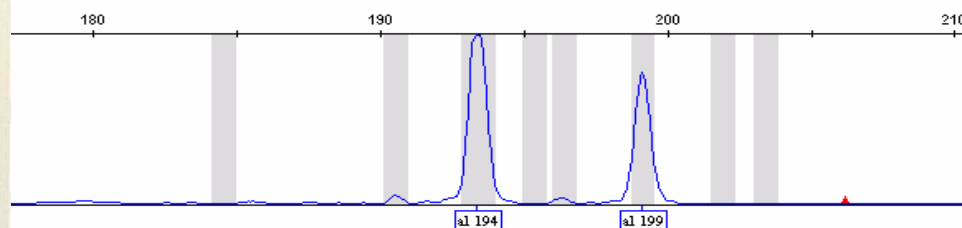
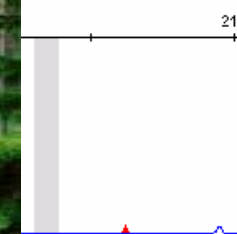
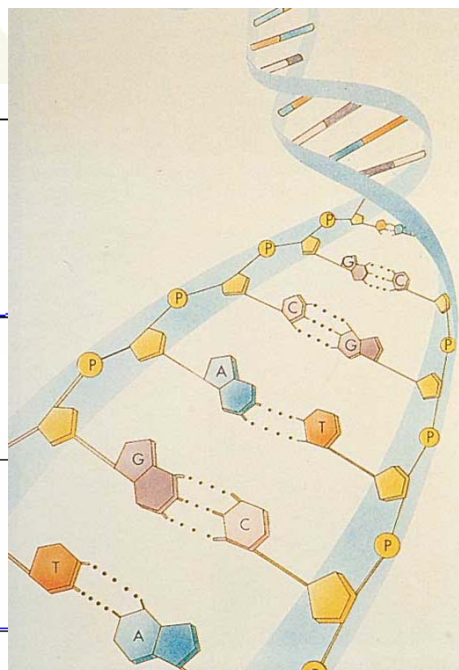
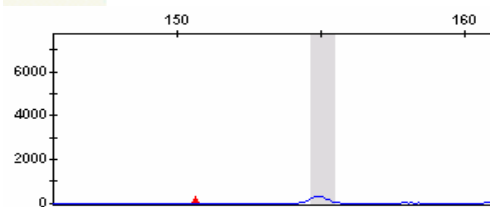
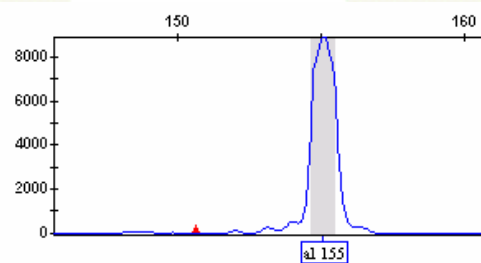


Ģenētisko Resursu Centrs

Dainis Ruņģis



- ĢRC veic Latvijas mežsaimniecības aktuālo problēmu pētīšana molekulāri ģenētiskā līmenī ar DNS molekulārajiem marķieriem.
 - Pētījumos izmantotās metodes var sadalīt divās grupās - 'neitrālas' un 'funkcionālas'.
-

‘Neitrālās’ metodes



- ‘Neitrālās’ metodes izmanto tādus DNS marķierus, kuriem nav tieša saistība ar koka fenotipu (tie ir selektīvi ‘neitrāli’), tie analizē koka genomiskās DNS daļu (kodola, mitohondriju, hloroplastu), kura ir nemainīga dzīves garumā un to neietekmē apkārtējās vides faktori.
 - Ar šiem marķieriem tiek noskaidrota atsevišķu indivīdu un meža audžu izcelsme un radniecība.
-

‘Funkcionālās’ metodes



- Ar ‘funkcionālām’ metodēm tiek pētītas ģenētiskas vienības, kuras varētu būt saistītas ar organisma fenotipu, tās reaģē uz vides un citiem ārējiem apstākļiem.
 - Šo metožu pētījumos iespējams iegūt papildus atlases kritērijus izmantojamus selekcijas programmās.
-

Galvenie pētījuma virzieni



- **augstvērtīga meža reprodutīvā materiāla veidošana:**
 - Latvijas galveno meža sugu audžu izpēte
 - **‘Neitrālās’ metodes** pasportizācija (genotipēšana)
- **kokaugu adaptācija klimata izmaiņām un citiem ārējiem stresiem**
 - Priedes retrotranspozonu izpēte
 - **‘Funkcionālās’ metodes**
 - Meža koku mijiedarbība ar citiem organismiem

- **augstvērtīga meža reproduktīvā materiāla veidošana:**

- Latvijas galveno meža sugu audžu izpēte
- Sēklu plantāciju ģenētiskā pasportizācija (ģenotipēšana)

- **kokaugu un citiem organismiem**

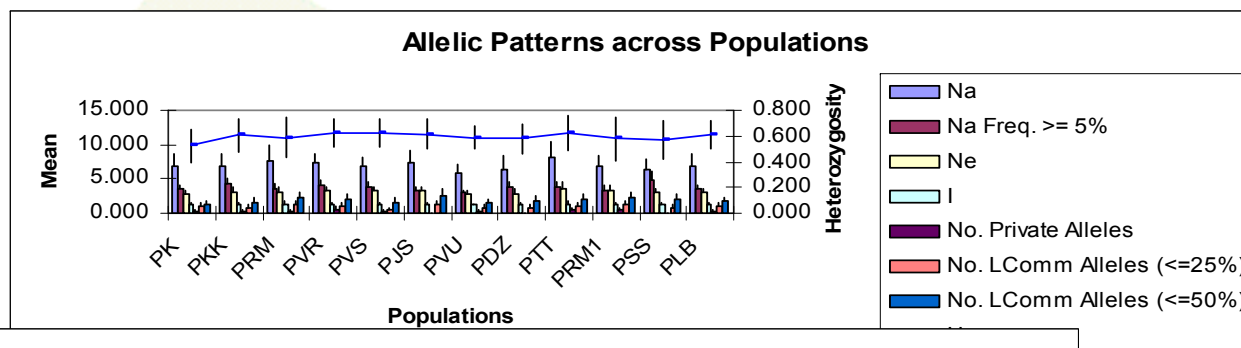
- ģenētisko daudzveidību,
- to populāciju struktūru un radniecību Latvijas ģeogrāfiskajos rajonos.

- Priedes ģenētiskā pasportizācija
- Priedes gēnu aktivitātes pētījumi
- Meža koku mijiedarbība ar citiem organismiem

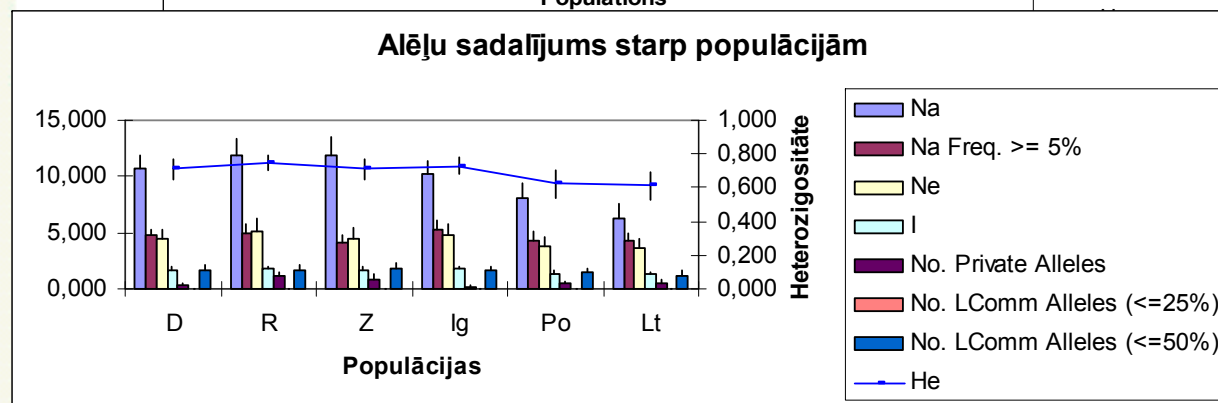
Kodola marķieru analīze



Ar kodola DNS marķieriem analizētas priežu, bērzu un egles dabiskās audzes dažādos Latvijas rajonos

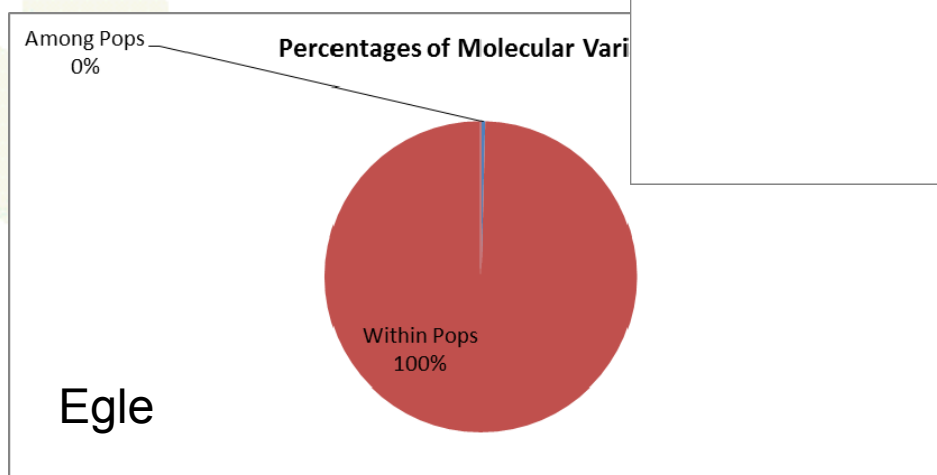
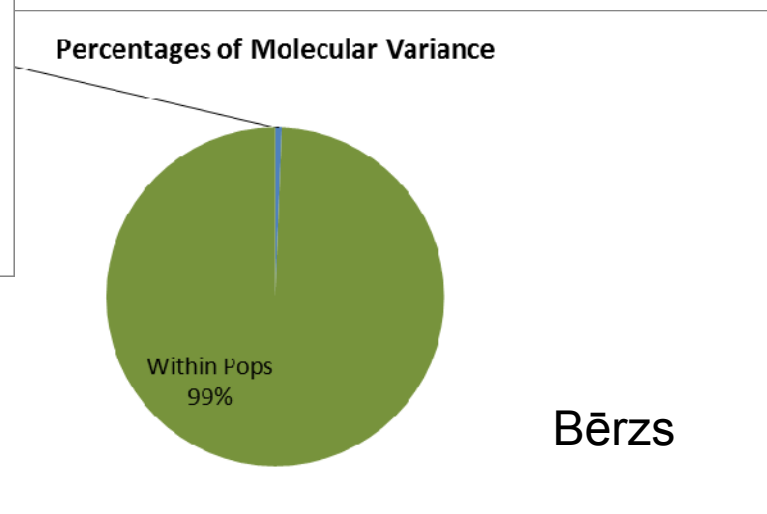
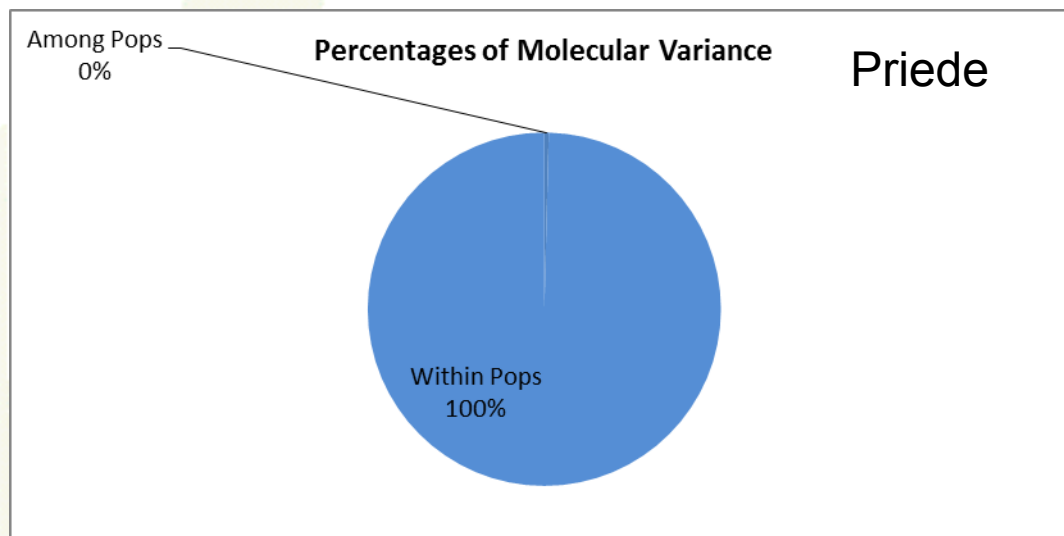


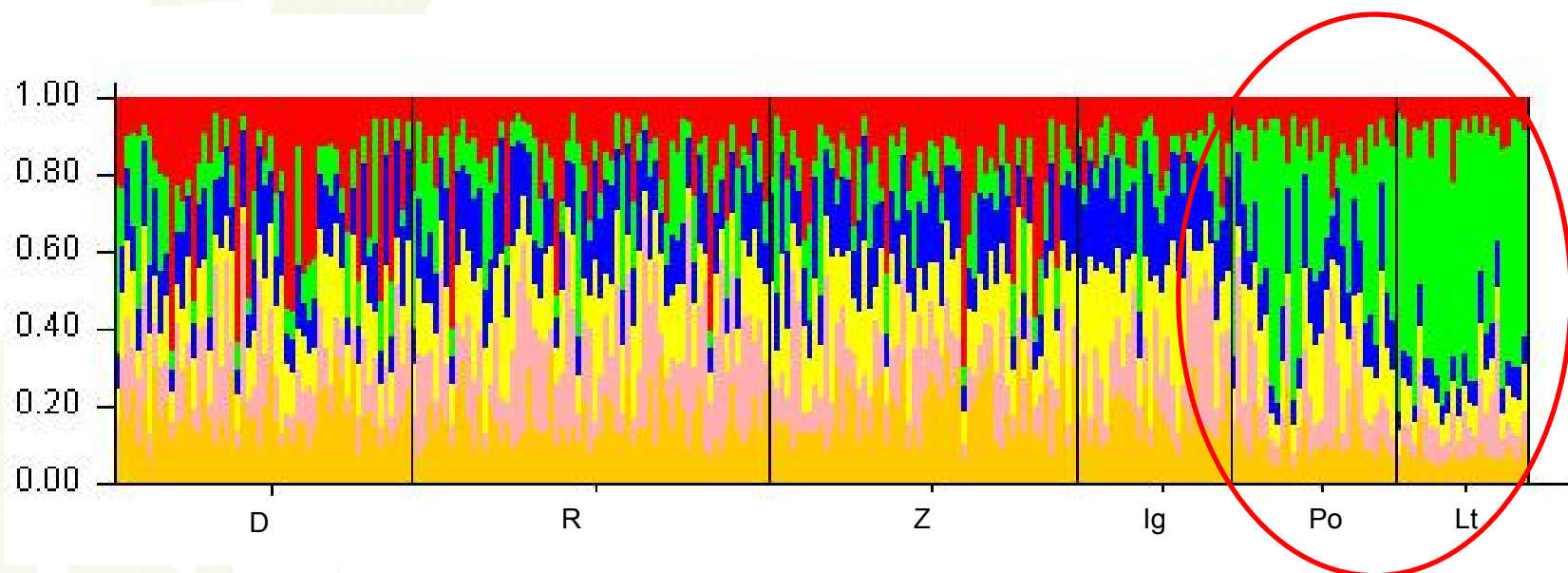
Priede



Berzs

Audžu diferenciācija

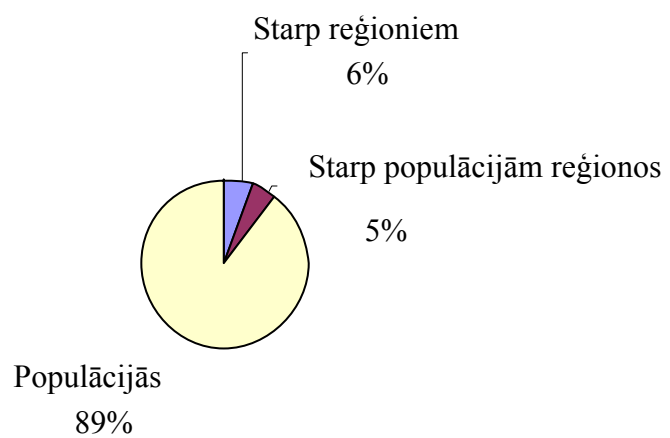




Populāciju diferenciācijas analīze liecina par Lietuvas un Polijas bērzu atšķirību no Latvijas un Igaunijas

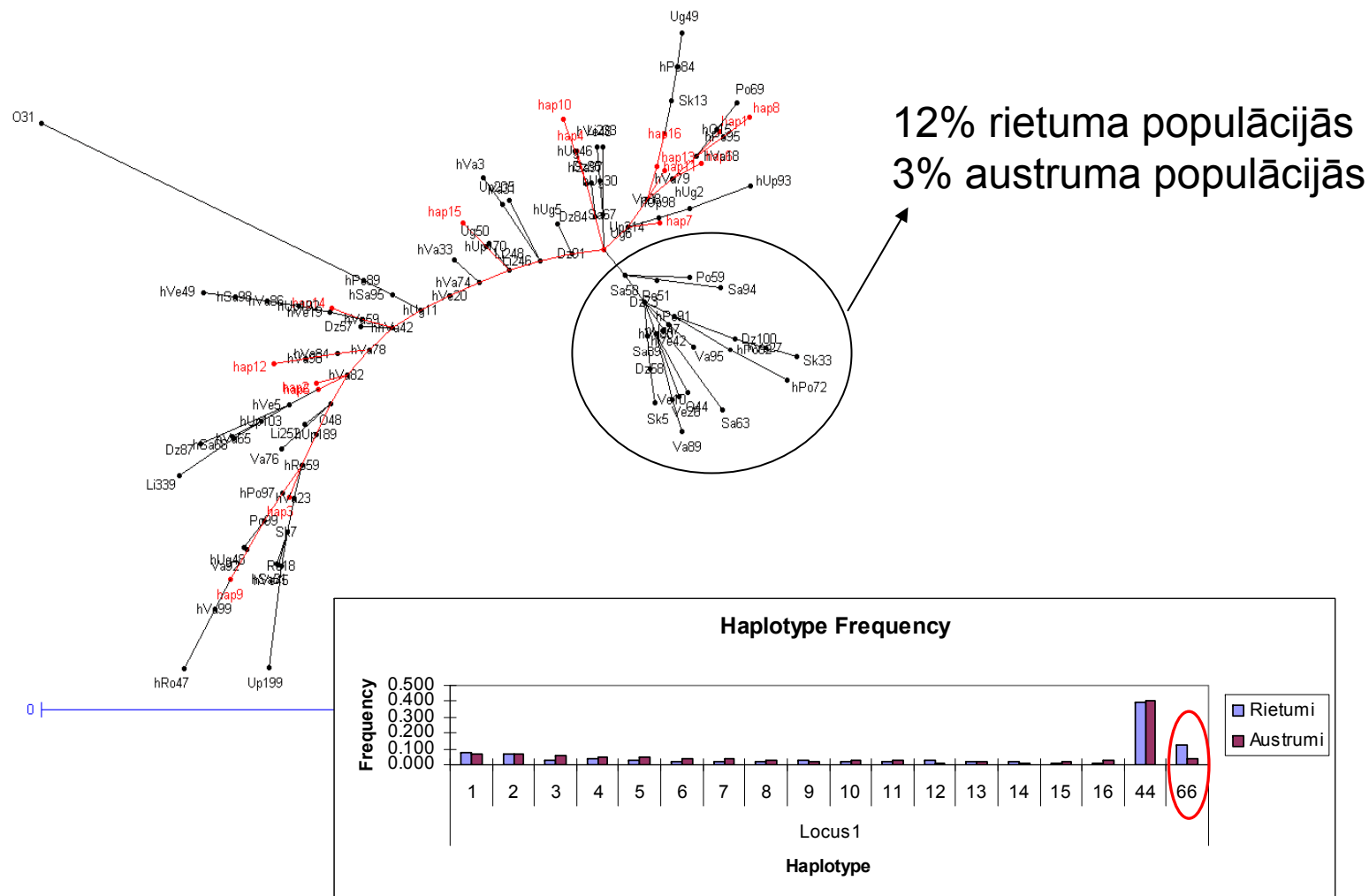
- Ar kodola marķieriem nebija iespējams atšķirt Latvijas dabiskās meža koku audzes
 - Turpmāk izmantojām hloroplasta marķierus, kuri skujkokos tiek pārmantoti pa tēva līniju (putekšņos), bet lapu kokos pa mātes līniju (sēklās)
 - Tie uzrāda zemāku ģenētisko daudzveidību, bet dod lielākas iespējas noteikt izcelsmi
-

Ģenētiskā daudzveidība

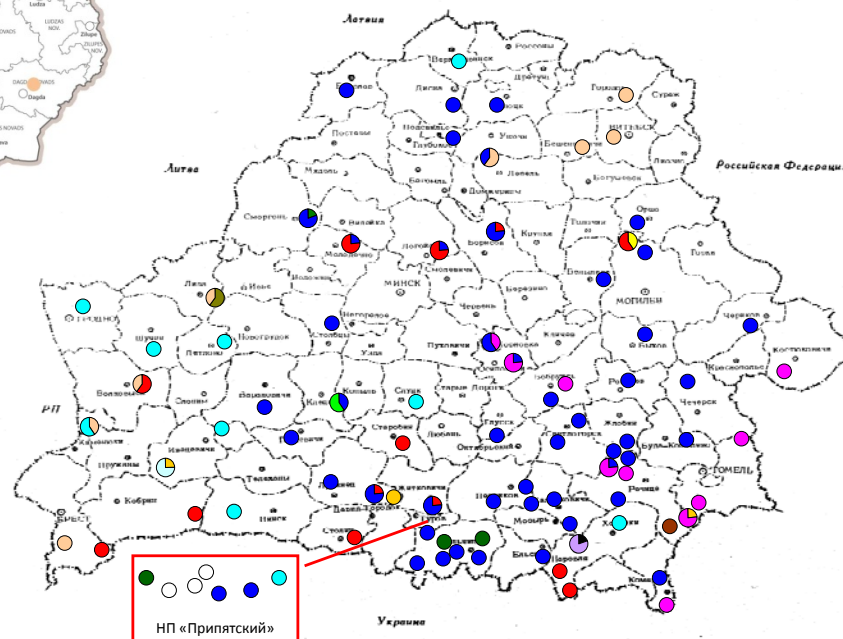
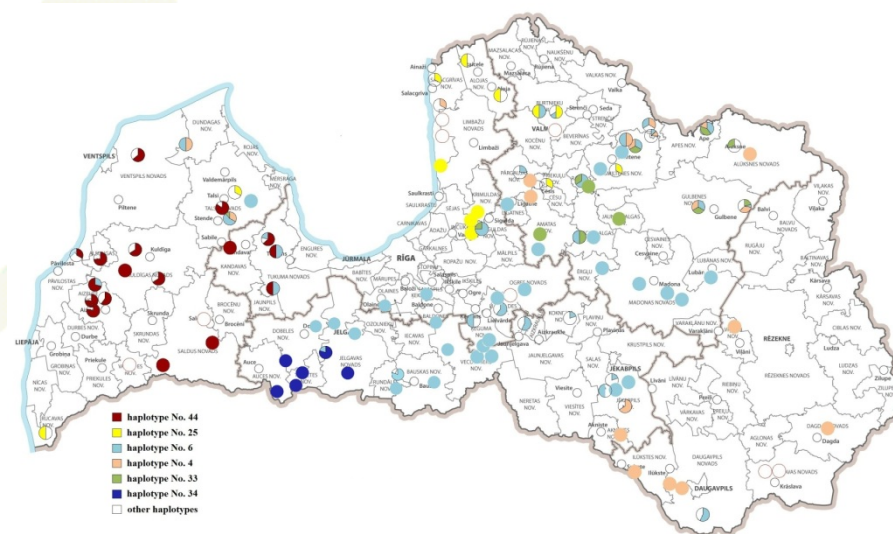


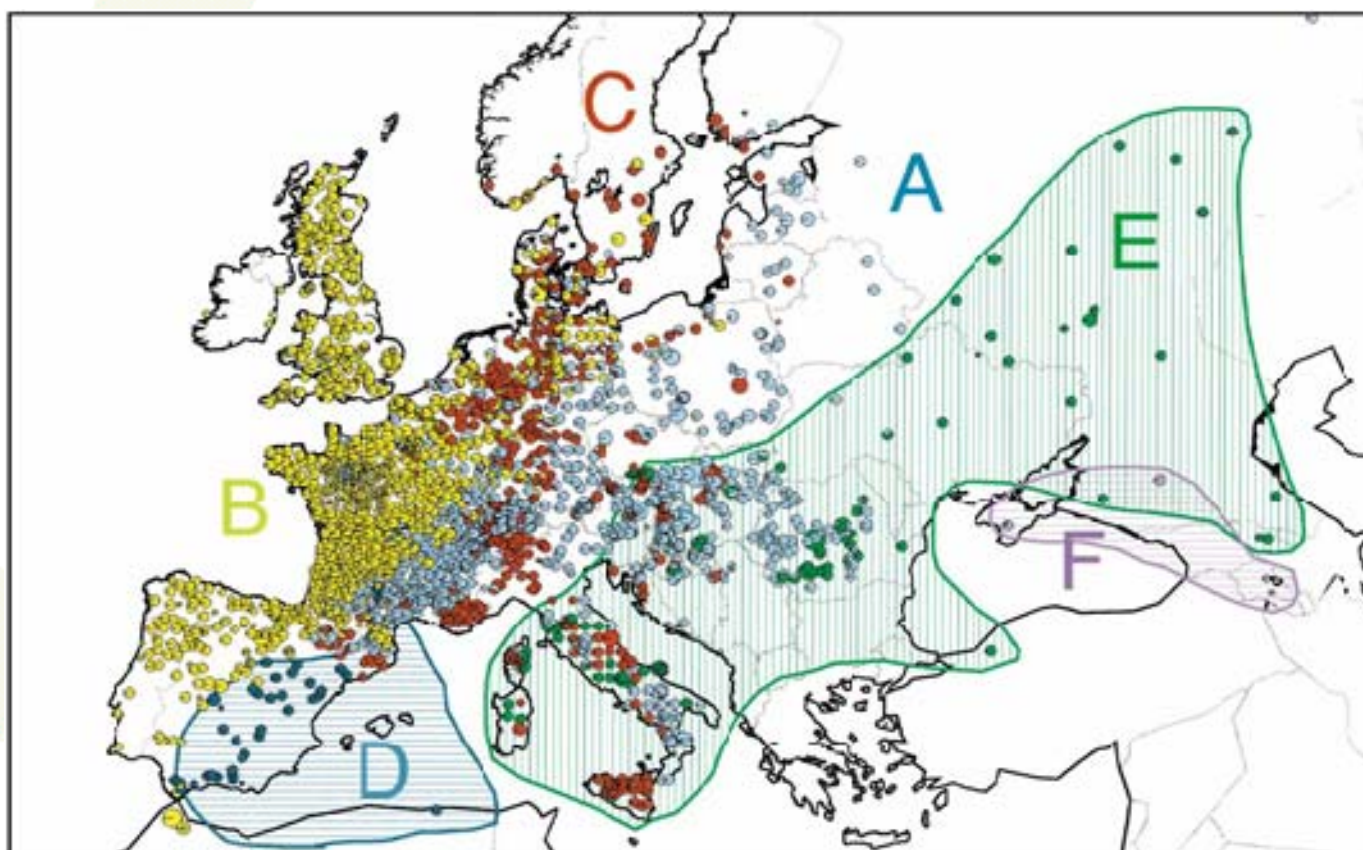
Priede

Priede – hloroplasta marķieru analīze



- Latvijas un Baltkrievijas ozolu salīdzinājums, izmantojot hloroplasta markieru analīzi, ar mērķi atlasīt piemērotāko Baltkrievijas ozolu materiālu izmēģinājumu stādījumu ierīkošanai Latvijā
-





(attēls no Petit et al, 2002)

- **augstvērtīga meža reprodktīvā materiāla veidošana:**

- Latvijas galveno meža sugu audžu izpēte
- Sēklu plantāciju ģenētiskā pasportizācija (genotipēšana)

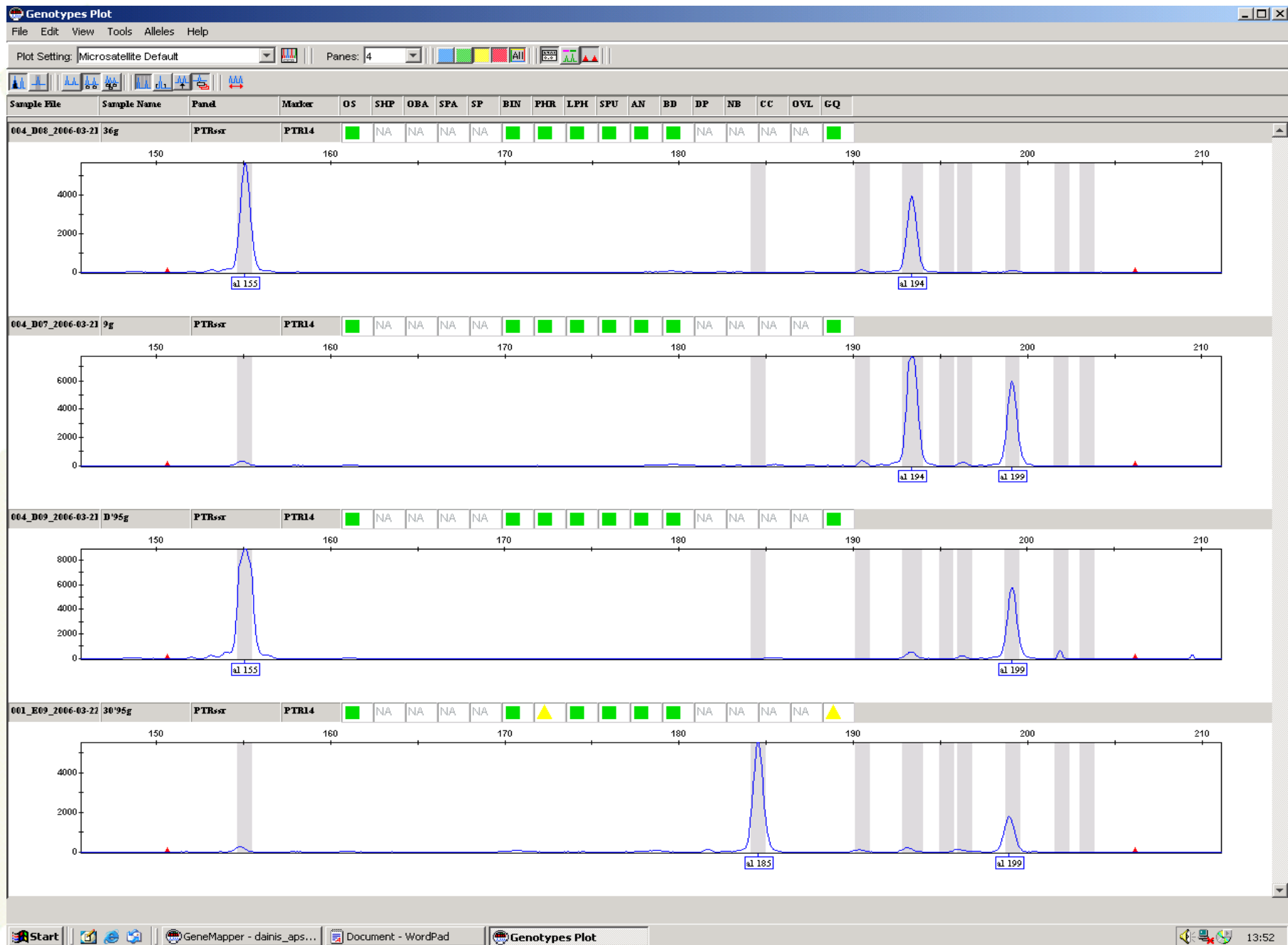
- **kokaugu adaptācija klimata izmaiņām un citiem**

- Pried
 - Pried
 - Meža
- Klonu pasportizācija un plantācijas shēmu apstiprināšana
 - Ģenētiskās daudzveidības salīdzinājums ar dabīgām audzēm,
 - Putekšņu plūsmas ietekme uz sēklu plantācijas pēcnācējiem

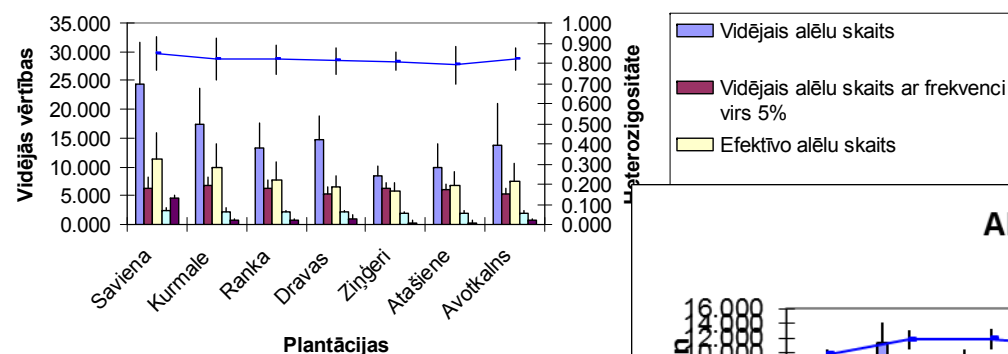
Sēklu plantāciju pasportizācija



- Izanalizētas pilnīgi vai daļēji Sāvienas, Zlēku, Zvirgzdes, Silvas, Kurmales, Rankas, Dravu, Ziņģeru, Atašienes, Avotkalna un Amulas priežu sēklu plantācijas; Suntažu un Sventes egļu sēklu plantācijas, kā arī bērzu zemplēves sēklu plantācija Kalsnavā

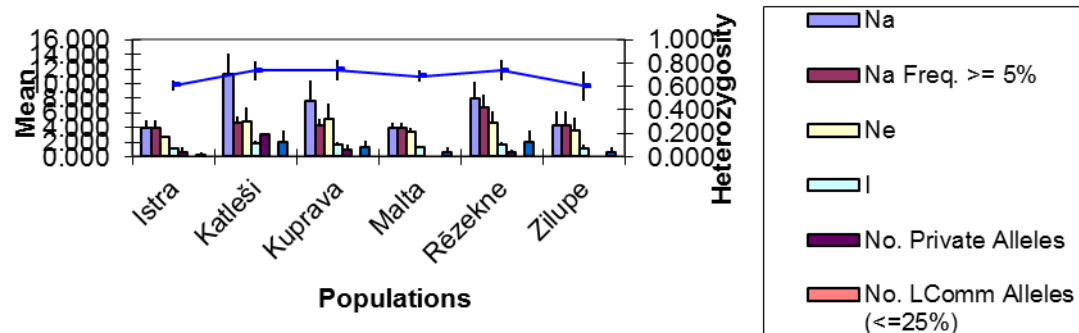


Priežu plantāciju ģenētiskais raksturojums

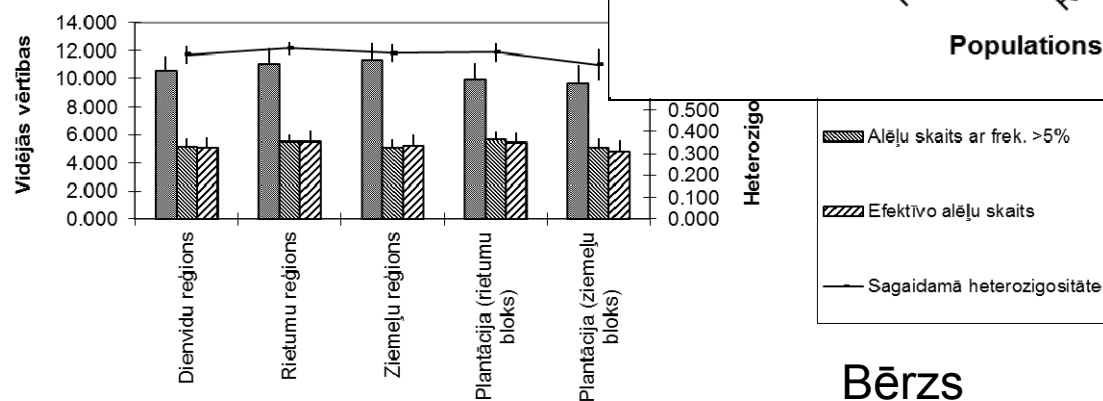


Priede

Allelic Patterns across Populations



Egle



Bērzs

Sēklu plantāciju pasportizācija



- Salīdzinot meža koku sēklu plantācijas ar dabīgām audzēm, noteikts ka ģenētisko daudzveidības rādītāji ir līdzīgi (vidējais alēļu skaits, vidējais alēļu skaits ar frekvenci virs 5%, efektīvo alēļu skaits un sagaidāmā heterozigotitāte)
- Tas liecina, ka plantācijās iekļautais ģenētiskais materiāls atspoguļo dabisko meža audžu ģenētisko daudzveidību.
- Iztrūkstošās retās alēles ir iespējams saglabāt ģenētisko resursu audzēs

- **augstvērtīgo koku veidošana**
 - ‘funkcionālās’ metodes
 - ar iespējamu ietekmi uz koka fenotipa un adaptācijas spējām
- Latvijas koku audzniecības attīstība
- Sēkļu plantāciju genētiska pasportizācija (genotipēšana)
- **kokaugu adaptācija klimata izmaiņām un citiem ārējiem stresiem**
 - Priedes retrotranspozonu izpēte
 - Priedes gēnu aktivitātes pētījumi
 - Meža koku mijiedarbība ar citiem organismiem

Retrotranspozoni



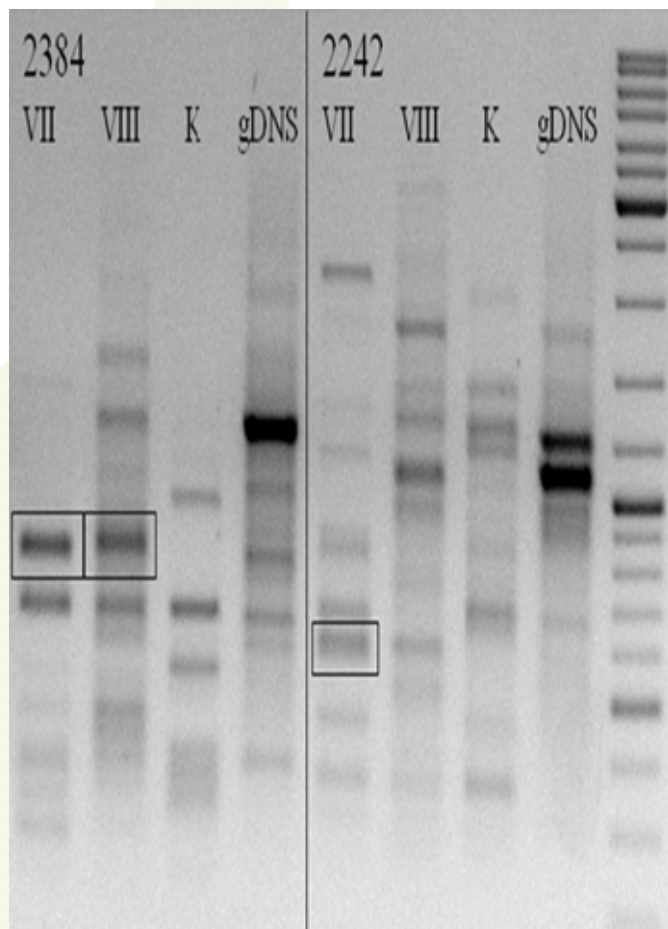
- Retrotranspozoni ir DNS sekvences, kuras var pārvietoties genomā (līdzīgi dažiem vīrusiem)
 - Parastās priedes (*Pinus sylvestris*) genoms satur retrotranspozonus (~75% no genoma),
 - Citās sugā ir pierādīts, ka tie transkripcionāli aktivējas atbildot uz stresa apstākļiem
 - Mūsu pētījuma mērķis ir identificēt aktīvos retrotranspozonus parastās priedes (*Pinus sylvestris*) genomā un raksturot to transkripcijas līmeni dažādu stresa veidu ietekmē kontrolētos apstākļos.
-

Stresa iniciēšana priedes rametiem

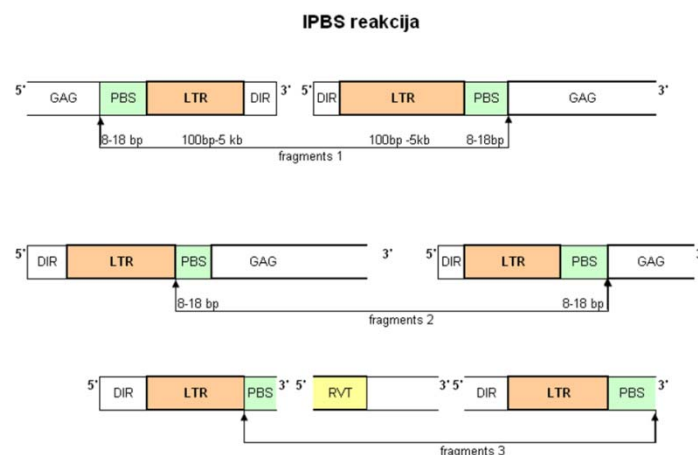


Priežu hermess (Pine Woolly Aphid (*Pineus pini*))

Retrotranspozoni - metode

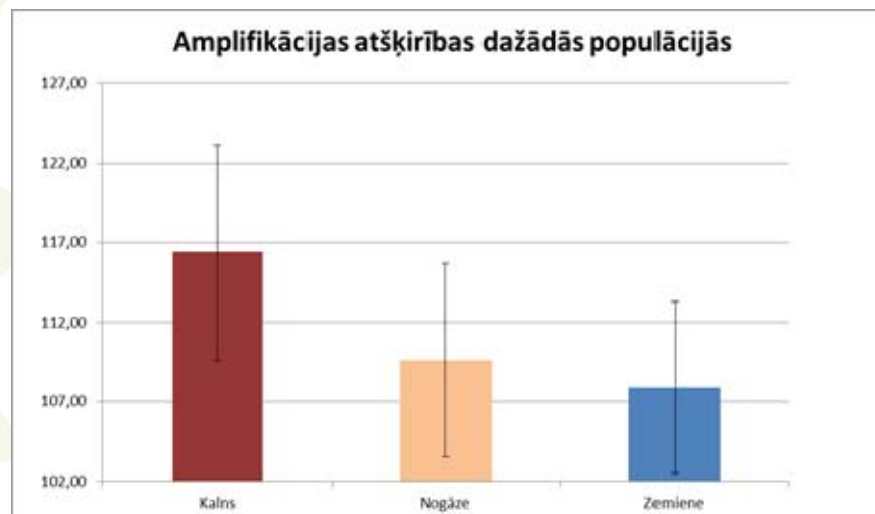


iPBS reakcija (Kalendar et.al., 2010);



Inter PBS amplification. Lanes VII and VIII show fragments amplified from cDNA samples from heat stressed trees, lane K is the cDNA sample from the control tree, lane gDNS shows amplification with genomic DNA of the same ramet, and the last lane is size marker GeneRuler DNA Ladder Mix (Fermentas). Excised fragments are indicated.

Aktīvo retrotranspozonu sadalījums dabīgā priežu audzē



Populācija	Vidējais aritmētiskais	Vidējā kvadrātiskā novirze	vidējā kvadrātiskā kļūda	Starpība	Vidējā starpības kļūda	Normētā novirze	F-kritērijs
	Xvid	δ	Sx		Sd		
Kalns	116,37	6,80	1,10	-	-	-	-
Nogāze	109,59	6,08	0,92	6,78	1,42	4,77	1,25
Zemiene	107,89	5,40	0,80	8,48	1,34	6,33	1,58

Retrotranspozoni



- Identificāti dažādi retrotranspozoni, kuri ir aktivizēti priedes genomā atšķirīgos stresa apstākļos
 - Dabīgā priežu audzē, kokos, kuri ilgstoši aug sausumā, tika atrasti netieši pierādījumi, ka tajos atrodas vairāk šie retrotranspozoni, kā kokos kuri aug labvēlīgākos apstākļos
 - Retrotraspozona plašāka izplatība indivīda genomā varētu liecināt par lielākām adaptācijas spējām
-

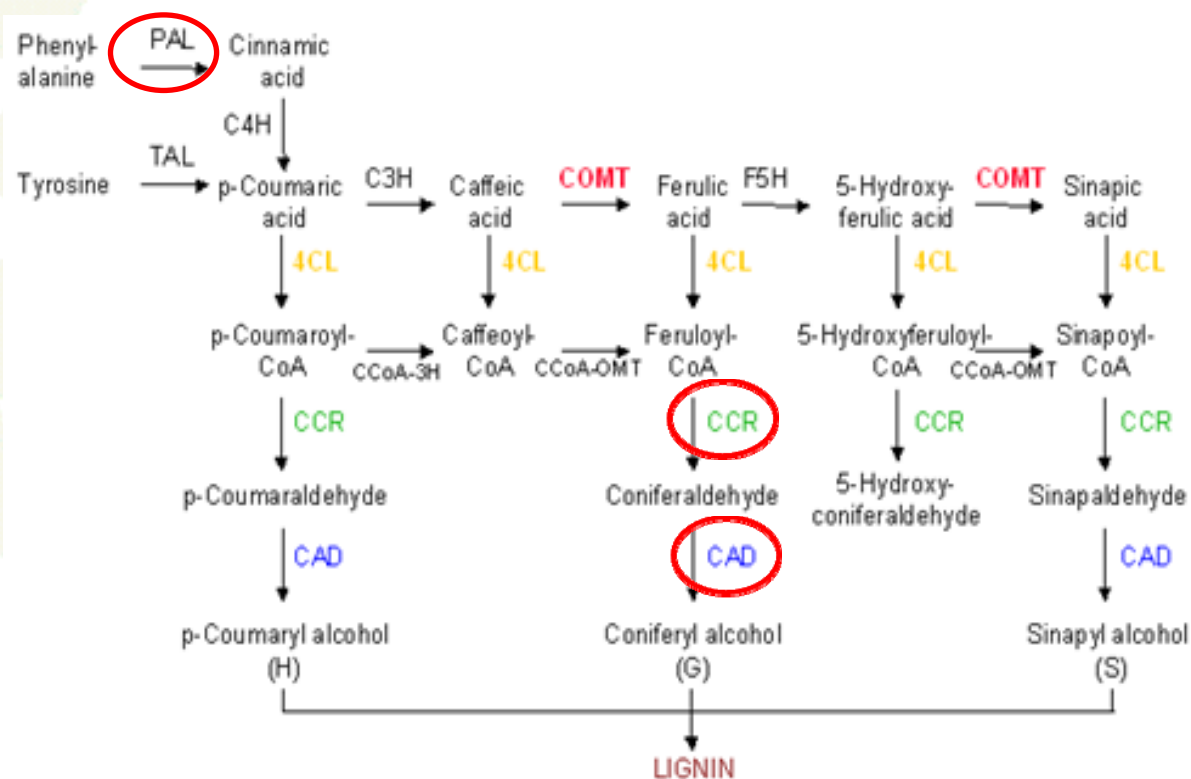
- **augstvērtīga meža reprodktīvā materiāla veidošana:**
 - Latvijas galveno meža sugu audžu izpēte
 - Sēklu plantāciju ģenētiskā pasportizācija (genotipēšana)
- **kokaugu adaptācija klimata izmaiņām un citiem ārējiem stresiem**
 - Priedes retrotranspozonu izpēte
 - Priedes gēnu aktivitātes pētījumi
 - Meža koku mijiedarbība ar citiem organismiem

Gēnu ekspresijas pētījumi



- Priežu sakņu trupes patogēna *H. annosum* izraisītās gēnu aktivitātes izmaiņas
- Tiek izmantoti
• Priežu sakņu trūšu patogēna *H. annosum* sp. 'kandidātgēni', kuri ir atlasīti tātē izm. no literatūras un citiem avotiem
- Gēnu ekspresija agrīnā un vēlīnā koksnē, un to saistība ar koksnes blīvumu

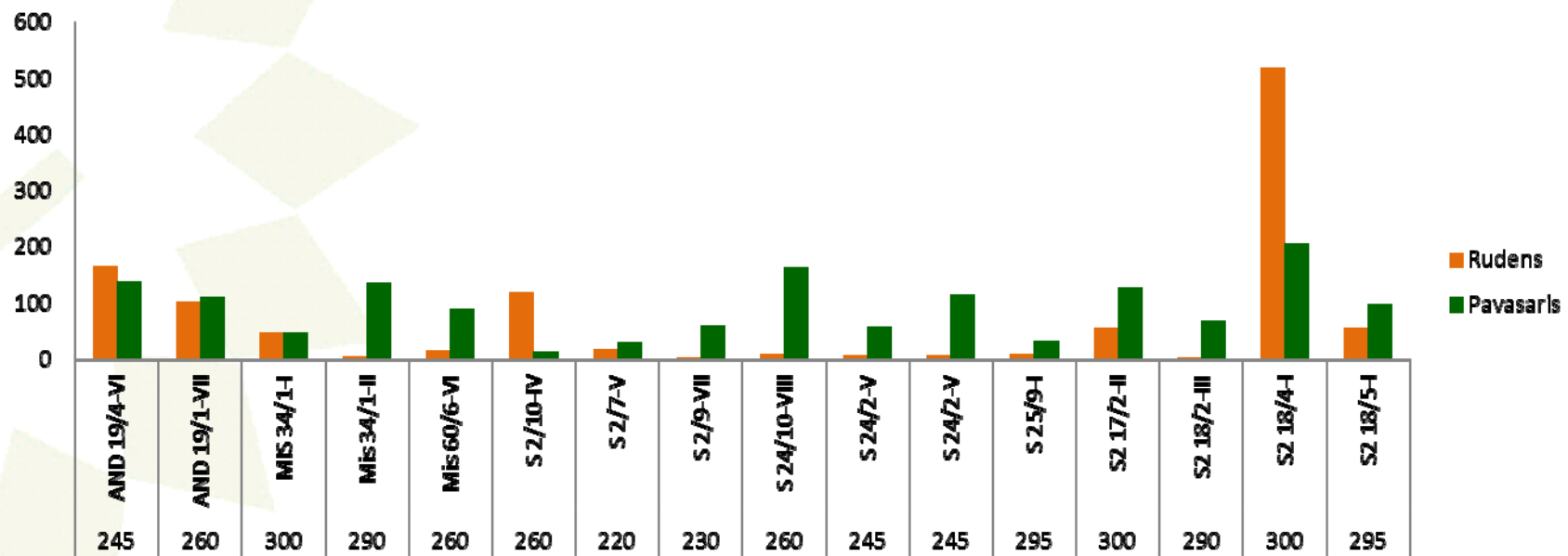
Lignīna biosintēze



CAD1



Gēna CAD1 ekspresija pavasarī un rudenī



P= 0,056353

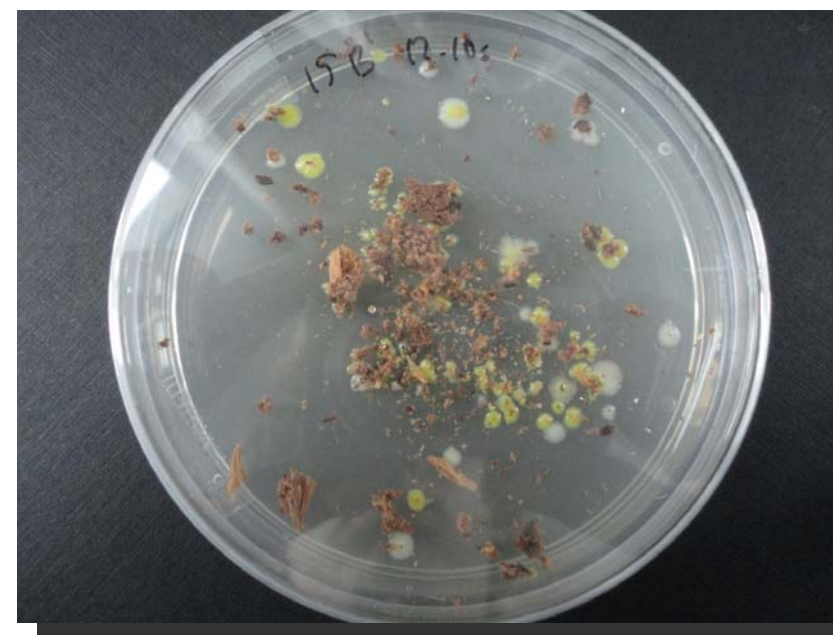
Tikai līdz 20% samazināts CAD daudzums
novēd pie izmainītas auga augšanas.

- **augstvērtīga meža reprodktīvā materiāla veidošana:**
 - Latvijas galveno meža sugu audžu izpēte
 - Sēklu plantāciju ģenētiskā pasportizācija (genotipēšana)
- **kokaugu adaptācija klimata izmaiņām un citiem ārējiem stresiem**
 - Priedes retrotranspozonu izpēte
 - Priedes gēnu aktivitātes pētījumi
 - Meža koku mijiedarbība ar citiem organismiem

Bērzu koksnes iekrāsojums

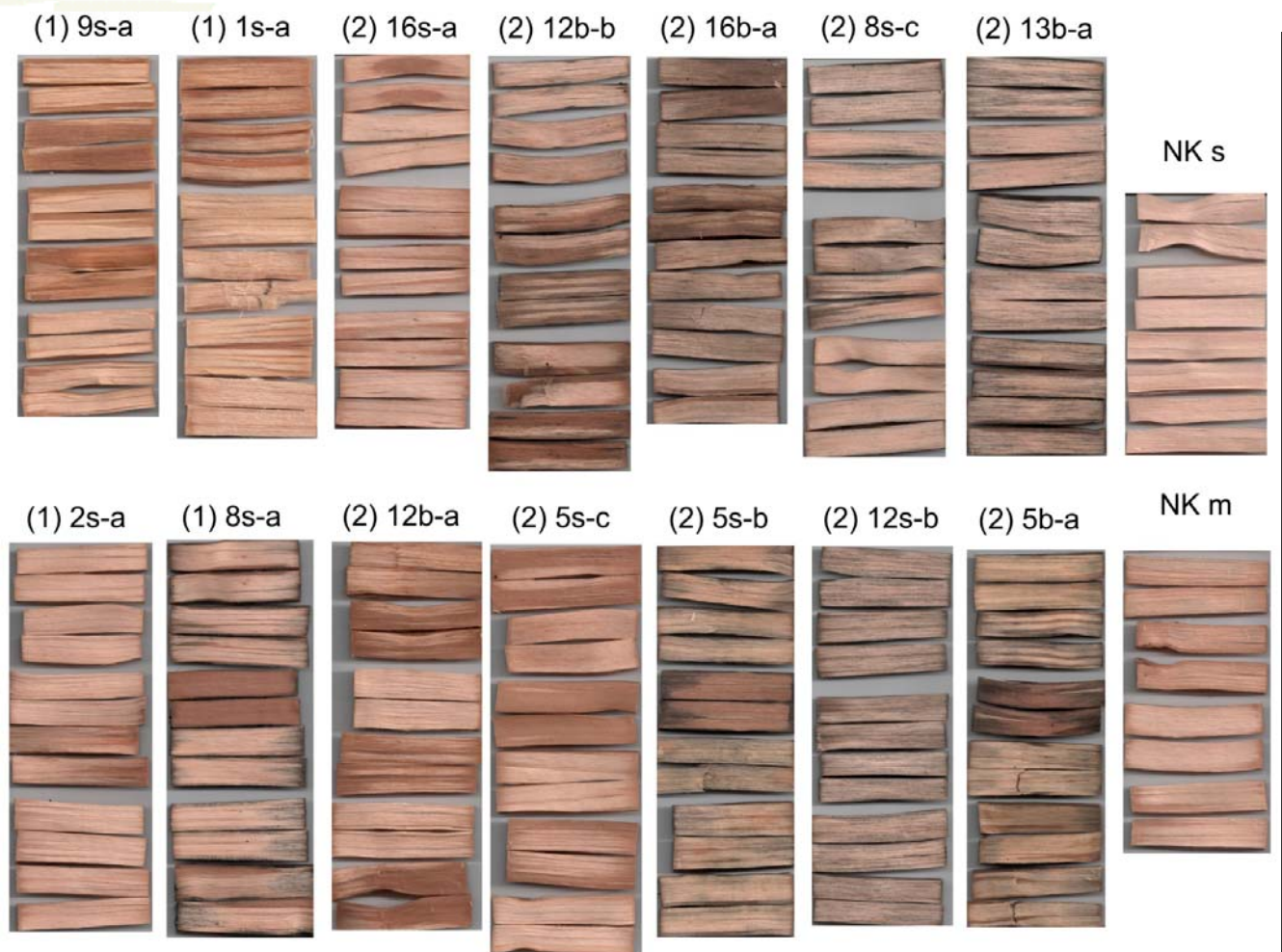


- Mērķis ir noskaidrot bērzu koksnes iekrāsojumu izraisošos mikroorganismus
- Tiek izmantotas morfoloģiskas un molekulāras metodes
- Identificējot koknes iekrāsojošos mikroorganismus, ar molekulārām metodēm būs iespējams noteikt to izplatību Latvijas bērzu audzēs un rajonos



Query	1	GGCATGTGCACGCTCCTTTCACTAAT-C-CACACACACCTGTGCACCTTCGCGGGGGTCT	58
Sbjct	52	GGCATGTGCACGCTCCTTTCACTAATCCACACACACCTGTGCACCTTCGCGGGGGTCT	111

Izdalīto sēņu tīrkultūras uz steriliem bērza klucīšiem



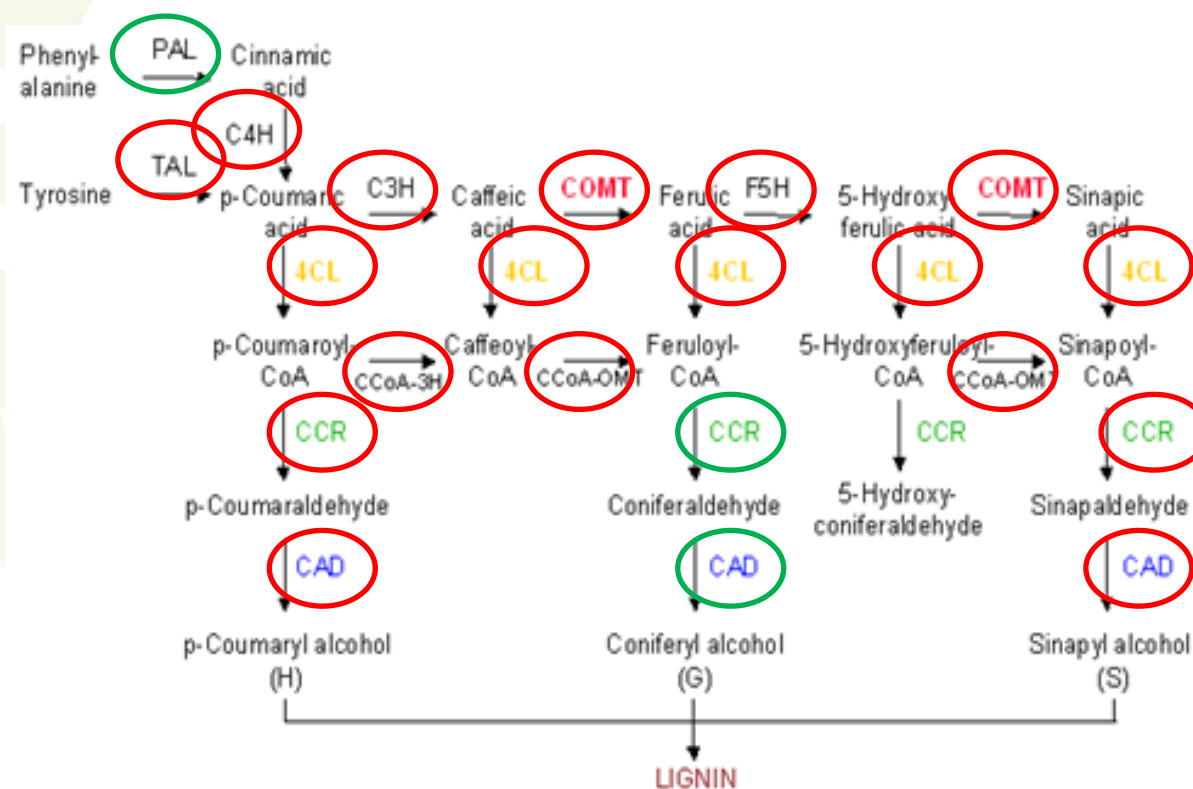
- Bērzu pēcnācēju pārbaudes plantācijā noskaidrots, ka bērzu koksnes iekrāsojuma pakāpe ir atšķirīga starp ģimenēm, kas liecina par to ģenētisko pamatu un iespēju atlasīt rezistentākus bērzus
-

Nākotnes iespējas



- ĢRC iegūtie rezultāti ir pamatoti uz atsevišķu gēnu vai marķieru analīzi
- Tomēr, pārsvarā, koka fenotipu ietekmē nevis viens gēns, bet vairāku gēnu mijiedarbība (piem. lignīna biosinteze)

Lignīna biosintēze



Nākotnes iespējas



- Molekulārās ģenētikas analīžu apjoms nepārtraukti pieaug, un ir iespējams vienlaicīgi analizēt nevis vienu marķieri vai gēnu, bet 100iem vai pat 1000iem
 - Apses genoms ir pilnīgi sekvenēts, patlaban tiek sekvenēti arī egles un priedes genomi
-

- Sadarbībā ar Umeas universitāti Zviedrijā, mums būs iespēja vienlaicīgi analizēt 384 egles marķierus, un nākotnē būs iespēja arī priedē analizēt līdzīgu marķiera skaitu
 - Papildus informācija dos iespēju ātrāk un precizāk molekulāri ģenētiski analizēt Latvijas meža koku sugas
-

Kopsavilkums



- **augstvērtīga meža reproduktīvā materiāla veidošana:**
 - Latvijas galveno meža sugu audžu izpēte
 - Pamatinformācija par Latvijas meža koku sugu ģenētiskiem rādītājiem
 - Salīdzināšana ar selekcijas materiālu
 - Atlasīt materiālu ar līdzīgu izcelsmi izmēģinājuma stādījumu ierīkošanai
 - Sēklu plantāciju ģenētiskā pasportizācija (genotipēšana)
 - Klonu pasportizācija un plantācija shēmu apstiprināšana
 - Putekšņu plūsmas ietekme uz pēcnācējiem
 - Radniecības ietekmes mazināšana plānojot krustojumus

- **kokaugu adaptācija klimata izmaiņām un citiem ārējiem stresiem**

- Pamatinformācija par mežakoku sugu molekulāri ģenētiskiem procesiem, reaģējot uz iekšējiem vai ārējiem faktoriem
 - Pētījumu rezultātus būs iespējams izmantot papildus selekcijas kritēriju izstrādei, veikt agrīnu selekcijas atlasī ar ko būs iespējams saīsināt selekcijas ciklu
-

Pateicības



- LVMI «Silava» selekcijas nodaļai
- ĢRC darbiniekiem:
 - Ilze Veinberga, Agnese Gailīte, Anita Gaile, Vilnis Šķipars, Angelika Voronova, Baiba Krivmane, Ilze Gaile, Viktorija Beleviča, Linards Ļubinskis, Krista Kanberga-Siliņa, Anna Korica, Krišs Bitenieks

PALDIES PAR UZMANĪBU!