

6. Növényi biotechnológia

6.1 Növényi szövettenyésztés

- Biológiai, biokémiai kutatás
- Vegetatív mikroszaporítás
- Szekunder metabolitok előállítása (gyógyszerek, pigmentek, alkaloidok, szteroidok)
- GM növények előállítása

A szövettenyésztés előnyei:

- független: éghajlattól, kortól, betegségtől
- termelés ellenőrizhető: pl. Kábítószereknél
- olcsóbb lehet: verseny a technológiák között.

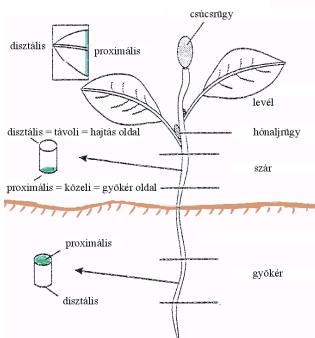
1

Alapfogalmak, módszerek

- Explantátum – merisztéma
- MS táptalaj
- Kallusztenyészet
- Szuszpenziós tenyészet
- Protoplaszt tenyészet
- Növényregenerálás

2

EXPLANTÁTUMOK



• A fiatal növény kedvezőbb, azonban ha túl kicsit vágunk annak nagy lesz a mortalitása.


• Optimális méret: 2 mm

• Növekedési polaritást mutat

• Levél, gyökér, merisztéma

3

Merisztéma



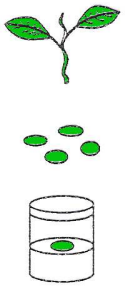
- Osztódó szövetek
- Hajtáson vagy gyökéren az ábrán pontokkal jelölt helyeken található
- Merisztémából a növény regenerálható
- Mikroszaporításhoz használják

22. ábra. Merisztémák elhelyezkedése a növény föld feletti és föld alatti szerveiben. A fekete pontok a hajtás-, illetve gyökértipusmerisztémái jelölik.

4

KALLUSZTENYÉSZET

- Dedifferenciálódott (totipotens) sejtek
- MS tápközeg + auxinok, citokininek



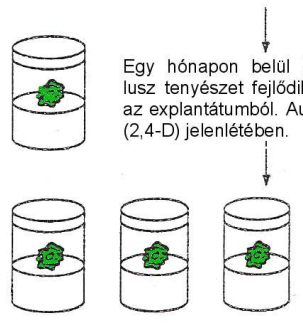
A leveleket leválasztják a növényről és a felületeket Na-hipoklorit-oldattal fertőtlenítik

Kb. 1 cm-es korongokat vágnak ki a levél-lemez-ből

A korongokat auxint és citokinint tartalmazó agaros táptalajra helyezik, 20 C-on megvilágítva inkubálják

5

KALLUSZTENYÉSZET



Egy hónapon belül kallusz tenyészet fejlődik ki az explantátumból. Auxin (2,4-D) jelenlétében.

A kallusz tenyészet 4-6 hetenkénti „átoltással” (szétvágás, friss agarra helyezés) fenntartható. ~10 fokon tartva a növekedés lelassítható.

6

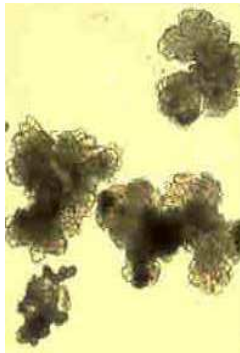
Szuszpenziós tenyészet

Rendszerint nem különálló sejtek, hanem sejtcsomók

Előállítás a kallusz tenyészetből

- centrifugával 50 rpm-el (=üleptetés)
- kis mennyiségű sejtfalbontó enzim + szorbit
- Auxinos MS tápközegben
- megvilágítás 16 órán át 1000 lux-szal 25-29 °C-on

Gyorsabban nő, ezért 2 hetente szubkultúrás átoltás szükséges



PROTOPLASZT TENYÉSZET

- enzimes sejtfal lebontás (celluláz, pektináz) és/vagy mechanikus roncsolás
- nagy ozmózisnyomás (szaharóz, mannitol) beállítása
- nagyon érzékeny ozmotikus és mechanikai hatásokra
- osztódásra, szaporodásra képes
- a sejtfal újraszintézise kiváltható
→ kallusszá alakul → teljes növény



8

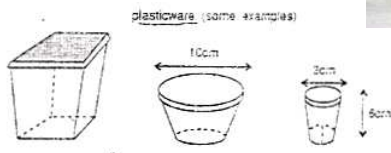
TENYÉSZTÉSI KÖRÜLMÉNYEK

- Hőmérséklet: 15-32 °C, befolyásolja a szaporodási sebességet
- Gázösszetétel: néha 1-5 % CO₂, etilén
- Páratartalom: magas, az edényeken belül ~100%
- Aktív szén: gyökérvégződést elősegíti
- A megvilágítás erőssége: 1000 – 4000 lux
- A fény színe/hullámhossza befolyásolja a növény fejlődését: a kék fény a hajtás, a vörös fény a gyökérvégződést segíti elő
- A világos – sötét periódusok hossza is befolyásoló tényező

9

EDÉNYEK, ESZKÖZÖK

Hasonlók a mikrobiológiai laborokban használatos eszközökhöz, de a légtér belmagassága nagy, hogy elérjen a növény.

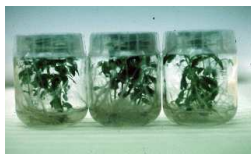


10

EDÉNYEK, ESZKÖZÖK

Egész növények nevelésénél tipikus:

- konzerves/lekváros üveg, a fedelébe ütött lyukakban szivacs dugóval.



- Erlenmeyer lombik, sokszor nyak nélkül



11

MS táptalaj - Murashige és Skoog

Makrokomponensek (g/l): 3% szaharóz, pH: 5,7-5,8

NH ₄ NO ₃	1,65
KNO ₃	1,90
CaCl ₂ *2H ₂ O	0,44
MgSO ₄ *7H ₂ O	0,37

Vitaminok (mg/l)

mio-inozitol	100
nikotinsav	0,5
piridoxin-HCl	0,5
tiamin-HCl	0,5
glycin	2

Mikrokomponensek, mg/l

KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ *4H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ *7H ₂ O	8,6
Na ₂ MoO ₄	0,25
CuSO ₄ *5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ *6H ₂ O	0,025

Vas, komplex formában

FeSO ₄ *7H ₂ O	27,8
Na ₂ EDTA*2H ₂ O	37,3

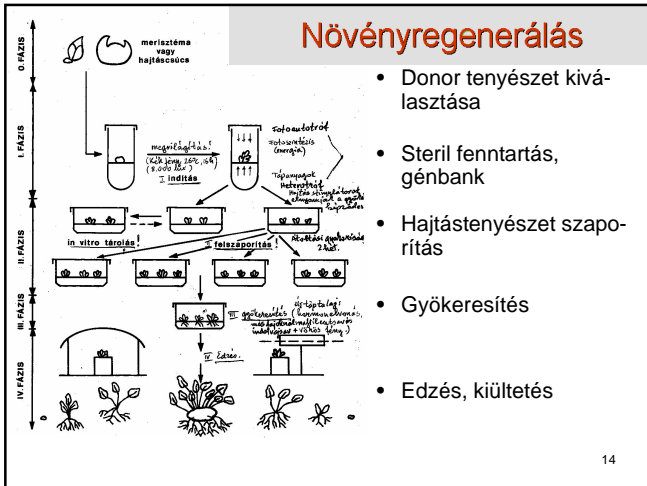
12

NÖVÉNYI HORMONOK

- **Gibberellinek** – elsősorban a lineáris növekedést csírázást, virágzást, gyümölcsstermést fokozó hormonok
- **Auxinok** – a sejtosztódást és megnyúlást serkentik, a gyökér, szár, virág, gyümölcs növekedését szabályozzák
- **Citokininek** – az auxin hatását moderálják.
 - Együtt a sejtosztódást stimulálják,
 - A citokininek visszafogják az auxin által kiváltott szármegnyúlást
 - Az auxin/citokinin arány szabályozza, hogy a kalluszból szár vagy gyökér lesz
- Etilén - érésszabályozó

13

Növényregenerálás



14

- Donor tenyészet kiválasztása
- Steril fenntartás, génbank
- Hajtástenyészet szaporítás
- Gyökeresítés
- Edzés, kiültetés

Hajtástenyészetek

- Gyökér nélküli hajtások növekedése táptalajon steril, kontrollált körülmények között
 - Előállítása: hajtásokból és levélhónaljban differenciálódó rügyekből, vagy kalluszból
 - Körülmények:
 - MS táptalaj kiegészítésekkel (auxin, pl. 2,4D)
 - Inkubáció: 8000 lux, 16 h, 18-30°C
 - Átoltási gyakoriság: 3-5 hét
- Energiatermelés: kettős
- a táptalaj szaharóza
 - fotoszintézis (ha már kifejlődött a hajtás)

15

Gyökeresítés

A felszaporított hajtásokat kiültetés előtt gyökeresíteni kell:

- A hajtásserkentők elnyomják a gyökérképződést
- Hormonelvonással viszont indukálható
- Vörös fény
- Gyümölcsfáknál nehéz megvalósítani



16

Edzés, kiültetés

- Steril körülmények között nem adaptálódott a környezethez fiziológiailag és szerkezetileg
- Megvalósítás: üvegház és fóliasátor, fokozatos pára csökkentés és mikrobiális védelem
- Kiszáradás-veszély, mert:
 - eddig 100% nedvességtartalmú térben nőtt
 - a légző nyílások nyitottak
 - vékony a viaszréteg a leveleken
 - gyengén fejlett gyökér – kevés vizet képes felvenni

17

6.2. Génmanipulált növények

A növényi génmanipuláció céljai:

- Ellenálló képesség fokozása (betegségek, gyomirtók, növényvédőszer)
- Tűrőképesség fokozása (szárazság, hőmérséklet-ingadozás)
- Nitrogén-fixálás bevitelle
- Hozam javítása (termés/felület/idő)
- Minőség/összetétel javítása (fehérjeteralom, aminosav-összetétel, eltarthatóság)

18

Vírusrezisztencia

Több mint 700 növénypatogén vírust ismerünk

- Természetes vírusrezisztencia gének izolálása:
 - gyenge vírusfertőzés után a növény rezisztens lesz
 - tehénborsó: olyan enzimet termel, amely a vírus RNS-t darabolja
 - antivirális faktor termelés: vírus replikációt gátol
- Vírus köpenyfehérjét termelő növény:
 - a fertőző vírus RNS visszakapszulázódik → dohány-, lucerna-, és uborkamozaik vírus

19

Mikrobiális kórokozók elleni rezisztencia

Baktériumok, gombák fertőzése ellen rezisztens növények előállítása

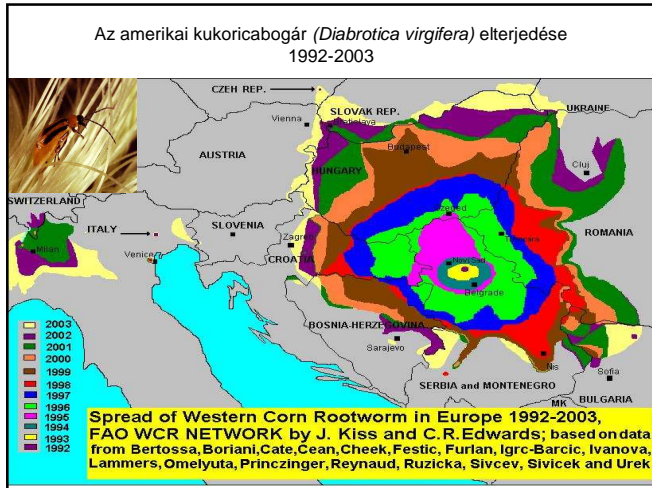
- A fertőzés lítikus enzimek (kitináz, β , 1-3 glükánáz) képződését indukálja – de ezek induktív enzimek: lassan képződnek → konstitutív génként építik be.
- Fitoalexinek: patogén-specifikus, induktív vegyületek. Leginkább a gombák és baktériumok ellen hatásosak.
- Fitoncidok: olyan - gyakran illó -, a baktériumokra kis koncentrációban is mérgező vegyületek, melyeket magasabb rendű növények termelnek.

20

Rovarkártevők elleni rezisztencia

- kémiai védekezés - inszekticidek: az ízeltlábú növényevő fajok rövid idő alatt ellenállóvá válnak; a monokultúra kedvez az elterjedésnek.
- enziminhibitorok (proteáz-, amiláz-) Természetes rezisztencia: borsó, bab, STI
- *Bacillus thuringiensis* toxin: a rovarok emésztését blokkolja. Növénybe beépített a toxin-gén → jó eredmények

21



Herbicid (gyomirtó) rezisztencia

A kémiai gyomirtó szerek száma 100 felett van.

Minden gyomirtó szernek szelektívnek kell lennie: a haszonnövényt nem szabad károsítania, de a gyomok közül minél többet pusztítsa el. Ha a bevitt gén a növényt védetté teszi: ezt a szelektivitást fokoztuk.

Akkor van esély, ha egyetlen gén bevitelével meg lehet védeni a növényt. Pl.:

- lebontó enzim bevitel
- gátolt enzim túltermelése

23

Szárazság- és sótűrő növények:

Bonyolult, specifikus mechanizmusok: pl.

- ozmoprotektív fehérjék génjei,
- jelátvitel módosítása stb. (napraforgó, dohány, rizs)

Hideg- és fagyűrő növények

fagyásvédő fehérjék, a jégkristály képződést akadályozzák.

Anti-Freeze Proteinek (AFP): sarkvidéki halakból, rovarokból (de bejuttatásuk megzavarta a kukorica regeneráló képességét)

A lipid összetétel változtatása a membránban (telítetlenek arányának növelése: deszaturázok mutációjával) → a dohányban hidegtűrést eredményezett.

24

Élelmiszernövények minőségjavítása

- Kedvezőbb élvezeti érték
- Hosszabb tárolhatóság
- Kedvezőbb tápérték, egészségi haszon
- Kedvezőbb fehérje összetétel
- Megnövelt szénhidrát tartalom
- Megnövelt termés hozamok
- Érés, eltarthatóság szabályozása

25

Kedvezőbb tápérték, egészségi haszon

- Fehérjetartalom növelése
- Esszenciális AS tartalom növelése
- allergén fehérjék eliminálása
- Géntechnológia segítségével a növények természetes ásványianyag- és antioxidáns- (karotinoid, flavonoid, A-, C- és E-vitamin) tartalma is növelhető.

26

Deklarált célok

- Környezetszennyezés csökkentése
- Élelmiszerellátás javítása
- Szegénység és éhezés elleni küzdelem
- Betegségek, vitaminhiány megelőzése
- Tudományos haladás szolgálata

27

Problémák 1: Fenntarthatóság

- Nagyüzemi módszerek esetén alkalmazható → az intenzív gazdálkodás további intenzifikálása
- Csak meghatározott GM vonalat szaporít → fokozza a genetikai egyhangúságot a természetes biodiverzitás és a természetű fajták ellenében genetikai beszűkülés, beltenyésztettség leromlás, esetleg nem várt kórokozók elleni védtelenség.
- Károsító rezisztencia alakulhat ki → ellenálló gyomok, gombák, rovarok kifejlődése
- Magas költségigény → tölkekonzentráció → vetőmaggyártó cégek bekebelezése

28

Tájvédelem, a hagyományos termesztési mód és életmód megőrzése



Problémák 2: Ökológia

- Természetes ökoszisztémák és agrár-ökoszisztémák felszámolása
- Fokozott vegyszerhasználat (glifozát a talajvízben!)
- A bevitt DNS fennmaradása, átalakulása
- Génszökés :

Transzgenikus mikroorganizmusok: rovarpatogén baktérium elterjedésének veszélye, antibiotikum-rezisztens baktériumtörzsek kialakulása (pl: *Rhizomania* rezisztencia gén szökése talajbaktériumokba)

Transzgenikus növények: intraspecifikus hibridizáció vadon élő rokonokkal, interspecifikus hibridek keresztporozással, új vírusok rekombinálódhatnak a GM növényekben

A génmódosított populációk természetbe jutása megzavarhatja a táplálkozási láncot, és, a kölcsönhatásokat, megbonthatja a biológiai egyensúlyt.

30

A természetes ökoszisztémák megőrzése



Problémák 3: Génműködés

A transzgén beépülésének helye véletlenszerű
(más gének működését módosíthatja)

A transzgén állandóan bekapcsolt állapotban van
(mást is bekapcsolva tarthat)

Idegen (nem tervezett) fehérjék szintetizálódhatnak

Génátvitel veszélye bélbaktériumokba, utódokba
(kísérleti adatok)

32

Problémák 4: Táplálkozás

- Allergének átvitele (szója metionin-dúsítása brazil dió génnel, szójaérzékenység növekedése Angliában)
- A táplálék megváltozott tápanyag-összetétele
- Nem kívánt gének aktiválása (pl. más aminosavat, fehérjét, toxint kódol)
- Antibiotikum-rezisztencia gének emésztőrendszerbe jutása
- Vektorok esetleges immunreakciója, vagy rekombinációja patogénné
- Transzgén és a fehérje lebomlási sebessége

33

Élelmiszerbiztonsági vizsgálatok

- Világ: 8 év alatt 12 szakirodalom, ebből csak 2 független vizsgálat
- USA: csak 1 FDA vizsgálat (FLAVR-SAVR paradicsom), Hibás kivitelezés, negatív adatok (gyomorvérzés) figyelmen kívül hagyása
- Anglia: 3 éves kísérlet eredménye: sem általános engedélyezés, sem általános tiltás nem indokolt
- Skócia: Pusztai Árpád kísérletei → lektingénes burgonya: a transzgén nem, de a GM burgonya elváltozásokat okozott

A céges vizsgálatok objektivitása kérdéses, bármely részük titkosítható! A tartamkísérletek lassítanák a GM fajták bevezetését, ezért nem végzik el.

34

A GMO kutatásban és forgalmazásban résztvevő (legnagyobb/multi) cégek

- Aventis/Bayer
- Monsanto
- Syngenta
- Delta and Pine Land
- Dow/Mycogen
- DuPont/Pioneer Hi-Bred

35

SZABADALMAZTATHATÓSÁG



Precedens genetikai szabadalomra:

USA olajbontó baktérium

Azóta a GMO-kat szabadalmaztatják, a gazdákat felügyelik és fejelentik

36

Gazdasági következmények

- A haszon a szabadalmassá, a következmény (környezet, egészségügy) a termelők és a fogyasztóké
- Vetőmag-előállítás koncentrációja kevés kézben
- Élelmiszerellátás koncentrációja veszélye
- WTO eljárás USA kezdeményezésére az EU ellen - 300 M\$ elmaradó haszon az EU moratórium miatt
- A WTO mint a GMO-k elterjesztésének eszköze
- Cartagenai jk. (50 ország ratifikálta) : csak az importőr beleegyezésével lehet GMO-t szállítani (ellentmond a WTO-nak – jogi csapda)

37

Társadalmi következmények

- Mezőgazdasági megélhetés szűkülése
- Elszegényedés, jövedelemszivattyú fokozódása
- Éhínség veszélyének fokozódása
- Ősi jogok elvétele (nem lehet vetni)
- Termelők kiszolgáltatottsága fokozódik – eladósodás, földek koncentrációja cégeknél és bankoknál

38

Morális szempontok

- A független kutatás és oktatás elszorvasztása
- Kutatás ipari megrendelésre – gyors haszon
- Témák alárendelése a cégek szempontjainak
- Szabad adat- és eszmecsere megtiltása → A tudomány alapelve sérül – intézményes elhallgattatás
- Dönthet-e a kutató, hogy mit kutat?
(autonómia vagy prostituálódás)
- Mindent kutatni kell, amire képesek vagyunk?
(atombomba effektus)
- Dönthet-e a fogyasztó, hogy mit fogyaszt?
(etikai, jogi, vallási szempontok)
- milliárd éves evolúciós fejlődés megerősökölése géncserékkel (az emberiség hozzájárulása nélkül beindítható-e egy visszafordíthatatlan folyamat?)

39

Összefoglalás

- A GMO-k használatával nem az a baj, hogy bizonyosan ártalmasak, hanem, az, hogy nincs független tartamkísérletekkel bizonyítva a hatásuk
- Jelenlegi tudásunk szerint elterjedésüknek egészségügyi és ökológiai veszélyei lehetnek
- Mindezeknél lényegesen nagyobb veszély a társadalmi-gazdasági hatás, az a törekvés, hogy néhány nagyvállalat rátegye a kezét az emberiség közös biológiai örökségére, befolyása alá vonja az élelmiszerforrásokat, kiszolgáltatott helyzetbe hozva emberek milliárdjait.

40
