UP FAMNIT

Žlahtnjenje in biotehnologija rastlin

4. LABORATORIJSKE VAJE

GENSKE BANKE / MUTACIJE (ječmen)

Petra Gabrovšek

petra.gabrovsek@upr.si

2026/27

GENSKE BANKE

❖ Definicija genske banke je zapisana v 29.členu - Zakon o ohranjanju narave (ZON):

2.2. Genski material

29. člen
(genske banke)

(1) Genske banke so nadzorovane ali gojene populacije ali deli živali in rastlin, zlasti semena, trosi, spolne celice in drugi biološki materiali, ki se upravljajo za namene ohranjanja vrst oziroma njihovih genskih skladov.

(2) Biološki material so mikroorganizmi, molekule in fragmenti DNA, virusi, fikusne

RASTLINSKI GENSKI VIRI (RGV) ZA PREHRANO IN KMETIJSTVO

❖ rastlinski genski viri so nepogrešljiva surovina za izboljševanje gojenih rastlin s klasičnim žlahtnjenjem rastlin ali sodobnimi biotehnološkimi postopki.

❖ so bistvenega pomena za prilagajanje nepredvidljivim spremembam v okolju ter zadovoljevanje prihodnjih potreb človeštva.



POMEN RGV za ŽLAHTNJENJE RASTLIN

- ✓ **Izbira odpornih sort in ustvarjanje novih sort**

- ❑ Prilagajanje na:
  - **abiotski** (suša, T, slanost tal..) **in**
  - **biotski** (bolezni, škodljivci) **stres** (pridobitev tolerance in rezistence);

- ❑ Izboljšanje **kakovosti kmetijskih rastlin**;

- ❑ Vzgoja **brezvirusnega materiala** (rastlinske tkivne kulture).

Breskev cveti, aprila sneg



Koruzna bulava snet



Rastlinski genski viri (RGV) za prehrano in kmetijstvo

Svetovna genska banka Svalbard



Figure 1. The Svalbard Global Seed Vault. The exterior and interior of the Svalbard Global Seed Vault. Printed under a CC BY license, with permission from Photographer Mari Tefre.
doi:10.1371/journal.pone.0064146.g001

RASTLINSKI GENSKI VIRI V REPUBLIKI SLOVENIJI

- ❖ Spremljanje in popis avtohtonega genskega materiala se je v Sloveniji začelo v 50-ih letih 20. st.

- ❖ Od leta 1996 poteka sistematično zbiranje, hranjenje in vzdrževaje rastlinskih virov v okviru rastlinske genske banke.

- ❖ Javna služba nalog rastlinske genske banke (JSRGB):
  - **https://www.kis.si/JSRGB/**
  - Proučevanje RGV v obdobju 2018-2024, poteka na pooblaščenih inštitucijah:
    - **Kmetijskem inštitutu Slovenije** iz Ljubljane [izvajalec],
    - **Biotehniški fakulteti**, Oddelku za agronomijo iz Ljubljane [izvajalec],
    - **Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije** iz Žalca [podizvajalec],
    - **Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede**, Univerza v Mariboru [podizvajalec],

    ter neformalno vključene še druge inštitucije:
    - **FAMNIT**, Univerza na Primorskem

- ❖ Posamezni skrbniki (t.i. kuratorji) iz navedenih organizacij, so odgovorni za posamezne vrste kmetijskih rastlin.

Genske banke – brskanje po spletnih straneh

Evropska podatkovna zbirka vinske trte (The European *Vitis* Database; genetic resources of grapes)

spletna stran: http://www.eu-vitis.de/index.php



Ali je »Recigla« vnesena v EU-VITIS?

Genske banke – brskanje po spletnih straneh

Globalni portal GENESYS

spletna stran: https://www.genesys-pgr.org/



Ali je vnesena vsaj 1 akcesija izbrane kmetijske rastline v portal GENESYS?

Genske banke – brskanje po spletnih straneh

Kanadska genska banka (Canadian national genebank information system – GRIN-Global-CA)

spletna stran: http://pgrc3.agr.gc.ca/index_e.html



Poiščite akcesijo izbrane rastlinske vrste v Kanadski genski banki?

MUTACIJA

- dedna sprememba genetskega materiala na genski ali kromosomski ravni.
- so glavni vir nastanka novih genov in v kombinaciji z žlahtnjenjem prispevajo k povečanju genetske variabilnosti.

- DELITEV:
  1. **somatske mutacije**
     (prizadenejo samo nosilca in se ne prenašajo na potomce)
  2. **mutacije v spolnih celicah oz. zarodnih celicah**, iz katerih nastajajo spolne celice
     (največkrat ne vplivajo na organizem, v katerem nastanejo, temveč se odrazijo pri potomcih)

  oz.

  1. **genske ali točkovne mutacije**
  2. **kromosomske mutacije**

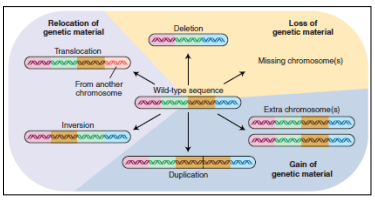
TOČKOVNE MUTACIJE



Type of mutation	Result and examples
At DNA level	
Transition	Purine replaced by a different purine, or pyrimidine replaced by a different pyrimidine: A T ⟶ G C ⟶ G C ⟶ A T C G ⟶ T A T A ⟶ C G
Transversion	Purine replaced by a pyrimidine, or pyrimidine replaced by a purine: A T ⟶ C G A T ⟶ T A G C ⟶ T A G C ⟶ C G T A ⟶ G C T A ⟶ A T C G ⟶ A T C G ⟶ G C
Indel	Addition or deletion of one or more base pairs of DNA (inserted or deleted bases are underlined): AAGACTCGT ⟶ AAGAGCTCGT AAGACTCGT ⟶ AAACTCGT
At protein level	
Synonymous mutation	Codons specify the same amino acid: AGG ⟶ CGG Arg Arg
Missense mutation	Codon specifies a different amino acid
Conservative missense mutation	Codon specifies chemically similar amino acid: AAA ⟶ AGA Lys (basic) Arg (basic) Does not alter protein function in many cases
Nonconservative missense mutation	Codon specifies chemically dissimilar amino acid: UGU ⟶ UCU Cys (hydrophobic, polarizable) Ser (hydrophilic, polar)
Nonsense mutation	Codon signals chain termination: CAG ⟶ UAG Gln (codes for amino acid) Ter (termination codon)
Frameshift mutation	One base-pair addition (underlined): AAG ACT CCT ⟶ AAG AGC TCC T... One base-pair deletion (underlined): AAG ACT CCT ⟶ AAA CTC CT...

KROMOSOMSKE MUTACIJE

1. **Številčne oz. genomske**: spremembe v številu kromosomov (evploidije, anevploidije).
2. **Strukturne (aberacije)**: spremembe v strukturi kromosomov (delecija, duplikacija, inverzija, translokacija). Do strukturnih sprememb pride zaradi loma kromosomov.



DELITEV MUTACIJ GLEDE NA IZVOR:

1. **spontane**
2. **inducirane**

SPONTANE MUTACIJE

- napake pri podvajanju DNA
- naravno povzročenih poškodb (npr. oksidativnih procesov, ki jih povzročajo prosti radikali, deaminacija, depurinacija ipd.)
- zelo nizka pogostnost pojavljanja (10^{-6} ali ena na milijon kopij določenega gena)

INDUCIRANE MUTACIJE

- fizikalnimi ali kemijskimi dejavniki = **mutageni**
- način žlahtnjenja, pri katerem se uporablja inducirane mutacije = *mutacijsko žlahtnjenje*.

FIZIKALNI MUTAGENI:

1. **UV-sevanje** – pri valovni dolžini 260 nm povzroča dimerizacijo pirimidinskih baz, predvsem med dvema timinoma. Purinski dimeri so redkejši. Dimeri se pri podvajanju DNA ne parijo s komplementarnimi nukleotidi, zato novo nastala veriga ni popolnoma komplementarna; pride do **delecije**. UV-sevanje ima v primerjavi z ionskim sevanjem manjšo prodorno, zato se pri postopkih žlahtnjenja uporablja predvsem za obsevanje peloda in celičnih kultur.

2. **Ionsko sevanje** (rentgenski (žarki X) in gama (γ) žarki) – lahko povzroči različne mutacije, od manjših točkovnih do večjih kromosomskih sprememb. Sevanje ima lahko neposreden vpliv na DNA ali posreden, z induciranjem reaktivnih molekul.

3. **Visoka temperatura** - povzroča cepitev β-N-glikozidne vezi, ki povezuje dušikovo bazo s sladkorjem. Sladkor in fosfatna skupina brez dušikove baze postaneta zelo nestabilna in hitro razpadeta, zaradi česar v DNA-verigi nastane **vrzel**. Ta reakcija navadno ni mutagena, saj *popravljalni mehanizmi* tovrstne napake večinoma uspešno odpravijo.

KEMIJSKI MUTAGENI:

1. **Bazni analogi** – nekatere kemijske spojine so po strukturi zelo podobne dušikovim bazam in se zato lahko med podvajanjem lahko vgradijo v DNA-verigo. Primer: 5-bromouracil (5-BU) je analog timina, ki ima na petem C-atomu bromin. Timin ima na tem mestu metilno skupino. 5-BU se lahko pari z gvaninom.

2. **Alkilni mutageni** – nekateri mutageni povzročajo spremembe dušikovih baz, zaradi česar se kasneje nepravilno parijo. Primeri: etil metan sulfonat (EMS), dietil sulfonat (DES), nitrozogvanidin (NG). Ti mutageni dodajo **alkilno skupino** (v primeru EMS je to etilna skupina, pri NG metilno). Do mutacije pride, ko se alkilna skupina veže na kisik v gvaninu in tako nastane O-6-alkilgvanin, ki se lahko pari s timinom.

3. **Interkalirajoči mutageni** – planarne molekule (npr. etidijev bromid, akridin), ki se vrinejo med dušikove baze dveh nasprotnih verig DNA.

4. **Dušikova kislina** – povzroča deaminacijo. Citozin se pri odstranitvi amino skupine spremeni v uracil.

Fizikalne in kemijske mutagene se uspešno uporablja tudi v **žlahtniteljske namene**.

Lastnosti, ki so že bile izboljšane s pomočjo mutacijskega žlahtnjenja so:

- čas cvetenja
- struktura rastline
- oblika cvetov
- oblika plodov
- spremembe oljevitosti
- izboljšana kakovost beljakovin

PRAKTIČNI DEL

MERITVE POSAJENEGA JEČMENA
(iz 1LV)

LEGENDA:

KO – kontrola

in

2 stopnji obsevanja semen:

M60 (medium; 60 enot obsevanja)

S600 (strong; 600 enot obsevanja)

BLOK_1 **M60-1**	BLOK_2 **S600-1**	BLOK_3 **KONTROLA1**
BLOK_4 **S600-2**	BLOK_5 **M60-2**	BLOK_6 **M60-3**
BLOK_7 **KONTROLA2**	BLOK_8 **KONTROLA3**	BLOK_9 **S600-3**

NAVODILA:

1. Iz vsake parcelice ječmena vzemite **po 10 rastlin** – pazite, da vzamete sredinske rastline*.
   **-predpostavljamo, da so imele rastline v sredini svoje parcelice bolj enakomerne pogoje za rast kot tiste, ki so rastle na robu parcelic.*
2. Vsaj 10 rastlinam iz posamezne parcelice izmerite dolžino najdaljšega lista rastlin.
   Merite od mesta, kjer je list pogledal iz zemlje, do konice najdaljšega lista.
3. Meritve zapišite v excel ("04LVmeritveJecmena"), ki je naložen na e-učilnici.
4. Statistika v R+RStudio, skripta naložena na e-učilnici.
   -> excel preimenujte v "meritve_jecmen" in ga shranite še v ".csv" obliki

Literatura:

Genske banke:

Chahal G.S., Gosal S.S. 2002. Principles and procedures of plant breeding: biotechnological and conventional approaches. Harrow, Alpha science international Ltd.: str. 603

Bioversity International
http://www.bioversityinternational.org/

Engels J.M.M. in Visser L. 2003. A guide to effective management of germplasm collections. IPGRI handbooks for Genebanks No. 6. IPGRI, Rim.

Grčon P. 2012. Izvajanje Mednarodne pogodbe o rastlinskih genskih virih za prehrano in kmetijstvo v Sloveniji. Acta agriculturae Slovenica, 99 -3: str. 295-299

Izvlečki predavanj [Elektronski vir] / 4. posvet o ohranjanju in trajnostni rabi rastlinskih genskih virov, [19. junij 2018, Hoče] ; urednica Metka Šiško. - 1. izd. - El. zbornik. - Maribor : Univerzitetna založba Univerze, 2018

Slovenska rastlinska genska banka. Rastlinski genski viri za prehrano in kmetijstvo
http://www.furs.si/svn/seme/RastlGenViri.asp

Westengen OT, Jeppson S, Guarino L (2013) Global Ex-Situ Crop Diversity Conservation and the Svalbard Global Seed Vault: Assessing the Current Status. PLoS ONE 8(5): e64146. doi:10.1371/journal.pone.0064146

Zakon o ohranjanju narave (Uradni list RS, št. 96/04 – uradno prečiščeno besedilo, 61/06 – ZDru-1, 8/10 – ZSKZ-B, 46/14, 21/18 – ZNOrg, 31/18, 82/20, 3/22 – ZDeb, 105/22 – ZZNŠPP in 18/23 – ZDU-1O)

Mutacije (ječmen):

Brown T. A. 2007. Genomes 3. New York, Garland Science Publishing: str. 713.

Chahal G.S., Gosal S.S. 2002. Principles and procedures of plant breeding: biotechnological and conventional approaches. Harrow, Alpha science international Ltd.: str. 603

Griffiths A., Wessler S. R., Lewontin R. C., Gelbart W. M., Suzuki D. T., Miller J. H. 2005. Introduction to genetic analysis, 8th edition. New York, W. H. Greeman: 782 str.