

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 2017 roku badania realizowano w ramach trzech tematów badawczych:

Temat badawczy 1. Przygotowanie materiału badawczego i badania fenotypowe.

Celem prac było utrzymanie sub-populacji segregującej 'Elsanta' x 'Senga Sengana' (A) przeznaczonej do analiz molekularnych (podczas zagęszczania mapy genetycznej truskawki) oraz oceny fenotypowej uzyskanych siewek pod kątem jakości owoców, a także przygotowanie kolejnej sub-populacji, (F) przeznaczonej do oceny fenotypowej pod względem podatności na mączniaka prawdziwego truskawki. Wyjściową populację mapującą 'Elsanta' x 'Senga Sengana' poszerzono o 100 pojedynków F1, pozyskanych z programu zapyień 2016/2017. Siewki uzyskane w bieżącym roku poddano ocenie fenotypowej pod względem podatności na porażenie grzybem *Sphaerotheca macularis*. Owoce siewek z sub-populacji A, uprawianych w kwaterze polowej, poddane zostały ocenie pod względem stopnia jędrności oraz zawartości ekstraktu i kwasu askorbinowego. Rozkład fenotypowy cechy tolerancji na mączniaka prawdziwego oraz cech warunkujących jakość owoców wskazał na wystąpienie zjawiska segregacji w uzyskanej puli genotypów mieszańcowych.

Temat badawczy 2. Saturacja istniejącej mapy E x SS markerami SSR.

Celem badań było zagęszczenie szkieletu mapy genetycznej 'Elsanta' x 'Senga Sengana'. Do analiz segregacji alleli markerów SSR w obrębie populacji mapującej wytypowano 100 starterów mikrosatelitarnych. Zidentyfikowano 395 alleli polimorficznych (2014-2017r.), segregujących w genomach roślin mieszańcowych. Trzysta pięćdziesiąt alleli reprezentowało zgodny z 'mendlowskim' rozkład genotypowy (test χ^2), natomiast 45 alleli zweryfikowano pod względem typu segregacji, rozkładu alleli w populacji i frekwencji rekombinacji ($Rec.< 30$). Istniejąca mapa genetyczna genomu truskawki wzbogacona została w loci dodatkowych 59 alleli markerów SSR. Uzyskana tym sposobem zintegrowana mapa genetyczna truskawki zawiera obecnie 46 grup sprzężeń, stanowiących fragmenty siedmiu chromosomów genomu tego gatunku, a wielkość zmapowanego genomu to 1 620,9 cM.

Temat badawczy 3. Określanie położenia markerów cech i regionów QTL na mapie 'Elsanta' x 'Senga Sengana'.

Badania obejmowały:

- ocenę czystości genetycznej mieszańców z otrzymanej w 2017 roku sub-populacji F,
- ocenę korelacji fenotypowo-genotypowych w sub-populacjach A, B, C, D, E, F, badanych w latach 2014-2017,
- analizę terminalną i zagęszczenie wytypowanych grup sprzężeń.

(a) Status mieszańca z planowanego zapylenia (132 siewki) został potwierdzony w testach molekularnych (analiza polimorfizmu DNA po amplifikacji z 5 oligonuleotydami mikrosatelitarnymi) dla 121 testowanych pojedynków. Genotypy z niekontrolowanego zapylenia (11) wyeliminowano z dalszych badań molekularnych.

Na podstawie analizy rozkładu alleli markerów SSR w roślinach populacji 'Elsanta' x 'Senga Sengana' poddanych ocenom fenotypowym w latach 2014-2017 (792 siewki) pod względem: odporności na patogeny (*V. dahliae*, *C. acutatum*, *M. fragariae* oraz *S. macularis* – sub-populacje C, D, E, F), tolerancji na przemrażanie (sub-populacja B poddanych działaniu dwóm temp. -10 i -12 °C) oraz wartości wybranych parametrów jakościowych owoców (sub-populacja A) oszacowano (b) stopień korelacji genotypowo-fenotypowych. Markery SSR zlokalizowane w grupie sprzężeń LG2 genomów obu odmian wykazywały istotny stopień korelacji ze wszystkimi badanymi cechami fenotypowymi (współ. korelacji $K^* = 2,2-11,2$). Dla markerów zlokalizowanych w tej grupie sprzężeń średni stopień korelacji z odpornością na mączniaka prawdziwego truskawki ($K^* < 2 - 5,66$) odnotowano tylko w genomie odmiany 'Senga Sengana'. Dla obu form rodzicielskich stwierdzono istotny poziom korelacji pomiędzy jędrnością owoców, zawartością ekstraktu oraz witaminy C a markerami zlokalizowanymi

odpowiednio w grupach LG4 (witamina C i jędrność), LG6 (Brix) i LG7 (witamina C). Średnią, ale istotną ($p=0,05$) korelację odnotowano dla markerów SSR zlokalizowanych w grupie LG5 genomu 'Senga Sengana' i cechy jędrności owoców. Dla cech jakości owoców (dane z dwóch sezonów) odnotowano stabilną wartość współczynnika korelacji z pojedynczymi markerami SSR, zlokalizowanymi w LG2 i LG4 obu badanych odmian. Żaden z markerów zlokalizowanych na dotychczas sporządzonej mapie genomu 'Elsanta' nie wykazywał istotnej korelacji z cechą odporności na mączniaka prawdziwego truskawki.

(c) Analizę terminalną wybranych regionów QTL przeprowadzono na podstawie analiz segregacji 52 alleli 30 markerów SSR, różnicujących analizowane formy rodzicielskie. Loci segregujących alleli zidentyfikowano w obrębie jedenastu zmapowanych fragmentów chromosomów odmiany 'Elsanta' (264 cM) oraz dwunastu zmapowanych fragmentów chromosomów 'Senga Sengana' (260 cM). Wydzielony region genomu 'Elsanta' zawiera 44 allele, a odmiany 'Senga Sengana' – 35 alleli markerów SSR.

Wynik zaprezentowane zostały podczas Ogólnopolskiej Ogrodniczej Konferencji Naukowej pt. 'Ziemia, Roślina, Człowiek' z okazji 30-lecia Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych, Kraków, 20-21 września 2017 r. (Zał. 1 i 2)

- Keller-Przybyłkiewicz S., Napiórkowska B., Strączyńska K., Masny A., Jęcz T., Moustafa-Wahab A.-R., Korbin M. „Korelacja genotypowo-fenotypowa dla wybranych cech użytkowych truskawki odmian 'Elsanta' i 'Senga Sengana'.

Korelacja genotypowo-fenotypowa dla wybranych cech użytkowych truskawki odmian 'Elsanta' i 'Senga Sengana'

Keller-Przybyłkiewicz Sylwia*, Napiórkowska Bogusława, Strączyńska Krystyna, Masny Agnieszka,
Jęcz Tomasz, Abdel- Rahman Moustafa – Wahab, Korbin Małgorzata

Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

* Autor korespondujący: sylwia.keller@inhort.pl

Ze względu na skomplikowany, oktoploidalny układ genomu ($2n=8x=56$), truskawka (*Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier) jest obiektem bardzo trudnym dla zaawansowanych badań genetyczno-hodowlanych i oceny interakcji między genami warunkującymi różne cechy użytkowe. W Instytucie Ogrodnictwa rozpoczęto analizę korelacji genotypowo-fenotypowych, bazując na mapie genomu truskawki sporządzonej w Pracowni Niekonwencjonalnych Metod Hodowli Instytutu dla populacji 'Elsanta' x 'Senga Sengana' (643 siewki o sprawdzonym statusie mieszańca E x SS). Utworzona mapa genetyczna zawiera obecnie 35 grup sprzężeń, stanowiących fragmenty siedmiu chromosomów, o łącznej długości (113 135 cM). W badaniach fenotypowych, prowadzonych w pięciu sub-populacjach, oceniano jędrność owoców i zawartość witaminy C w truskawkach, podatność roślin na porażenie przez *Verticillium dahliae* (sprawcę wercyciliozę), *Colletotrichum acutatum* (sprawcę antraknozy) i *Mycosphaerella fragariae* (sprawcę białej plamistości), a także tolerancję na niskie temperatury (temp. -10 i -12°C).

Na podstawie analizy rozkładu wartości badanych cech oraz alleli SSR, budujących mapę genetyczną 'Elsanta' x 'Senga Sengana', oszacowano stopień korelacji genotypowo-fenotypowych (Map QTL, Kluskal Wallis). Odnotowano istotną korelację między cechą odporności na wercyciliozę, zawartością witaminy C i cechą mrozoodporności a wybranymi markerami SSR zlokalizowanymi w LG3 i LG5 oraz między cechą odporności na białą plamistość i kilkoma sekwencjami SSR, zlokalizowanymi w LG2 odmiany 'Elsanta'. Natomiast dla genomu 'Senga Sengana' zidentyfikowano istotną korelację między zawartością witaminy C i odpornością na antraknozę a niektórymi markerami SSR zidentyfikowanymi w LG1, a także między cechą mrozoodporności i cechą odporności na wercyciliozę a wybranymi markerami z LG2, 3 i 7.

Wyniki uzyskane w ramach projektu MRiRW – Badania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej, decyzja: HOR hn-801-6/16_74.

KORELACJA GENOTYPOWO-FENOTYPOWA DLA WYBRANYCH CECH UŻYTKOWYCH TRUSKAWKI ODMIAN 'ELSANTA' I 'SENGA SENGANA'

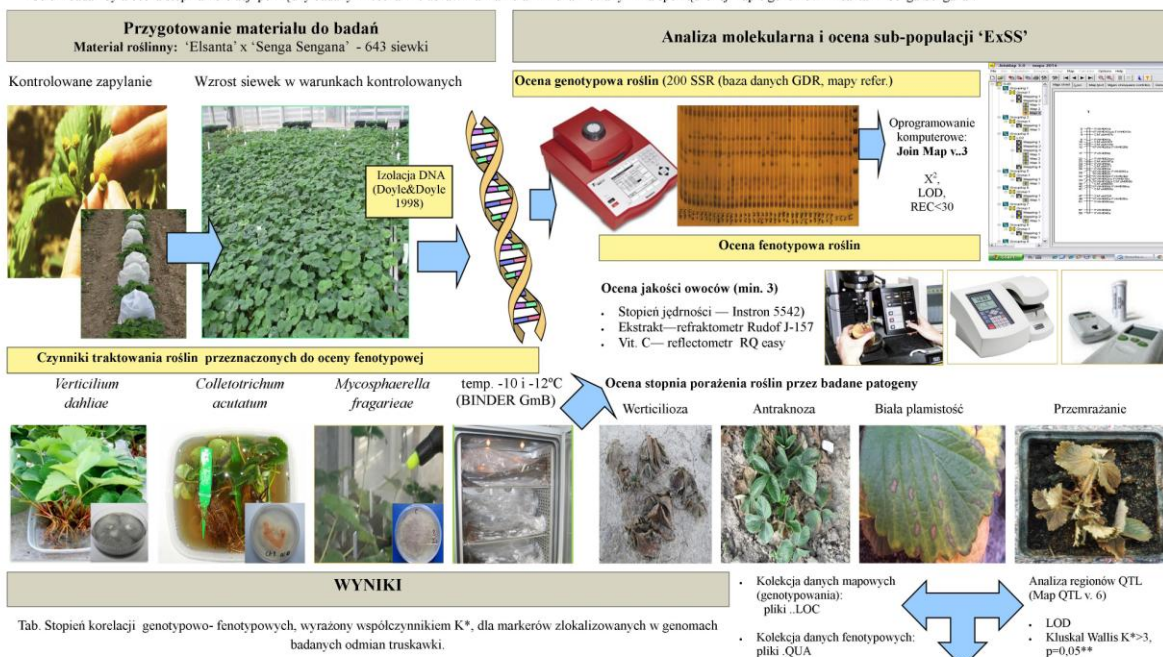
S. Keller-Przybyłkiewicz, B. Napiórkowska, K. Strączyńska, A. Masny, Tomasz Jęzc, Abdel- Rahman Moustafa – Wahab, M. Korbin

Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

E-mail: sylwia.keller@inhort.pl

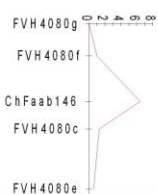
Truskawka (*Fragaria x ananassa* Duchesne ex Rozier), ze względu na skomplikowany, oktoploidalny układ genomu ($2n=8x=56$), jest obiektem bardzo trudnym dla zaawansowanych badań genetyczno-hodowlanych i oceny interakcji między genami warunkującymi różne cechy użytkowe. W Instytucie Ogrodnictwa rozpoczęto analizę korelacji genotypowo-fenotypowych, bazując na mapie genomu truskawki sporządzonej w Pracowni Niekonwencjonalnych Metod Hodowli Instytutu dla populacji 'Elsanta' x 'Senga Sengana'. Utworzona mapa genetyczna zawiera obecnie 35 grup sprzężeń, stanowiących fragmenty siedmiu chromosomów, o łącznej długości (113 135cM). W badaniach fenotypowych, prowadzonych na pięciu sub-populacjach, oceniano: jedność owoców oraz zawartość witaminy C w truskawkach, podatność roślin na porażenie przez *Verticillium dahliae* (sprawca wertyciliozy), *Colletotrichum acutatum* (sprawca antraknozy) i *Mycosphaerella fragariae* (sprawca białej plamistości), a także tolerancję na niskie temperatury (temp. -10 i -12°C).

Celem badań była ocena stopnia korelacji pomiędzy badanymi cechami truskawki a markerami zlokalizowanymi na sporządzonej mapie genomów 'Elsanta' i 'Senga Sengana'.

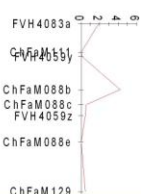


Map loci	Marker	K*	cecha badana	Grupa sprzęż. (Lg)
'ELSANTA'				
28,304	FVH4076z	3,85	jedność owoców	2
48,982	FVH4046n	4,31		2
65,115	FVH4080g	2,659		3
66,999	FVH4026h	4,245	antraknoza	5
44,177	FVH4086d	4,171	mrozoodporność - 10°C	4
47,951	ChFaM092	7,375		3
53,988	FVH4026g	7,370		3
49,318	ChFaM088b	4,216	zawartość vit. C	2
58,412	ChFaM147k	4,86		2
66,983	ChFaM094nz	6,404		3
62,744	ChFaM146	6,460	wertycilioza	2
14,265	FVH4082exy	6,387		3
0,000	FVH4076x	4,870		7
53,988	FVH4026g	7,823	mrozoodporność - 12°C	2
58,412	ChFaM147k	6,663		5
68,853	FVH4.82	6,790		4
10,708	FVH4082y	7,183		4
32,613	FVH4058f	4,131	biała plamistość	2

Wykresy wartości korelacji (K*) pomiędzy loci markera SSR na sporządzonej mapie *Fragaria ananassa*, a wartością badanej cechy użytkowej



QTL cechy wertyciliozy zidentyfikowany na genomie odmiany 'Senga Sengana'.



QTL cechy mrozoodporności zidentyfikowany na genomie odmiany 'Elsanta'.

Na podstawie przeprowadzonych analiz genotypowo-fenotypowych poszczególnych sub-populacji 'Elsanta x Senga Sengana' odnotowano:

- istotną korelację między cechą odporności na wertyciliozę, białą plamistością, zawartością witaminy C, cechą mrozoodporności a wybranymi markerami SSR zlokalizowanymi w LG3, LG2 i LG5 genomu odmiany 'Elsanta'.
- istotną korelację między zawartością witaminy C, odpornością na antraknozę, odpornością na wertyciliozę oraz cechą mrozoodporności a markerami SSR zidentyfikowanymi w LG1, LG2, 3 i 7 w genomie odmiany 'Senga Sengana'.

WNIOSEK:

Analiza regionów QTL genomów badanych odmian truskawki wykazała średni ($p=0,05^{**}$) stopień korelacji pomiędzy zmapowanymi markerami SSR i badanymi cechami użytkowymi truskawki, a wybrane regiony genomów odmian 'Elsanta' i 'Senga Sengana' stanowią bazę markerów SSR sprzężonych z badanymi cechami użytkowymi gatunku *Fragaria*.