

WACŁAW ORCZYK**MARTA DMOCHOWSKA-BOGUTA****YULIYA KLOC**

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, Zakład Inżynierii Genetycznej

Kierownik Tematu: prof. dr hab. Wacław Orczyk Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, Zakład Inżynierii Genetycznej, 05-870 Błonie, tel. 22 7334621, e-mail w.orczyk@ihar.edu.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.802.19.2018, Zadanie 8.

Tolerancja na stresy abiotyczne — genotypowanie pszenicy w oparciu o strategię genów kandydujących

Tolerance for abiotic stresses — genotyping of wheat based on candidate gene strategy

Słowa kluczowe: genom pszenicy, mikrosporogeneza, sekwencje mikrosatelitarne, susza, wypełnienie kłosa, żywotność pyłku

CELE TEMATÓW W ROKU 2018

- Sekwencjonowanie fragmentów gDNA pszenicy z określonymi regionami SSR w genotypach pszenic różniących się tolerancją na stres suszy w czasie mikrosporogenezy.
- Eksperymentalna weryfikacja poznanych sekwencji w genotypach pszenic różniących się tolerancją na stres suszy w czasie mikrosporogenezy.

WYNIKI

W trzech skafoldach pszenicy zawierających wybrany gen kandydujący *TaInv1* sekwencjonowano 9 regionów SSR. Były to Reg29-404 zawiera dwa motywy (CT)2-AC-(CT)6 i jest zlokalizowany na skafoldzie 4041295BL, Reg32-404 zlokalizowany na skafoldzie 404129 5BL zawiera dwa sprzężone motywy (CAGC)3-(AAGA)5, Reg35-404 zlokalizowany na skafoldzie 404129 5BL zawiera sekwencję mikrosatelitarną z motywem AG powtórzoną 18 razy, Reg41-404 zlokalizowany na skafoldzie 404129 5BL zawiera dwa sprzężone motywy

(GGC)5-(GCG)5 oraz Reg3-435 zlokalizowany na skafoldzie 435640 5DL zawiera dwa sprzężone motywy (GAT)10-(GAA)9.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

1. Na wszystkich analizowanych skafoldach genomu pszenicy zidentyfikowano sekwencje mikrosatelitarne (SSR).
2. Najwięcej SSR było na najdłuższym skafoldzie 4041295BL, na tym skafoldzie zagęszczenie SSR było największe, 1 SSR na 10 tysięcy pz (tpz).
3. Wśród zidentyfikowanych SSR motywy 2-nukleotydowe były w 6 SSR, motyw 3-nukleotydowy był w 3 SSR. Przeważały motywy niedoskonałe tj. przedzielone krótką wstawką. W 2 przypadkach regionom SSR towarzyszył region o niepoznanej sekwencji nukleotydowej.
4. Projektowanie starterów w praktycznie wszystkich regionach napotkało duże trudności ze względu na i) nierównomierny rozkład par AT i GC w obszarach flankujących SSR, ii) znacznie zwiększony udział AT lub GC w całym regionie i iii) niedoskonałe powtórzenia kilkunukleotydowych motywów w regionach gdzie powinny być startery do amplifikacji.
5. Wyniki sekwencjonowania potwierdziły obecność regionów SSR wytypowanych we wcześniejszych analizach *in silico* w badanych genotypach pszenic.
6. Wyniki sekwencjonowania regionów SSR wykazały polimorfizm długości tych regionów w wybranych genotypach pszenic.
7. Rozdziały elektroforetyczne amplikonów zawierających regiony SSR potwierdziły polimorfizm długości tych regionów w 12 testowanych genotypach pszenic.
8. Dla przynajmniej czterech regionów zawierających sekwencje mikrosatelitarne polimorfizm zidentyfikowany po sekwencjonowaniu był również obserwowany po rozdziale amplikonów w żelu poliakrylamidowym. W kolejnym etapie analizowana będzie zbieżność tych polimorfizmów z obserwowanymi wcześniej danymi żywotności pyłku i stopnia wypełnienia kłosów.