



Caracterizarea moleculară a unui sortiment de linii și soiuri de grâu la nivelul locusului *WAPO-A1* (7A)

Daniel Cristina, Alina-Gabriela Turcu, Elena-Laura Coșescu, Violeta Ionescu și Matilda Ciucă
1 - Institutul Național de Cercetare și Dezvoltare Agricolă (INCD) Fundulea, 915200 Călărași, România
*Autor corespondent: danielcristina89@gmail.com

INTRODUCERE

Creșterea producției la grâu și mecanismele genetice care stau la baza unei producții ridicate sunt de un interes major. Producția la grâu (*Triticum aestivum* L.) este o trăsătură poligenică care reprezintă punctul culminant al multor procese de dezvoltare și interacțiunile lor cu mediul. Producția de boabe este dată în mare parte de trei componente majore: greutatea/dimensiunea și forma boabelor, numărul de boabe per spic și de numărul spicelor pe unitate de suprafață (Gegas și colab. 2010). Numărul de boabe pe spic (o combinație a numărului de spiculețe și fertilitatea florilor) a jucat un rol important în producții crescute obținute prin ameliorarea modernă a grâului (Calderini și colab. 1995; Würschum și colab. 2018).

În rețeaua complexă de trăsături legate de spic, numărul total de spiculețe de pe spic (NTSS) a fost studiat mai intens. În abordările genetice, NTSS apare de obicei ca o trăsătură cantitativă și au fost descriși mai mulți loci (QTL) (Liu și colab., 2018, Chen și colab., 2020). De asemenea se cunosc câteva gene care influențează NTSS, printre acestea numărându-se:

(1) gena *Q* implicată în domesticirea grâului (Greenwood și colab., 2017);

(2) gena *TaMOC1* (Zhang și colab., 2015);

(3) un ortolog al grâului (*TaAPO-A1* sau *WAPO-A1*) de la orez pentru "*ABBERANT PANICLE ORGANISATION 1 (APO1)*" cu localizare pe cromozomul 7A (Kuzay și colab., 2019, Muqaddasi și colab., 2019, Voss-Fels și colab., 2019) și locusul homeolog de pe cromozomul 7B care conține *WAPO-B1* (Corsi și colab., 2021);

(4) locusul *T* pentru înflorire – "*FLOWERING LOCUS T*" - *FT-B1* (Brassac și colab., 2021).

SCOP

În acest studiu, am efectuat analize moleculare aferente locusului *WAPO-A1* pentru a investiga baza genetică a numărului total de spiculețe pe spic prezentă în germoplasma de grâu românească.





Caracterizarea moleculară a unui sortiment de linii și soiuri de grâu la nivelul locusului WAPO-A1 (7A)

MATERIAL ȘI METODE

Materialul vegetal a fost obținut de la INCDA Fundulea și a fost reprezentat de 31 de linii/soiuri de grâu și 9 amfiploizi sintetici.

Metode

- izolarea ADN din două boabe de grâu, fiecare probă fiind mojarată individual; tamponul de extracție utilizat a fost pe bază de SDS;
- verificarea purității și concentrației ADN, electroforetic și spectrofotometric;
- pregătirea diluțiilor (25ng/μl);
- amplificarea ADN (PCR) s-a realizat conform indicațiilor din literatură (Kuzay și colab., 2019) folosind kitul de amplificare My Taq Red DNA polymerase - BIOLINE; secvența primerilor utilizați în acest studiu se regăsește în tabelul 1;
- clivarea produșilor PCR, în cazul markerului WAPO1_C47F, s-a realizat cu enzima de restricție HpyCH4V;
- separarea produșilor PCR/clivați prin electroforeză pe gel de agaroză (1,5 și 2,5%);

Tabel 1 - Secvența primerilor utilizați în acest studiu

Secvență primer	Nume primer	Temp. annealing	
ACGGTTCCTCTTCCTGCTCAT	WAPO1_pro_F	60°C	Marker pentru INDEL 115pb
CGGAGGCGAGGACGAGT	WAPO1_pro_R		
AGCTCACTCACTCTCACTCCA	WAPO1_C47F_F	65°C	dCAPS pentru C47F
GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGAGGAAGGACGGCGTCGGGATG	WAPO1_C47F_R		



Caracterizarea moleculară a unui sortiment de linii și soiuri de grâu la nivelul locusului WAPO-A1 (7A)

REZULTATE ȘI DISCUȚII

- Ameliorarea producției la grâu este o sarcină dificilă datorată numărului mare de gene implicate, interacțiunilor dintre acestea și a efectelor mediului de cultură (climă, sol, disponibilitatea apei, etc.). Prin urmare, producția, luată ca o singură trăsătură, prezintă o ereditate scăzută.
- NTSS este o trăsătură atractivă pentru amelioratorii de grâu, deoarece prezintă o ereditate mai mare în comparație cu celelalte componente pentru producție (Zhang și colab., 2018). Mai mult, NTSS este o trăsătură determinată la o etapă de dezvoltare timpurie și, prin urmare, este mai puțin influențată de condițiile de mediu după formarea spicului.
- Gena *TaAPO-A1* sau *WAPO-A1* prezintă trei haplotipuri: H1, H2 și H3. Haplotipul H2 a fost asociat cu valori superioare ale NTSS comparativ cu celelalte două haplotipuri, H1 și H3. Alela *WAPO-A1* prezentă în haplotipul H2 a fost desemnată ***WAPO-A1b*** și cea prezentă în haplotipul H1 drept *WAPO-A1a*. Haplotipul H3 include două alele, *WAPO-A1c* și *WAPO-A1d*. Proteina codificată de *WAPO-A1b* prezintă o modificare în lanțul de aminoacizi, de la nivelul regiunii C47F, care o diferențiază de variantele găsite în celelalte haplotipuri. De asemenea, această alelă se diferențiază și printr-o inserție/deleție (INDEL) de 115pb la nivelul promotorului genei *WAPO-A1* (Kuzay și colab., 2019).
- Studii efectuate la nivelul locusului WAPO1 au arătat că are un efect neobișnuit de mare asupra producției, explicând până la 23% din variația fenotipică (Kuzay și colab. 2019; Muqaddasi și colab. 2019; Voss-Fels și colab. 2019).
- Creșterea numărului de spiculețe la genotipurile cu haplotipul favorabil H2 a fost asociată cu creșteri de producție atunci când alela a fost introdusă în soiuri productive cu biomasă ridicată și cultivarea acestora în condiții favorabile (apă și azot) (Zhang și colab., 2018; Kuzay și colab., 2019).
- Rezultatele acestui studiu au arătat că 60% din materialul analizat prezintă haplotipul favorabil H2 (alela *WAPO-A1b*) iar în cazul a doi amfiploizi sintetici (E6 și E18) rezultatele au fost diferite de cele din literatura de specialitate, prin urmare analizele pentru amfiploizii sintetici vor fi repetate pentru confirmarea rezultatelor (tab. 2 și fig.1).



Caracterizarea moleculară a unui sortiment de linii și soiuri de grâu la nivelul locusului WAPO-A1 (7A)

REZULTATE ȘI DISCUȚII

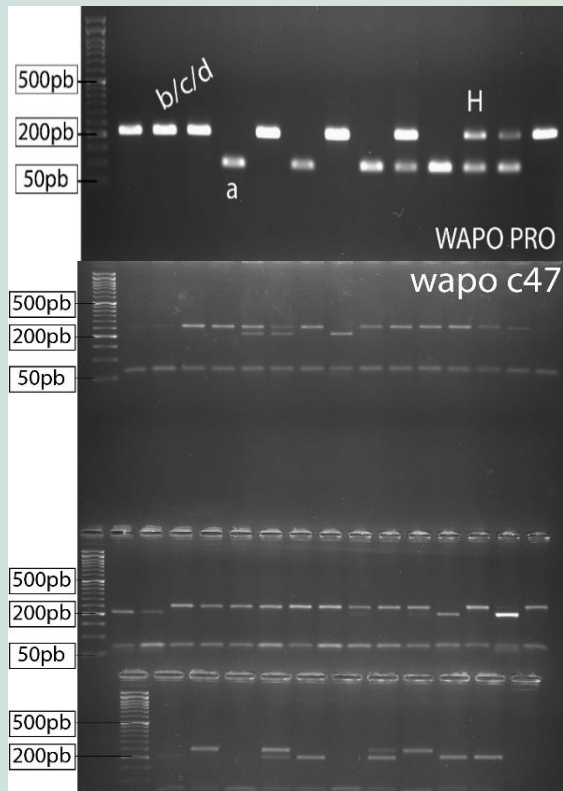


Figura 1. Profile electroforetice obținute în urma amplificării cu markerii WAPO Pro și WAPO c47

Tabel 2 – Rezultatele analizelor moleculare

	Proba	WAPO PRO INDEL	WAPO C47F	Variante alelice/Haplotip
1	Pitar	P+	F47	WAPO-A1b/H2
2	OTILIA	P+	F47	WAPO-A1b/H2
3	MIRANDA	P+	F47	WAPO-A1b/H2
4	DACIA	P+	F47	WAPO-A1b/H2
5	IULIA	H	H	
6	F29	P+	F47	WAPO-A1b/H2
7	GLOSA	P+	F47	WAPO-A1b/H2
8	RENAN	P-	C47	WAPO-A1a/H1
9	APACHE	P+	F47	WAPO-A1b/H2
10	IZVOR	P+	F47	WAPO-A1b/H2
11	GIZA 160	P+	F47	WAPO-A1b/H2
12	DRYSDALE	P+	F47	WAPO-A1b/H2
13	BOGDANA	P+	F47	WAPO-A1b/H2
14	VULKAN	P+	F47	WAPO-A1b/H2
15	BALTAG	P+	F47	WAPO-A1b/H2
16	ARMURA	P-	C47	WAPO-A1a/H1
17	ABUNDENT	P-	C47	WAPO-A1a/H1
18	AMURG	P+	F47	WAPO-A1b/H2
19	VOINIC	P+	F47	WAPO-A1b/H2
20	URSITA	P+	F47	WAPO-A1b/H2
21	BOEMA	P+	F47	WAPO-A1b/H2
22	SAWSN 3111	P+	F47	WAPO-A1b/H2
23	SAWSN 3068	P+	F47	WAPO-A1b/H2
24	IBWSN 1282	H?	F47	
25	IBWSN 1206	P+	F47	WAPO-A1b/H2
26	IBWSN 1160	H?	F47	
27	IBWSN 1124	P-	C47	WAPO-A1a/H1
28	IBWSN 1117	P+	F47	WAPO-A1b/H2
29	IBWSN 1077	P-	C47	WAPO-A1a/H1
30	KUKRI	P+	F47	WAPO-A1b/H2
31	F000628 G34 (F628 G)	P-	C47	WAPO-A1a/H1
32	E1	P+	F47	WAPO-A1b/H2
33	E6	P-	?	
34	E7	H	H	
35	E16	P-	C47	WAPO-A1a/H1
36	E18	H	?	
37	E19	H	H	
38	E17	P+	F47	WAPO-A1b/H2
39	E24	P-	C47	WAPO-A1a/H1
40	E35	P-	C47	WAPO-A1a/H1

- P+ = WAPO-A1b/c/d ~ 200pb; P- = WAPO-A1a ~ 100pb; \
- F47= WAPO-A1b = 200pb; C47= WAPO-A1a/c/d = 180pb.



Caracterizarea moleculară a unui sortiment de linii și soiuri de grâu la nivelul locusului *WAPO-A1* (7A)

CONCLUZII

- Caracterizarea moleculară a unui sortiment de linii și soiuri de grâu la nivelul locusului *WAPO-A1* a evidențiat prezența doar a două haplotipuri, respectiv H1 și H2.
- Haplotipul favorabil H2 a fost prezent în 24 din cele 40 de genotipuri analizate.
- Rezultatele diferite obținute în cazul amfiploizilor sintetici (E6 și E18) sugerează existența unei noi variante alelice în sursele de *Triticum durum* folosite pentru obținerea acestor amfiploizi.

PERSPECTIVE

- Continuarea analizelor pentru amfiploizi sintetici;
- Analize moleculare la nivelul locusului *WAPO-B1*.

Sursa de finanțare: Ministerul Cercetării, Inovării și Digitalizării, program NUCLEU, PN19.25.01.01

