

Zadanie 74 Badania nad saturacją mapy genetycznej ‘Elsanta’ x ‘Senga Sengana’ pod kątem lokalizacji genów sprzężonych z ważnymi cechami użytkowymi truskawki (*Fragaria x ananassa*)

W roku 2014 badania prowadzono w ramach 3 tematów badawczych:

Temat badawczy 1

Przygotowanie materiału badawczego i badania fenotypowe

Celem badań było pozyskanie populacji segregującej roślin ‘Elsanta’ x ‘Senga Sengana’, przeznaczonej do analiz molekularnych, ukierunkowanych na utworzenie mapy genetycznej truskawki oraz jej analiza fenotypowa pod kątem podatności roślin na wertycyliozę. Populację mapującą pozyskano z dwóch programów krzyżowań 2013/ 2014 i obejmowała ona łącznie 507 pojedynków. Siewki pochodzące z programu zapyleń 2013 poddano ocenie fenotypowej pod kątem podatności na wertycyliozę. Inokulację roślin izolatem BPR424 *Verticillium dahliae* prowadzono w kontrolowanych warunkach szklarniowych, metodą wg Olbrichta z modyfikacjami własnymi. Inokulum zawierało 10^7 m^{-1} konidiów. Efektywność inokulacji oceniano, stosując zaadoptowany do tego celu test oparty na zagnieżdżonym PCR ze starterami specyficznymi do wytypowanych regionów genomu grzyba. Używając pięciostopniowej skali bonitacyjnej, gdzie 0 oznacza brak objawów chorobowych, a 4 zamieranie roślin, stwierdzono segregację badanej cechy w poddanej analizie populacji. Materiał ze wszystkich siewek, reprezentujących pięć stopni porażenia przez *V. dahliae*, zamrożono dla celów analiz korelacyjnych (genotypowanie v fenotypowanie), mających na celu określenie regionów sprzężonych z cechą tolerancji na wertycyliozę.

Temat badawczy 2

Saturacja mapy E x SS markerami SSR

Celem tematu było wytypowanie markerów mikrosatelitarnych i zweryfikowanie ich przydatności do saturacji szkieletu mapy genetycznej ‘Elsanta’ x ‘Senga Sengana’ oraz ocena czystości genetycznej populacji używanej do badań molekularnych. Analizy molekularne prowadzone na genotypach rodzicielskich pozwoliły na zweryfikowanie w ponad 3.500 testach SSR przydatności 228 spośród 450 par starterów mikrosatelitarnych, wytypowanych z baz danych własnych oraz baz DGR dla genomów rodzaju *Fragaria*, do analizy polimorfizmu badanej populacji. Analiza amplikonów polimorficznych na żelach poliakrylamidowych potwierdziła wysoką heterozygotyczność form rodzicielskich, co stanowi o przydatności populacji CP dla prac nad mapowaniem genomu. Spośród 300 pojedynków ocenianych w 2014 roku pod kątem statusu mieszańca z planowanego zapylecia, tylko jedna siewka miała profil genetyczny odbiegający od wzorów wygenerowanych dla form rodzicielskich ‘Elsanta’ i ‘Senga Sengana’ (analiza polimorfizmu DNA w żelach poliakrylamidowych i w systemie CEQ 8000, po amplifikacji z oligonuklotydami mikrosatelitarnymi, komplementarnymi do sekwencji markerów FvH4005, FvH4006, FvH4009, FvH4010 i FvH4020, w pełni różnicujących testowane odmiany). Siewka ta została wyeliminowana z dalszych badań.

Temat badawczy 3

Określanie położenia markerów na mapie ‘Elsanta’ x ‘Senga Sengana’

Celem tego tematu było sporządzenie ‘szkieletu’ mapy genetycznej truskawki poprzez oflankowanie grup sprzężeń (LG), z ukierunkowaniem na regiony przypuszczalnie związane z pożądanymi cechami. Do przeprowadzenia analizy terminalnej grup sprzężeń użyto 44 spośród 228 badanych starterów, w reakcjach z którymi zidentyfikowano 52 allele segregujące. Szkielet mapy genetycznej został skonstruowany przy użyciu oprogramowania JoinMap v.3.0. Rozkład alleli w populacji weryfikowano testem χ^2 , na podstawie wartości odchylenia pomiędzy teoretycznym i obserwowanym rozkładem alleli markerów genetycznych w badanej populacji mapującej. Przynależność markerów do poszczególnych grup sprzężeń określano na podstawie wartości progu LOD >3.0 . Odległość mapowe zostały

oszacowane przy użyciu funkcji mapującej *Kosambi*. Uzyskany w bieżącym roku szkielet mapy zawiera 21 oflankowanych grup sprzężeń dla siedmiu chromosomów truskawki, przy czym LG2 i LG6 obejmują homologię a-d, LG1, LG3 i LG7 – homologię a-c, LG4 i LG5 – homologię a i b.