

RENATA ORŁOWSKA**PIOTR TOMASZ BEDNAREK****SŁAWOMIR BANY**

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików

Kierownik Tematu: dr inż. Renata Orłowska Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, 05-870 Błonie, Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin, tel. 22 7334538,

e-mail: r.orłowska@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 89.

Molekularna charakterystyka wpływu elementów mobilnych na zmienność genetyczną w zbożowych kulturach *in vitro*

Molecular characterization of the impact of transposable elements on genetic variation in cereals tissue cultures

Słowa kluczowe: jęczmień, kultury tkankowe, MSTD, retrotranspozony

W roku sprawozdawczym 2018 zaplanowano do wykonania cztery tematy badawcze z następującymi celami:

- uzyskanie genomowego DNA z regenerantów jęczmienia do analiz technikami RP-HPLC, MSTD,
- oszacowanie poziomu globalnej metylacji DNA dla 80 regenerantów jęczmienia przy użyciu techniki RP-HPLC (*Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography*),
- wykonanie analiz MSTD na DNA regenerantów jęczmienia — uzyskanie autoradiogramów,
- uzyskanie roślin będących generatywnym potomstwem regenerantów jęczmienia.

Analizy molekularne obejmowały ekstrakcję genomowego DNA z regenerantów jęczmienia (genotyp 2dh/8) uzyskanych na drodze androgenyzy w kulturach pylnikowych. Wyziolowany genomowy DNA rozdzielono w 1,4% żelach agarozowych

w celu sprawdzenia jego integralności. Ilość DNA oszacowano spektrofotometrycznie. Uzyskano DNA w odpowiedniej ilości i jakości do dalszych analiz.

Określono poziom globalnej metylacji DNA u regenerantów jęczmienia (80 roślin) uzyskanych w kulturach pylnikowych z 4 roślin donorowych (D). Analiza całkowitej metylacji cytydyny (5mdC) genomowego DNA wykonana metodą RP-HPLC wykazała, że średnio 21,31% ($\pm 0,41$) cytydyny uległo metylacji. Dla poszczególnych zestawów regenerantów wyprowadzonych z 4 różnych roślin donorowych uzyskano odpowiednio: JRP72-21,50%, JRP68-21,30%, JRP69-21,22% i JRP70-20,15%. Wykazano istotne różnice ($F = 133,274$, $p = 0,0001$) między poszczególnymi zestawami regenerantów a roślinami donorowymi uzyskanymi w ubiegłym roku sprawozdawczym (Sprawozdanie PBwPR 89_2016).

Wykonano rozdziały metAFLP dla 80 regenerantów jęczmienia, oraz dla odpowiadających im roślin donorowych (4 rośliny). Rozdziały wykonano w dwóch układach enzymów restrykcyjnych — *Acc65I/MseI* i *KpnI/MseI*. Podjęte prace pozwoliły uzyskać czytelne elektroforegramy. Uzyskane obrazy w zależności od zastosowanych starterów w reakcji PCR różniły się wizualnie liczebnością fragmentów DNA. Zliczanie prążków DNA i tworzenie matryc zerojedynkowych będzie realizowane w przyszłym roku badawczym.

Regeneranty jęczmienia, pozyskane na drodze androgenezy były źródłem ziarniaków do uzyskania generatywnego potomstwa. W temacie zaplanowano uzyskanie około 90 roślin potomnych z regenerantów uzyskanych na drodze androgenezy. Aby otrzymać zaplanowane ilości roślin będących generatywnym potomstwem regenerantów wysiano ok. 10% więcej nasion, niż oczekiwane liczebności roślin potomnych. Uzyskano w sumie 90 roślin z czterech różnych regenerantów.

PODSUMOWANIE

1. Ekstrakcja DNA skutkowała odpowiednimi preparatami DNA do dalszych analiz.
2. Wykonana w temacie badawczym analiza RP-HPLC określiła poziom globalnej metylacji DNA dla 80 regenerantów jęczmienia. Obserwowano zróżnicowanie w poziomie globalnej metylacji DNA między zestawami regenerantów pochodzącymi z różnych regenerantów.
3. Uzyskano stabilne profile prążków DNA techniką MSTD do dalszych prac.
4. Uzyskano reprezentatywną liczbę roślin będących generatywnym potomstwem regenerantów pozyskanych w poprzednim roku badań.