

DOI 10.5281/zenodo.10135427

EDN UELNNB

УДК 634.75:577.2:632.4

Келдибекова М. А., Зубкова М. И.

**АНАЛИЗ СОРТОВ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ (*FRAGARIA ANANASSA DUCH.*)
ПО ГЕНАМ *Rca2* и *Rpf1* С ПРИМЕНЕНИЕМ ДНК-МАРКЕРОВ**

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур»

Реферат. Болезни земляники садовой (*Fragaria ananassa Duch.*) являются одним из ограничивающих факторов, который влияет на урожайность растений и приводит к экономическим потерям. К числу наиболее распространённых патогенов, приносящих значительный вред насаждениям, относятся антракнозная черная гниль (*Colletotrichum acutatum Simmonds*) и фитофторозное увядание (*Phytophthora fragariae Hickman*). Фенотипический отбор на устойчивость к болезням требует значительных ресурсов и времени, в то время как применение ДНК-маркеров позволяет быстро и достоверно определить наличие генетических детерминант, и сортообразцы с высокими прогнозируемыми показателями могут быть раньше вовлечены в селекцию. Цель исследований – идентификация устойчивых генотипов земляники садовой к антракнозной черной гнили и фитофторозному увяданию с применением методов молекулярного ДНК-маркирования. Объекты исследования – 32 сорта земляники садовой биоресурсной коллекции ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур» (Орловская область) отечественного и иностранного происхождения. Геномная ДНК для анализа была выделена из молодых листьев земляники методом СТАВ с модификациями Porebski для выделения ДНК из растительной ткани с высоким содержанием полисахаридов и фенольных соединений. Для идентификации генотипов, несущих гены устойчивости к антракнозной чёрной гнили (ген *Rca2*) и фитофторозной корневой гнили (ген *Rpf1*), применяли ДНК-маркеры *STS-Rca2_240* и *SCAR-RIA* соответственно. В результате проведённого скрининга сортов земляники *SCAR*-маркер *STS-Rca2_240*, тесно сцепленный с геном *Rca2* (определяет устойчивость земляники к антракнозной чёрной гнили, к расам *C. acutatum Simmonds* второй группы патогенности), был выявлен у пяти сортов: Боровицкая, Aprica, Росинка, Siria и Malwina. Маркер доминантного аллеля гена *Rpf1* (определяет устойчивость земляники к фитофторозной корневой гнили *P. fragariae Hickman*) *SCAR-RIA* не был обнаружен ни у одного из отобранных для анализа сортов. Необходимо дальнейшее проведение селекционно-генетических исследований с целью привлечения в гибридизацию идентифицированных источников целевых аллелей генов устойчивости.

Ключевые слова: земляника садовая (*Fragaria ananassa Duch.*), ДНК-маркеры, *Rca2*, *Rpf1*.

Для цитирования: Келдибекова М. А., Зубкова М. И. Анализ сортов земляники садовой (*Fragaria ananassa Duch.*) по генам *Rca2* и *Rpf1* с применением ДНК-маркеров // Таврический вестник аграрной науки. 2023. № 3(35). С. 103–109. EDN: UELNNB. DOI: 10.5281/zenodo.10135427.

For citation: Keldibekova M. A., Zubkova M. I. Analysis of *Fragaria ananassa Duch.* cultivars by *Rca2* and *Rpf1* genes using DNA-markers // Taurida Herald of the Agrarian Sciences. 2023. No. 3(35). С. 103–109. EDN: UELNNB. DOI: 10.5281/zenodo.10135427.

Введение

В настоящее время земляника садовая (*Fragaria ananassa*) является самой важной и экономически выгодной ягодной культурой в мире. На ее долю приходится свыше 70 % общемирового производства ягод [1].

Антракноз земляники (*Colletotrichum acutatum* Simmonds) – относительно недавно выявленное, но уже широко распространённое по всему миру заболевание [2]. Потери урожая достигают 80 %, а выпадения растений в маточных насаждениях – 33% и более [3]. На территории Евразийского экономического сообщества с 2016 г. антракноз является карантинным заболеванием [4].

Выделено большое количество изолятов *C. acutatum*, которые разделены на две группы патогенности [5]. Согласно литературным данным, устойчивость к расам второй группы (*C. acutatum* Simmonds) носит моногенный характер и контролируется доминантным геном *Rca2* [6-7]. В настоящее время для оценки аллельного состояния гена *Rca2* используют доминантный SCAR-маркер STS-Rca2_240, локализованный на расстоянии 2,8 сМ от гена [8–13].

Фитофтороз (фитофторозное увядание) земляники вызывается двумя видами псевдогрибов рода *Phytophthora*. Первый – *Phytophthora fragariae* Hickman вызывает фитофторозную корневую гниль или так называемое «покраснение центрального цилиндра корня». Вторым – *Phytophthora cactorum* Lebert & Cohn вызывает заболевание «фитофторозная кожистая гниль» [3].

В европейских селекционных программах устойчивость к корневой гнили определяется в основном присутствием генов *Rpf1*, *Rpf2* и *Rpf3*. Ген *Rpf1* контролирует устойчивость не менее чем к 16 расам *P. fragariae* [14]. Одним из ДНК маркеров, используемых для оценки аллельного состояния гена *Rpf1*, является доминантный SCAR-R1A [15, 16]. Отечественные исследователи также использовали маркер SCAR-R1A для определения доминантного аллеля гена *Rpf1* [8,17].

Цель исследований – идентификация устойчивых генотипов земляники садовой к антракнозной черной гнили (*Rca2*) и фитофторозному увяданию (*Rpf1*) с помощью ДНК-маркеров.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в 2022–2023 гг. В качестве биологических объектов исследования были взяты 32 сорта земляники садовой (*F. ananassa* Duch.) различного эколого-географического происхождения из биоресурсной коллекции ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур» (Орловская область), из них 5 – отечественной селекции (Ранняя Плотная, Боровицкая, Берегиня, Росинка, Нелли) и 27 – иностранной (Asia, Extra Berry, Mieke Schindler, Aprica, Dukat, Premy, Romantica, Siria, Malwina, Sara, Gala Civ, Darselect, Marmolada, Mallig Centenary, Civ 64, Irma, Dezy, Vivaldi, Onda, Rumba, Joly, Jive, Alba, Frida, Clery, Rubino Civ, Jonsok).

Геномную ДНК для анализа выделяли из молодых листьев земляники методом СТАВ [18] с модификациями Porebski [19] для выделения ДНК из растительной ткани с высоким содержанием полисахаридов и фенольных соединений.

Аmplификацию проводили в реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащей 1× ПЦР буфер, 100 мкМ нуклеотидов, 0,1 мкМ прямого праймера, 0,1 мкМ обратного праймера, 1 ед. Taq ДНК-полимеразы (набор реактивов для ПЦР с Taq-полимеразой HotStart производства «Диаэм») и 100 нг ДНК в амплификаторе T100 (BioRad). Протокол амплификации для SSR маркера контроля выделения ДНК EMFv020 и маркера STS-Rca2_240: начальная денатурация при 95 °С – 3 мин, 40 циклов: 95 °С – 50 с, 64 °С – 50 с, 72 °С – 1 мин, финальная элонгация при 72 °С – 5 мин. Протокол амплификации для маркера SCAR-R1A: начальная денатурация – 95 °С – 3 мин, 35 циклов, 95 °С – 30 с, 60 °С – 45 с, 72 °С – 1 мин, финальная элонгация, 72 °С – 7 мин.

Нуклеотидные последовательности праймеров:

1. STS-Rca2_240 For: 5'-GCC ACG TCA CTA GTC AAA TTC AA-3'

STS-Rca2_240 Rev: 5'-TCA TGG ACA GTG GTC TCA GC-3'

2. SCAR-R1A For: 5'-TGC ATC ATT AAT GTA GAA GTC TTT-3'
 SCAR-R1A Rev: 5'-TGA TGC GAC ATA CAA AAA TAT TAG-3'
 3. EMFv020 For: 5'-CAG GCG CCA ACG GCG TGC TCT TGT-3'
 EMFv020 Rev: 5'- CAG CGC CGC CAG CTC ATC CCT AGG-3'

Разделение продуктов амплификации проводили в 1,0 % агарозном геле в 1× TBE буфере. Размер образовавшихся ПЦР продуктов определяли визуально, сопоставляя с маркером молекулярного веса ДНК Step50Long (Биолабмикс).

Результаты и их обсуждение

Для контроля пригодности выделенной ДНК для анализа все образцы проверены методом ПЦР с праймерами SSR маркера EMFv020 [20]. Ожидаемый размер продукта при амплификации – около 170 п.н., результаты электрофореза представлены на рисунке 1.



Рисунок 1 – Электрофоретический профиль маркера EMFv020 сортов земляники садовой

Примечание. М – маркер молекулярного веса ДНК Step50Long (Биолабмикс), 1 – Elianny, 2 – Asia, 3 – Ранняя Плотная, 4 – Dukat, 5 – Romantica, 6 – Premy, 7 – Joly, 8 – Aprica, 9 – Sara, 10 – Gala Civ, 11 – Darselect, 12 – Siria, 13 – Marmolada, 14 – Malwina.

У всех сортов в генотипе идентифицирован целевой продукт маркера EMFv020 (размер ≈170 п.н.), что свидетельствует о пригодности ДНК для дальнейшего анализа.

В качестве положительного контроля при проведении анализа на присутствие маркера STS-Rca2_240 был выбран сорт Elianny в соответствии с литературными данными [8] (рисунок 2).

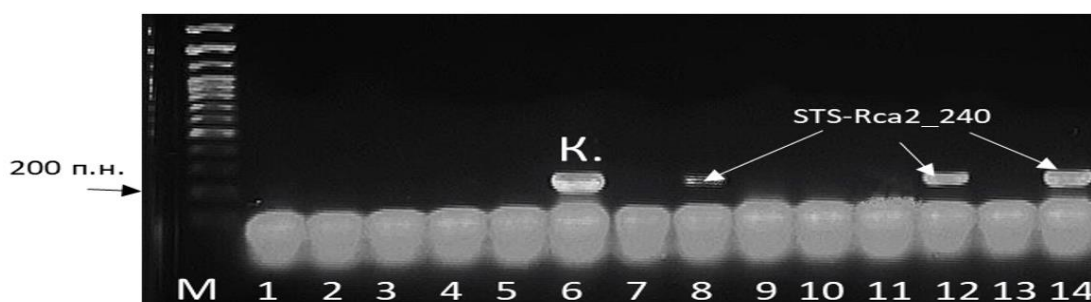


Рисунок 2 – Электрофоретический профиль маркера STS-Rca2_240 сортов земляники садовой

Примечание. М – маркер молекулярного веса ДНК Step50Long (Биолабмикс), 1 – Asia, 2 – Ранняя Плотная, 3 – Dukat, 4 – Romantica, 5 – Premy, 6 – Elianny(к), 7 – Vivaldi, 8 – Aprica, 9 – Sara, 10 – Gala Civ, 11 – Darselect, 12 – Siria, 13 – Marmolada, 14 – Malwina.

В анализируемой коллекции сортов земляники SCAR-маркер STS-Rca2_240 (целевой продукт 240 п.н.), ассоциированный с устойчивостью к антракнозной гнили (к расам *S. acutatum* Simmonds второй группы патогенности), был выявлен у пяти

генотипов: Боровицкая, Aprica, Siria, Malwina, Росинка, данные анализа представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты анализа сортов земляники по маркеру STS-Rca2_240

Присутствие маркера STS-Rca2_240	Количество сортов	Сорт, генотип
+	5	Боровицкая, Aprica, Siria, Malwina, Росинка, Elianny(к)
–	27	Ранняя Плотная, Dukat, Romantica, Extra Berry, Mieke Schindler, Premy, Joly, Sara, Gala Civ, Darselect, Marmolada, Malling Centenary, Civ 64, Irma, Dezy, Vivaldi, Asia, Onda, Нелли, Rumba, Jive, Alba, Frida, Clery, Rubino Civ, Jonsok, Берегиня

В качестве положительного контроля при скрининге 32 сортов земляники из биоресурсной коллекции ВНИИСПК на наличие маркера SCAR-R1A (целевой продукт 285 п.н.) использовали ДНК выделенного генотипа 11(12) из гибридной семьи Ранняя Плотная × Говоровская, уже успешно протестированного в предыдущих исследованиях (неопубликованные данные) (рисунок 3).

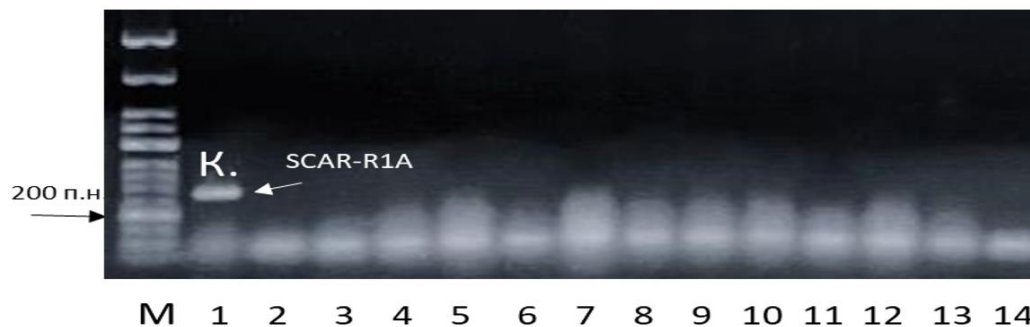


Рисунок 3 – Электрофоретический профиль маркера SCAR-R1A сортов земляники садовой

Примечание. М – маркер молекулярного веса ДНК Step50Long (Биолабмикс), 1 – 11(12) (к), 2 – Asia, 3 – Ранняя Плотная, 4 – Dukat, 5 – Romantica, 6 – Premy, 7 – Joly, 8 – Aprica, 9 – Sara, 10 – Gala Civ, 11 – Darselect, 12 – Siria, 13 – Marmolada, 14 – Malwina.

Маркер SCAR-R1A, ассоциированный с устойчивостью к фитофторозной корневой гнили, не был обнаружен ни у одного из проанализированных сортов.

Маркер STS-Rca2_240 широко применяется для идентификации генотипов, несущих ген устойчивости к антракнозной чёрной гнили (*Rca2*), как в России, так и за рубежом. ДНК-скрининг на наличие маркера Rca2_240 для четырех зарубежных сортов (Aprica, Asia, Joly, Rumba) и одного отечественного сорта (Боровицкая) был ранее проведен и другими отечественными исследователями [11, 17], результаты совпали с нашими данными. Всего, по публикациям российского ученого А. С. Лыжина с соавторами, маркерный фрагмент гена *Rca2* был идентифицирован у шести зарубежных сортов и у двух отечественных [7, 11, 17]. При анализе И. Э. Храбровым 135 сортов земляники садовой коллекции ВИР маркер Rca2_240 был выявлен у 22 сортов, три из них – селекции Майкопской опытной станции [9].

По данным зарубежных исследователей, в частности, E. Lerceteau-Köhler с соавторами [6], диагностический фрагмент маркера STS-Rca2_240 был выявлен у 13 из 43 сортов, а в исследованиях W. Njuguna [21] из проанализированных 112 сортов

маркер обнаружен только у 36. М. Sturzeanu с соавторами [22] проанализировала шесть сортов, наличие маркера STS-Rca2_240 было выявлено только у одного сорта Benton.

Маркер SCAR-R1 широко используется для идентификации генотипов с детерминированной устойчивостью к фитофторозной корневой гнили (*Rpf1*). Отечественные исследователи (А. С. Лыжин с соавторами) провели анализ 48 генотипов земляники, диагностический фрагмент маркера был детектирован лишь у одного сорта Былинная [8,17]. По данным W. Njuguna [21], маркерный фрагмент гена *Rpf1* выявлен у 22 из 158 исследуемых сортов. К. М. Наумес с соавторами [16] провел ДНК-скрининг 133 сортов, маркер SCAR-R1A присутствовал только у 24 образцов. М. Sturzeanu с соавторами [22] выявила диагностический фрагмент 285 п.н. у трех сортов из шести анализируемых.

Обзор данных отечественных и иностранных исследователей показал, что диагностические фрагменты маркеров STS-Rca2_240 и SCAR-R1A в генотипах современных сортов земляники встречаются довольно редко. Необходимо дальнейшее проведение селекционно-генетических исследований с целью привлечения в гибридизацию идентифицированных источников целевых аллелей генов устойчивости.

Выводы

Таким образом, в результате проведённого ДНК-анализа сортов земляники из биоресурсной коллекции ВНИИСПК, SCAR-маркер STS-Rca2_240, тесно сцепленный с геном *Rca2*, определяющим устойчивость земляники к антракнозной чёрной гнили к расам *C. acutatum* Simmonds второй группы патогенности, был выявлен у пяти сортов: Боровицкая, Aprica, Росинка, Siria, Malwina. Маркер доминантного аллеля гена *Rpf1* (определяет устойчивость земляники к фитофторозной корневой гнили *P. fragariae* Hickman) SCAR-R1A не был обнаружен ни у одного из отобранных для анализа сортов земляники. Выделенные нами сорта с генетически детерминированной устойчивостью к антракнозной чёрной гнили (*Rca2*) являются ценными и перспективными для вовлечения в селекцию на комплексную устойчивость к грибным заболеваниям.

Литература/References

1. Liu J., Wang J., Wang M., Zhao J., Zheng Y., Zhang T., Xue L., Lei J. Genome-wide analysis of the R2R3-MYB gene family in *Fragaria × ananassa* and its function identification during anthocyanins biosynthesis in pink-flowered strawberry // Front Plant Sci. 2021. Vol. 30. No. 12. Art. No. 702160. DOI: 10.3389/fpls.2021.702160.
2. MacKenzie S. J., Seijo T. E., Legard, D. E., Timmer L. W., Peres N. A. Selection for pathogenicity to strawberry in populations of *Colletotrichum gloeosporioides* from native plants // Phytopathology. 2007. Vol. 97. No. 9. P. 1130–1140. DOI: 10.1094/PHYTO-97-9-1130.
3. Говорова Г. Ф., Говоров Д. Н. Земляника и клубника: монография. М: Проспект, 2015. 360 с. [Govorova G.F., Govorov D.N. Wild strawberry and strawberry. Monograph. Moscow: Prospect, 2015. 360 p.].
4. Цветкова, Ю. В., Кузнецова А. А. Классические и современные методы диагностики грибов рода *Colletotrichum* на землянике садовой // Фитосанитария. Карантин растений. 2020. №1(1). С. 34–42 [Tsvetkova Y. U. Kuznetsova A. A. Conventional and modern methods for the diagnosis of *Colletotrichum* fungi on garden strawberry *Fragaria ananassa* // Plant Health and Quarantine. 2020. No. 1(1). P. 34–42].
5. Denoyes B., Baudry A. Species identification and pathogenicity study of French *Colletotrichum* strains isolated from strawberry using morphological and cultural characteristics // Phytopathology. 1995. Vol. 85. No.1. P. 53–57. DOI: 10.1094/PHYTO-85-53.
6. Demoyes-Rothanet B., Lerceteau-Köhler 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 Horticulturae. 2004. No. 663. P. 147–152. DOI: 10.17660/ActaHortic.2004.663.19.
7. Lerceteau-Köhler E., Guérin G., Denoyes-Rothan B. Identification of SCAR markers linked to *Rca2* anthracnose resistance gene and their assessment in strawberry germplasm // Theoretical and Applied Genetics. 2005. Vol. 111. No. 5. P. 862–870. DOI: 10.1007/s00122-005-0008-1.
8. 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 // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018. Vol. 22. No.7. P. 795–799. DOI: 10.18699/VJ18.423.

9. 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). С. 73–77. DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-73-77. [Lyzhin A. S., Luk'yanchuk I. V., Zhanova E. V. Polymorphism of the *Rca2* anthracnose resistance gene in strawberry cultivars (*Fragaria × ananassa*) // Proceedings on applied botany, genetics and breeding. 2019. No.180(1). P. 73–77. DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-73-77].
10. Храбров И. Э., Антонова А.Ю., Шаповалов М. И., Семёнова Л. Г. Молекулярный скрининг сортовой коллекции земляники ВИР на наличие маркера гена устойчивости к антракнозной черной гнили *Rca2* // Биотехнология и селекция растений. 2021. Т. 4. №4. С.15–24. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-о3. [Khrabrov I. E., Antonova O. Yu., Shapovalov M. I., Semenova L. G. Molecular screening of the VIR strawberry varieties collection for the presence of a marker for the anthracnose black rot resistance gene *Rca2* // Plant Biotechnology and Breeding. 2021. Vol. 4. No. 4. P. 15–24. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-о3].
11. Lyzhin A., Luk'yanchuk I. Assessment of strawberry varieties by anthracnose resistance gene // BIO Web of Conferences: International Scientific Conference “Biologization of the Intensification Processes in Horticulture and Viticulture” (BIOLOGIZATION 2021). 2021. Vol. 34. Art. No. 02007. DOI: 10.1051/bioconf/20213402007.
12. Лыжин А. С., Лукьянчук И. В. Анализ сортов земляники отечественной селекции по гену *Rca2* устойчивости к антракнозу // Наука и Образование. 2022. Т. 5. № 1. Порядковый номер: 101. [Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V. Analysis of strawberry varieties of Russian selection by *Rca2* anthracnose resistance gene // Science and Education. 2022. Vol. 5. No. 1. Art.No. 101].
13. Безлепкина Е. В., Зубкова М. И., Должикова М. А., Павленко А. А. Использование ДНК-маркеров устойчивости земляники к антракнозной черной гнили и фитофторозной корневой гнили. Методические рекомендации. Орел, 2022. 20 с. [Bezlepkina E. V., Zubkova M. I., Dolzhikova M. A., Pavlenko A. A. The use of DNA markers of resistance of strawberry to anthracnose black rot and Phytophthora root rot. Methodological recommendations. Orel, 2022. 20 p.]
14. Sasnauskas A., Rugienius R., Gelvonauskienė D., Zalunskaitė I., Stanien, G., Siksnianas T., Stanys V., Bobinas C. Screening of strawberries with the red stele (*Phytophthora fragariae*) resistance gene *Rpf1* using sequence specific DNA markers // Acta Horticulturae. 2007. Vol. 760. No.1. P.165–169. DOI: 10.17660/ActaHortic.2007.760.21.
15. Haymes K. M. Molecular genetic studies in *Fragaria* species: *Agrobacterium*-mediated transformation and fine mapping of the *Phytophthora fragariae* resistance gene *Rpf1*. Ph.D. Thesis. Wageningen Agricultural University, 1997. P. 47–58.
16. 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. Amer. Soc. Hort. Sci. 2000. Vol. 125. No. 3. P. 330–339. DOI: 10.21273/JASHS.125.3.330.
17. Лыжин А. С., Лукьянчук И. В. Анализ полиморфизма генотипов земляники (*Fragaria* L.) по гену устойчивости к фитофторозной корневой гнили *Rpf1* для идентификации перспективных для селекции и садоводства форм // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия аграрных наук. 2020. Т. 58. № 3. С. 311–320. DOI: 10.29235/1817-7204-2020-58-3-311-320. [Lyzhin A.S., Luk'yanchuk I.V. Analysis of polymorphism of strawberry genotypes (*Fragaria* L.) according to the strawberry red root spot resistance gene *Rpf1* for identification of strawberry forms promising for breeding and horticulture // Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Agrarian Series. 2020. Vol. 58. No. 3. P. 311–320. DOI:10.29235/1817-7204-2020-58-3-311-320].
18. Doyle J. J., Doyle J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue // Focus.1990. No.12. P. 13–15.
19. Porebski S., Bailey L.G., Baum B.R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components // Plant Molecular Biology Reporter. 1997. Vol. 15. No.1. P. 8–15. DOI: 10.1007/BF02772108.
20. Hadonou A. M., Sargent D. J., Wilson F., James C. M., Simpson D. W. Development of microsatellite markers in *Fragaria*, their use in genetic diversity analysis, and their potential for genetic linkage mapping // Genome. 2004. No. 47. P. 429-438. DOI: 10.1139/g03-142.
21. Njuguna W. Development and use of molecular tools in *Fragaria*. Ph.D. Thesis. Oregon State University, 2010. 370 p.
22. 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 Hortic. 2016. No. 1139. P. 107–112. DOI: 10.17660/ActaHortic.2016.1139.19.

UDC 634.75:577.2:632.4

Keldibekova M. A, Zubkova M. I.

ANALYSIS OF *FRAGARIA ANANASSA* DUCH. CULTIVARS BY *RCA2* AND *RPF1* GENES USING DNA MARKERS

Summary. Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) diseases are one of the limiting factors that seriously affect the yield of plants and lead to economic losses. Anthracnose black rot (*Colletotrichum acutatum*) and late blight (*Phytophthora fragariae* Hickman) are among the most common pathogens that cause significant damage to plantings. Phenotypic selection for disease resistance requires considerable resources and time, while the use of DNA markers makes it possible to determine the presence of genetic determinants quickly and reliably, and genotypes with high predicted indicators can be involved in breeding earlier. The aim of the research was to identify resistant strawberry genotypes to anthracnose black rot and late blight with the use of molecular DNA marker methods. The objects of the study were 32 strawberry cultivars of domestic and foreign origin from the bioresource collection of Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPК) (Orel region). Genomic DNA for analysis was isolated from young strawberry leaves by CTAB protocol with Porebski modifications to isolate DNA from plant tissue with a high content of polysaccharides and phenolic compounds. DNA markers STS-Rca2_240 and SCAR-RIA were used to identify genotypes carrying genes of resistance to anthracnose black rot (*Rca2*) and late blight root rot (*Rpf1*), respectively. As a result of the screening of strawberry cultivars, the SCAR marker STS-Rca2_240, closely linked to the *Rca2* gene (which determines the resistance of strawberries to anthracnose black rot, to *Colletotrichum acutatum* Simmonds races of the 2nd pathogenicity group), was detected in five cultivars: 'Borovitskaya', 'Aprica', 'Rosinka', 'Siria' and 'Malwina'. The marker of the dominant allele of the *Rpf1* gene (which determines the resistance of strawberries to late blight root rot *Phytophthora fragariae* Hickman) SCAR-RIA was not found in any of the cultivars selected for analysis. It is necessary to carry out further breeding and genetic studies to involve identified sources of target alleles of resistance genes into hybridization.

Keywords: *Fragaria ananassa* Duch., DNA markers, *Rca2*, *Rpf1*.

Келдибекова Маргарита Александровна, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории геномного редактирования ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур»; 302530, Россия, Орловская область, Орловский район, д. Жилина, 1; e-mail: margarita-aleksa@bk.ru.

Зубкова Марина Ивановна, научный сотрудник лаборатории селекции и сортоизучения крыжовника, малины и земляники ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур»; 302530, Россия, Орловская область, Орловский район, д. Жилина, 1; e-mail: zubkova@orel.vniispk.ru.

Keldibekova Margarita Aleksandrovna, Cand. Sc. (Agr.), senior researcher of the Genomic Editing Laboratory of the Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding; 1, Zhilina vill., Orel district, Orel region, 302530, Russia; e-mail: margarita-aleksa@bk.ru.

Zubkova Marina Ivanovna, researcher of the Laboratory of breeding and variety study of gooseberries, raspberry and strawberries of the Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding; 1, Zhilina vill., Orel district, Orel region, 302530, Russia; e-mail: zubkova@orel.vniispk.ru.

Дата поступления в редакцию – 20.08.2023.

Дата принятия к печати – 21.09.2023.