

Tytuł zadania 8: Tolerancja na stresy abiotyczne - genotypowanie pszenicy w oparciu o strategię genów kandydujących

1. Kierownik zadania: prof. dr hab. Wacław Orczyk

Cele tematów badawczych w roku 2016:

a) identyfikacja genów pszenicy regulowanych stresem suszy i kodujących enzymy metabolizmu trehalozy, b) poznanie sekwencji nukleotydowej genomowego DNA reprezentującego region promotorowy genu *Tainv1* kodującego inwertazę1 oraz identyfikacja haplotypów reprezentujących zmienność tego regionu oraz c) poznanie wzoru ekspresji wybranych genów, których ekspresja w pylnikach jest potencjalnie regulowana w czasie stresu suszy.

Wyniki

Wykorzystując dane literaturowe i bazy NCBI, EnsamblePlants, Uniprot znaleziono 7 potencjalnych ortologów genów *TPS* pszenicy. W wyniku dalszej analizy zidentyfikowano 4 klony kodujące białko o oczekiwanej aktywności TPS: FJ167677, AK331389, AK331757 i AK332212. Potwierdzono obecność transkryptów tych klonów w cDNA pszenicy.

Badano loci *TaCWI-4A* i *TaCWI-5D*, w których znajdują się homeologi genu *TaInv1* kodujące inwertazę1 typu CWI i charakteryzujące się organowo specyficzną ekspresją w pylnikach. Identyfikowano haplotypy tych loci *TaCWI-4A* i *TaCWI-5D* w 14 genotypach pszenic różniących się reakcją na stres suszy aplikowany we wczesnych stadiach rozwoju generatywnego. Stwierdzono, że haplotyp *Hap-4A-C* był w 8 genotypach, *Hap-4A-T* w 5 a haplotyp *Hap-4A-C/T* w jednym genotypie. W badanej grupie odmian nie wystąpił polimorfizm w locus *TaCWI-5D*. Sekwencjonowanie i analiza sekwencji wykazała obecność dalszej zmienności typu indel i SNP. Wzory ekspresji trzech genów kodujących syntazę trehalozo-6-fosforanu oraz dwóch genów kodujących inwertazę1 i inwertazę3 badane w pylnikach czterech genotypów pszenic wykazały zależność od stresu suszy.

Wnioski

1. Zidentyfikowano 4 klony potencjalne *TaTPS* i potwierdzono obecność ich transkryptów w cDNA pszenicy.
2. Badane genotypy charakteryzują się pełnym zakresem zmienności w locus *TaCWI-4A*. W tym locus dodatkowo stwierdzono zmienność typu SNP i Indel.
3. Badana grupa genotypów charakteryzuje się niewielką zmiennością locus *TaCWI-5D*. Stwierdzono obecność tylko haplotypu 5D-C, któremu towarzyszył 2x polimorfizm SNP.
4. Haplotyp *TaCWI-4A-C* występuje częściej w genotypach o relatywnie wysokim współczynniku wypełnienia kłosa.
5. Regulacja genów *TaTPS* potwierdza ich funkcję w reakcji pylników na stres suszy w czasie mikrosporogenezy.
6. Wzór ekspresji *TaTPS1* i *TaTPS2*, specyficznie regulowany w pylnikach w dwóch grupach odmian w stresie suszy pozwala wnioskować o roli tych genów w tolerancji mikrosporogenezy na stres suszy.
7. Regulacja *TaInv1* i *TaInv3* w pylnikach w czasie suszy wskazuje na rolę tych genów w reakcji na stres.
8. Brak wspólnego dla tych genów wzoru regulacji w badanych kombinacjach wskazuje na różne funkcje tych dwóch homeologów w reakcji pylników na stres suszy.
9. Porównanie uśrednionej ekspresji czterech klonów reprezentujących cztery homeologi inwertazy 3 z ekspresją klonu AF030421 pozwala wnioskować, że regulacja każdego z homeologów jest niezależna od siebie i może być inna.