

MATEUSZ PRZYBOROWSKI ¹

SEBASTIAN GASPARIŚ ¹

MACIEJ KAŁA ¹

WACŁAW ORCZYK ²

ANNA NADOLSKA-ORCZYK ¹

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy w Radzikowie

¹Zakład Genomiki Funkcjonalnej

²Zakład inżynierii Genetycznej

m.przyborowski@ihar.edu.pl

Frekwencja alleli puroindolinowych w odmianach kulturowych pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) zdeponowanych w Krajowym Centrum Roślinnych Zasobów Genowych*

Frequency of puroindoline alleles in landraces of common wheat (*Triticum aestivum* L.) from National Centre for Plant Genetic Resources: Polish Genebank

Twardość ziarna pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) jest czynnikiem wpływającym na wartość przemiałową, wypiekową, wielkość cząstek mąki i zdolność do absorpcji wody, w związku z tym decyduje o właściwościach technologicznych mąki. Mąka z ziarna miękkiego wykorzystywana jest do wyrobu ciast i ciastek. Mąka z twardych odmian pszenicy przeznaczana jest do produkcji pieczywa. Twardość ziarna jest determinowana przez zmienność w obrębie dwóch genów puroindolinowych *Pina-D1* oraz *Pinb-D1* znajdujących się na krótkim ramieniu chromosomu 5D. Allele typu dzikiego, *Pina-D1a* i *Pinb-D1a* warunkują występowanie ziarna miękkiego. Mutacja w jednym lub obydwu genach *Pin* powoduje zwiększenie twardości ziarna.

Celem pracy była analiza frekwencji mutacji w obydwu genach *Pin* w 82 odmianach kulturowych zdeponowanych w Krajowym Centrum Roślinnych Zasobów Genowych. Allele identyfikowano poprzez sekwencjonowanie produktów PCR obu genów oraz

* 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.

optymalizację nowego sposobu genotypowania w oparciu o endonukleazę CEL I. DNA na potrzeby doświadczeń było ekstrahowane zmodyfikowaną metodą CTAB z próby zbiorczej danej odmiany, w której skład wchodziło od sześciu do ośmiu pędów nadziemnych z pięciodniowych siewek.

Badania wykazały brak zmienności w obrębie genu *Pina*. Wszystkie odmiany zawierały dziki allel tego genu, to jest *Pina-D1a*. Niewielka zmienność została zaobserwowana w przypadku genu *Pinb*. Prócz allelu typu dzikiego (*Pinb-D1a*) występował jeszcze jeden allel *Pinb-D1b*. Część badanych odmian zawierała dwa typy allelu *Pinb*, co świadczy o niejednorodności odmian pozyskiwanych w czasie ekspedycji naukowych z terenów Polski.

W celu optymalizacji metody genotypowania w oparciu o endonukleazę CEL I, enzym ten został wyekstrahowany z ogonków liściowych *Apium graveolens* vr. Groene Pascal metodą opisaną przez Oleykowski i in.. [1]. Następnie przetestowano działanie enzymu w różnych stężeniach oraz różnych buforach reakcyjnych. Do dalszych doświadczeń wybrano najbardziej optymalny skład mieszaniny reakcyjnej, sposób formowania heterodupleksu oraz dobrano startery do sekwencji kodującej *Pina* i *Pinb*. Metoda genotypowania w oparciu o CEL I jest szybka i daje jednoznaczne wyniki.

1. Oleykowski C. A., Bronson Mullins C. R., Godwin A. K., Yeung A. T. 1998. Mutation detection using a novel plant endonuclease. *Nucleic Acids Research* 26. (20): 4597 — 4602.