

УДК 634.75:577.2:632.4

DOI 10.30679/2219-5335-2019-1-55-1-11

**АНАЛИЗ СОРТОВ И ФОРМ
ЗЕМЛЯНИКИ ПО ГЕНУ
УСТОЙЧИВОСТИ К АНТРАКНОЗУ
(RCA2) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ**

Лыжин Александр Сергеевич
канд. с.-х. наук
зав. лабораторией ДНК-технологий
и маркер-опосредованной селекции

Лукьянчук Ирина Васильевна
канд. с.-х. наук
старший научный сотрудник
отдела частной генетики
и селекции

*Селекционно-генетический центр
ВНИИГиСПР ФГБНУ
«ФНЦ имени И.В. Мичурина»,
Мичуринск, Россия*

Антракнозная чёрная гниль, вызываемая фитопатогенными грибами рода *Colletotrichum*, является одним из распространённых заболеваний земляники, наносящих значительный ущерб промышленным насаждениям. Поражение ягод земляники антракнозом может привести к потере более 80% урожая. Большинство сортов земляники, Предназначенных для промышленного возделывания, в разной степени восприимчивы к антракнозной чёрной гнили. В настоящем исследовании представлены результаты ПЦР-анализа сортов и форм земляники садовой (*F. ×ananassa* Duch.) по гену *Rca2* устойчивости к антракнозу. Биологическими объектами исследования являлись сорта земляники различного эколого-географического происхождения и перспективные отборные формы селекции ФГБНУ «ФНЦ им И.В. Мичурина». Для оценки аллельного состояния гена *Rca2* устойчивости земляники к антракнозу использовали SCAR маркер STS-Rca2_240. Контроль протекания ПЦР осуществляли с помощью SSR маркера EMFv020. В статье показаны результаты

UDC 634.75:577.2:632.4

DOI 10.30679/2219-5335-2019-1-55-1-11

**ANALYSIS OF STRAWBERRY
VARIETIES AND FORMS
FOR THE RCA2 ANTHRACNOSE
RESISTANCE GENE
WITH MOLECULAR MARKERS**

Lyzhin Alexandr Sergeyevich
Cand. Agr. Sci.
Head of Laboratory of DNA-mediated
and Marker Biological Technologies

Luk'yanchuk Irina Vasilievna
Cand. Agr. Sci.
Senior Research Associate
of Department of Private Genetics
and Breeding

*Breeding-genetical Center
ARRIG&BFP FSBSO
«I.V. Michurin FSC»,
Michurinsk, Russia*

Anthracnose black rot caused by phytopathogenic fungi of the genus *Colletotrichum* is one of the most widespread diseases of strawberry, causing a significant damage to industrial plantations. The defeat of strawberry with anthracnose can lead to the loss of more than 80% of the crop. Most of the strawberry varieties intended for industrial cultivation are susceptible to anthracnose black rot in various degree. This study presents the results of PCR analysis of varieties and forms of strawberry (*F. ×ananassa* Duch.) taking into account the *Rca2* gene of resistance to anthracnose. Biological objects of research were the cultivars of garden strawberry of various ecological and geographical origin and perspective selective forms of FSBSI «FSC I.V. Michurin» breeding. To assess the allelic state of the *Rca2* gene of strawberry stability to anthracnose SCAR marker STS-Rca2_240 was used. The PCR process was monitored by the SSR marker of EMFv020. The article shows the results of DNA

ДНК анализа сортов и отборных сеянцев земляники по гену *Rca2* устойчивости к антракнозу. По результатам оценки аллельного состояния гена *Rca2* сорт земляники *Laetitia* характеризуется устойчивостью к антракнозу (предполагаемый генотип *Rca2Rca2* или *Rca2rca2*), что позволяет рекомендовать его для селекции в качестве перспективного источника устойчивости к *C. Acutatum* Simmonds 2-й группы патогенности. Остальные проанализированные генотипы имеют рецессивный гомозиготный статус по маркеру STS-*Rca2_240* (предполагаемый генотип *rca2rca2*), что свидетельствует об их восприимчивости к возбудителю антракнозной чёрной гнили 2-й группы патогенности.

Ключевые слова: ЗЕМЛЯНИКА, МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ, УСТОЙЧИВОСТЬ, АНТРАКНОЗ, ГЕН *RCA2*

analysis of varieties and selected seedlings of strawberry using the *Rca2* gene of resistance to anthracnose. Based on the evaluation of the allelic state of the *Rca2* gene, the *Laetitia* strawberry variety is resistant to anthracnose (the supposed genotype *Rca2Rca2* or *Rca2rca2*), which allow us to recommend it for breeding as a promising source of resistance to *C. Acutatum* Simmonds of the 2nd pathogenic group. The other analyzed genotypes have a recessive homozygous status on the marker STS-*Rca2_240* (the supposed genotype *Rca2Rca2*), which indicates their susceptibility to the causative agent of anthracnose black rot of the 2nd pathogenic group.

Key words: STRAWBERRY, MOLECULAR MARKERS, RESISTANCE, ANTHRACNOSE, *RCA2* GENE

Введение. Идентификация носителей генов хозяйственно-ценных признаков с использованием ДНК-маркеров – одно из перспективных направлений интенсификации селекционного процесса. Преимуществом ДНК-анализа является возможность непосредственной оценки наличия в геноме сцепленных с целевыми генами участков ДНК (маркеров), что на молекулярном уровне обеспечивает выявление наследственных основ формирования признаков [1, 2]. Благодаря использованию молекулярных маркеров широко внедряется в селекционную практику новое направление, получившее название маркер-опосредованной селекции (marker-assisted selection) [3]. ДНК-маркеры успешно применяют как на этапе подбора исходных источников для гибридизации, так и при последующем анализе гибридного материала. Наиболее широко ДНК-маркеры используются в селекции на моногенно-контролируемые признаки.

Применение систем молекулярных маркеров значительно расширяет возможности селекционеров, позволяя изучать полиморфизм ДНК, уста-

навливать генетические взаимоотношения, выявлять гены хозяйственно ценных признаков, проводить сортовую идентификацию и создавать генетические паспорта растений [4].

Fragaria×*ananassa* Duch. – сложный объект для молекулярно-генетического анализа. Высокий уровень пloidности (8х), совмещение в генотипе нескольких базовых геномов, сложные генные взаимодействия и полигенный контроль признаков затрудняют изучение генетики земляники. Среди представителей рода *Fragaria* L. наиболее полно изучен генотип земляники лесной (*F. vesca*). Малое количество хромосом ($2x=14$) и небольшой размер генома (≈ 240 Mb) обусловили выбор *F. vesca*ssp.*vesca* в качестве объекта для международного проекта по секвенированию.

В результате проведённой работы в геноме *F. vesca*ssp.*vesca* идентифицировано 34809 генов, в том числе детерминирующих такие хозяйственно-ценные признаки, как компоненты биохимического состава, вкус ягод, время цветения и др. [5].

Вместе с тем, широкое развитие в последние годы молекулярно-генетических методов анализа генома позволило углубить знания о механизмах детерминации и наследования ряда хозяйственно значимых признаков земляники ананасной (*F. ×ananassa* Duch., 8х) и идентифицировать некоторые гены-кандидаты: *Rpf1*, *Rpf2*, *Rpf3* – устойчивость к фитофторозному увяданию [6, 7], *Rca2* – устойчивость к антракнозу [8, 9], *FaOMT* – биосинтез о-метилтрансферазы [10], *FaFAD1*–биосинтез γ -декалактона [11] и некоторые другие.

Также для отдельных селекционно-значимых признаков (высота растения, урожайность, количество плодов, содержание антоцианов и др.) идентифицированы крупные локусы количественных признаков (QTL)[12]. В целом размер генома *F. ×ananassa* Duch. примерно оценивается в 690-720 Mb при общем количестве генов около 45000 [13,14].

В настоящее время молекулярные маркеры наиболее широко используются при анализе генетического разнообразия, картировании,

сортовой идентификации генотипов земляники. В меньшей степени молекулярные маркеры применяются в селекции [15, 16]. И хотя большинство хозяйственно ценных признаков земляники контролируются полигенно, что осложняет выявление информативных ДНК-маркеров данных признаков, сочетание методов классической селекции с ДНК-анализом исходных форм и гибридных популяций является перспективным направлением интенсификации процесса создания генотипов с заданными параметрами признаков.

В настоящем исследовании представлены результаты ПЦР-анализа сортов и форм земляники садовой (*F. ×ananassa* Duch.) по гену *Rca2* устойчивости к антракнозу.

Объекты и методы исследований. Биологическими объектами исследования являлись сорта земляники садовой различного эколого-географического происхождения и перспективные отборные формы селекции ФГБНУ «ФНЦ им И.В. Мичурина».

Для оценки аллельного состояния гена *Rca2* устойчивости земляники к антракнозу использовали SCAR маркер STS-*Rca2*_240. Контроль протекания ПЦР осуществляли с помощью SSR маркера EMFv020 [17]. Используемые для анализа праймеры имели следующую нуклеотидную последовательность:

– маркер STS-*Rca2*_240: F 5'-GCCACGTCACTAGTCAAATTCAA-3',
R 5'-TCATGGACAGTGGTCTCAGC-3';

– маркер EMFv020: F 5'-CAGGCGCCAACGGCGTGCTTGT-3',
R 5'-CAGCGCCGCCAGCTCATCCCTAGG-3'.

Экстракция геномной ДНК была проведена согласно протоколу компании Diversity Arrays Technology P/L [18] с модификациями. Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл содержала: 20 нг ДНК; 1,5 мМ dNTPs, 2,5 мМ MgCl₂; 0,2 мМ каждого праймера; 0,8 U Taq-полимеразы и 2,5 мМ 10x Taq-буфера ((NH₄)₂SO₄, -KCL). Все компоненты произведены фирмой Thermo Fisher Scientific.

Мультиплексную ПЦР проводили в термоциклере T100 производства фирмы «BIO-RAD» (США) по следующей программе: начальная денатурация при 95 °С – 3 мин; 35 циклов: 95 °С – 50 с, 64 °С – 50 с, 72 °С – 1 мин; финальная элонгация при 72 °С – 5 мин. Разделение продуктов амплификации 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).

Обсуждение результатов. Антракнозная чёрная гниль, вызываемая фитопатогенными грибами рода *Colletotrichum*, является одним из распространённых заболеваний земляники, наносящих значительный ущерб промышленным насаждениям во многих странах Европы и Америки [19, 20]. Наибольшей вредоносностью в умеренном климатическом поясе характеризуется многоядный вид *C. acutatum* Simmonds, способный поражать всю надземную часть растений, вызывая их значительное угнетение, вплоть до гибели. Поражение ягод земляники антракнозом может привести к потере более 80 % урожая. Особенностью развития патогена является его способность долгое время находиться на растении в латентном состоянии, что значительно осложняет надёжную идентификацию, своевременное проведение защитных мероприятий и способствует распространению *C. Acutatum* Simmonds с бессимптомными растениями. Большинство сортов земляники, предназначенных для промышленного возделывания, в разной степени восприимчивы к антракнозной чёрной гнили [21-23].

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* Simmonds тестируется на насаждениях земляники не только в южной зоне, но и в средней полосе РФ [22, 24, 25].

Устойчивость земляники садовой к антракнозу контролируется полигенно и моногенно. Полигенно наследуется устойчивость к расам

C. Acutatum Simmonds, относящимся к 1-й группе патогенности [26]. Моногенная устойчивость у земляники (доминантный ген *Rca2*) выявлена к расам *C. Acutatum* Simmonds 2-й группы патогенности [9]. Для идентификации доминантного аллеля гена *Rca2* разработан SCAR маркер STS-*Rca2*_240, который расположен на расстоянии 2,8 сМ от гена. На электрофореграмме маркер STS-*Rca2*_240 представлен фрагментом размером 240 п.н. Так как аллели маркера STS-*Rca2*_240 и гена *Rca2* наследуются сцепленно, то на основании присутствия или отсутствия целевых продуктов маркера возможно предсказать аллельное состояние гена *Rca2* [17].

В результате проведённого молекулярно-генетического анализа установлено, что доминантный аллель маркера STS-*Rca2*_240 выявлен у сорта земляники Laetitia (пример идентификации представлен на рис., результаты идентификации – в табл.). Так как используемый маркер является доминантным и не позволяет оценить аллельное состояние гена, то ген *Rca2* в генотипе данного сорта предположительно может находиться в двух состояниях – доминантном гомозиготном (*Rca2Rca2*) или гетерозиготном (*Rca2rca2*).



1 – Elsanta, 2 – Kent, 3 – Laetitia, 4 – Florence, 5 – Vima Tarda, 6 – Урожайная ЦГЛ,
7 – Кокинская заря, 8 – Царица, 9 – Барон Солемахер, 10 – Vicoda,
11 – отборная форма №298-19-9-43, 12 – отборная форма №56-5,
13 – отборная форма №928-12, 14 – отборная форма №35-16,
М – маркер молекулярного веса

Рис. Электрофоретический профиль маркера STS-*Rca2*_240 генотипов земляники

Результаты ПЦР-анализа сортов и форм земляники
по маркеру STS-Rca2_240

Сорт	Маркер STS-Rca2_240	Предполагаемый генотип по гену устойчивости <i>Rca2</i>
Барон Солемахер (<i>F. vesca</i> L.)	0	<i>rca2rca2</i>
Кокинская заря	0	<i>rca2rca2</i>
Ласточка	0	<i>rca2rca2</i>
Урожайная ЦГЛ	0	<i>rca2rca2</i>
Фейерверк	0	<i>rca2rca2</i>
Флора	0	<i>rca2rca2</i>
Царица	0	<i>rca2rca2</i>
Яркая	0	<i>rca2rca2</i>
Elsanta	0	<i>rca2rca2</i>
Florence	0	<i>rca2rca2</i>
Kent	0	<i>rca2rca2</i>
Laetitia	1	<i>Rca2rca2</i> или <i>Rca2Rca2</i>
Vima Kimberly	0	<i>rca2rca2</i>
Vicoda	0	<i>rca2rca2</i>
Vima Tarda	0	<i>rca2rca2</i>
Vima Zanta	0	<i>rca2rca2</i>
298-19-9-43 ({[(<i>F. orientalis</i> Los. (4x) × Cavalier) × <i>F. moschata</i> Duch. (6x)] × Redcoat} × Senga Sengana) – FB ₂	0	<i>rca2rca2</i>
56-5 (Gigantella × Привлекательная)	0	<i>rca2rca2</i>
928-12 ((([<i>F. orientalis</i> Los. (4x) × Cavalier) × <i>F. moschata</i> Duch. (6x)] × Redcoat} × Senga Sengana) × Привлекательная) – FB ₃	0	<i>rca2rca2</i>
35-16 (87 ((([Рубиновый кулон × (Фе- стивальная × <i>F. ovalis</i> Rydb.)] × Kardinal) × Привлекательная) × Maryshka) – FB ₄	0	<i>rca2rca2</i>

Остальные изученные генотипы характеризуются рецессивным гомозиготным состоянием маркера STS-Rca2_240 (предполагаемый генотип по гену *Rca2* – *rca2rca2*).

Заключение. Таким образом, по результатам оценки аллельного состояния гена *Rca2* сорт земляники Laetitia характеризуется устойчивостью

к антракнозу (предполагаемый генотип *Rca2Rca2* или *Rca2rca2*), что позволяет рекомендовать его для селекции в качестве перспективного источника устойчивости к *C. Acutatum* Simmonds 2-й группы патогенности. Остальные проанализированные генотипы имеют рецессивный гомозиготный статус по маркеру STS-Rca2_240 (предполагаемый генотип *rca2rca2*), что свидетельствует об их восприимчивости к возбудителю антракнозной чёрной гнили 2-й группы патогенности.

Литература

1. Dirlwanger, E. Comparative mapping and marker-assisted selection in *Rosaceae* fruit crops / E. Dirlwanger, E. Graziano, T. Joobeur, F. Garriga-Calderé, P. Cosson, W. Howad, P. Arús // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004. – V. 101(26). – P. 9891-9896.
2. Baumgartner, I.O. Breeding elite lines of apple carrying pyramided homozygous resistance genes against apple scab and resistance against powdery mildew and fire blight / I.O. Baumgartner, A. Patocchi, J.E. Frey, A. Peil, M. Kellerhals // Plant Molecular Biology Reporter, 2015. – V. 33(5). – P. 1573-1583.
3. Beckmann, J.S., Restriction fragment length polymorphisms and genetic improvement of agricultural species / J.S. Beckmann, M. Soller // Euphytica, 1986. –V. 35. – P. 111-124.
4. Романова О.В., Высоцкий В.А. Методика молекулярно-генетической идентификации косточковых культур, – М.: ГНУВСТИСП, 2007. – 70 с.
5. Shulaev, V. The genome of woodland strawberry (*Fragariavesca*) / V. Shulaev, D.J. Sargent, R.N. Crowhurst, T.C. Mockler, O. Folkerts et al. // Nature genetics, 2011. – V. 43(2). P. – 109-116.
6. Van de Weg, W.E. A gene-for-gene model to explain interactions between cultivars of strawberry and races of *Phytophthora fragariae* var *fragariae*/ W.E. van de Weg // Theo. App. Genet, 1997a. – V. 94. – P. 445-451.
7. Van de Weg, W.E. Resistance to *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* in strawberry: the *Rpf2* gene / W.E. van de Weg// Theo. App. Genet, 1997b. – V. 94. – P. 1092-1096.
8. Gimenez, G. Inheritance of resistance to *Colletotrichumacutatum* Simmonds on runners of garden strawberry and its backcrosses / G. Gimenez, J.R. Ballington // HortScience, 2002. – V. 37. – P. 686-690.
9. Lerceteau-Kohler, E. The use of molecular markers for durable resistance breeding in the cultivated strawberry (*Fragaria x ananassa*) / E. Lerceteau-Kohler, P. Roudeillac, M. Markocic, G. Guerin, K. Praud, B. Denoyes-Rothan //Acta Hort., 2002. – V. 567(2). – P. 615-618.
10. Zorrilla-Fontanesi, Y. Genetic analysis of strawberry fruit aroma and identification of O-Methyltransferase *FaOMT* as the locus controlling natural variation in mesifurane content / Y. Zorrilla-Fontanesi, J.-L. Rambla, A. Cabeza, J.J. Medina, J.F. Sánchez-Sevilla, V. Valpuesta, M.A. Botella, A. Granell, I. Amaya // Plant Physiology, 2012. – V. 159. – P. – 851-870.

11. Chambers, A.H. Identification of a strawberry flavor gene candidate using an integrated genetic-genomic-analytical chemistry approach. / A.H. Chambers, J. Pillet, A. Plotto, J. Bai, V.M. Whitaker, K.M. Folta, // BMC genomics, 2014. – V. 15(1). – P. 217.
12. Zorrilla-Fontanesi, Y. Quantitative trait loci and underlying candidate genes controlling agronomical and fruit quality traits in octoploid strawberry (*Fragaria × ananassa*) / Y. Zorrilla-Fontanesi, A. Cabeza, P. Dominguez, J.J. Medina, V. Valpuesta, B. Denoyes-Rothan, J.F. Sanchez-Sevilla, I. Amaya // Theor. Appl. Genet., 2011. – V. 123. – P. 755-778.
13. Akiyama, Y. Estimation of the nuclear DNA content of strawberries (*Fragaria* spp.) compared with *Arabidopsis thaliana* by using dual-step flow cytometry / Y. Akiyama, Y. Yamamoto, N. Ohmido, M. Ohshima, K. Fukui // Cytologia, 2001. – V. 66(4). – P. 431-436.
14. Hirakawa, H. Dissection of the octoploid strawberry genome by deep sequencing of the genomes of *Fragaria* species / H. Hirakawa, K. Shirasawa, S. Kosugi, K. Tashiro, S. Nakayama, M. Yamada, M. Kohara, A. Watanabe, Y. Kishida, T. Fujishiro, H. Tsuruoka, C. Minami, S. Sasamoto, M. Kato, K. Nanri, A. Komaki, T. Yanagi, Q. Guoxin, F. Maeda, M. Ishikawa, S. Kuhara, S. Sato, S. Tabata, S.N. Isobe // DNA research Oxford, 2014. – V. 21(2). – P. 169-181.
15. Whitaker, V.M. Applications of molecular markers in strawberry / V.M. Whitaker // Journal of Berry Research, 2011. – V. 1. – P. 115-127.
16. Verma, S. Genome-Assisted Breeding in the Octoploid Strawberry / S. Verma, L.F. Osorio, S. Lee, N.V. Bassil, V.M. Whitaker // The Genomes of Rosaceous Berries and Their Wild Relatives. – Springer, Cham, 2018. – C. 161-184.
17. Lerceteau-Kohler, E. Identification of SCAR markers linked to *Rca2* anthracnose resistance gene and their assessment in strawberry germplasm / E. Lerceteau-Kohler, G. Guerin, B. Denoyes-Rothan // Theor. Appl. Genet., 2005. – V. 111. – P. 862-870.
18. DArT, 2014URL: http://www.diversityarrays.com/sites/default/files/resources/DaRT_DNA_isolation.pdf (дата обращения: 10.07.2018).
19. Baroncelli, R. Molecular diversity of anthracnose pathogen populations associated with UK strawberry production suggests multiple introductions of three different *Colletotrichum* species / R. Baroncelli, A. Zapparata, S. Sarrocco, S.A. Sukno, C.R. Lane, M.R. Thon, G. Vannacci, E. Holub, S. Sreenivasaprasad // PLoS One, 2015. – V. 10(6). – P. e0129140.
20. Forcelini, B.B. Resistance in strawberry isolates of *Colletotrichum acutatum* from Florida to quinone-oxidase inhibitor fungicides / B.B. Forcelini, T.E. Seijo, A. Amiri, N.A. Peres // Plant Disease, 2016. – V. 100(10). – P. 2050-2056.
21. Leandro, L.F.S. Germination and sporulation of *Colletotrichum acutatum* on symptomless strawberry leaves / L.F.S. Leandro, M.L. Gleason, Jr F.W. Nutter, S.N. Wegulo, P.M. Dixon // Phytopathology, 2001. – V. 91(7). – P. 659-664.
22. Метлицкий О.З., Головин С.Е., Ундрицова И.А., Холод Н.А. Антракноз садовой земляники // Агро XXI. – 2007. – № 4-6. – P. 40-41.
23. Wagner, A. Susceptibility of strawberry cultivars to *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds. / A. Wagner, B. Hetman // Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus, 2016. – V. 15(6). – P. 209-219.
24. Дудченко И.П., Скрипка О.В., Копина М.Б. Вспышка антракноза земляники в Воронежской области // Современная микология в России: материалы III Международного микологического форума. – Москва, 2015. – №5(4). – С. 28-29.
25. Холод Н.А., Кашиц Ю.П., Добренков Е.А., Семенова Л.Г. Оценка устойчивости сортов земляники садовой к антракнозной черной гнили в южном регионе [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2018. – № 51(3). – С. 140–148. URL: <http://journal.kubansad.ru/pdf/18/03/14.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2018-3-51-140-148 (дата обращения: 05.12.2018).

26. Denoyes-Rothan, B. QTL analysis for resistance to *Colletotrichum acutatum* and *Phytophthora cactorum* in octoploid strawberry (*Fragaria x ananassa*) / B. Denoyes-Rothan, E. Lerceteau-Kohler, G. Guerin, S. Bosseur, J. Bariac, E. Martin, P. Roudeillac // *Acta Hort.*, 2004. – V. 663. – P. 147-151.

References

1. Dirlewanger, E. Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops / E. Dirlewanger, E. Graziano, T. Joobeur, F. Garriga-Calderé, P. Cosson, W. Howad, P. Arús // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004. – V. 101(26). – P. 9891-9896.

2. Baumgartner, I.O. Breeding elite lines of apple carrying pyramided homozygous re-sistance genes against apple scab and resistance against powdery mildew and fire blight / I.O. Baumgartner, A. Patocchi, J.E. Frey, A. Peil, M. Kellerhals // *Plant Molecular Biology Reporter*, 2015. – V. 33(5). – P. 1573-1583.

3. Beckmann, J.S., Restriction fragment length polymorphisms and genetic improvement of agricultural species / J.S. Beckmann, M. Soller // *Euphytica*, 1986. – V. 35. – P. 111-124.

4. Romanova, O.V. Metodika molekulyarno-geneticheskoy identifikacii kostochkovykh kul'tur / O.V. Romanova, V.A. Vysokij – M.: GNUVSTISP, 2007. – 70 s.

5. Shulaev, V. The genome of woodland strawberry (*Fragaria vesca*) / V. Shulaev, D.J. Sargent, R.N. Crowhurst, T.C. Mockler, O. Folkerts et al. // *Nature genetics*, 2011. – V. 43(2). P. – 109-116.

6. Van de Weg, W.E. A gene-for-gene model to explain interactions between cultivars of strawberry and races of *Phytophthora fragariae var. fragariae* / W.E. van de Weg // *Theo. App. Genet.*, 1997a. – V. 94. – P. 445-451.

7. Van de Weg, W.E. Resistance to *Phytophthora fragariae var. fragariae* in strawberry: the Rpf2 gene / W.E. van de Weg // *Theo. App. Genet.*, 1997b. – V. 94. – P. 1092-1096.

8. Gimenez, G. Inheritance of resistance to *Colletotrichum acutatum* Simmonds on runners of garden strawberry and its backcrosses / G. Gimenez, J.R. Ballington // *HortScience*, 2002. – V. 37. – P. 686-690.

9. Lerceteau-Kohler, E. The use of molecular markers for durable resistance breeding in the cultivated strawberry (*Fragaria x ananassa*) / E. Lerceteau-Kohler, P. Roudeillac, M. Markocic, G. Guerin, K. Praud, B. Denoyes-Rothan // *Acta Hort.*, 2002. – V. 567(2). – P. 615-618.

10. Zorrilla-Fontanesi, Y. Genetic analysis of strawberry fruit aroma and identification of O-MethyltransferaseFaOMT as the locus controlling natural variation in mesifurane content / Y. Zorrilla-Fontanesi, J.-L. Rambla, A. Cabeza, J.J. Medina, J.F. Sánchez-Sevilla, V. Val-puesta, M.A. Botella, A. Granell, I. Amaya // *Plant Physiology*, 2012. – V. 159. – P. 851-870.

11. Chambers, A.H. Identification of a strawberry flavor gene candidate using an integrated genetic-genomic-analytical chemistry approach. / A.H. Chambers, J. Pillet, A. Plotto, J. Bai, V.M. Whitaker, K.M. Folta, // *BMC genomics*, 2014. – V. 15(1). – P. 217.

12. Zorrilla-Fontanesi, Y. Quantitative trait loci and underlying candidate genes controlling agronomical and fruit quality traits in octoploid strawberry (*Fragaria x ananassa*) / Y. Zorrilla-Fontanesi, A. Cabeza, P. Dominguez, J.J. Medina, V. Valpuesta, B. Denoyes-Rothan, J.F. Sanchez-Sevilla, I. Amaya // *Theor. Appl. Genet.*, 2011. – V. 123. – P. 755-778.

13. Akiyama, Y. Estimation of the nuclear DNA content of strawberries (*Fragaria* spp.) compared with *Arabidopsis thaliana* by using dual-step flow cytometry / Y. Akiyama, Y. Yamamoto, N. Ohmido, M. Ohshima, K. Fukui // *Cytologia*, 2001. – V. 66(4). – P. 431-436.

14. Hirakawa, H. Dissection of the octoploid strawberry genome by deep sequencing of the genomes of *Fragaria* species / H. Hirakawa, K. Shirasawa, S. Kosugi, K. Tashiro, S. Nakayama, M. Yamada, M. Kohara, A. Watanabe, Y. Kishida, T. Fujishiro, H. Tsuruoka, C. Minami, S. Sasamoto, M. Kato, K. Nanri, A. Komaki, T. Yanagi, Q. Guoxin, F. Maeda, M. Ishikawa, S. Kuhara, S. Sato, S. Tabata, S.N. Isobe // *DNA research Oxford*, 2014. – V. 21(2). – P. 169-181.
15. Whitaker, V.M. Applications of molecular markers in strawberry / V.M. Whitaker // *Journal of Berry Research*, 2011. – V. 1. – P. 115-127.
16. Verma, S. Genome-Assisted Breeding in the Octoploid Strawberry / S. Verma, L.F. Osorio, S. Lee, N.V. Bassil, V.M. Whitaker // *The Genomes of Rosaceous Berries and Their Wild Relatives*. – Springer, Cham, 2018. – S. 161-184.
17. Lerceteau-Kohler, E. Identification of SCAR markers linked to Rca2 anthracnose resistance gene and their assessment in strawberry germplasm / E. Lerceteau-Kohler, G. Guerin, B. Denoyes-Rothan // *TheorAppl Genet.*, 2005. – V. 111. – P. 862-870.
18. DArT, 2014URL: http://www.diversityarrays.com/sites/default/files/resources/DaRT_DNA_isolation.pdf(data obrashcheniya: 10.07.2018).
19. Baroncelli, R. Molecular diversity of anthracnose pathogen populations associated with UK strawberry production suggests multiple introductions of three different *Colletotrichum* species / R. Baroncelli, A. Zapparata, S. Sarrocco, S.A. Sukno, C.R. Lane, M.R. Thon, G. Vannacci, E. Holub, S. Sreenivasaprasad // *PLoS One*, 2015. – V. 10(6). – P. e0129140.
20. Forcelini, B.B. Resistance in strawberry isolates of *Colletotrichum acutatum* from Florida to quinone-oxidase inhibitor fungicides / B.B. Forcelini, T.E. Seijo, A. Amiri, N.A. Peres // *Plant Disease*, 2016. – V. 100(10). – P. 2050-2056.
21. Leandro, L.F.S. Germination and sporulation of *Colletotrichum acutatum* on symp-tomless strawberry leaves / L.F.S. Leandro, M.L. Gleason, Jr F.W. Nutter, S.N. Wegulo, P.M. Dixon // *Phytopathology*, 2001. – V. 91(7). – P. 659-664.
22. Metlickij, O.Z., Golovin S.E., Undricova I.A., Holod N.A. Antraknoz sadovoj zemlyaniki // *Agro XXI*. – 2007. – № 4-6. – P. 40-41.
23. Wagner, A. Susceptibility of strawberry cultivars to *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds. / A. Wagner, B. Hetman // *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 2016. – V. 15(6). – P. 209-219.
24. Dudchenko I.P., Skripka O.V., Kopina M.B. Vspyshka antraknoza zemlyaniki v Voronezhskoj oblasti // *Sovremennaya mikologiya v Rossii: materialy III Mezhdunarodnogo mikologicheskogo foruma*. – Moskva, 2015. – №5(4). – S. 28-29.
25. Holod N.A., Kashchic Yu.P., Dobrenkov E.A., Semenova L.G. Ocenka ustojchivosti sortov zemlyaniki sadovoj k antraknoznnoj chernoj gnili v yuzhnom regione [Elektronnyj resurs] // *Plodovodstvo i vinogradarstvo yuga Rossii*, 2018. – №51(3). – s. 140–148. url: <http://journalkubansad.ru/pdf/18/03/14.pdf>. doi: 10.30679/2219-5335-2018-3-51-140-148 (data obrashcheniya: 01.08.2018).
26. Denoyes-Rothan, B. QTL analysis for resistance to *Colletotrichum acutatum* and *Phytophthora cactorum* in octoploid strawberry (*Fragaria x ananassa*) / B. Denoyes-Rothan, E. Lerceteau-Kohler, G. Guerin, S. Bosseur, J. Bariac, E. Martin, P. Roudeillac // *Acta Hort.*, 2004. – V. 663. – P. 147-151.