

METK

Maaelu
Teadmuskeskus

Eesti maaelu tark vara



Praktiline taimegeneetika sortide eristamisel, aretamisel ja parandamisel.

Kristiina Laanemets
Taimebiotehnoloogia
osakonna juhataja

“Seemneseminar”, Eesti Põllumajandus-
Kaubanduskoja infopäev veebis

21.03.2024

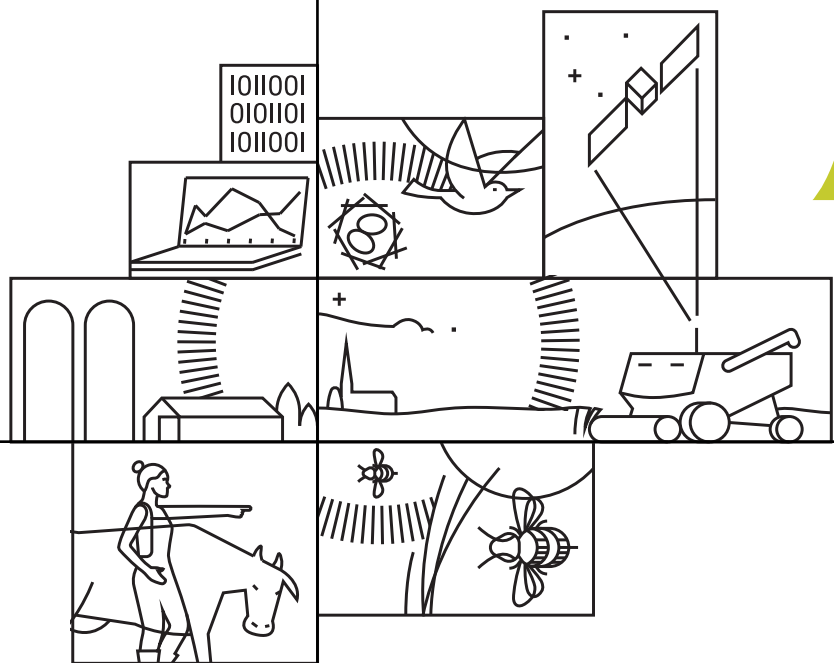


METIK

Maaelu
Teadmuskeskus

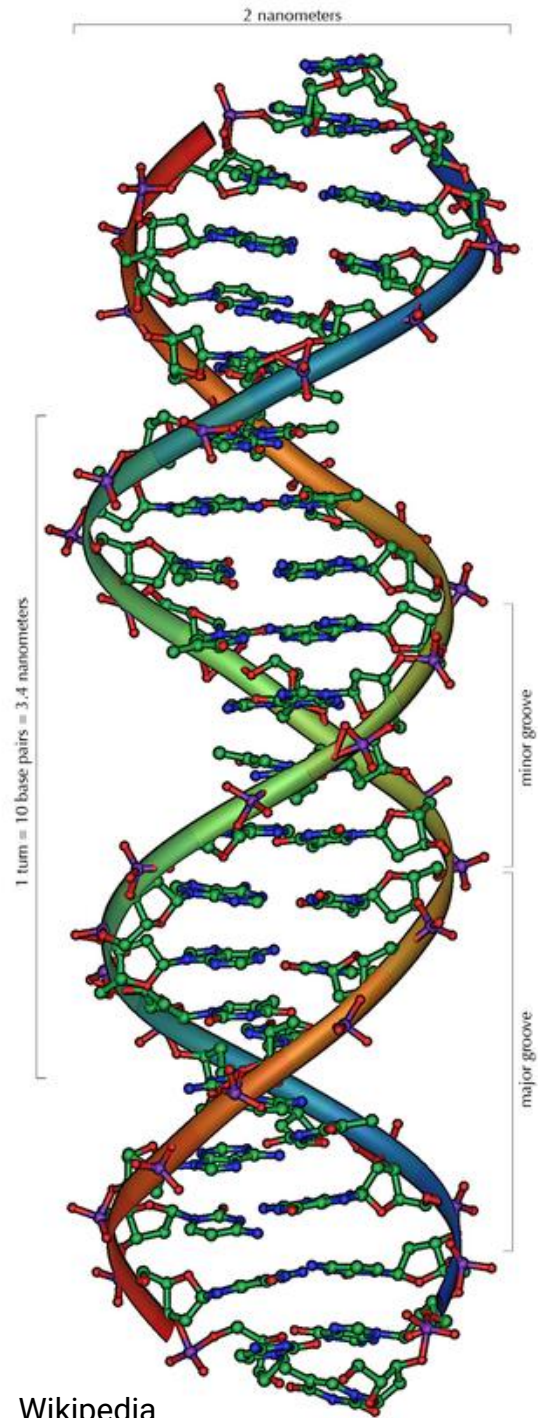
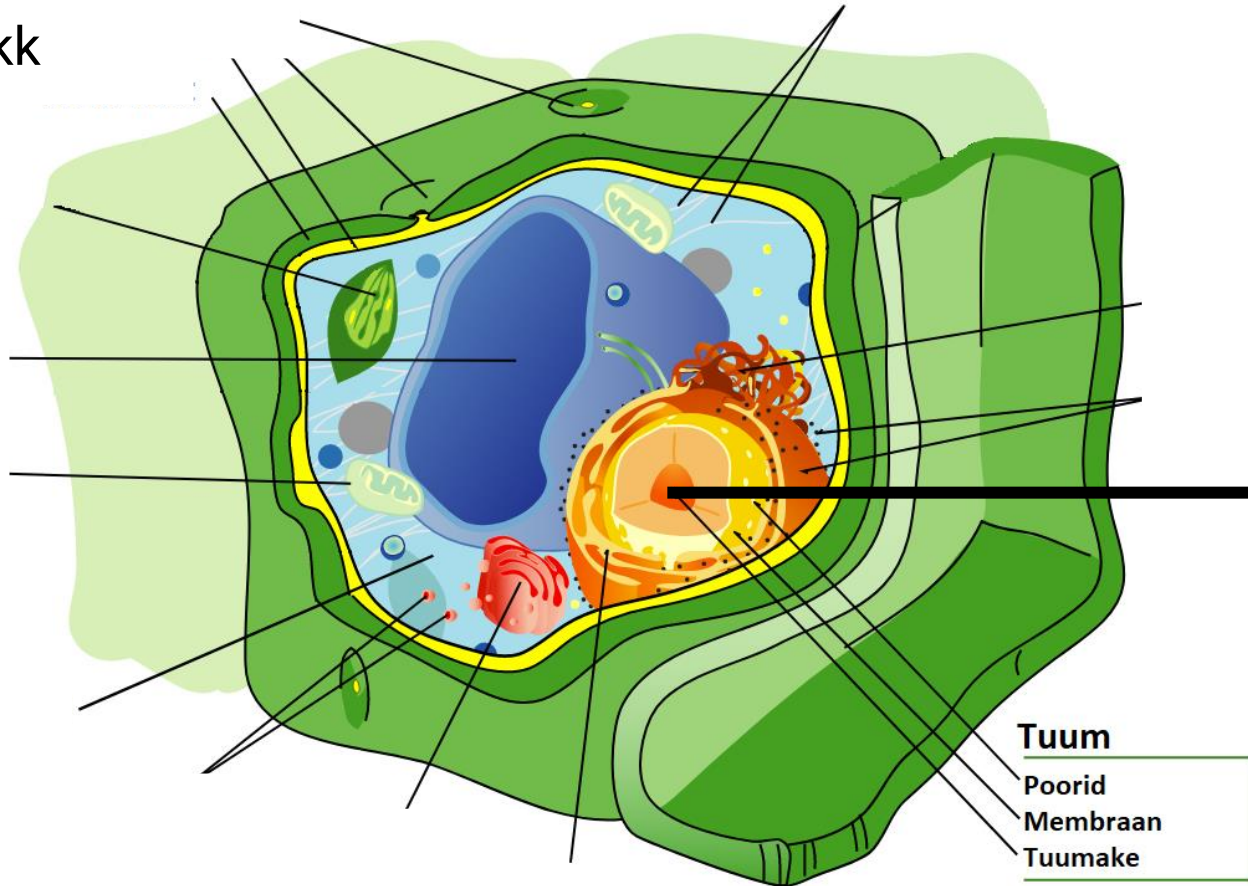
Maaelu Teadmuskeskus

Taimebiotehnoloogia osakond

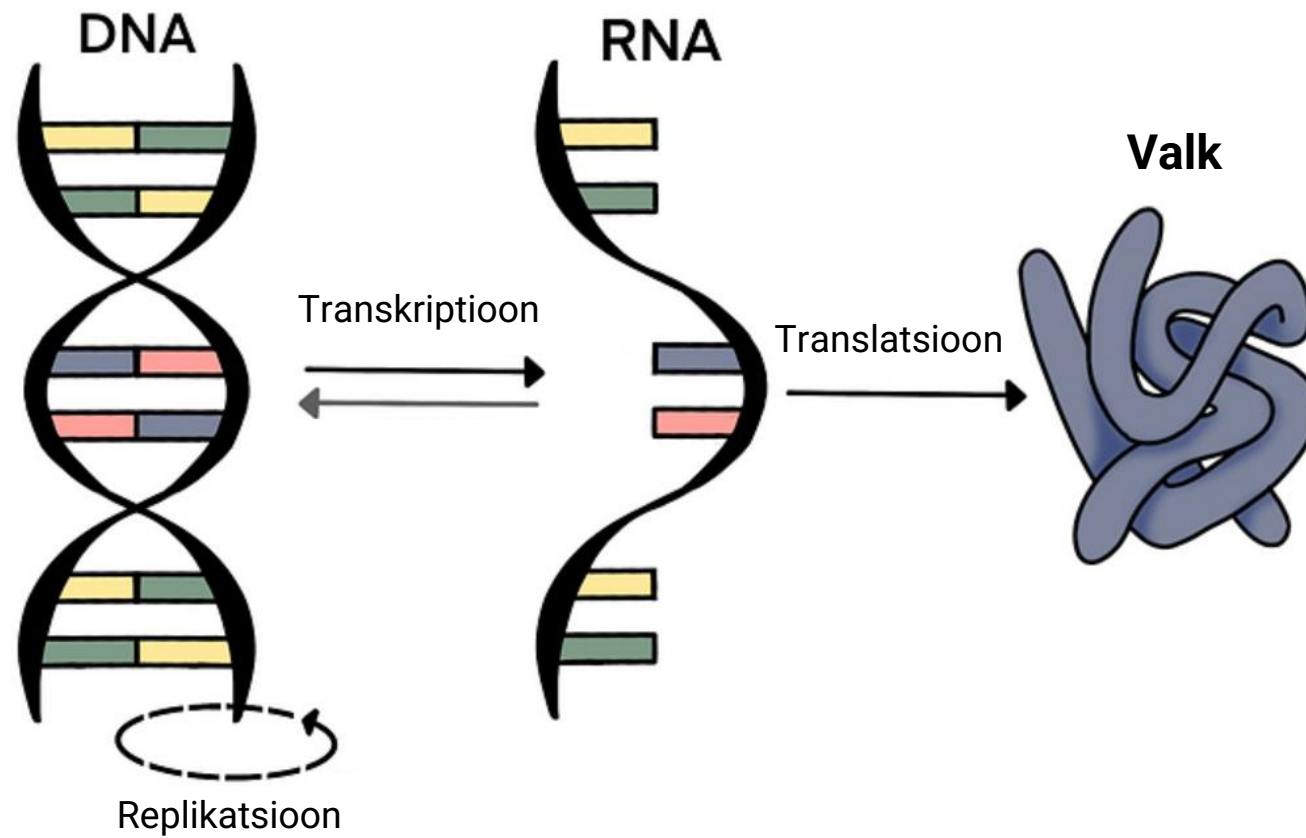


Mis on DNA?

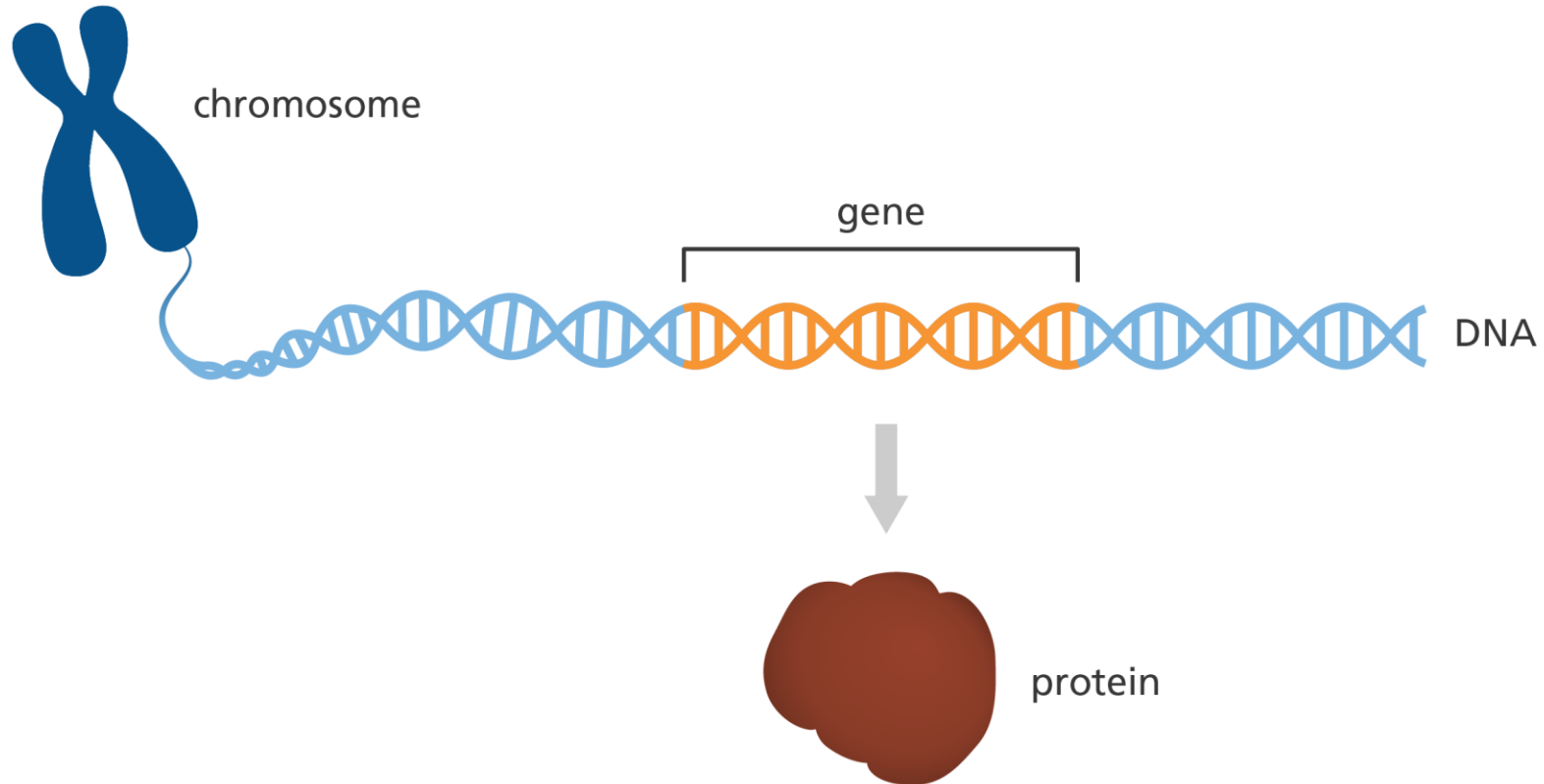
Taimerakk



Wikipedia



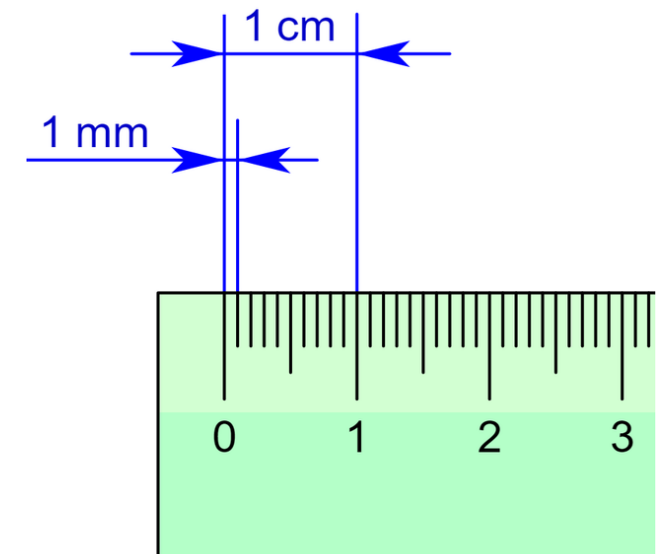
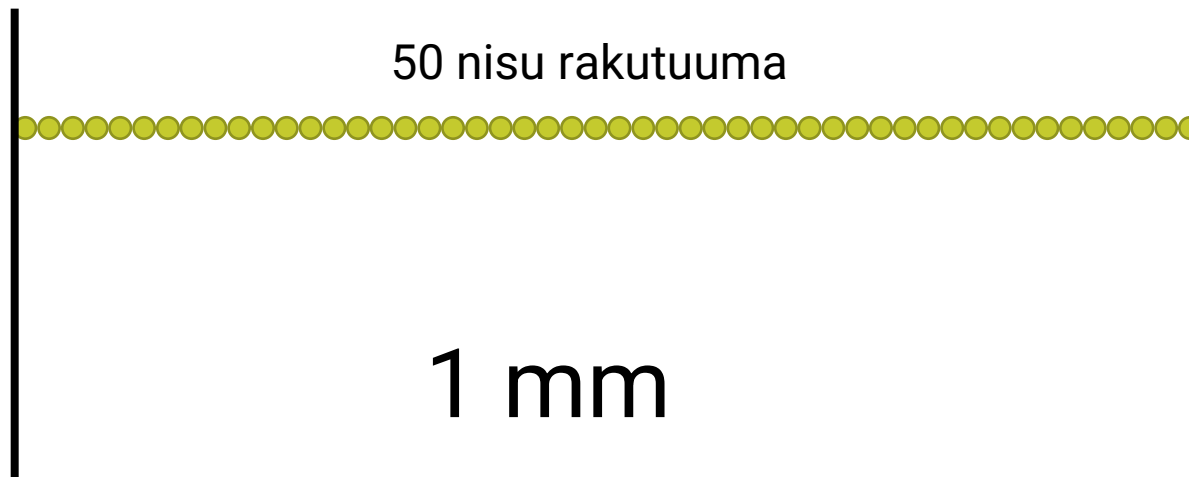
- Geenid moodustavad vaid **1-2%** genoomist.
- Umbes **98%** genoomist on mitte-kodeerivad alad.



DNA on väga tihedalt kokku pakitud

**3 miljardit
DNA nukleotiidi
on
~1 meeter pikk.**

- Inimese genoomis on **3,2 miljardit** DNA aluspaari 2 korduses. Seega igas inimese rakus on umbes **2 meetri** jagu tihedalt kokku pakitud DNA-d.
- Nisu rakus on **34 meetri** jagu DNA-d. (17 miljardit nukleotiidi 6 korduses). Nisu rakutuuma läbimõõt on umbes 20 μm , seega 1 mm mahutaks 50 rakutuuma.



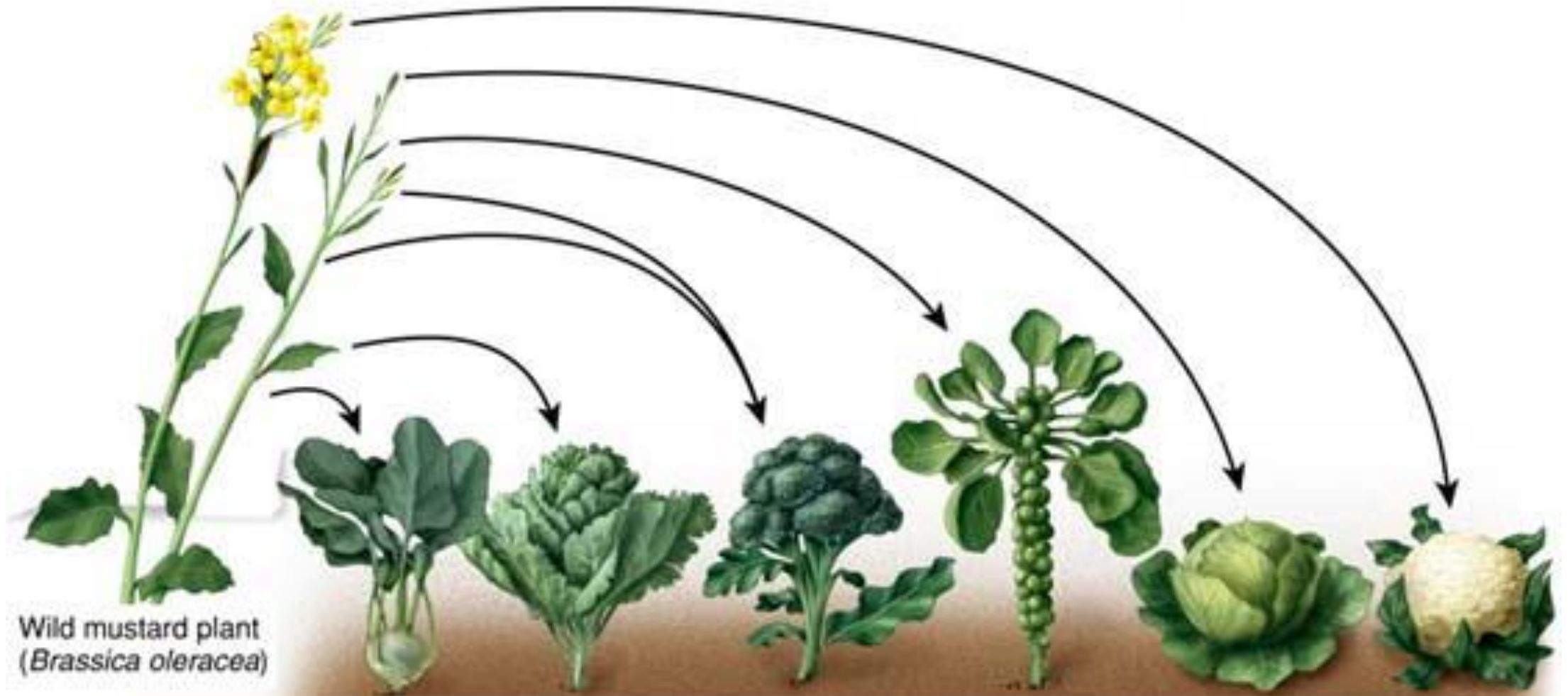
Taimedel on sageli rohkem geene kui inimestel.

Liik	Genoomi suurus (DNA aluspaari)	Geene	Ploidsus
Kartul	850 000 000 (856 Mb)	35 000	4n
Nisu	17 000 000 000 (17 Gb)	95 000	6n
Oder	5 100 000 000 (5,1 Gb)	26 000	2n
INIMENE	3 200 000 000 (3,2 Gb)	20 000	2n

Geenide tähtsus sordiaretuses

- Sortide tunnused sõltuvad geenidest.
- Ilma geenide komplekti muutmata uut sorti ei saa.
- Geenid vs keskkond: kasvutingimused ka mõjutavad.





Wild mustard plant
(*Brassica oleracea*)

Strain	Nui-kapsas	Leht-kapsas	Brokkoli	Roos-kapsas	Pea-kapsas	Lill-kapsas
Modified trait	Stem	Leaves	Flower buds and stem	Lateral leaf buds	Terminal leaf bud	Flower buds

METIK

Maaelu
Teadmuskeskus

Igal sordil on
oma tugevused
ja nõrkused.



METIK

Maaelu
Teadmuskeskus



Praktiline taimegeneetika:

1. sortide eristamisel,
2. sortide aretamisel
3. sortide parandamisel



Praktiline taimegeneetika:

- 1. sortide eristamisel**
2. sortide aretamisel
3. sortide parandamisel



Sortide eristamine

Taime välimus ja muud tunnused.

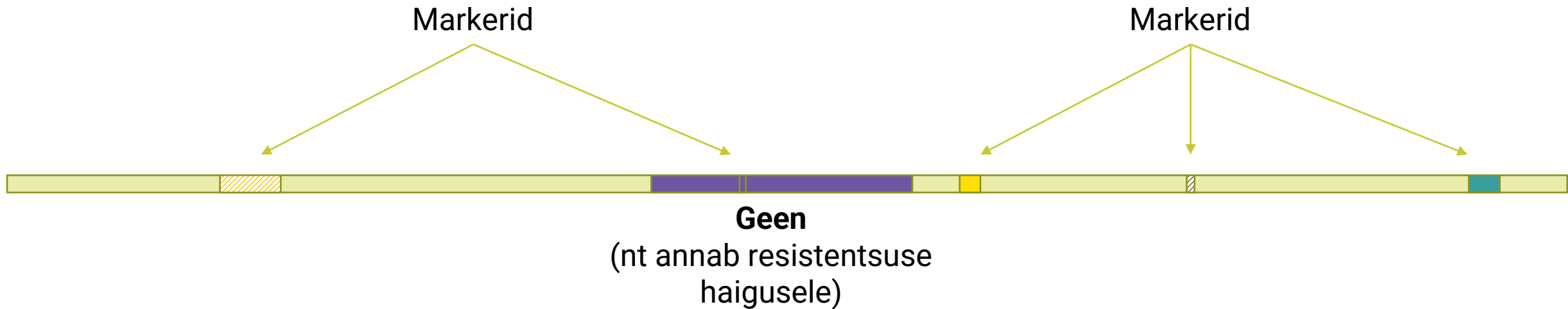
- Vaatad peale ja näed; analüüsi pole vaja.
- Taime näed vaid suvel ja seemet alles hooaja lõpus/alguses;
- Visuaalselt on sordid väga sarnased ja välimus võib sõltuda aastat/asukohast. Näiteks kui eristav sordiomadus on taime pikkus või haiguskindlus.

DNA markerid.

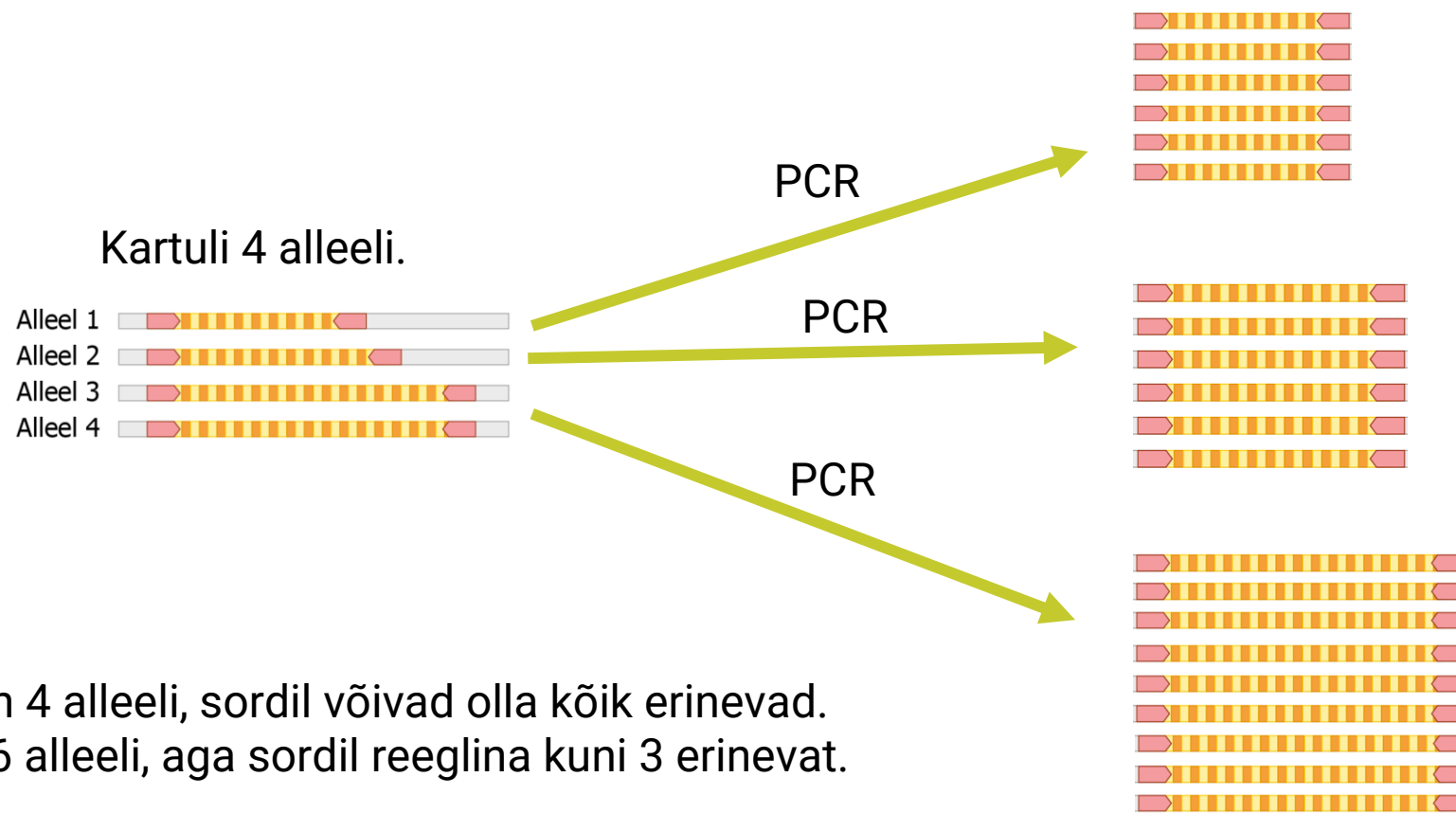
- Kasutatakse markereid, mis sageli asuvad mitte-kodeerivas alas. Sellised markerid ei ennusta taime omadusi.

DNA marker

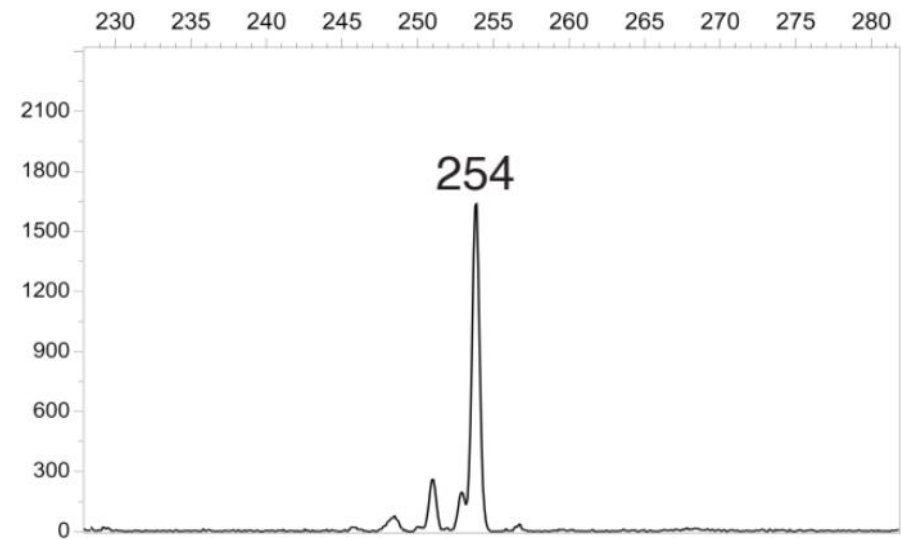
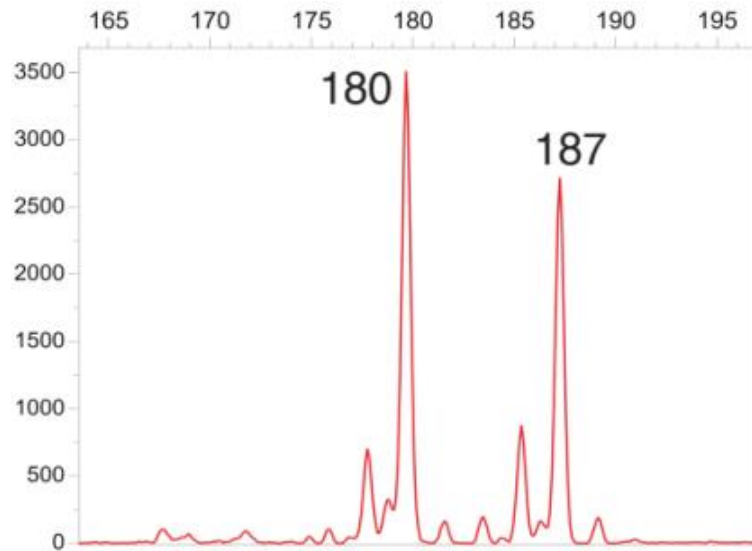
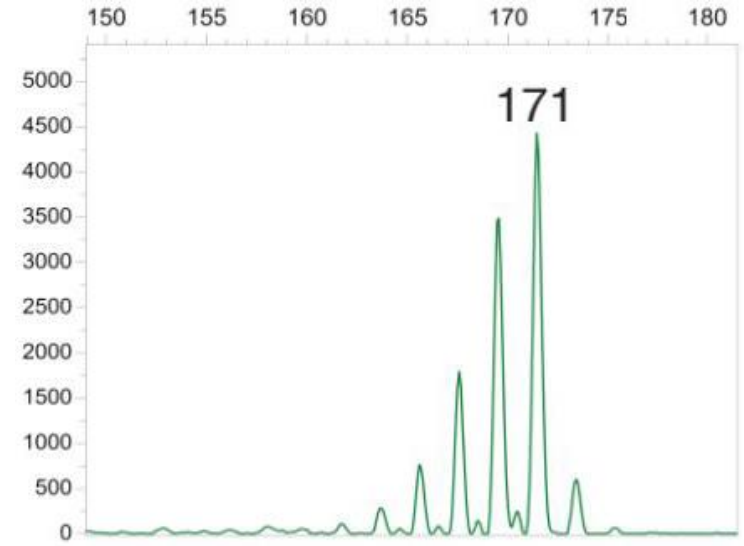
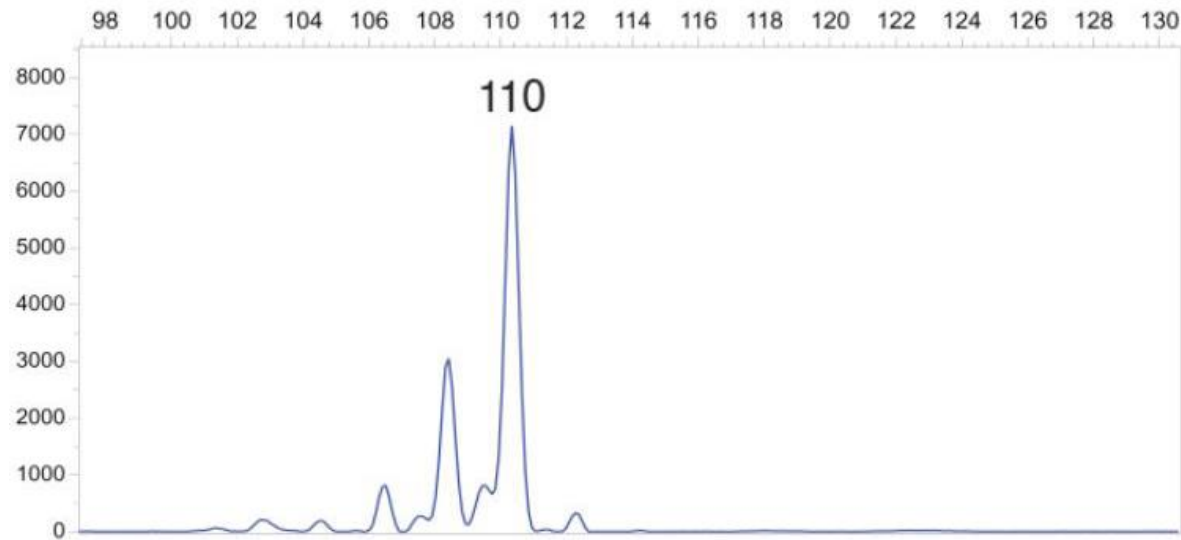
- DNA marker on piirkond, mida saab analüüsiga leida. DNA marker võib olla geeni peal, aga sageli ei ole.



SSR markerite puhul paljundab PCR erineva pikkusega DNA lõike.



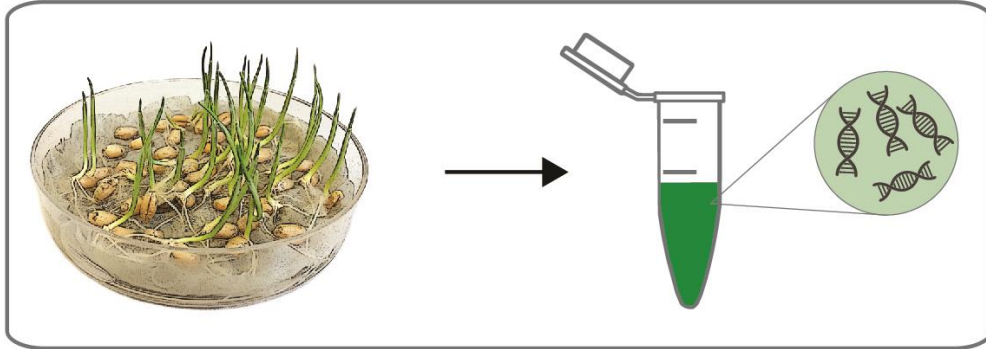
Kartulil on 4 alleeli, sordil võivad olla kõik erinevad.
Nisul on 6 alleeli, aga sordil reeglina kuni 3 erinevat.



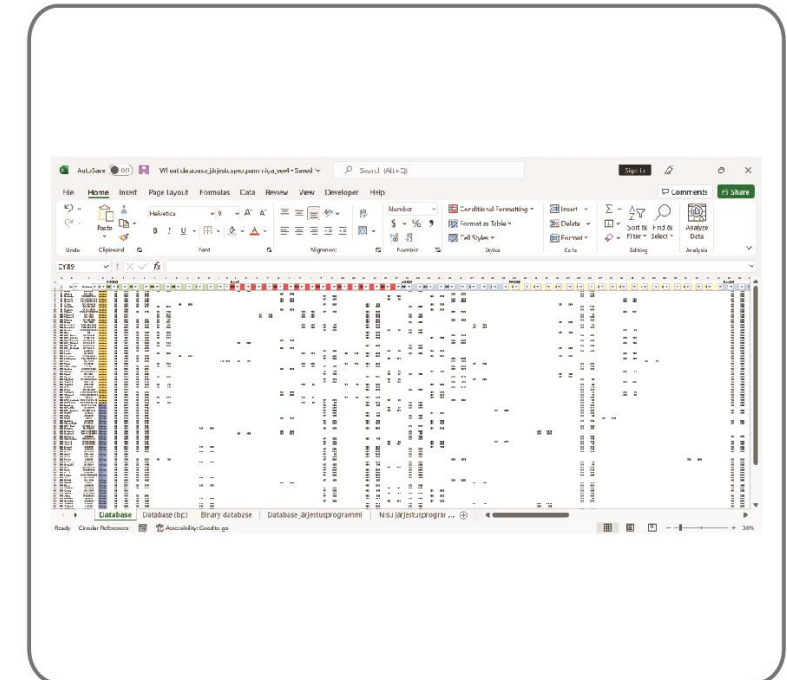
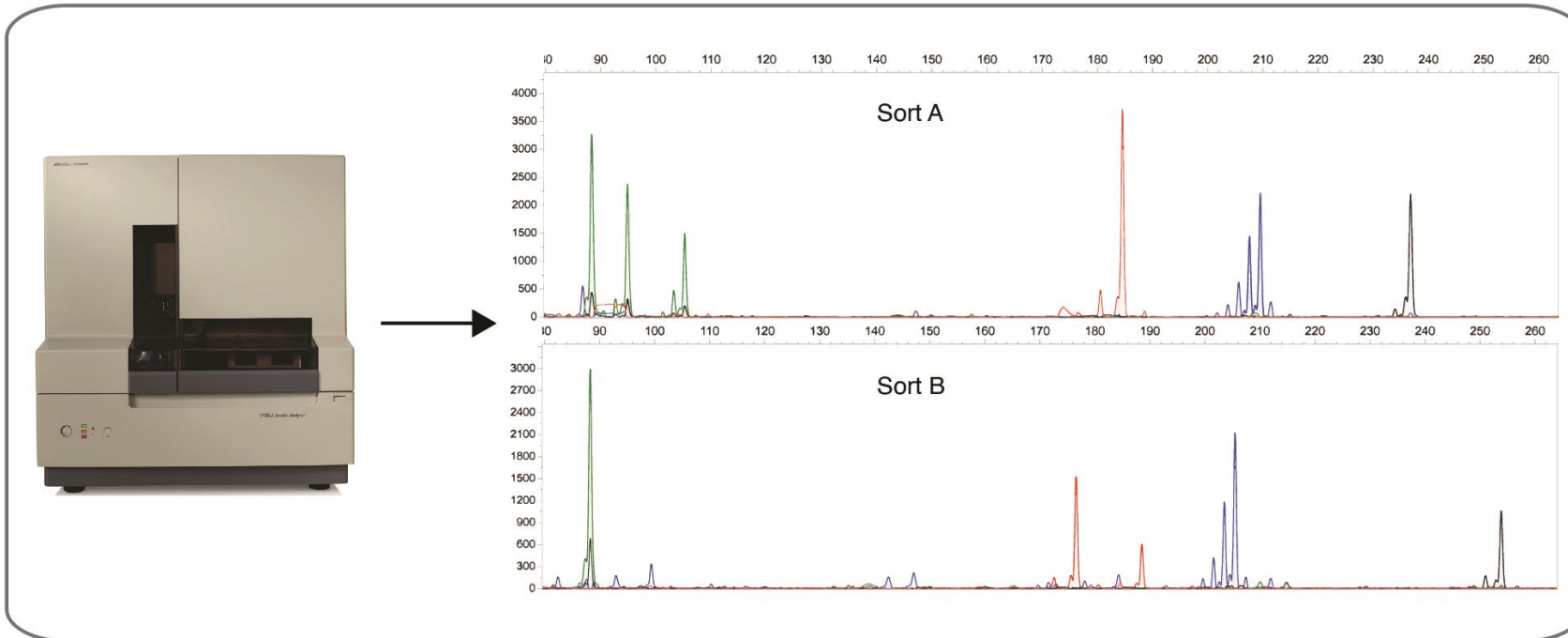
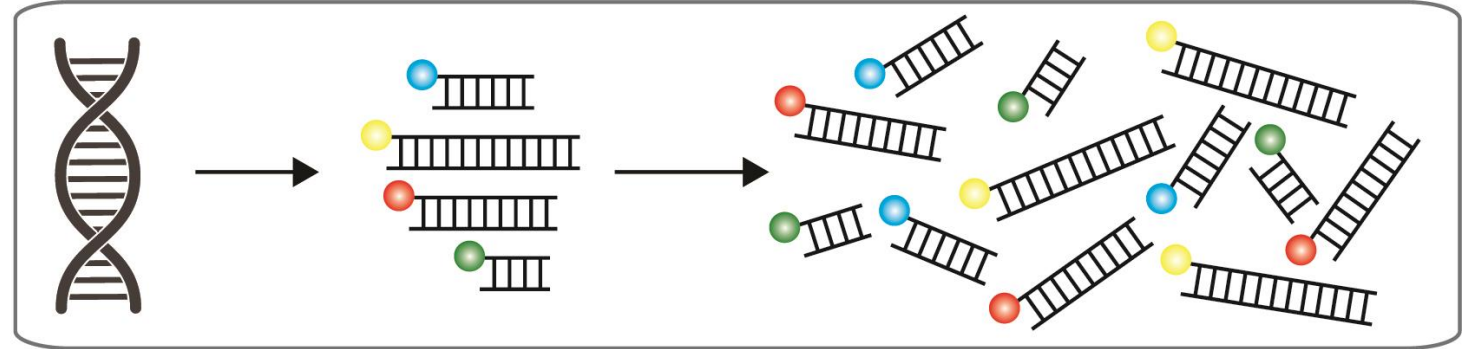
Näide nisu markerite komplektist. Iga marker on märgistatud erineva värviga ja alleelide pikkused ei kattu.

SORTIDE TUVASTAMINE GENEETILISTE MARKERITE ABIL

I etapp: DNA eraldus



II etapp: Markerite amplifitseerimine ja märgistamine

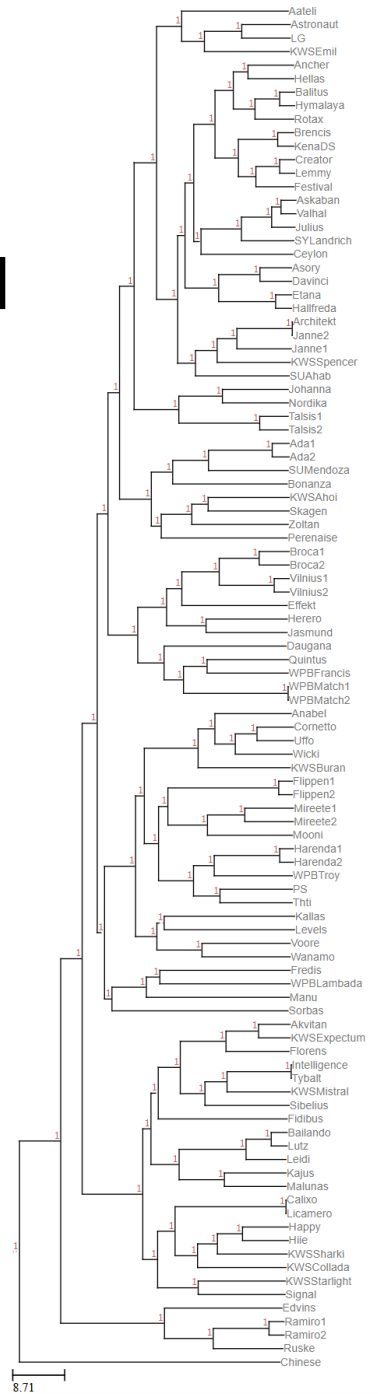


III etapp: Kapillaarelektroforees

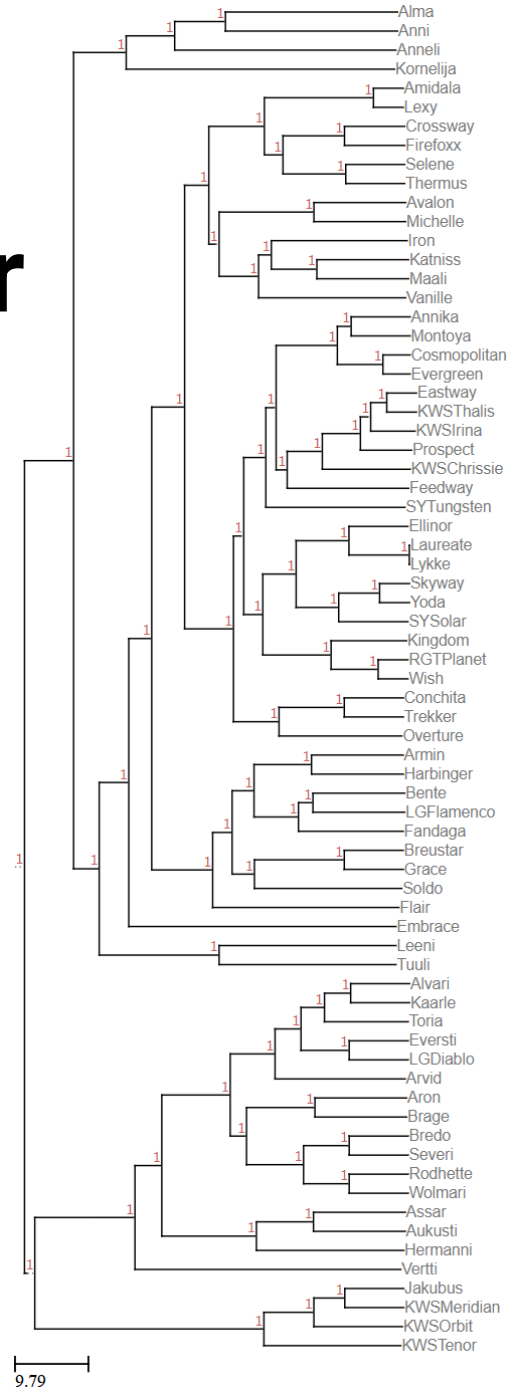
Autor: Kairi Kärblane

IV etapp: Andmete analüüs

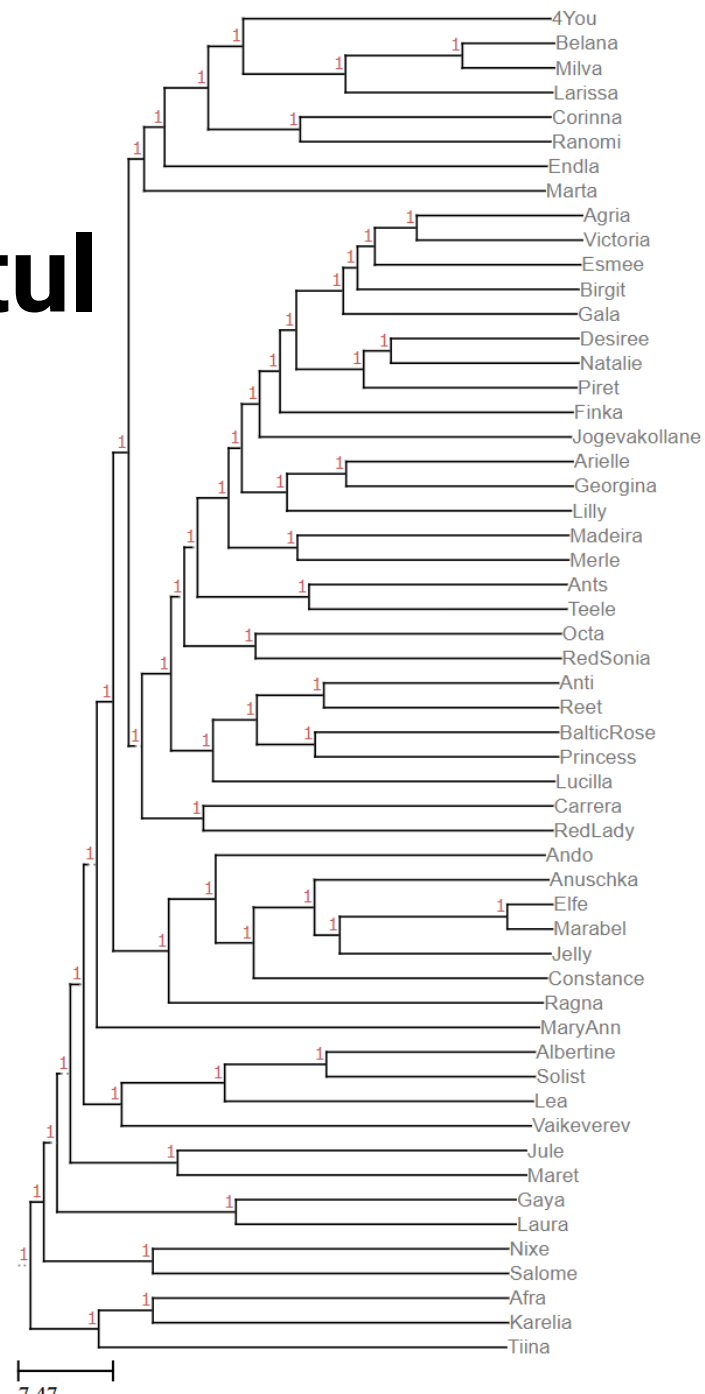
Nisu



Oder



Kartul



Sortide eristamine DNA sõrmejälgede abil

- Nisule, odrale ja kartulile on markerid välja valitud ja testitud.
- DNA markerid on nagu lisatunnused, mis aitavad vahet teha erineva sordi taimedel, isegi kui nende välimus on sarnane.
- Markereid on palju, me valisime välja 8 markerit 3 liigi jaoks.
- Tegutseme selle nimel, et sortide kontrollimine oleks kättesaadav ka tootjatele.

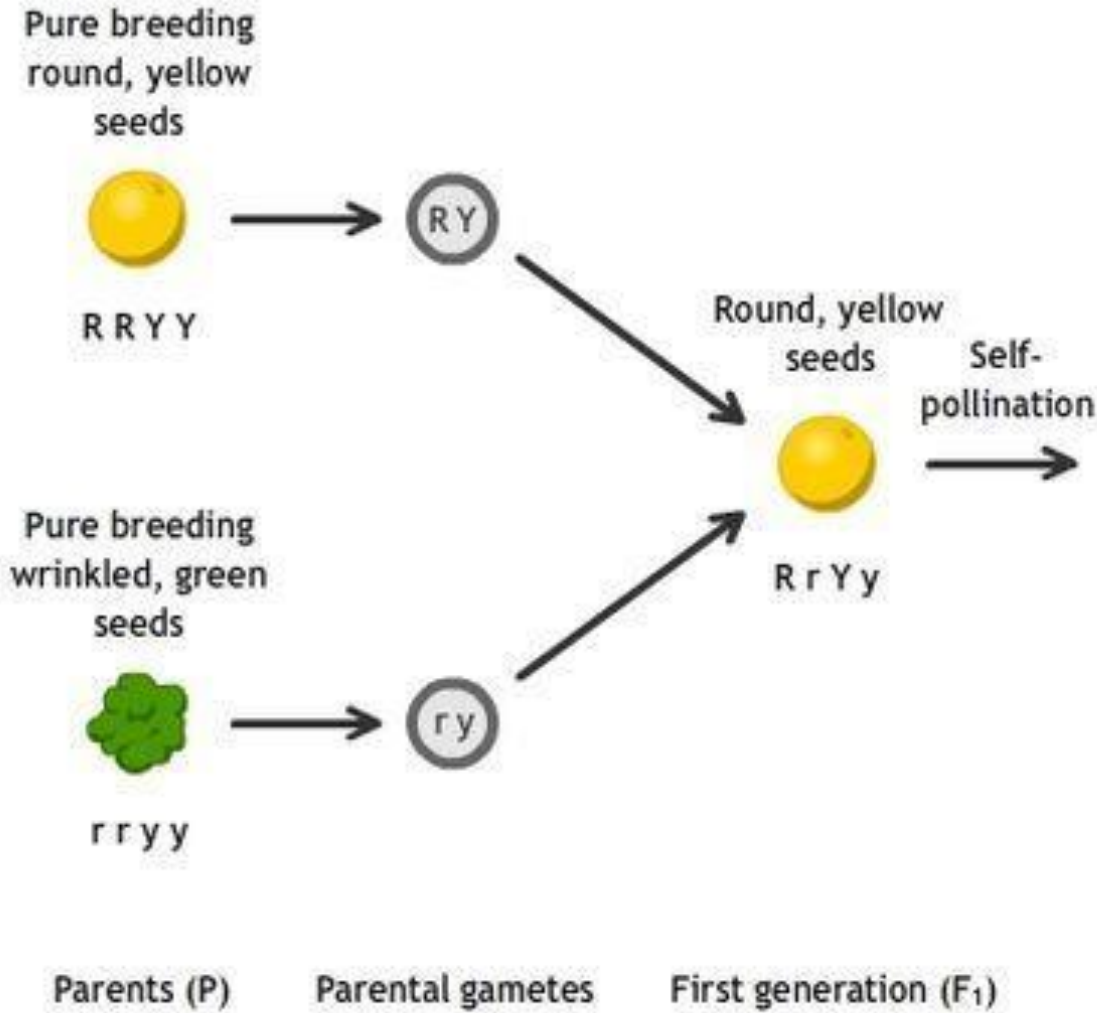
Praktiline taimegeneetika:

1. sortide eristamisel
- 2. sortide aretamisel**
3. sortide parandamisel



Kümneid
tuhandeid
geene.

Lugematu arv
võimalikke
kombinat-
sioone



	RY	rY	Ry	ry
RY	$RRYY$	$RrYY$	$RRYy$	$RrYy$
rY	$RrYY$	$rrYY$	$RrYy$	$rrYy$
Ry	$RRYy$	$RrYy$	$RRyy$	$Rryy$
ry	$RrYy$	$rrYy$	$Rryy$	$rryy$

9 Yellow, round
3 Green, round
3 Yellow, wrinkled
1 Green, wrinkled

Second generation (F_2)

Kartuli sordiaretus Eestis



Aasta	Aretustegevus	Aretisi
1	Ristatakse 50 vanemat	Seemned
2	Hübriid seemikud kasvuhoones	30 000
3	Teise aasta aretised põllul	3000
4	Kolmanda aasta aretised põllul	250-300
5-7	Võrdluskatse	45-60
8-10	Põhivõrdluskatse	15-20
11-12	Riiklik katsetus	Kuni 1

75 000-100 000 seemikut → 1 sort

Kartuli sordiaretus: 75 000-100 000 seemikut → 1 sort

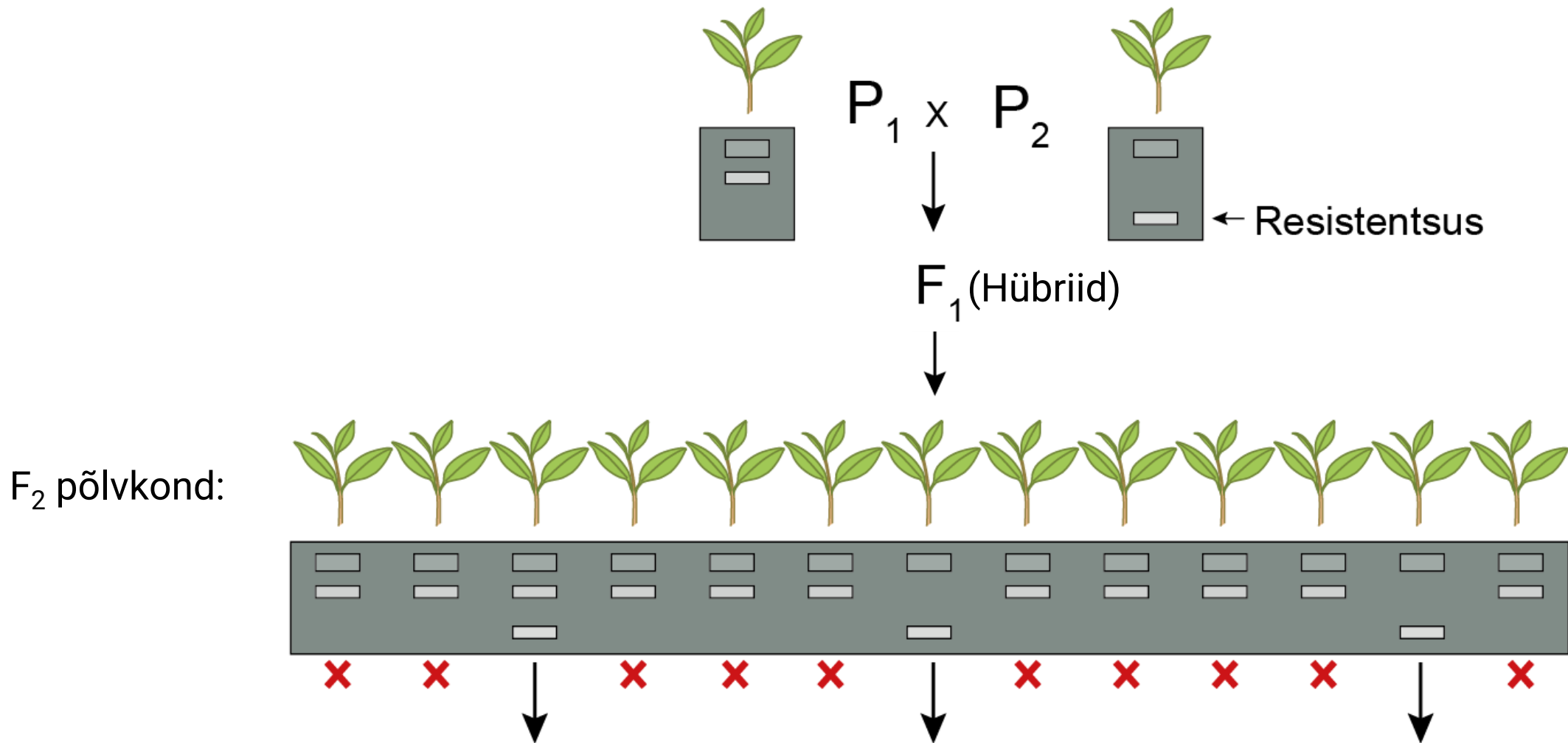


Istutatakse 30–35 tuhat taime



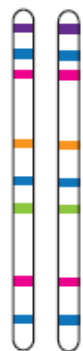
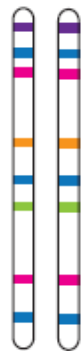
Terje Tähtjärv

Marker-assisteeritud seleksioon

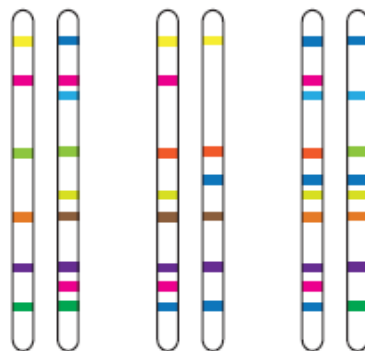
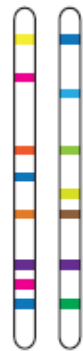


Seemnest
paljundamisel
jäävad
omadused
samaks

Oder



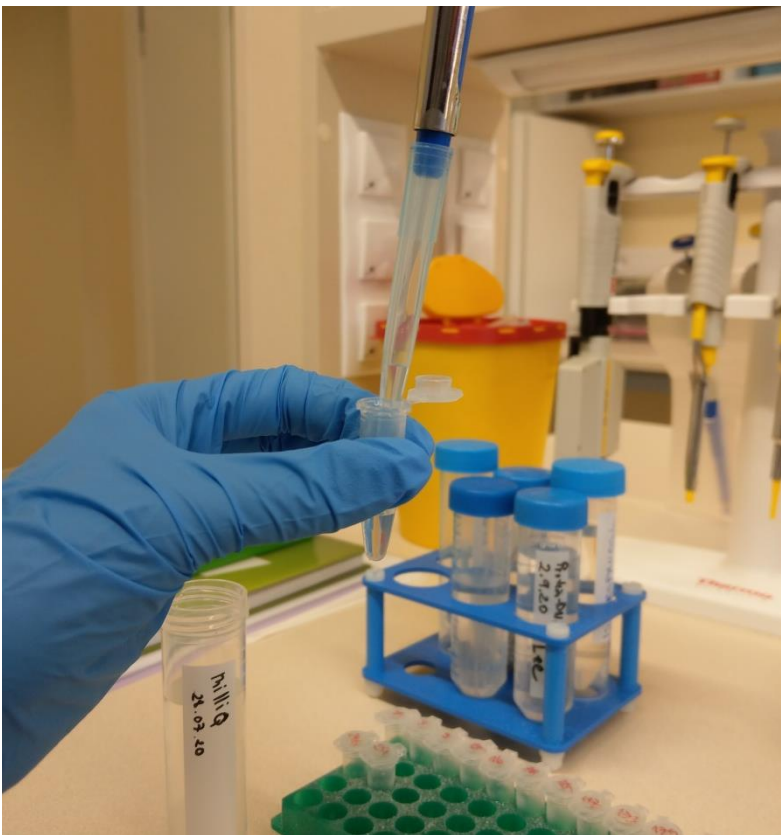
Õun



Vajab vegetatiivset
paljundust, et
omadused
päranduks edasi.

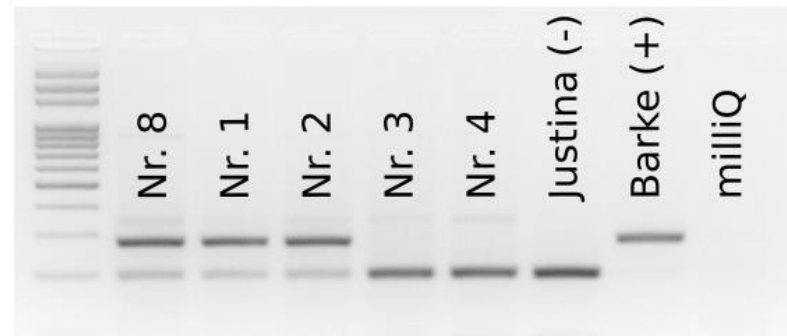


Maali ja Tuuli jahukastekindlaks



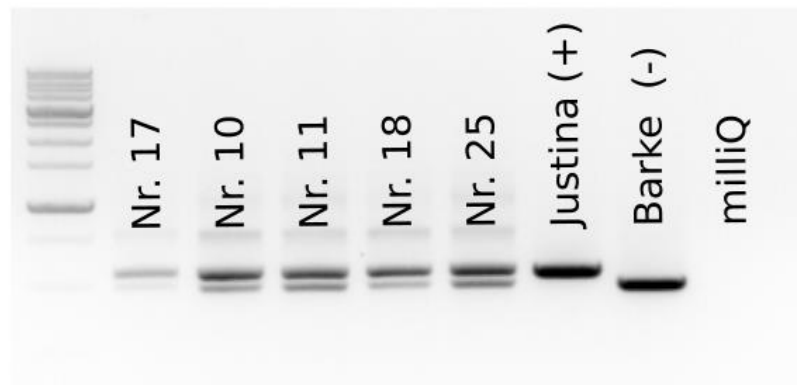
Oder mlo-9

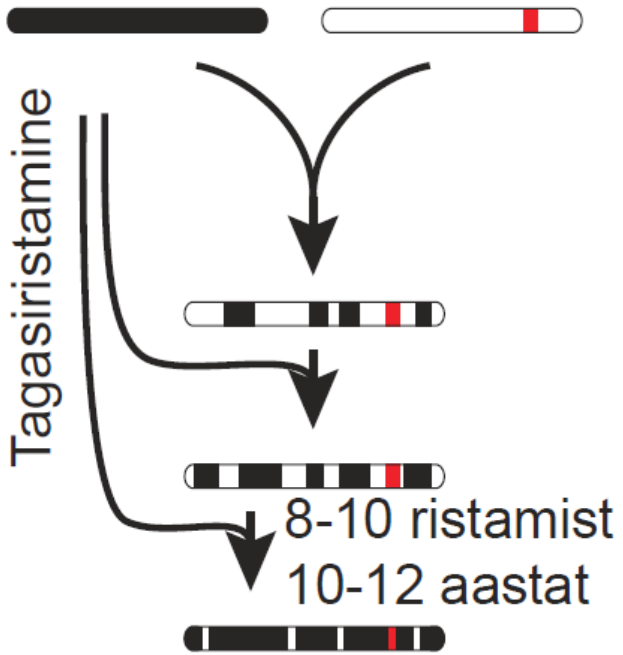
01.07.2020
3% geel
100 bp redel
15 ul



Oder mlo-11

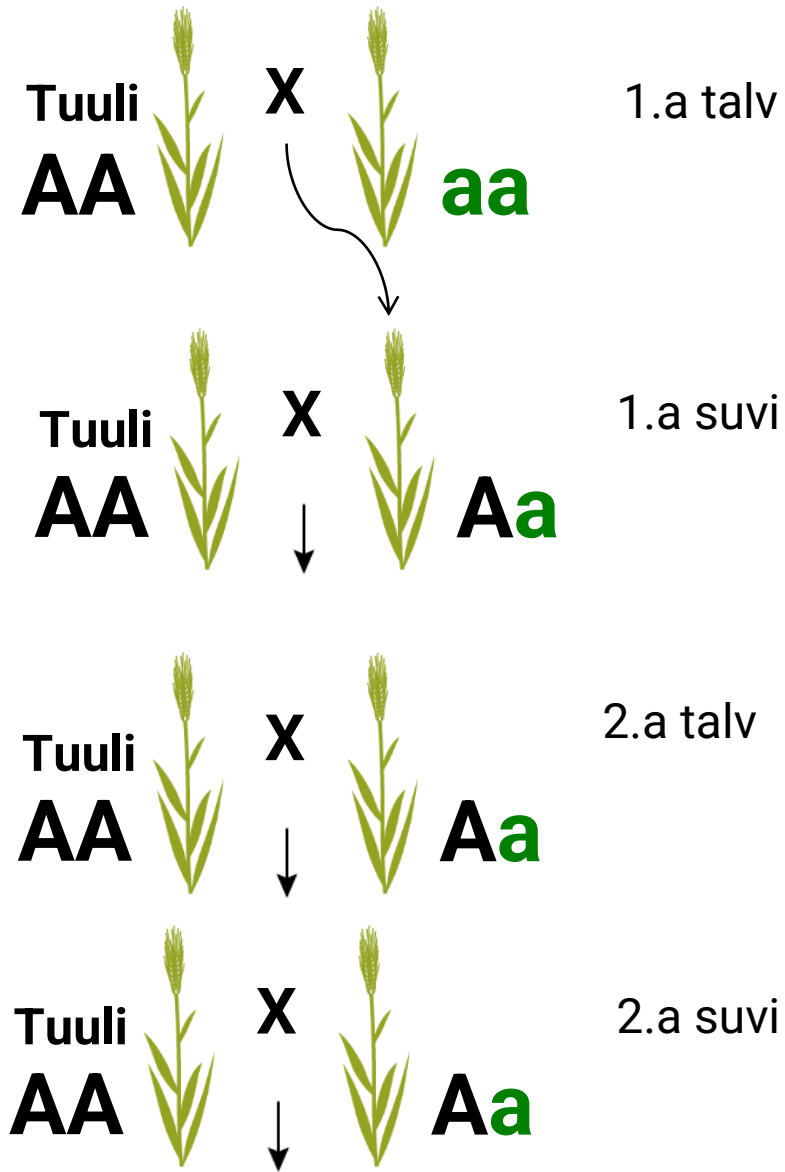
30.06.2020
1,5% geel
1 kb redel
15 ul



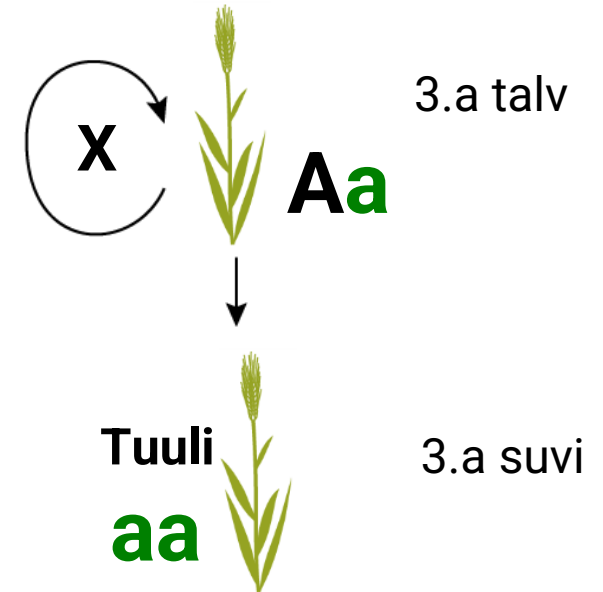


a – jahukastekindel,
retsessiivne tunnus

A – jahukastele vastuvõtlik,
dominantne tunnus



Kokku u 1100
DNA markeranalüüsi
1 taimeliini kohta



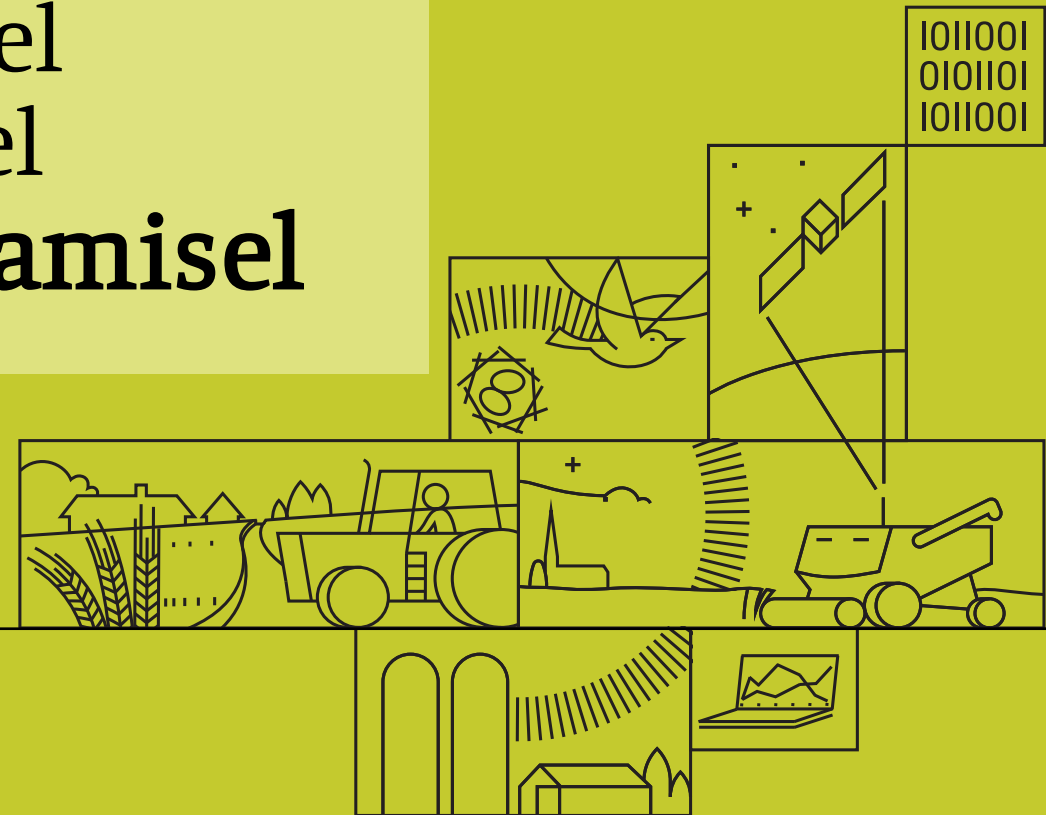
93% Tuuli
7% geenidoonor
+ mutatsioonid

1800 odrataime märgistamine markeranalüüsiks

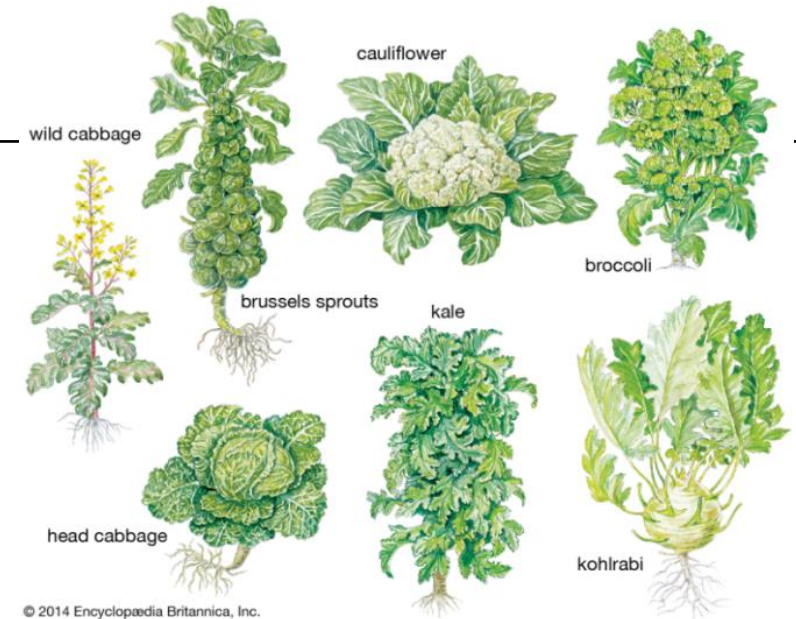
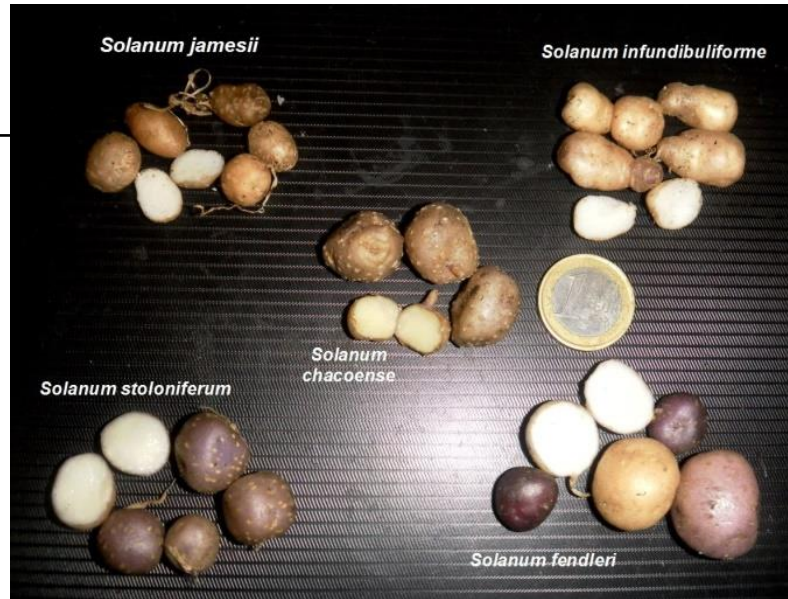


Praktiline taimegeneetika:

1. sortide eristamisel
2. sortide aretamisel
- 3. sortide parandamisel**

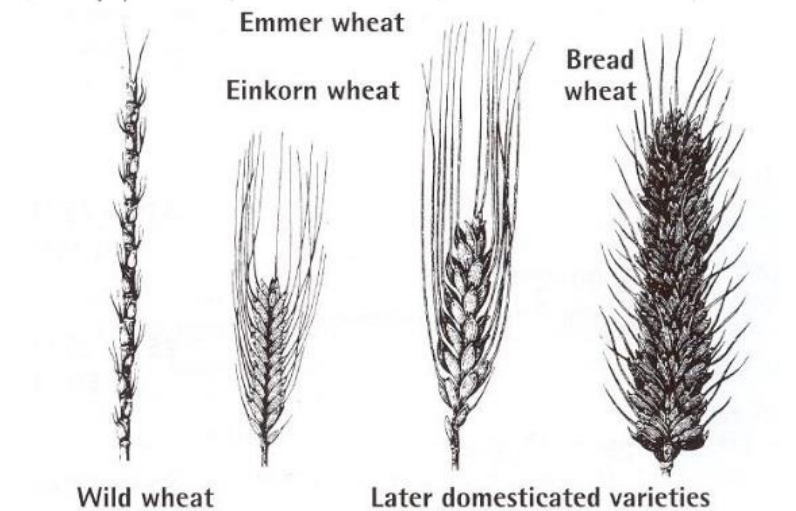
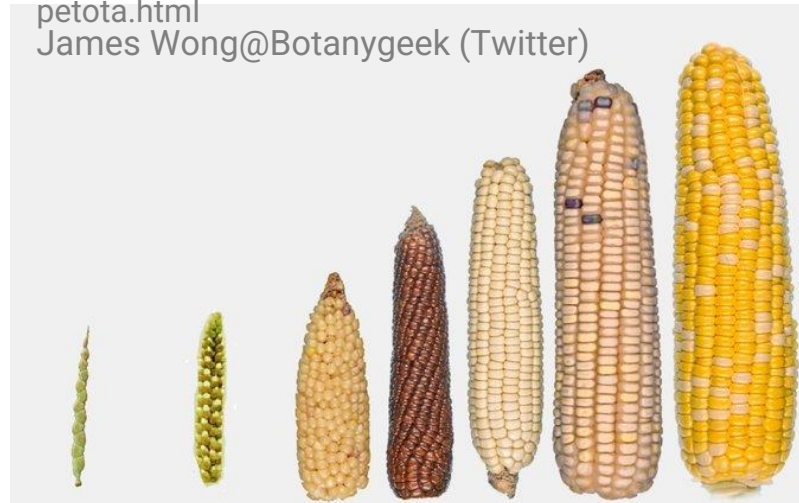


Sordiaretus = geenide muutmine



© 2014 Encyclopædia Britannica, Inc.

<http://unusualedeiblesandtheirwildrelatives.blogspot.com/2017/08/wild-potatoes-solanum-sect-petota.html>
James Wong@Botanygeek (Twitter)



<https://www.bakeryandsnacks.com/Article/2017/07/18/Scientists-unveil-wild-wheat-genome-sequence-boost-food-production>

<https://www.imperial.ac.uk/news/190527/only-149-trees-wild-apple-species/>

https://twitter.com/sms_schmidt/

Sordiaretus = geenide muutmine



Õun:
~4000-10 000 aastat

<https://trees-wild-apple-species/>



Banaan:
u. 1400 aastat
Ploidsuse muutmine!

https://twitter.com/sms_schmidt/



Kartul:
8000 aastat

<http://unusualedeblesandtheirwildrelatives.blogspot.com/2017/08/wild-potatoes-solanum-sect-petota.html>

James Wong@Botanygeek (Twitter)

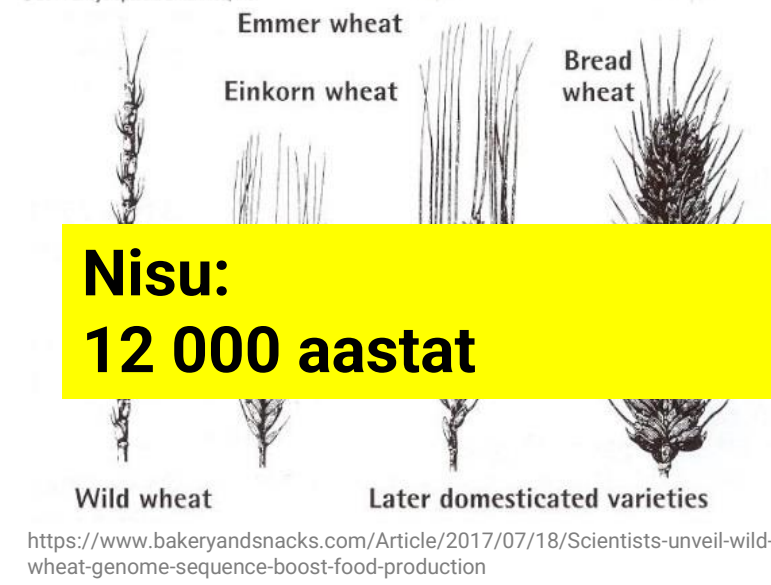


Mais:
9000 aastat



Kapsas:
3000 aastat

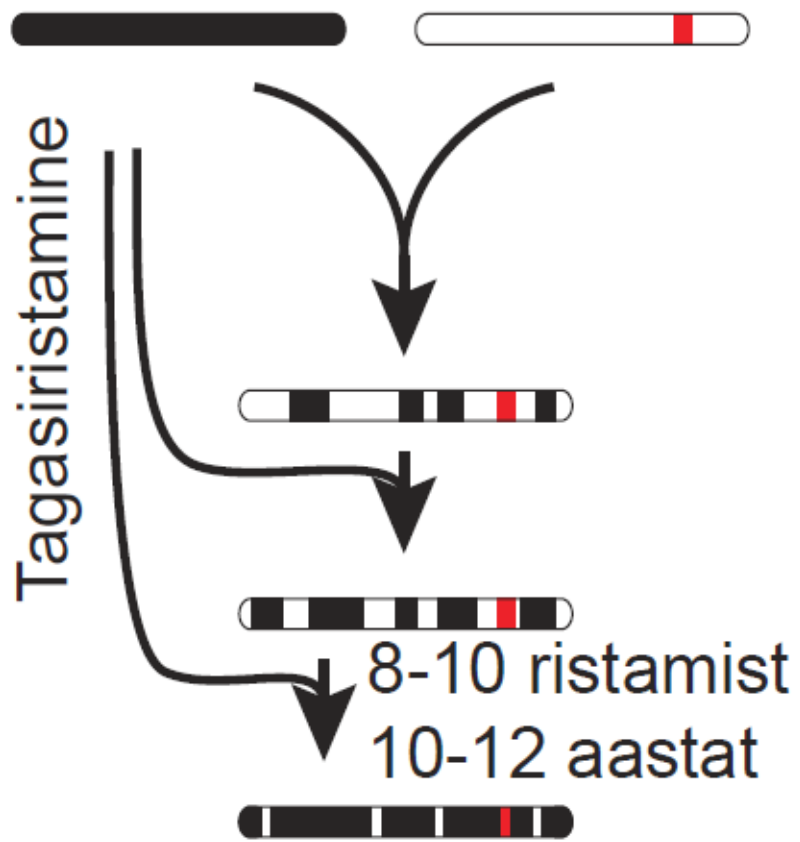
© 2014 Encyclopædia Britannica, Inc.



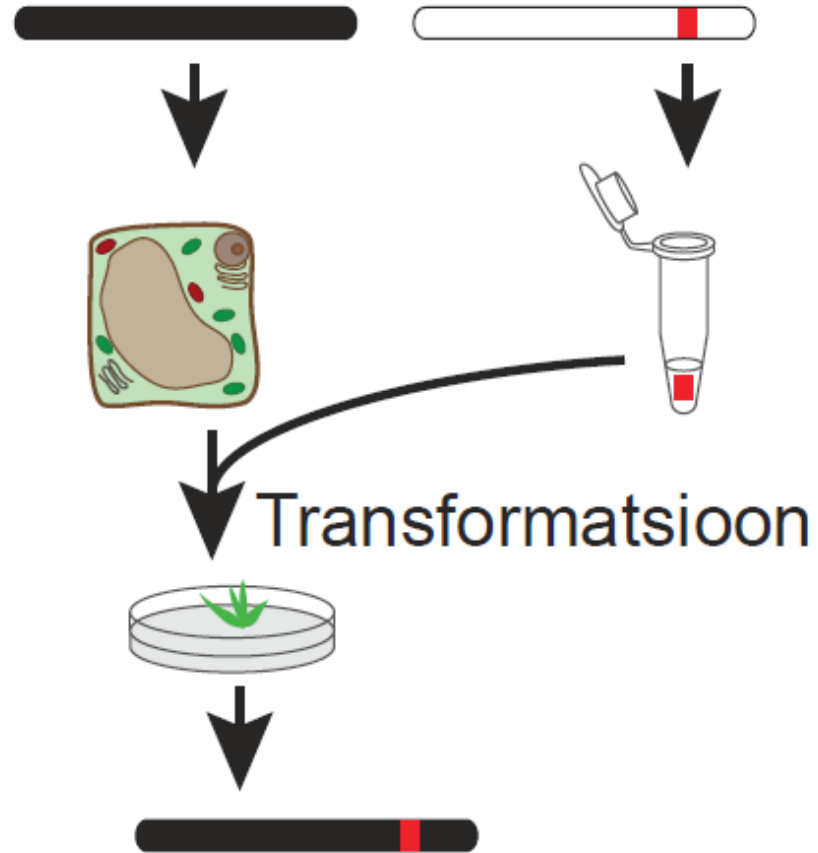
Nisu:
12 000 aastat

<https://www.bakeryandsnacks.com/Article/2017/07/18/Scientists-unveil-wild-wheat-genome-sequence-boost-food-production>

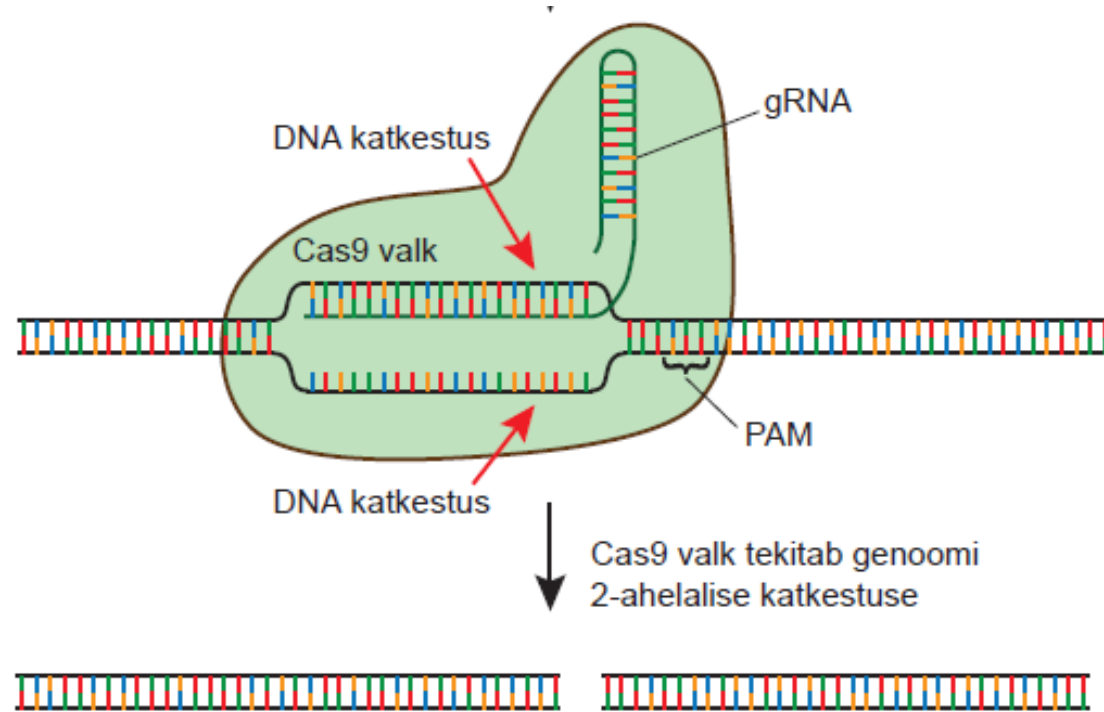
Ristamine



Geeniülekanne



DNA suunatud lõikamine



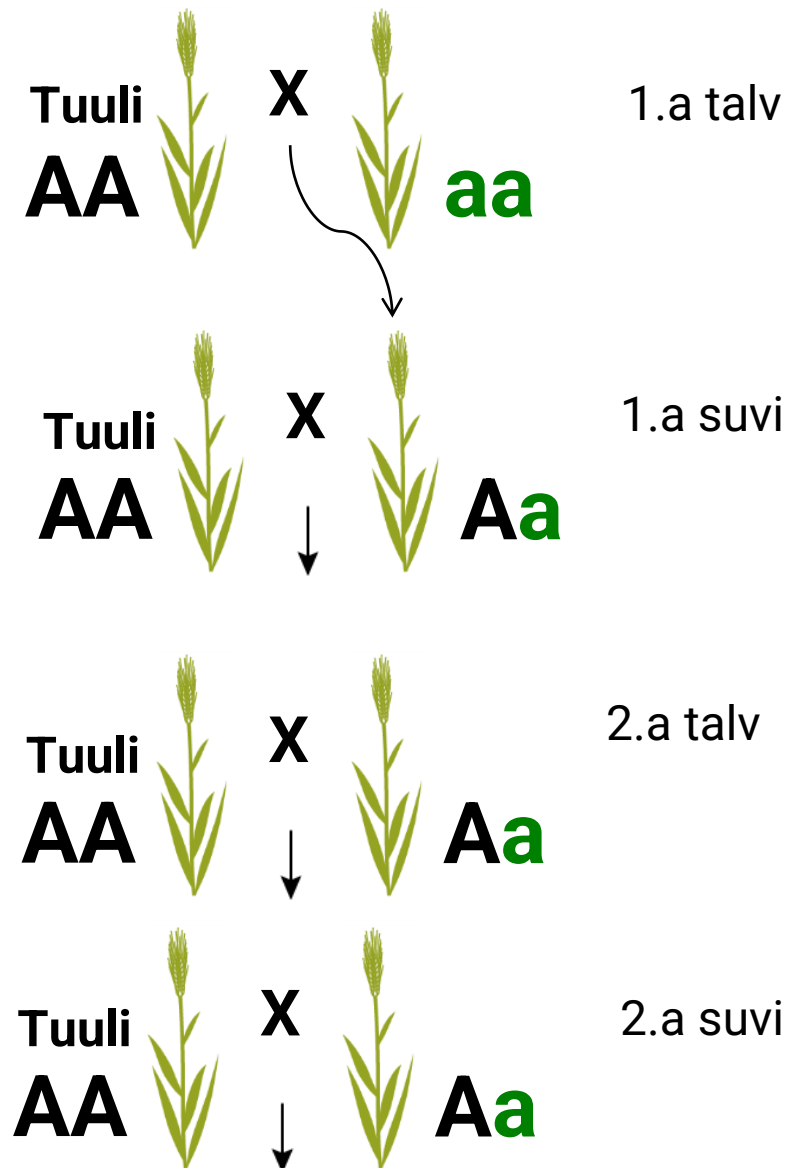
GMO

- Geenide lisamine (tulemuseks transgeenne taim)

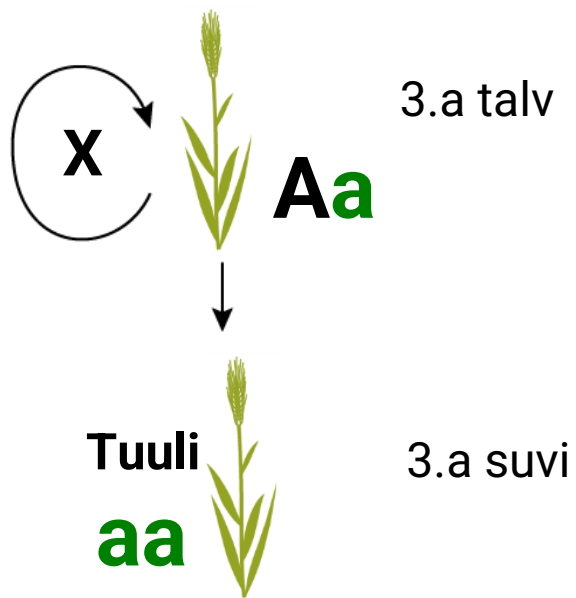
Uued aretustehnikad

- Geenide lõikamine (CRISPR-Cas).
- Geenide muutmine (Base editing).

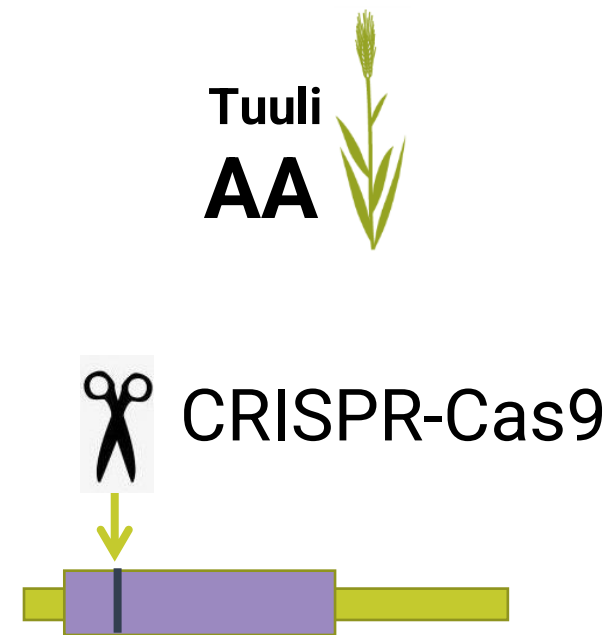
NB! Uute aretustehnikate abil aretatud taimi **pole võimalik eristada** looduslikult muteerunud taimedest.



Kokku u 1100
 DNA markeranalüüsi
 1 taimeliini kohta



93% Tuuli
 7% geenidoonor
 + mutatsioonid

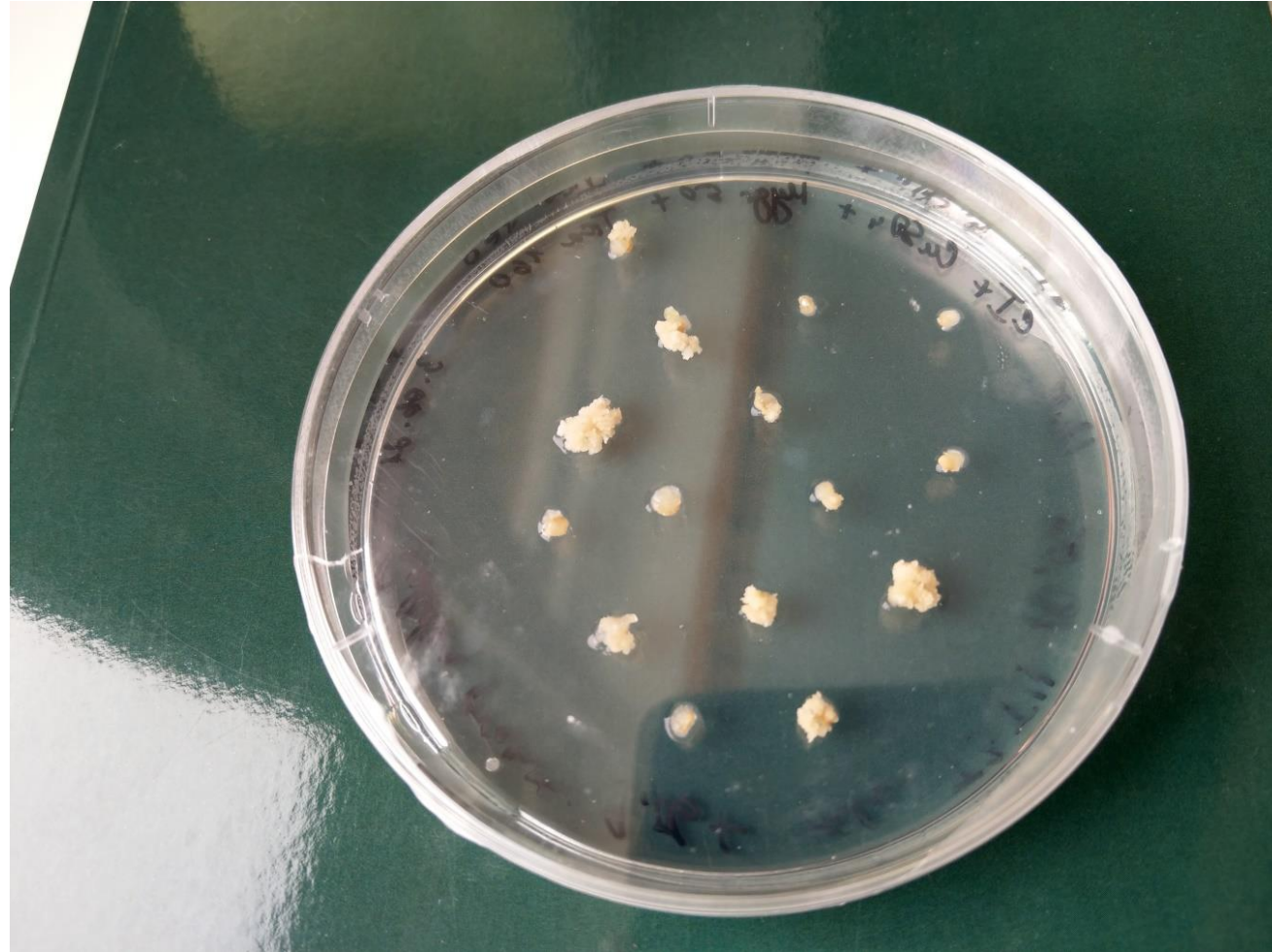


Tuuli aa

~100% Tuuli
 1 geen muudetud
 + mutatsioonid

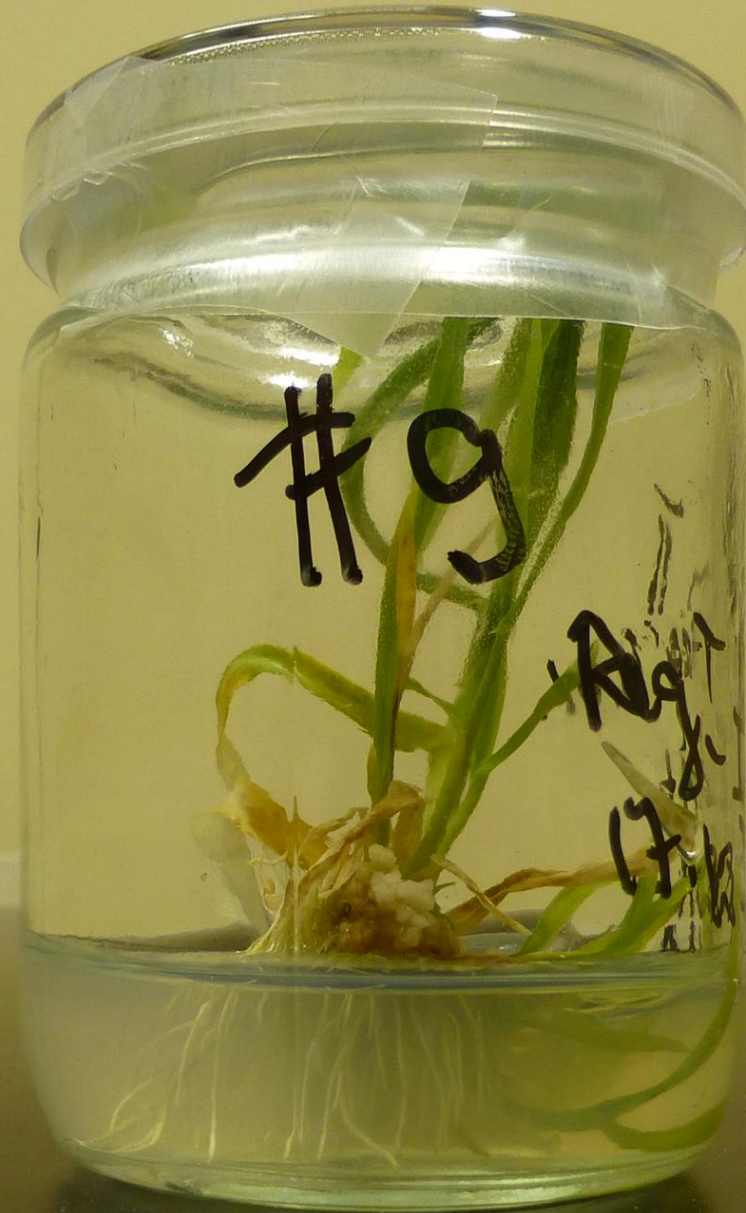
Odra kallused

CRISPR-Cas odra kallus



METIK

Maaelu
Teadmuskeskus

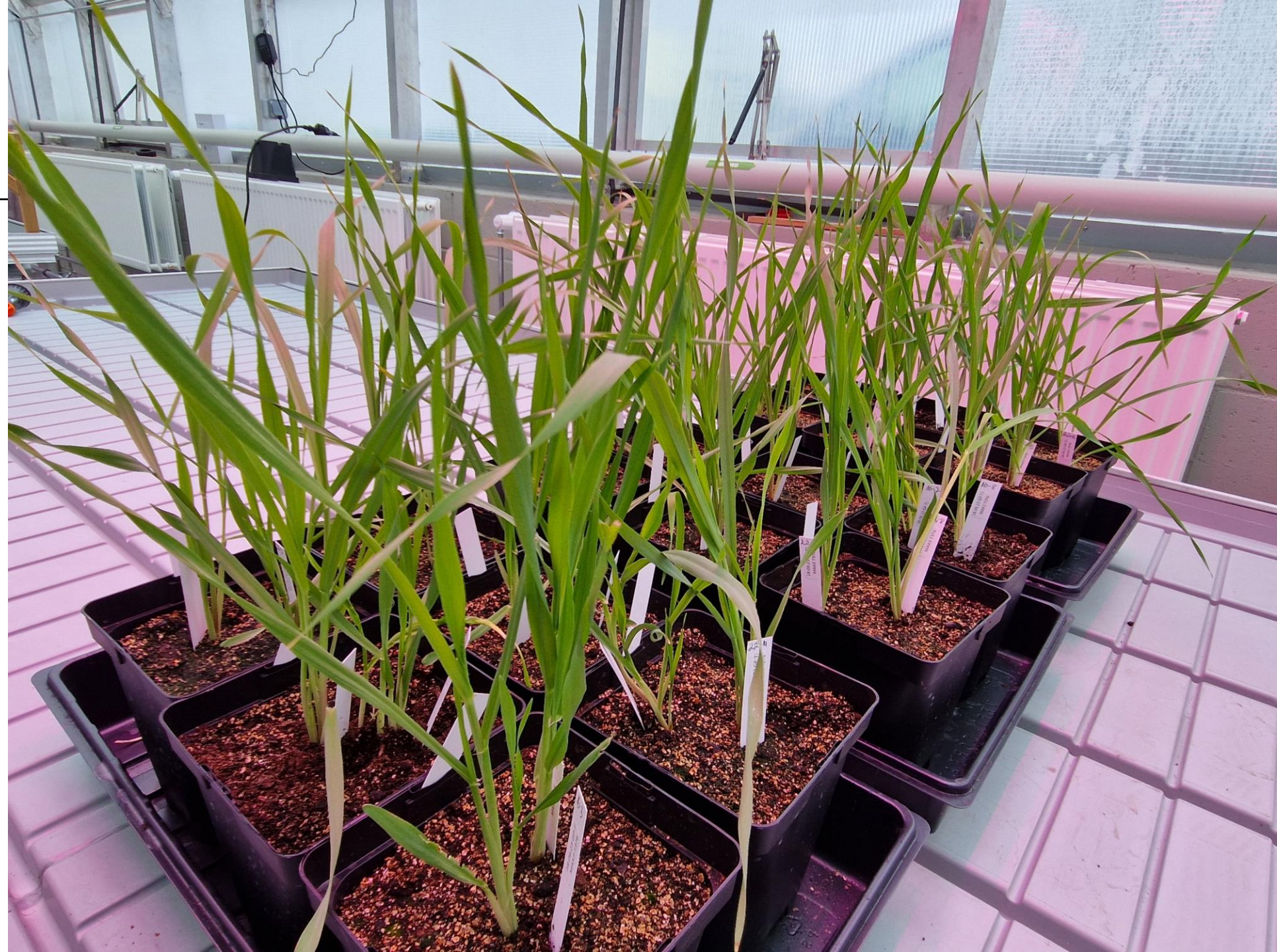


Ljudmilla Timofejeva, Marika Pärn, Liina Raudva, Liina Jakobson

METIK

Maaelu
Teadmuskeskus

Uute aretustehnikate
abil muudetud oder.



METK

Maaelu
Teadmuskeskus

Ljudmilla Timofejeva

Anna Ivanova-Pozdejeva

Marina Tikhonova

Martin Kala

Liisa Kübarsepp

Kai Ilves

Marika Pärn

Liina Raudva

Larissa Sirel

Kaidi Mölder

Sordiaretusosakonnast

Liina Jakobson

Terje Tähtjärv, Ülle Tamm jt

Taimkaitseosakond

Suured tänud taimebiotehnoloogia osakonna inimestele!



Kokkuvõte

- Kõik taime omadused sõltuvad DNAst (ja keskkonnast!).
- DNA markerite abil saab sorte üksteisest eristada.
- Marker-assisteeritud selektsioon aitab leida sobiva geeniga aretisi.
- Uued aretustehnikad on kõige täpsem meetod, et teha taimes eriti täpseid muudatusi.



Kristiina Laanemets

Vanemteadur,
Taimebiotehnoloogia
osakonna juhataja

kristiina.laanemets@
metk.agri.ee