



Ledóné Dr. Darázi Hajnalka
Főiskolai docens

Nemesítés és fajtahasználat

Mutációs nemesítés

Jelen tananyag a Szegedi Tudományegyetemen készült az Európai Unió támogatásával.

Projekt azonosító: EFOP-3.4.3-16-2016-00014

Olvasási idő 40 perc

Összefoglalás

A mutációs nemesítés célja a genetikai variabilitás növelése, új örökletes tulajdonságokkal rendelkező növényfajták előállítására. A klasszikus mutációs nemesítési módszerek a 20. század második felében terjedtek el leginkább. Ma a klasszikus módszerek kiegészültek a biotechnológia, molekuláris genetika adta lehetőségekkel a mutációs nemesítés területén is.

Tartalom

- A mutációs nemesítés célja
- A mutáció típusai
- A mutagének csoportosítása
- Az indukált mutáció során felmerülő hátrányok
- A mutációs nemesítés lépései
- A biotechnológia szerepe a mutációs nemesítésben
- A mutációs nemesítés eredményei

Történeti áttekintés

A mutációs nemesítés kialakulásának néhány kiragadott eseménye:

- Az **röntgen vagy X-sugarak mutagén hatását** muslicán (*Drosophila*) Müller fedezte fel, az 1920-as években.
- Az **első mutációt** 1928-ban paradicsom, szója esetében állították elő.
- Az első termesztésbe vont, **mutációs nemesítésből származó fajta** dohány volt, 1934-ben.
- A mutációs nemesítést **főként 1970-es évektől használták**, elsősorban gabona félék, borsó, gyümölcsfák, dísznövények nemesítéséhez.
- A legjelentősebb **mutációs eredetű féltörpe búzafajták** voltak, amelyek elindították a „Zöld forradalmat”.

Hazánkban az **1960-as évektől** folytak intenzív indukált mutációs kutatások.

A mutációs nemesítés célja

- A fajok **termesztési tulajdonságainak megváltoztatása**, mint érés, télállóság, szár stabilitás, termés minőség (fehérje tartalom).
- **Új változatok** létrehozása a **dísznövényeknél**.
- Növelni a **genetikai változatosságot**: **új allélek** létrehozása.

Az **eredetük szerint, a mutáció** lehet **spontán- természetes vagy mesterségesen indukált**. A **spontán mutációk gyakorisága** nagyon alacsony, kb. 10^{-5} vagy 10^{-6} egy generációban a szervezet minden lokuszára vonatkoztatva. (Azaz 1 a 100 000 vagy 1 a 1 000 000 arányban hordozhat a gaméta mutációs eredetű új allélt bármelyik lokuszon.)

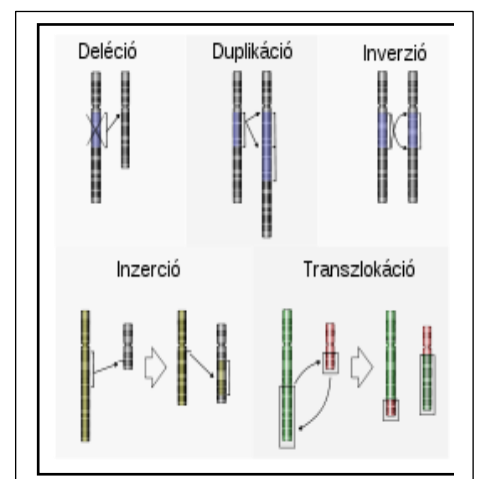
Mutáció fogalma a genotípus, (tágabb értelemben a citoplazma is) genetikai anyag maradandó, öröklődő megváltozása.

A mutáció típusa a kromoszóma megváltozása szerint:

- **Kromoszómamutáció (makro)**: durva, általában mikroszkóppal is felismerhető változás a kromoszómákban (deléció, duplikáció, inverzió, transzlokáció).
- **Pontmutáció (mikro)**: a génen belül bekövetkezett molekuláris szintű változás.
- **Ploiploidizáció**: a teljes kromoszóma szám sokszorozódása
- **Extranukleáris** mutációk: citoplazmában, kloroplasztisban, mitokondriumban.

Makromutáció → **minőségi tulajdonságokat** (kvalitatív), érint, biztosan felismerhető a növényen (pld.sterilitás) Keresztezési partnernek alkalmazzák, pld. Törpe cirok. Spontán recesszív mutáció- kukorica „ waxy” , keményítő változat - csak amilopektinből áll.

Mikromutáció (pont mutáció) → kis hatású, főleg **menyiségi jelleget érint**. Csak mérésrel, az adatok biometriai értékeléssel azonosíthatók. A nemesítésben hasznosabbak.



Átöröklés szerint:

Domináns génmutáció → (aa→Aa or aa→ AA), ritkán fordul elő, de azonnal megfigyelhető.

Recesszív génmutáció → (AA→Aa or AA→aa), heterozigóta állapotban nem, de öntermékenyítés utáni nemzedékben látható. A homozigóta mutáció nagyon ritka. Ha a mutáció szomatikus sejtkben megy végbe, csak az abból fejlődő rész fogja hordozni.

Mutációk mutagénekkel indukálhatók**- Fizikai mutagének**

▪ **ionizáló sugárzások** (hatékonyságuk sorrendjében: X-, γ -, β -, neutron- és α -sugárzás) → kromoszóma- és pontmutációkat okoz. A kívánt dózist pontosan ki lehet juttatni. Kezelhető mag, egész növény, pollen, hagyma, gumó vagy nyugvó rügy.

▪ **nem ionizáló sugárzás** (ultraibolya sugárzás, UV) → elsősorban pontmutációkat okoz. Pollen és *in vitro* kultúrák kezelésére, lassan hatol a szövetekbe.

Sugárkezelések ún. **sugárkertekben** történnek:

▪ **Akut** (nagy sugárdózis, rövid idő)

kezelések → magvak, pollen

▪ **Krónikus** (kisebb sugárdózis)

kezelés → az egész tenyészidőre kiterjedhet.

- Kémiai mutagének

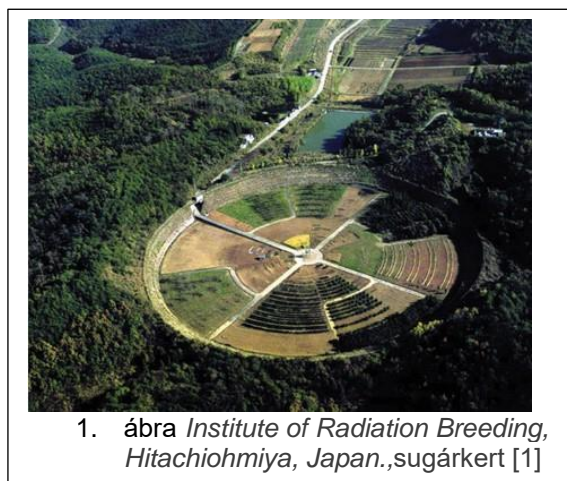
Oldatok formájában alkalmazzák.

A nemesítésben általában **alkiláló vegyületeket** használnak

(etil-metán szulfonát - EMS, etilén-imin –

EI, nitroso-etil-urea - NEU stb.) → pont- és kromoszóma-mutációkat okoz.

Kémiai mutagénekkel általában magvakat, rügyet vagy gyökeret kezelnek.



1. ábra Institute of Radiation Breeding, Hitachiohmiya, Japan., sugárkert [1]

A mutációk indukálásával kapcsolatban felmerülő problémák

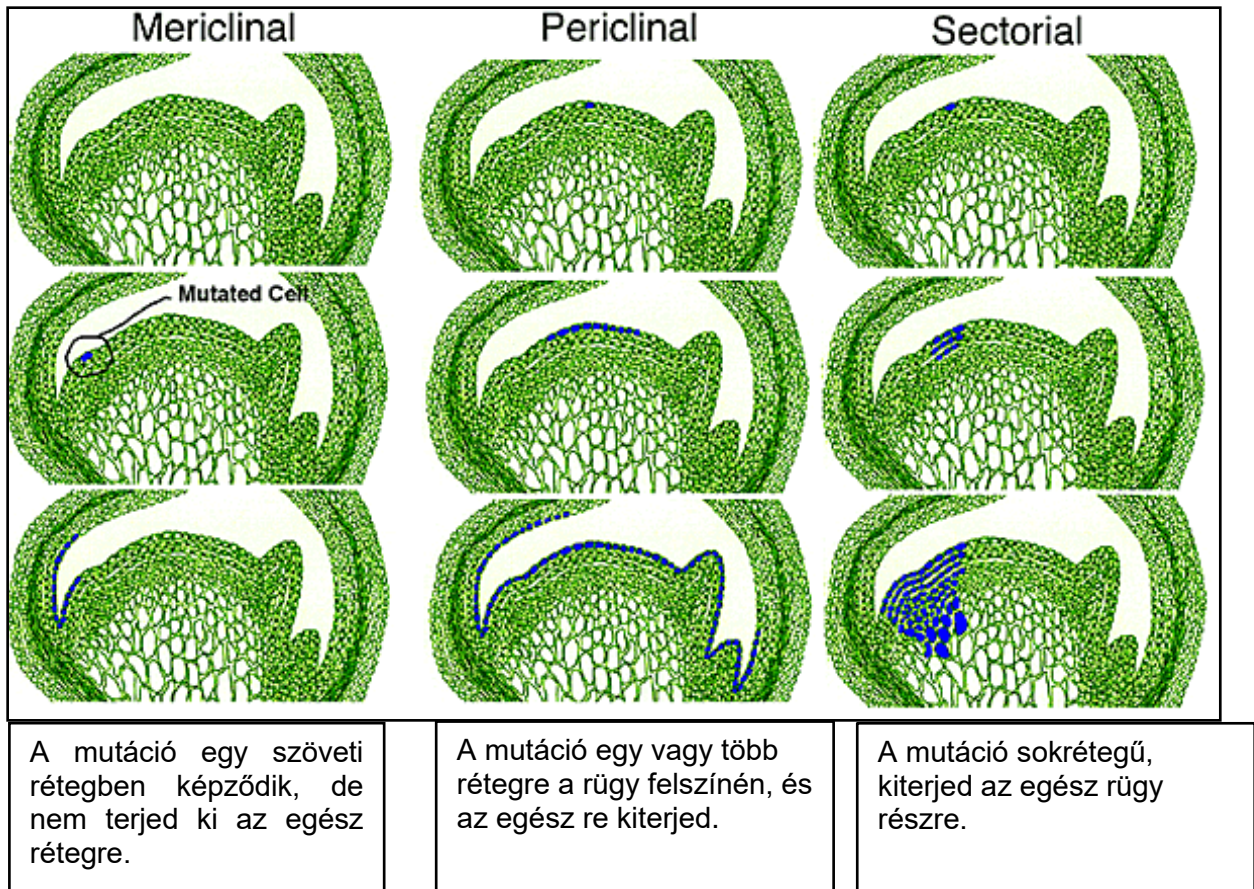
A **hatékonyság fokozása**, nagyobb mutációs ráta elérése a kedvezőtlen élettani és genetikai változások elkerülésével. Hatékonyságot befolyásoló tényezők (pl. élettani, genetikai jellemzők) mutagén, dózis, kezelési mód meghatározása.

A mutációk **irányíthatósága**, specifikussága. A klasszikus mutációs nemesítésnél a kezelés hatása nem irányítható (kémiai mutagéneknél bizonyos mértékű specifikusság).

Kimérák megjelenése.

Kiméra: genetikailag eltérő sejtekből, szövetekből álló növény. Kialakulásuk: többsejtes szövetek mutagén-kezelése esetén csak a sejtek egy részében megy végbe mutáció. (2. ábra)

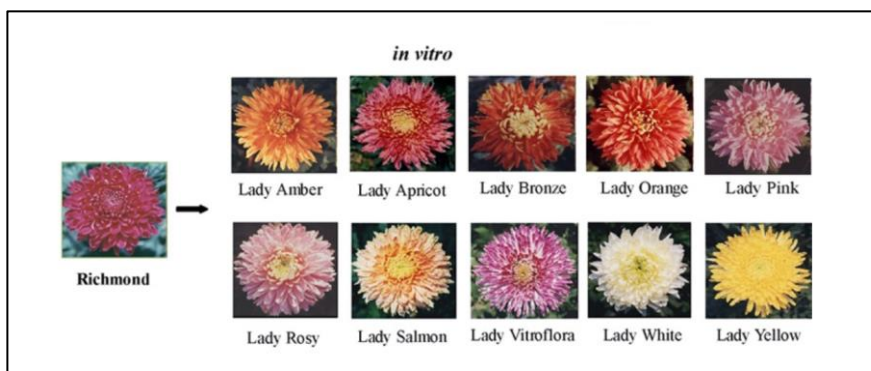
A generatív szervekben jelentkező kiméra befolyásolja a mutánsok szelekciójának hatékonyságát. A *kimérák kiküszöbölése*: többsejtes szövetek helyett egyetlen sejt (gaméták, zigóta, járulékos rügy stb.) kezelése.



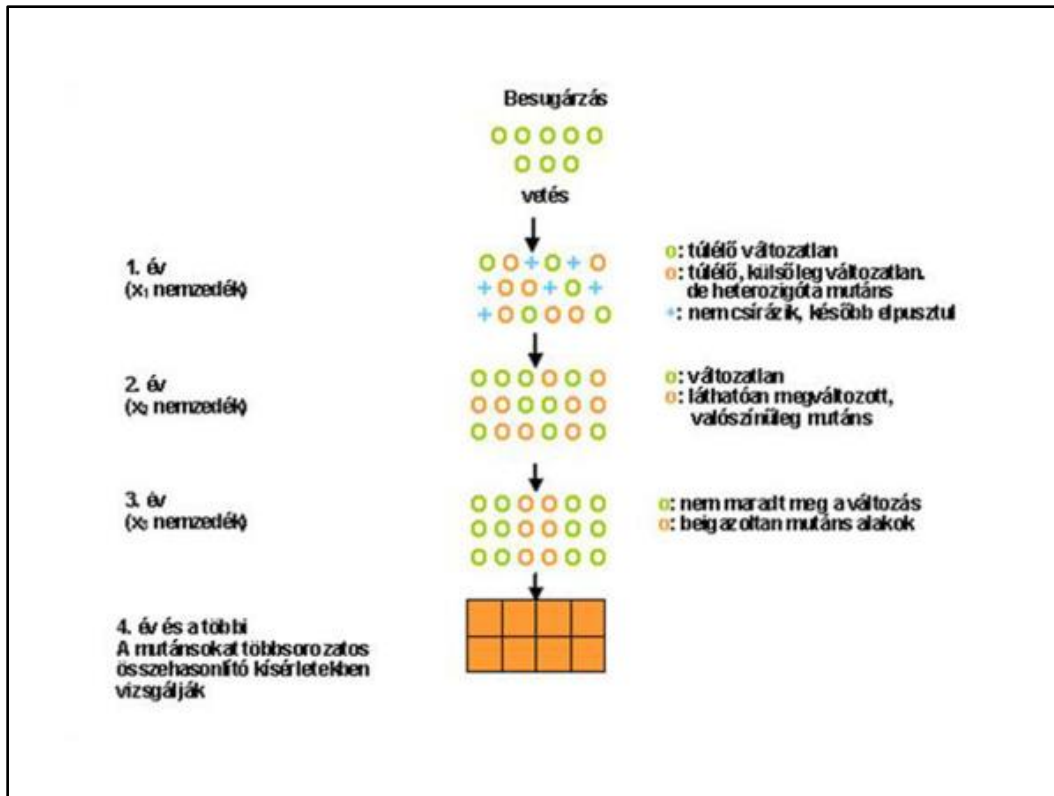
2. ábra Kimérák fejlődés és típusai [2]

Tényezők hatása a mutagén kezelésre, a mutáció sikerére

- Egy jól körül határolható *cél kitűzése*.
- Hatékony *értékelési módszer*, a vizsgálat kellően nagy populációra terjedjen ki.
- A megfelelő *mutagén eszköz és kezelés* alkalmazása.
- A megfelelő *dózis és kezelési idő* tartam megválasztása (rövid- nagy dózis vagy hosszú alacsony dózis), a túl magas dózis elpusztítja a szöveteket. Három koncentráció alkalmazása célszerű.
- Megfelelő *kísérleti körülmény* biztosítása:
 - a növényi rész oxigén ellátottsága befolyásolja a mutagén által okozott károsítást
 - a kezelt szövetek nedvességtartalma
 - kémiai mutagének esetén- a hőmérséklet és pH.



In vitro mutagenézissel, ionizáló sugárzással előállított *Chrysanthemum* fajták [3]



3. ábra A mutációs nemesítés vázlata (Pepó, 2011)

A mutagénnel kezelt nemzedék: M_1 (kémiai mutagén esetén a kezelt mag az M_0 , a kikelt növény az M_1)

Tapasztalatok szerint a klorofill-mutánsok arányából következtetni lehet az egyéb mutációk arányára. A mutációt mutató egyedek további szelekciója a hagyományos nemesítési módszerekkel, a faj termékenyülési viszonyának megfelelően (bulk, SSD (egy mag módszer), pedigré) történik.

A mutációs nemesítési technológia korlátjai

- *Kapcsolódó kedvezőtlen mellékhatások*- a kedvező mutációval rendelkező növény mindig hordoz több előnytelen öröklődő változást is, pld. sterilitás.
- A hasznos mutáció megőrzéséhez az új mutáns növényt egy *stabil genetikai háttérű egyeddel* kell keresztezni.
- *Nagy hasadó populációra van szükség*- a morfológiai változásokat könnyű tesztelni.
- A *sok tényezős* változások *tesztelése nehéz*, idő igényes és drága.
- *Recesszív mutáns*- csak homozigóta állapotban vehető észre.
- *Mutáció általában esetleges*- a klasszikus mutációs folyamat kiszámíthatatlan.

Mutációs nemesítés lépései magról szaporodó növényfajoknál

M ₀	Magkezelés fizikai vagy kémiai mutagénekkel
M ₁ Nagy egyedszám	Növénynevelés izolált körülmények között, portok kultúra indítása DH (double haploid) növények előállítására, domináns tulajdonságok szelekciója.
M ₂	Mutánsok kiválogatása, öntermékenyítése, a mag begyűjtése a mutáns növényekről. Makro mutánsok szelekciója
M ₃	Mutánsok kiválogatása, öntermékenyítése, a mag begyűjtése a mutáns növényekről. Mikro mutánsok, poliploidok szelekciója.
M ₄	Mikro mutánsok, poliploidok szelekciója. Agronómiai értékelés, az ígéretes vonalak szaporítása.
M ₅₋₈	A stabil vonalak összehasonlító vizsgálata tájkísérletben.
M ₉	A mutáns fajta bejelentése országos kísérletbe.
<p>A szelekció ideje függ attól, hány utódot lehet felnevelni az egyes nemzedékekben:</p> <p>M₁- 1-2 mag → szelekció kezdete később M₄ generációban.</p> <p>M₁- 3-4 mag → szelekció kezdete már az M₂ generációban</p>	

1. táblázat Mutációs nemesítés lépései, magkezelésnél (Hajósné, 2007a)

Példa (Dudits, 2019)

A *Gödöllői Egyetem Növénynevelési Tanszékén*, Bálint Andor vezetésével kukorica, borsó, szója növények mutációs nemesítése folyt az 1960-as évektől.

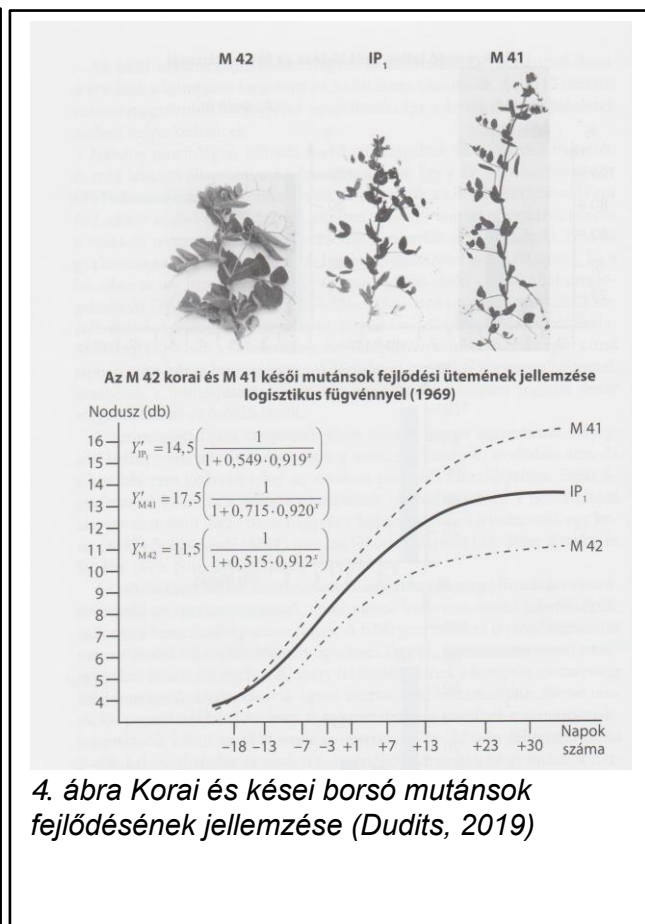
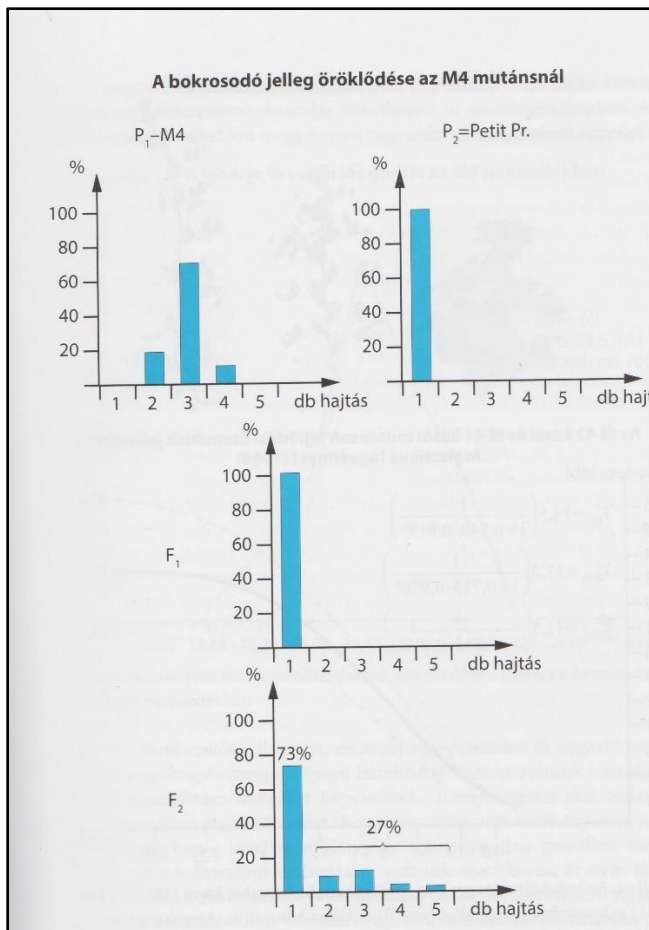
A *borsó* esetében *egy étkezési* ('Petit Provençal') és *egy takarmányborsó* fajtát ('Iregi P1') *magjait röntgen vagy gamma sugárzásnak* vetették alá. A mutánsok számát a csírázó magvak kintin hormonos kezelésével sikerült növelni. A morfológiai mutánsok esetében vizsgálták az öröklődést, F₂ nemzedék hasadási aránya 3:1, így a mutáns változatot *egyetlen recesszív gén*, makromutáns okozta. (3. ábra)

A *takarmányborsó* esetében az indukált mutáció *korai (M42) és kései (M41) változatokat* eredményezett a kiindulási fajtához hasonlítva (IP1). A 4. ábrán a nóduszszám alapján számított logisztikus függvények jól jellemzik a növények fejlődési ütemét.

A *fehérjetartalomra* komplex mennyiségi tulajdonság, változását értékelték a makromutánsokban. Az M44 mutáns 26-27%-os fehérjetartalma 2-4 %-kal meghaladta az eredeti fajta értékét, azonban a parcella fehérje- és termés hozama 20 %-kal

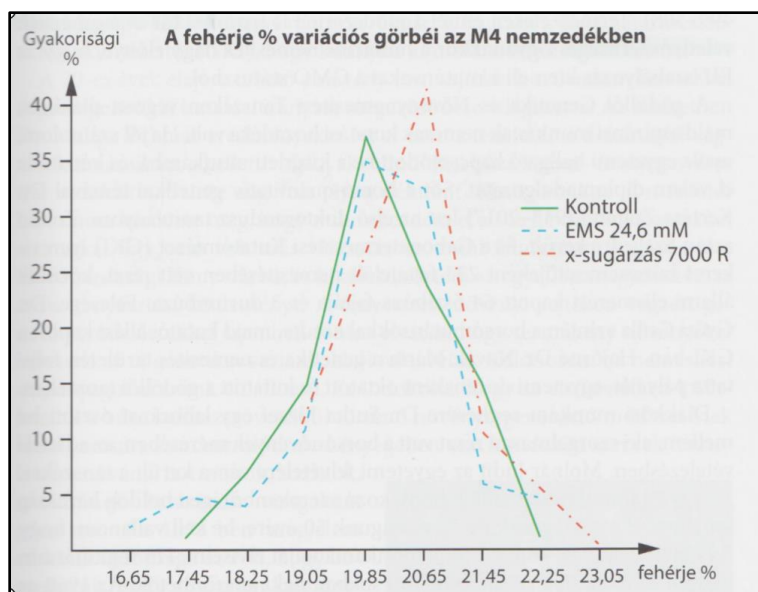
alacsonyabb volt a mint az IregiP1 fajtáé. Nem sikerült makromutációs változással megtörni a fehérje- és terméshozam közötti negatív korrelációt.

A *mennyiségi tulajdonságok* populáció szintű változékonyságának értékelésekor a *negyedik generációban (M4)* a mutagén kezelésekre *pozitív* irányú *eltolódás* következett be *az átlagértékekben* (5. ábra).



4. ábra Korai és kései borsó mutánsok fejlődésének jellemzése (Dudits, 2019)

3. ábra A bokrosodási mutáció hasadása a vad típusú növényvel történt keresztezés után (Dudits, 2019)



5. ábra A fehérjetartalom variabilitásának növekedése a mutagén kezeléseket követő M4 nemzedékben (Dudits, 2019)

A klasszikus mutációs nemesítés eredménye

Az 1970-es évek óta **több, mint 2000 minősített fajta** született a mutációs nemesítés módszereivel. Az elért **tulajdonságok**, morfológiai változatok, termőképesség, minőség, ellenálló-képesség javítása, a tenyészidő-hossza megváltoztatása. A legtöbb mutáns **fajtát** Kínában állították elő **rizs, gyapot és búza** esetében. Szlovákiában valamennyi **sörárpa** fajta mutációs nemesítésből származik. Olaszországban **durum búza** szárszilárdságra nemesítése mutáció eredménye. Hollandiában, Németországban elsődleges módszer a **dísznövény** nemesítésben. Indukált mutáció **speciális feladatokra** történt, mint az ivaros indukálása **apomiktikus** fajoknak (citrusok), **haploidok** létrehozása, **öninkompatibilitás** megszüntetése. Bár napjainkra, a molekuláris biológiai, biotechnológiai módszerek előretörésével, a mutációs nemesítés látszólag veszített jelentőségéből, alkalmazásával az utóbbi tizenöt évben is több mint 1000 fajtát hoztak létre.

Betegség ellenállóság	<i>Verticillium</i> , peronoszpóra
A növény struktúra változása	Csokros növekedés, törpe mutáns
A beltartalmi értékek változása, javulása	'Opaque' endospermium kukoricában
Kémiai összetétel változása	Alacsony erukasav tartalom a repce magban
Hímsterilitás	Különböző fajokban hibrid fajták előállítására
Dísznövények új variánsai	Levél és virág mutánsok
A vegetatívan szaporított növényeknél	Sok fajnál és tulajdonságnál
Genetikai alapanyag fejlesztése	
Korai érés	Sok fajnál

2. táblázat Mutációs nemesítés célja és eredményei (Acquaah (2012))

A biotechnológiában alkalmazott irányított indukált mutáció

Az *in vitro* tenyésztett növényi sejtek a mutáció szempontjából egy hatalmas populáció egyedeinek tekinthetők, lehetőség nyílik a **kis gyakorisággal megjelenő mutáns sejtek szelektálására**. Az *in vitro* fenntartott sejtek esetében **nagy a szomaklonális variációt** okozó genetikai változások száma, a mesterséges tenyésztés önmagában is mutagén hatással bír.

Lehetőség van **szelektációs nyomás alkalmazására**, a szelektív táptalajon túlélő sejtek rezisztensek lesznek, növények regenerálhatók. Az *in vitro* mutánsizolálás hátránya, hogy csak olyan tulajdonságoknál lehetséges, amelyek sejt szinten is megnyilvánulnak, **komplex tulajdonságok szelektálására nincs mód** (tenyészidő, szemtermés).

Az agronómiai szempontból **legjelentősebb *in vitro* mutánsizolálás a herbicidrezisztencia és a stresszrezisztencia** (abiotikus, biotikus) szembeni ellenállóságra szelektálás.

A **vegetatív úton szaporított növényfajok** esetében is, mint pld. **dísnövények** nagy jelentősége van az *in vitro* szelektációs módszereknek.

Ajánlott olvasmányok

<https://www.atomicgardening.com/2017/01/01/yes-atomic-gardens-still-exist-today/>

Források

- Dudits Dénes (2019): *A bő termés biológiája, A precíziós növénynevelés alapjai*. Mezőgazda Lap-és Könyvkiadó. 204p. ISBN 978-963-286-743-4
- Monostori Tamás (2004): *Növénytermesztés I. A növénynevelés és vetőmagtermesztés alapjai*. SZTE Mezőgazdasági Kar, Hódmezővásárhely. Jegyzet, 133 p.
- Pepó Pál (2011): *Növénynevelés*. DE, NYME, PE. http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0010_1A_Prez_07-Novenyneveles/adatok.html
- Hajósné Novák Márta (2007a): *A növénynevelés alapjai, Jegyzet, SZIE Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Genetikai és Biológia Intézet*, 101p.
- Hajósné Novák Márta (2007b): *Kertészeti növények nevelésének alapjai, Jegyzet, SZIE Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Genetikai és Biológia Intézet*, 110p.
- George Acquaah (2012): *Principles of Plant Genetics and Breeding*, John Wiley & Sons Ltd. 740p.

- [1] <https://www.atomicgardening.com/2017/01/01/yes-atomic-gardens-still-exist-today/>
[2] Dan Lineberger, *aggie-horticulture.tamu.edu/syllabi/201h/lec/outlines/chimeralec/chimeras.html*

Ellenőrző kérdések

1. *A mutáció és a mutagén fogalma.*
2. *Részletezze a mutáció típusokat a genomban bekövetkező változások szerint!*
3. *Mi a következő szimbólumok magyarázata: M_0 , M_1 , M_2 , M_{3-n} ?*
4. *Milyen tényezők befolyásolják a mutáció hatékonyságát?*
5. *Foglalja össze az indukált mutáció során felmerülő problémákat!*
6. *Milyen példákat ismer a sikeres klasszikus mutációs nemesítői tevékenységre?*
7. *Milyen szerepe van az *in vitro* tenyészeteknek a mutációs nemesítésben?*