

# Vypracovanie efektívneho systému pre genetickú transformáciu druhu *Rubus fruticosus* L.

Miroslava Latečková, Jana Moravčíková, Gabriela Libiaková, Alena Gajdošová

Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV, Akademická 2, P.O.Box 39A, 950 07 Nitra 1  
*miroslava.lateckova@savba.sk*

Klasické šľachtiteľské metódy sú pri ovocných drevinách limitované ich dlhým reprodukčným cyklom. Využitie genetických transformácií môže zabezpečiť pomerne rýchle získanie žiadanej vlastnosti, čo sa pri klasickom šľachtení vysoko heterozygótnych drevín dosahuje veľmi zdĺhavo. Je predpoklad, že získané transgénne rastliny so stabilnou expresiou transgénu môžu byť ďalej rozmnožované pomocou *in vitro* techník, čo umožní získať veľké množstvo transgénnych rastlín v krátkom čase. Avšak pri ovocných drevinách je genetická transformácia a následná regenerácia transgénnych rastlín limitovaná len na niekoľko druhov alebo genotypov, čo predstavuje vážny problém pri aplikácii biotechnologických metód v šľachtení. Kľúčovým problémom úspešnej genetickej transformácie je regenerácia rastlín z transformovaných buniek vzhľadom na značnú toxicitu antibiotík pridávaných do regeneračných médií s cieľom selekcie transformovaných buniek, ako aj pre značnú genotypovú diverzitu drevín.

Cieľom práce je vypracovať transformačný a regeneračný protokol pre *R. fruticosus*, odrodu "Čačanska bestrna." Listové disky a listové stopky boli jednotlivo transformované pomocou troch rôznych virulentných kmeňov *Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404, AGLO a C58, ktoré niesli binárny vektor *pTS2*, alebo *pCambia1304*. T-DNA oblasť binárneho vektora *pTS2* niesla reportérový  $\beta$ -glukuronidázový gén a selekčný markerový *nptII* gén. T-DNA oblasť binárneho vektora *pCambia1304* nesie fúzovaný reportérový *gus:gfp* gén a selekčný markerový *hptII* gén.

Výsledky ukázali, že proces transformácie je možné dosiahnuť s použitím všetkých troch testovaných kmeňov *A. tumefaciens*, teda aj pomocou menej virulentného kmeňa LBA 4404. Regenerácia transformovaných buniek sa uskutočnila na regeneračnom médiu v prítomnosti antibiotika  $2 \text{ mg L}^{-1}$  hygromycín (*pCambia1304*) respektíve  $3 \text{ mg L}^{-1}$  G 418 (*pTS2*). Regenerované kalusy sme podrobili histochemickej detekcii GUS aktivity, pričom 51.5 % kalusov regenerovaných z listových diskov a 43.2 % kalusov regenerovaných z listových stopiek bolo GUS-pozitívnych. Regenerácia výhonov je v progrese.