

УДК 634.75:577.2:632.4

## АНАЛИЗ СОРТОВ ЗЕМЛЯНИКИ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ ПО ГЕНУ *Rca2* УСТОЙЧИВОСТИ К АНТРАКНОЗУ

**Александр Сергеевич Лыжин**

кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник

[Ranenburzhetc@yandex.ru](mailto:Ranenburzhetc@yandex.ru)

**Ирина Васильевна Лукьянчук**

кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник

[irina.lk2011@yandex.ru](mailto:irina.lk2011@yandex.ru)

ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина»

г. Мичуринск, Россия

**Аннотация.** Показаны результаты молекулярного скрининга сортов земляники отечественной селекции по гену *Rca2* устойчивости к антракнозу. ДНК-маркер STS-*Rca2*\_240, сцепленный с аллелем устойчивости *Rca2*, идентифицирован у сортов земляники садовой Боровицкая и Сударушка, созданных в ФНЦ Садоводства (предполагаемый генотип – *Rca2rca2*). Вовлечение указанных сортов в селекционный процесс позволит получить в гибридном потомстве до 50% семян с целевым аллелем резистентности *Rca2*.

**Ключевые слова:** земляника; сорт; устойчивость; молекулярные маркеры; антракноз; ген *Rca2*

## Введение

Антракноз – одно из наиболее опасных заболеваний растений земляники, вызываемое фитопатогенными грибами рода *Colletotrichum*: *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds, *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., *C. fragariae* A.N. Brooks. (*C. theobromicola*) В умеренном климатическом поясе наиболее распространён видовой комплекс *C. acutatum* в настоящее время насчитывающий по разным сведениям 31-36 морфологически сходных видов [9, 12]. Во многих странах мира, в том числе в Российской Федерации, а также странах Европейского союза, *C. acutatum* отнесён к числу карантинных патогенов [1, 5].

Устойчивость земляники к антракнозу – это сложный комплексный признак, определяемый взаимодействием многих генетических факторов. Однако, проведённые европейскими учёными исследования показали, что устойчивость земляники садовой к некоторым изолятам *C. acutatum* контролируется одним доминантным геном *Rca2* [6]. В дальнейшем для указанного гена были разработаны диагностические ДНК-маркеры, позволяющие вести направленный отбор перспективных форм непосредственно по наличию в генотипе целевого аллеля на ранних этапах онтогенеза без использования технологии искусственного заражения [7, 11].

Большинство современных сортов земляники в той или иной степени восприимчивы к антракнозу, в связи с чем идентификация исходных форм, несущих гены устойчивости является актуальной задачей.

В настоящем исследовании представлены результаты изучения аллельного разнообразия гена устойчивости к антракнозу *Rca2* у сортов земляники отечественной селекции для выявления перспективных генотипов для вовлечения в селекционный процесс по созданию устойчивых к грибным патогенам форм.

## Материалы и методы

Исследования были проведены в 2021-2022 гг. В качестве биологических объектов использованы сорта земляники отечественной селекции из генетической коллекции ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина» (табл. 1).

Таблица 1

Анализируемые сорта земляники

Сорт	Комбинация скрещивания	Оригинатор
Альфа	Фестивальная ромашка × Сюрприз олимпиаде	Федеральный научный селекционно-технологический центр садоводства и питомниководства
Берегиня	Соловушка × Induka	
Боровицкая	Надежда × Red Gauntlet	
Кокинская заря	Славутич × 157-7	
Славутич	Фестивальная ромашка × Сюрприз олимпиаде	
Сударушка	Фестивальная × Roxana	
Студенческая	FB <sub>3</sub> ( <i>F.</i> × <i>ananassa</i> Duch. × <i>F. moschata</i> Duch.)	Кокинский опорный пункт Федерального научного селекционно-технологического центра садоводства и питомниководства
Ласточка	922-67 × Привлекательная	Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина
Памяти Зубова	[Фейерверк × (Belrubi × <i>F. ovalis</i> Rydb.)] × Holiday	
Рубиновый каскад	922-67 × Привлекательная	
Карнавал	Памятная × Ранняя плотная кл. 26V	Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева
Олимпийская надежда	Нет доступной информации	
Царскосельская	Павловчанка × Holiday	Институт агроинженерных и экологических проблем сельскохозяйственного производства
Фестивальная	Обильная × Premier	Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова
Былинная	Персиковая × Сеянец ВИР-228613	Крымская опытно-селекционная станция Федерального исследовательского центра Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова
Юниол	Нет доступной информации	Ордена трудового красного знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, Крым

Идентификацию аллельного состояния гена *Rca2* проводили методом ДНК-анализа с использованием диагностического маркера STS-*Rca2\_240*. Целевым продуктом маркера STS-*Rca2\_240* является ампликон размером 240 п.н., синтезирующийся при наличии в генотипе аллеля резистентности *Rca2*. Для исключения ложноотрицательных результатов маркер STS-*Rca2\_240* мультиплексировался с маркером EMFv020, который присутствует у всех генотипов земляники [7]. Контролем присутствия в геноме аллеля устойчивости *Rca2* являлся сорт Elianny, созданный в Нидерландах компанией Gebr. Vissers и характеризующийся согласно проведённым ранее исследованиям доминантным гомозиготным или гетерозиготным генотипом [4].

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в амплификаторе T100 (BIO-RAD) по описанной ранее программе [2, 3].

Разделение продуктов амплификации проводили электрофоретическим методом в агарозном геле (концентрация агарозы – 2%, буферная система – 1x TBE). Определение размера ампликонов проводили с использованием Gene Ruler 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

### Результаты и обсуждение

В анализируемой коллекции сортов земляники маркер STS-*Rca2\_240* идентифицирован у сортов Боровицкая и Сударушка, созданных во ВСТИСП (в настоящее время – ФНЦ садоводства) во второй половине XX века. У сортов Альфа, Берегиня, Былинная, Карнавал, Кокинская заря, Ласточка, Олимпийская надежда, Памяти Зубова, Рубиновый каскад, Славутич, Студенческая, Фестивальная, Царскосельская и Юниол целевой фрагмент маркера STS-*Rca2\_240* отсутствует (табл. 2).

Таблица 2

Результаты анализа гена *Rca2* у сортов земляники садовой

Сорт	STS- <i>Rca2_240</i>	Генотип
Альфа	0	<i>rca2rca2</i>
Берегиня	0	<i>rca2rca2</i>
Боровицкая	1	<i>Rca2Rca2</i> или <i>Rca2rca2</i>
Былинная	0	<i>rca2rca2</i>
Карнавал	0	<i>rca2rca2</i>

Кокинская заря	0	<i>rca2rca2</i>
Ласточка	0	<i>rca2rca2</i>
Олимпийская надежда	0	<i>rca2rca2</i>
Памяти Зубова	0	<i>rca2rca2</i>
Рубиновый каскад	0	<i>rca2rca2</i>
Славутич	0	<i>rca2rca2</i>
Студенческая	0	<i>rca2rca2</i>
Сударушка	1	<i>Rca2Rca2</i> или <i>Rca2rca2</i>
Фестивальная	0	<i>rca2rca2</i>
Царскосельская	0	<i>rca2rca2</i>
Юниол	0	<i>rca2rca2</i>

Необходимо отметить, что у сортов Памяти Зубова и Славутич помимо фрагментов известного размера присутствует дополнительный ампликон размером около 400 п.н., предположительно не связанный с устойчивостью к антракнозу.

Сорта земляники с идентифицированным маркером STS-Rca2\_240 (Боровицкая и Сударушка) характеризуются наличием аллеля резистентности *Rca2* в доминантном гомозиготном или гетерозиготном состоянии. Для его уточнения проведён анализ происхождения данных форм. Сорт Боровицкая получен в результате скрещивания сортов Надежда и Red Gauntlet. Информация о степени устойчивости к *S. acutatum* и аллельном состоянии гена *Rca2* для сорта Надежда отсутствует. Сорт Red Gauntlet согласно результатам искусственного заражения [10] и молекулярно-генетического анализа [8] характеризуется рецессивным гомозиготным генотипом – *rca2rca2*. Сорт Сударушка получен в результате скрещивания сортов Фестивальная и Roxana. Сорт Фестивальная восприимчив к *S. acutatum* по гену *Rca2* [4]. Для сорта Roxana сведения об аллельном состоянии гена *Rca2* отсутствуют. В связи с вышеизложенным, ген *Rca2* у сортов Боровицкая и Сударушка предположительно находится в гетерозиготном состоянии – *Rca2rca2*. Вовлечение указанных сортов в селекционный процесс позволит получить в гибридном потомстве до 50% семян с целевым аллелем резистентности *Rca2*.

## Заключение

Таким образом, в результате проведённого молекулярно-генетического анализа ген *Rca2* выявлен у сортов земляники садовой Боровицкая и Сударушка, что позволяет рекомендовать их для вовлечения в селекционную работу по созданию устойчивых к *S. acutatum* сортов земляники.

### Список литературы:

1. Кузнецова А.А., Дудченко И.П., Копина М.Б. Антракноз земляники, классические и современные методы диагностики // Современные подходы и методы в защите растений. 2018. С. 78-81.

2. Лыжин А.С., Лукьянчук И.В. Анализ сортов и форм земляники по гену устойчивости к антракнозу (*Rca2*) с использованием молекулярных маркеров // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2019. №55(1). С. 1-11. doi: 10.30679/2219-5335-2019-1-55-1-11

3. Лыжин А.С., Лукьянчук И.В., Жбанова Е.В. ДНК-анализ генотипов рода *Fragaria* L. по устойчивости к антракнозной чёрной гнили // Плодоводство и ягодоводство России. – 2020. – Т. 62. – С. 53-58. doi: 10.31676/2073-4948-2020-62-53-58

4. 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. Т. 180. №1. С. 73-77. doi: 10.30901/2227-8834-2019-1-73-77

5. Calleja E.J. The effectiveness of phytosanitary controls in preventing the entry of *Colletotrichum acutatum* in the UK strawberry sector / E.J. Calleja, B. Ilbery, N.J. Spence, P.R. Mills // Plant Pathology. 2013. V. 62(2). P. 266-278 doi: 10.1111/j.1365-3059.2012.02647.x

6. Lerceteau-Kohler E. The use of molecular markers for durable resistance breeding in the cultivated strawberry (*Fragaria × ananassa*) / E. Lerceteau-Kohler, P. Roudeillac, M. Markocic, G. Guérin, K. Praud, B. Denoyes-Rothan // Acta Hort. 2002. V. 567(2). P. 615-618. Doi: 10.17660/ActaHortic.2002.567.132

7. 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. doi: 10.1007/s00122-005-0008-1
8. Luk'yanchuk I.V. Analysis of strawberry genetic collection (*Fragaria* L.) for *Rca2* and *Rpfl* genes with molecular markers / I.V. Luk'yanchuk, A.S. Lyzhin, I.I. Kozlova // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018. V. 22(7). P. 795–799. doi: 10.18699/VJ18.423
9. Miller-Butler M.A. Comparison of whole plant and detached leaf screening techniques for identifying anthracnose resistance in strawberry plants / M.A. Miller-Butler, B.J. Smith, E.M. Babiker, B.R. Kreiser, E.K. Blythe // Plant disease. 2018. V. 102(11). P. 2112-2119. doi: 10.1094/PDIS-08-17-1138-RE
10. Simpson D.W. Resistance to a single UK isolate of *Colletotrichum acutatum* in strawberry germplasm from Northern Europe / D.W. Simpson, C.Q. Winterbottom, J.A. Bell, M.L. Maltoni // Euphytica. 1994. V. 77(1-2). P. 161-164.
11. van Eck L. The NB-LRR Disease resistance genes of *Fragaria* and *Rubus* / L. van Eck, J.M. Bradeen // The Genomes of Rosaceous Berries and Their Wild Relatives. 2018. P. 63-75. doi: 10.1007/978-3-319-76020-9\_6
12. Zhang L. Characterization and fungicide sensitivity of *Colletotrichum* species causing strawberry anthracnose in Eastern China / L. Zhang, L. Song, X. Xu, X. Zou, K. Duan, Q. Gao // Plant disease. 2020. V. 104(7). P. 1960-1968. doi: 10.1094/PDIS-10-19-2241-RE

**UDC 634.75:577.2:632.4**

**ANALYSIS OF STRAWBERRY VARIETIES OF RUSSIAN  
SELECTION BY *RCA2* ANTHRACNOSE RESISTANCE GENE**

**Alexander S. Lyzhin**

Cand. Sci. (Agr.), Leading researcher

[Ranenburzhetc@yandex.ru](mailto:Ranenburzhetc@yandex.ru)

**Irina V. Luk'yanchuk**

Cand. Sci. (Agr.), Senior researcher

[irina.lk2011@yandex.ru](mailto:irina.lk2011@yandex.ru)

FSSI "I.V. Michurin FSC",

Russia, Michurinsk

**Abstract.** The results of molecular screening of strawberry varieties of Russian breeding by the *Rca2* anthracnose resistance gene were shown. The DNA marker STS-Rca2\_240, linked to the *Rca2* resistance allele, was identified in the strawberry varieties Borovitskaya and Sudarushka, created in the Federal Horticultural Research Center for Breeding, Agrotechnology and Nursery (the putative genotype is *Rca2rca2*). The involvement of these strawberry varieties in the breeding will allow obtaining up to 50% of seedlings with the target resistance allele in the hybrid combinations.

**Key words:** strawberry; variety; resistance; molecular markers; anthracnose; *Rca2* gene.

Статья поступила в редакцию 10.02.2022; одобрена после рецензирования 18.02.2022; принята к публикации 18.03.2022. The article was submitted 10.02.2022; approved after reviewing 18.02.2022; accepted for publication 18.03.2022.