.

Първоначален плоден завръз

В началото на етапа на зреене е отчетен формираният завръз. Във вариантите на самоопрашване и кръстосано опрашване се изчислява като брой на плодове, получени от опрашените цветове, останали след последното фиксиране. За определяне на първоначалния плоден завръз във вариант на свободно опрашване са избрани клони с приблизително 300 цвята в период на пълен цъфтеж. Първоначалният плоден завръз представлява броя на получените плодове спрямо броя на подбраните цветове.

Статистически анализ

Данните свързани с първоначалния плоден завръз, са анализирани чрез модела на Фишер за дисперсионен анализ (ANOVA), с двуфакторен

acid and formaldehyde, 90:5:5 percentages by volume) and stored at 4°C. In the same way and in the same terms, samples of each investigated plum genotypes were taken from the open-pollination.

Pollen tubes growth *in vivo*

To investigate pollen tubes growth *in vivo* in the style and in the ovary, aniline blue staining method was used (Kho and Baër, 1971).

The separation of the style from the ovary under a stereo microscope was done. For better observation, the style was opened along the suture and squashed, while the ovary was separated along the suture and was cut longitudinally-tangentially.

Observation of styles and ovaries was done under UV lights on Olympus BX61 microscope (Tokio, Japan). The pollen tubes growth rate was determined in three terms (72 h, 144 h and 240 h after pollination) as the percentage of pistils with the longest pollen tube penetrating to certain parts of the style or ovary.

Initial fruit set

Determination of initial fruit set at the beginning of the maturation stage was done. Initial fruit set in variants of self- and cross-pollination was calculated as the number of fruits obtained from the pollinated flowers remaining after the last fixation.

To determine the initial fruit set in open pollination variant branches with approximately 300 flowers were selected at the time of full flowering. Initial fruit set represented the number of obtained fruits, in relation to the number of selected flowers.

Statistical analysis

The data relating to initial fruit set was analysed using Fisher's model of analysis of variance (ANOVA), with a two-factor design, using the *F* test with the

модел, използвайки тест *F* с праг на значимост, определен при P ≤ 0,05. В случаите, когато *F*-тестът е значим, разликите между аритметичните стойности се пресмятат, като се използва тестът за най-малка значима разлика (LSD) с праг на значимост, определен при P ≤ 0,05. Статистическите анализи се извършват с помощта на статистически софтуерен пакет SPSS, версия 8.0 за Windows (SPSS Inc., Чикаго, Илинойс).

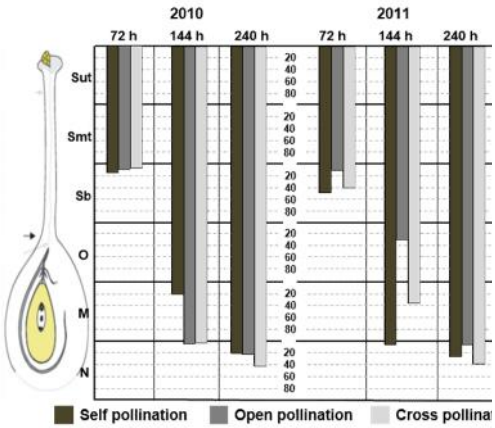
significance threshold set at P ≤ 0.05. In cases where the *F*-test was significant, differences between arithmetic means were evaluated using the least significance difference (LSD) test with the significance threshold set at P ≤ 0.05. Statistical analyses were performed using SPSS statistical software package, Version 8.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Получените резултати показват, че скоростта на растеж на поленовите тръбички се променя в зависимост от генотипа, метода на опрашване и годината (Фигури 1 до 6).

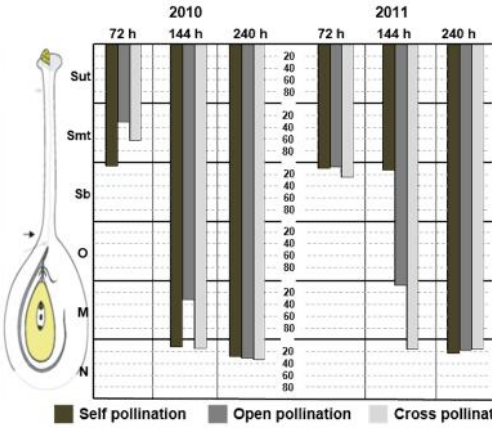
RESULTS AND DISCUSSION

The obtained results showed that the pollen tubes growth rate varied depending on genotype, pollination mode and year (Figures 1 to 6).



Фиг. 1. Сила на растеж на поленови тръбички в плодници на хибрид 38/62/70

Fig. 1. Pollen tubes growth rate in the pistils of hybrid 38/62/70



Фиг. 2. Сила на растеж на поленови тръбички в плодници на хибрид IV/63/81

Fig. 2. Pollen tubes growth rate in the pistils of hybrid IV/63/81

Sut – горна третина на стълбчето; Smt – средна третина на стълбчето; Sb – основа на стълбчето; O - обтураторна зона; M - микропил, N – нуцелус на яйчника.
Sut - upper third of the style; Smt - medium third of the style; Sb - base of the style; O - obturator zone; M - micropyle, N - nucellus of the ovule.

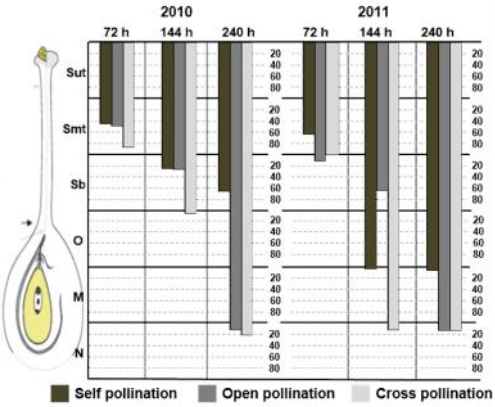
Поленовите тръбички са наблюдавани в средната част или в основата на стълбчето за 72 ч. след опрашване: при хибриди 38/62/70 (Фигура 1), IV/63/81 (Фигура 2) и 32/21/87 (Фигура 3) при всички варианти на опрашване и през двете години; в сорт „Nada“ при

Pollen tubes were observed in the medium part or in the base of the style 72 h after pollination: in hybrids 38/62/70 (Figure 1), IV/63/81 (Figure 2) and 32/21/87 (Figure 3) in all variant of pollination and in both years; in cultivar ‘Nada’ in self-pollination and cross-

варианти на самоопрашване и кръстосано опрашване и през двете години (Фигура 4); в хибрид 34/41/87 във всички варианти на опрашване през 2010 г. и във вариант на самоопрашване през 2011 г. (Фигура 5), а при хибрид 22/17/87 във вариант на самоопрашване и кръстосано опрашване през 2010 г. (Фигура 6). В същия период, най-дългите поленови тръбички при всички останали варианти са разположени в яйчника, предимно в обтураторната зона. Появата на най-дългите поленови тръбички в микропила има по-малък размер, докато проникването на поленовата тръбичка в нуклеуса се наблюдава само при хибрид 34/41/87 във вариант на кръстосано опрашване през 2011 г.

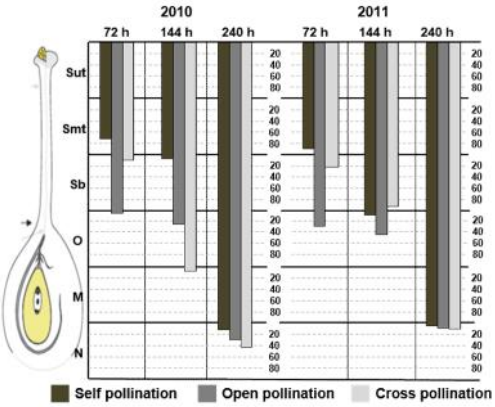
pollination variants in both years (Figure 4); in hybrid 34/41/87 in all variants of pollination in 2010 and in variant of self-pollination in 2011 (Figure 5), and in hybrid 22/17/87 in variant of self-pollination and cross-pollination in 2010 (Figure 6).

In the same term, the longest pollen tubes in all other treatments were located in the ovary, predominantly in the obturator zone. The occurrence of the longest pollen tubes in micropyle had lower rate, while penetration of pollen tube into the nucellus was observed only in hybrid 34/41/87 in variant of cross-pollination in 2011.



Фиг. 3. Сила на растеж на поленови тръбички в плодници на хибрид 32/21/87

Fig. 3. Pollen tubes growth rate in the pistils of hybrid 32/21/87.



Фиг. 4. Сила на растеж на поленови тръбички в плодници на сорт 'Nada'

Fig. 4. Pollen tubes growth rate in the pistils of cultivar 'Nada'.

Sut – горна третина на стълбчето; Smt – средна третина на стълбчето; Sb – основа на стълбчето; O – обтураторна зона; M - микропил, N – нуцелус на яйчника

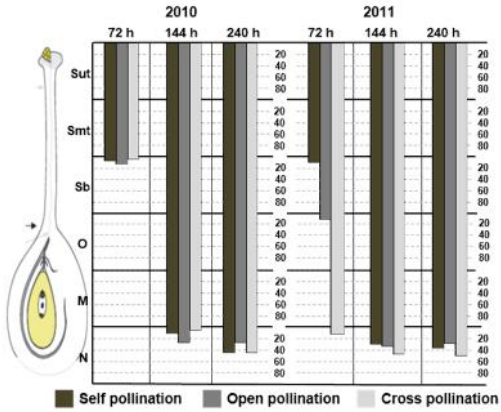
Sut - upper third of the style; Smt - medium third of the style; Sb - base of the style; O - obturator zone; M - micropyle, N - nucellus of the ovule.

144 часа след опрашването са открити най-дългите поленови тръбички в яйчника на изследваните генотипи, във всички варианти на опрашване и през двете години на изследване, с изключение на хибрид IV/63/81 във вариант на самоопрашване през 2011 г. (Фигура 2), хибрид 32/21/87 във ва-

144 h after pollination the longest pollen tubes were found in the ovary of the investigated genotypes, in all variants of pollination and in both years of investigation, with the exceptions of hybrid IV/63/81 in variant of self-pollination in 2011 (Figure 2), hybrid 32/21/87 in variant of self-pollination in 2010 and in variant of

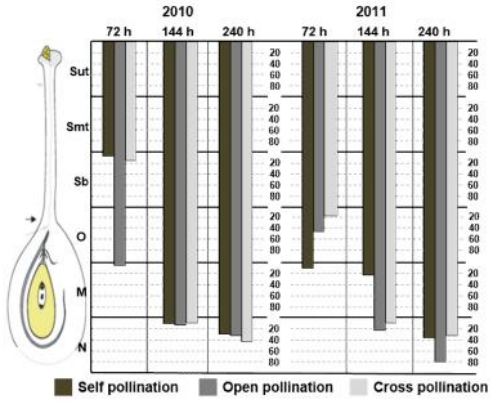
риант на самоопрашване през 2010 г. и във вариант на отворено опрашване през двете години (Фигура 3), както и за сорт „Nada“ във вариант на самоопрашване през 2010 г. и във вариант на кръстосано опрашване през 2011 г. (Фигура 4).

open-pollination in both years (Figure 3), as well as in cultivar ‘Nada’ in variant of self-pollination in 2010 and in variant of cross-pollination in 2011 (Figure 4).



Фиг. 5. Сила на растеж на поленови тръбички в плодници на хибрид 34/41/87

Fig. 5. Pollen tubes growth rate in the pistils of hybrid 34/41/87



Фиг. 6. Сила на растеж на поленови тръбички в плодници на хибрид 22/17/87

Fig. 6. Pollen tubes growth rate in the pistils of hybrid 22/17/87

Sut – горна третина на стълбчето; Smt – средна третина на стълбчето; Sb – основа на стълбчето; O - обтураторна зона; M - микропил, N – нуцелус на яйчника.

Sut - upper third of the style; Smt - medium third of the style; Sb - base of the style; O - obturator zone; M - micropyle, N - nucellus of the ovule.

240 ч. след опрашване, проникване на поленовата тръбичка в нуклеуса не е наблюдавано само при хибрид 32/21/87 във вариант на самоопрашване и през двете години (фигура 3).

Покълването на цветния прашец и първоначалният растеж на плодната тръбичка зависят от запасите в прашеца (Stephanson et al., 2003), докато влиянието на женския генотип се отразява във физическата форма и хранителните елементи (Bayer and Stösser, 2002; Hedhly et al., 2005). Keulemans (1984) посочва, че някои сортове сливи, използвани за опрашители са „бавно растящи“. Същият автор отбелязва, че повишаването на температурата на въздуха ускорява растежа на поленовите тръбички, но също така и че всички сортове не реагират по един и същи начин. Резултатите от настоящото про-

240 h after pollination penetration of pollen tube into the nucellus was not observed only in hybrid 32/21/87 under self-pollination mode in both years (Figure 3).

The pollen germination and initial pollen tube growth depend on reserves stored in the pollen (Stephanson et al., 2003), while the influence of female genotype is reflected in physical and nutritional role (Bayer and Stösser, 2002; Hedhly et al., 2005).

Keulemans (1984) pointed out that some plum cultivars as pollenizers behave as ‘slow growers’. The same author noted that an increase in air temperature accelerated pollen tubes growth, but also that all cultivars did not react in the same way. Results of the present study relating to obtained differences in pollen tubes

учване, свързани с получените разлики в скоростта на растеж на поленовите тръбички между изследваните генотипове, начините на опрашване и годините, могат да бъдат обяснени от резултатите на гореспоменатите автори. Освен това въздействието на едни и същи фактори е довело до различни резултати по отношение на скоростта на растеж на поленовите тръбички на сините сливи, което може да се намери в литературата. На третия ден след опрашването, проникването на поленовите тръбички в яйчника на синята слива е наблюдавано от Kuzmanović (2008) и Đorđević et al. (2012). От друга страна Jonese et al. (1971) заявяват, че на поленовите тръбички са необходими пет дни, за да достигнат основата на стълбчето, докато DeCeault and Polito (2010) предвиждат шестдневен период, а Stott et al. (1973) период от осем дни.

Най-голямото количество опрашени плодници, с проникване в нуцелуса 240 ч. след опрашване, е получено при вариант на кръстосано опрашване във всички изследвани генотипи и през двете години, с изключение на хибриди IV/63/81 и 22/17/87 през 2011 г., когато този показател достига най-висока стойност във варианта на самоопрашване и отворено опрашване. По-бърз растеж на поленовите тръбички във вариант на кръстосано опрашване също отчитат Jia et al. (2008) и Đorđević et al. (2019) при синята слива, както и от Radičević et al. (2016) за черешите. Наличните данни в литературата показват, че динамиката на растеж на поленовите тръбички зависи от генотипа на опрашителя (Kuzmanović, 2008; Đorđević et al., 2019). Във връзка с това трябва да се има предвид, че в настоящото проучване, като източник на прашец за кръстосано опрашване е използван сорт „‘Čačanska Lepotica’“. Този сорт се счита за най-добрият опрашител за всички генотипи на европейската синя слива (Neumüler, 2011). В допълнение към хибрид 32/21/87, при който не се

growth rate between investigated genotypes, pollination modes and years can be explained by the findings of aforementioned authors.

Also, the impact of the same factors has led to different results regarding pollen tubes growth rate in plum, which can be found in the literature.

On the third day after pollination, penetration of pollen tubes in ovary of plum was observed by Kuzmanović (2008) and Đorđević et al. (2012).

On other hand, Jonese et al. (1971) stated that pollen tubes take five days to reach the base of the style, whereas DeCeault and Polito (2010) stipulated six days period, and Stott et al. (1973) a period of eight days.

The highest amount of pistils with penetration into the nucellus 240 h after pollination was obtained in cross-pollination variant in all investigated genotypes and in both years, except in hybrids IV/63/81 and 22/17/87 in 2011 where this parameter achieved the highest value in self-pollination and open-pollination variants, respectively.

A faster growth of pollen tubes under cross-pollination variant was also reported by Jia et al. (2008) and Đorđević et al. (2019) for plum, as well as by Radičević et al. (2016) for sweet cherry. Data available in the literature show that the dynamic of pollen tube growth rate depends on the genotype of pollenizer (Kuzmanović, 2008; Đorđević et al., 2019). Regarding this, it should be taken into account that in our study, as a pollen source for cross-pollination ‘Čačanska Lepotica’ was used.

This cultivar is considered as the best pollenizer for all genotypes of European plum (Neumüler, 2011). In addition to hybrid 32/21/87, in which pollen tube

наблюдава проникване на поленоватаа тръбичка в нуклеуса за 240 часа след самоопрашване е наблюдавано ниско количество пплодници с проникване на поленови тръбички в нуклеуса в същия срок и режим на опрашване за сорт “Nada“. Това е свързано с ниското ниво на самоопрашване на споменатите генотипи (Glišić et al., 2017).

Начините на опрашване повлияват значително процента на завръз за изследваните генотипи (Таблица 1). Най-висок процент е регистриран във вариант на кръстосано опрашване, с изключение на хибрид 34/41/87, където най-добрият резултат е получен във варианта на самоопрашване. При свободното опрашване процента на завръза варира между 9,27% (32/21/87) и 33,65% (34/41/87). Тези резултати са в съответствие с данните на Milatović (2019), който посочва, че плодният завръз на европейски сортове синя слива при вариант с ъс свободно опрашване варира от 0% до 50%. Като се имат предвид данните на Szabó (2003) за класификация на европейската синя слива в зависимост от плодния завръз при свободно опрашване, може да се заключи, че изследваните генотипи се характеризират с малък (32/21/87), среден (38/62)/70, IV/63/87 и “Nada“] и голям (34/41/87 и 22/17/87) плоден завръз. При вариант на самоопрашване стойностите на първоначалния плоден завръз варират от 1,08 (32/21/87) до 48,72 (34/41/87). Получените резултати съответстват на предишни данни на Glišić et al. (2017), които посочват ниска (32/21/87 и „Nada“), умерена (38/62/70 и IV / 63/81) и висока (34/41/87 и 22/17/87) степен на самоопрашване на изследваните генотипи. Първоначалният плоден завръз във варианта на кръстосано опрашване варира между 31.02% (38/62/70) и 54.06% („Nada“), което показва, че сорт “Čačanska Lepotica“ е задоволителен опрашител за изследваните генотипи (Mišić et al., 1979; Wertheim, 1996 ; Szabó, 2003).

penetration into the nucellus was not observed 240 h after self-pollination, a low amount of pistils with penetration of pollen tubes into the nucellus in the same term and pollination mode was observed in cultivar ‘Nada’. This is related to the low level of self-fertility of the mentioned genotypes (Glišić et al., 2017).

The pollination modes significantly impacted values of initial fruit set in the assessed genotypes (Table 1). The highest percentage of initial fruit set was observed in variant of cross-pollination for all genotypes, except for hybrid 34/41/87, where the best results were obtained in variant of self-pollination. The initial fruit set under open–pollination ranged between 9.27% (32/21/87) and 33.65% (34/41/87). Those results are in line with statements of Milatović (2019) who reported that fruit set of European plum cultivars in open-pollination variant varied from 0% to 50%.

Taking into account the statements of Szabó (2003) for classification of European plum depending on fruit set under open-pollination mode, it can be concluded that the assessed genotypes are characterized by low (32/21/87), medium (38/62/70, IV/63/87 and ‘Nada’) and high (34/41/87 and 22/17/87) degree of fruit set. In variant of self-pollination, values of initial fruit set varied from 1.08 (32/21/87) to 48.72 (34/41/87). Obtained results are in agreement with previously findings of Glišić et al. (2017), who reported low (32/21/87 and ‘Nada’), moderate (38/62/70 and IV/63/81) and high (34/41/87 and 22/17/87) self-fertility of the genotypes studied in the present research. The initial fruit set in variant of cross-pollination ranged between 31.02% (38/62/70) and 54.06% (‘Nada’) indicating that cultivar ‘Čačanska Lepotica’ is a satisfactory pollenizer for investigated genotypes (Mišić et al., 1979; Wertheim, 1996; Szabó, 2003).

Таблица 1. Първоначален плоден завръз (%) на генотипи на синя слива при различни начини на опрашване

Table 1. Initial fruit set (%) of investigated plum genotypes under different pollination modes

		Hybrid 38/62/70	Hybrid IV/63/81	Hybrid 32/21/87	Nada	Hybrid 34/41/87	Hybrid 22/17/87
Вариант на опрашване/Pollination variant (A)							
Самоопрашване Self-pollination		21.90±6.39c	35.61±1.02b	1.08±0.34c	13.45±1.29b	48.72±1.34a	32.27±1.02b
Свободно опрашване Open-pollination		26.76±1.31b	14.39±0.88c	9.27±0.36b	12.09±1.12c	33.65±0.35c	32.04±0.95b
Кръстосано опрашване Cross-pollination		31.02±0.39a	49.18±1.23a	32.94±1.23a	54.06±3.12a	47.11±0.50b	34.81±1.83a
Година/Year (B)							
2010		22.84±3.84b	34.64±5.20a	14.62±5.25a	32.26±5.11a	44.00±2.66a	34.35±1.28a
2011		30.28±1.76a	31.49±4.99b	14.24±4.34a	20.80±3.68b	42.31±2.16b	31.73±0.72b
A × B							
Самоопрашване Self-pollination	2010	7.60±0.06d	36.42±1.73a	0.33±0.02d	16.33±0.25c	51.63±0.33a	34.39±0.15b
	2011	36.20±0.22a	34.80±1.26a	1.82±0.13d	10.56±0.25e	45.80±0.57c	30.15±0.80c
Свободно опрашване Open-pollination	2010	29.43±1.15b	15.95±0.83a	8.50±0.24c	14.51±0.59d	34.19±0.54d	29.92±0.23c
	2011	24.10±0.34c	12.84±0.89a	10.05±0.05c	9.68±0.49e	33.11±0.22d	34.16±0.07b
Кръстосано опрашване Cross-pollination	2010	31.49±0.54b	51.56±1.39a	35.02±0.66a	65.95±1.01a	46.19±0.08b	38.75±0.45a
	2011	30.55±0.49b	46.82±0.16a	30.86±1.44b	42.17±0.49b	48.02±0.66c	30.87±0.97c
ANOVA							
A		**	**	**	**	**	**
B		**	**	ns	**	**	**
A × B		**	ns	**	**	**	**

* Посочва разлика (F тест) при P ≤ 0.05; Малките букви посочват разликите при $P \leq 0.05$ според LSD тест
*Indicates a factor difference (*F* test) at P ≤ 0.05; The different lower-case letters indicate differences at $P \leq 0.05$ according to the LSD test.

Въздействието на годината върху първоначалния плоден завръз не е значително само при хибрид 32/21/87 (Таблица 1). Останалите генотипи показаха по-високи стойности през първата година на изследване, с изключение на хибрид 38/62/70. Освен това взаимодействието между начина на опрашване и годината значително повлияват на първоначалния плоден завръз на изследваните генотипи, с изключение на хибрид IV/63/81. Получените резултати могат да бъдат обяснени с влиянието на метеорологичните условия (Furukawa and Bukovac, 1989), както и от специфичния отговор на генотипа на мъжкия и женския пол върху тяхното въздействие.

Impact of year on initial fruit set was not significant only in hybrid 32/21/87 (Table 1). The other genotypes showed higher values in the first year of investigation, except hybrid 38/62/70.

Also, the interaction of pollination mode and year significantly impacted the initial fruit set of the investigated genotypes, except hybrid IV/63/81.

The obtained results can be explained by the impact of weather conditions on the fruit set (Furukawa and Bukovac, 1989), as well as by the specific response of each male and female genotype to their impact.

ИЗВОДИ

Резултатите от настоящото проучване показват, че скоростта на растеж на поленовите тръбички се обуславя от генотипа, начина на опрашване и годината. Най-добрата сила на растеж на поленовите тръбички в повечето проучвани генотипи е получена във вариант на кръстосано опрашване. Съответно, най-доброто плододаване на повечето изследвани генотипи е получено и във вариант на кръстосано опрашване. Стойностите на плодния завръз, установени във вариант на свободно опрашване, показват, че хибриди 38/62/70, IV / 63/87, 34/41/87 и 22/17/87 и сорт "Nada" имат добър потенциал за култивиране. Степента на растеж на плодната тръбичка и първоначалния плоден завръз в хибриди 32/21/87 и сорт "Nada" при самоопрашване, показват частичната самосъвместимост на тези генотипи, докато споменатите параметри във вариант на кръстосано опрашване показват, че „Čačanska Lepotica" може да се препоръча като техен опрашител.

CONCLUSIONS

The results of the present study indicate that pollen tubes growth rate is conditioned by genotype, pollination mode and year. The best pollen tubes growth dynamics in the majority of studied genotypes were obtained in the cross-pollination variant.

Accordingly, the best fructification of the most examined genotypes was also obtained in the variant of cross-pollination. The values of fruit set in variant of open-pollination indicate that hybrids 38/62/70, IV/63/87, 34/41/87 and 22/17/87 and cultivar 'Nada' have good cropping potential.

The pollen tube growth rate and initial fruit set in hybrids 32/21/87 and cultivar 'Nada' under self-pollination mode point to the partial self-compatibility of those genotypes, while the mentioned parameters in variant of cross-pollination show that 'Čačanska Lepotica' can be recommended as their pollenizer.

БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящото изследване е проведено с подкрепата на Министерството на образованието, науката и технологичното развитие на Република Сърбия, договор No. 451-03-68/2020-14/200215 (включващ проект № 31064, озаглавен „Развитие и запазване на генетичния потенциал на плодовете в умерена климатична зона").

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was conducted under the support of Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, contract No. 451-03-68/2020-14/200215 (including project No. 31064, titled 'Development and preservation of genetic potential of temperate zone fruits').

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Bayer, I. and R. Stösser**, 2002. Changes of Style Structure During Bloom and its Effect on Pollen Tube Growth and Fruit Set in the Plum Variety 'Lützelsachser' (*Prunus domestica* L.). *Gartenbauwissenschaft*, 67, 213-224.
2. **Beltrán, R., A. Valls, N. Cebrián, C. Zornoza, F. G. Breijo, J. R. Armiñana, A. Garmendia and H. Merle**, 2019. Effect of Temperature on Pollen Germination for Several Rosaceae Species: Influence of Freezing Conservation Time on Germination Patterns. *PeeerJ*, DOI 10.7717/peerj.8195.
3. **Cerović, R. and N. Mićić**, 1996. Pollination and Fertilization of Pome and Stone Fruit Species. *Journal of Yugoslav Pomology*, 30, 73-98 (Sr).
4. **Cerović, R. and N. Mićić**, 1999. Functionality of Embryo Sacs as Related to

Their Viability and Fertilization Success in Sour Cherry. *Scientia Horticulturae*, 79, 227-235.
5. **Cerović, R., Đ. Ružić and N. Mićić**, 2000. Viability of Plum Ovules at Different Temperatures. *Annals of Applied Biology*, 137(1), 53-59.
6. DeCeault, M. T. and V. S. Polito, 2010. High Temperatures During Bloom Can Inhibit Pollen Germination and Tube Growth, and Adversely Affect Fruit Set in the Prunus domestica Cultivars 'Improved French' and 'Muir Beauty'. In: Proceedings of IX International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology, Italy, *Acta Horticulturae*, 874, 163-168.
7. **Đorđević, M., R. Cerović, S. Radičević, D. Nikolić, N. Milošević, I. Glišić, S. Marić and M. Lukić**, 2019. Polen Tube Growth and Embryo Sac Development in 'Pozna Plava' Plum Cultivar Related to Fruit Set. *Erwerbs-Obstbau*, 61, 313-322.
8. **Đorđević, M., R. Cerović, D. Nikolić, S. Radičević and M. Lukić**, 2012. Pollen Tubes Growth in the Plum Pistils in Relations to Initial Fruit Set. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 15(3), 726-733.
9. **Furukawa, Y. and M. J. Bukovac**, 1989. Embryo Sac Development in Sour Cherry During the Pollination Period as Related to Fruit Set. *Horticultural Science*, 24, 1005-1008.
10. **Glišić, I., D. Milatović, R. Cerović, S. Radičević, M. Đorđević and N. Milošević**, 2017. Examination of Self-Compatibility in Promising Plum (*Prunus domestica* L.) Genotypes Developed at Fruit Research Institute, Čačak. *Scientia Horticulturae*, 224, 156-162.
11. **Hedhly, A., J. I. Hormaza and M. Herrero**, 2004. Effect of Temperature on Pollen Tube Kinetics and Dynamics in Sweet Cherry *Prunus avium* (*Rosaceae*). *American Journal of Botany*, 91(4):558-564.
12. **Hedhly, A.**, **J. I. Hormaza and M. Herrero**, 2005. Influence of Genotype-Temperature Interaction on Pollen Performance. *Journal of Evolutionary Biology*, 18(6), 1494-1502.
13. **Herrero, M.**, 1992. Mechanisms in the Pistil that Regulate Gametophyte Population in Peach (*Prunus persica*). In: Angiosperm Pollen and Ovules (E. Ottaviano, D. L.Mulcahy, M. Sari-Gorla and G.B. Mulcahy, eds.). Springer, New York-Berlin-Heidelberg, Germany, pp. 377-381.
14. **Jia, H.J., He, F.J., Xiong C.Z., Zhu, F.R. and G. Okamoto**, 2008. Influences of Cross Pollination on Pollen Tube Growth and Fruit Set in Zuili Plums (Prunus salicina). *Journal of Intergrative Olant Biology*, 50(2), 203-209.
15. **Jones, V., K. G. Stott and R. R. Williams**, 1971. Pollination in Plums. Report of Long Ashton Research Station for 1970, University of Bristol, pp. 24.
16. **Keulemans, J.** 1984. The Effect of Temperature on Pollen Tube Growth and Fruit Set on Plum Trees. *Acta Horticulturae*, 149, 95-101.
17. **Kho, Y.O. and J. Baër**, 1971. Fluorescence Microscopy in Botanical Research. *Zeiss Information*, 76, 54-57.
18. **Koskela, E., H. Kemp and M. C. A. van Dieren**, 2010. Flowering and Pollination Studies with European Plum (*Prunus domestica* L.) Cultivars. In: Proceedings of IX International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology, Italy, *Acta Horticulturae*, 874, 193-201.
19. **Kuzmanović, M.**, 2008. Reproductive Biology of Plum Cultivar '"Čačanska Lepotica' "'. Master thesis, University of Belgrade, Faculty of Agriculture (Sr).
20. **McCormick, S.**, 2004. Control of Male Gametophyte Development. *Plant Cell*, 16, 142-153.
21. **Milatović, D.**, 2019. Plum. Scientific Pomological Society of Serbia, pp. 531 (Sr).

22. **Mišić, P., R. Todorović, D. Vinterhalter, N. Lekić, V. Pavlović and S. Dragutinović**, 1979. Investigation of Relationship of Fertilisation of Some European Plum Cultivars. *The Science in Practice*, *9*(5), 571-576 (Sr).
23. **Neumüller, M.**, 2011. Fundamental and Applied Aspects of Plum (*Prunus domestica* L.) Breeding. *Fruit Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 5(spec. issue 1), 139-154.
24. **Nikolić, D. and D. Milatović**, 2010. Examining Self-Compatibility in Plum (*Prunus domestica* L.) by Fluorescence Microscopy. *Genetika*, 42(2), 387-396.
25. **Nikolić, D., V. Rakonjac and M. Fotirić-Akšić**, 2012. The Effect of Pollenizer on the Fruit Set of Plum Cultivar Čačanska Najbolja. *Journal of Agricultural Science*, 57(1), 9-18.
26. **Palanivelu, R. and T. Tsukamoto**, 2011. Pathfinding in Angiosperm Reproduction: Pollen Tube Guidance by Pistils Ensures Successful Double Fertilization. *WIREs Development Biology*, 1(1), 96-113.
27. **Petropoulou, S. P. and F. H**. **Alston**, 1998. Selecting for Improved Pollination at Low Temperatures in Apple. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 73, 507-512.
28. **Radičević, S., R. Cerović, D. Nikolić and M. Đorđević**, 2016. The Effect of Genotype and Temperature on Pollen Tube Growth and Fertilization in Sweet Cherry (*Prunus avium* L.). *Euphytica*, 209, 121-136.
29. **Sanzol, J. and M. Herrero**, 2001. The Effective Pollination Period in Fruit Trees. *Scientia Horticulturae*, 90, 1-17.
30. **Stephenson, A. G., S. E. Travres, J. I. Mena-Ali and J. A. Winsor**, 2003. Pollen Performance Before and During the Autotrophic Transmission of Pollen Tube Growth. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 358, 1009-1018.
31. **Stösser, R. and S. F. Anvari**, 1982. On the Senescence of Ovule in Cherries. *Scientia Horticulture*, 45, 28-29.
32. **Stott, K. G., C. J. Jefferies and C. Jago**, 1973. Pollination and Fruit Set in Plum. Report of Long Ashton Research Station for 1972, University of Bristol, pp. 23-26.
33. **Surányi, D.**, 2006. Comparative Study of Different Fertile Groups in Plums. *International Journal of Horticultural Science*, 12(3), 71-76.
34. **Szabó, Z.**, 2003. Plum (*Prunus domestica* L.). In: Floral Biology, Pollination and Fertilisation in Temperate Zone Fruit Species and Grape (P. Kozma, M. Nyéki and Z. Szabó, eds.). Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 383-410.
35. **Wertheim, S.J.**, 1996. Methods for Cross Pollination and Flowering Assessment and Their Interpretation. In: Proceedings of II Workshop on Pollination, Belgium, *Acta Horticulturae*, 423, 237-241.
36. **Yadegari, R. and N. G. Drewsb**, 2004. Female Gametophyte Development. *The Plant Cell*, 16, 133-141.
37. **Yerko, M. M. and A. N. Miller-Azarenko**, 1992. Genotype, Temperature, and Fall-Applied Ethephon Affect Plum Flower Bud Development and Ovule Longevity. *Journal of American Horticultural Science*, 117(1), 14-21.