

MARTA PUCHTA  
PAULINA BOLC  
JERZY H. CZEMBOR  
URSZULA PIECHOTA

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB w Radzikowie, Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych  
m.puchta@ihar.edu.pl

## Optymalizacja metody ddRadSeq dla rodzaju *Hordeum* sp. oraz *Zea* sp.\*

### Optimization of the ddRadSeq method for *Hordeum* sp. and *Zea* sp.

Metoda ddRADSeq jest wykorzystywana w badaniach populacyjnych oraz w analizach filogenetycznych. Bazuje na „redukcji genomu” (RadSeq, ang. Restriction — site associated DNA), w której wykorzystuje się do badań sekwencjonowania od 0,1 do 10% genomowego DNA. Redukcji dokonuje się poprzez trawienie DNA dwoma enzymami restrykcyjnymi. Metoda ddRADSeq umożliwia próbkowanie DNA poprzez przygotowanie bibliotek genomowych zawierających fragmenty określonej długości, ograniczone zdefiniowanymi miejscami restrykcyjnymi. Kluczowym elementem przygotowania bibliotek jest podwójne trawienie restrykcyjne genomowego DNA, przy użyciu często i rzadko tnących enzymów.

Celem przeprowadzonych badań jest dobór odpowiednich restryktaz, w sposób umożliwiający fragmentację genomu *Hordeum* sp. (~5.3 Gbp) oraz *Maize* sp. (~2.4 Gbp) na odcinki o długości 400-600 pz genomowego DNA.

Przeprowadzono testy różnych kombinacji rzadko i często tnących enzymów restrykcyjnych, podczas reakcji podwójnego trawienia. Następnie oceniono długość uzyskanych fragmentów DNA po reakcji PCR, stosując rozdzielacz elektroforetyczny aparatem 2100 Bioanalyzer.

Uzyskane wyniki pozwoliły na wytypowanie par enzymów o największej efektywności działania w stosunku do wybranego materiału roślinnego. Dla roślin z rodzaju *Hordeum* sp. wybrano enzymy restrykcyjne: *MspI* oraz *PstI*, natomiast dla *Zea* sp. *HindIII* i *FspBI*.

---

\* Prace zostały wykonane w ramach programu wieloletniego „Tworzenie naukowych podstaw postępu biologicznego i ochrona roślinnych zasobów genowych źródłem innowacji wsparcia zrównoważonego rolnictwa oraz bezpieczeństwa żywnościowego kraju” koordynowanego przez IHAR-PIB a finansowanego przez MRiRW.