

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

Kierownik zadania: prof. dr hab. Waław Orczyk

Cele tematów w roku 2018: 1. Sekwencjonowanie fragmentów gDNA pszenicy z określonymi regionami SSR w genotypach pszenic różniących się tolerancją na stres suszy w czasie mikrosporogenezy. 2. Eksperymentalna weryfikacja poznanych sekwencji w genotypach pszenic różniących się tolerancją na stres suszy w czasie mikrosporogenezy.

Wyniki

W 3 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 4041295BL zawiera dwa sprzężone motywy (CAGC)3-(AAGA)5, Reg35-404 zlokalizowany na skafoldzie 4041295BL zawiera sekwencję mikrosatelitarną z motywem AG powtórzoną 18 razy, Reg41-404 zlokalizowany na skafoldzie 4041295BL zawiera dwa sprzężone motywy (GGC)5-(GCG)5 oraz Reg3-435 zlokalizowany na skafoldzie 4356405DL 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 ampliconów 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 ampliconów w żelu poliakrylamidowym. W kolejnym etapie analizowana będzie zbieżność tych polimorfizmów z obserwowanymi wcześniej danymi żywotności pyłku i stopnia wypełnienia kłosów.