

## **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 2018 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 (zagęszczanie mapy genetycznej truskawki) oraz oceny fenotypowej uzyskanych siewek pod kątem jakości owoców, a także przygotowanie kolejnej sub-populacji (G) przeznaczonej do oceny fenotypowej pod względem tolerancji na stres suszy. Wyjściową populację mapującą 'Elsanta' x 'Senga Sengana' poszerzono o 132 genotypów mieszańcowych F1, pozyskanych z programu zapyleń 2017/2018. Siewki uzyskane w bieżącym roku poddano ocenie fenotypowej pod kątem ich tolerancji na deficyt wody. 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 stres suszy oraz cech warunkujących jakość owoców wskazał na wystąpienie zjawiska segregacji w uzyskanej puli roślin.

### **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. Na podstawie przeprowadzonych testów PCR-SSR, zidentyfikowano 583 alleli polimorficznych (lata 2014 - 2018), segregujących w genomach roślin mieszańcowych. Pięćset dwadzieścia trzy allele reprezentowały zgodny z 'mendlowskim' rozkład genotypowy (test  $X^2$ ), natomiast 60 alleli zweryfikowano pod względem typu segregacji, rozkładu alleli w populacji i frekwencji rekombinacji ( $Rec.< 30$ ). Istniejąca mapa genetyczna genomu truskawki w roku bieżącym wzbogacona została w loci dodatkowych 118 alleli markerów SSR. Uzyskana zintegrowana mapa truskawki zawiera obecnie 76 grup sprzężeń (2 386,5 cM), stanowiących fragmenty siedmiu chromosomów genomu gatunku *Fragaria*.

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

Badania obejmowały:

- a) ocenę czystości genetycznej mieszańców z otrzymanej w 2018 roku sub-populacji G,
- b) ocenę korelacji fenotypowo-genotypowych w sub-populacjach badanych w latach 2014 - 2018 (A i G),
- c) 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 128 testowanych pojedynków. Genotypy z niekontrolowanego zapylenia (4) wyeliminowano z dalszych badań molekularnych.

Na podstawie analizy rozkładu alleli markerów SSR w roślinach populacji 'Elsanta' x 'Senga Sengana' poddanych ocenom fenotypowym w latach 2014-2018 oceniono b) stopień korelacji genotypowo-fenotypowych. Markery SSR zlokalizowane w grupie sprzężeń LG 2 genomów obu odmian wykazywały istotny stopień korelacji ze wszystkimi badanymi cechami fenotypowymi (współ. korelacji  $K^*= 2,2-11,2$ ). Wysoki poziom wpływu odnotowano pomiędzy markerami zlokalizowanymi w grupie sprzężeń LG 7 genomu odmiany 'Senga Sengana' ( $K^* > 6$ ) oraz 'Elsanta' ( $K^* > 9$ ) a cechą tolerancji roślin truskawki na stres suszy. Wysoki stopień korelacji ( $K^* > 9$ ) dla cechy wytrzymałości na deficyt wody odnotowano także z markerami zlokalizowanymi w grupie LG 2 genomu odmiany 'Elsanta'. Ponad to istotną zależność pomiędzy jędrnością owoców, zawartością ekstraktu oraz witaminy C a markerami

zlokalizowanymi odpowiednio w grupach LG 4 (Vit. C i jędrność), 6 i 7 (Bix i Vit. C) zidentyfikowano w genomach obu badanych form rodzicielskich.

Na tym etapie badań wytypowano markery (FVH4076a, FVH4059z, ChFaM094xz, FVH4059z, ChFaM092, ChFv2013-13, ChFaM092) regulujące parametry warunkujące jakość owoców (dane z sezonów 2016-2018), dla których odnotowano stabilną wartość współczynnika korelacji. Markery, te mogą stanowić bazę dla selekcji genotypów produkujących wysokiej jakości owoce truskawki, uzyskanych w programach hodowlanych.

(c) Analizę terminalną wybranych regionów QTL przeprowadzono na podstawie oceny segregacji 68 alleli 30 markerów SSR, różnicujących analizowane formy rodzicielskie. Loci segregujących alleli zidentyfikowano w obrębie 18 zmapowanych fragmentów chromosomów odmiany 'Elsanta' (383 cM) oraz piętnastu zmapowanych fragmentów chromosomów genomu odmiany 'Senga Sengana' (237 cM). Wydzielony region genomu 'Elsanta' zawiera 43 allele, a odmiany 'Senga Sengana' – 39 alleli markerów SSR.

Wyniki przedstawiono na Eucarpia Bimetrics 2018 (w roku bieżącym dotyczyła analiz biometrycznych), Genth (koło Antwerpii), Belgia (2-6 września 2018, 6 września odbyły się nieodpłatne warsztaty dotyczące fenotypowania cech użytkowych). Materiały konferencyjne str. 96

Zał. 1 abstrakt

Zał.2 Poster

**Identification of genetic regions of 'Elsanta' and 'Senga Sengana' genomes correlated with quantitative loci of selected agronomic traits**

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

## **Identification of genetic regions of ‘Elsanta’ and ‘Senga Sengana’ genomes correlated with quantitative loci of selected agronomic traits**

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

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

**The aim of plant breeding is creation of cultivars which will be better adapted to climatic conditions, more tolerant to biotic stresses, and more accepted by consumers than plants existing on the markets. Selection of the most valuable plant genotypes and molecular markers applicable for Marker Assisted Breeding can be significantly supported by genetic maps construction and determination of quantitative traits loci.**

The genotypes derived from the ‘Elsanta’ and ‘Senga Sengana’ cross ( $F_1$  mapping population - 700 indiv.) were introduced for phenotypic and genotypic analysis carried out in these studies.

The skeleton of genetic map (13.135 cM) was prepared based on segregation and recombinant frequency analysis of 150 SSRs (JoinMap v. 3.0, *Kosambi* mapping function). The phenotypic evaluation of the mapping population consisted of instrumental analyzes of fruits for: Vit.C, °Brix, firmness measurements, and plants resistance to *Sphaerotheca macularis* (6 degrees scale). Phenotype-genotype correlation, based on the analysis of traits values and loci of the SSR alleles identified in the genome of both cultivars were calculated using MapQTL 6.0 (Kruskal Wallis).

In conducted studies significant correlation was found between fruit Vitamin C content and SSR markers located on LG2, LG3 as well as between fruit firmness and SSRs located on LG2, LG6 of ‘Elsanta’ genome (stable QTL conferred in seasons 2016, 2017). Minor, but significant, correlation between fruit Vit.C content, firmness, and SSRs located on LG2 was found in ‘Senga Sengana’ genome. In case of strawberry powdery mildew resistance, significant correlation was found between evaluated trait and the markers located on LG2 of ‘Senga Sengana’ genome.

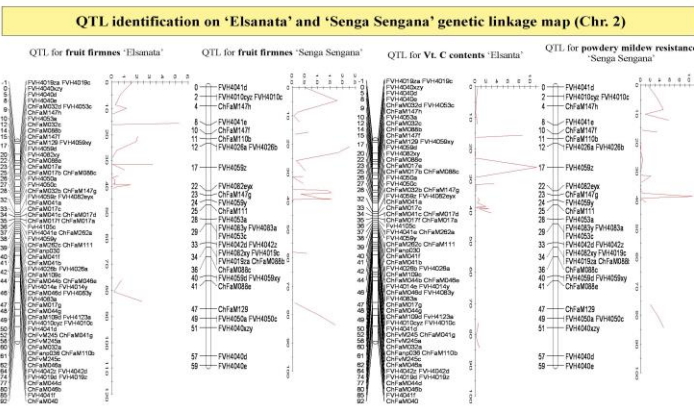
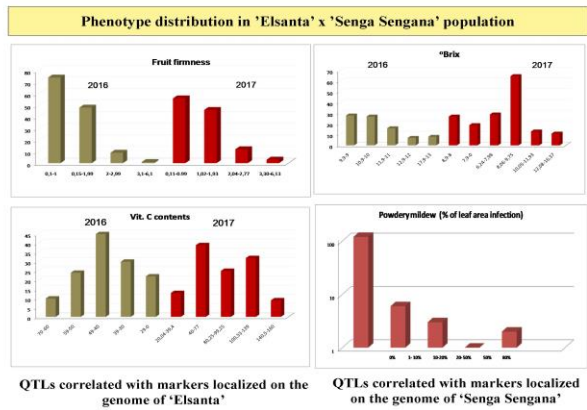
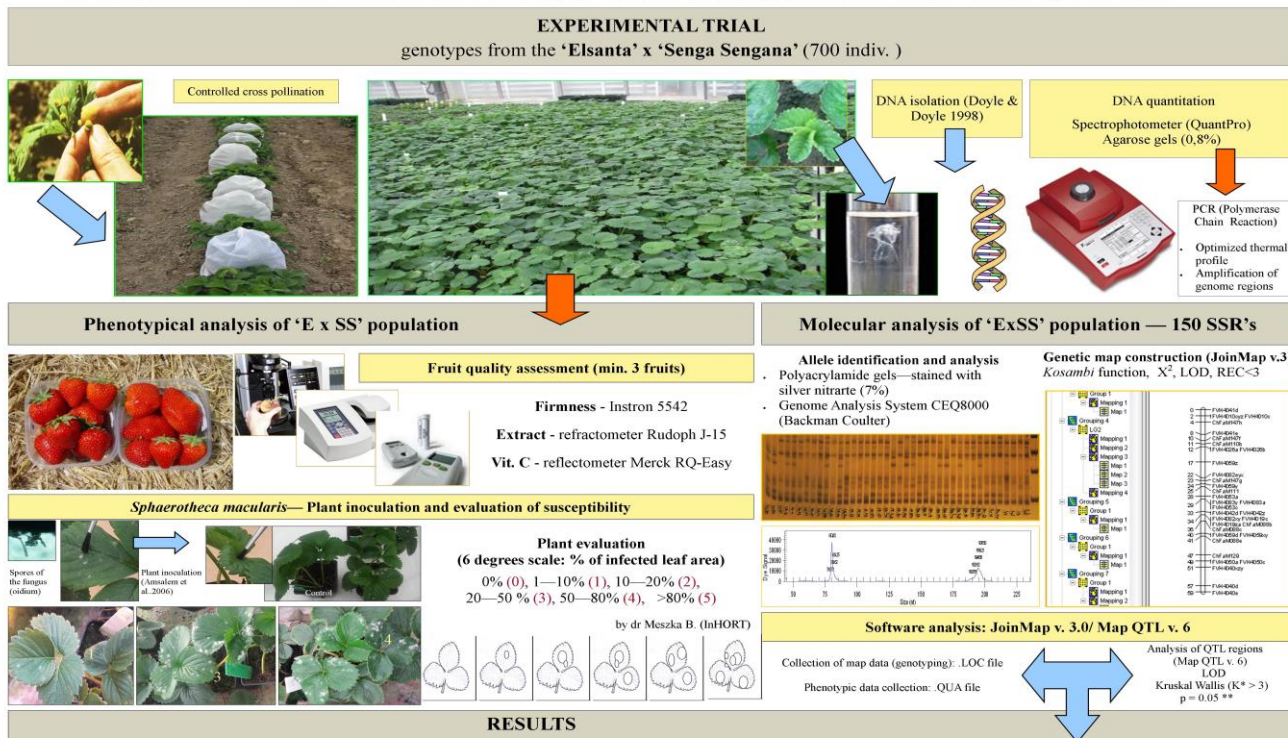
### *References*

- Sujeet Verma, Jason D Zurn, Natalia Salinas, Megan M Mathey, Beatrice Denoyes, James F Hancock, Chad E Finn, Nahla V Bassil, Vance M Whitaker, (2017). Clarifying sub-genomic positions of QTLs for flowering habit and fruit quality in U.S. strawberry (*Fragaria x ananassa*) breeding populations using pedigree-based QTL analysis. Horticulture Research 4, 17062; doi:10.1038/hortres.2017.62
- Van Dijk T., Pagliarani G., Pikunova A., Noordij Y., Yilmaz-Temel H., Meulenbroek B., Visser R., van de Weg E., 2014. Genomic rearrangements and signatures of breeding in the allo-octoploid strawberry as revealed through an allele dose based SSR linkage map. BMC plant biology, 14: 55.

S. Keller-Przybylkowicz, B. Napiórkowska, K. Stráczyńska, A. Masny, Abdel-Rahman Moustafa – Wahab, M. Korbin  
 Research Institute of Horticulture, Skierniewice, PL  
 E-mail: sylwia.keller@inhort.pl

The main goal of plant breeding is creation of cultivars which will be better adapted to climatic conditions, more tolerant to biotic stresses, and more accepted by consumers than plants existing on the markets. Selection of the most valuable genotypes by molecular markers application for Marker Assisted Breeding can be significantly supported by genetic maps construction and determination of quantitative traits loci.

The conducted studies were focused on identification of *Fragaria x ananassa* genome regions linked to several important agronomic traits.



**SUMMARY**

- distribution of powdery mildew resistance and traits determining fruit quality in the studied population indicates the occurrence of the segregation phenomenon in the obtained hybrid genotype pool.
- the tested quality features of fruits collected from 'E x SS' seedlings were recorded in the following ranges: Firmness (0.11-6.13N), Extract (6.24-16.7 'Brix), Vit. C content (20.04-160 mg / g of fresh weight).
- 'Elsanta': a significant correlation was observed between the Vit. C content in fruits and SSR markers located on LG3, LG2 and LG6 of its genome.
- 'Senga Sengana': a significant correlation was observed between fruit firmness, Vit. C content and resistance to powdery mildew and SSR markers identified on LG2 as well as for fruit extract and markers mapped on LG4 of its genome.
- The analysis of QTL regions of the examined strawberry cultivars showed a significant (p = 0.05 \*\*) degree of correlation between mapped SSR markers and the evaluated traits.