

УСТОЙЧИВОСТЬ ЗЕМЛЯНИКИ К ОСНОВНЫМ ГРИБНЫМ ФИТОПАТОГЕНАМ: R-ГЕНЫ И ИХ ДНК-МАРКЕРЫ

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

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44; ✉ *ivan.khrabrov95@mail.ru, olgaant326@mail.ru

² Лаборатория биоэкологического мониторинга беспозвоночных животных Адыгей НИИ комплексных проблем АГУ, Адыгейский государственный университет, 385016 Россия, Республика Адыгея, г. Майкоп, ул. Первомайская, 208; ✉ shapmaksim2017@yandex.ru

³ Майкопская опытная станция – филиал ВИР, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 385746 Россия, Республика Адыгея, Майкопский район, п. Подгорный, ул. Научная, д. 1; ✉ semenov50@mail.ru

Садовая земляника *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier (1785) – многолетнее травянистое растение из семейства розоцветных (*Rosaceae*), возделываемое по всему миру. На её долю приходится больше половины объема мирового производства ягод. В России ежегодно выращивается более 200 тонн земляники садовой, но по данным отечественных учёных у данной культуры потенциал продуктивности намного больше. На урожайность земляники негативно влияют различные патогены, в том числе грибные инфекции. К числу важнейших грибных заболеваний земляники относятся антракнозная гниль (вызывается несколькими видами грибов-аскомицетов рода *Colletotrichum* Corda), гниль рожка земляники (возбудитель – *Phytophthora cactorum* Lebert & Cohn), фитофторозная корневая гниль (*Phytophthora fragariae* var. *fragariae* Hickman), фузариоз (*Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* Winks & Williams) и мучнистая роса (*Podosphaera aphanis* [*Sphaerotheca macularis*] (Wallr.) U. Braun & S. Takam). В обзоре рассмотрены актуальные сведения об известных генах и локусах количественных признаков (QTL), контролирующих устойчивость к данным фитопатогенам, и представлена информация об ассоциированных с ними молекулярных маркерах разных типов (SDRF, RAPD, AFLP, SSR, SCAR, SNP и т.д.) в том числе о маркерах, используемых в практической селекции для молекулярного скрининга коллекций земляники.

Ключевые слова: *Fragaria × ananassa*, гены устойчивости, QTL, грибные болезни, *Colletotrichum*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*, *Podosphaera aphanis*.

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of the financial activities Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация / Additional information Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2019-3-03>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. Все авторы одобрили рукопись. / All authors approved the manuscript. Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

STRAWBERRY RESISTANCE TO THE MAJOR FUNGAL PHYTOPATHOGENS: R-GENES AND THEIR DNA MARKERS

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

¹ N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia; ✉ *ivan.khrabrov95@mail.ru, olgaant326@mail.ru

² Laboratory of Bio-Ecological Monitoring of Invertebrate Animals in Adygeya Republic at the Research Institute for Complex Problems, Adyge State University, 208 Pervomayskaya Street, Maikop 385016, Russia; ✉ shapmaksim2017@yandex.ru

³ Maikop Experiment Station of VIR, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 1 Nauchnaya Street, Maikop 385746, Russia; ✉ semenov50@mail.ru

The garden strawberry *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier (1785) is a perennial herbaceous plant of the *Rosaceae* family; it is cultivated all around the world. It accounts for more than half of the global volume of berries production. In Russia, more than 160 tons of garden strawberries are grown annually, but according to Russian scientists, this crop has a much higher productivity potential. Various pathogens, including bacterial, viral and fungal infections, negatively affect the productivity of strawberry. Anthracnose (caused by *Colletotrichum* Corda), crown rot (*Phytophthora cactorum* Lebert & Cohn), red core disease (*Phytophthora fragariae* var. *fragariae* Hickman), fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* Winks & Williams) and strawberry powdery mildew (*Podosphaera aphanis* [*Sphaerotheca macularis*] (Wallr.) U. Braun & S. Takam) are among the most important fungal diseases of strawberry. This review discusses the current data about the known genes and quantitative trait loci (QTLs) associated with resistance to listed plant pathogens. The review also offers information about molecular markers of different types: SDRF, AFLP, SSR, SCAR, SNP, associated with these genes/QTLs and used in the molecular screening of strawberry collections for practical purposes.

Key words: strawberries, *Fragaria × ananassa*, R-genes, QTL, fungal diseases, *Colletotrichum*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*, *Podosphaera aphanis*

Для цитирования: Храбров И.Э., Антонова О.Ю., Шаповалов М.И., Семёнова Л.Г. Устойчивость земляники к основным грибным фитопатогенам: R-гены и их ДНК-маркеры. *Биотехнология и селекция растений*. 2019;2(3):30-40. DOI: <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2019-3-03>

For citation: 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 Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2019-3-03>

ORCID:

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 634.75:577.2:631.52:632.4
Поступила в редакцию: 07.11.2019
Принята к публикации: 09.12.2019

Введение

Земляника садовая или ананасная – *Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier (1785) – многолетнее травянистое растение, обладающее исключительной пищевой ценностью с хорошими вкусовыми качествами ягод. Благодаря наличию не только сахаров, органических кислот и пектинов, но и комплекса микро-нутриентов она является перспективным объектом здорового питания. Наибольшей ценностью земляники обладает в качестве источника витаминов С, полифенольных соединений (антоцианы, гидроксикоричные кислоты), фолатов, а также минеральных веществ – калия, железа (Akimov et al., 2019).

Земляника садовая возделывается в 75 странах мира, на ее долю приходится свыше 2/3 объема мирового производства ягод. В России под землянику отводят до 30-40% площадей, занимаемых всеми ягодниками. В настоящее время производственный объем земляники в РФ достигает примерно 230 тысяч тонн и ежегодно возрастает в среднем на 3,7% (Govorova, Govorov, 2019). Потенциал продуктивности земляники ананасной очень высок, по мнению российских ученых он может достигать 112 т/га (Porova et al., 1990), однако реальная урожайность намного ниже – средняя урожайность в мире составляет 12,8 т/га; в США – 37,1 т/га, Испании – 37,7 т/га, Японии – 12,8 т/га, (Pshikhacheva, 2012), в России – 6-8 т/га в разные годы (Govorova, Govorov, 2019).

Отрицательное влияние на урожайность оказывает целый ряд неблагоприятных факторов и, в том числе, различные грибные инфекции. К числу важнейших грибных заболеваний земляники относятся (антракнозная гниль (возбудитель – *Colletotrichum acutatum* Simmonds), гниль рожка земляники (*Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröte), фитофторозная корневая гниль (фитофторозное увядание) (*Phytophthora fragariae* var. *fragariae* Hickman), фузариоз (*Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* Winks et Williams) и мучнистая роса – *Podosphaera aphanis* (Wallr.) U. Braun & S. Takam [*Sphaerotheca macularis* (Wall. ex Fries) Jazz f. sp. *fragariae* (Peries)]). Поражение возделываемых сортов этими болезнями приводит к значительному снижению продуктивности плантаций (от 15 до 92 %), а массовое развитие грибных заболеваний способно приводить к 100 % гибели урожая (Govorova, 2004; Folta, Davis, 2006; Smith, 2008; Newton et al., 2010). В последнее время в связи с изменением климата, активным импортом посадочного материала, обменом им внутри страны и влиянием узкоспециализированных фунгицидов происходит расширение ареалов грибных патогенов земляники, а также появление новых видов/рас возбудителей. Поэтому задача создания новых сортов, устойчивых к грибным патогенам, является чрезвычайно актуальной. Огромную помощь при этом может оказать метод маркер-вспомогательной селекции, использующий ДНК-маркеры, ассоциированные с генами устой-

чивости на молекулярно-генетических картах.

Однако для молекулярно-генетического анализа *F.* × *ananassa* является сложным объектом. Этот октоплоидный вид ($2n = 8x = 56$) представляет собой межвидовой гибрид между американскими видами *F. chiloensis* (L.) Mill. и *F. virginiana* Duch, спонтанно возникший более 250 лет назад при их совместном выращивании в Европе (Darrow, 1966). Согласно современным представлениям, родительские виды были образованы путем слияния и взаимодействия геномов четырех диплоидных видов – предшественников – *F. vesca* L., *F. nipponica* Lindl., *F. iinumae* Makino, *F. viridis* Duch (Edger et al., 2019). На основании изучения сегрегации хромосом у *F.* × *ananassa* было предложено несколько вариантов геномных формул: вариант AABBBBCC, предполагающий один тетраплоидный и два диплоидных субгенома (Федорова, 1946), варианты AAA'A'BBBB и AAA'A'BBB'B', в которых два генома имели большую или меньшую степень дивергенции (Senanayake and Bringhurst, 1967; Bringhurst, 1990). Позднее было показано, что для большинства ядерных генов садовой земляники наблюдается дисомическое наследование (Ashley et al. 2003), то есть геном *F.* × *ananassa* сформирован четырьмя разными субгеномами, которые было предложено обозначать символами A, B, C и D. При этом субгеном, унаследованный от *F. vesca*, является «доминирующим», его последовательности более полно представлены в геноме *F.* × *ananassa* по сравнению с последовательностями других видов-предшественников – на 20.2% больше белок-кодирующих и на 14.2% lncRNA (long non-coding RNA) генов. Соответственно, порядок букв при обозначении субгеномов соответствует степени их близости к геному *F. vesca* (Edger et al., 2019). Размер генома *F.* × *ananassa* оценивается в 708–720 Mb (Akiyama et al., 2001), он полностью секвенирован с использованием технологий Next Generation Sequencing или NGS (Hirakawa et al., 2014; Edger et al., 2019).

Сложность генома *F.* × *ananassa* требует специальной стратегии для картирования генов, в том числе генов устойчивости. Ранее было предложено использовать маркеры SDRF- (Single Dose Restriction Fragment) (Wu et al., 1992). Под SDRF понимают фрагменты ДНК, присутствующие только в одной хромосоме только одного из родителей и сегрегирующие в соотношении 1:1 независимо от пloidности организма. При построении карт сцепления отдельно учитывают сегрегацию SDRF маркеров материнской формы (Aaaaaaaa × aaaaaaaa) и отцовской (aaaaaaa × Aaaaaaaa), в результате получают материнские и отцовские карты сцепления (Lerceteau-Köhle et al., 2003). Для каждого из субгеномов были также разработаны подробные карты хромосом при помощи микросателлитных маркеров (van Dijk et al., 2014). В настоящее время практически все работы по генотипированию и картированию у *F.* × *ananassa* основываются на технологии ДНК-микрочипирования. Чаще всего используют чип *IStraw90* Axiom® на базе

платформы Affymetrix®. ДНК-чипирование земляники позволяет проводить генетический анализ, включая создание карт сцепления высокой плотности, анализ GWAS® (genome – wide association studies – полногеномный поиск ассоциаций), идентификацию локусов количественных признаков, обеспечивая тем самым основу для молекулярной селекции этой высокоценной культуры (Bassil et al., 2015). В данном обзоре мы рассматриваем известные на настоящий момент у земляники гены устойчивости к грибным патогенам и ассоциированные с ними маркеры, в том числе пригодные для практического применения в MAS (маркер-опосредованная селекция).

Антракнозная (черная) гниль – патоген *Colletotrichum acutatum*

Болезнь вызывают несколько видов грибов-аскомицетов рода *Colletotrichum*: *C. fragariae* Brooks, *C. gloeosporioides* Penz. (Sacc.) Ston и *C. acutatum* (Kotova, Kungurtseva, 2014; Govorova, Govorov, 2019).

Наиболее часто растения земляники в Европе поражает *C. acutatum* (Govorova, Govorov, 2019). До недавнего времени в России возбудитель антракноза не был характерен для микобиоты земляники, однако в последние годы в связи с массовым завозом зарубежного посадочного материала *C. acutatum* выявляют на насаждениях земляники не только в южной зоне, но и в средней полосе РФ (Holod et al., 2018). Возможно также поражение земляники другим патогеном – *C. gloeosporioides* (Kotova, Kungurtseva, 2014). Антракнозная гниль наносит посадкам земляники большой ущерб, в некоторых случаях приводя к потере 80% урожая (Metlitsky et al., 2007). Большинство сортов земляники в разной степени восприимчивы к *C. acutatum* (Metlitsky et al., 2007; Leandro et al., 2001).

Для *C. acutatum* выделено значительное количество изолятов, которые относят к двум группам патогенности. В работе французских исследователей из 14 изолятов 10 были способны поражать сорта земляники «Addie», «Sequoia» и «Dover» (1 группа патогенности), в то время как 4 изолята группы патогенности 2 были вирулентны для сорта «Addie», но не поражали сорта «Sequoia» и «Dover» (Denoyes, Baudry, 1995).

Устойчивость к расам *C. acutatum* первой группы патогенности носит полигенный характер, что было показано в работе Denoyes-Rothan с соавторами (2004). Авторы использовали уже известную молекулярно-генетическую карту *F. × ananassa*, которая была разработана с использованием различных типов маркеров, в том числе маркеров SDRF (Lerceteau-Köhler et al., 2003). Материнская карта состояла из 263 маркеров (244 AFLP, 13 SSR и 6 SCAR), распределенных по 47 группам сцепления, на отцовской карте 322 маркера (279 AFLP, 26 SSR и 3 SCAR) распределились по 45 группам сцепления.

Было обнаружено 5 QTL устойчивости к *C. acutatum* первой группы патогенности (изолят 494a), из которых 3 QTL были локализованы в группах сцепления материнской карты и 2 QTL в группах сцепления отцовской карты (Denoyes-Rothan, et al., 2004). Недавно использование методов ДНК-микрочипирования и GWAS – анализа позволило выявить на хромосоме 6В основной локус *FaRca1*, контролирующей устойчивость к изолятам первой группы патогенности (02-163, 02-179 и 03-32) (Salinas et al., 2019). Изменчивость по гену *FaRca1* объясняла по меньшей мере 50% фенотипической дисперсии по признаку устойчивости к *C. acutatum*. Авторы выделили несколько SNP-маркеров, сцепленных с *FaRca1* (AX-89796486, AX-89838962 AX-89808208, AX-89838986 и AX-89896208), однако маркеров для практической MAS селекции на их основе разработано не было (Salinas et al., 2019).

Моногенная устойчивость у земляники выявлена к расам *C. acutatum* второй группы патогенности. Она контролируется доминантным геном *Rca2*. Картирование данного гена было проведено для популяции из 113 гибридов F_2 от скрещивания сорта «Capitola» и селекционного клона CF1116. Авторы применили AFLP-анализ, причем из совокупного числа фрагментов (789) были отобраны только 727, подходившие под критерии маркеров SDRF (смотри ранее). В результате были построены две карты: материнская (F) – покрытие 1,604 cM, 235 маркеров и отцовская (M) – 1,496 cM, 280 маркеров (Lerceteau-Köhler et al., 2003). На картах методом сегрегационного bulk-анализа (BSA-Bulked segregant analysis) картировали ген *Rca2* и идентифицировали сцепленные с ним AFLP-маркеры mf1, mf2, mf3 и mf4. Два из них были конвертированы в ПЦР-маркеры STS-*Rca2*_240 и STS-*Rca2*_417. Ген *Rca2* был картирован на расстоянии 2,8 cM от маркера STS-*Rca2*_240 и 0,6 cM от маркера STS-*Rca2*_417 (Guerin et al., 2003; Lerceteau-Köhler et al., 2005).

Маркер STS-*Rca2*_240 активно использовался в молекулярном скрининге различных коллекций земляники в том числе и российскими исследователями (таблица). В работе И.В. Лукьянчука с соавторами (Lukyanchuk, 2018) проведен молекулярный скрининг сортов земляники как отечественной («Ласточка», «Привлекательная», «Урожайная ЦГЛ», «Фейерверк», «Флора», «Яркая»), так и зарубежной селекции, а также образцов дикорастущих видов рода *Fragaria* L. (*F. orientalis* Los., *F. moschata* Duch., *F. ovalis* Rydb., *F. virginiana* Rydb. ssp. *platypetala*). Диагностический фрагмент маркера STS-*Rca2*_240 присутствовал только у зарубежного сорта «Laetitia». А.С. Лыжин с соавторами (Lyzhin et al., 2019) проводили оценку аллельного состояния гена устойчивости к антракнозу *Rca2* для 24 российских и 15 зарубежных сортов. В результате ПЦР-анализа маркер STS-*Rca2*_240 был идентифицирован у двух зарубежных сортов «Elianny», «Troubadour» и у одного отечественного – «Сударушка» (Lyzhin et al., 2019).

Маркер STS-Rca2_417 применяют реже, несмотря на то, что показана его большая эффективность в выявлении устойчивых к *C. acutatum* сортов. Так, в работе E. Lerceteau-Köhler et al. (2005) из 28 устойчивых сортов 13 (46,4%) имели диагностические фрагменты обоих маркеров, и еще 8 (28,6%) – только маркера STS-Rca2_417. Связь с устойчивостью не была абсолютной – 7 устойчивых сортов (25,0%) вообще не детектировали диагностических фрагментов. Некоторые авторы (Miller-Butler et al., 2019) сообщают о полной неэффективности обоих маркеров для молекулярного скрининга, однако в данной работе отсутствие взаимосвязи устойчивости и маркера можно объяснить методическими проблемами – помимо диагностического фрагмента авторы выявляли у сортов земляники неспецифичные ПЦР-продукты различной длины (Miller-Butler et al., 2019).

Генетика устойчивости к *C. gloeosporioides* была изучена в работе Anciro с соавторами (2018) методом GWAS-анализа. На базе платформы Affymetrix® с использованием ДНК чипов IStraw90 Axiom®

и IStraw35 384HT Axiom® произведено SNP генотипирование 24 родительских линий и гибридов от различных комбинаций их скрещиваний – всего 1621 клон с известной устойчивостью. На полученной карте в группе сцепления LG6B был идентифицирован один основной локус *FaRCg1*, ассоциированный с 18-ю SNP-маркерами. Следует отметить, что на хромосоме LG6B картирован также основной ген устойчивости *FaRCa1* к другому возбудителю антракноза земляники – *C. acutatum* (Salinas et al., 2019). Вероятно, в этой области располагается кластер генов, контролирующих устойчивость к представителям рода *Colletotrichum*.

Ассоциированные с геном *FaRCg1* SNP-маркеры были конвертированы в маркеры для HRM-анализа (High-Resolution Melting или анализ кривых плавления с высоким разрешением). Максимальную связь с устойчивостью показали маркеры AX-89864339 (положение в LG6B 67.43 cM) и AX-89906235 (положение в LG6B 68.88 cM). В скрининге коллекций земляники эти маркеры пока не использовались, однако не исключено, что они ока-

Таблица. Результаты молекулярного скрининга коллекций сортов земляники с использованием маркеров STS-Rca2_240 и STS-Rca2_417 по данным литературы.

Table. Results of molecular screening of strawberry collections using STS-Rca2_240 and STS-Rca2_417 markers according to the literary sources.

№	Литературный источник	Изученный материал	Присутствие маркера STS-Rca2_240 у сорта	Присутствие маркера STS-Rca2_417 у сорта
1	Lukyanchuk et al., 2018	6 отечественных сортов, 12 зарубежных сортов.	«Laetitia»	Не изучали
2	Lyzhin et al., 2019	24 отечественных сорта, 15 зарубежных сортов.	«Elianny», «Troubadour», «Сударушка»	Не изучали
3	Lerceteau-Köhler et al., 2005	43 сорта: 28 устойчивых (R) 14 поражаемых (S) 1 умеренно устойчивый (R/S)	13 сортов. Совпадение с устойчивостью 62,8 %	22 сорта. Совпадение с устойчивостью 81,4%
4	Miller-Butler et al., 2019	31 сорт: 6 устойчивых (R) 25 поражаемых (S)	22 сорта. Маркер признан неэффективным.	21 сорт. Маркер признан неэффективным.
5	Njuguna, 2010	112 сортов.	36 сортов. Данные по устойчивости не приведены	Не изучали
6	Sturzeanu et al., 2016	6 сортов.	«Benton» совпадение с устойчивостью 100 %	Не изучали
7	Sturzeanu et al., 2017	17 сортов	7 сортов. Совпадение с устойчивостью 57,1 %	Не изучали

жуются эффективными для выявления устойчивых форм (Anciro et al., 2018).

Фитофтороз (фитофторозное увядание)

Фитофтороз, или фитофторозное увядание земляники, вызывают псевдогрибы из рода *Phytophthora* de Bary, относящегося к семейству *Pythiaceae* Pringsh, отдел *Oomycota* G. Winter. На землянике паразитируют два вида этого рода. Первый – *Ph. cactorum* вызывает гниль рожка земляники, заболевание также называют фитофторозной кожистой гнилью. Другим представителем рода *Phytophthora*, наносящим большой вред плантациям земляники, является возбудитель фитофторозной корневой гнили *Ph. fragariae* var. *fragariae* (Govorova, Govorov, 2019).

Гниль рожка земляники – патоген *Phytophthora cactorum*

Впервые *Ph. cactorum* был описан как патоген кактусов в 1870 году. Вид имеет широкий спектр хозяев – более 250 видов растений, в том числе и садовая земляника. Методом AFLP-анализа идентифицировано значительное число изолятов *Ph. cactorum* (Eikemo et al., 2004), при этом изоляты, поражающие землянику, отличаются по своему генетическому составу от паразитирующих на других культурах (Eikemo et al., 2004; Bhat et al., 2006).

На землянике *Ph. cactorum* впервые был отмечен в Германии в 1952 году (Deutschmann, 1954). К настоящему времени болезнь широко распространена не только за рубежом, но и в нашей стране – она отмечена в большинстве регионов, где выращивают землянику – в 17 из 23 (Golovin, 2010).

Патоген вызывает корневую гниль земляники, гниение и дисфункцию сосудистой системы, а также гниль плодов. Он наносит большой ущерб как плантациям, так и маточникам (Govorova, Govorov, 2019); в Краснодарском крае, по данным Говоровой Г.Ф., от этого заболевания гибнет 5-30 % растений, а поражение плодов в зависимости от восприимчивости сорта и погодных условий колеблется от 3,8 до 91,7 % (Govorova, 1992).

Устойчивые к гнили рожка земляники формы обнаруживаются среди сортов садовой земляники, в популяциях диких диплоидных видов и полиплоидных видов *F. chiloensis* и *F. virginiana* – предполагаемых предков *F. × ananassa* (Harrison et al., 1998; Eikemo et al., 2010). В работах многих авторов было показано, что устойчивость у *F. × ananassa* контролируется полигенно, при этом характер устойчивости не зависит от расового состава патогена и не укладывается в модель наличия одного основного гена и нескольких генов-модификаторов (Denoyes-Rothan et al., 2004; Shaw et al., 2006, 2008; Nellist et al., 2019).

Denoyes-Rothan с соавторами (2004) с использова-

нием картирующей популяции от скрещивания «Cari-tola» × «CF116» (185 растений) выявили в совокупности 5 QTL устойчивости к *Ph. cactorum*. Два QTL были локализованы на группах сцепления материнской карты и три – на группах сцепления отцовской карты (Denoyes-Rothan et al., 2004; Lerceteau-Köhler et al., 2004). Аддитивное влияние нескольких генов было показано и при изучении сегрегации устойчивости в популяциях потомков 50 комбинаций скрещиваний селекционных сортов (Shaw et al., 2008).

Mangandi с соавторами (2017) провели исследование устойчивости *F. × ananassa* к гнили рожка земляники с использованием комплексных популяций (более 1100 семян из 139 семей), полученных при скрещивании 61 сорта. Все родительские формы и семена генотипировали на базе платформы Affymetrix® с использованием ДНК чипов IStraw90 Axiom®. Основным локус устойчивости к *Ph. cactorum* – *FaRPe2* – был картирован в группе сцепления LG7D. В этой области выявили 19 связанных с устойчивостью SNPs, сочетания аллелей которых формировали 14 уникальных гаплотипов. Четыре из них (¹H-H4) были широко распространены в протестированных популяциях. Гаплотипы ¹H и H4 определяли восприимчивость к патогену, а гаплотипы H2 и H3 – устойчивость, при этом H2 и H3 доминировали над ¹H и H4. Гаплотипы H2 и H3 были маркированы специфическими SNP-вариантами. Совместная сегрегация этих аллельных вариантов с устойчивостью была показана у гибридов комбинации «Holiday» × «Korona», в которой сорт «Holiday» имел гаплотип H3, а сорт «Korona» – H2. Таким образом, данные SNP-маркеры могут быть использованы для проведения молекулярного скрининга коллекций земляники (Mangandi et al., 2017).

Еще три QTL, связанные с устойчивостью к *Ph. cactorum* – *FaRPe6C*, *FaRPe6D* и *FaRPe7D* – были обнаружены у потомков (181 генотип) двуродительского скрещивания «Emily» × «Fenella», в котором сорт «Fenella» проявлял устойчивость к гнили рожка земляники. В работе была использована платформа Affymetrix® с применением микрочипов IStraw90 Axiom® Array28 и Axiom® IStraw35 384HT. Молекулярно-генетическая карта IStraw90 состояла из 11 598 SNP-маркеров, распределенных по 28 группам сцепления, соответствующим каждой из семи хромосом в четырех субгеномах *F. × ananassa*. Карта Straw35 насчитывала 8 348 SNP-маркеров, также распределенных по 28 хромосомам. QTL *FaRPe6C*, *FaRPe6D* и *FaRPe7D* – были расположены в группах сцепления 6C, 6D и 7D в непосредственной близости от SNP-маркеров Affx88882258, Affx88880166 и Affx88902178 соответственно. Еще несколько SNPs было выявлено при помощи GWAS-анализа 114 генотипов земляники с известной устойчивостью к *Ph. cactorum* – два маркера (Affx88897773 и Affx88897860B) в группе LG7A и по одному маркеру в группах LG5D (Affx88859864) и LG7D (Affx88900641). Эти маркеры не были связаны с QTL, выделившимися при анализе потомков двуродительских скрещиваний (Nellist et al., 2019). Насколько нам известно, ни один из этих SNP-вариантов в настоящее время

не был конвертирован в маркеры для использования в молекулярной селекции.

Фитофторозная корневая гниль – патоген *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*.

Заболевание было впервые описано в Шотландии в районе Ланкашира в 1920 году, поэтому первоначально оно называлось Ланкаширская болезнь. В настоящее время этот вид фитофторозного увядания встречается практически по всему миру (Whitaker, 2011). В России патоген был впервые обнаружен и идентифицирован Г.Ф. Говоровой в 1962 году на Северном Кавказе (Govorova, 1964).

Для зараженных растений характерно разрушение корневой системы. Отгнивание кончиков корней сообщает им характерный вид «крысиных хвостов». Наземная часть растения образует мало побегов, молодые листья становятся сине-зеленого цвета, а старые приобретают красно-желтую или коричневую окраску. Слабо пораженные растения способны к плодоношению, однако происходит резкое снижение урожайности (Govorova, Govorov, 2019). Визуальная диагностика патогена затруднена сходством симптомов поражения с воздействием стрессовых факторов абиотической природы (De los Santos et al., 2004; Alexandrov et al., 2007).

В работе van de Weg (1989) на основе анализа заражения сортов земляники различными изолятами *Ph. fragariae* var. *fragariae* было показано, что устойчивость к корневой гнили соответствует концепции «ген на ген». Позднее у земляники идентифицировали 5 генов, контролирующих устойчивость к генам *Avr1–Avr5*, которые присутствовали у 11 изолятов патогена различного происхождения (van de Weg 1997a). В европейских селекционных программах устойчивость к корневой гнили определяется в основном присутствием генов *Rpf1*, *Rpf2* и *Rpf3*, сорта селекции США также несут ген *Rpf1* в комбинации с *Rpf2 u/или Rpf3* (van de Weg, 1997a, b).

Ген *Rpf1* контролирует устойчивость не менее чем к 16 расам *Ph. fragariae* var. *fragariae*, включая североамериканские изоляты A1, A2, A3, A4, A6, A9, A10, NS1 и NS2 (Nickerson, Murray 1993; Van de Weg 1997a). В работе Haymes с соавторами (1997) функциональный аллель гена *Rpf1* был ассоциирован с рядом RAPD-маркеров (OPO-16C₄₃₈, OPO-8A₁₄₅₀, OPC-8D₅₁₀), позднее полиморфные RAPD-фрагменты были конвертированы в SCAR-маркеры SCAR-RIA и SCAR-RIB (Haymes et al., 2000). Маркер SCAR-RIA при скрининге сортов и селекционных клонов земляники продемонстрировал хорошую связь с устойчивостью (Haymes et al., 2000; Njuguna, 2010; Sturzeanu et al., 2016, 2017), которая, однако, не была абсолютной. Например, Haymes с соавторами (2000) выявили диагностический фрагмент 285 пн только у 23 из 34 устойчивых к корневой гнили генотипов, при этом маркер присутствовал у поражаемого сорта «Cambridge Vigour». Аналогично, среди 14 сортов, проскринированных в работе W. Njuguna (2010) (всего 112 образцов) и имевших диагностический фрагмент, присут-

ствовал восприимчивый сорт «Aberdeen». С другой стороны, маркер SCAR-RIA не был выявлен у устойчивых к корневой гнили сортов «Allstar», «Darrow» и «MD 683».

Отечественные исследователи также использовали маркер SCAR-RIA для определения доминантой аллели гена *Rpf1*. Лукьянчук с соавторами (Lukyanchuk et al., 2018) провели анализ 22 образцов земляники различного эколого-географического происхождения из коллекции ФНЦ им. И.В. Мичурина, в том числе 18 сортов российской и зарубежной селекции. Диагностический фрагмент маркера SCAR-RIA (285 пн), не был детектирован ни в одном из изученных сортов, что предположительно свидетельствует о рецессивном гомозиготном состоянии гена *Rpf1* у изучаемых генотипов (Lukyanchuk et al., 2018).

Другие гены устойчивости к *Ph. fragariae* var. *fragariae* изучены слабо. Ген *Rpf2* присутствует в таких сортах как «Climax», «Redgauntlet», «Siletz» и «Sparkle» (Van de Weg, 1997b), насколько нам известно, он не картирован. Гены *Rpf3* и *Rpf6* у устойчивого сорта «Yalova-4» были картированы при помощи AFLP-анализа и ассоциированы с маркерами E36M59H и E39M51B соответственно (Haymes et al., 1998; Hokanson, Maas, 2010). Однако конвертация полиморфных AFLP-фрагментов в маркеры для практического молекулярного скрининга не проводилась.

Мучнистая роса – патоген *Podosphaera aphanis* [*S. phaeotheca macularis*]

Мучнистая роса земляники, вызываемая облигатным патогеном *P. aphanis* из рода аскомицетных грибов *Podosphaera* Kunze (семейство *Erysiphaceae*), является одним из наиболее вредоносных заболеваний этой культуры. В США потери урожая у восприимчивых сортов превышают 60% (Horn et al., 1972), в России потери урожая достигают до 100%, могут гибнуть и сами растения (Govorova, Govorov, 2004).

Устойчивость земляники к мучнистой росе считается комплексным признаком, находящимся под контролем нескольких генов (Darrow, 1966; Зубов, Петрова, 1973; Зубов, 1992; Simpson, 1987). В разных работах наследуемость этого признака – *H2* – оценивают в пределах 0.44–0.71 (Nelson et al., 1995), 0.44–0.50 (Davik, Honne, 2005), 0.46–0.56 (Lifshitz et al., 2007). При этом на степень проявления признака влияют как аддитивные, так и неаддитивные компоненты (Simpson 1987; Davik and Honne 2005). Существуют данные о влиянии на устойчивость цитоплазматических генов (Harland, King, 1957), хотя в других работах эта точка зрения не находит подтверждения (Davik, Honne, 2005; Govorova, Govorov, 2019). Кроме того, выраженность признака может зависеть от плейотропного проявления других генов, например, сильная положительная корреляция ($r = 0,86 \pm 0,01$) была выявлена между устойчивостью к *P. aphanis* и толщиной кутикулы листьев (Зубов, 1992).

В связи со сложностью признака, до недавнего времени генетика устойчивости *F. × ananassa* к мучнистой росе оставалась слабо изученной. Новые возможности в этой области появились с развитием методов NGS и ДНК-чипирования. В работе Н. Cockerton с соавторами (2018) QTL устойчивости к мучнистой росе были картированы при помощи платформы Affymetrix® с использованием чипов Axiom® iStraw90 (около 90000 SNP-маркеров). При генотипировании двух расщепляющихся популяций – потомков скрещиваний «Emily» × «Fenella» и «Redgauntlet» × «Napil» в совокупности было выявлено 12 количественных локусов устойчивости, однако в каждой из изученных комбинаций выявленные QTL были различными. Наиболее значимым для комбинации «Emily» × «Fenella» оказался локус *FarPa1C* (хромосома 1C), ассоциированный с маркером Affx.88811437, в то время как в комбинации «Redgauntlet» × «Napil» – локус *FarPa6D2* (хромосома 6D) и ближайший к нему маркер – Affx.88904022. Большинство QTL при объединении в одном генотипе демонстрировали кумулятивный эффект (Cockerton et al., 2018).

В последнем исследовании Sargent с соавторами (2019) популяция из 145 гибридных семян на основе скрещивания «Sonata» × «Babette» была генотипирована при помощи маркеров ddRAD (double digest Restriction-site Associated DNA) и SNP из массива Axiom® iStraw90k (i90k). Авторам удалось выявить три значимых QTL устойчивости к мучнистой росе – *FxaPMR7A*, *FxaPMR7X2* и *FxaPMR5b*, два из них были идентифицированы в полевых экспериментах и один – в опытах с тепличными растениями. В названиях QTL отражены группы сцепления, в которых они картированы, при этом названия субгеномов (A, b, X1 и X2) даны в соответствии с картой, ранее разработанной этой группой авторов (Sargent et al., 2016). Локусы *FxaPMR7A*, *FxaPMR7X2* и *FxaPMR5b* ассоциированы с маркерами: 8082 (LOD = 9.74, процент объясненной дисперсии 34.2%), AX-89800832 (LOD = 5.17, процент объясненной дисперсии 19%) и AX-89836603 (LOD = 4.97, процент объясненной дисперсии 18.3%) соответственно, где LOD – Levels Of Detail или уровни детализации. Путем привязки перечисленных маркеров к полногеномному секвенсу *F. vesca* v4.0 удалось определить положение QTL на физической карте и определить кандидаты в гены устойчивости. Так, в соответствующем локусу *FxaPMR7A* районе хромосомы 7A был идентифицирован кластер генов, относящихся к классу TIR-NBS-LRR (Sargent et al., 2019). Однако маркеры для практического скрининга пока не разработаны.

Вероятно, слабое развитие генетики устойчивости земляники к мучнистой росе способствовало началу работ в другом направлении – блокировании *S*-генов «восприимчивости» (susceptibility). Белковые продукты этих генов необходимы для проникновения гифов гриба в растение, соответственно, их отсутствие затрудняет это проникновение и тем самым способствует устой-

чивости к патогену. Устойчивость за счет инактивации *S*-генов носит рецессивный характер, при этом обеспечивается защита растения одновременно от нескольких рас патогена, или даже от разных патогенов. Из числа *S*-генов у различных культур наиболее изучен ген *MLO* (mildew resistance locus). Впервые он был идентифицирован у ячменя (Büschges et al., 1997). Впоследствии его обнаружили у целого ряда культурных растений – ячмень, томат, горох, кабачок и т.д. Гены *MLO* кодируют специфичные белки растений, молекулы которых имеют семь трансмембранных спиралей и С-терминальный кальмодулин-связывающий домен. Идентификация *MLO*-подобных последовательностей была проведена и для земляники (Jambagi and Dunwell, 2017). Для этого использовали известную последовательность гена *MLO* дикой сливы *Prunus americana* Marsh., поиск ее гомологов выявил в геноме *F. vesca* не менее 16 *MLO*-генов (*FvMLO*). RNA-seq-анализ (секвенирование РНК) двух сортов земляники показал, что 12 из этих генов экспрессируются при заражении растений земляники мучнистой росой. Авторы делают вывод о возможности создавать устойчивые к мучнистой росе формы, подавляя *MLO*-гены земляники методами генной инженерии и/или геномного редактирования (Jambagi, Dunwell, 2017). Действительно, при трансформации растений *F. × ananassa* конструкциями, содержащими в двух разных ориентациях ген *PpMlo1* персика, экспрессия антисмысловой последовательности данного гена в трансгенных линиях земляники придавала им устойчивость к мучнистой росе (Jiwan et al. 2013).

Фузариозное увядание – патоген *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*.

Фузариозное увядание или фузариоз – заболевание культурных и диких растений, вызываемое анаморфными аскомицетовыми грибами из рода *Fusarium* Link (семейство Nectriaceae). Возбудитель фузариоза земляники *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* был впервые описан в Австралии в 1965 году. Заражение растений может приводить к значительным потерям урожая (до 50%) и гибели розеток (Govorova, Govorov, 2019). Меры борьбы до недавнего времени включали обработку почвы фунгицидами, при этом наиболее часто использовали метилбромид в сочетании с хлорпикрином (Lloyd, Gordon, 2016). Эти химикаты, однако, были запрещены как разрушающие озоновый слой атмосферы, а равноценная замена им пока отсутствует. Поэтому усилия селекционеров разных стран направлены на создание устойчивых к фузариозу сортов (Takahashi et al., 2003; Paynter et al., 2014).

Однако устойчивость земляники к фузариозу остается мало изученной, генетические факторы контроля пока не определены, а данные разных исследователей о наследовании признака противоречат друг другу.

М. Paynter с соавторами (2014) при изучении 14 расщепляющихся популяций потомков от самоопыления и попарного скрещивания четырех сортов *F. ananassa*, (два из которых – «Festival» и «Sugarbaby» – были устойчивы к возбудителю фузариоза) сделали вывод в пользу количественного характера устойчивости с высокой аддитивной составляющей. Японские ученые (Mori et al., 2005) в популяциях, полученных от скрещивания «Asuka Wave» × «Sanchiigo» наблюдали сегрегацию одного гена, сопровождающуюся значительной фенотипической дисперсией внутри групп устойчивых и поражаемых генотипов.

Значительный вклад в решение этого вопроса вносит недавнее исследование Pincot с соавторами (2018). Методом GWAS-анализа были изучены 565 образцов коллекции земляники, а также расщепляющиеся популяции потомков от самоопыления сортов «Fronteras» и «Portola». Для генотипирования был использован микрочип Affymetrix® IStraw35 Axiom, всего было проанализировано 14408 SNP-маркеров. Авторы идентифицировали один доминантный ген *Fw1* и картировали его в группе сцепления 2C; результаты картирования для двух расщепляющихся популяций совпадали. Скрининг коллекции образцов земляники показал, что именно ген *Fw1* обеспечивает устойчивость к *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* у подавляющего большинства современных сортов (Pincot et al., 2018).

Ген *Fw1* был ассоциирован с 11 SNP-маркерами, один из которых – AX-166521396 – находился в неравновесном сцеплении с устойчивостью. В последовательности маркера AX-166521396 для доминантной аллели *Fw1* (устойчивость) был характерен SNP-вариант А (аденин), а для рецессивной аллели (восприимчивость) – SNP-вариант G (гуанин). С помощью маркера AX-166521396 оказалось возможным предсказать фенотипы устойчивости к фузариозному увяданию у 97% протестированных образцов: большинство генотипов А/А и А/Г были устойчивыми, тогда как большинство генотипов G/G восприимчивыми. Только семь генотипов G/G были устойчивы и, вероятно, содержали другие, еще не идентифицированные гены устойчивости к *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*. Таким образом, AX-166521396 оказался перспективным для использования в MAS (Pincot et al., 2018).

Заключение

Развитие методов молекулярной биологии на современном этапе делает возможным значительное ускорение селекционного процесса за счет использования маркеров функциональных аллелей генов хозяйственно-ценных признаков и, в частности, генов устойчивости к патогенам. Для садовой земляники, имеющей сложный октоплоидный геном, только технология молекулярных маркеров

позволяет создавать генетические карты и локализовать на них гены устойчивости. Особенно большие успехи были достигнуты в последние годы благодаря методам секвенирования нового поколения – картированы гены устойчивости к *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides*, *Ph. cactorum* и другим заболеваниям, на физической карте генома земляники определены гены-кандидаты, потенциально контролирующие устойчивость, выявлены ассоциированные с устойчивостью маркеры. Однако инструментарий для практического проведения молекулярного скрининга у земляники все еще ограничен. На практике используют небольшое число маркеров – SCAR маркеры гена *Rca2* (устойчивость к антракнозу) и гена *Rpfl* – (устойчивость к *Ph. fragariae* var. *fragariae*). Для генов *FaRCa1* (устойчивость к *C. gloeosporioides*) и *Fw1* (устойчивость к *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*) разработаны соответственно HRM- и SNP-маркеры, но данных по их использованию в MAS пока не приводится. Расширение числа маркеров для молекулярного скрининга земляники, разработка маркеров недавно картированных методами NGS-анализа генов *FxaPMR* (устойчивость к мучнистой росе), *FaRPe* (устойчивость к гнили рожка) и других – задачи работы будущих исследователей.

*Работа выполнена в рамках
тематического плана 0481-2019-0002.*

References / Литература

- Akimov M.Yu., Zhdanova E.V., Makarov V.N., Perova I.B., Shevyakova L.V., Vrzhesinskaya O.A. et al. Nutrient value of fruit in promising strawberry varieties. *Problems of Nutrition*. 2019;88(2): 64-72. [in Russian] (Акимов М.Ю., Жбанова Е.В., Макаров В.Н., Перова И.Б., Шевякова Л.В., Вржесинская О.А. и др. Пищевая ценность плодов перспективных сортов земляники. *Вопросы питания*. 2019;88(2):64-72). DOI: 10.24411/0042-8833-2019-10019
- Akiyama Y., Yamamoto Y., Ohmido N., Oshima M., Fukui K. Estimation of the nuclear DNA content of strawberries (*Fragaria* spp.) compared with *Arabidopsis thaliana* by using dual system flow cytometry. *Cytologia*. 2001;66(2):431-436. DOI: 10.1508/cytologia.66.431
- Aleksandrov I.N., Skripka O.V., Dudchenko I.P., Surina T.A., Nikiforov S.V. Red stele root rot in strawberry. *Zashchita i karantin rasteniy = Plant Protection and Quarantine*. 2007;5:3234. [in Russian] (Александров И.Н., Скрипка О.В., Дудченко И.П., Сурина Т.А., Никифоров С.В. Фитофтороз земляники. *Защита и карантин растений*. 2007;5:3234).
- Anciro A., Mangandi J., Verma S., Peres N., Whitaker V.M., Lee S. *FaRCgl*: a quantitative trait locus conferring resistance to *Colletotrichum* crown rot caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in octoploid strawberry. *Theor Appl Genet*. 2018;131(10):2167-2177. DOI: 10.1007/s00122-018-3145-z
- Ashley M.V., Wilk J.A., Styan S.M.N., Craft K.J., Jones K.L., Feldheim K.A. et al. High variability and disomic segregation of microsatellites in the octoploid *Fragaria virginiana* Mill. (Rosaceae). *Theor Appl Genet*. 2003;107(7):1201-1207. DOI: 10.1007/s00122-003-1370-5
- Bassil N.V., Davis T.M., Zhang H., Ficklin S., Mittmann M., Webster T. et al. Development and preliminary evaluation of a 90 K Axiom® SNP array for the allo-octoploid cultivated strawberry *Fragaria* × *ananassa*. *BMC Genomics*. 2015;16:155. DOI: 10.1186/s12864-015-1310-1
- Bhat R.G., Colowit P.M., Tai T.H., Aradhya M.K., Browne G.T. Genetic and pathogenic variability in *Phytophthora cactorum* affecting fruit and nut crops in California. *Plant Disease*. 2006;90(2):161-

169. DOI: 10.1094/PD-90-0161
- Bringham R.S. Cytogenetics and evolution in American *Fragaria*. *HortScience*. 1990;25(8):879-881. DOI: 10.21273/HORTSCI.25.8.879
- Büschges R., Hollricher K., Panstruga R., Simons G., Wolter M., Frijters A. et al. The barley *Mlo* gene: a novel control element of plant pathogen resistance. *Cell*. 1997;88(5):695-705. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81912-1
- Cockerton H.M., Vickerstaff R.J., Karlström A., Wilson F., Sobczyk M., He J.Q. et al. Identification of powdery mildew resistance QTL in strawberry (*Fragaria* × *ananassa*). *Theor Appl Genet*. 2018;131(9):1995-2007. DOI: 10.1007/s00122-018-3128-0
- Darrow G.M. The Strawberry. History, Breeding and Physiology. New York: Holt, Rinehart & Winston; 1966.
- Davik J., Honne B.I. Genetic variance and breeding values for resistance to a wind-borne disease [*Sphaerotheca macularis* (Wallr. ex Fr.)] in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) estimated by exploring mixed and spatial models and pedigree information. *Theor Appl Genet*. 2005;111(2):256-264. DOI: 10.1007/s00122-005-2019-3
- De los Santos B., Barrau C., Romero F. Strawberry fungal diseases. In: R. Dris, R. Niskanen, S.M. Jain (eds). *Crop management and post-harvest handling of horticultural products. Vol. 4. Diseases and disorders of Fruits and vegetables*. Enfield: Science Publishers; 2004. p.233268.
- Denoyes B., Baudry A. Species identification and pathogenicity study of French *Colletotrichum* strains isolated from strawberry using morphological and cultural characteristics. *Phytopathology*. 1995;85(1):53-57. DOI: 10.1094/Phyto-85-53
- Denoyes-Rothan B., Lerceteau-Köhler E., Guérin G., Bosseur S., Bariac J., Martin E. et al. QTL analysis for resistance to *Colletotrichum acutatum* and *Phytophthora cactorum* in octoploid strawberry (*Fragaria* × *ananassa*). *Acta Hort*. 2004;663:147-152. DOI: 10.17660/ActaHortic.2004.663.19
- Deutschmann F. Eine Wurzelfäule an Erdbeeren, hervorgerufen durch *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schroet. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*. 1954;6:7-9. [in German]
- Edger P.P., Poorten T.J., VanBuren R., Hardigan M.A., Colle M., McKain M.R. et al. Origin and evolution of the octoploid strawberry genome. *Nat Genet*. 2019;51:541-547. DOI: 10.1038/s41588-019-0356-4
- Eikemo H., Brurberg M.B., Davik J. Resistance to *Phytophthora cactorum* in diploid *Fragaria* species. *HortScience*. 2010;45(2):193-197. DOI: 10.21273/HORTSCI.45.2.193
- Eikemo H., Klemsdal S.S., Riisberg I., Bonants P., Stensvand A., Tronsmo A.M. Genetic variation between *Phytophthora cactorum* isolates differing in their ability to cause crown rot in strawberry. *Mycological Research*. 2004;108(3):317-324. DOI: 10.1017/S0953756204009244
- Federova N.Y. Crossability and phylogenetic relationships in the main European species of *Fragaria* (Skreshchivayemost i filogeneticheskiye svyazi osnovnykh yevropeyskikh vidov roda *Fragaria*). *Doklady AN SSSR = Proceedings of the USSR Academy of Sciences*. 1946;52(6):545-547. [in Russian] (Федорова Н.Я. Скрещиваемость и филогенетические связи основных европейских видов рода *Fragaria*. Доклады АН СССР. 1946;52(6):545-547).
- Folta K.M., Davis T.M. Strawberry genes and genomics. *Crit Rev Plant Sci*. 2006;25(5):399-415. DOI: 10.1080/07352680600824831
- Gelvonauskienė D., Rugienius R., Šikšnianas T., Stanienė G., Sasnauskas A., Stanys V. Screening of apple and strawberry plants carrying fungal disease resistance oligogenes using molecular markers. *Žemdirbystė = Agriculture*. 2007;94(4):139-145.
- Golovin S.E. Root and rhizome rots of fruit and berry crops, diagnosis and control measures (Kornevye i prikornevye gnili plodovykh i yagodynykh kultur, diagnostika i mery borby) [dissertation]. Moscow; 2010. [in Russian] (Головин С.Е. Корневые и прикорневые гнили плодовых и ягодных культур, диагностика и меры борьбы: дис. ... д-ра биол. наук. Москва; 2010). URL: <https://www.dissercat.com/content/kornevye-i-prikornevye-gnili-plodovykh-i-yagodynykh-kultur-diagnostika-i-mery-borby> [дата обращения: 01.11.19].
- Govorova G.F. Strawberries breeding for disease resistance in the North Caucasus (Seleksiya zemlyaniki na ustoychivost k boleznyam v usloviyah Severnogo Kavkaza) [dissertation]. St. Petersburg; 1992. [in Russian] (Говорова Г.Ф. Селекция земляники на устойчивость к болезням в условиях Северного Кавказа: дис. ... д-ра с.-х. наук. Санкт-Петербург; 1992). URL: <http://www.dslib.net/semeno-vodstvo/selekcija-zemljaniki-na-ustoychivost-k-boleznyam-v-usloviyah-severnogo-kavkaza.html> [дата обращения: 25.10.19].
- Govorova G.F. Strawberry disease caused by *Phytophthora fragariae* Hickm. (Zabolevaniye zemlyaniki, vyzyvayemoe gribom *Phytophthora fragariae* Hickm.). *Byulleten GBS AN SSSR = Bulletin of the Main Botanical Garden of the USSR Academy of Sciences*. 1964;54:105-110. [in Russian] (Говорова Г.Ф. Заболевание земляники, вызываемое грибом *Phytophthora fragariae* Hickm. Бюллетень ГБС АН СССР. 1964;54:105-110).
- Govorova G.F., Govorov D.N. Fungal diseases of *Fragaria* spp. (Gribnye bolezni zemlyaniki i klubniki). Moscow: Prospekt; 2019. [in Russian] (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н. Грибные болезни земляники и клубники. Москва: Проспект; 2019).
- Govorova G.F., Govorov D.N. Strawberries: past, present, future (Zemlyanika: proshlone, nastoyashchene, budushchene). Moscow: Rosinformagorotekh; 2004. [in Russian] (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н. Земляника: прошлое, настоящее, будущее. Москва: Росинформагортех; 2004).
- Guérin G., Lerceteau-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 Hort*. 2003;626:85-91. DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.626.10
- Harland S.C., King E. Inheritance of mildew resistance in *Fragaria* with special reference to cytoplasmic effects. *Heredity*. 1957;11:287.
- Harrison R.E., Luby J.J., Furnier G.R., Hancock J.F., Cooley D. Variation for susceptibility to crown rot and powdery mildew in wild strawberry from North America. *Acta Hort*. 1998;484:43-48. DOI: 10.17660/ActaHortic.1998.484.3
- Haymes K.M., Henken B., Davis T.M., van de Weg W.E. Identification of RAPD markers linked to a *Phytophthora fragariae* resistance gene (*Rpf1*) in the cultivated strawberry. *Theor Appl Genet*. 1997;94(8):1097-1101. DOI: 10.1007/s001220050521
- Haymes K.M., Hokanson S.C., Salazar K., Maas J.H. Molecular markers linked to *Phytophthora fragariae* resistance genes in strawberry. *HortScience*. 1998;33:500.
- Haymes K.M., van de Weg W.E., Arens P., Maas J., Vosman B., Den Nijs A.P.M. Development of SCAR markers linked to a *Phytophthora fragariae* resistance gene and their assessment in European and North American strawberry genotypes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 2000;125(3):330-339. DOI: 10.21273/JASHS.125.3.330
- Hirakawa H., Shirasawa K., Kosugi S., Tashiro K., Nakayama S., Yamada M. et al. Dissection of the octoploid strawberry genome by deep sequencing of the genomes of *Fragaria* species. *DNA Research*. 2014;21(2):169-181. DOI: 10.1093/dnares/dst049
- Hokanson S.C., Maas J.L. Strawberry biotechnology. In: Janick J. (ed.). *Plant breeding reviews*. Oxford, UK; 2010. p.139-180.
- 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 (Otsenka ustoychivosti sortov zemlyaniki sadovoy k antraknoznoy chernoyn gnili v yuzhnom regione). *Plodovodstvo i vinogradarstvo yuga Rossii = Fruit Growing and Viticulture of South Russia*. 2018;51(3):140-148 [in Russian] (Холод Н.А., Кашиц 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: 10.30679/2219-5335-2018-3-51-137-145).
- Horn N.L., Carver R.B., Burnside K.R. Powdery mildew of strawberry. *Plant Disease Reporter*. 1972;56:368.
- Jambagi S., Dunwell J.M. Identification and expression analysis of *Fragaria vesca* MLO genes involved in interaction with powdery mildew (*Podosphaera aphanis*). *Journal of Advances in Plant Biology*. 2017;1(1):40-54. DOI: 10.14302/issn.2638-4469.japb-17-1838.
- Jiwan D., Roalson E.H., Main D., Dhingra A. Antisense expression of peach mildew resistance locus O (*PpMlo1*) gene confers cross-species resistance to powdery mildew in *Fragaria* × *ananassa*. *Transgenic Research*. 2013;22(6):1119-1131. DOI: 10.1007/s11248-013-9715-6.
- Kotova V.V., Kungurtseva O.V. Anthracnose of agricultural plants (Antraknoz selskhozayajstvennykh rasteniy). St. Petersburg: VIZR; 2014. 132 p. (Котова В.В., Кунгурцева О.В. Антракноз сельскохозяйственных растений. Санкт-Петербург: ВИЗР; 2014. 132 с.).

- Leandro L.F.S., Gleason M.L., Nutter F.W.Jr., Wegulo S.N., Dixon P.M. Germination and sporulation of *Colletotrichum acutatum* on symptomless strawberry leaves. *Phytopathology*. 2001;91(7):659-664. DOI: 10.1094/PHYTO.2001.91.7.659.
- Lerceteau-Köhler E., Guerin G., Denoyes-Rothan B. Identification of SCAR marker linked to *Rca2* anthracnose resistance gene and their assessment in strawberry germplasm. *Theor Appl Genet*. 2005;111:862-870. DOI: 10.1007/s00122-005-0008-1.
- Lerceteau-Köhler E., Moing A., Guérin G., Maucourt M., Renaud C., Rolin D., Roudeillac P., Denoyes-Rothan B. QTL analysis for fruit quality traits and resistance to *Colletotrichum acutatum* and *Phytophthora cactorum* in octoploid strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Acta Hort*. 2004;649:93-98. DOI: 10.17660/ActaHortic.649.16.
- Lerceteau-Köhler E., Roudeillac P., Markocic M., Guerin G., Praud K., Denoyes-Rothan B. The use of molecular markers for durable resistance breeding in the cultivated strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Acta Hort*. 2003;567(2):615-618. DOI: 10.17660/ActaHortic.567.2.132.
- Lifshitz C., David N., Shalit N., Slotzky S., Tanami Z., Elad Y., Dai N. Inheritance of powdery mildew resistance in strawberry lines from the Israeli germplasm collection. *NASS/NASGA Proceedings*. 2007;74-76. Available from: <https://mafiadoc.com/inheritance-of-powdery-mildew-resistance-in-strawberry-lines-from-5b811b92097c47a1538b475a.html> [accessed December 22, 2019].
- Lloyd M., Gordon T.R. Growing for the future: collective action, land stewardship and soilborne pathogens in California strawberry production. *California Agriculture*. 2016;70(3):101-103. DOI: 10.3733/ca.2016a0009.
- 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 (Analiz geneticheskoy kollektsii klubniki (*Fragaria* L.) dlya genov *Rca2* i *Rpfl* s molekulyarnymi markerami). *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(7):795-799 [in Russian] (Лукьянчук 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., Lukyanchuk I.V., Zhananova E.V. Polymorphism of strawberry varieties (*Fragaria × ananassa*) according to the *Rca2* anthracnose resistance gene (Polimorfizm sortov zemlyaniki (*Fragaria × ananassa*) po genu ustoychivosti k antraknozu *Rca2*). *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.
- Mangandi J., Verma S., Osorio L.F., Peres N.A., van de Weg E., Whitaker V.M. Pedigree-based analysis in a multiparental population of octoploid strawberry reveals QTL alleles conferring resistance to *Phytophthora cactorum*. *G3-Genes/Genomes/Genetics*. 2017;7(6):1707-1719. DOI: 10.1534/g3.117.042119.
- 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., Ундритцова И.А., Холод Н.А. Антракноз садовой земляники. *Агро XXI*. 2007;4-6:40-41).
- 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.
- Mori T., Kitamura H., Kuroda K. Varietal Differences in Fusarium Wilt-resistance in Strawberry Cultivars and the Segregation of this Trait in F₁ hybrids. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 2005;74(1):57-59. DOI: 10.2503/jjshs.74.57.
- Nellist C.F., Vickerstaff R.J., Sobczyk M.K., Marina-Montes C., Wilson F.M., Simpson D.W., Whitehouse A.B., Harrison R.J. Quantitative trait loci controlling *Phytophthora cactorum* resistance in the cultivated octoploid strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Horticulture Research*. 2019;6:60. DOI:10.1038/s41438-019-0136-4.
- Nelson M.D., Gubler W.D., Shaw D.D. Inheritance of powdery mildew resistance in greenhouse-grown versus field-grown Californian strawberry progenies. *Phytopathology*. 1995;85:421-424. DOI: 10.1094/Phyto-85-421.
- Newton A.C., Duncan J.M., Augustin N.H., Guy D.C., Cooke D.E.L. Survival, distribution and genetic variability of inoculum of the strawberry red core pathogen, *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*, in soil. *Plant Pathology*. 2010;59(3):472-479. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2010.02273.x.
- Nickerson N.L., Murray R.A. Races of the red stele root rot fungus, *Phytophthora fragariae*, in Nova Scotia. *Adv Strawberry Res*. 1993;12:12-15.
- Njuguna W. Development and use of molecular tools in *Fragaria*. Corvallis, Oregon, USA: Oregon State University; 2010.
- Paynter M.L., de Faveri J., Herrington M.E. Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* and predicted breeding values in strawberry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 2014;139(2):178-184. DOI: 10.21273/JASHS.139.2.178.
- Pincot D.D.A., Poorten T.J., Hardigan M.A., Harshman J.M., Acharya C.B., Cole G.S., Gordon T.R., Stueven M., Edger P.P., Knapp S.J. Genome-wide association mapping uncovers *Fwl*, a dominant gene conferring resistance to fusarium wilt in strawberry. *G3-Genes/Genomes/Genetics*. 2018;8(5):1817-1828. DOI: 10.1534/g3.118.200129.
- 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 selekcii zemlyaniki na ustojchivost k muchnistoj rose v usloviyah Nechernozemnoj zony RSFSR). *Novoe v yagodovodstve Nechernozemya = New in berry growing in the Non-Black Soil Belt*. 1990;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. *Новое в ягодоводстве Нечерноземья*. 1990;13:25).
- Pshikhacheva Z.U. Sources for strawberry breeding for the traits of productivity and quality of berries (Istochniki dlya selekcii zemlyaniki na priznaki produktivnosti i kachestva jagod) [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-selekcii-zemlyaniki-na-priznaki-produktivnosti-i-kachestva-yagod> [дата обращения: 18.10.19].
- Rugienius R., Siksnianas T., Stanys V., Gelvonauskienė D., Bendokas V. Use of RAPD and SCAR markers for identification of strawberry genotypes carrying red stele (*Phytophthora fragariae*) resistance gene *Rpfl*. *Agronomy Research*. 2006;4:335-339.
- Salinas N., Verma S., Peres N., Whitaker V.M. *FaRCa1*: a major subgenome-specific locus conferring resistance to *Colletotrichum acutatum* in strawberry. *Theor Appl Genet*. 2019;132:1109-1120. DOI: 10.1007/s00122-018-3263-7.
- Sargent D.J., Buti M., Šurbanovski N., Brurberg M.B., Alsheikh M., Kent M.P., Davik J. Identification of QTLs for powdery mildew (*Podosphaera aphanis*; syn. *Sphaerotheca macularis* f. sp. *fragariae*) susceptibility in cultivated strawberry (*Fragaria × ananassa*). *PLOS ONE*. 2019;14(9):e0222829. DOI: 10.1371/journal.pone.0222829.
- Sargent D.J., Yang Y., Surbanovski N., Bianco L., Buti M., Velasco R., Giongo L., Davis T.M. HaploSNP affinities and linkage map positions illuminate subgenome composition in the octoploid, cultivated strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Plant Science*. 2016;242:140-150. DOI: 10.1016/j.plantsci.2015.07.004.
- Sasnauskas A., Rugienius R., Gelvonauskienė D., Zaluskaitė I., Stanienė G., Siksnianas T., Stanys V., Bobinas C. (2007) Screening of strawberries with the red stele (*Phytophthora fragariae*) resistance gene *Rpfl* using sequence specific DNA markers. *Acta Hort*. 2007;760:165169. DOI: 10.17660/ActaHortic.2007.760.21.
- Senanayake Y.D.A., Bringham R.S. Origin of *Fragaria* polyploids. I. Cytological analysis. *American Journal of Botany*. 1967;54:221-228.

- Shaw D.V., Hansen J., Browne G.T. Genotypic variation for resistance to *Phytophthora cactorum* in a California strawberry breeding population. *Journal of American Society of Horticultural Science*. 2006;131(5):687–690. DOI: 0.21273/JASHS.131.5.687.
- Shaw D.V., Hansen J., Browne G.T., Shaw S.M. Components of genetic variation for resistance of strawberry to *Phytophthora cactorum* estimated using segregating seedling populations and their parent genotypes. *Plant Pathology*. 2008;57(2):210–215. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2007.01773.x.
- Simpson D.W. The inheritance of mildew resistance in everbearing and day-neutral strawberry seedlings. *Journal of Horticultural Science*. 1987;62:329–334. DOI: 10.1080/14620316.1987.11515788.
- Smith B.J. Epidemiology and pathology of strawberry anthracnose: a North American perspective. *Horticultural Science*. 2008;43(1):6973. zSturzeanu M., Calinescu M., Fralova L., Klakotskaya N., Ancu I., Sumedrea M., Marin F.C. Assessing some strawberry genotypes used in breeding programs for increasing resistance to diseases. *Fruit Growing Research*. 2017;33:29–34. Available from: <http://publications.icdp.ro/publicatii/lucrari%202017/I.4.%20Sirbu.pdf> [accessed December 22, 2019].
- 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 Hort.* 2016;1139:107–111. DOI: 10.17660/ActaHortic.2016.1139.19.
- Takahashi H., Yoshida Y., Kanda H., Furuya H., Matsumoto T. Breeding of Fusarium wilt-resistant strawberry cultivar suitable for field culture in Northern Japan. *Acta Hort.* 2003;626:113–118. DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.626.15.
- van de Weg W.E. Cultivar-race interactions of the strawberry-*Phytophthora fragariae* system with regard to a gene-for-gene model. *Acta Hort.* 1989;265:203–206. DOI: 10.17660/acta-hortic.1989.265.29.
- van de Weg W.E. A gene-for-gene model to explain interactions between cultivars of strawberry and races of *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*. *Theor Appl Genet.* 1997a;94(3-4):445–451. DOI: 10.1007/s001.220.050435.
- van de Weg W.E. Resistance to *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* in strawberry: the *Rpf2* gene. *Theor Appl Genet.* 1997b;94(8):1092–1096. DOI: 10.1007/s001.220.050520.
- van Dijk T., Pagliarini G., Pikunova A., Noordijk Y., Yilmaz-Temel H., Meulenbroek B., Visse R.G.F., van de Weg W.E. Genomic rearrangements and signatures of breeding in the allo-octoploid strawberry as revealed through an allele dose based SSR linkage map. *BMC Plant Biology*. 2014;14:55. DOI: 10.1186/1471-2229-14-55.
- Whitaker V.M. Applications of molecular markers in strawberry. *Journal of Berry Research*. 2011;1:115–127. DOI: 10.3233/BR2011-013.
- Wu K.K., Burnquist W., Sorrells M.E., Tew T.L., Moore P.H., Tanksley S.D. The detection and estimation of linkage in polyploids using single-dose restriction fragments. *Theor Appl Genet.* 1992;83(3):294–300. DOI: 10.1007/BF00224274.
- Zubov A.A. Genetic features and breeding of strawberries (Geneticheskie osobennosti i selekcija zemljaniki) [dissertation]. Michurinsk; 1992 [in Russian] (Зубов А.А. Генетические особенности и селекция земляники: дис. ... д-ра с.-х. наук. Мичуринск; 1992). URL: <http://earthpapers.net/geneticheskie-osobennosti-i-selektsiya-zemlyaniki> [дата обращения: 26.10.19].
- Zubov A.A., Petrova V.M. On the method of strawberries breeding for resistance to powdery mildew (O metodike selektsii zemlyaniki na ustoychivost k muchnistoy rose). *Vestnik selskohozyaystvennoj nauki = Bulletin of Agricultural Sciences*. 1973;1(2):99–153. [in Russian] (Зубов А.А., Петрова В.М. О методике селекции земляники на устойчивость к мучнистой росе. *Вестник с.-х. науки*. 1973;1(2):99–153).