

УДК 634.75:577.2:632.4

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ ЛОКУСОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ПАТОГЕНАМ У ОТБОРНЫХ ФОРМ И СОРТОВ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ

Александр Сергеевич Лыжин

кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник

Ranenburzhetc@yandex.ru

Ирина Васильевна Лукьянчук

кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник

irina.lk2011@yandex.ru

Федеральный научный центр имени И.В. Мичурина

Мичуринск, Россия

Аннотация. Представлены результаты многолетней работы по молекулярному маркированию и маркер-опосредованной селекции земляники садовой на устойчивость к патогенам. Четыре локуса устойчивости выявлены у двух сортов (0,9%): Корона ($08\ To-f+FaRCa1+FaRCg1+FaRPc2$) и Дар ($08\ To-f+Rca2+FaRCg1+FaRPc2$); три локуса присутствуют у 12 генотипов (5,3%), два – у 49 форм (21,8%). Среди изучаемых генотипов российской селекции интерес представляют сорта Боровицкая ($Rca2+FaRCa1+FaRCg1$), Былинная ($08\ To-f+Rpf1+FaRPc2$), Зенит ($FaRCa1+FaRCg1+FaRPc2$), Сударушка ($08\ To-f+Rca2+FaRCg1$), отборные формы 298-19-9-43, 933-4 ($FaRCa1+FaRCg1+FaRPc2$).

Ключевые слова: земляника, генотип, устойчивость, молекулярные маркеры, мучнистая роса, антракноз, фитофтороз.

Земляника – наиболее популярная и экономически выгодная ягодная культура. Большинство культивируемых сортов земляники относится к синтетическому октоплоидному виду *Fragaria* × *ananassa* Duch., который возник в результате случайного переопыления *F. virginiana* Duch. и *F. chiloensis* (L.) Duch. во Французском ботаническом саду [5]. В мире насчитывается свыше 3000 сортов земляники. Однако, в условиях повсеместной дестабилизации климата, массового развития болезней различной этиологии, а также повышенному вниманию к качеству получаемой ягодной продукции, многие существующие сорта в недостаточной степени отвечают требованиям, предъявляемым производством и потребителями, в связи с чем необходимо проведение направленной селекционной работы по созданию новых отечественных высококонкурентоспособных сортов земляники.

При этом повысить эффективность получения ценных генотипов позволяет сочетание методов классической селекции с технологиями на основе ПЦР-диагностики и ДНК-маркирования, на молекулярном уровне обеспечивающими выявление наследственных основ формирования признаков [3, 4]. К числу агробιοлогическιх признаков, по которым рекомендуется вести селекцию земляники садовой с помощью молекулярных маркеров в мире, относятся устойчивость к патогенам (*S. macularis*, *C. acutatum*, *C. gloeosporioides*, *P. fragariae* var. *fragariae*, *P. cactorum*, *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*, *M. phaseolina*), содержание компонентов биохимического состава (растворимые сухие вещества, антоцианы) и ароматического комплекса плодов (мезифуран, γ-декалактон), тип плодоношения [1, 7, 8, 15, 19, 20]. В России молекулярные методы в селекции земляники наиболее активно используются в ФНЦ им. И.В. Мичурина для создания устойчивых к наиболее вредоносным заболеваниям генотипов, а так же форм с улучшенным ароматом плодов [11, 14, 15].

В настоящем исследовании представлены результаты молекулярного маркирования и маркер-опосредованной селекции земляники (*Fragaria* L.) на устойчивость к патогенам.

Исследования проведены в 2018-2024 гг. Биологическими объектами исследования являлись 5 дикорастущих видов: *F. vesca* L., *F. orientalis* Los., *F. moschata* Duch., *F. ovalis* (Lehm.) Rydb., *F. virginiana* subsp. *platypetala* (Rydb.) Staudt; 2 сорта земляники (*F. × ananassa* Kantor.): Дар, Купчиха; 96 сортов земляники садовой (*F. × ananassa* Duch.): 38 – российской селекции; 58 – зарубежной селекции; 82 отборные формы земляники садовой межвидового и межсортового происхождения; 390 гибридных сеянцев из 12 комбинаций скрещивания: Былинная × Олимпийская надежда, Олимпийская надежда × Былинная, Былинная × Фейерверк, Фейерверк × Былинная, Привлекательная × Былинная, Florence × Faith, Malwina × Tea, Quicky × Olympia, Roxana × Kimberly, Алиса × Quicky, Asia × Aprica, San Andreas × Monterey.

Целевые аллели локусов агробиологических признаков в геноплазме земляники выявляли методом молекулярного маркирования с использованием классической ПЦР и HRM-анализа. Классическую ПЦР (маркеры IB535110 [15], SCAR-R1A [6], STS-Rca2_240 [10]) проводили в термоциклере T100 («Bio-Rad», США), для визуализации и анализа данных использовали систему геледокументации ChemiDoc XRS+ («Bio-Rad», США). Для определения размеров ампликонов использовали маркер длин ДНК Step100 («Биолабмикс», Россия). HRM-анализ (маркеры RPCHRM3 [16], ID3F/ID1R [17], RLK-1A [2]) проводили с использованием системы амплификации в реальном времени CFX96 Real-Time System (Bio-Rad, США). Графический анализ кривых плавления продуктов амплификации выполняли в программе CFX Manager™ (Bio-Rad, США).

Приоритетной задачей селекции сельскохозяйственных культур является создание сортов с генетической устойчивостью к наиболее вредоносным заболеваниям. В «ФНЦ им. И.В. Мичурина» с использованием молекулярных

маркеров целевых аллелей R-генов (локусов резистентности) ведётся маркирование генофонда и маркер-опосредованная селекция земляники на устойчивость к наиболее вредоносным грибным патогенам: *Sphaerotheca macularis* Mag., *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds, *C. gloeosporioides* Penz. (Sacc.) Ston., *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* Hickman, *P. cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt.

Мучнистая роса (*S. macularis*). Устойчивость контролируется полигенно. Один из наиболее крупных локусов – *08 To-f*, диагностический маркер – IB535110. Согласно проведённым нами ранее исследованиям [15], вклад локуса в формирование признака (R^2) составляет 0,42. Выявлен у видов *F. orientalis*, *F. moschata*, сортов Былиная, Сударушка, Brilla, Korona Faith, Polka, Red Gauntlet, отборной формы 7/9-10.

Антракноз (*C. acutatum*, *C. gloeosporioides*). Устойчивость к *C. acutatum* контролируется локусами *FaRCa1* (маркер ID3F/ID1R) [17] и *Rca2* (STS-Rca2_240) [10], устойчивость к *C. gloeosporioides* – локусом *FaRCg1* (маркер RLK-1A) [2]. Маркеры ID3F/ID1R и STS-Rca2_240 валидированы и активно используются для анализа генетических коллекций и селекционного материала [9, 13, 20], маркер RLK-1A в селекционной работе используется редко. Локус *FaRCa1* выявлен у сортов Урожайная ЦГЛ, Флора, Korona, Ostara, отборных форм 298-19-9-43, 26-5, 932-29, ген *Rca2* – у сортов Боровицкая, Elianny, Malwina, отборных форм 4/7-20, 2/1-34, 3/9-5, 9/1-32. Локус *FaRCg1* присутствует у сортов Флора, Привлекательная, Vima Zanta, отборных форм 6/3-22, 7/1-4, 1/6-41.

Фитофтороз (*P. fragariae* var. *fragariae*, *P. cactorum*). Устойчивость к *P. fragariae* var. *fragariae* контролируется генами *Rpf1*, *Rpf2* и *Rpf3*. Для выявления гена *Rpf1* разработан маркер SCAR-R1A [6]. Устойчивость к *P. cactorum* детерминирована локусом *FaRPc2* (маркер RPCHRM3) [16]. Маркирование гена *Rpf1* у сортов и селекционных форм земляники ведётся как в российских институтах, так и в других странах [9, 12, 18]. Локус *FaRPc2* в селекционной

практике начинает использоваться в последние годы [8, 20]. В наших исследованиях ген *Rpf1* идентифицирован у вида *F. virginiana* Duch. ssp. *platypetala*, сорта Былинная, отборных форм 62-41, 65-17; локус *FaR_Pc2* – у сортов Былинная, Троицкая, Selva, Portola, отборных форм 298-19-9-43, 26-5, 7/2-16, 9/2-7, созданных в ФНЦ имени И.В. Мичурина.

Для селекционного использования наибольший интерес представляют формы, характеризующиеся комплексом агробиологических признаков. По устойчивости к патогенам наиболее перспективны сорт земляники садовой Когона и сорт земклуники Дар, характеризующиеся наличием четырёх локусов устойчивости. Комплекс из трёх локусов устойчивости выявлен у 5,3% форм, два локуса присутствует у 21,8% форм. Среди российских сортов для селекции на устойчивость перспективны сорта Боровицкая, Былинная, Зенит, Сударушка, а также созданные в ФНЦ им. И.В. Мичурина отборные формы 298-19-9-43 и 933-4.

Таким образом, использование диагностических ДНК-маркеров в программах совершенствования сортимента позволяет сократить время и повысить эффективность селекционного процесса по созданию качественно новых конкурентоспособных сортов земляники садовой. Сорта земляники с идентифицированными аллелями агробиологических признаков являются ценными генетическими источниками. Перспективны для вовлечения в селекционный процесс сорта Когона (08 *To-f*+*FaR_Ca1*+*FaR_Cg1*+*FaR_Pc2*), Дар (08 *To-f*+*Rca2*+*FaR_Cg1*+*FaR_Pc2*), Былинная (08 *To-f*+*Rpf1*+*FaR_Pc2*), Зенит (*FaR_Ca1*+*FaR_Cg1*+*FaR_Pc2*), Сударушка (08 *To-f*+*Rca2*+*FaR_Cg1*). В «ФНЦ им. И.В. Мичурина» с использованием выявленных источников и доноров устойчивости методами молекулярной селекции созданы и выделены перспективные отборные формы, характеризующиеся наличием аллелей резистентности к патогенам 08 *To-f*, *Rca2*, *FaR_Ca1*, *FaR_Cg1*, *Rpf1*, *FaR_Pc2* (298-19-9-43, 933-4, 56-17, 62-33, 62-41, 72-27, 72-59, 72-88, 3/4-17, 3/4-23, 3/4-31, 3/9-11, 3/9-28, 3/9-33, 7/2-79, 9/2-7).

Список литературы:

1. 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. doi: 10.1186/1471-2164-15-217.
2. Comparative transcriptome analysis to identify candidate genes for *FaRCg1* conferring resistance against *Colletotrichum gloeosporioides* in cultivated strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) / S. Chandra, Y. Oh, H. Han, N. Salinas, A. Anciro, V.M. Whitaker, J.G. Chacon, G. Fernandez, S. Lee // Front. Genet. 2021. V. 12. P. 730444. doi: 10.3389/fgene.2021.730444.
3. Collard B.C., Mackill D.J. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century // Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 2008. V. 363(1491). P. 557-572. doi: 10.1098/rstb.2007.2170.
4. De Mori G., Cipriani G. Marker-assisted selection in breeding for fruit trait improvement: A review // IJMS. 2023. V. 24(10). P. 8984. doi: 10.3390/ijms24108984.
5. Hancock J.F., Callow P.W., Serce S. Variation in the horticultural characteristics of native *Fragaria virginiana* and *F. chiloensis* from North and South America // JASHS. 2003. V. 128(2). P. 201-208. doi: 10.21273/JASHS.128.2.0201.
6. Development of SCAR markers linked to a *Phytophthora fragariae* resistance gene and their assessment in European and North American strawberry genotypes / K.M. Haymes, W.E. Van de Weg, P. Arens, J.L. Maas, B. Vosman, A.P.M. Den Nijs // JASHS. 2000. V. 125(3). P. 330-339. doi: 10.21273/JASHS.125.3.330.
7. DNA Marker Linked to Everbearing Flowering Gene in Cultivated Strawberry, with High Applicability to Various Breeding Populations // The Horticulture Journal. 2020. V. 89(2). P. 161-166. doi: 10.2503/hortj.UTD-034.

8. Updates on strawberry DNA testing and marker-assisted breeding at the University of Florida / Y.J. Jang, Y. Oh, S. Verma, M.E. Porter, C. Dalid, C.M. Yoo, Z. Fan, C.W. Willborn, K. Han, D.-S. Kim, V.M. Whitaker, S. Lee // International Journal of Fruit Science. 2024. V. 24(1). P. 219-228. doi: 10.1080/15538362.2024.2365683.
9. DNA-screening of strawberry cultivars and hybrids (*Fragaria ananassa* Duch.) for resistance to fungal diseases / M. Keldibekova, E. Bezlepkina, M. Zubkova, M. Dolzhikova // Pakistan Journal of Botany. 2024. V. 56(2). P. 29. doi: 10.30848/PJB2024-2(29).
10. 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. V. 111. P. 862-870. doi: 10.1007/s00122-005-0008-1.
11. Luk'yanchuk I.V., Zhbanova E.V., Lyzhin A.S. Determining consumer appeal of selected garden strawberry varieties (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. 2022. V. 14(4). P. 228-241. doi: 10.12731/2658-6649-2022-14-4-228-241.
12. Lyzhin A., Luk'yanchuk I. Analysis of strawberry promising varieties and selected forms by resistance to red stele root rot using molecular markers // BIO Web of Conferences. 2021. V. 39. P. 02002. doi: 10.1051/bioconf/20213902002.
13. Lyzhin A., Luk'yanchuk I. Assessment of strawberry varieties by anthracnose resistance gene // BIO Web of Conferences. 2021. V. 34. P. 02007. doi: 10.1051/bioconf/20213402007.
14. Lyzhin A., Luk'yanchuk I. k Marker-assisted screening of promising forms in the strawberry breeding // E3S Web of Conferences. 2021. V. 254. P. 03002. doi: 10.1051/e3sconf/202125403002.
15. Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V. Study of a genetic collection of strawberry (*Fragaria* L.) for resistance to powdery mildew // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2024. V. 28(2). P. 166-174. doi: 10.18699/vjgb-24-19.

16. High-throughput marker assays for *FaRPs2*-mediated resistance to Phytophthora crown rot in octoploid strawberry / Y.H. Noh, Y. Oh, J. Mangandi, S. Verma, J.D. Zurn, Y.T. Lu, Z. Fan, N. Bassil, N. Peres, G. Cole, C. Acharya, R. Famula, S. Knapp, V.M. Whitaker, S. Lee // Mol. Breeding. 2018. V. 38(8). P. 1-11. doi: 10.1007/s11032-018-0861-7.
17. *FaRca1* confers moderate resistance to the root necrosis form of strawberry anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* / N. Salinas, Z. Fan, N. Peres, S. Lee, V.M. Whitaker // HortScience. 2020. V. 55(5). P. 693-698. doi: 10.21273/HORTSCI14807-20.
18. Use of RAPD and SCAR markers for identification of strawberry genotypes with red stele resistance genes *Rpf1* and fruit rot resistance genes *Rca2* in the hybrid progenies / M. Sturzeanu, M. Ciuca, D. Cristina, A.G. Turcu // Acta Hort. 2021. V. 1309. P. 93-100. doi: 10.17660/ActaHortic.2021.1309.15.
19. 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(2). P. 851-870. doi: 10.1104/pp.111.188318.
20. Zurn J.D., Hummer K.E., Bassil N.V. Exploring the diversity and genetic structure of the US National Cultivated Strawberry Collection // Horticulture Research. 2022. V. 9. P. uhac125. doi: 10.1093/hr/uhac125.

UDC 634.75:577.2:632.4

MOLECULAR MARKING OF PATHOGEN RESISTANCE LOCI IN STRAWBERRY VARIETIES AND SELECTED FORMS

Alexander S. Lyzhin

candidate of agricultural sciences, leading researcher

Ranenburzhetc@yandex.ru

Irina V. Lukyanchuk

candidate of agricultural sciences, leading researcher

irina.lk2011@yandex.ru

Federal Research Center named after I.V. Michurin

Michurinsk, Russia

Abstract. The results of long-term work on molecular marking and marker-assisted selection of strawberry for pathogen resistance are presented. Four pathogen resistance loci were identified in two strawberry varieties (0.9%): Korona (*08 To-f+FaRCa1+FaRCg1+FaRPc2*) and Dar (*08 To-f+Rca2+FaRCg1+FaRPc2*). Three pathogen resistance loci are present in 12 genotypes (5.3%); two were identified in 49 forms (21.8%). Among the studied genotypes of Russian breeding, the following strawberry varieties and selected forms are of interest: Borovitskaya (*Rca2+FaRCa1+FaRCg1*), Bylinnaya (*08 To-f+Rpf1+FaRPc2*), Zenit (*FaRCa1+FaRCg1+FaRPc2*), Sudarushka (*08 To-f+Rca2+FaRCg1*), 933-4 (*FaRCa1+FaRCg1+FaRPc2*) and 298-19-9-43 (*FaRCa1+FaRCg1+FaRPc2*).

Key words: strawberry, genotype, resistance, molecular markers, powdery mildew, anthracnose, phytophthora diseases.

Статья поступила в редакцию 30.04.2025; одобрена после рецензирования 20.06.2025; принята к публикации 30.06.2025.

The article was submitted 30.04.2025; approved after reviewing 20.06.2025; accepted for publication 30.06.2025.