

DIPLOMADOLGOZAT

Pance Miklós Álmos
Mezőgazdasági biotechnológus

Gödöllő
2023

A kínai kel narancssárga mutációjának átvitele káposztafélékbe embryo-rescue módszerrel

Pance Miklós Álmos

Mezőgazdasági biotechnológus mesterszak, növénybiotechnológia specializáció

Genetika és Biotechnológia Intézet, Genetika és Genomika Tanszék

Dr. Tóth-Lencsés Andrea Kitti, egyetemi adjunktus, Genetika és Biotechnológia Intézet, Genetika és Genomika Tanszék

Dr. Galli Zsolt, Czinege Dóra, növénynemesítő, Syngenta Kft.

A β -karotin szervezetünk számára nélkülözhetetlen molekula, aminek egészségmegőrző szerepe bizonyított a szív- és érrendszeri betegségek megelőzésében, a nyálkahártya egészségének fenntartásában, a normál látás biztosításában, rendszeres fogyasztása csökkentheti a rák kialakulását. Ezért a magas karotintartalmú zöldségek fogyasztása az egészség megőrzésének szempontjából indokolt. A karfiolban bekövetkezett spontán mutáció következtében létrejött egy narancssárga változat, mely magas karotinoid tartalommal rendelkezik. Keresztezésekkel a gén introgresszálása a fejes káposztába kézenfekvő megoldásnak tűnt, de a növények nagyrészt a torzsában halmoztak fel karotint, a levelekben csak kisebb mértékben. A narancs kínai kelben található mutáns CRTISO1 gén alkalmas lehet az introgresszálásra, mert a belső levelekben halmoz fel karotint, a torzsában nem.

A keresztezéseket követően az O42, O44 és O2 self-ből származó becőkkel végeztük az embriomentést. Tapasztalataink szerint a 14 DAP (days after pollination) vagy annál később elvégzett embriómentések voltak sikeresek. Az ennél rövidebb idő után elvégzett mentésekből származó éretlen magkezdemények nagyon kis arányban csíráztak ki. Az öntermékenyítésből származó kontroll növények nagy arányban csíráztak bizonyítva, hogy az ER táptalaj megfelelően működik ezen hibrideknél. Összesen 22 növényt regeneráltunk, melyek már a korai fenofázisban rendkívül diverz küllemmel bírtak. A növényekből DNS izolálható, amivel a molekuláris vizsgálatokat tudjuk végezni. Kiülteve a következő évi keresztezések alapanyaga válhat belőlük, amennyiben tartalmazzák a számunka fontos narancssárga színért felelős gént. Amennyiben igen, a visszakereszteзések folytathatóak a Bridge növényekkel vagy fejeskáposztával.

A növények kariotípusának meghatározása elengedhetetlen annak érdekében, hogy következtetéseket tehessünk arra vonatkozóan, hogy milyen típusú genomot tartalmaznak. Ennek érdekében kromoszómafestési eljárást dolgoztunk ki. A megfelelő festési technika

mellett, a szinkronizálás is létfontosságú. A kísérlet során sikeresen meghatároztuk a szinkronizáláshoz szükséges időt, így a továbbiakban a mikroszkópos vizsgálathoz megfelelő mennyiségű osztódásban lévő sejtet tudunk biztosítani. Sikeresen azonosítottunk egy sejtet, amelyben a kromoszómák jól láthatóak voltak, azonban egyértelműen nem volt meghatározható a kromoszómaszám, mert nem kizárható, hogy a képen látható kromoszómák egy része átfedésben van. A továbbiakban érdemes lenne egyéb (pl.: FISH), kariotipizálásra alkalmas módszereket kipróbálni. A vizsgálathoz szükséges gyökércsúcsokat in vitro O5-ös növény tenyészetekből kivett és vízben nevelt növényekből nyertük. A továbbiakban a könnyebb, egyszerűbb munka és a nagyobb mennyiségű merisztémaszövet érdekében, érdemes lenne más módszereket fejleszteni a gyökércsúcsok számának és méretének növeléséhez.

PCR vizsgálatokat végeztünk a regenerált növényeken annak érdekében, hogy eldönthessük róluk, hogy részt vehetnek-e a nemesítés további lépéseiben. A reakció során O42 02.22., O42 03. 17., O44 03. 24., O44 04. 12., regenerált növényeket vizsgáltunk. Kontrollként narancssárga kínai kel és káposzta mellett, F1-1, F1-2., hibrid minták szolgáltak. Bra-Or primerpár segítségével vizsgáltuk, hogy a növényünk tartalmazza-e a keresztezések során introgresszálni kívánt narancssárga gént. BolCRTISO1 primert használtunk, ezzel a *B. oleracea* CRTISO1 génjének jelenlétét lehet ellenőrizni. A Bra-Or és BolCRTISO1 markerek segítségével sikeresen bizonyítottuk a gazdaságilag fontos gén jelenlétét a négy regenerált növényekben és a kontroll F1 hibridekben. A BolCRTISO1 primerpár segítségével sikeresen bizonyítottuk, hogy a növényeinkben a mutáns CRTISO1 gén heterozigóta formában van jelen. Továbbá Conserved Ortholog Set (COS) markerekkel elemeztük a felnevelt növények genomösszetételét. A COS primerek közül egy kivételével minden esetben az elvártaknak megfelelően megfigyelhető volt a hibrideknél az A és C genom specifikus fragmentum.