

Molecular mapping of the *Pinus monticola* Cr2 gene using AFLP and SCAR markers

A. K. M. Ekramoddoullah, J. J. Liu

Ekramoddoullah A.K.M., Liu J.J., 2008. Molecular mapping of the *Pinus monticola* Cr2 gene using AFLP and SCAR markers. Ann. For. Res. 51: 147-148.

Abstract. White pine blister rust (WPBR), caused by *Cronartium ribicola*, is a devastating disease in five-needle pines. Genetic resistance is an important component of integrated strategies to control WPBR. The major resistance gene *Cr2*, discovered by Kinloch et al.(1999), is also effective against British Columbia (BC) isolates of WPBR (Hunt et al. 2004). Pyramiding *Cr2* gene with other resistance genes is being pursued as a strategy in BC white pine breeding. To facilitate this strategy, we have recently identified a few RAPD markers linked to *Cr2* at one side (Liu et al. 2006). The objective of the present study was to identify amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers linked to both sides of *Cr2* for its more precise mapping. Use of the AFLP technique combined with bulked segregant analysis (BSA) and haploid segregation analysis allowed the identification of five AFLP markers. Of these five AFLP markers in the *Cr2* linkage, markers EaccMccgat-365, EactgMccac-290, and EacagEacag-750 were linked in coupling and EacagMccag-160r and EaccMccgat-180r in repulsion. Following cloning and sequencing of the AFLP and RAPD markers, specific PCR primers were designed and used in the amplification of sequence characterized amplified region (SCAR) markers at both sides of *Cr2*. EaccMccgat-365 and RAPD marker U570-843 reported previously were converted into SCAR

markers. These two SCARs segregated in a 1:1 (presence:absence) ratio and the scoring co-segregated with their respective AFLP or RAPD marker. The SCAR marker EaccMccgat-365-scar was positioned at 3.1 Kosambi cM from one side of *Cr2* and U570-843-scar localized at 1.4 Kosambi cM from other side. Both SCAR markers can be useful in breeding programs with marker-assisted selection procedure to screen for resistance. This study represents the first report of the development of PCR-based sequence-specific markers linked to blister rust resistance in five-needle pines. These findings may improve the precision of molecular breeding for blister rust resistance and could be the staging point for isolating the *Cr2* gene.

Key words: *Pinus monticola*, molecular mapping, *Cr2* Gene, AFLP and SCAR markers

Authors. A.K.M. Ekramoddoullah, J.J. Liu - Pacific Forestry Centre, Natural Resources Canada, 506 Western Burnside Road, Victoria, BC, V8Z 1M5, Canada

Rezumat. Ekramoddoullah A.K.M., Liu J.-J., 2008. Cartarea moleculară a genei *Cr2* la *Pinus monticola* cu ajutorul markerilor AFLP și SCAR. Ann. For. Res. 51: 147-148.

Rugina pinilor albi (WPBR), cauzată de ciuperca *Cronartium ribicola*, este o boală devastatoare a pinilor cu 5 ace. Rezistența genetică este o componentă importantă a strategiilor integrate de combatere a acestei boli. Gena

majoră de rezistență *Cr2*, descoperită de Kinloch et al. (1999), s-a dovedit eficientă și față de izolatele WPBR din British Columbia (BC). - Hunt et al. 2004. Asocierea cu efect piramidal a genei *Cr2* cu alte gene de rezistență a fost urmată ca strategie în ameliorarea pinilor albi BC. Pentru a facilita această strategie, au fost identificați recent câțiva markeri RAPD legați unilateral cu gena *Cr2* (Liu et al. 2006). Obiectivul acestui studiu a fost identificarea și amplificarea unor markeri reprezentați prin fragmente ADN cu polimorfism de lungime (AFLP) legați bilateral de gena *Cr2*, pentru a realiza o cartare mai precisă. Utilizarea tehnicii AFLP combinată cu analiza bulk a segreganților (BSA) și cu analiza se-gregării haplotipurilor a permis identificarea a 5 markeri AFLP. Dintre acești 5 markeri AFLP în linkage cu gena *Cr2*, markerii EaccMccgat-365, EactgMcccac-290, and EacagEacag-750 au fost linkați în faza de cuplare, iar EacagMcccag-160r și EaccMccgat-180r în faza de respingere. După clonarea și secvențierea markerilor AFLP și RAPD, primeri PCR specifici au fost formulați și utilizați în amplificarea secvenței SCAR (sec-vența caracterizată a regiunii amplificate), de ambele părți ale genei *Cr2*. EaccMccgat-365 și markerul RAPD U570-843 comunicat anterior au fost convertiți în markeri SCAR. Acești doi markeri SCAR au segregat în raport de 1:1 (prezeță : absență) și s-au înregistrat co-segregări cu markerii lor respectivi AFLP și RAPD. Markerul SCAR EaccMccgat-365-scar s-a situat la 3,1 unități Kosambi cM de o extremitate a genei *Cr2* și la 1,4 Kosambi cM de cealaltă extremitate. Ambii markeri SCAR pot fi utili în programe de ameliorare implicând procedee de selecție asistate de markeri, în trierea genotipurilor pentru rezistență. Acest studiu reprezintă prima comunicare a dezvoltării unui sistem bazat pe markeri PCR cu specificitate de secvență, legat de rezistența la micoza produsă de *Cronartium ribicola* la pinii cu 5 ace. Aceste descoperiri ar putea îmbunătăți precizia ameliorării moleculare penru rezistența la rugina pinilor albi și ar putea servi ca punct de plecare pentru izolarea genei *Cr2*.

Cuvinte cheie: *Pinus monticola*, cartare moleculară, gena *Cr2*, markeri AFLP și SCAR
(Tradus de M. Palada -Nicolau)