

## Kokkuvõte

Globaalse kliimamuutusega kaasneb suurenev tähtsus karjamaa-raiheina, enim kasutatud mäletsejate söödamoona kohandada muutustega ilmastikutingimustes. Karjamaa raihein ei ole võimeline liigisiselt suguliselt paljunema, mistõttu ei saa selle peal rakendada klassikalisi aretustehnikaid. Genoomi täppismuundamise tehnoloogiate nagu CRISPR/Cas9 abil on aga võimalik lahendada liigisisest sugulisest paljunemisvõimetusel tulenev probleem ning luua külma- ja põuatingimustes paremini toimetulevad taimed. Genoomi täppismuundamise tehnoloogiate tulemuste kontrollimiseks on vaja taimi eelnevalt regenereerida, mis on töömahukas ja ajakulukas. Selle asemel on võimalik polüetüleenglükooliga transformeerides katsetada CRISPR/Cas9 komponentide tõhusust genoomi täppismuundamisel taime protoplastides.

Selle töö eesmärgid olid töötada välja kõrge saagikusega protokoll karjamaa-raiheina mesofüllist protoplastide eralduseks, tõhus protokoll raiheina polüetüleenglükooliga transformeerimiseks ning nende protokollide rakendamine, et katsetada CRISPR/Cas9 gRNAd tõhusust genoomi täppismuundamisel. Selle töö raames tehtud uuring on osa rahvusvahelisest EEA-projektist „Raiheina kohanemisvõime ja vastupidavuse parandamine ohutute ja säästvate toidusüsteemide jaoks CRISPR/Cas9 tehnoloogia abil“, mille eesmärgiks oli tõsta karjamaa-raiheina põua ja külmataluvust paremaks kohanemisvõimeks Põhja-Euroopa kliimatingimustes.

Karjamaa-raiheina protoplastide eralduseks töötati välja kõrge saagikusega protokoll, mille optimeerimiseks kasutati mitmeid meetodeid. Eraldatud protoplastidesse transformeeriti edukalt polüetüleenglükooliga CRISPR/Cas9 kompleksi osi kodeerivad järjestused. Lisaks kinnitati meetodi rakendatavus, et kontrollida gRNAd tõhusust CRISPR/Cas9 kompleksiga genoomi täppismuundamisel. Selles uuringus välja töötatud meetodikat saab rakendada tulevastes CRISPR/Cas9 uuringutes karjamaa-raiheinas.

