

MAŁGORZATA KORBIN**SYLWIA KELLER-PRZYBYŁKOWICZ****AGNIESZKA MASNY****BOGUSŁAWA IDCZAK****KRYSTYNA STRĄCZYŃSKA**

Kierownik Tematu: prof. dr hab. Małgorzata Korbin Instytut Ogródnictwa w Skierniewicach, Pracownia Niekonwencjonalnych Metod Hodowli Roślin

ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice; +48 46 834 52 54; e-mail: sylwia.keller@inhort.pl

Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.802.20.2018, Zadanie 74.

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

**Research on saturation of the genetic map of ‘Elsanta Senga’ × ‘Sengana’
for locating genes linked to important traits of strawberry (*Fragaria* × *ananassa*)**

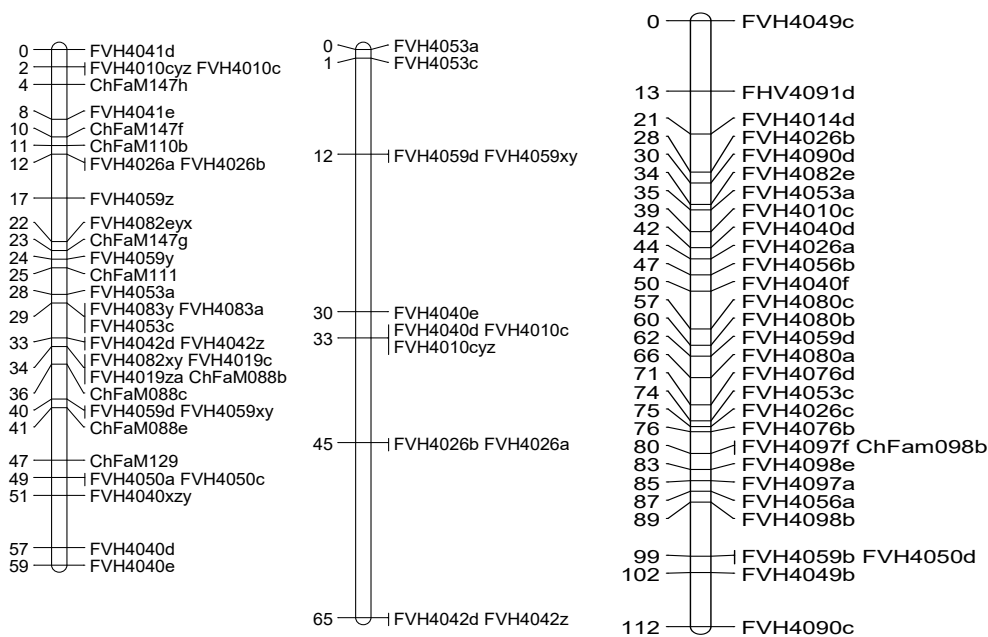
Słowa kluczowe: jakość owoców, korelacja fenotypowo-genotypowa, mapa genetyczna, QTL, stres suszy, truskawka

Celem badań było pozyskanie subpopulacji segregującej ‘Elsanta’ × ‘Senga Sengana’ (oznaczonej jako subpopulacja G) i ocena fenotypowa roślin mieszańcowych należących do tej populacji pod kątem tolerancji na stres suszy, a także ocena wybranych parametrów jakości owoców pojedynków należących do przygotowanej do tego celu subpopulacji A utrzymywanej w kwaterze polowej. Pojedynki z subpopulacji G po ocenie czystości genetycznej włączono do populacji bazowej dla zagęszczenia mapy genetycznej (analizy molekularne), na bazie której przeprowadzono ocenę korelacji fenotypowo-genotypowych oraz analizę terminalną wytypowanych grup sprzężeń.

Rośliny mieszańcowe z populacji A (min. 100 genot.) i G (132 genot.) poddano analizie fenotypowej pod kątem parametrów jakości owoców (subpop. A) oraz wytrzymałości na deficyt wodny (subpop. G). Rozkład fenotypowy cechy tolerancji

na stres suszy oraz cech warunkujących jakość owoców wskazał na wystąpienie zjawiska segregacji w uzyskanej puli genotypów mieszańcowych.

Do analiz segregacji alleli markerów SSR w obrębie populacji mapującej wytypowano 100 starterów mikrosatelitarnych (Sargent, 2006, 2007, 2008, 2009, 2012; Zorrilla-Fontanesi, 2011). Na podstawie przeprowadzonych testów PCR-SSR, zidentyfikowano 583 alleli polimorficznych, segregujących w genomach roślin mieszańcowych (Van Ooijen, 2001). Uzyskana zintegrowana mapa genetyczna truskawki (2 386,5 cM) zawiera 76 grup sprzężeń, stanowiących fragmenty siedmiu chromosomów genomu gatunku *Fragaria* (rys. 1).



Rys. 1. Fragment zintegrowanej mapy genetycznej grupy sprzężeń 1 (homologia do chromosomu I) genomu gatunku *Fragaria* (analiza populacji 'Elsanta' × 'Senga Sengana')

Ocenę korelacji fenotypowo-genotypowych w subpopulacjach badanych w latach 2014–2018 (A i G), przeprowadzono po potwierdzeniu statusu mieszańców (analiza polimorfizmu DNA po amplifikacji z 5 oligonuleotydami mikrosatelitarnymi). W wyniku przeprowadzonych testów z początkowej puli roślin mieszańcowych wyeliminowano 4 genotypy pochodzące z nieplanowanego zapylenia.

Analiza zależności pomiędzy *loci* alleli markerów SSR oraz wartościami ocenianych parametrów fenotypowych w roślinach mieszańcowych potwierdziła, że markery SSR zlokalizowane w grupie sprzężeń LG 2 genomów obu odmian wykazywały istotny stopień korelacji ze wszystkimi badanymi cechami (współ. korelacji $K^* = 2,2-11,2$). Ponadto, 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’. Ponadto 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 (Sujeet, 2017), (tab. 1).

Tabela 1

Zidentyfikowane regiony QTL w genomach odmian ‘Elsanta’ i ‘Senga Sengana’ oraz współczynnik korelacji (K^*) cechy z markerami zlokalizowanymi w grupach sprzężeń mapy genetycznej truskawki ($p = 0,05$)

LG	‘Elsanta’	‘Senga Sengana’	Badana cecha
LG 2	$K^* 11,2$	$K^* 11$	jakość owoców (wszystkie parametry)
LG 7	$K^* 9$	$K^* 6$	stres suszy
LG 4,	$K^* 4,5$	$K^* 8$	jędrność
LG 6, 7	$K^* 10$	$K^* 10,8$	zaw. ekstraktu, wit.C
LG 2	-	$K^* 9,6$	stres suszy

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

Dodatkowo, na podstawie analiz segregacji 68 alleli 30 markerów SSR, różnicujących analizowane formy rodzicielskie przeprowadzono analizę terminalną wybranych regionów QTL. *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.

WNIOSKI

1. Rozkład cech tolerancji na deficyt wody oraz wybranych cech warunkujących jakość owoców w badanej populacji wskazuje na wystąpienie zjawiska segregacji w puli genotypów mieszańcowych, a więc jest to właściwa dla badań genetycznych populacja mapująca.
2. Zagęszczona mapa genetyczna ‘Elsanta’ × ‘Senga Sengana’ stanowi bazę *loci* genów przydatną do dalszej identyfikacji regionów QTL sprzężonych z ważnymi cechami użytkowymi truskawki.
3. Rozkład alleli pochodzących z form rodzicielskich wskazuje, że genotypy wykorzystane dla celów zagęszczania mapy genomów truskawki mają status mieszańców z planowanego zapylenia.

4. Wstępna analiza regionów QTL w grupach sprzężeń LG 2, 4, 6 i 7 genomów badanych odmian truskawki wskazuje na korelacje markerów z badanymi cechami użytkowymi tego gatunku.

LITERATURA

- Sargent D. J., Clarke J., Simpson D. W., Tobutt K. R., Arús P., Monfort A., Vilanova S., Denoyes-Rothan B., Rousseau M., Folta K. M., Bassil N. V., Battey N. H. 2006. An enhanced microsatellite map of diploid *Fragaria*. *Theor. Appl. Genet.* 112: 1349 — 1359.
- Sargent D. J., Rys A., Nier S., Simpson D. W., Tobutt K. R. 2007. The development and mapping of functional markers in *Fragaria* and their transferability and potential for mapping in other genera. *Theor. Appl. Genet.* 114: 373 — 384.
- Sargent D. J., Cipriani G., Vilanova S., Gil-Ariza D., Arús P., Simpson D. W., Tobutt K.R., Monfort A. 2008. The development of a bin mapping population and the selective mapping of 103 markers in the diploid *Fragaria* reference map. *Genome* 51: 120 — 127.
- Sargent D., Fernández-Fernández F., Ruiz-Roja J., Sutherland B., Passey A., Whitehouse A., Simpson D. 2009. A genetic linkage map of the cultivated strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) and its comparison to the diploid *Fragaria* reference map. *Mol. Breeding* 24 (3): 293 — 303.
- Sargent D. J., Passey T., Šurbanovski N., Girona L. L., Kuchta P., Davik J., Harrison R., Passey A., Whitehouse A. B., Simpson D. W. 2012. A microsatellite linkage map for the cultivated strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) suggests extensive regions of homozygosity in the genome that may have resulted from breeding and selection. *Theor. Appl. Genet.* 124: 1229 — 1240.
- Sujeet Verma, Zurn Jason D., Salinas Natalia, Mathey Megan M., Denoyes Beatrice, Hancock James F., Finn Chad E, Bassil Nahla V., Whitaker Vance M. 2017. Clarifying sub-genomic positions of QTLs for flowering habit and fruit quality in U.S. strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) breeding populations using pedigree-based QTL analysis. *Horticulture Research* 4, 17062; DOI:10.1038/hortres.2017.62.
- Van Ooijen J. W., Voorrips R. E. 2001. JoinMap (R) 3.0, Software for the calculation of genetic linkage maps. Plant Research International, Wageningen, The Netherlands.
- Zorrilla-Fontanesi Y., Cabeza A., Torres A.M. 2011. Development and bin mapping of strawberry genic-SSRs in diploid *Fragaria* and their transferability across the Rosoideae subfamily. *Mol. Breed.*, 27: 137 — 156.