

Анализ генетической коллекции земляники (*Fragaria* L.) по генам *Rca2* и *Rpf1* с использованием молекулярных маркеров

И.В. Лукьянчук , А.С. Лыжин, И.И. Козлова

Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина, Мичуринск, Тамбовская область, Россия

Сорта земляники садовой (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) восприимчивы ко многим грибным заболеваниям. Идентификация форм, несущих гены устойчивости, является важным этапом селекционных программ по созданию устойчивых сортов. Использование молекулярных маркеров позволяет с высокой надежностью определить присутствие в геноме необходимых генов и идентифицировать перспективные формы. К числу распространенных заболеваний земляники, наносящих значительный ущерб насаждениям, относятся антракнозная гниль (*Colletotrichum acutatum* Simmonds) и фитотрозное увядание (*Phytophthora fragariae* var. *fragariae* Hickman). Моногенная устойчивость к *C. acutatum* второй группы патогенности контролируется доминантным геном *Rca2*. Моногенная устойчивость земляники к фитотрозной корневой гнили детерминирована несколькими олигогенами – *Rpf1*, *Rpf2*, *Rpf3*. Целью настоящего исследования было молекулярно-генетическое тестирование генотипов рода *Fragaria* L. для идентификации носителей аллелей *Rca2* устойчивости к антракнозу и *Rpf1* устойчивости к фитотрозной корневой гнили. Объектами исследования являлись дикорастущие виды рода *Fragaria* L. и сорта земляники ананасной (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) различного эколого-географического происхождения. Для оценки аллельного состояния гена *Rca2* устойчивости к антракнозу использовали доминантный SCAR-маркер STS-Rca2_240, локализованный на расстоянии 2.8 см от гена. Для выявления гена *Rpf1* устойчивости к фитотрозной корневой гнили использовали доминантный SCAR-маркер R1A, находящийся на расстоянии 3.0 см от гена. Доминантный аллель маркера STS-Rca2_240 идентифицирован у сорта Laetitia (генотип *Rca2Rca2* или *Rca2rca2*), что позволяет рекомендовать его в качестве перспективного источника устойчивости к антракнозу для селекции. Остальные изученные формы характеризуются рецессивным гомозиготным состоянием маркера STS-Rca2_240 (предполагаемый генотип *rca2rca2*). Доминантный аллель маркера SCAR-R1A у изучаемых сортов и дикорастущих видов земляники не выявлен, что предположительно свидетельствует об их рецессивном гомозиготном генотипе по гену *Rpf1* (*rpf1rpf1*).

Ключевые слова: земляника; молекулярные маркеры; устойчивость; антракноз; фитотроз; гены *Rca2*; *Rpf1*.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Лукьянчук И.В., Лыжин А.С., Козлова И.И. Анализ генетической коллекции земляники (*Fragaria* L.) по генам *Rca2* и *Rpf1* с использованием молекулярных маркеров. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(7):795-799. DOI 10.18699/VJ18.423

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Luk'yanchuk I.V., Lyzhin A.S., Kozlova I.I. Analysis of strawberry genetic collection (*Fragaria* L.) for *Rca2* and *Rpf1* genes with molecular markers. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(7):795-799. DOI 10.18699/VJ18.423

УДК 634.75:632.4

Поступила в редакцию 05.03.2018

Принята к публикации 09.08.2018

© АВТОРЫ, 2018

Analysis of strawberry genetic collection (*Fragaria* L.) for *Rca2* and *Rpf1* genes with molecular markers

I.V. Luk'yanchuk , A.S. Lyzhin, I.I. Kozlova

I.V. Michurin Federal Scientific Centre, Michurinsk, Tambov region, Russia

Strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) varieties are susceptible to many fungal diseases. Identification of forms, carrying resistance genes, is an important stage in breeding programs leading to resistant varieties. The use of molecular markers allows to determine with high reliability the presence of the necessary genes in the genome and to identify promising forms. Some of the common strawberry's diseases, causing significant damage to strawberry plantations, are anthracnose (*Colletotrichum acutatum* Simmonds) and red stele root rot (*Phytophthora fragariae* var. *fragariae* Hickman). Dominant *Rca2* gene is involved in monogenic resistance to *C. acutatum* pathogenicity group 2. *Rpf1*, *Rpf2*, *Rpf3* genes are determined in monogenic resistance to red stele root rot. The purpose of this study was molecular genetic testing genotypes of genus *Fragaria* L. to identify carriers of *Rca2* allele anthracnose resistance and *Rpf1* allele red stele root rot resistance. The objects of study were the wild species of the genus *Fragaria* L. and strawberry varieties (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) of different ecological and geographic origin. To assess allelic state *Rca2* anthracnose resistance gene the dominant SCAR marker STS-Rca2_240 was used, was linked to the resistance gene *Rca2* with a genetic distance of 2.8 cM. *Rpf1* gene red stele root rot resistance was identified with the dominant SCAR marker R1A, was linked to the resistance gene *Rpf1* with a genetic distance of 3.0 cM. The resistant allele of the marker STS-Rca2_240 was identified in the Laetitia variety (*Rca2Rca2* or *Rca2rca2* genotype), which allows us to recommend it as a promising source in breeding for anthracnose resistance. The other studied forms have homozygous recessive state of the marker STS-Rca2_240 (putative genotype *rca2rca2*). The resistant allele of the marker SCAR-R1A in the varieties and wild species of strawberry under study is absent, which presumably indicates their homozygous recessive genotype of *Rpf1* gene (*rpf1rpf1*).

Key words: strawberry; molecular markers; resistance; anthracnose; red stele root rot; *Rca2* and *Rpf1* genes.

Земляника садовая (*Fragaria × ananassa* Duch.) – наиболее популярная и экономически выгодная ягодная культура (Hummer, Hancock, 2009). В промышленных масштабах земляника садовая возделывается в 75 странах мира, и на ее долю приходится свыше 2/3 объема мирового производства ягод (FAOStat, 2018). При этом земляника восприимчива ко многим заболеваниям, массовое развитие которых способно приводить к 100 % гибели урожая (Folta, Davis, 2006).

К числу важнейших заболеваний земляники относятся антракнозная гниль (*Colletotrichum acutatum* Simmonds) и фитотфторозная корневая гниль (фитотфторозное увядание) (*Phytophthora fragariae* var. *fragariae* Hickman), наносящие значительный ущерб насаждениям в Европе и Америке (Smith, 2008; Newton et al., 2010). Большинство коммерческих сортов земляники зарубежной селекции восприимчивы к фитотфторозному увяданию и антракнозу (Van de Weg, 1997a; Denoyes-Rothan et al., 2005). В последние годы возбудители антракноза и фитотфтороза тестируются и на насаждениях земляники в России, причем *P. fragariae* var. *fragariae* включен в Перечень вредителей, болезней растений и сорняков, имеющих карантинное значение для РФ (Александров и др., 2007; Головин, 2014; Дудченко и др., 2015).

Антракноз поражает надземную часть земляники: плоды, цветки, черешки, листья, столоны, вызывая значительное угнетение, а в некоторых случаях приводя к гибели растений. Патоген способен долгое время находиться на растении в латентном состоянии, что значительно осложняет надежную идентификацию и проведение защитных мероприятий (Leandro et al., 2001). Потери товарного урожая земляники от антракноза могут достигать 80 % (Дудченко и др., 2015).

P. fragariae var. *fragariae* поражает корневую систему, вызывая угнетение роста, увядание и впоследствии гибель растений. Визуальная диагностика патогена затруднена сходством симптомов поражения с воздействием стрессовых факторов абиотической природы (de los Santos et al., 2004; Александров и др., 2007). Распространение возбудителя происходит в основном с зараженным посадочным материалом, при этом ооспоры могут сохраняться в почве при отсутствии растения-хозяина, по разным данным, от 3 до 17 лет (Duncan, Cowan, 1980; Szkuta, 2006).

В этой связи создание новых высокоустойчивых к патогенам сортов земляники является важной селекционной задачей. Возделывание сортов с генетической устойчивостью к заболеваниям позволит повысить рентабельность насаждений, а также положительно скажется на экологическом состоянии земляничных агроценозов вследствие снижения пестицидной нагрузки (Korbin, 2011).

К важным факторам совершенствования сортимента земляники садовой относятся углубление генетических исследований, определение закономерностей наследования локусов хозяйственно ценных признаков и идентификация доноров. Одним из перспективных направлений повышения эффективности генетических исследований земляники является применение современных методов молекулярно-генетического анализа генома с использованием ДНК-маркеров. В настоящее время молекулярные маркеры находят широкое применение при анализе генетиче-

ского разнообразия, картировании, сортовой идентификации генотипов земляники. В меньшей степени молекулярные маркеры используются в селекции (Whitaker, 2011).

Цель настоящего исследования заключалась в молекулярно-генетическом тестировании генотипов рода *Fragaria* L. для идентификации носителей генов *Rca2* устойчивости к антракнозу и *Rpfl* устойчивости к фитотфторозной корневой гнили.

Материалы и методы

Биологическими объектами исследования служили дикорастущие виды рода *Fragaria* L. (*F. orientalis* Los., *F. moschata* Duch., *F. ovalis* Rydb., *F. virginiana* Rydb. ssp. *platypetala*) и сорта земляники ананасной (*Fragaria × ananassa* Duch.) различного эколого-географического происхождения из генетической коллекции ФГБНУ «Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина» (ФНЦ им. И.В. Мичурина): Ласточка, Привлекательная, Урожайная ЦГЛ, Фейерверк, Флора, Яркая (селекция ФНЦ им. И.В. Мичурина, Россия); Барон Солемахер (Германия); Elsanta, Korona, Kimberly, Vicoda, Vima Tarda, Vima Xima, Vima Zanta (Нидерланды); Florence (Англия); Kent (Канада); Laetitia (Италия); Red Gauntlet (Шотландия).

Для оценки аллельного состояния гена *Rca2* устойчивости к антракнозу использовали SCAR-маркер STS-Rca2_240. Контроль протекания ПЦР осуществляли с помощью SSR-маркера EMFv020 (Lerceteau-Kohler et al., 2005). Для оценки аллельного состояния гена *Rpfl* устойчивости к фитотфторозной корневой гнили использовали SCAR-маркер R1A (Haumes et al., 2000).

Нуклеотидная последовательность праймеров и размер целевых фрагментов приведены в табл. 1. Используемые в работе праймеры синтезированы ЗАО «Синтол» (Москва).

Экстракция геномной ДНК проведена по методу Diversity Arrays Technology P/L (DArT) (www.DiversityArrays.com). Однако использование базового протокола не позволило получить экстракт ДНК с необходимой для ПЦР-анализа степенью чистоты (несмотря на высокую концентрацию ДНК в растворе, наблюдалось ингибирование тестовой ПЦР). Для снижения содержания в растворе ДНК ингибирующих примесей была использована дополнительная двойная очистка ДНК 5 М NaCl с последующим переосаждением 70 % этанолом, для чего к раствору ДНК добавляли 100 мкл 5 М NaCl и 400 мкл 70 % этилового спирта, центрифугировали на скорости 13000 об/мин в течение 5 мин, удаляли супернатант, осадок дважды промывали 80 % этанолом, подсушивали при комнатной температуре и растворяли в деионизированной воде. В результате получен экстракт ДНК необходимой для постановки ПЦР концентрации и чистоты.

Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл содержала: 20 нг ДНК, 1.5 мМ dNTPs, 2.5 мМ MgCl₂, 0.2 мМ каждого праймера, 0.2 U Taq-полимеразы (0.8 U для мультиплексной ПЦР STS-Rca2_240+EMFv020) и 2.5 мМ Taq-буфера (+ (NH₄)₂SO₄, –KCl). Все компоненты произведены фирмой Thermo Fisher Scientific.

Амплификацию проводили в термоциклере T100 производства фирмы BIO-RAD (США) по следующим программам:

Таблица 1. Характеристика использованных в работе праймеров

Ген	Маркер	Нуклеотидная последовательность праймеров	Размер целевых фрагментов, п. н.
<i>Rca2</i>	STS-Rca2_240	F 5'-GCCACGTCAGTCAAAATCAA-3' R 5'-TCATGGACAGTGGTCTCAGC-3'	240
	EMFv020 (контроль ПЦР)	F 5'-CAGGCGCCAACGGCGTCTTGT-3' R 5'-CAGCGCCGCCAGCTCATCCCTAGG-3'	~170
<i>Rpf1</i>	SCAR-R1A	F 5'-TGCATCATTAATGTAGAAGTCTTT-3' R 5'-TGATCGACATACAAAAATATTAG-3'	285

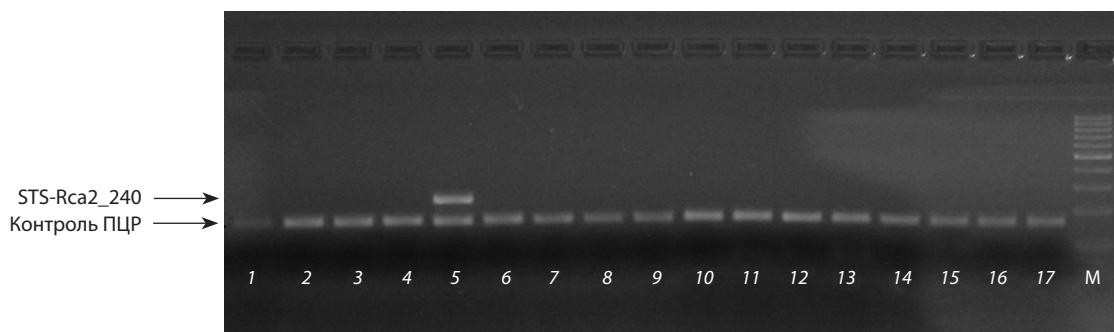


Рис. 1. Электрофоретический профиль маркера STS-Rca2_240 генотипов земляники.

1 – Elsanta, 2 – Kent, 3 – Red Gauntlet, 4 – Florence, 5 – Laetitia, 6 – Vima Tarda, 7 – Урожайная ЦГЛ, 8 – Vicoda, 9 – Фейерверк, 10 – Привлекательная, 11 – Kimberly, 12 – Vima Zanta, 13 – Korona, 14 – Яркая, 15 – Флора, 16 – Ласточка, 17 – Vima Хита, М – маркер молекулярного веса.

STS-Rca2_240+EMFv020: денатурация: 95 °C – 3 мин, 35 циклов: 95 °C – 50 с, 64 °C – 50 с, 72 °C – 1 мин; финальная элонгация: 72 °C – 5 мин;

SCAR-R1A: денатурация: 94 °C – 3 мин, 25 циклов: 94 °C – 30 с, 60 °C – 45 с, 72 °C – 1 мин; финальная элонгация: 72 °C – 7 мин.

Разделение ампликонов осуществляли методом электрофореза в 2 % агарозном геле. Для определения длины амплифицированных фрагментов использовали маркер молекулярной массы Gene Ruler 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

Результаты и обсуждение

Fragaria × ananassa Duch. – сложный для молекулярно-генетического анализа объект. Высокий уровень пloidности (8x), совмещение в генотипе различных базовых геномов, сложные генные взаимодействия и полигенный контроль признаков затрудняют изучение генетики земляники. Устойчивость земляники к возбудителям различных заболеваний в большинстве случаев также контролируется полигенно. Однако в настоящее время к некоторым патогенам (*C. acutatum*, *P. fragariae* var. *fragariae*) выявлены моногенные факторы устойчивости (Van de Weg, 1997a, b; Lerceteau-Kohler et al., 2002), что позволяет вести эффективный скрининг устойчивых генотипов с использованием молекулярных маркеров.

К антракнозной гнили у земляники выявлено два типа устойчивости: полигенная и моногенная. Полигенно наследуется устойчивость к *C. acutatum* первой группы патогенности (Denoyes-Rothan et al., 2004). Моногенно контролируется устойчивость к *C. acutatum* второй группы

патогенности (доминантный ген *Rca2*) (Lerceteau-Kohler et al., 2002).

SCAR-маркер STS-Rca2_240 локализован на расстоянии 2.8 сМ от гена *Rca2*. Доминантный аллель маркера идентифицируется по наличию на электрофореграмме фрагмента размером 240 п. н. Сцепленное наследование аллелей маркера и гена *Rca2* позволяет на основании присутствия (или отсутствия) аллелей маркера предсказать аллельное состояние гена *Rca2* (Lerceteau-Kohler et al., 2005).

В анализируемой коллекции генотипов земляники доминантный аллель маркера, сцепленного с геном *Rca2*, выявлен у сорта Laetitia (предполагаемый генотип *Rca2Rca2* или *Rca2rca2*). Остальные изученные формы характеризуются рецессивным гомозиготным состоянием маркера, сцепленного с геном *Rca2* (предполагаемый генотип *rca2rca2*) (пример идентификации представлен на рис. 1, результаты – в табл. 2).

Отсутствие доминантного аллеля маркера STS-Rca2_240 у считающегося устойчивым к антракнозу сорта Vicoda предположительно может быть обусловлено двумя факторами: произошедшей у сорта (или его родительских форм) рекомбинацией между геном устойчивости и маркером (подобная рекомбинация отмечена в работе (Lerceteau-Kohler et al., 2005) для генотипа US292 и его родительской формы Arking) или наличием других генетических факторов устойчивости.

Рецессивное состояние маркера STS-Rca2_240 у вида *F. virginiana* ssp. *platipetala* и сорта земляники садовой Elsanta подтверждается также литературными данными (Njuguna, 2010; Sturzeanu et al., 2016). При этом необходи-

Таблица 2. Наличие (1) или отсутствие (0) ПЦП-продукта, зарегистрированное при анализе указанных маркеров, сцепленных с локусами устойчивости к антракнозу (*Rca2*) и фитофторозу (*Rpf1*) у различных образцов земляники

Вид/сорт	<i>Rca2</i>	<i>Rpf1</i>	Предполагаемый генотип
	STS-Rca2_240	SCAR-R1A	
<i>F. orientalis</i> Los.	0	0	<i>rca2rca2rpf1rpf1</i>
<i>F. moschata</i> Duch.	0	0	
<i>F. ovalis</i> Rydb.	0	0	
<i>F. virginiana</i> Rydb. ssp. <i>platypetala</i>	0	0	
Барон Солемахер (<i>F. vesca</i> L.)	0	0	
Ласточка (922-67×Привлекательная)	0	0	
Привлекательная (Рубиновый кулон×Allbritton)	0	0	
Урожайная ЦГЛ (Zenga Zengana×Redcoat)	0	0	
Фейерверк (Zenga Zengana×Redcoat)	0	0	
Флора (Zenga Zengana×Redcoat)	0	0	
Яркая (Zenga Zengana×Redcoat)	0	0	
Elsanta (Gorella×Holiday)	0	0	
Florence (Tioga×(Red Gauntlet×(Wiltguard×Gorella)))×(Providence×Providence)	0	0	
Kent ((Red Gauntlet×Tioga)×Raritan)	0	0	
Kimberly (Gorella×Chandler)	0	0	
Korona (Tamella×Induka)	0	0	
Laetitia (сеянец неизвестного происхождения)	1	0	<i>Rca2rca2rpf1rpf1</i>
Red Gauntlet ((NJ New Jersey 1051×Climax)×(Climax×1051))	0	0	<i>rca2rca2rpf1rpf1</i>
Vicoda (сеянец неизвестного происхождения)	0	0	
Vima Tarda (Vima Zanta×Vicoda)	0	0	
Vima Xima (сеянец неизвестного происхождения)	0	0	
Vima Zanta (Elsanta×Korona)	0	0	



Рис. 2. Электрофоретический профиль маркера SCAR-R1A генотипов земляники.

K – Tristar (контроль), 1 – Elsanta, 2 – Kent, 3 – Red Gauntlet, 4 – Florence, 5 – Laetitia, 6 – Vima Tarda, 7 – Урожайная ЦГЛ, 8 – Vicoda, 9 – Фейерверк, 10 – Привлекательная, 11 – Kimberly, 12 – Vima Zanta, 13 – Korona, 14 – Яркая, 15 – Флора, 16 – Ласточка, 17 – Vima Xima, M – маркер молекулярного веса.

мо отметить, что, по данным (Njuguna, 2010), доминантный аллель маркера STS-Rca2_240, сцепленного с геном *Rca2*, присутствует у сорта Red Gauntlet, у которого, согласно нашим исследованиям, ген *Rca2* предположительно представлен рецессивным аллелем. Подобное расхождение результатов может быть обусловлено ошибкой идентификации и требует дополнительного исследования. Вместе с тем, согласно результатам искусственного заражения, сорт Red Gauntlet восприимчив к *S. acutatum* (Simpson et al., 1994), что косвенно подтверждает полученные нами результаты.

Моногенная устойчивость земляники к фитофторозной корневой гнили детерминирована несколькими олигогена-

ми. W.E. Van de Weg (1997b), анализируя модель взаимодействия сортов земляники и различных рас *P. fragariae* var. *fragariae* по типу «ген на ген», выделил пять факторов устойчивости (R1–R5), соответствующих определенному гену авирулентности патогена (Avr1–Avr5). В настоящее время считается, что основная роль в формировании устойчивости принадлежит трем генам – *Rpf1*, *Rpf2*, *Rpf3* (Whitaker, 2011). Ген *Rpf1* обеспечивает устойчивость генотипов земляники к 16 расам *P. fragariae* var. *fragariae* (Sasnauskas et al., 2007).

Маркер SCAR-R1A локализован на расстоянии 3.0 cM от гена *Rpf1*. С доминантным аллелем гена *Rpf1* сцеплен фрагмент размером 285 п. н. У генотипов с рецессивным

гомозиготным состоянием гена (*rpf1rpf1*) данный продукт не амплифицируется (Haumes et al., 2000). Молекулярно-генетический анализ генотипов земляники на присутствие маркера SCAR-R1A показал отсутствие у представителей изучаемой коллекции целевого фрагмента 285 п. н. (пример идентификации представлен на рис. 2), что предположительно свидетельствует о рецессивном гомозиготном состоянии гена *Rpf1* у изучаемых форм – *rpf1rpf1* (см. табл. 2).

Рецессивное состояние маркера SCAR-R1A у сортов Elsanta и Kent подтверждается литературными данными (Haumes et al., 2000; Sturzeanu et al., 2016). Согласно (Njuguna, 2010), в популяциях *F. virginiana* ssp. *platipetala* различных мест произрастания также не был обнаружен доминантный аллель маркера, сцепленного с геном *Rpf1*.

Таким образом, по результатам молекулярно-генетического анализа изучаемые генотипы земляники идентифицированы как восприимчивые к фитофторозной корневой гнили по оценке аллельного состояния гена *Rpf1*. Устойчивостью к антракнозу по оценке аллельного состояния гена *Rca2* характеризуется сорт Laetitia, что позволяет рекомендовать его в качестве перспективного источника устойчивости к *C. acutatum* второй группы патогенности для селекции.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

- Александров И.Н., Скрипка О.В., Дудченко И.П., Сурина Т.А., Никифоров С.В. Фитофтороз земляники. Защита и карантин растений. 2007;5:32-34. [Aleksandrov I.N., Skripka O.V., Dudchenko I.P., Surina T.A., Nikiforov S.V. Red stele in strawberry. Zashchita i Karantin Rasteniy = Plant Protection and Quarantine. 2007;5:32-34. (in Russian)]
- Головин С.Е. Новые болезни земляники в средней полосе России. Плодоводство и ягодоводство России. 2014;1:88-95. [Golovin S.E. New diseases of strawberries in central Russia. Plodovodstvo i Yagodovodstvo Rossii = Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia. 2014;1:88-95. (in Russian)]
- Дудченко И.П., Скрипка О.В., Копина М.Б. Вспышка антракноза земляники в Воронежской области. Современная микология в России: Материалы III Междунар. микологического форума. М., 2015;5(4):28-29. [Dudchenko I.P., Skripka O.V., Kopina M.B. Outbreak of strawberry anthracnose in the Voronezh region. Current Mycology in Russia: Proceedings of the III Int. Mycological Forum. Moscow, 2015;5(4):28-29. (in Russian)]
- De los Santos B., Barrau C., Romero F. Strawberry fungal diseases. In: Crop Management and Postharvest Handling of Horticultural Products. 2004;4:233-268.
- Denoyes-Rothan B., Guerin G., Lerceteau-Kohler E., Risser G. Inheritance of a race-specific resistance to *Colletotrichum acutatum* in *Fragaria ananassa*. Phytopathology. 2005;95:405-412. DOI 10.1094/PHYTO-95-0405.
- Denoyes-Rothan B., Lerceteau-Kohler E., Guerin G., Bosseur S., Bariac J., Martin E., Roudeillac P. QTL analysis for resistance to *Colletotrichum acutatum* and *Phytophthora cactorum* in octoploid strawberry (*Fragaria* × *ananassa*). Acta Hort. 2004;663:147-151. DOI 10.17660/ActaHortic.2004.663.19.

- Duncan J.M., Cowan J.B. Effect of temperature and soil moisture content on persistence and infectivity of *Phytophthora fragariae* in naturally infected soil. Trans. Br. Mycol. Soc. 1980;75(1):133-139.
- FAOStat. 2018. Available at <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>.
- Folta K.M., Davis T.M. Strawberry genes and genomics. Crit. Rev. Plant Sci. 2006;25:399-415. DOI 10.1080/07352680600824831.
- Haymes K.M., Van de Weg W.E., Arens P., Maas J.L., 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. Am. Soc. Hortic. Sci. 2000;125(3):330-339.
- Hummer K., Hancock J.F. Strawberry genomics: botanical history, cultivation, traditional breeding, and new technologies. In: Folta K.M., Gardiner S.E. (Eds.). Genetics and Genomics of Rosaceae (ser. Plant Genetics and Genomics: Crops and Models). Springer, 2009;413-436.
- Korbin M.U. Molecular approaches to disease resistance in *Fragaria* spp. J. Plant Prot. Res. 2011;51(1):60-65. DOI 10.2478/v10045-011-0011-2.
- 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-Kohler E., Guerin G., Denoyes-Rothan B. Identification of SCAR markers 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-Kohler 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. 2002;567(2):615-618. DOI 10.17660/ActaHortic.2002.567.132.
- 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 Pathol. 2010;59(3):472-479. DOI 10.1111/j.1365-3059.2010.02273.x.
- Njuguna W. Development and Use of Molecular Tools in *Fragaria*. Oregon State Univ., 2010.
- Sasnauskas A., Rugienius R., Gelvonauskienė D., Zalunskaitė I., Staniėnė G., Siksnianas T., Stanyš V., Bobinas C. Screening of strawberries with the red stele (*Phytophthora fragariae*) resistance gene *Rpf1* using sequence specific DNA markers. Acta Hort. 2007; 760:165-169. DOI 10.17660/ActaHortic.2007.760.21.
- Simpson D.W., Winterbottom C.Q., Bell J.A., Maltoni M.L. Resistance to a single UK isolate of *Colletotrichum acutatum* in strawberry germplasm from Northern Europe. Euphytica. 1994;77(1-2):161-164.
- Smith B.J. Epidemiology and pathology of strawberry anthracnose: a North American perspective. HortScience. 2008;43(1):69-73.
- 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;1139:107-112. DOI 10.17660/ActaHortic.2016.1139.19.
- Szkuta G. Czerwona zgnilizana korzeni truskawki [Red core of strawberry]. Ochrona Roslin. 2006;51:17-21.
- Van de Weg W.E. Resistance to *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* in strawberry: the *Rpf2* gene. Theor. Appl. Genet. 1997a;94(8):1092-1096. DOI 10.1007/s001220050520.
- 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. 1997b;94(3-4):445-451. DOI 10.1007/s001220050435.
- Whitaker V.M. Applications of molecular markers in strawberry. J. Berry Res. 2011;1:115-127. DOI 10.3233/BR-2011-013.

ORCID ID

I.V. Luk'yanchuk orcid.org/0000-0003-1626-840X

A.S. Lyzhin orcid.org/0000-0001-9770-8731

I.I. Kozlova orcid.org/0000-0003-4150-3037