

Zadanie 76 **Badania nad możliwością zwiększenia zawartości składników bioaktywnych w owocach truskawki na drodze hybrydyzacji wewnątrz- i międzygatunkowej w obrębie rodzaju *Fragaria***

W roku 2016 badania prowadzono w ramach 2 tematów badawczych:

Temat badawczy 1

Ocena fenotypowa mieszańców F_1 z rodzaju *Fragaria* pod względem plonu owoców i jego jakości oraz zdrowotności roślin oraz wyselekcjonowanie i rozmnożenie mieszańców o najwyższych wartościach tych cech

Celem tematu była ocena mieszańców F_1 z rodzaju *Fragaria* pod kątem ich plenności, jakości owoców oraz tolerancji roślin na ważne gospodarczo choroby liści, a także wyselekcjonowanie na podstawie wyników tej oceny najbardziej wartościowych pojedynków oraz ich rozmnożenie.

Przedmiotem badań było 12.451 siewek pokolenia F_1 , uzyskanych w latach 2014-2015 w wyniku krzyżowań wewnątrz- i międzygatunkowych wybranych form rodzicielskich z rodzaju *Fragaria*, odznaczających się wysoką zawartością w owocach składników bioaktywnych. Siewki te rosły w dwóch seriach doświadczenia: Seria I - 6.354 siewki (posadzone w polu jesienią 2014 roku) oraz Seria II - 6.097 siewek (posadzone jesienią 2015 roku).

Wszystkie siewki oceniono pod kątem ich plenności oraz wielkości, atrakcyjności i jędrności owoców oraz stopnia porażenia roślin przez grzyby wywołujące białą i czerwoną plamistość liści oraz mączniaka prawdziwego truskawki. Do oceny plenności i cech jakości owoców użyto skali bonitacyjnej 1-5, zaś do oceny porażenia siewek przez patogeny grzybowe zastosowano skalę 0-5.

W Serii I badane siewki w większości plonowały słabo. Ponad 41% siewek (2.606 szt.) zaklasyfikowano jako bardzo mało plenne, a 35,2% (2.235 siewek) – jako mało plenne. Nieco ponad 14% całej populacji mieszańców (907 siewek) plonowało na średnim poziomie. Niespełna 3% siewek (186 szt. - 2,93%) określono jako bardzo plenne, zaś 6,61% (420 siewek) – jako plenne. Najwięcej siewek wytwarzało owoce małe lub średniej wielkości (odpowiednio 1.656 siewek - 26,06% i 1.736 siewek - 27,32%). Owoce bardzo małe posiadało 1.113 siewek (17,52%). Bardzo dużymi owocami wyróżniało się 551 mieszańców (8,67%), natomiast dużymi – 1.298 siewek (20,43%). Ponad 36% mieszańców (2.191 siewek) posiadało owoce atrakcyjne w wyglądzie. Do grupy mieszańców o owocach bardzo atrakcyjnych należało 1.086 siewek (17,1%), natomiast o owocach bardzo mało atrakcyjnych - 794 siewki (12,5%). Ponad 57% mieszańców wytwarzało owoce jędrne (1.934 siewki - 30,44%) lub bardzo jędrne (1.711 siewek - 26,93%). Jedynie 593 mieszańce (9,33%) posiadały owoce bardzo mało jędrne, zaś 930 mieszańców (14,64%) – owoce mało jędrne. Bardzo niewielkie objawy białej plamistości liści stwierdzono tylko w przypadku 36 siewek (0,62% populacji), które uznano za bardzo mało podatne oraz 7 siewek (0,07%) ocenionych jako mało podatne. Pozostałe mieszańce, w liczbie 6.311 roślin (99,32%), nie wykazywały żadnych objawów tej choroby. Porażenie siewek przez grzyb *Diplocarpon earliana*, sprawcę czerwonej plamistości liści, wynosiło średnio 2,5 punktu dla całej populacji mieszańców. U 315 mieszańców (4,96%) nie zaobserwowano żadnych oznak porażenia roślin przez ten patogen. Najliczniejszą grupę (1.808 siewek – 28,45% populacji) stanowiły mieszańce odznaczające się bardzo małą podatnością. Do grupy mało podatnych zaliczono 1.406 mieszańców (22,13%), zaś do średnio podatnych – 1.379 siewek (21,7%). 1.122 siewki (17,66%) uznano za podatne na czerwoną plamistość liści, zaś 324 mieszańce (nieco ponad 5% ocenianej populacji) – za bardzo podatne na tę chorobę. Badane mieszańce były w niewielkim stopniu porażone przez grzyb *Sphaerotheca macularis*, sprawcę mączniaka prawdziwego truskawki (średnia ocena - 0,28). Większość mieszańców (4.930 siewek - 77,59% populacji) nie wykazywała żadnych objawów infekcji przez ten patogen (genotypy odporne). Nieznaczące ślady porażenia liści stwierdzono u 909 mieszańców (14,31% populacji), które uznano za bardzo mało podatne. Za genotypy mało podatne na mączniaka uznano 437 siewek (6,88%). Do grupy średnio podatnych zaliczono 67 mieszańców (1,05%). Silne objawy porażenia liści przez mączniaka obserwowano u 11 mieszańców (0,17%), które zakwalifikowano jako podatne.

W oparciu o dwuletnie wyniki oceny plonowania i jakości owoców oraz odporności/podatności roślin na choroby liści, spośród 6.354 genotypów (ocenianych w serii I doświadczenia) wyselekcjonowano i rozmnożono do dalszych badań 90 najbardziej wartościowych pojedynków. Wyselekcjonowane genotypy należą do następujących rodzin: 'Grandarosa' x 'Elsanta' (13 genotypów), 'Pink Rosa' x 'Elsanta' (13 genotypów), 'Grandarosa' x 'Pink Rosa' (7 genotypów), 'Vibrant' x 'Matis' (7 genotypów), 'Polka' x 'Matis' (5 genotypów), 'Onda' x 'Grandarosa' (5 genotypów), 'Camarosa' x 'Pink Rosa' (4 genotypy), 'Honeoye' x 'Pink Rosa' (4 genotypy), 'Camarosa' x 'Matis' (3 genotypy), 'Konfitura' x 'Grandarosa' (3 genotypy), *Fragaria chiloensis* Del Norte x 'Grandarosa' (3 genotypy), 'Konfitura' x 'Elsanta' (2 genotypy), 'Onda' x 'Pink Rosa' (2 genotypy), 'Roxana' x 'Pink Rosa' (2 genotypy), 'Sugar Lia' x 'Grandarosa' (2 genotypy), 'Chandler' x 'Grandarosa' (2 genotypy), *F. chiloensis* Del Norte x 'Matis' (2 genotypy), 'Onda' x 'Matis' (1 genotyp), 'Patty' x 'Pink Rosa' (1 genotyp), 'Patty' x 'Elsanta' (1 genotyp), 'Roxana' x 'Grandarosa' (1

genotyp), 'Sophie' x 'Grandarosa' (1 genotyp), 'Sophie' x 'Matis' (1 genotyp), 'Camarosa' x 'Elsanta' (1 genotyp), 'Cifrance' x 'Grandarosa' (1 genotyp), 'Clery' x 'Pink Rosa' (1 genotyp), 'Konfitura' x 'Pink Rosa' (1 genotyp), 'Madeleine' x 'Pink Rosa' (1 genotyp).

W serii II doświadczenia, prawie 22% siewek (1.340 roślin) oceniono jako bardzo mało plenne, zaś 40% siewek (2.436 roślin) - jako mało plenne. Niespełna 23% populacji (1.385 siewek) plonowało na średnim poziomie. Tylko 332 siewki (5,45%) określono jako bardzo plenne, zaś 604 siewki (9,91%) – jako plenne. Najwięcej mieszańców wytwarzało owoce małe (1.975 siewek - 32,4%) i średniej wielkości (1.683 siewki – 27,6%). Owoce bardzo małe posiadało 768 siewek (12,6%). Bardzo dużymi owocami wyróżniało się 401 mieszańców (6,58%), natomiast dużymi – 1.270 siewek (20,83%). W populacji przeważały siewki, których owoce były atrakcyjne w wyglądzie (1.975 siewek - 31,92%). Bardzo atrakcyjne owoce wytwarzało 1.051 siewek (17,24%). Do grupy mieszańców o owocach bardzo mało atrakcyjnych zaliczono 507 siewek (nieco ponad 8% populacji). Ponad 66% mieszańców wytwarzało owoce jędrne (1.585 siewek - 26,0%) lub bardzo jędrne (2.453 siewki – 40,23%). Zaledwie 284 mieszańce (4,66%) posiadały owoce bardzo mało jędrne, zaś 677 mieszańców (11,1%) – owoce mało jędrne. Bardzo niewielkie objawy białej plamistości liści stwierdzono tylko w przypadku 85 siewek (1,39% całej populacji mieszańców). Większość z tych siewek, bo aż 65 roślin (1,07% populacji) charakteryzowała się bardzo małą podatnością. Do grupy mieszańców mało podatnych zaklasyfikowano 19 mieszańców (0,31%), zaś do średnio podatnych – tylko 1 siewkę (0,02%). Pozostałe 6.012 mieszańców (98,61%) nie wykazywało objawów tej choroby. Porażenie siewek przez grzyb *Diplocarpon earliana*, sprawcę czerwonej plamistości liści wynosiło średnio 1,70 dla całej populacji mieszańców. U 305 mieszańców (5,0%) nie zaobserwowano żadnych oznak porażenia roślin przez ten patogen. Najbardziej liczne grupy (po około 37%) stanowiły mieszańce, uznane za bardzo mało lub mało podatne. 1.023 mieszańce (16,78%) określono jako średnio podatne. Niespełna 4% siewek (238 roślin) uznano za podatne, zaś 0,1% (6 roślin) – za bardzo podatne na czerwoną plamistość liści. Badana populacja mieszańców truskawki wykazywała niewielki stopień porażenia przez grzyb *Sphaerotheca macularis*, sprawcę mączniaka prawdziwego truskawki (średnia ocena - 0,41). Większość mieszańców (4.778 roślin - 78,37% populacji) nie wykazywała żadnych objawów infekcji przez ten patogen (genotypy odporne). Do grupy bardzo mało podatnych zaliczono 626 mieszańców (10,27%). Za mało podatne na mączniaka uznano 466 siewek (7,64%), zaś za średnio podatne - 153 mieszańce (2,51%). Tylko 60 mieszańców (0,98% populacji) okazało się podatne, zaś 14 siewek (0,23% populacji) – bardzo podatne na tę chorobę.

Temat badawczy 2

Zweryfikowanie statusu mieszańca międzygatunkowego dla uzyskanych z kontrolowanego zapylenia 25 roślin mieszańcowych F₁ w obrębie rodzaju *Fragaria*

Celem tematu było potwierdzenie statusu 25 mieszańców międzygatunkowych F₁, uzyskanych z krzyżowania kontrolowanego, w oparciu o testy mikrosatelitarne i wykonanie analizy uzyskanych wzorów DNA pod kątem oceny stopnia powinowactwa genetycznego w/w genotypów.

Badania przeprowadzono na roślinach 25 mieszańców F₁, uzyskanych z krzyżowania dwóch gatunków z rodzaju *Fragaria*. DNA do badań izolowano z w/w roślin metodą opartą na CTAB, opisaną przez Doyle i Doyle (1990). Czystość uzyskanych preparatów określano na podstawie analizy elektroforegramów uzyskanych po elektroforezie horyzontalnej w 0,8% żelu agarozowym oraz w oparciu o pomiar współczynników ekstynkcji próbki przy długości fali 230, 260, 280 i 320 nm. Koncentrację DNA w preparacie oznaczano poprzez porównanie z DNA faga λ o znanej koncentracji po elektroforezie w żelu agarozowym oraz spektrofotometrycznie, przy długości fali 260 nm. Polimorfizm DNA określano w oparciu o wyniki testów SSR, umożliwiających analizę regionów mikrosatelitarnych, w obecności 9 par starterów mikrosatelitarnych: BFACT045, ARSFL009, ARSFL015, COBRA-R, EMFvi003, EMFv003, FAC001, FrH4177, FrH4163, wytypowanych w pierwszym roku badań.

Łącznie przeprowadzono 1.332 reakcje amplifikacji. W reakcji amplifikacji z testowanymi parami starterów uzyskano 75 amplikonów, z których 73 (97%) było polimorficznych. Długość amplikonów wahała się od 170 do 450 pz. Analizowane genotypy truskawki scharakteryzowano na podstawie 15-27 polimorficznych fragmentów DNA. Status mieszańca potwierdzono dla wszystkich testowanych siewek. Analiza wzorów DNA uzyskanych dla mieszańców o numerach od 1 do 3 (*F. chiloensis* Del Norte x 'Panvik') pozwoliła zaobserwować procentowy udział fragmentów DNA charakterystycznych dla formy ojcowskiej, od 25% dla mieszańca nr 1 do 46% dla mieszańca nr 3. Na matrycy DNA wydzielonych z mieszańców nr: 7, 8 i 9 (*F. chiloensis* Yaquina A x 'Matis') procentowy udział formy ojcowskiej wynosił odpowiednio: 30%, 37% i 33%. Dla genotypów, uzyskanych w wyniku krzyżowania *F. chiloensis* Yaquina A x 'Grandarosa' obserwowano najniższy procentowy udział fragmentów DNA charakterystycznych dla formy ojcowskiej, który wynosił od 6% dla mieszańców nr 5 i 6 do 7% dla mieszańca nr 4.

Poster prezentowany podczas III International Symposium on Horticulture in Europe, Chania, Creete, Greece, October 17-21, 2016, uwzględnia wyniki oceny plonu i jego jakości oraz zdrowotności roślin z roku 2015 (Temat badawczy 3 - Sprawozdanie za rok 2015, str. 30-49) oraz wyniki oceny plonu i jakości owoców z roku 2016 (Temat badawczy 1 - Sprawozdanie za rok 2016, str. 6-9 i 14-20):

Masny Agnieszka, Żurawicz Edward (Research Institute of Horticulture, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland) „External fruit quality and leaf disease susceptibility of *Fragaria* hybrids from intra- and interspecific crosses”.

EXTERNAL FRUIT QUALITY AND LEAF DISEASE SUSCEPTIBILITY OF *FRAGARIA* HYBRIDS FROM INTRA- AND INTERSPECIFIC CROSSES



Agnieszka Masny, Edward Żurawicz
Department of Horticultural Crop Breeding,
Research Institute of Horticulture, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, POLAND



INTRODUCTION

An effectiveness of the conventional plant breeding depends on appropriate selection of parental genotypes for the crosses, aimed at obtaining a desirable goal. These genotypes are usually chosen on the basis of complementarity of phenotypic traits, but then the effect is hard to predict. Assessment of phenotypic value, revealing in the progeny allows to determine the usefulness of their parental forms for the breeding and select families with high fruit quality and plant tolerance to fungal diseases.

MATERIALS AND METHODS

- The studies were performed in 2014-2016 at the Research Institute of Horticulture, Skierniewice, Poland.
- The F1 hybrids were obtained from intra- and interspecific hybridization of 24 parental *Fragaria* genotypes in early spring of 2014.
- The field experiment was established in the autumn of 2014. It included 6,354 seedlings belonging to 57 hybrid families.
- External fruit quality (fruit size, attractiveness (fruit shape, colour and glossiness) and firmness) was evaluated using ranking scale 1-5, where 1 means the lowest value and 5 — the highest value of the traits.
- Level of leaf disease severity (common leaf spot - *Mycosphaerella fragariae*, leaf scorch - *Diplocarpon earliana*, and powdery mildew - *Sphaerotheca maculans*) were evaluated using ranking scale 0-5, where 0 means plants with no symptoms of the disease and 5 — majority of the leaf area infected by fungi.



RESULTS AND CONCLUSIONS

The average share (%) of the hybrids in different classes of fruit quality (fruit size, attractiveness and firmness), based on two-year observation (2015-2016), was presented on Figures 1-3. The most numerous were hybrids with medium-size and large fruits. More than 80% of large or very large fruits were produced by hybrids belonging to 'Chandler' x 'Grandarosa', 'Konfitura' x 'Grandarosa', 'Sophie' x 'Grandarosa' and 'Camarosa' x 'Grandarosa' families. On the other hand, more than 80% of fruits classified as small or very small were produced by 'Spadeka' x 'Elsanta' and 'Spadeka' x 'Pink Rosa' hybrids. The majority of the hybrids had attractive and very attractive fruits. The most attractive were the fruits derived from 'Chandler' x 'Grandarosa', 'Alicia' x 'Grandarosa', 'Sophie' x 'Grandarosa' and 'Grandarosa' x 'Pink Rosa' hybrids. The most unattractive fruits came from 'Spadeka' x 'Elsanta', 'Spadeka' x 'Pink Rosa' and 'Camarosa' x 'Elsanta' families. The hybrids of 'Camarosa' x 'Grandarosa', 'Candice' x 'Grandarosa', 'Cifrance' x 'Pink Rosa' and 'Chandler' x 'Grandarosa' had the firmest fruits, while the offspring of 'Spadeka' x 'Elsanta', 'Spadeka' x 'Grandarosa' and 'Spadeka' x 'Pink Rosa' — the softest ones.

The share (%) of the hybrids in the classes of plant susceptibility to fungal leaf diseases (common leaf spot, leaf scorch and powdery mildew), based on one-year observation (2015), was presented on Figures 4-6. Very few symptoms of leaf spot were observed on the leaves of 20 hybrids only. The remaining seedlings did not show any symptoms of the disease. *D. earliana* caused very few symptoms of leaf scorch on the majority of the hybrids. All the hybrids belonging to 'Onda' x 'Elsanta', 'Onda' x 'Matis', 'Patty' x 'Camarosa', 'Patty' x 'Pink Rosa', 'Patty' x 'Elsanta', 'Grandarosa' x 'Matis', 'Vibrant' x 'Pink Rosa', 'Paladyn' x 'Vibrant', 'Elsanta' x 'Pink Rosa', 'Elsanta' x 'Grandarosa', 'Honeyoye' x 'Elsanta', 'Roxana' x 'Pink Rosa', 'Sophie' x 'Grandarosa', 'Sugarlia' x 'Pink Rosa', 'Sugarlia' x 'Elsanta' and 'Camarosa' x 'Grandarosa' families exhibited no symptoms of the disease. The majority of the hybrids showed no symptoms of powdery mildew. The most resistant to this disease were seedlings derived from 'Spadeka' x 'Pink Rosa', *F. chiloensis* Yaquina B x 'Grandarosa' and 'Spadeka' x 'Elsanta' families.

The studies showed that 'Grandarosa', 'Chandler', 'Camarosa' and 'Sophie' transmit good fruit quality to their offspring, while 'Onda', 'Patty', 'Grandarosa', 'Pink Rosa', 'Matis', 'Vibrant', 'Elsanta', 'Sugarlia', 'Camarosa' and 'Spadeka' transmit plant tolerance to leaf diseases, and can be considered as good donors of these traits in breeding of new strawberry cultivars.

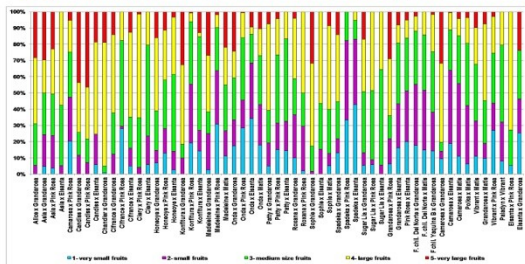


Fig. 1. Share (%) of the hybrids in the classes of fruit size

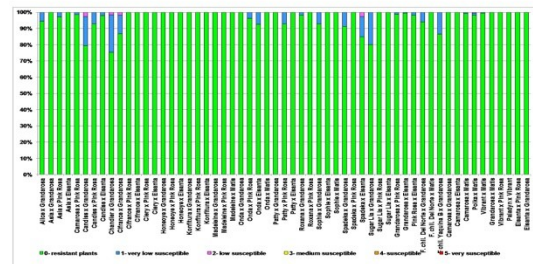


Fig. 4. Share (%) of the hybrids in the classes of plant susceptibility to *M. fragariae*

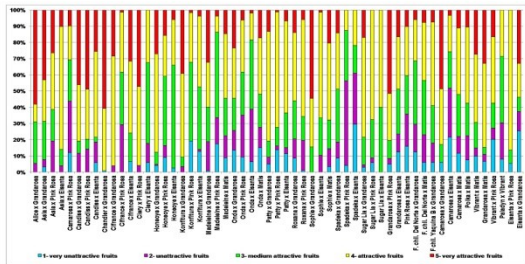


Fig. 2. Share (%) of the hybrids in the classes of fruit attractiveness

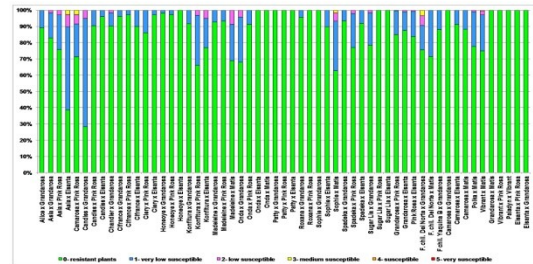


Fig. 5. Share (%) of the hybrids in the classes of plant susceptibility to *D. earliana*

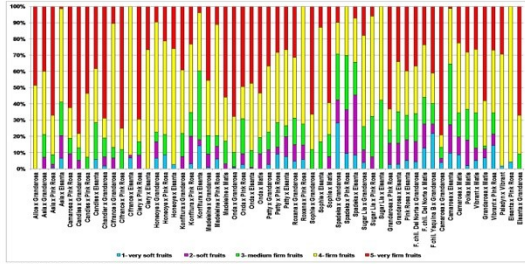


Fig. 3. Share (%) of the hybrids in the classes of fruit firmness

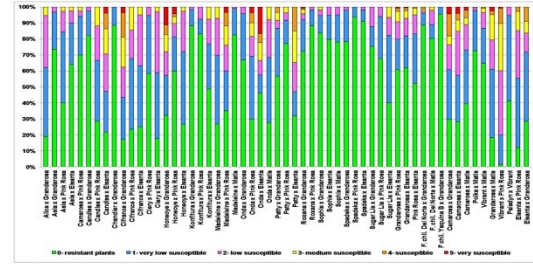


Fig. 6. Share (%) of the hybrids in the classes of plant susceptibility to *S. maculans*

Abstrakt zamieszczony w materiałach konferencyjnych:

Masny Agnieszka, Żurawicz Edward (Research Institute of Horticulture, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland) „External fruit quality and leaf disease susceptibility of *Fragaria* hybrids from intra- and interspecific crosses”. III International Symposium on Horticulture in Europe – Programme and Book of Abstracts, Chania, Crete, Greece, October 17-21, 2016: 151.

External fruit quality and leaf disease susceptibility of *Fragaria* hybrids from intra- and interspecific crosses

Agnieszka Masny, Edward Żurawicz

Research Institute of Horticulture, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland

Agnieszka.Masny@inhort.pl

The studies on the phenotypic value of *Fragaria* hybrids were performed in 2014-2015 at the Research Institute of Horticulture in Skierniewice, Poland. The F₁ hybrids were obtained from intra- and interspecific hybridization in early spring of 2014. The field experiment was established in the autumn of 2014. It included more than 6000 seedlings belonging to 57 hybrid families. Fruit quality (fruit size, firmness and appearance) as well as the level of leaf disease severity (leaf spot - *Mycosphaerella fragariae*, leaf scorch - *Diplocarpon earliana*, and powdery mildew - *Sphaerotheca macularis*) were evaluated.

The most numerous in the population were hybrids with medium-size and large fruits. Only large or very large fruits were produced by hybrids belonging to ‘Chandler’ x ‘Grandarosa’, ‘Konfitura’ x ‘Grandarosa’, ‘Camarosa’ x ‘Grandarosa’ and ‘Grandarosa’ x ‘Pink Rosa’. The majority of the hybrids had attractive and very attractive fruits. The most attractive were the fruits derived from ‘Grandarosa’ x ‘Pink Rosa’, ‘Camarosa’ x ‘Grandarosa’, ‘Chandler’ x ‘Grandarosa’, ‘Sophie’ x ‘Grandarosa’ and ‘Clery’ x ‘Pink Rosa’. The hybrids of ‘Chandler’ x ‘Grandarosa’, ‘Clery’ x ‘Pink Rosa’ and ‘Camarosa’ x ‘Grandarosa’ had the firmest fruits.

Very few symptoms of leaf spot were observed on the leaves of 20 hybrids only. The remaining seedlings did not show any symptoms of the disease. *D. earliana* caused very few symptoms of leaf scorch on the majority of the hybrids. Most of the hybrids belonging to ‘Clery’ x ‘Elsanta’ and ‘Alice’ x ‘Grandarosa’ exhibited no symptoms of the disease. The majority of the hybrids showed no symptoms of powdery mildew. The most resistant to this disease were seedlings derived from ‘Madeleine’ x ‘Matis’, *F. chiloensis* Del Norte’ x Matis’, ‘Onda’ x ‘Grandarosa’, ‘Camarosa’ x ‘Pink Rosa’, ‘Sophie’ x ‘Elsanta’, *F. chiloensis* Yaquina B x ‘Grandarosa’, *F. chiloensis* Del Norte x ‘Grandarosa’, ‘Spadeka’ x ‘Grandarosa’, ‘Sophie’ x ‘Grandarosa’, ‘Polka’ x ‘Matis’ and ‘Onda’ x ‘Matis’.

The studies showed that some cultivars, such as ‘Camarosa’, ‘Chandler’, ‘Clery’ and ‘Grandarosa’, transmit plant tolerance to leaf diseases and good fruit quality, and can be considered good donors of these traits for breeding new strawberry genotypes.

This study has been funded by the Polish Ministry of Agriculture and Rural Development (“Basic research for the biological progress”) – Grant 76 “Studies on possibilities of increasing of bioactive compounds in strawberry fruits through intra- and interspecific hybridization within *Fragaria* genus”.

Poster prezentowany podczas 3rd International Scientific Conference „Sustainable Fruit Growing: From Plant to Product”, August 17-19, 2016, Riga-Dobeles, Latvia, uwzględnia wyniki z lat 2014-2015 (Temat badawczy 1- Sprawozdanie za rok 2015, str. 4-19 oraz za rok 2014, str. 4-12).

Anita Kuras, Agnieszka Masny, Małgorzata Korbin (Research Institute of Horticulture, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland) „Molecular diversity of selected *Fragaria* genotypes determined with microsatellite markers”.

MOLECULAR DIVERSITY OF SELECTED *FRAGARIA* GENOTYPES DETERMINED WITH MICROSATELLITE MARKERS



ANITA KURAS, AGNIESZKA MASNY, MALGORZATA KORBIN

RESEARCH INSTITUTE OF HORTICULTURE
KONSTYTUCJI 3 MAJA 1/3,
96-100 SKIERNIEWICE, POLAND

INTRODUCTION

Estimation of the level of genetic diversity within collection of plants used as the parental forms is essential for choice of breeding directions. Crossing closely related cultivars, including inbreeding process, often lead to loss of plant vigor, yield and fruit size in obtained progenies. Determination of plant relatedness in traditional breeding was based on analysis of morphological traits. This approach was limited by the visual similarity of many cultivated varieties and the effect of environmental factors. In opposite, the molecular tools, introduced in the investigation of plants at the end of the previous century, allow to characterize genotypes regardless of plant physiological stage, examined tissues and the environmental conditions. Special advantages such as the short time required to obtain final results, and their highly informative nature were also described for these techniques. Among many types of molecular markers, microsatellites are known as co-dominant and highly polymorphic, as well as useful for plant genotype identification and estimation of plant diversity. In the presented study we showed usefulness of microsatellite-based SSR technique for evaluation of diversity of 39 genotypes from our collection of *Fragaria* genus.

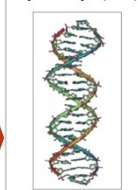
MATERIAL AND METHODS

PLANT MATERIAL: 39 GENOTYPES OF *FRAGARIA*

No.	NAME OF GENOTYPES	PEDEGREE	COUNTRY OF ORIGIN
1	Alba	pedigree reserved	Italy
2	Alice	Korona, Totem, Holiday, Toga, Redguntlet, Gorella, Redcheit, Witgoud, Sarawap	United Kingdom
3	Asia	pedigree reserved	Italy
4	Camarosa	Douglas x Cal 85 214-605	USA
5	Canada	CF 113 x Allaire	France
6	Charlotte	Douglas x Cal 72 361-105	USA
7	Charfette	Mara des Bois x Cal 19	France
8	Citronne	Scott x Chaudel	France
9	Cigaline	Clairette x Fallglof	France
10	Clady	Scott x Chaudel	France
11	Clary	Scott Charles's Marmolada/Ouseur	France
12	Daradot	Elaena x Parker	France
13	Dora	(86 288 1 x Corina) x (Samsu x 83 44 1)	Italy
14	Elaena	Gorella x Holiday	The Netherlands
15	<i>F. chiloensis</i> Yaquina A	wild <i>Fragaria</i> genotypes	
16	<i>F. chiloensis</i> Yaquina Y B	wild <i>Fragaria</i> genotypes	
17	<i>F. chiloensis</i> Del Norte	wild <i>Fragaria</i> genotypes	
18	<i>F. chiloensis</i> Yaquina Chile	wild <i>Fragaria</i> genotypes	
19	<i>F. chiloensis</i> ssp. <i>chiloensis</i> f. <i>patagonica</i>	wild <i>Fragaria</i> genotypes	
20	<i>F. virginiana</i> ssp. <i>glauca</i>	wild <i>Fragaria</i> genotypes	
21	<i>F. nubicola</i>	wild <i>Fragaria</i> genotypes	
22	<i>F. vesca</i> ssp. <i>vesca</i> Korsica	wild <i>Fragaria</i> genotypes	
23	Grandiosa	Granda x Camarosa	Poland
24	Honoree	Rattan x New York 844	USA
25	Koriniana	Polgorte unknown	Spain
26	Madeline	Miranda x Adick	Italy
27	Marmolada/Ouseur	Nr 15 x Garella	Italy
28	Maria	Calmaro x Camarosa	Spain
29	Mara	Mara Des Bois x Marianne	France
30	Onda	Sel 83 52 1 x Marmolada	Italy
31	Panik	Frausa x Vilar	Poland
32	Party	Honoree x Marmolada/Ouseur	Italy
33	Pink Rosa	Granda x Sophie	Poland
34	Pinka	Indala x Veretta	The Netherlands
35	Romana	pedigree reserved	Italy
36	Sophie	(Hapl x Stranline) x Kent	United Kingdom
37	Spadela	pedigree unknown	Germany
38	Sugar Lab	(86 288 1 x Corina) x Miss	Italy
39	Vibant	SID01 101 x EM881	United Kingdom

DNA EXTRACTION

Doyle & Doyle (1990)



DNA QUANTIFICATION



Amersham Pharmacia Biotech's Gene Quant pro Spectrophotometer

POLYMERASE CHAIN REACTIONS: SIMPLE SEQUENCE REPEAT TECHNIQUE (SSR)



- SSR (13 µl) - 5 ng of DNA template, 1.25 mM of dNTP, 0.35 µM of primer, 10 x PCR buffer II, 2.5 mM of MgCl₂ and 0.325 U of Tag polymerase (Applied Tag Biosystems)
- PCR conditions - 4 cycles: 94°C/ 90 s, 65°C - 55°C/ 60 s (a temperature drop of 1°C per 1°C), 72°C/ 60 s, 30 cycles: 94°C/ 60 s, 60°C - 50°C/ 90 s, 72°C/ 60 s), 72°C/ 10 min.
- 42 primers: BFACT002, BFACT004, BFACT036, BFACT043, BFACT044, BFACT045, ARSFL009, ARSFL010, ARSFL011, ARSFL012, ARSFL015, ARSFL022, ARSFL031, EMFv132, FrH4176, EMFv014, EMFv016, EMFv021, EMFv029, EMFv003, EMFv003, EMFv023, EMFv008, EMFv104, EMFv213, FAC001, UFO004, FrH4155, FrH4156, FrH4163, FrH4175, FrH4177, FrH4169, CFVCT015, CFVCT06, CFVCT031, UDF001, EMFv214, CFKT0111, BFv16-0701, COB17138, COBRA-R
- PCR products visualization: 2% agarose gel, ethidium bromide, UV light

MOLECULAR DATABASE ANALYSIS:



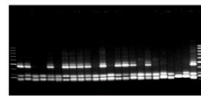
Genetic similarity coefficient (Jaccard's method)
Cluster analysis,
unweighted pair-group method with arithmetic averages

RESULTS

PART OF GENETIC PROFILES TABLE

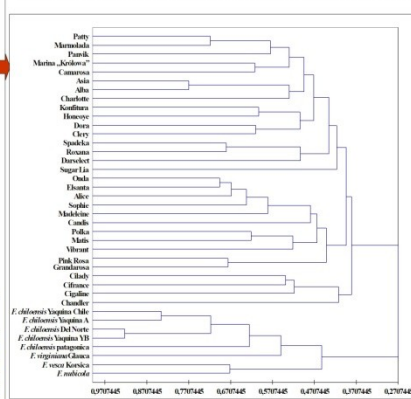
NAME	PRIMERS									
	BFACT045	ARL P009	ARS FL015	COBR A-R	EM-FV100	EMF 001	FAC 4177	FVH 4163		
ALBA	220, 320, 450, 500	220, 280, 0	200, 250, 0	275, 340, 390	240, 260	250, 320	200, 250, 300	250, 300, 400		
CAMAROSA	220, 320, 450, 500	220, 300, 0	210, 250, 0	275, 340, 320	250	250, 320	220, 250, 300	400, 420		
CHARLOTTE	220, 320, 0	220, 280, 0	210, 250, 275	275, 340, 275	240, 250, 260	250, 320	200, 250, 300	400, 420		
CIFRANCE	200, 220, 0, 320	220, 280, 0	200, 250, 0	275, 340, 275	240, 260	250, 320	220, 250, 300	400, 420		
CIGALINE	220, 320, 0	220, 280, 450, 500	200, 250, 0	275, 340, 320	240, 260	250, 320	220, 250, 300	410		

POLYMORPHISM OBTAINED WITH PRIMER BFACT045



- Among 42 primers applied in the tests only 20 sequences generated clear and reproducible polymorphic bands.
- In total, 148 alleles (97%) with size 140-800 bp were obtained.
- The mean number of alleles per locus was determined as 6.5.
- Each of the 39 genotypes of *Fragaria* have been characterized on the basis of 11-25 polymorphic DNA fragments

DENDROGRAM: SSR METHOD, DIVERSITY FROM 27 TO 87%



SUMMARY

Four clusters of genotypes were revealed. The first one contained wild *Fragaria* genotypes: *F. chiloensis* subsp. *pacifica* Yaquina A, *F. chiloensis* subsp. *pacifica* Yaquina B, *F. chiloensis* Yaquina Chile, *F. chiloensis* Del Norte, *F. chiloensis* ssp. *chiloensis* f. *patagonica*, *F. virginiana* ssp. *glauca*, *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica, *F. nubicola*. Remaining three clusters consists cultivated *Fragaria* cultivars: derived from 'Redguntlet' and 'Gorella' (cluster I), cultivars related to 'Camarosa' (cluster II) and cultivars derived from

Abstrakt zamieszczony w materiałach konferencyjnych:

Anita Kuras, Agnieszka Masny, Małgorzata Korbin (Research Institute of Horticulture, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland) „Molecular diversity of selected *Fragaria* genotypes determined with microsatellite markers”. RPD Abstracts 2: 16. Journal for scientific abstracts 3rd International Scientific Conference „Sustainable Fruit Growing: From Plant to Product”, August 17-19, 2016, Riga-Dobele, Latvia: 16.

Molecular diversity of selected *Fragaria* genotypes determined with microsatellite markers

Anita Kuras, Agnieszka Masny, Małgorzata Korbin

Research Institute of Horticulture, Konstytucji 3Maja 1/3 Str., 96-100 Skierniewice, Poland

e-mail.: anita.kuras@inhort.pl

Microsatellites, consisting tandemly repeated DNA motifs with length from 2 to 5 nucleotides, are known as co-dominant and highly polymorphic markers. The aim of the presented study was to evaluate diversity of 39 representatives of *Fragaria* genus using microsatellite-based SSR technique. Among 42 primers applied in the tests only 20 generated clear and reproducible polymorphic bands. In total, 148 alleles with size 140-800 bp were obtained. The mean number of alleles per locus was determined as 6.5.

Cluster analysis by the unweighted pair-group method with arithmetic averages (UPGMA) revealed a degree of genetic similarity of the analysed genotypes ranging from 27 to 87%. Totally, four clusters of genotypes were observed. The first one contained wild *Fragaria* genotypes; *F. chiloensis* Yaquina A, *F. chiloensis* Yaquina B, *F. chiloensis* Yaquina Chile, *F. chiloensis* Del Norte, *F. chiloensis* ssp. *chiloensis* f. *patagonica*, *F. virginiana* ssp. *glauca*, *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica, *F. nubicola*. Remaining three clusters covered *Fragaria* varieties, it means; cultivars derived from 'Redgauntlet' and 'Gorella' (group I), cultivars related to 'Camarosa' (group II) and cultivars derived from 'Chandler' (group III). Molecular analysis confirmed information characterizing pedigree and geographical location of evaluated genotypes.

Key words: diversity, *Fragaria*, SSR, UPGMA

The results obtained in the framework of the project No. HOR hn-801-6/15-76 funded by the Polish Ministry of Agriculture and Rural Development