

Tytuł zadania: Identyfikacja zmienności genetycznej pszenicy korelującej z potencjałem plonotwórczym i wybranymi cechami systemu korzeniowego.

Kierownik zadania: prof. dr hab. A. Nadolska –Orczyk

Celem tegorocznego tematu badawczego jest kontynuacja analizy korelacji pomiędzy poziomem ekspresji wybranych genów *TaCKX* oraz aktywnością enzymu CKX w badanych tkankach a produktywnością/masą korzenia w wybranych genotypach pszenicy zwyczajnej (kontynuacja dla następnych 50 genotypów). Jest to kolejny etap weryfikacji hipotezy badawczej zakładającej, że ekspresja genów z rodziny *CKX* w rozwijających się kłosach lub/i systemie korzeniowym wskazuje na produktywność lub masę systemu korzeniowego.

Realizacja tematu przebiegała w kilku etapach i obejmowała:

1. Opracowanie najnowszych danych literaturowych na temat genów głównych, odgrywających lub mogących odgrywać istotną rolę w produktywności pszenicy, w tym genów z rodziny *TaCKX*.
2. Wytypowanie na podstawie informacji od hodowców następnego zestawu 50 genotypów pszenicy do badań.
3. Ocena poziomu ekspresji genów *TaCKX* w rozwijających się kłosach i wytypowanie dodatkowego genu z rodziny *TaCKX* do analiz korelacji (lub potwierdzenie wcześniej wybranych).
4. Wyznaczenie poziomu ekspresji względnej genu *TaCKX1* i dodatkowego *TaCKX* w korzeniach siewek i dojrzewających kłosach wytypowanych genotypów.
5. Wykonanie pomiaru aktywności enzymu CKX w próbkach podawanych analizie ekspresji genów *TaCKX*.
6. Sekwencjonowanie i analiza alleli wybranych genów *TaCKX1* i dodatkowego *TaCKX* w dwóch wybranych genotypach.
7. Opracowanie statystyczne i bioinformatyczne uzyskanych wyników.

Materiały i metody

Do badań użyto 50 genotypów pszenicy jarej o zróżnicowanej produktywności. Były to 22 rody dostarczone przez Hodowlę Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR, 22 linie przesłane przez Hodowlę Roślin Danko, Sp. z o.o oraz 6 odmian.

DNA izolowano z tkanki młodych liści przy pomocy metody C-TAB (Murray i Thompson 1980). RNA izolowano z korzeni i kłosów 7 DAP (dni po pyleniu) przy pomocy odczynnika Tri-reagent (Sigma Aldrich) zgodnie z procedurą producenta. RNA z kłosów 7 DAP izolowano również zgodnie z nową, ulepszoną procedurą wg. Wang i in. (2011). Synteza cDNA prowadzona była z wykorzystaniem zestawu RevertAcid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific) według standardowej procedury producenta. Uzyskane cDNA posłużyło następnie do analizy ilościowej RT-PCR (z ang. *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*) wybranych natywnych genów z rodziny *TaCKX*.

Analiza ekspresji genów *TaCKX* została wykonana zgodnie z opracowaną w ubiegłym roku procedurą w ilościowej reakcji RT-PCR. Analiza aktywności enzymu CKX w korzeniach i kłosach 7 DAP wykonana została zgodnie z procedurą opracowaną przez Frebort i in. (2002) i zoptymalizowaną dla tkanek jęczmienia w trakcie wcześniejszych badań zespołu.

Sekwencjonowaniu poddane zostały amplikony cDNA z kłosów 7 DAP dwóch wybranych genotypów – odmiany Trappe i Arabella. Fragmenty *TaCKX1* i *TaCKX5* amplifikowano za

pomocą PCR z użyciem 10 par starterów do RT PCR. Uzyskane sekwencje poddano analizie bioinformatycznej w celu wzajemnego porównania i ewentualnej weryfikacji z którego homologicznego genomu pochodzą.

Wyniki

Ad. 1. Dane literaturowe opracowano w formie pracy przeglądowej (Nadolska-Orczyk i in., obecnie w recenzjach). Do istotnych z punktu widzenia produktywności pszenicy grup genów należą regulatory transkrypcji, głównie wpływające na architekturę kwiatostanu i tym samym liczbę nasion (6 genów). Do drugiej grupy należą geny *TaCKX* z którymi pracujemy. W najnowszej literaturze opisano haplotyp genu *TaCKX6*, *TaCKX6-D1a* związany z wyższą masą ziarna, wielkością ziarna oraz szybkością wypełniania (Lu i in. 2015; Zhang i in. 2012). Analiza QTL w liniach rekombinacyjnych dla drugiego z genów, *TaCKX4* wykazała istotny związek pomiędzy liczbą kopii tego genu a zawartością chlorofilu w liściach flagowych po kwitnieniu i wielkością ziarna (Chang i in. 2015).

Ad. 2. Dwie Hodowle Roślin, tj. Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR i Hodowla Roślin Danko, Sp. z o.o. przekazały w tym roku do badań po 22 rody pszenicy jarej wyprowadzone z różnych krzyżowań, różniące się w obrębie danej krzyżówki produktywnością. Z przesłanych materiałów wybrano 22 rody z HR Strzelce plus 2 odmiany kontrolne, 16 rodów i 5 odmian rodzicielskich z HR Danko plus jedna odmiana kontrolna. Ponadto do badań ekspresji wybranych genów *TaCKX* użyliśmy 5 odmian (Rys. 2).

Ad. 3. Poziom ekspresji względnej (względem genu referencyjnego) znanych genów *TaCKX* w korzeniu, kwiatostanie i rozwijającym się kłosie 0 DAP, 7 DAP i 14 DAP wyznaczono w odmianie pszenicy Kontesa. W przypadku kłosów RNA izolowano za pomocą dwóch metod: przy użyciu odczynnika TriReagent oraz przy użyciu SDS. Ekspresja wszystkich badanych genów *TaCKX* w korzeniu była bardzo niska, w zakresie 0,0003 do 0,0122. Najwyższy wynik ekspresji otrzymano dla genu *TaCKX6* i *TaCKX1*. W przypadku rozwijających się kłosów 0 DAP, 7 DAP i 14 DAP zdecydowanie najwyższą ekspresję wykazywał gen *TaCKX1*. Wynosiła ona ok. 0,7 w kłosie 0 DAP i 7 DAP a w kłosie 14 DAP była o rząd wielkości niższa (0,05). Tak wysoki wynik osiągnięto jedynie w przypadku nowej procedury izolacji RNA z użyciem SDS. Ekspresja pozostałych genów była znacząco niższa.

Poziom ekspresji względnej wybranych genów *TaCKX* (*TaCKX1*, *TaCKX2.1*, *TaCKX5*, *TaCKX6*) oceniono ponadto w pięciu odmianach pszenicy. Wyniki potwierdziły, że we wszystkich badanych odmianach (poza Brawurą, prawdopodobnie z powodu złej jakości RNA) najwyższą ekspresję w kłosie 7 DAP wykazuje gen *TaCKX1*. Ekspresję na nieco niższym poziomie, od 0,01 do 0,07, ale we wszystkich trzech badanych organach (korzeniu, kłosie 7 DAP i kwiatostanie) pięciu odmian wykazywał gen *TaCKX5*. Na podstawie wcześniejszych i obecnych badań do dalszej analizy ekspresji w materiałach hodowlanych wybrano geny *TaCKX1* i *TaCKX5*.

Ad. 4. Ekspresja genów *TaCKX1* i *TaCKX5* w korzeniach materiałów hodowlanych z HR Strzelce i HR Danko była na poziomie 0,00. Ekspresja genu *TaCKX1* w kłosach 7 DAP rodów z HR Strzelce wahała się od 0,0034 do 0,0695, a genotypów z HR Danko od 0,004 do 0,053. Ekspresja genu *TaCKX5* w kłosach 7 DAP z pierwszej HR wahała się od 0,0005 do 0,0289 a z drugiej HR od 0,001 do 0,198. Wahania w poziomie ekspresji genu *TaCKX1* w materiałach hodowlanych HR Strzelce i HR Danko były rzędu kilkunastu do 20 razy a dla genu *TaCKX5* były 58 do 200 krotne. Średnie i odchylenia wynosiły odpowiednio: 0,023

($\pm 0,016$) dla *TaCKX1* i $0,004 (\pm 0,006)$ dla *TaCKX5*. W obydwu przypadkach wysoki plon w pojedynczych rodach korelował ze spodziewaną obniżoną ekspresją tych genów, zwłaszcza w przypadku materiałów z HR Danko.

Ad. 5. Pomiary aktywności enzymu wykonano w kłosach 7 DAP i korzeniach pobranych z rodów hodowlanych oraz odmian kontrolnych. Zakres aktywności enzymu CKX w korzeniach materiałów z HR Strzelce wahał się od 0,309 do 0,862, przy średniej wynoszącej 0,569 ($\pm 0,15$). Wartości aktywności enzymu w korzeniach materiałów z HR Danko były wyraźnie wyższe i wynosiły od 0,486 do 1,667, a średnia to 1,066 ($\pm 0,273$).

Zakres aktywności enzymu CKX w kłosach 7 DAP materiałów z HR Strzelce wahał się od 0,555 do 1,423 przy średniej wynoszącej 1,075 ($\pm 0,291$). Wartości aktywności enzymu w kłosach 7 DAP materiałów z HR Danko były niższe i wynosiły od 0,652 do 1,187, a średnia wartość to 0,872 ($\pm 0,125$). W niektórych materiałach hodowlanych wykazano spodziewaną negatywną korelację wysokości plonu z aktywnością enzymu CKX w kłosach 7 DAP.

Ad. 6 i 7. Sekwencjonowano i porównano cDNA alleli genów *TaCKX1* i *TaCKX5* u dwóch odmian, Trappe i Arabella (2 geny x 2 odmiany = 4 sekwencje). Dostępna w bazie NCBI sekwencja cDNA całego genu *TaCKX1* umożliwiła zaprojektowanie 5 par starterów i zsekwencjonowanie go w całości (1451 pz). Sekwencja cDNA dla genu *TaCKX5* w bazie NCBI jest dostępna jedynie jako fragment, co pozwoliło na amplifikację 600 pz tego genu.

Sekwencję genu *TaCKX1* odmian Trappe i Arabella porównano z dostępną w bazach NCBI sekwencją tego genu znajdującą się pod numerem akcesyjnym DQ784573.1. Największe zróżnicowanie stwierdzono pomiędzy sekwencją dla numeru akcesyjnego i odmianami. Było to 18 jednonukleotydowych substytucji, jedna delecja i jedna insercja. Duże różnice (lub brak tego fragmentu) w sekwencjach pomiędzy odmianą Arabella i Trappe występują na początku sekwencji (1-432), o czym świadczy brak amplifikacji tego fragmentu u odmiany Arabella za pomocą używanych starterów. W pozostałej części sekwencji (433 – 1451) nie stwierdzono różnic. Ponadto w 21 pozycjach nukleotydowych u odmiany Trappe oraz w tych samych pozycjach u odmiany Arabella występowały po dwa sygnały o równej intensywności, mogące świadczyć o ekspresji pochodzącej z dwóch genomów.

W sekwencjonowanym, 600 pz fragmencie genu *TaCKX5* pomiędzy odmianą Trappe i Arabella stwierdzono pojedyncze różnice typu substytucji. Ponadto w 6 pozycjach nukleotydowych u odmiany Trappe oraz 2 pozycjach u odmiany Arabella występowały po dwa sygnały o równej intensywności, mogące świadczyć o ekspresji pochodzącej z dwóch genomów.

Literatura

- Chang C, Lu J, Zhang HP, Ma CX, Sun G. 2015. Copy Number Variation of Cytokinin Oxidase Gene *Tackx4* Associated with Grain Weight and Chlorophyll Content of Flag Leaf in Common Wheat. PLoS ONE 10:e0145970 doi:10.1371/journal.pone.0145970
- Lu J, Chang C, Zhang HP, Wang SX, Sun G, Xiao SH, Ma CX. 2015. Identification of a novel allele of *TaCKX6a02* associated with grain size, filling rate and weight of common wheat. PLoS ONE 10:e0144765 doi:10.1371/journal.pone.0144765
- Nadolska-Orczyk A, Rajchel IK, Orczyk W, Onysk A, Gasparis S. Major genes determining yield-related traits in wheat and barley. (Theor. Appl. Genet. W recenzjach).

- Paolacci AR, Oronzo OA, E. Tanzarella E, E. Porceddu E, Ciaffi M. 2009. Identification and validation of reference genes for quantitative RT-PCR normalization in wheat. *BMC Molecular Biology*, 10:11, doi:10.1186/1471-2199-10-11
- Wang G. Wang G, Zhang X, Wang F, Song R. 2012. Isolation of high quality RNA from cereal seeds containing high levels of starch. *Phytochem Anal.*, 23(2), 159-163
- Zhang L, Zhao YL, Gao LF, Zhao GY, Zhou RH, Zhang BS, Jia JZ. 2012. *TaCKX6-D1*, the ortholog of rice *OsCKX2*, is associated with grain weight in hexaploid wheat. *New Phytol* 195:574-584 doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04194.x

Wnioski

- 1) Opisany w literaturze gen *TaCKX6* wykazujący zgodnie z naszymi badaniami dość wysoką ekspresję w korzeniu odmiany Torka oraz kwiatostanie niektórych odmian może być następnym, potencjalnym kandydatem do badań.
- 2) Metoda izolacji RNA z niedojrzałych kłosów w istotny sposób wpływa na poziom ekspresji genów *TaCKX*.
- 3) Analiza ekspresji wybranych genów *TaCKX* w korzeniach, kwiatostanach i rozwijających się kłosach 0 DAP, 7 DAP i 14 DAP dla pięciu odmian pszenicy umożliwiła wytypowanie genów z rodziny *TaCKX* do analiz korelacji z plonowaniem w materiałach hodowlanych.
- 4) Bardzo duże różnice w poziomie ekspresji genów *TaCKX1* i *TaCKX5* w rozwijających się ziarniakach 7 DAP wśród testowanych materiałów hodowlanych może wskazywać na ich związek z produktywnością.
- 5) Negatywna korelacja pomiędzy ekspresją genów *TaCKX1* i *TaCKX5* w kłosach 7 DAP badanych materiałów hodowlanych a plonem weryfikuje pozytywnie założoną hipotezę badawczą.
- 6) Negatywna korelacja pomiędzy aktywnością enzymu CKX w kłosach 7 DAP a plonem wskazuje, że ten czynnik może być pomocny przy ocenie potencjału plonotwórczego genotypów pszenicy.
- 7) Małe zróżnicowanie w potencjale plonotwórczym materiałów hodowlanych mogło wpłynąć na stwierdzenie spodziewanej korelacji w niewielkiej liczbie rodów.
- 8) Różnice w ekspresji genu *TaCKX1* w kłosach 7 DAP pomiędzy odmianami Trappe i Arabella mogą być wynikiem dużych różnic lub braku początkowego fragmentu tego genu u odmiany Arabella.
- 9) Występowanie na diagramach sekwencyjnych dwóch sygnałów o równej intensywności zarówno dla sekwencji genu *TaCKX1* jak i *TaCKX5* u obydwu odmian może świadczyć o ekspresji alleli tych genów w dwóch genomach.

Mierniki dla tematu badawczego 1 (podać w tabeli)

| Lp. | miernik ¹ | wartość miernika zaplanowana/zrealizowana |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| 1. | Wyznaczenie ekspresji względnej genu <i>TaCKX1</i> i drugiego wytypowanego <i>TaCKX</i> w rozwijających się kłosach i korzeniach w 50 genotypach (2x2x50) 24 (tab. 2) + 22 (tab. 3) + 4 (rys. 2) = 50 genotypów x 2 geny x 2 tkanki = 200 | 200 / 200 |
| 2. | Pomiary aktywności enzymu CKX w rozwijających się kłosach i korzeniach 50 genotypów (2x50) 24 (tab. 2) + 22 (tab. 3) + 4 (rys. 2) = 50 genotypów x 2 tkanki = 100 | 100 / 100 |
| 3. | Opis fenotypowy genotypów 24 (tab. 2) + 22 (tab. 3) + 4 (rys. 2) = 50 genotypów | 50 / 50 |
| 4. | Sekwencjonowanie fragmentów cDNA genów <i>TaCKX1</i> i drugiego wytypowanego w dwóch genotypach 2 geny x 2 odmiany = 4 sekwencje | 4 / 4 |

5. Informacja nt. prezentacji wyników badań (podać w tabeli - należy wymienić konferencje, na których planuje się zaprezentować wyniki i/lub wymienić publikacje, które zostaną przygotowane i przyjęte do druku w trakcie realizacji zadania w danym roku).

| Prezentacja wyników na konferencjach | | | | |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------|-------------------------------|
| lp. | konferencja | rodzaj prezentacji ² | liczba prezentacji | wartość miernika zrealizowana |
| 1 | Eucarpia 20th General Congress, 29. 08. – 1. 09. 2016, Zurich, Szwajcaria. Prezentowane były wyniki z doświadczeń prowadzonych w 2016 (rys. 1; dane z tab. 1) częściowo uzupełnione wynikami z 2015 (wybrane ze str. 3-4, 6, 13-14; wybrane z tabel 1, 2, 3). | poster | 1 | 1 |
| 2 | Nowe osiągnięcia polskich zespołów badawczych w dziedzinie genetyki, hodowli i biotechnologii roślin, Międzyzdroje, 8-10 czerwca 2016. Przedstawienie wyników projektu z 2015 (wybrane wyniki ze stron z wynikami i tabel) i 2016 (str.5 p. 1, tab. 1) na tle literatury światowej. | wykład | 1 | 1 |
| Publikacje w monografiach/czasopismach recenzowanych | | | | |
| lp. | monografia/czasopismo | rodzaj publikacji ³ | liczba publikacji | wartość miernika zrealizowana |
| 1 | Czasopismo genetyczne z listy JCR | przeglądowa (1) | 1 | 1 |

Jeśli któryś z mierników nie został zrealizowany należy podać przyczyny.

¹ Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów et

² Podać, czy planowany jest wykład plenarny, doniesienie konferencyjne czy poster.

³ Podać, czy planowana jest publikacja oryginalna, czy np. polemika, list do edytora, rozdział w monografii etc.

Załączniki⁴: wyciągi z materiałów konferencyjnych

Onysk A, Boczkowska M, Rajchel IK, Orczyk W, Nadolska-Orczyk A. Looking for *TaCKX* genes associated with grain yield. 20th General Congress of Eucarpia (poster), Zurich, Switzerland, 29 sierpień - 1wrzesień 2016, str 180.

Nadolska-Orczyk A, Rajchel IK, Onysk A. 2016. Badania funkcji ważnych genów użytkowych zbóż i ich wykorzystanie w praktyce hodowlanej. Konferencja naukowa „Nowe osiągnięcia polskich zespołów badawczych w dziedzinie genetyki, hodowli i biotechnologii roślin” (wykład) Międzyzdroje, 8-10 czerwiec 2016, str. 48.

Nadolska-Orczyk A, Rajchel IK, Orczyk W, Onysk A, Gasparis S. Major genes determining yield-related traits in wheat and barley. (Theor. Appl. Genet. Recenzowane; link do wersji elektronicznej zostanie dołączony po ukazaniu się publikacji w druku).

5. Adres, pod którym wyniki badań są dostępne na stronie internetowej wnioskodawcy:

<http://www.ihar.edu.pl/>

http://www.ihar.edu.pl/lp_w_zal_do_rozporzadzenia_mrirw_5.php?panel=1

Sporządzono:

Pieczęć jednostki

Osoba reprezentująca jednostkę

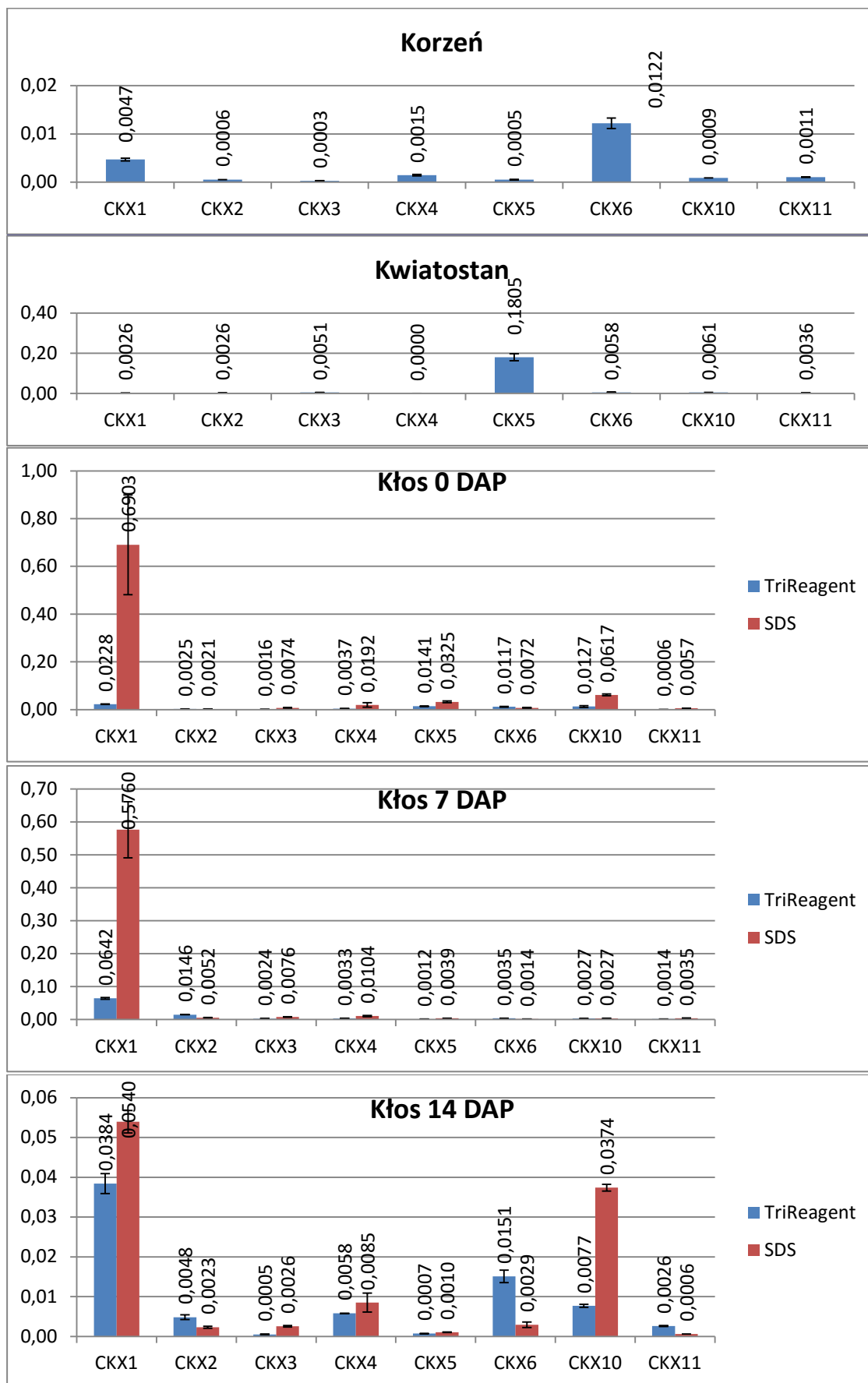
Kierownik zadania

data

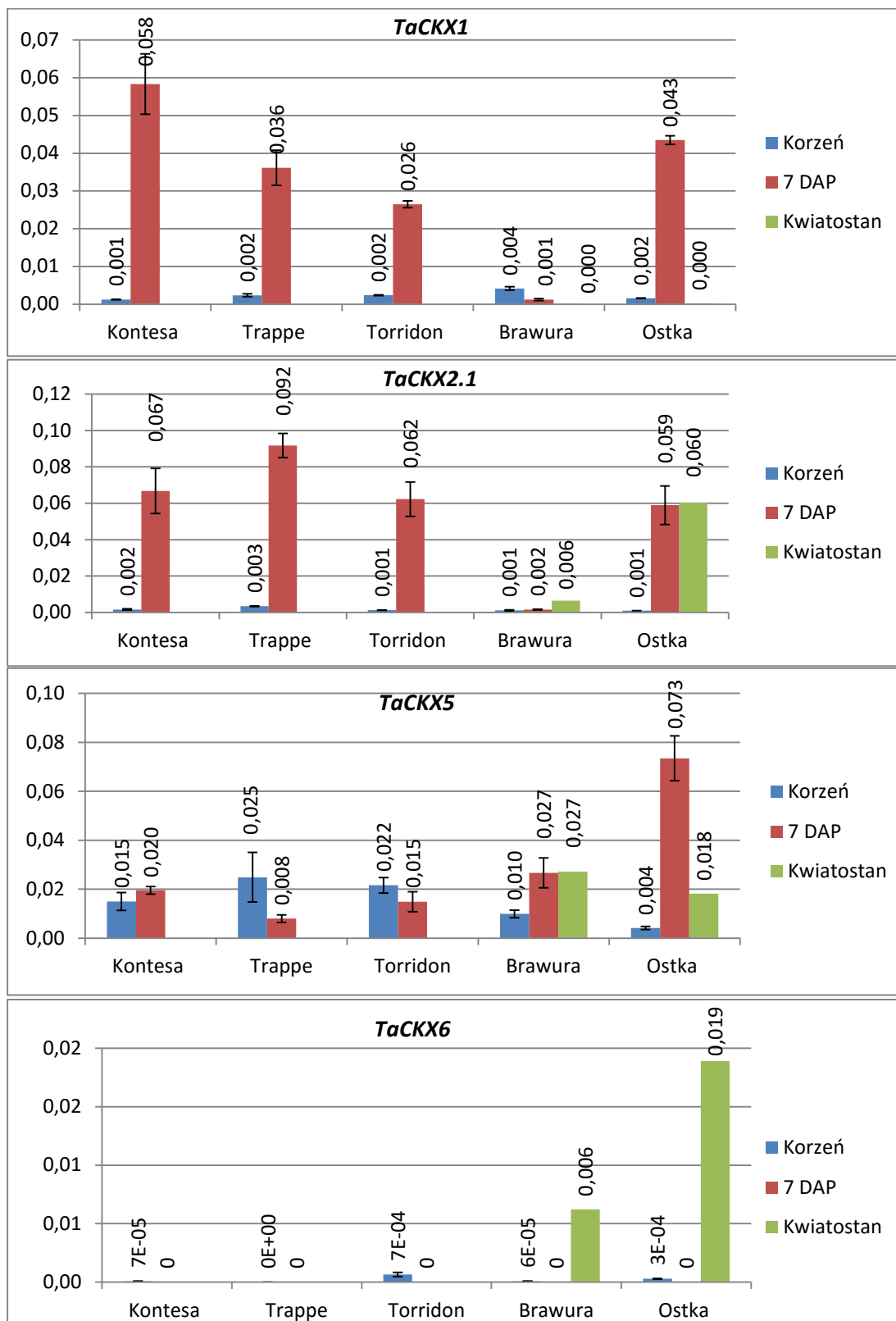
podpis i pieczęć

podpis

⁴ Podać listę oraz dołączyć do sprawozdania kopie posterów/wyciągi z materiałów konferencyjnych/publikacje etc. W nawiasie podać, na której stronie sprawozdania znajdują się prezentowane wyniki.



Rys. 1. Względna ekspresja znanych genów *TaCKX* w korzeniu, kwiatostanie i rozwijającym się kłosie 0 DAP, 7 DAP i 14 DAP pszenicy odmiany Kontesa. RNA z kłosów izolowano za pomocą dwóch metod: z użyciem TriReagent oraz SDS.



| | | | | | |
|------|-------|------|-------|-------|-------|
| MZ/R | 4,88 | 8,30 | 8,99 | 7,56 | 9,51 |
| MTZ | 24,14 | 33,8 | 29,98 | 31,97 | 38,66 |

Rys. 2. Względna ekspresja wybranych genów *TaCKX* (*TaCKX1*, *TaCKX2.1*, *TaCKX5*, *TaCKX6*) w korzeniu i kłosie 7 DAP pięciu odmian pszenicy oraz kwiatostanie dwóch odmian, Brawury i Ostki. Cechy fenotypowe: MZ/R – średnia masa ziarna/roślinę; MTZ – masa tysiąca ziaren.

Tabela 1 jest w załączniku 1.

Tabela 2. Wartości plonowania oraz innych cech fenotypowych, aktywności enzymu CKX oraz ekspresji genów *TaCKX1* i *TaCKX5* w korzeniach i kłosach 7 DAP w rodach przekazanych przez Hodowlę Roślin Strzelce.

| Nr rodu | plon kg z 10m ² | aktywność CKX korzeń | aktywność CKX kłos | OS | ekspresja CKX1, korzeń | ekspresja CKX5 korzeń | ekspresja CKX1 kłos | OS | ekspresja CKX5 kłos | OS | kłoszenie | wyleganie | wysokość |
|---------|----------------------------|----------------------|--------------------|------|------------------------|-----------------------|---------------------|--------|---------------------|--------|-----------|-----------|----------|
| 951 | 5,24 | 0,314 | 1,227 | 0,32 | 0 | 0 | 0,0695 | 0,0164 | 0,0026 | 0,0006 | 154 | | |
| 952 | 6,21 | 0,612 | 1,224 | 0,26 | 0 | 0 | 0,0085 | 0,0006 | 0,0023 | 0,0002 | 157 | 7 | 91 |
| 953 | 5,68 | 0,440 | 1,412 | 0,05 | 0 | 0 | 0,0282 | 0,0079 | 0,0014 | 0,0003 | 153 | 9 | 78 |
| 954 | 5,2 | 0,602 | 1,225 | 0,23 | 0 | 0 | 0,0179 | 0,0086 | 0,0043 | 0,0020 | 153 | | |
| 961 | 5,44 | 0,930 | 1,255 | 0,31 | 0 | 0 | 0,0043 | 0,0014 | 0,0047 | 0,0024 | 158 | 9 | 77 |
| 962 | 6,06 | 0,862 | 1,277 | 0,25 | 0 | 0 | 0,0125 | 0,0014 | 0,0289 | 0,0092 | 158 | 8 | 94 |
| 963 | 5,56 | 0,540 | 1,334 | 0,24 | 0 | 0 | 0,0329 | 0,0074 | 0,0082 | 0,0114 | 158 | 9 | 68 |
| 964 | 4,95 | 0,534 | 1,377 | 0,31 | 0 | 0 | 0,0151 | 0,0007 | 0,0007 | 0,0001 | 158 | | |
| 971 | 5,58 | 0,574 | 1,219 | 0,22 | 0 | 0 | 0,0034 | 0,0004 | 0,0002 | 0,0000 | 157 | 9 | 95 |
| 972 | 5,04 | 0,704 | 0,665 | 0,30 | 0 | 0 | 0,0045 | 0,0004 | 0,0008 | 0,0000 | 155 | | |
| 973 | 5,64 | 0,648 | 0,640 | 0,07 | 0 | 0 | 0,0103 | 0,0016 | 0,0004 | 0,0001 | 159 | 9 | 101 |
| 974 | 4,55 | 0,639 | 1,113 | 0,13 | 0 | 0 | 0,0149 | 0,0016 | 0,0002 | 0,0001 | 153 | | |
| 975 | 6,35 | 0,509 | bd | bd | bd | bd | bd | bd | bd | bd | 159 | 4,5 | 80 |
| 976 | 5,1 | 0,475 | 0,555 | 0,17 | 0 | 0 | 0,0208 | 0,0021 | 0,0024 | 0,0007 | 155 | | |
| 911 | 4,45 | 0,640 | 0,867 | 0,12 | 0 | 0 | 0,0222 | 0,0025 | 0,0023 | 0,0010 | 153 | | |
| 912 | 6,15 | 0,309 | 0,925 | 0,11 | 0 | 0 | 0,0276 | 0,0119 | 0,0055 | 0,0041 | 160 | 9 | 86 |
| 921 | 5,96 | 0,478 | 0,701 | 0,06 | 0 | 0 | 0,0284 | 0,0038 | 0,0012 | 0,0003 | 155 | 8 | 98 |
| 922 | 5,24 | 0,461 | 1,000 | 0,27 | 0 | 0 | 0,0177 | 0,0042 | 0,0033 | 0,0015 | 153 | | |
| 923 | 5,17 | 0,420 | 0,736 | 0,02 | 0 | 0 | 0,0372 | 0,0039 | 0,0015 | 0,0004 | 153 | | |
| 924 | 6,63 | 0,562 | 0,921 | 0,19 | 0 | 0 | 0,0147 | 0,0050 | 0,0021 | 0,0000 | 158 | | |
| 925 | 6,19 | 0,572 | 1,423 | 0,18 | 0 | 0 | 0,0441 | 0,0019 | 0,0013 | 0,0003 | 158 | 4 | 94 |
| 926 | 5,13 | 0,686 | 1,481 | 0,32 | 0 | 0 | 0,0434 | 0,0084 | 0,0005 | 0,0001 | 154 | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|-------------|--------------|
| średnia | 5,52 | 0,569 | 1,075 | 0,197 | 0,000 | 0,000 | 0,023 | 0,004 | 0,004 | 0,002 | 156,25 | 7,77 | 87,45 |
| OS | 0,58 | 0,150 | 0,291 | 0,098 | 0,000 | 0,000 | 0,016 | 0,004 | 0,006 | 0,003 | 1,97 | 1,86 | 10,42 |
| Ostka Kontrola | | 1,000 | 1,000 | 0,00 | 0 | 0 | 0 | 0,0123 | 0,0046 | 0,0037 | 155 | | 78 |
| Kontesa | | 1,335 | 1,204 | 0,04 | 0 | 0 | 0 | 0,0052 | 0,0077 | 0,0035 | 158 | | 86 |
| średnia | | 1,167 | 1,102 | 0,021 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,009 | 0,006 | 0,004 | | | |
| OS | | 0,237 | 0,144 | 0,030 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,005 | 0,002 | 0,000 | | | |

 korelacja negatywna (spodziewana)

OS - odchylenie standardowe

Tabela 3. Wartości plonowania i innych cech fenotypowych, aktywności enzymu CKX oraz ekspresji genów *TaCKX1* i *TaCKX5* w korzeniach i kłosach 7 DAP rodów przekazanych przez Hodowlę Roślin Danko.

| Pochodzenie | Nazwa | plon %WZ (4 miejsc.) | aktywność CKX korzeń | aktywność CKX kłos | OS | ekspresja <i>CKX1</i> , korzeń | ekspresja <i>CKX5</i> korzeń | ekspresja <i>CKX1</i> kłos | OS | ekspresja <i>CKX5</i> kłos | OS | wysokość (cm) | wyleganie | kłoszenie l. dni od 1. 06. |
|-----------------|-----------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|--------------|--------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|--------------|----------------------------------|--------------|------------------|------------|----------------------------------|
| T1xK1 | 12 | 90,2 | 0,978 | 0,796 | 0,02 | 0 | 0 | 0,031 | 0,005 | 0,045 | 0,004 | 100 | 8,5 | 11 |
| | 15 | 92,7 | 0,997 | 1,187 | 0,04 | 0 | 0 | 0,021 | 0,005 | 0,001 | 0,000 | 99 | 7,8 | 8 |
| CxT2xP | 400 | 84,7 | 0,773 | 0,684 | 0,02 | 0 | 0 | 0,004 | 0,001 | 0,001 | 0,000 | 90 | 8,0 | 13 |
| | 401 | 91,3 | 1,220 | 0,652 | 0,08 | 0 | 0 | 0,008 | 0,000 | 0,001 | 0,000 | 94 | 7,5 | 12 |
| FxK2xT2 | 407 | 82,8 | 1,156 | 1,002 | 0,11 | 0 | 0 | 0,037 | 0,008 | 0,004 | 0,004 | 80 | 8,5 | 13 |
| | 412 | 93,8 | 1,419 | 0,807 | 0,12 | 0 | 0 | 0,035 | 0,012 | 0,006 | 0,004 | 85 | 8,3 | 12 |
| K2xFxT2 | 425 | 84,9 | 1,667 | 0,830 | 0,10 | 0 | 0 | 0,053 | 0,003 | 0,006 | 0,001 | 84 | 9 | 11 |
| | 428 | 88,4 | 1,113 | 0,952 | 0,12 | 0 | 0 | 0,014 | 0,005 | 0,004 | 0,001 | 92 | 9 | 8 |
| | 429 | 89,0 | 0,925 | 0,961 | 0,08 | 0 | 0 | 0,026 | 0,003 | 0,002 | 0,000 | 92 | 9 | 8 |
| | 431 | 92,6 | 1,290 | 0,753 | 0,07 | 0 | 0 | 0,035 | 0,015 | 0,004 | 0,002 | 95 | 9 | 7 |
| FxT2xT2 | 496 | 91,4 | 1,037 | 0,906 | 0,07 | 0 | 0 | 0,017 | 0,001 | 0,011 | 0,003 | 73 | 7 | 11 |
| | 497 | 89,0 | 0,486 | 0,835 | 0,08 | 0 | 0 | 0,023 | 0,002 | 0,011 | 0,003 | 71 | 8,5 | 11 |
| | 498 | 83,2 | 0,896 | 0,918 | 0,05 | 0 | 0 | 0,040 | 0,016 | 0,012 | 0,004 | 72 | 9 | 11 |
| | 499 | 89,8 | 1,018 | 0,938 | 0,02 | 0 | 0 | 0,014 | 0,005 | 0,015 | 0,002 | 73 | 9 | 11 |
| K2xT1xT2 | 501 | 91,0 | 1,291 | 0,825 | 0,07 | 0 | 0 | 0,026 | 0,003 | 0,020 | 0,062 | 78 | 8 | 9 |
| | 501 | 84,1 | 0,783 | 0,900 | 0,09 | 0 | 0 | 0,035 | 0,015 | 0,019 | 0,007 | 79 | 6,5 | 8 |
| średnia | | 88,7 | 1,066 | 0,872 | 0,072 | 0 | 0 | 0,026 | 0,006 | 0,021 | 0,006 | 84,8 | 8,3 | 10,1 |
| OS | | 3,5 | 0,273 | 0,125 | 0,032 | 0 | 0 | 0,012 | 0,005 | 0,047 | 0,015 | 9,5 | 0,8 | 2,0 |
| rodzice: | | | | | | | | | | | | | | |
| | T1 | 99 | 0,434 | 0,780 | 0,03 | 0 | 0 | 0,009 | 0,003 | 0,005 | 0,003 | 99 | | |
| | K1 | 101 | 0,497 | 0,875 | 0,04 | 0 | 0 | 0,010 | 0,002 | 0,029 | 0,031 | 99 | | |
| | A | 100 | 0,560 | 0,886 | 0,08 | 0 | 0 | 0,007 | 0,001 | 0,004 | 0,000 | 94 | | |
| | K2 | 95 | 0,483 | 0,770 | 0,06 | 0 | 0 | 0,015 | 0,001 | 0,001 | 0,000 | 85 | | |
| | T2 | 96 | 1,176 | 0,798 | 0,14 | 0 | 0 | 0,006 | 0,000 | 0,009 | 0,008 | 82 | | |
| | Ostka | 91 | 1,000 | 1,000 | 0,00 | 0 | 0 | 0,016 | 0,004 | 0,002 | 0,000 | 80 | | |
| średnia | | | 0,692 | 0,851 | 0,059 | 0 | 0 | 0,011 | 0,002 | 0,008 | 0,007 | 89,8 | | |
| OS | | | 0,287 | 0,080 | 0,045 | 0 | 0 | 0,004 | 0,001 | 0,010 | 0,011 | | | |

korelacja negatywna (spodziewana); OS – ochylenie standardowe

Tabela 4. Porównanie sekwencji cDNA genu *TaCKX1* odmian Trappe i Arabella z sekwencją tego genu z baz danych NCBI (numer akcesyjny DQ784573.1).

| Pozycja nukleotydu w sekwencji DQ784573.1 | <i>T. aestivum</i> clone QCCKX1 | Odmiana Trappe | Odmiana Arabella | Zmiana |
|-------------------------------------------|---------------------------------|----------------|------------------|-------------|
| 42 | C | G | b.d. | Substytucja |
| 58 | C | G/C | b.d. | * |
| 96 | G | C/G | b.d. | * |
| 111 | G | C | b.d. | Substytucja |
| 116 | A | G/A | b.d. | * |
| 119 | C | T | b.d. | Substytucja |
| 132 | C | A/C | b.d. | * |
| 293 | G | C | b.d. | Substytucja |
| 254 | T | C/T | b.d. | * |
| 258 | G | A/G | b.d. | * |
| 276 | C | G | b.d. | Substytucja |
| 285 | G | C | b.d. | Substytucja |
| 291 | G | C | b.d. | Substytucja |
| 298 | C | G | b.d. | Substytucja |
| 313 | C | T | b.d. | Substytucja |
| 336 | G | C | b.d. | Substytucja |
| 345 | G | C/G | b.d. | * |
| 444 | C | G/C | G/C | * |
| 465 | G | C/G | C/G | * |
| 474 | C | G/A | G/A | * |
| 498 | G | C | C | Substytucja |
| 572 | T | C/T | C/T | * |
| 632 | G | A | A | Substytucja |
| 648 | C | T/C | T/C | * |
| 653 | T | C/T | C/T | * |
| 666 | C | G | G | Substytucja |
| 711 | A | G | G | Substytucja |
| 799 | A | - | - | Delecja |
| 876 | G | A | A | Substytucja |
| 913 | - | C | C | Insercja |
| 922 | C | G/C | G/C | * |
| 1022 | C | T/C | T/C | * |
| 1144 | C | T/C | T/C | * |
| 1156 | C | T/C | T/C | * |
| 1164 | A | T/A | T/A | * |
| 1202 | A | C/A | C/A | * |
| 1230 | A | G/A | G/A | * |
| 1316 | A | G | G | Substytucja |
| 1330 | G | A/G | A/G | * |
| 1358 | G | A | A | Substytucja |
| 1443 | C | G | G | Substytucja |

b.d. – brak danych

*podwójny sygnał - allel może być kodowany i ulegać ekspresji w dwóch genomach