



МОЛЕКУЛЯРНЫЙ СКРИНИНГ СОРТОВОЙ КОЛЛЕКЦИИ ЗЕМЛЯНИКИ ВИР НА НАЛИЧИЕ МАРКЕРА ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ К АНТРАКНОЗНОЙ ЧЕРНОЙ ГНИЛИ *Rca2*

Храбров И. Э.^{1*}, Антонова О. Ю.¹, Шаповалов М. И.^{2,3}, Семенова Л. Г.²

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г.Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44;

* ivan.khrabrov95@mail.ru

²Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Майкопская опытная станция – филиал ВИР, 385746 Россия, Республика Адыгея, Подгорный, ул. Научная, 1

³Адыгейский государственный университет, 385016 Россия, Республика Адыгея, г. Майкоп, ул. Первомайская, 208

Актуальность. К числу крайне вредоносных заболеваний земляники в условиях юга России в последние годы относится антракнозная черная гниль, вызываемая фитопатогенным грибом *Colletotrichum acutatum* Simmonds. Заболевание распространено по всему миру, относительно недавно оно появилось в России. Потери от него достигают до 80% урожая, кроме того, патоген вызывает значительные выпады растений в маточных насаждениях. Наиболее надежной защитой от патогена является выращивание устойчивых сортов. У земляники устойчивость контролируется разными генами, в частности, геном *Rca2*. Для выявления данного гена разработаны молекулярные маркеры STS_*Rca2*_240 и STS-*Rca2*_417. Задачей нашего исследования было использование данных маркеров для скрининга коллекции сортов земляники садовой ВИР, поддерживаемой на Майкопской опытной станции. **Материал и методы.** В работе изучено 135 сортов *Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier, 83 отечественных и 52 зарубежных. В число отечественных сортов входили 17 сортов, созданных на Майкопской ОС. Растения были оценены на наличие полевой устойчивости к антракнозу в условиях Республики Адыгея в период с 2018 по 2021 год. Молекулярный скрининг проводили при помощи двух молекулярных маркеров, тесно сцепленных с геном *Rca2*: STS_*Rca2*_240 и STS-*Rca2*_417. Для контроля эффективности ПЦР использовали микросателлитные праймеры EMFv020. Положительным контролем служил сорт ‘Сударушка’, у которого наличие маркерного фрагмента STS_*Rca2*_240 описано в литературе. **Результаты и обсуждение.** Диагностический фрагмент 240 пн маркера *Rca2*_240 был выявлен у 22 сортов выборки. Среди отечественных сортов частота встречаемости маркера составила 18,1%, в выборке иностранных сортов она была несколько ниже – 13,0%. Из 17 сортов майкопской селекции маркер был выявлен у трех: ‘Майкопская ранняя’, ‘Пэрыт’, и ‘Шапсугская’. Ассоциация диагностического фрагмента с устойчивостью составила 73,0%. Не очень высокая эффективность маркера была связана с наличием значительного количества устойчивых сортов, не генерирующих диагностических фрагментов; устойчивость таких сортов может обеспечиваться работой других генов, например, *FarCa1*. Маркер STS-*Rca2*_417 при скрининге оказался неэффективным. **Заключение.** В коллекции ВИР, поддерживаемой на Майкопской ОС, было выявлено 22 сорта с маркером гена *Rca2*, 16 из которых обладали полевой устойчивостью к *C. acutatum* второй группы патогенности. Эти сорта представляют ценный материал для селекции. Наличие маркера STS-*Rca2*_240 может выступать в роли ценного диагностического признака при паспортизации сортов.

Ключевые слова: *Fragaria* × *ananassa*, сорта земляники, полевая устойчивость, *Colletotrichum acutatum*

Для цитирования:

Храбров И.Э., Антонова О.Ю., Шаповалов М.И., Семенова Л.Г. Молекулярный скрининг сортовой коллекции земляники ВИР на наличие маркера гена устойчивости к антракнозной черной гнили *Rca2*. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(4):15-24. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-03

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.** **Дополнительная информация.** Полные данные этой статьи доступны <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-4-03> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания ВИР согласно тематическому плану НИР по темам 0481-2019-0002 «Изучение генетических ресурсов культурных растений, их диких родичей и форм собственной селекции при помощи комплекса современных методов ДНК-диагностики» и 0662-2019-0004 «Коллекции вегетативно размножаемых культур (картофель, плодовые, ягодные, декоративные, виноград) и их диких родичей ВИР – изучение и рациональное использование».

MOLECULAR SCREENING OF THE VIR STRAWBERRY VARIETY COLLECTION FOR THE PRESENCE OF A MARKER FOR THE ANTHRACNOSE BLACK ROT RESISTANCE GENE *Rca2*

Khrabrov I. E.^{1*}, Antonova O. Yu.¹, Shapovalov M. I.^{2,3}, Semenova L. G.²

¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR),
42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia;

*  ivan.khrabrov95@mail.ru

²N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Maikop Experiment Station of VIR
1 Nauchnaya Street, Maikop 385746, Russia

³ Adyghe State University,
208 Pervomayskaya Street, Maykop, Republic of Adygheya 385016, Russia

Background. Anthracnose black rot caused by the phytopathogenic fungus *Colletotrichum acutatum* Simmonds became an extremely harmful disease of strawberries in Southern Russia. The disease is widespread throughout the world, and relatively recently it appeared in Russia. Yield losses due to the disease reach up to 80%; besides, the pathogen causes significant plant losses in mother plantations. The most reliable protection against the pathogen is the cultivation of resistant varieties. In strawberries, resistance is controlled by different genes, including *Rca2*. To identify this gene, molecular markers STS_ *Rca2*_240 and STS-*Rca2*_417 have been developed. The purpose of this study was to use the markers for screening the VIR collection of strawberry varieties at the VIR Maikop Experiment Station (Maikop ES VIR). **Material and methods.** The present work studied 135 varieties of *Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier, 83 domestic and 52 foreign ones. The domestic varieties included 17 created at the Maikop ES. Plants were evaluated for anthracnose field resistance in the Republic of Adygheya from 2018 to 2021. Molecular screening was performed using STS_ *Rca2*_240 and STS-*Rca2*_417, the molecular markers closely linked to the *Rca2* gene. Microsatellite primers EMFv020 were used to control the PCR efficiency. The cultivar ‘Sudarushka’, in which the presence of STS_ *Rca2*_240 marker was described in the literature, served as a positive control. **Results and discussion.** The marker *Rca2*_240 was detected in 22 cultivars from 135 studied. Among domestic varieties, the frequency of the marker was 18.1%, while among the foreign varieties it was slightly lower and amounted to 13.0%. Among the 17 varieties created at the Maikop SE, the marker was found in three: ‘Majkopskaya rannaya’, ‘Peryt’, and ‘Shapsugskaya’. The association of the diagnostic fragment with resistance was 73.0%. The marker efficiency was not very high due to the significant number of resistant varieties which do not generate the diagnostic fragments. The resistance in such varieties can be provided by other genes, for example, *FaRca1*. The STS-*Rca2*_417 marker was not efficient during screening. **Conclusion.** Twenty-two varieties with the STS_ *Rca2*_240 marker were identified in the VIR collection, maintained at the Maikop ES VIR, 16 of which were resistant to *C. acutatum*. These varieties represent a valuable breeding material. The STS-*Rca2*_240 marker can be used as an important diagnostic trait for the certification of varieties.

Key words: *Fragaria* × *ananassa*, strawberry varieties, resistance, fungal diseases, *Colletotrichum acutatum*

For citation:

Khrabrov I.E., Antonova O.Yu., Shapovalov M.I., Semenova L.G. Molecular screening of the VIR strawberry varieties collection for the presence of a marker for the anthracnose black rot resistance gene *Rca2*. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(4):15-24. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-03

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. Additional information.

Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-4-03> **The journal’s opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. All authors approved the manuscript. No conflict of interest.**

ORCID ID:

Khrabrov I.E. <https://orcid.org/0000-0002-1877-9468>

Antonova O.Yu. <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

Shapovalov M.I. <https://orcid.org/0000-0002-5351-2873>

Semenova L.G. <https://orcid.org/0000-0001-6266-1339>

УДК [634.75:631.526.32]:[631.524.86:632.4]:575.116(470.621-25)

Поступила в редакцию: 20.12.2021

Принята к публикации: 28.12.2021

Acknowledgments: The article was prepared as part of the VIR State Assignment in accordance with the R&D Thematic Plan, Topics No. 0481-2019-0002 “Study of genetic resources of cultivated plants, their wild relatives and created forms using a complex of modern methods of DNA diagnostics” and No. 0662-2019-0004 “VIR Collections of vegetatively propagated crops (potatoes, fruits, berries, ornamental crops, grapes) and their wild relatives; their study and rational use”.

Введение

Земляника садовая *Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier является одной из самых рентабельных и экономически выгодных ягодных культур в мире, на ее долю приходится до 2/3 объема мирового производства ягод. В южных регионах России, в том числе и на Северном Кавказе, она занимает ведущее место (Holod et al., 2018).

Потенциал продуктивности земляники ананасной очень высок. По мнению отечественных ученых, он может достигать 112 т/га (Popova et al., 1990). Однако реальная урожайность намного ниже. Средняя урожайность в мире составляет 12,8 т/га, тогда как в США – 37,1, Испании – 37,7, Японии – 12,8 (Pshikhacheva, 2012), в России – 6-8 т/га (Govorova, Govorov, 2019). Главным фактором, оказывающим отрицательное влияние на урожайность земляники, является поражение растений различными грибными инфекциями. К их числу относится антракнозная черная гниль, которая может в некоторых случаях приводить к потерям до 80% урожая (Metlitsky et al., 2007).

Болезнь вызывается несколькими видами грибов-аскомицетов рода *Colletotrichum* Corda, семейство *Melanconiaceae*: *C. fragariae* Brooks, *C. gloeosporioides* Penz. (Sacc.) Ston и *C. acutatum* Simmonds (Kotova, Kungurtseva, 2014; Govorova, Govorov, 2019). Наибольшей вредоносностью в условиях умеренного континентального климатического пояса, к которому относится Республика Адыгея, обладает вид *C. acutatum* (Holod et al., 2018).

В России заболевание впервые отмечено в 2003 году в Подмосковье и в Краснодарском крае (Metlitsky et al., 2007). С каждым годом распространение болезни увеличивается, чему способствует массовый завоз зарубежного посадочного материала (Holod et al., 2012; Holod et al., 2018). Для южного региона России, который отличается более теплым и влажным климатом, проблема поражения антракнозом особенно актуальна. Высокая температура в сочетании с высокой влажностью воздуха создают в нижнем ярусе, где произрастает земляника, парниковый эффект, который влияет на увеличение интенсивности поражения грибными фитопатогенами. Следует отметить, что химические обработки не всегда эффективно защищают посадки земляники от антракноза. Поэтому наилучшим способом защиты является выращивание устойчивых сортов (Kotova, Kungurtseva, 2014).

Селекция земляники на устойчивость к антракнозу ведется во многих странах мира (Maas, 1984), однако большинство сортов земляники в разной степени восприимчивы к *C. Acutatum*. При этом реакция растений может резко изменяться в разные годы в различных климатических условиях, и зависит также от расы патогена (Metlitsky et al., 2007).

Изоляты *C. acutatum* принято относить к двум группам патогенности. Устойчивость к расам первой группы

в работах одних авторов охарактеризована как контролируемая полигенно (Denoyes-Rothan et al., 2004), однако последующее использование методов ДНК-микрочипирования и GWAS-анализа позволило выявить на хромосоме 6В один основной локус *FaRCal* (Salinas et al., 2019). Изменчивость по локусу *FaRCal* объясняла по меньшей мере 50% фенотипической изменчивости по признаку устойчивости к *C. acutatum*.

Моногенная устойчивость у земляники выявлена к расам *C. acutatum* второй группы патогенности. Она контролируется доминантным геном *Rca2* (Guérin et al., 2003; Lerceteau-Köhler et al., 2005), для детекции которого были разработаны маркеры STS-Rca2_240 и STS-Rca_417. Эффективность этих маркеров некоторыми авторами оспаривается (Miller-Butler et al., 2019), однако они достаточно активно используются как зарубежными, так и отечественными исследователями для скрининга коллекций (Lerceteau-Köhler et al., 2005; Njuguna, 2010; Sturzeanu et al., 2017; Lukyanchuk et al., 2018; Lyzhin et al., 2019; 2020; Khrabrov et al., 2019).

Целью нашей работы было провести изучение коллекции земляники ВИР, поддерживаемой на Майкопской опытной станции ВИР (МОС ВИР), для выявления сортов с маркерами гена *Rca2*.

Материал и методы

Материалом для молекулярного скрининга послужили 135 образцов земляники садовой из коллекции МОС ВИР. В выборку входили 83 сорта отечественной селекции (Россия и Республики бывшего СССР), из которых 64 образца российской селекции ('Абазехская', 'Алая', 'Алая МОС ВИР', 'Ананасная поздняя', 'Аэлита', 'Батыр', 'Бирюлевская ранняя', 'Бэрчэт', 'Великан', 'Весенняя Кубани', 'Веснянка', 'Восток', 'Восход', 'Галочка', 'Гама', 'Деснянка кокинская', 'Дружба', 'Елшанка', 'Зарница', 'Итурупская', 'Кокинская ранняя', 'Красавица Загорья', 'Кремлевская', 'Кубанка', 'Кубанская ранняя (Вымпел)', 'Лаба', 'Лада', 'Ленинградская', 'Ленинградская поздняя', 'Луч ВИРа', 'Любимица', 'Любовь Поволжья', 'Марсианка', 'Мысовка', 'Нальмэс', 'Нарядная', 'Обильная', 'Оштен', 'Павловская Красавица', 'Памятная', 'Память Гагарина', 'Память Комарова', 'Персиковая', 'Пионерка', 'Подарок весны', 'Предгорная МОС ВИР', 'Приусадебная', 'Пэрыт', 'Россиянка', 'Сахалинская ремонтантная', 'Светлана', 'Сердце гор', 'Сюрприз', 'Тамбовчанка', 'Ударница', 'Утренняя звезда', 'Фестивальная', 'Фишт', 'Чернобривка', 'Шапсугская', 'Шунтукская №6', 'Южанка', '50 лет Октября'), 11 сортов украинской селекции ('Галичанка', 'Запашна', 'Львовская ранняя', 'Мелитопольская крупноплодная', 'Мелитопольская ранняя', 'Мелитопольская урожайная №3', 'Мелитопольская ароматная', 'Неслуханка', 'Приазовская', 'Сувенир', 'Техническая'), четыре белорусских сорта ('Аврора', 'Дарница', 'Лявониха', 'Чайка'), а также два сорта из Молдавской ССР

(‘Кишиневская’, ‘Молдаванка’) и два сорта из Узбекской ССР (‘Дильбар’, ‘Южанка САС ВИР’). Среди российских сортов особое внимание мы уделили 17 сортам, созданным на Майкопской ОС ВИР (выделены в тексте жирным шрифтом).

В работу были также включены 52 образца иностранной селекции, из которых 25 сортов селекции США (‘Albritton’, ‘Aroma’, ‘Blakemore’, ‘Catskill’, ‘Clermont’, ‘Climax’, ‘Culver’, ‘Earlibelle’, ‘Empire’, ‘Fairfax’, ‘Fresno’, ‘Gem’, ‘Gerseybelle’, ‘Haverland’, ‘Holiday’, ‘Honeoye’, ‘Hood’, ‘Midland’, ‘Red Chief’, ‘Sequoia’, ‘Sharpless’, ‘Solana’, ‘Stelemaster’, ‘Success’, ‘Surecrop’); 8 сортов из Германии (‘German’, ‘Lucida Perfecte’, ‘Macherauchs Marieva’, ‘Mieze Schindler’, ‘Roter Diamant’, ‘Senga Sengana’, ‘Spate von Leopoldshall’, ‘Worck’s Volltragende = Ворка плодородная’); 8 – из Великобритании (‘Cambridge Favourite’, ‘Cambridge Vigour’, ‘Merton Rosy’, ‘Malling Pandora’, ‘Pegasus’, ‘Red Gauntlet’, ‘Talisman, Victoria’); 6 – из Канады (‘Cavalier’, ‘Grenadier’, ‘Guardman’, ‘Protem’, ‘Redcoat’, ‘Vibrant’); два из Голландии (‘Glassa’, ‘Gorella’); а также по одному сорту из Франции, Италии и Японии – ‘Mount Everest’, ‘Roxana’, ‘Tsunaki’ соответственно (Приложение 1 / Supplement 1¹).

Для каждого образца проводили независимую экстракцию ДНК из двух растений. Кроме того, в случае выявления у образца диагностических фрагментов маркера, проводили повторное выделение из заново отобранного материала. Следует отметить, что результаты первого и повторного анализов полностью совпали.

В качестве положительного контроля при проведении молекулярного скрининга использовали сорт ‘Сударушка’ (‘Roxana’ × ‘Фестивальная’), для которого в литературе было ранее показано присутствие диагностического фрагмента маркера Rca2_240 гена *Rca 2* (Lyzhin et al., 2019).

Оценка полевой устойчивости к антракнозу.

Основной экспериментальный материал для исследований получен путем фитосанитарного мониторинга коллекции генетических ресурсов земляники ВИР МОС в 2019-2021 годах на естественном инфекционном фоне, без химических обработок, в период массового созревания плодов (начало-середина июня). Была использована стандартная методика выявления и учета болезней ягодных культур – визуальный учёт (рис. 1) антракнозной черной гнили на плодах (Metlitsky, 2005).



Рис. 1. Устойчивые и поражаемые антракнозом сорта садовой земляники из коллекции, созданной на Майкопской ОС - филиале ВИР

А – ‘Malling Pandora’; Б – ‘Cambridge Favourite’; В – ‘Фестивальная’; Г – ‘Honeoye’

Fig. 1. Anthracnose resistant and susceptible strawberry varieties from the VIR collection created at the Maikop ES - VIR Branch

А – ‘Malling Pandora’; Б – ‘Cambridge Favourite’; В – ‘Festivalnaya’; Г – ‘Honeoye’

¹ Приложение доступно в онлайн версии статьи / Supplement is available in the online version of the paper at: <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-4-o3>

Выделение ДНК. Для получения препаратов ДНК использовали молодые листья полевых растений, собранные на делянках МОС ВИР. Молодые листья содержат меньшие количества запасных веществ и вторичных метаболитов.

ДНК выделяли модифицированным методом СТАВ-экстракции (Antonova et al., 2020). Навеску растительной ткани растирали в жидком азоте, добавляли 2 × СТАВ-буфер [100 мМ трис-НСl, рН=8,0; 2 М NaCl; 20 мМ ЭДТА; 2% СТАВ; 1,5% β-меркаптоэтанол, 1% поливинилпирролидон] и проводили экстракцию ДНК в течение полутора-двух часов при температуре 65°C. В данной модификации буфера по сравнению со стандартным протоколом повышены концентрации хлорида натрия до 2 М и β-меркаптоэтанола до 1,5%, что позволяет более эффективно избавляться от окисленных полифенолов и других метаболитов. К лизату добавляли метабисульфит натрия до конечной концентрации 1,5% и равный объем смеси хлороформ/изоамиловый спирт (в соотно-

шении 24:1 v/v). Пробирки инвертировали в течение 45 минут при комнатной температуре и затем центрифугировали при комнатной температуре (10000 об/мин, 25°C, 15 минут). Водную фазу отбирали в чистые пробирки, добавляли равный объем предварительно охлажденного изопропилового спирта, перемешивали и оставляли при -20°C в течение ночи. Сформированный осадок собирали центрифугированием (10000 об/мин, 4°C), однократно промывали в 80% этиловом спирте, растворяли в одном мл буфера ТЕ (рН=8,0) и переосаждали в изопропиловом спирте с добавлением 0,3 М ацетата натрия (рН=5,2). Осадок промывали три раза по 20 минут в 80% этиловом спирте, высушивали на воздухе и окончательно растворяли в буфере ТЕ.

ПЦР и электрофорез. Маркеры для проведения молекулярного скрининга на наличие доминантных аллелей гена *Rca2* (устойчивость к антракнозу) были подобраны по литературным источникам (табл. 1).

Таблица 1. Используемые в работе маркеры гена устойчивости *Rca2*

Table 1. DNA markers linked to the *Rca2* gene and used in this study

Ген / Gene	Маркер / Marker	Нуклеотидная последовательность праймеров / Primer sequences (5' → 3')	Размер целевых фрагментов (пн) / size of the target sequence (bp)
<i>Rca2</i>	STS_Rca2_240	F: GCCACGTCAGTCAAAATTCAA R: TCATGGACAGTGGTCTCAGC	240
	STS-Rca2_417	F: ACCATGCAGAACGTTTCAGATAT R: TCCCAGCTGAAGATCAATGTAGT	417
контроль ПЦР	EMFv020	F: CAGGCGCCAACGGCGTGCTCTTGT R: CAGCGCCGCCAGCTCATCCCTAGG	170

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) осуществляли в реакционной смеси, объемом в 20 мкл, следующего состава: 40 нг общей ДНК земляники, 1 × реакционный буфер, 2,5 мМ MgCl₂, 0,4 мМ каждого из dNTP's, по 0,25 мкМ прямого и обратного праймеров и 1 ед. Taq-полимеразы (Диалат, Москва). Условия ПЦР соответствовали указанным в литературных источниках (Lerceteau-Köhler et al., 2005). Реакцию проводили в 2-4 повторностях.

В качестве положительного контроля использовали пару праймеров для микросателлитного маркера EMFv020. В качестве отрицательного контроля использовали воду. Для определения размера фрагментов использовали маркеры молекулярного веса «50 пн» и «100 пн+» (Евроген, Москва).

Разделение полученных ПЦР-продуктов проводили

с помощью электрофореза в 2% агарозном геле в буфере TBE. Гели окрашивали бромистым этидием. Визуализацию результатов проводили в проходящем УФ свете (рис. 2,3) при помощи системы фиксации изображений GelDocXR (BioRad Laboratories, USA).

Информация об аллельном составе локусов была занесена в электронную базу данных в формате Microsoft Excel-2016. Наличие у данного генотипа диагностического фрагмента обозначали цифрой «1», отсутствие – цифрой «0».

Статистическая обработка результатов. Для сопоставления частот встречаемости маркеров в выборках отечественных и зарубежных сортов использовали критерий Стьюдента $t = \frac{dp}{S_{dp}}$, вычисленный для малых неравновеликих ($n_1 \neq n_2$) выборок (Lakin, 1980).

Для выявления статистической связи между присутствием маркера и наличием устойчивости к антракнозу использовали точный тест Фишера (Fisher, 1922).

Результаты и обсуждение

Диагностический фрагмент маркера Rca2_240 был выявлен у 22 сортов выборки (рис. 2, табл. 2), в том числе у трех сортов селекции МОС ВИР – ‘Майкопская ранняя’, ‘Пэрыт’, и ‘Шапсугская’. Среди отечественных сортов частота встречаемости маркера составила 18,1% (15 из 83 изученных), в выборке иностранных сортов она была несколько ниже – 13,4% (7 из 52), однако выявленная разница оказалась статистически недостоверной при $P \leq 0,01$ ($t = 2,08 \leq t_{\text{ст}} = 2,61$, при $k = 133$).

Пара праймеров для микросателлитного маркера

EMFv020, по литературным данным, давала продукты амплификации ДНК у всех изученных генотипов (Guérin et al., 2003; Lerceteau-Köhler et al., 2005; Lukyanchuk et al., 2018). В наших экспериментах реакция амплификации с использованием этих праймеров и всех изучаемых препаратов ДНК привела к образованию фрагментов ожидаемого размера (см. рис. 2), что позволило использовать маркер EMFv020 в качестве положительного контроля.

Результаты молекулярного скрининга образцов земляники были сопоставлены с данными анализа их полевой устойчивости к антракнозу, проведенного в 2018, 2019 и 2021 годах (см. Приложение 1 / Supplement 1). В качестве устойчивых рассматривали сорта, которые не проявляли признаков поражения в течение всех трех лет наблюдений.

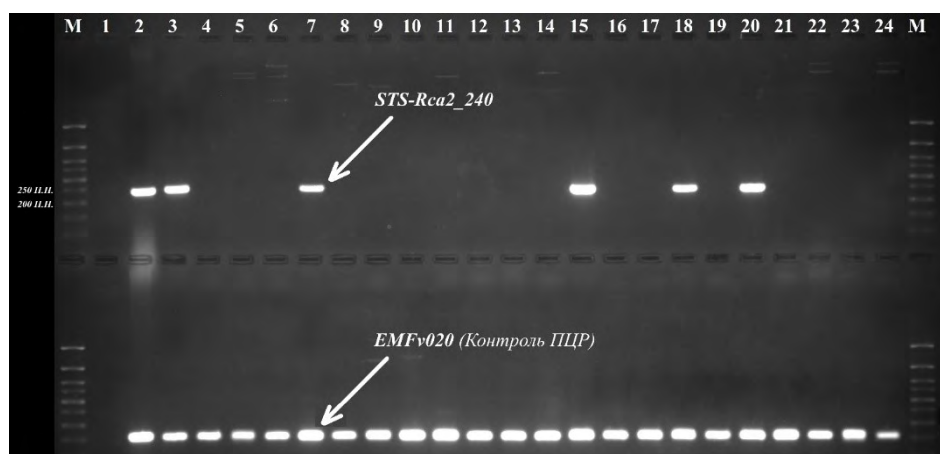


Рис. 2. ПЦР-продукты, полученные при амплификации ДНК сортов земляники с праймерами для STS-Rca2 240 и EMFv020. Последний был использован в качестве положительного контроля.

1 – негативный контроль H_2O ; 2 – ‘Сударушка’; 3 – ‘Галочка’; 4 – ‘Кубанка’; 5 – ‘Светлана’; 6 – ‘Весенняя Кубани’; 7 – ‘Деснянка кокинская’; 8 – ‘Приусадебная’; 9 – ‘Guardzman’; 10 – ‘Climax’; 11 – ‘Hood’; 12 – ‘Gem’; 13 – ‘Solana’; 14 – ‘Albritton’; 15 – ‘Fresno’; 16 – ‘Aroma’; 17 – ‘Fairfax’; 18 – ‘Cambridge Favourite’; 19 – ‘Blakemore’; 20 – ‘Empire’; 21 – ‘Stelemaster’; 22 – ‘Midland’; 23 – ‘Catskill’; 24 – ‘Clermont’; M – маркер молекулярного веса «50 пн».

Fig. 2. PCR products obtained during amplification of strawberry varieties’ DNA with primers for STS-Rca2_240 and EMFv020. The latter was used as a positive control.

1 – negative control H_2O ; 2 – ‘Sudarushka’; 3 – ‘Galochka’; 4 – ‘Kubanka’; 5 – ‘Svetlana’; 6 – ‘Vesennaya Kubani’; 7 – ‘Desnyanka kokinskaya’; 8 – ‘Priusadebnaya’; 9 – ‘Guardzman’; 10 – ‘Climax’; 11 – ‘Hood’; 12 – ‘Gem’; 13 – ‘Solana’; 14 – ‘Albritton’; 15 – ‘Fresno’; 16 – ‘Aroma’; 17 – ‘Fairfax’; 18 – ‘Cambridge Favourite’; 19 – ‘Blakemore’; 20 – ‘Empire’; 21 – ‘Stelemaster’; 22 – ‘Midland’; 23 – ‘Catskill’; 24 – ‘Clermont’; M – molecular weight marker «50 bp».

Для ряда зарубежных сортов ('Albritton', 'Blakemore', 'Cambridge Favourite', 'Catskill', 'Earlibelle', 'Fairfax', 'Gorella', 'Grenadier', 'Holiday', 'Honeoye', 'Hood', 'Red Gauntlet', 'Red Chief', 'Senga Sengana', 'Sequoia', 'Stelemaster', 'Surecrop') и для отечественного сорта 'Фестивальная' молекулярный скрининг на наличие маркера Rca2_240 был ранее проведен и другими исследователями (Sturzeanu et al., 2016; Njuguna, 2010; Miller-Butler et al., 2019; Lyzhin et al., 2019; Lukyanchuk et al., 2018; Lerceteau-Köhler et al., 2005). Для подавляющего большинства сортов наши результаты совпали с данными других авторов (Lerceteau-Köhler et al., 2005; Njuguna, 2010; Miller-Butler et al., 2019).

Наличие диагностического фрагмента 240 пн в целом коррелировало с устойчивостью, при анализе всей выборки в точном тесте Фишера (Fisher, 1922) значение *P* было

равно 0,00011, то есть гипотеза об отсутствии различий была отвергнута. Однако доля сортов, для которых прогноз оказался верным, то есть устойчивые генотипы характеризовались наличием маркера, а поражаемые его не имели, составила только 73,0%. Достаточно низкая эффективность маркера Rca2_240 была связана с наличием значительного количества устойчивых сортов, не генерирующих диагностических фрагментов (см. табл. 2). Можно предположить, что устойчивость таких сортов обеспечивается работой других генов, например *FarCa1*. Относительно недавно ген *FarCa1* был картирован на хромосоме 6В (Salinas et al., 2019) и для него разработаны (Salinas et al., 2020) HRM-маркеры (High Resolution Melting, анализ кривых плавления с высоким разрешением), которые мы также планируем в дальнейшем использовать для скрининга нашей коллекции.

Таблица 2. Результаты молекулярного скрининга сортов земляники коллекции ВИР, поддерживаемой на МОС - филиале ВИР, с использованием маркера STSRca2_240 гена *Rca2*

Table 2. Results of molecular screening of strawberry varieties from the VIR collection at the Maykop ES using the *Rca2* gene marker STSRca2_240

Наличие маркера/ The presence of STSRca2_240 marker	Число сорт/ов/ Number of cultivars	Название сорта/ Cultivar name
+	22	Устойчивые (n =16): 'Ананасная поздняя', 'Восток', 'Галочка', 'Лаба', 'Любимица', 'Майкопская ранняя', 'Мелитопольская ароматная', 'Мелитопольская ранняя', 'Пэрыт', 'Россиянка', 'Шапсугская'; 'Cambridge Favourite', 'Culver', 'Empire', 'Malling Pandora', 'Roxana'. Поражаемые (n =6): 'Дильбар', 'Запашна', 'Память Гагарина', 'Сахалинская ремонтантная', 'Fresno', 'Sequoia'.
-	113	Устойчивые (n =31): 'Алая', 'Батыр', 'Бэрчэт', 'Весенняя Кубани', 'Восход', 'Дарница', 'Деснянка кокинская', 'Дружба', 'Кишиневская', 'Кокинская ранняя', 'Луч ВИРа', 'Мелитопольская крупноплодная', 'Мелитопольская урожайная №3', 'Павловская Красавица', 'Предгорная МОС ВИР', 'Приусадебная', 'Светлана', 'Сувенир', 'Фестивальная', 'Чайка', 'Шунтукская № 6'; 'Cambridge Vigour', 'Gem', 'Haverland', 'Hood', 'Mieze Schindler', 'Mount Everest', 'Red Gauntlet', 'Solana', 'Talisman', 'Tsunaki'. Поражаемые (n = 82): '50 лет Октября', 'Абадзехская', 'Аврора', 'Алая МОС ВИР', 'Аэлита', 'Бирюлевская ранняя', 'Великан', 'Веснянка', 'Галичанка', 'Гама', 'Елшанка', 'Зарница', 'Итурупская', 'Красавица Загорья', 'Кремлевская', 'Кубанка', 'Кубанская ранняя (Вымпел)', 'Лада', 'Ленинградская', 'Ленинградская поздняя', 'Львовская ранняя', 'Любовь Поволжья', 'Лявониха', 'Марсианка', 'Молдаванка', 'Мысовка', 'Нальмэс', 'Нарядная', 'Неслуханка', 'Обильная', 'Оштен', 'Памятная', 'Память Комарова', 'Персиковая', 'Пионерка', 'Подарок весны', 'Приазовская', 'Сюрприз', 'Тамбовчанка', 'Техническая', 'Ударница', 'Утренняя звезда', 'Фишт', 'Чернобровка', 'Южанка (Крымская ОС)', 'Южанка САС ВИР'; 'Albritton', 'Aroma', 'Blakemore', 'Catskill', 'Cavalier', 'Clermont', 'Climax', 'Earlibelle', 'Fairfax', 'German', 'Gerseybelle', 'Glassa', 'Gorella', 'Grenadier', 'Guardsman', 'Holiday', 'Honeoye', 'Lucida Perfecte', 'Macherauchs Marieva', 'Merton Rosy', 'Midland', 'Pegasus', 'Protem', 'Red Chief', 'Redcoat', 'Roter Diamant', 'Senga Sengana', 'Sharpless', 'Spate von Leopoldshall', 'Stelemaster', 'Success', 'Surecrop', 'Vibrant', 'Victoria', 'Worck's Volltragende (Ворка плодородная)'
ИТОГО/ TOTAL	135	

Исключение составили сорта 'Fairfax' и 'Stelemaster', которые в нашей работе генерировали маркер Rca2_240, в то время как W. Njuguna (2010) у этих сортов данного маркера не выявил. Следует отметить, что сорта 'Cambridge Favourite', 'Red Gauntlet', 'Red Chief', 'Sequoia' и 'Surecrop' были изучены разными авторами с разными результатами, при этом наши данные совпали с полученными в одних работах и не совпали с другими. Например, сорт 'Sequoia' из коллекции ВИР, поддерживаемой на МОС - филиале ВИР, имел диагностический фрагмент 240 пн, что соответствовало данным М.А. Miller-Butler с соавторами (2019), однако в других публикациях (Lerceteau-Köhler et al., 2005; Njuguna, 2010) маркер STS-Rca2_240 у этого сорта обнаружен не был. Более подробные сведения о сопоставлении результатов представлены в Приложении 1 / Supplement 1.

Поскольку с методологической точки зрения работа с праймерами STS-Rca2_240 не представляет особых трудностей и ПЦР-продукты хорошо воспроизводятся

в повторностях опыта, следует полагать, что различия в результатах скрининга объясняются именно различиями сортового генетического материала, сохраняемого в различных коллекциях под одним и тем же названием.

В нашей работе частота встречаемости маркера у отечественных сортов (18,1%) оказалась значительно выше, чем в выборках, изученных другими авторами. Так, в публикациях А.С. Лыжина с соавторами (Lyzhin et al., 2019; 2020) маркер STSRca2_240 был идентифицирован только у одного российского сорта 'Сударушка' из 32 проанализированных (суммарно по двум работам 3,1%). И.В. Лукьянчук с соавторами (Lukyanchuk et al., 2018) не выявили диагностического фрагмента маркера ни у одного из шести отечественных сортов. Таким образом, коллекционный материал, поддерживаемый на Майкопской станции, представляет значительный интерес как источник сортов, потенциально устойчивых к антракнозной черной гнили.

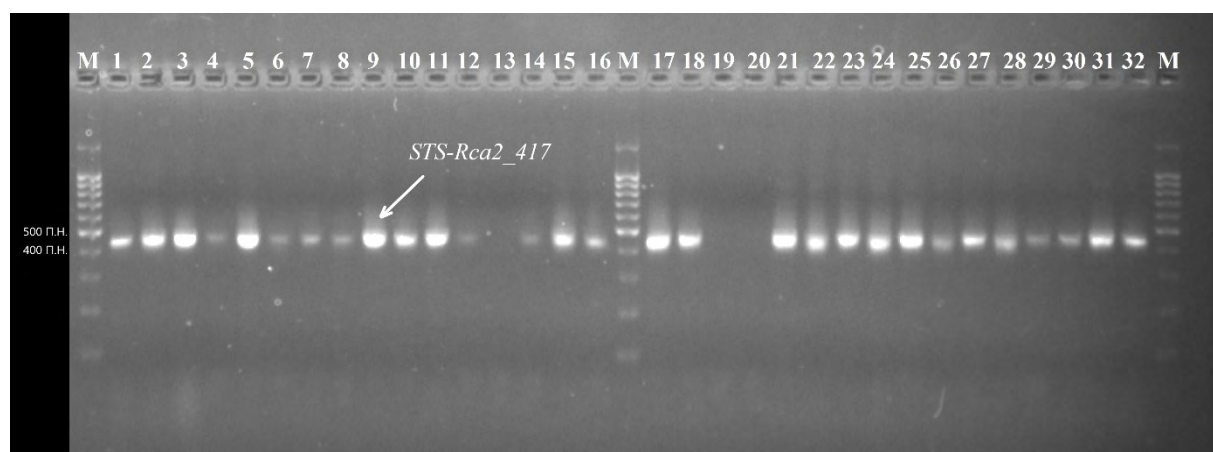


Рис. 3. ПЦР-продукты, полученные при амплификации ДНК сортов земляники МОС ВИР с праймерами для маркера STS-Rca2 417.

1 – 'Glassa'; 2 – 'Веснянка'; 3 – 'Glassa'; 4 – 'Веснянка'; 5 – 'Gerseybelle'; 6 – 'Фишт'; 7 – 'Gerseybelle'; 8 – 'Фишт'; 9 – 'Кокинская ранняя'; 10 – 'Оштен'; 11 – 'Кокинская ранняя'; 12 – 'Оштен'; 13 – 'Галичанка'; 14 – 'Нальмэс'; 15 – 'Нальмэс'; 16 – 'Галичанка'; 17 – 'Зарница'; 18 – 'Абадзехская'; 19 – 'Зарница'; 20 – 'Абадзехская'; 21 – 'Сердце гор'; 22 – 'Майкопская ранняя'; 23 – 'Сердце гор'; 24 – 'Майкопская ранняя'; 25 – 'Пэрыт'; 26 – 'Шапсугская'; 27 – 'Пэрыт'; 28 – 'Шапсугская'; 29 – 'Бэрчэт'; 30 – 'Сударушка'; 31 – 'Бэрчэт'; 32 – 'Сударушка';
M – маркер молекулярного веса «100 bp+».

Fig. 3. PCR products obtained during amplification of DNA from strawberry varieties in the VIR collection at the Maykop ES with primers for the STS-Rca2_417 marker.

1 – 'Glassa'; 2 – 'Vesnyanka'; 3 – 'Glassa'; 4 – 'Vesnyanka'; 5 – 'Gerseybelle'; 6 – 'Fisht'; 7 – 'Gerseybelle'; 8 – 'Fisht'; 9 – 'Kokinskaya rannaya'; 10 – 'Oshten'; 11 – 'Kokinskaya rannaya'; 12 – 'Oshten'; 13 – 'Galichanka'; 14 – 'Nal'mes'; 15 – 'Nal'mes'; 16 – 'Galichanka'; 17 – 'Zarnica'; 18 – 'Abadzekhskaya'; 19 – 'Zarnica'; 20 – 'Abadzekhskaya'; 21 – 'Serdce gor'; 22 – 'Majkopskaya rannaya'; 23 – 'Serdce gor'; 24 – 'Majkopskaya rannaya'; 25 – 'Peryt'; 26 – 'Shapsugskaya'; 27 – 'Peryt'; 28 – 'Shapsugskaya'; 29 – 'Berchet'; 30 – 'Sudarushka'; 31 – 'Berchet'; 32 – 'Sudarushka';
M – molecular weight marker "100 bp +".

Для части сортов, имевших маркер гена *Rca2*, мы провели анализ родословных, чтобы проследить источник происхождения устойчивости. Например, сорт 'Сударушка' является гибридом 'Фестивальная' × 'Roxana'. Сорт 'Roxana' был изучен в данном исследовании и действительно имел диагностический фрагмент 240 пн. Сорт 'Malling Pandora' [(von Humboldt × 'Redstar') 'Merton Dawn'], согласно опубликованным данным, получил маркер от сорта 'Redstar' (Njuguna, 2010).

Все три сорта майкопской селекции ('Майкопская ранняя', 'Пэрыт', и 'Шапсугская'), генерирующие диагностический фрагмент маркера, были созданы А.Г. Лазаревой в шестидесятые годы. В их родословных фигурируют устойчивые к заболеваниям гибриды 'Earlidan' × 'Md US 232'1 и 'Surecrop' × 'US3919', привезенные из США академиком П.М. Жуковским и зарегистрированные в ВИР под номерами интродукции и-228612 и и-228613 соответственно. Эти гибриды, до настоящего времени, не были изучены на наличие маркера гена *Rca2*. Сорта 'Майкопская ранняя' и 'Пэрыт' могли получить аллель устойчивости гена *Rca2* от другого родителя – сорта 'Earlidan', для которого наличие маркера показано в работах W. Njuguna (Njuguna, 2010).

При скрининге образцов выборки на наличие аллелей гена *Rca2* нами был использован еще один маркер – STS-*Rca2*_417 (см. рис. 3). Однако его диагностические фрагменты были выявлены у подавляющего большинства сортов выборки без какой-либо связи с устойчивостью. Поэтому данный маркер был признан неэффективным.

Заключение

В результате молекулярного скрининга коллекции сортов земляники ВИР, поддерживаемой на Майкопской ОС - филиале ВИР, было выявлено 22 сорта с маркерами гена *Rca2*, контролирующего устойчивость к антракнозу второй группы патогенности. При этом сорта 'Ананасная поздняя', 'Восток', 'Галочка', 'Лаба', 'Любимица', 'Майкопская ранняя', 'Мелитопольская ароматная', 'Мелитопольская ранняя', 'Пэрыт', 'Россиянка', 'Шапсугская', 'Cambridge Favourite', 'Culver', 'Empire', 'Malling Pandora', 'Roxana' в условиях предгорной зоны Республики Адыгея на протяжении ряда лет демонстрировали полевую устойчивость к *S. acutatum*, что позволяет рекомендовать их в качестве перспективного источника устойчивости для селекции. В целом, маркер STS-*Rca2*_240 показал хорошую эффективность в определении доминантной аллели гена *Rca2*. Достаточно низкая частота встречаемости маркера в сортовом материале земляники делает его ценным диагностическим признаком при разработке молекулярных паспортов.

Литература / References

Antonova O.Yu., Klimenko N.S., Rybakov D.A., Fomina N.A., Zheltova V.V., Novikova L.Yu., Gavrilenko T.A. SSR analysis

- of modern Russian potato varieties using DNA samples of nomenclatural standards. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(4):77-96. [in Russian] (Антонова О.Ю., Клименко Н.С., Рыбаков Д.А., Фомина Н.А., Желтова В.В., Новикова Л.Ю., Гавриленко Т.А. SSR-анализ современных российских сортов картофеля с использованием ДНК номенклатурных стандартов. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(4):77-96). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-4-02
- Denoyes-Rothan B., Lerceteanu-Köhler E., Guérin G., Bosseur S., Baric J., Martin E., Roudeillac P. QTL analysis for resistance to *Colletotrichum acutatum* and *Phytophthora cactorum* in octoploid strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Acta Horticulturae*. 2004;663:147-152. DOI: 10.17660/ActaHortic.2004.663.19
- Govorova G.F., Govorov D.N. Fungal diseases of strawberries (Gribnye bolezni zemlyaniki i klubniki). Moscow: Prospekt; 2019. [in Russian] (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н. Грибные болезни земляники и клубники. Москва: Проспект; 2019).
- Guérin G., Lerceteanu-Köhler E., Laigret F., Roudeillac P., Denoyes-Rothan B. Development of a SCAR marker linked to dominant gene conferring resistance to *Colletotrichum acutatum* in strawberry. *Acta Horticulturae*. 2003;626(626):85-91. DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.626.10
- Fisher R.A. On the interpretation of χ^2 from contingency tables, and the calculation of P. *Journal of the Royal Statistical Society*. 1922;85(1):87-94. DOI: 10.2307/2340521
- Holod N.A., Kashchits Y.P., Dobrenkov E.A., Semenova L.G. Evaluation of stability of strawberry varieties to anthracnose black rot in the southern region. *Fruit Growing and Viticulture of South Russia*. 2018;51(3):140-148. [in Russian] (Холод Н.А., Кашчиц Ю.П., Добренков Е.А., Семенова Л.Г. Оценка устойчивости сортов земляники садовой к антракнозной черной гнили в южном регионе. *Плодоводство и виноградарство юга России*. 2018;51(3):140-148). DOI: 10.30679/2219-5335-2018-3-51-140-148
- Holod N.A., Yakovenko V.V., Semenova L.G. Isolation of strawberry varieties with complex resistance to mycoses for use in the breeding process. *Fruit growing and viticulture in the South of Russia*. 2012;18(6):80-88. [in Russian] (Холод Н.А., Яковенко В.В., Семенова Л.Г. Выделение сортов земляники с комплексной устойчивостью к микозам для использования в селекционном процессе. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2012;18(6):80-88).
- Khrabrov I.E., Antonova O.Yu., Shapovalov M.I., Semenova L.G. Strawberry resistance to the major fungal phytopathogens: R-genes and their DNA markers. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2019;2(3):30-40. [in Russian] (Храбров И.Э., Антонова О.Ю., Шаповалов М.И., Семенова Л.Г. Устойчивость земляники к основным грибным фитопатогенам: R-гены и их ДНК-маркеры. *Биотехнология и селекция растений*. 2019;2(3):30-40). DOI: 10.30901/2658-6266-2019-3-03
- Kotova V.V., Kungurtseva O.V. Anthracnose of agricultural plants. St. Petersburg: VIZR; 2014. [in Russian] (Котова В.В., Кунгурцева О.В. Антракноз сельскохозяйственных растений. Санкт-Петербург: ВИЗР; 2014).
- Lakin G.F. Biometrics: a textbook for biological higher education institutions (Biometriya: uchebnoye posobiye dlya biologicheskikh spetsializirovannykh vuzov). 3rd ed., revised and expanded. Moscow; 1980. [In Russian] (Лакин Г.Ф. Биометрия: учебное пособие для биологических специализированных вузов. 3-е изд., перераб. и доп. Москва; 1980).
- Lerceteanu-Köhler E., Guérin G., Denoyes-Rothan B. Identification of SCAR marker linked to *Rca2* anthracnose resistance gene and their assessment in strawberry germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111:862-870. DOI: 10.1007/s00122-005-0008-1
- Lukyanchuk I.V., Lyzhin A.S., Kozlova I.I. Analysis of the genetic collection of strawberries (*Fragaria* L.) for the *Rca2* and *Rpfl* genes with molecular markers. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(7):795-799. [in Russian] (Лукианчук И.В., Лыжин А.С., Козлова И.И. Анализ генетической коллекции клубники (*Fragaria* L.) для генов *Rca2* и *Rpfl* с молекулярными маркерами. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(7):795-799). DOI: 10.18699/VJ18.423

- Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V., Zhdanova E.V. DNA-analysis of genotypes of the genus *Fragaria* L. For anthracnose resistance. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2020;62:53-58. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукьянчук И.В., Жбанова Е.В. ДНК-анализ генотипов рода *Fragaria* L. По устойчивости к антракнозной чёрной гнили. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2020;62:53-58). DOI: 10.31676/2073-4948-2020-62-53-58
- Lyzhin A.S., Lukyanchuk I.V., Zhdanova E.V. Polymorphism of the *Rca2* anthracnose resistance gene in strawberry cultivars (*Fragaria* × *ananassa*). *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2019;180(1):73-77. [in Russian] (Лыжин А.С., Лукьянчук И.В., Жбанова Е.В. Полиморфизм сортов земляники (*Fragaria* × *ananassa*) по гену устойчивости к антракнозу *Rca2*. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(1):73-77). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-73-77
- Maas J.L. (ed.) Compendium of strawberry diseases. St. Paul (Minnesota, USA): American Phytopathological Society (APS) Publications; 1984.
- Miller-Butler M.A., Smith B.J., Kreiser B.R., Blythe E.K. Comparison of anthracnose resistance with the presence of two SCAR markers associated with the *Rca2* gene in strawberry. *HortScience*. 2019;54(5):793-798. DOI: 10.21273/HORTSCI13805-18
- Metlitsky O.Z., Zeynalov A.S., Undritsova I.A., Kholod N.A. Methodological guidelines for monitoring pests and diseases and a system of measures to combat them in mother and industrial plantations of strawberries (Metodicheskiye ukazaniya po monitoringu vreditel'ey i bolezney i sisteme mer borby s nimi v matochnykh i promyshlennykh nasazhdeniyakh zemlyaniki sadovoy). Moscow: ARHCBAN; 2005. [in Russian] (Метлицкий О.З., Зейналов А.С., Ундрицова И.А., Холод Н.А. Методические указания по мониторингу вредителей и болезней и системе мер борьбы с ними в маточных и промышленных насаждениях земляники садовой. Москва: ВСТИСП; 2005).
- Metlitsky O.Z., Golovin S.E., Undritsova I.A., Kholod N.A. Anthracnose of garden strawberries (Antraknoz sadovoy zemlyaniki). *Agro XXI*. 2007;(4-6):40-41. [in Russian] (Метлицкий О.З., Головин С.Е., Ундрицова И.А., Холод Н.А. Антракноз садовой земляники. *Агро XXI*. 2007;(4-6):40-41).
- Njuguna W. Development and use of molecular tools in *Fragaria*. Corvallis, Oregon, USA: Oregon State University; 2010.
- Popova I.V., Reznik S.M., Vereshchagina M.A. Results of strawberries breeding for resistance to powdery mildew in the conditions of the Non-Black Soil Belt of the RSFSR (Rezultaty selektsii zemlyaniki na ustojchivost k muchnistoj rose v usloviyakh Nechernozemnoy zony RSFSR). In: *Novoe v yagodovodstve Nechernozemya = New in berry growing in the Non-Black Soil Belt*. Moscow; 1990. p.13-25. [in Russian] (Попова И.В., Резник С.М., Верещагина М.А. Результаты селекции земляники на устойчивость к мучнистой росе в условиях Нечерноземной зоны РСФСР. В кн.: *Новое в ягодоводстве Нечерноземья*. Москва, 1990. С.13-25).
- Pshikhacheva Z.U. Sources for strawberry breeding for the traits of productivity and quality of berries [dissertation]. Krasnodar; 2012. [in Russian] (Пшихачева З.У. Источники для селекции земляники на признаки продуктивности и качества ягод: дис. канд. с.-х. наук. Краснодар; 2012). URL: <https://www.dissercat.com/content/istochniki-dlya-selektsii-zemlyaniki-na-priznaki-produktivnosti-i-kachestva-yagod> [дата обращения: 10.11.21].
- Salinas N., Fan Z., Peres N., Lee S., Whitaker V.M. FaRCa1 confers moderate resistance to the root necrosis form of strawberry anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. *HortScience*. 2020;55(5):693-698. DOI: 10.21273/HORTSCI14807-20
- Salinas N., Verma S., Peres N., Whitaker V.M. FaRCa1: a major subgenome-specific locus conferring resistance to *Colletotrichum acutatum* in strawberry. *Theoretical and Applied Genetics*. 2019;132:1109-1120. DOI: 10.1007/s00122-018-3263-7
- Sturzeanu M., Coman M., Ciuca M., Ancu I., Cristina D., Turcu A.G. Molecular characterization of allelic status of the *Rpf1* and *Rca2* genes in six cultivars of strawberries. *Acta Horticulturae*. 2016;1139:107-111. DOI: 10.17660/ActaHortic.2016.1139.19