

UDK: 631.524: 633.11

GENETIČKE TRANSFORMACIJE FAMILIJE BRASSICACEAE

SRETENOVIĆ RAJIČIĆ TATJANA¹, VINTERHALTER BRANKA²,
IVANČEVIĆ MIRJANA¹, SUŠIĆ Z.¹, PAVLOVIĆ N.¹

IZVOD: Kupusnjače (*Brassicaceae*) su ekonomski veoma značajna familija biljaka. U poslednjih trideset godina jako mnogo se radi na poboljšavanju karakteristika vrsta roda *Brassica*. Među novijim metodama koje se koriste u oplemenjivačke svrhe na kupusina jesu i tehnike genetičkog inženjerstva. Cilj ovog rada bio je da razmotri transformacije kupusnjača, prikaže preliminarne rezultate dobijene u našoj laboratoriji, gde je izvršena inokulacija nekoliko genotipova roda *Brassica*. Korišćen je soj *A. tumefaciens* koji nosi bar gen za rezistenciju na herbicid Basta, kao i gen za rezistenciju na kanamicin (*nptII*) i reporter gen za -glukuronidazu (*GUS*). U radu je dat i osvrt na svrsishodnost transformacija *Brassicaceae*, kao i na eventualne rizike koje korišćenje transgenih kupusa nosi.

Ključne reči: kupusnjače, genetičko inženjerstvo, *A. tumefaciens*, transgeni

UVOD: Razvoj biotehnologije doveo je do primene čitavog niza novih metoda u oplemenjivanju gajenih biljaka. Tri faktora bitno limitiraju efikasnost tehnika klasičnog oplemenjivanja: problemi kompatibilno-inkompatibilnih odnosa, stabilnost i dužina trajanja oplemenjivačkog ciklusa. Biotehnologija omogućava da se neki od ovih problema brže i lakše prevaziđu. Tehnike genetičkog inženjerstva su trenutno veoma zastupljene i intenzivno korišćene, kako u naučne, tako i u praktične svrhe.

Genetičko inženjerstvo je manipulisanje genetičkim sastavom organizama u cilju »premeštanja« odgovarajućih osobina i dobijanja željenih kombinacija gena. Odnosi se, uglavnom, na dobijanje rekombinantne DNK, u kojoj se u jednom molekulu nalaze fragmenti DNK iz različitih izvora (Dumanović i sar., 1994). Genetičko inženjerstvo biljaka omogućava poljoprivredi, prehrambenoj, hemijskoj i farmaceutskoj industriji da razviju nove proizvode i tehnološka rešenja. Vreme potrebno za dobijanje novih sorti i hibrida različitog gajenog bilja se bitno skraćuje korišćenjem tehnika genetičkog inženjerstva (Dozet i sar., 1995).

Jedan od prvih ciljeva koji je postignut korišćenjem rekombinantne DNK za poboljšavanje karakteristika gajenih biljaka, bio je konstruisanje biljaka otpornih na herbicide širokog spektra (Goodman et al., 1987). Stvaranje otpornosti biljaka prema

insektima je takođe jedan od ciljeva pri stvaranju transgenih biljaka (Metz et al., 1994, Mladenović-Drminić i Drminić, 1998), kao i razvijanje otpornosti na neke viruse (Passelegue and Kerlan, 1996). Genetičke transformacije se danas koriste i u cilju proučavanja genetičke strukture i regulacije genske ekspresije.

Transformacije vrste *Brassica oleracea*

Brassica oleracea je visoko polimorfna vrsta u koju spada veliki broj vrlo važnih povrtarskih kultura (Basset, 1986). Ekonomski najznačajnije su kupus (*Brassica oleracea* var. *capitata*), karfiol (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), kelj (*Brassica oleracea* var. *sabauda*), kelj pupčar (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*), raštan (*Brassica oleracea* var. *acephala*), brokoli (*Brassica oleracea* var. *botrytis* subvar. *cymosa*). Genetičke transformacije roda *Brassica* započete su još sredinom osamdesetih godina. Tehnike izvođenja transformacije su različite. Prve transformacije su vršene putem *Agrobacterium tumefaciens*, korišćenjem onkogenih i takozvanih »disarmed« konstrukata, kako na vrsti *Brassica napus* (Pua et al., 1987, Fry et al., 1987, Radke et al., 1988), tako i na vrsti *Brassica oleracea* (Holbrook and Miki, 1985, Srivastava et al., 1988, Toryama et al., 1991). Uspešne transformacije su vršene i direktnim transferom DNK (Neuhaus et al., 1987, Chapel and Glimelius, 1990). Međutim, u okviru roda *Brassica*

Izvorni naučni rad (Original scientific paper)

¹ Mr TATJANA SRETENOVIĆ RAJIČIĆ, istraživač-saradnik, mr ZORAN SUŠIĆ, istraživač-saradnik, mr NENAD PAVLOVIĆ, istraživač-saradnik, dipl. ing. MIRJANA IVANČEVIĆ, Institut za istraživanja u poljoprivredi Srbije, Centar za povrtarstvo, Smederevska Palanka

² Dr BRANKA VINTERHALTER, naučni saradnik, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković, Beograd

do 1991. godine normalne fertile biljke su dobijene samo kod *B. napus* (Mukhopadhyay et al., 1991).

Dosadašnja istraživanja su pokazala da postoji dosta problema u izvođenju transformacija kod *B. oleracea*, jer se pojavljuje varijabilnost u uspešnosti transformacije između genotipova, kao i unutar genotipa. Za uspešno transformisanje ove vrste, naročito kada se radi o kupusu, potrebno je dosta rada i veštine, jer se javlja mali procenat regenerisanih biljaka iz transformisanog tkiva. Protokol pogodan za transformacije jednog genotipa ne mora biti adekvatan i za regeneraciju biljaka kod drugog genotipa iste vrste i varijeteta.

Obzirom na navedeno, imajući u vidu značaj osvajanja metode genetičkih transformacija, u našoj laboratoriji započelo se sa istraživanjima mogućnosti transformacije povrća roda *Brassica*. Ogledi se vrše sa ciljem iznalaženja najadekvatnijih metoda za transformacije kupusnjača koji bi dali dobru regeneraciju transgenih biljaka, uz pokušaj razmatranja svrsishodnosti ovakvih metoda u oplemenjivanju.

U ogledu je korišćeno četiri genotipa vrste *Brassica oleracea*: dva kupusa (linije Ppl 14 i Pb 15 visoke inbred generacije), linija kelja Gg 1 i karfiola Sn 1, kao i jedna linija *B. napus*, BnS3. Kao eksplantati koje smo inokulisali poslužili su hipokotili i kotiledoni klijanaca. Površinska sterilizacija i sterilno isključavanje semena su izvršeni po ranije ustanovljenoj metodi (T. Sretenović Rajičić, 1996). Klijanje semena, kao i rast kultura su se odvijali u komori za rast biljaka, na temperaturi 22,2°C, pri svetlosnom režimu dugog dana (16 h dan / 8 h noć) i intenzitetu svetlosti od 3000 lux-a. Soj *A. tumefaciens* koji je korišćen u ogledu je LBA4404, sa plazmidom pGKB5 (Bouchez et al., 1993), koji nosi gen za otpornost na totalni herbicid Basta (bar), kanamicin (npt II) i reporter gen za -glukuronidazu (GUS)*.

Inokulacija eksplantata vršena je potapanjem u bakterijsku suspenziju raslu preko noći na 28° C u tečnom YEB medijumu. Eksplantati su po inokulaciji postavljeni na regenerativni medijum koji je sadržao 0.64% agar, mineralne rastvore i vitamine po Murashige i Skoogu (1962), 2% saharozu, 0.01% mio-inozitol, sa dodatkom različitih kombinacija hormona BAP, KIN, IBA** (Tab. 1). Kokultivacija je

trajala 48 sati i nakon toga eksplantati su prenešeni u isti regenerativni medijum sa dodatkom 500 mg l⁻¹ Tolycara (Jugoremedija, Zrenjanin), sa ili bez 25 mg l⁻¹ Kanamicina (SIGMA, USA).

* Konstrukt dobijen zahvaljujući dr Davidu Bouchezu, INRA, Laboratoire de Biologie Cellulaire, Versailles, Francuska

** KIN = 6-furfurilaminopurin; BAP = 6-benzilaminopurin; IBA = indol-3-buterna kiselina

Prvi pupoljci pojavili su se 18 dana po inokulaciji. Regenerisani pupoljci su prenošeni na medijum sa ili bez kanamicina, sa BAP 0.1 mg l⁻¹ i IBA 0.02 mg l⁻¹. Po testiranju na prisustvo bakterije otiskivanjem u YEB medijumu, pupoljci su testirani na prisustvo GUS gena upotrebom GUS esejja (Jefferson 1987). Identifikacije transgenih biljaka na nivou DNK su u toku.

Tab. 1. Kombinacije hormona za indukciju pupoljaka iz segmenata hipokotila i kotiledona klijanaca

Tab. 1. Hormone combinations used for shoot induction from segments of hypocotyls and cotyledons

BAP	KIN	IBA
1,0	-	0,5
0,5	-	0,1
-	2,0	1,0
-	1,0	0,5
-	0,5	0,1
-	0,5	0,2
-	0,5	-

Uspešnost regeneracije inokulisanih eksplantata

Od svih regenerativnih medijuma kao najadekvatniji se pokazao medijum sa dodatkom BAP 1 mg l⁻¹ i IBA 0.5 mg l⁻¹. U Tabelama 2 i 3 je pokazana uspešnost regeneracije iz inokulisanih eksplantata. Broj pokrenutih eksplantata je veći kod inokulisanih kotiledona, nego kod hipokotila. Na slikama 1 i 2 su pokazani regenerisani pupoljci indukovani iz kotiledona i hipokotila, nakon mesec dana na selektivnom medijumu. Najveći broj indukovanih pupoljaka je dobijen kod kotiledona kelja Gg 1 i kupusa Ppl 14 na neselektivnom medijumu (bez kanamicina), a najmanji kod kupusa Pb 15 na selektivnom medijumu sa kanamicinom. Najbolja

Tab. 2. Uspešnost regeneracije pupoljaka iz inokulisanih kotiledona nakon 35 dana na podlci sa BAP 1.0 i IBA 0.5 mg l⁻¹

Genotip	Broj eksplantata	Kanamicin (25mg l ⁻¹)	Kotiledoni sa regenerisanim pupoljcima (%)	GUS - pozitivni Pupoljci (%)
Ppl 14	430	-	46,5	31,0
Pb 15	295	-	12,2	8,9
	347	+	2,0	1,5
Gg 1	360	-	64,7	-
	312	+	22,2	-
Sn 1	212	-	17,6	16,7
BnS3	375	-	3,9	28,2

Tab. 3. Uspešnost regeneracije pupoljaka iz inokulisanih hipokotila nakon 35 dana na podlozi sa BAP 1.0 i IBA 0.5 mg l⁻¹
 Tab. 3. Shoot regeneration from inoculated hypocotyls after 35 days on BAP 1.0 and IBA 0.5 mg l⁻¹

Genotip	Broj eksplantata	Kanamicin (25mg l ⁻¹)	Kotiledoni sa regenerisanim pupoljcima (%)	GUS - pozitivni Pupoljci (%)
Ppl 14	463	-	15,5	10,3
Pb 15	229	-	8,3	5,2
	292	+	6,2	4,6
Gg 1	422	-	16,0	-
	391	+	8,8	-
Sn 1	318	-	1,7	1,5

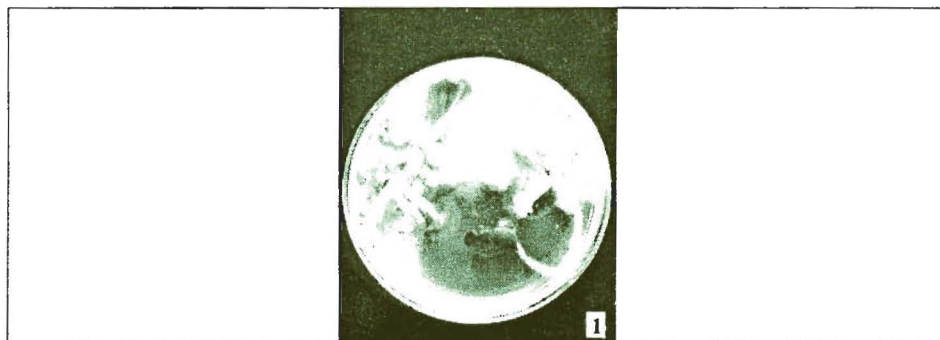
regeneracija pupoljaka na inokulisanim hipokotilima je kod uljane repice BnS3 (18.6%), a najlošija kod linije karfiola Sn 1 (1.7%). Osim kod kelja, svi dobijeni pupoljci su pokazali GUS pozitivnu reakciju (Tab. 2 i 3), kao i rast u medijumu sa 25 i 50 mg l⁻¹ kanamicina (sl. 3), što je najverovatnija indikacija da su biljke transformisane.

Rezultati ostalih autora takode pokazuju da je obično veći procenat regenerisanih pupoljaka kod kotiledona, nego kod hipokotila. To se pre svega objašnjava činjenicom da je bakterijska infekcija intenzivnija kod isečaka hipokotila i samim tim oštećenje tkiva veće, pa i regeneracija manja (Babic et al., 1998). Daleko veći broj regenerisanih biljaka se dobija ukoliko se eksplantati po

kokultivaciji ne stavljaju odmah na selektivni medijum. Naši rezultati pokazuju da i pupoljci rasli na neselektivnom medijumu daju GUS pozitivnu reakciju (Tabele 2 i 3). Ovo ukazuje na to da ne treba odmah ici sa selekcijom klonova, dok se biljke malo ne oporave od stresa inokulacije sa *A. tumefaciens*. U tri od pet ponavljanja koliko je urađeno, regenerativni medijum je imao 200 mg l⁻¹ Tolycara umesto 500 mg l⁻¹, koliko preporučuju drugi autori. Pokazalo se da je i ova koncentracija dovoljno visoka za oslobađanje biljaka od *Agrobacteriuma*. U svakom narednom pasažu Tolycar je smanjivan, a nakon trećeg pasaža biljke su rasle u medijumu bez ovog antibiotika. Smanjenje koncentracije hormona BAP sa 1.0 na 0.1 i IBA sa 0.5 na 0.02 mg l⁻¹ se pokazalo kao dobro za rast regenerisanih pupoljaka (sl. 3).

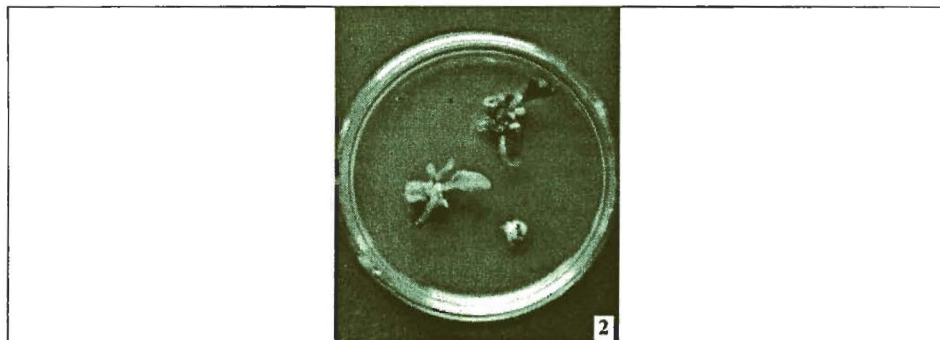
Sl. 1. Pupoljci regenerisani iz kotiledona, nakon 35 dana na medijumu sa BAP 1.0 i IBA 0.5 mg l⁻¹

Fig. 1. Shoots regenerated from cotyledons, after 35 days on medium with BAP 1.0 and IBA 0.5 mg l⁻¹

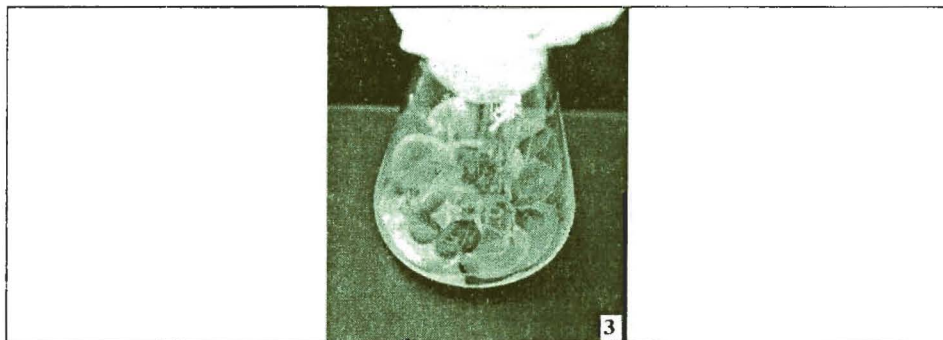


Sl. 2. Pupoljci regenerisani iz hipokotila, nakon 26 dana na medijumu sa BAP 1.0 i IBA 0.5 mg l⁻¹

Fig. 1. Shoots regenerated from hypocotyls, after 26 days on medium with BAP 1.0 and IBA 0.5 mg l⁻¹



Sl. 3. Sl. 3. Regenerisani pupoljci kupusa Ppl 14, na medijumu sa BAP 0.1, IBA 0.02 i 25.0 mg^l Kanamicina
Fig. 3. Regenerated shoots of cabbage Ppl 14, on medium with BAP 0.1, IBA 0.02 and 25 mg^l Kanamycin



što je u korelaciji sa do sada objavljenim podacima (De Block et al., 1989).

Očigledno je da kod genotipova koje smo koristili u eksperimentu moguće pokrenuti pupoljke po inokulaciji hipokotila i kotiledona. Konačna determinacija uspešnosti transformacije na nivou DNK je u toku, a preliminarni rezultati govore da se radi o transformisanim klonovima. Negativna reakcija na GUS esej kod kelja ukazuje da se najverovatnije radi o pupoljcima koji su uspeali da izbegnu («escapes») selektivni pritisak, jer su se razvili iznad medijuma, te je deo njih dao regenerante koji nisu transformisani (Babic et al., 1998). Vidi se da postoje razlike između ispitivanih genotipova u pogledu uspešnosti regeneracije. Podaci iz literature ukazuju da je to slučaj sa velikim brojem različitih *Brassica* i da i u okviru istog varijeteta kod različitih genotipova može doći do različitih reakcija, kao što je kod nas slučaj između Ppl 14 i Pb 15 (Puddephat et al., 1996). Razlike u transformacionom protokolu su takođe već opisane (Berthomieu et al., 1994).

Rizici koje transformacije kupusnjača nose

Najčešće postavljano pitanje danas vezano za transgene biljke, pa i transgene kupuse, jeste svrsishodnost ovakvih eksperimenata sa aspekta rizičnosti metode po zdravlje ljudi. Intenzivno se razmatraju i rizici vezani za ekološki aspekt problema. Ukoliko posmatramo eventualnu proizvodnju semena transgenog povrća, postavlja se pitanje rizika prenošenja transgenog polena na biljku koja se može naći u ekosistemu i ukrstiti sa transgenom biljkom, što je kod kupusa osobito interesantno jer u našoj flori ima srodnih divljih vrsta iz familije *Brassicaceae* (Josifović, 1972).

Veliki broj radova je razmatran na ovu temu, gde je praćen obeležen transgeni polen i mogućnost njegovog prenošenja u krugu od 10 i više metara (Rogers i Parkes, 1995). Mogućnost ukrštaja divljih *Brassica* sa gajenim vrstama koje su transgene se takođe intenzivno proučava. Rezultati Nair et al. (1996), Brown et al. (1996), Ghosh and Varma (1998),

pokazuju da je bitno smanjen procenat pojave transgenog polena već na 10 metara od parcele na kojoj rastu transgene kupusnjače i da taj procent opada sa porastom rastojanja. Dale et al. (1995), prateći kretanje polena transgene uljane repice, zaključuju da je transfer polena ograničen na oko 50 metara. Mišljenja smo da iako vrlo mali, taj rizik ipak postoji, samim tim i eventualna mogućnost remećenja prirodne ravnoteže, naročito kod korišćenja transgenih biljaka otpornih na herbicid, na primer.

Ovo je tema koja svakako predstavlja vrlo važan aspekt izučavanja transgenih biljaka. Obzirom na prednosti koje ova tehnologija ima u oplemenjivanju, kao i rizike koje nosi, naš je stav da svakako ima smisla stvaranje transgenog povrća u cilju osvajanja metoda, proučavanja takvih biljaka sa stanovišta različitih bioloških disciplina i praćenja savremenih naučnih tokova, ali da bi se eventualna proizvodnja semena transgenog kupusa mogla i smela vršiti jedino u strogo kontrolisanim uslovima izolovanog prostora uz obavezno striktno poštovanje određenih pravila izolacije koja već postoje u programima oplemenjivanja klasičnim metodama.

Zaključak

Do danas je transformisani veliki broj različitih kupusnjača. Sa aspekta eksperimentalnih programa genetičke transformacije su izuzetno značajan korak u unapređivanju procesa oplemenjivanja povrća. Procenat regenerisanih biljaka linija različitih kupusnjača iz selekcionog programa i kolekcije Centra za povrtarstvo je zadovoljavajući. Razlike u uspešnosti regeneracija postoje i one su evidentne i u literaturi. Ustanovljeni su protokoli za vršenje inokulacija kupusa iz našeg selekcionog programa. U cilju unapređivanja procesa transformacija i dobijanja što većeg broja regeneranata, trebalo bi transformacije vršiti na genetički što čistijem materijalu, kako bi se smanjila varijabilnost u uspešnosti transformacije u okviru jednog genotipa. Rizici koje korišćenje transgenih biljaka nosi još uvek se procenjuju, ali se mogu svesti na bezbedni nivo ukoliko se poznaje dobro, koji geni se ubacuju u biljku, njihovo poreklo, kao

i ukoliko se poštuju neophodne mere u sprečavanju prenošenja gena u biljke koje se ne žele transformisati.

LITERATURA

- BABIC V., R. S. DATLA, G. J. SCOLES, W. A. KELLER (1998): Development of an efficient *Agrobacterium*-mediated transformation system for *Brassica carinata*. Plant Cell Reports 17, 183-188.
- BASSET M. J. (1986): Breeding vegetable crops. AVI publishing Company, Westport, Connecticut
- BERTHOMIEU P., C. BECLIN, F. CHARLOT, C. DORE, L. JOUANIN (1994): Routine transformation of rapid cycling cabbage (*Brassica oleracea*)—molecular evidence for regeneration of chimeras. Plant Science 96, 223-235.
- BOUCHEZ D., C. CAMILLERI, M. CABOCHE (1993): A binary vector based on Basta resistance for *m. planta* transformation of *Arabidopsis thaliana*. C. R. Acad. Sci. Paris 316, 1188-1193.
- BROWN A. P., J. BROWN, D. C. THILL, T. A. BRAMMER (1996): Gene transfer between canola (*Brassica napus*) and related weed species. Cruciferae Newsletter 18, 36-37.
- CHAPEL M., K. GLIMELIUS (1990): Temporary inhibition of cell wall synthesis improves the transient expression of the GUS gene in *Brassica napus* mesophyll protoplasts. Plant Cell reports 9, 105-108.
- DALE P. J., R. PARKINSON, J. A. SCHEFFLER (1995): Transgene movement by pollen. Cruciferae Newsletter 16, 59-60.
- DE BLOCK M., D. DE BROUWER, P. TENNING (1989): Transformation of *Brassica napus* and *Brassica oleracea* using *Agrobacterium tumefaciens* and the expression of the *bar* and *neo* genes in the transgenic plants. Plant Physiol. 91, 694-701.
- DOZET B., S. MEZEL B. GOLOŠIN, V. GALOVIĆ, S. ŠESEK, LJ. VASILJEVIĆ, D. VASIĆ, V. OGNJANOV, K. MACET (1995): Kultura tkiva u poljoprivredi. Biblioteka Matice Srpske, Novi Sad
- DUMANOVIĆ J., D. MARINKOVIĆ, M. DENIĆ, K. KONSTANTINOV (1994): Genetički rečnik. Unija bioloških naučnih društava Jugoslavije, Beograd
- FRY J., A. BARNASON, R. B. HORSCH (1987): Transformation of *Brassica napus* with *Agrobacterium tumefaciens* based vectors. Plant Cell reports 6, 321-325.
- GHOSH DASTIDAR N., N. S. VARMA (1998): A study on extent of cross pollination in field trials of transgenic indian mustard. Cruciferae Newsletter 20, 49-50
- GOODMAN R. M., H. HAUPTLI, A. CROSSWAY, V. C. KNAUF (1987): Gene transfer in crop improvement. Science 236, 48-54.
- HOLBROOK L. A., B. L. MIKI (1985): *Brassica* grown gall tumourigenesis and in vitro of transformed tissue. Plant Cell Reports 4, 329-332.
- JEFFERSON R. A. (1987): Assaying chimeric genes in plants: The GUS gene fusion system. Plant. Mol. Biol. Rep. 5, 387-405
- JOSIFOVIĆ M. (1972): Flora SR Srbije III. Srpska Akademija nauka i umetnosti, Beograd.
- MLADENOVIĆ DRINIĆ S., G. DRINIĆ (1998): Razvoj i primena transgenih biljaka otpornih prema insektima. Selekcija i semenarstvo 1-2, 31-37.
- MUKHOPADHYAY A., R. TOPFER, A. K. PRADHAN, Y. S. SODHI, H. H. STEINBIB, J. SCHIELL, D. PENTAL (1991): Efficient regeneration of *Brassica oleracea* hypocotyl protoplasts and high frequency genetic transformation by direct DNA uptake. Plant Cell Reports 10, 375-379
- MURASHIGE T., F. SKOOG (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15, 473-497.
- NAIR H. S., J. BROWN, A. P. BROWN (1996): Interspecific and intergeneric hybridization between genetically engineered canola (*Brassica napus* L.) nad related weed species. Cruciferae Newsletter 18, 38-39
- NEUHAUS G., G. SPANGENBERG, O. MITTELSTEN SCHIED, H. G. SCHWEIGER (1987): Transgenic rapeseed plants obtained by the microinjection of DNA into microspore-derived embryoids. Theor. Appl. Genet. 75, 30-36
- PASSELEGUE E., C. KERLAN (1996): Transformation of cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) by transfer of cauliflower mosaic virus genes through combined cocultivation with virulent and antivirulent strains of *Agrobacterium*. Plant Science 113, 79-89.
- PUA E. C., A. M. PALTA, F. NAGY, N. H. CHUA (1987): Transgenic plants of *Brassica napus* L. Bio/technology 5, 815-817.
- PUDDEPHAT I. J., T. J. RIGGS, T. M. FENNING (1996): Transformation of *Brassica oleracea* L.: a critical view. Molecular Breeding 2, 185-210.
- RADKE S. E., B. M. ANDREWS, M. M. MOLONEY, M. L. CROUCH, J. C. KRIDL, V. C. KNAUF (1988): Transformation of *Brassica napus* L. using *Agrobacterium tumefaciens*: developmentally regulated expression of a reintroduced napin gene. Theor. Appl. Genet. 75, 685-694
- ROGERS H. J., H. C. PARKES (1995): Transgenic plants and the environment. Journal of Experimental Botany 46, 467-488.
- SRETENOVIĆ RAJIČIĆ T. (1996): Reaktivnost različitih genotipova kupusa (*Brassica oleracea* var. *capitata*) na delovanje herbicida parakvata *m. vitro*. Magistarski rad, Biološki fakultet, Beograd.
- SRIVASTAVA V., A. S. REDDY, S. G. MUKHERJEE (1988): Transformation and regeneration of *Brassica*

oleracea mediated by an oncogenic *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Cell Reports 7, 504-507.
TORIYAMA K., J. C. STEIN, M. E. NASRALLAH, J. B. NASRALLAH (1991): Transformation of *Bras-*

sica oleracea with an S-locus gene from *B. campestris* changes the self-incompatibility phenotype. Theor. Appl. Genet. 81, 769-776.

TRANSFORMATIONS OF *BRASSICACEAE* FAMILY

by

SRETENOVIĆ RAJIČIĆ TATJANA., VINTERHALTER BRANKA,
IVANČEVIĆ MIRJANA, SUŠIĆ Z., PAVLOVIĆ N.

SUMMARY

Brassicaceae are economically very important crop family. Improvement of its characteristics is in focus for the last thirty years very much. One of the methods of biotechnology used in *Brassica* genus is genetic transformation. In this paper we have discussed transformations of *Brassica* genus, comparing it with the results that we achieved in our laboratory. We have performed inoculation with *Agrobacterium tumefaciens*, with the construct containing resistance to herbicide Basta (bar), marker genes for Kanamycin resistance (npt II) and reporter gene -glucuronidase. We have also discussed risks of transgenic crop use and seed development.

Key words: *Brassicaceae*, transformations, *Agrobacterium*