

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.

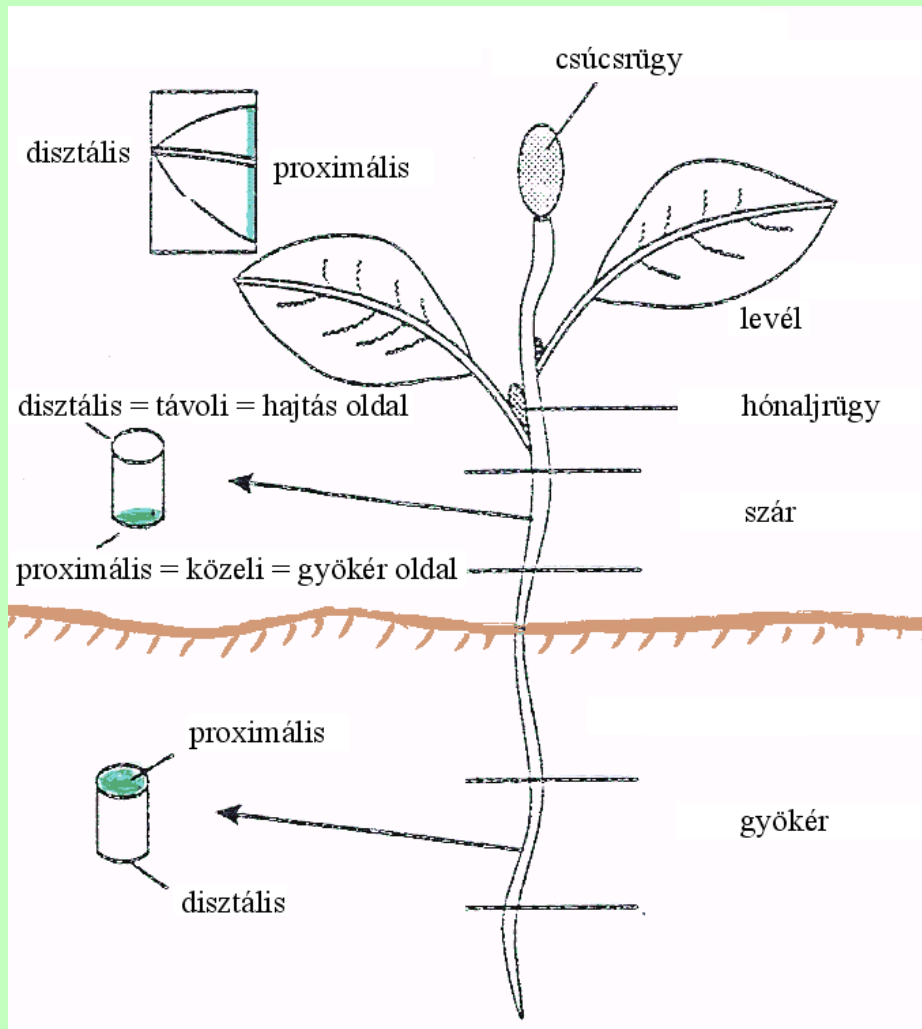


Alapfogalmak, módszerek

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



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



Merisztéma



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

- Még nem differenciálódott, gyorsan osztódó szövetek
- Hajtáson vagy gyökéren az ábrán pontokkal jelölt helyeken található
- Merisztémából a növény regenerálható
- Vegetatív mikroszaporításhoz használják



KALLUSZTENYÉSZET

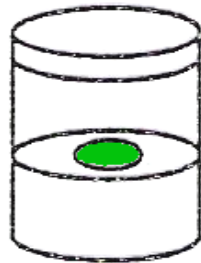
- Dedifferenciálódott (totipotens) sejtek
- MS tápközeg + auxinok, citokininek



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



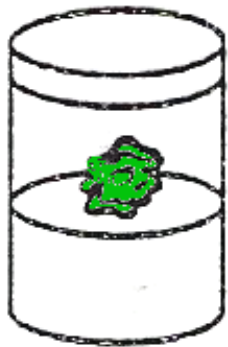
Kb. 1 cm-es korongokat vágnak ki a levél-lemez-ből



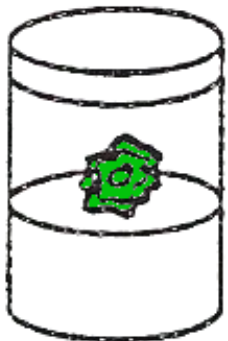
A korongokat auxint és citokinint tartalmazó agaros táptalajra helyezik, 20 C-on megvilágítva inkubálják



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.



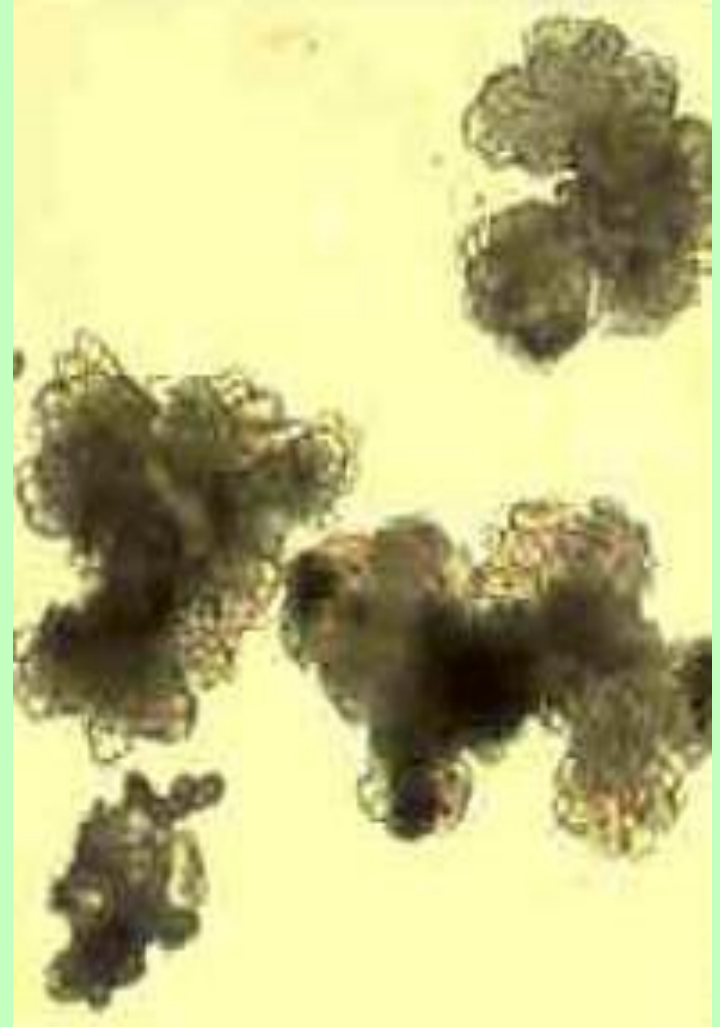
Szuszpenziós tenyészet

Rendszerint nem különálló sejtek, hanem sejtcsomók

Előállítása kallusz tenyészetből

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

Gyorsabban nő, ezért 2 hetente átoltás szükséges



PROTOPLASZT TENYÉSZET

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



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 gyökérvégződését segíti elő
- A világos – sötét periódusok hossza is befolyásoló tényező

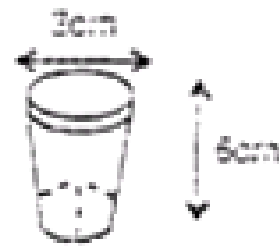
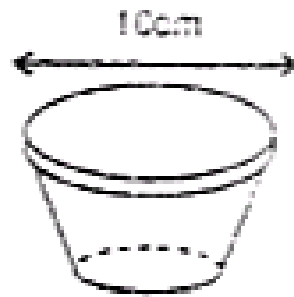
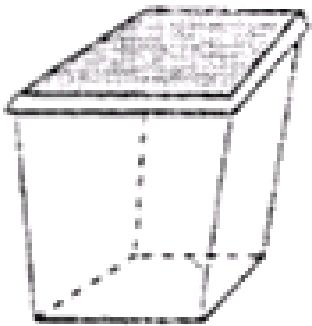


EDÉNYEK, ESZKÖZÖK

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



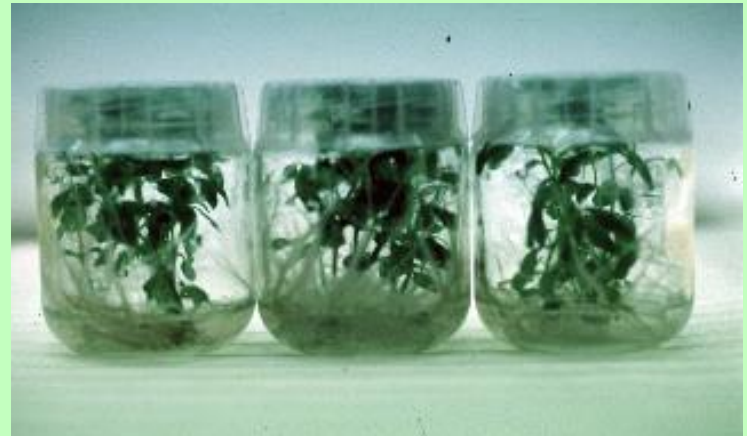
plasticware (some examples)



EDÉNYEK, ESZKÖZÖK

Egész növények nevelésénél tipikus:

- konzerves/lekváros üveg, a fedelébe ütött lyukakban szivacs dugóval.
- Erlenmeyer lombik, sokszor nyak nélkül



MS táptalaj - Murashige és Skoog

Makrokomponensek (g/l):

NH_4NO_3	1,65
KNO_3 ,	1,90
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,44
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,37

Vitaminok (mg/l)

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

3% szaharóz, pH: 5,7-5,8

Mikrokomponensek, mg/l

KI	0,83
H_3BO_3	6,2
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,6
Na_2MoO_4	0,25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025

Vas, komplex formában

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,8
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37,3

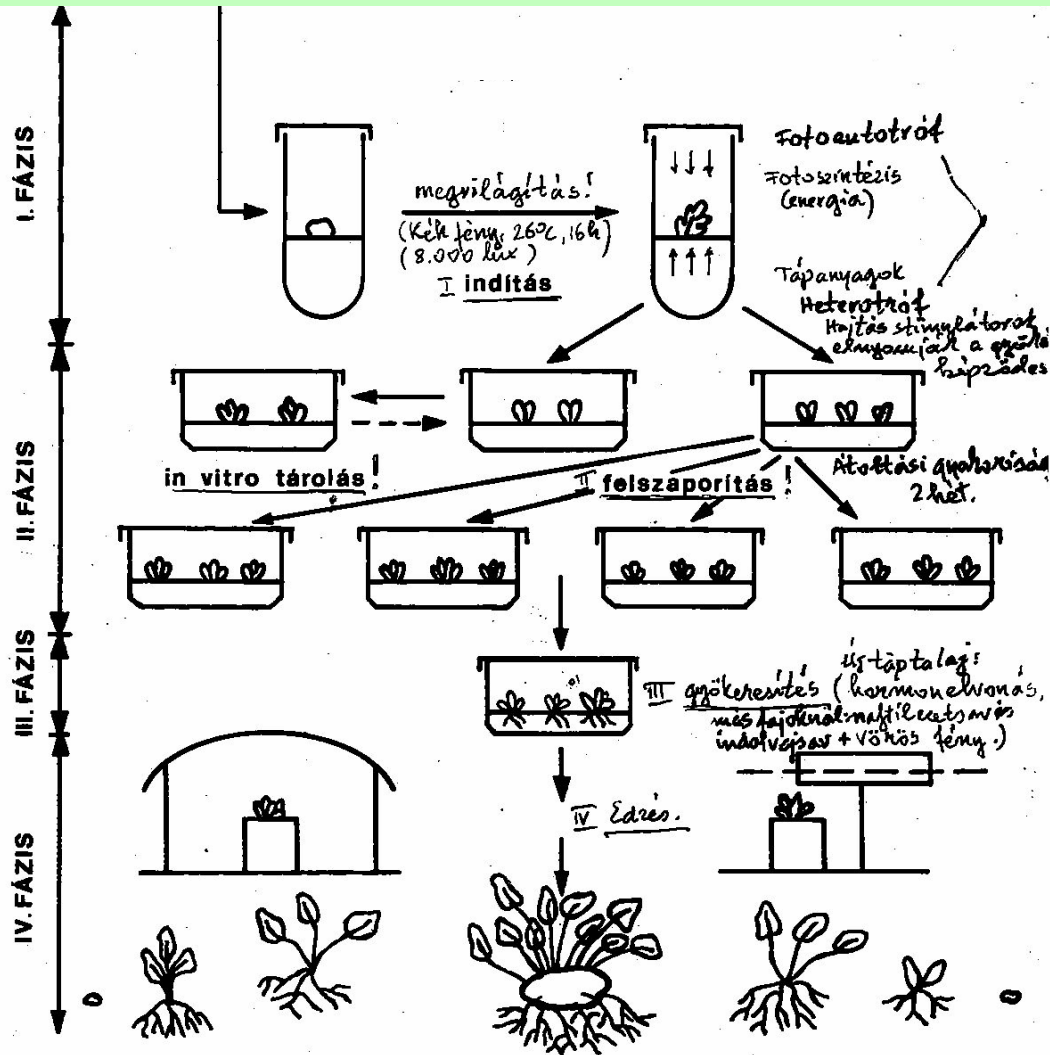


NÖVÉNYI HORMONOK

- 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



Növényregenerálás



- Hajtástenyésztet kifejlesztése
- Szaporítás
- Gyökeresítés
- Edzés, kiültetés



Hajtástenyészetek

- Gyökér nélküli hajtások növekedése táptalajon steril, kontrollált körülmények között
- Előállítása: merisztémából vagy kalluszból
- Körülmények:
 - MS táptalaj kiegészítésekkel (pl. auxin)
 - Inkubáció: 8000 lux, kék fény, 16+8 óra, 18-30°C
 - Átoltási gyakoriság: 3-5 hét

Energiatermelés: kettős

- a táptalaj szacharóza
- fotoszintézis (ha már kifejlődött a hajtás)



Gyökeresítés

A felszaporított hajtásokat kiültetés előtt gyökeresíteni kell:

- A hajtásserkentők elnyomják a gyökérvégződést
- Hormonelvonással viszont indukálható
- Vörös fény



Edzés, kiültetés

- Steril körülmények között nem adaptálódott a környezet-höz fiziológiailag és szerkezetileg
- Megvalósítás: üvegház és fóliasátor, fokozatos pára-csökkenés és védelem (kártévők és kórokozók ellen)
- Kiszáradás-veszély, mert:
 - eddig 100% nedvességtartalmú térben nőtt
 - a légző nyílások nyitottak
 - vékony a viaszréteg a leveleken
 - gyengén fejlett gyökér – kevés vizet képes felvenni



6.2. Génmanipulált növények

A növényi génmanipuláció céljai:

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



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 uborkakamozai vírus



Mikrobiális kórokozók elleni rezisztencia

Baktériumok, gombák fertőzése ellen rezisztens növények előállítása

- A fertőzés sejtfalbontó enzimek képződését indukálja – de ezek induktív enzimek: lassan képződnek → ha konstitutív génként építik be, akkor állandóan termelődnek.
- Fitoalexinek: patogén-specifikus, induktív vegyületek. ~ a növények antibiotikumai. Leginkább a gombák és baktériumok ellen hatásosak.
- Fitoncidok: olyan - gyakran illó -, a baktériumokra kis koncentrációban is mérgező vegyületek, melyeket magasabb rendű növények termelnek.

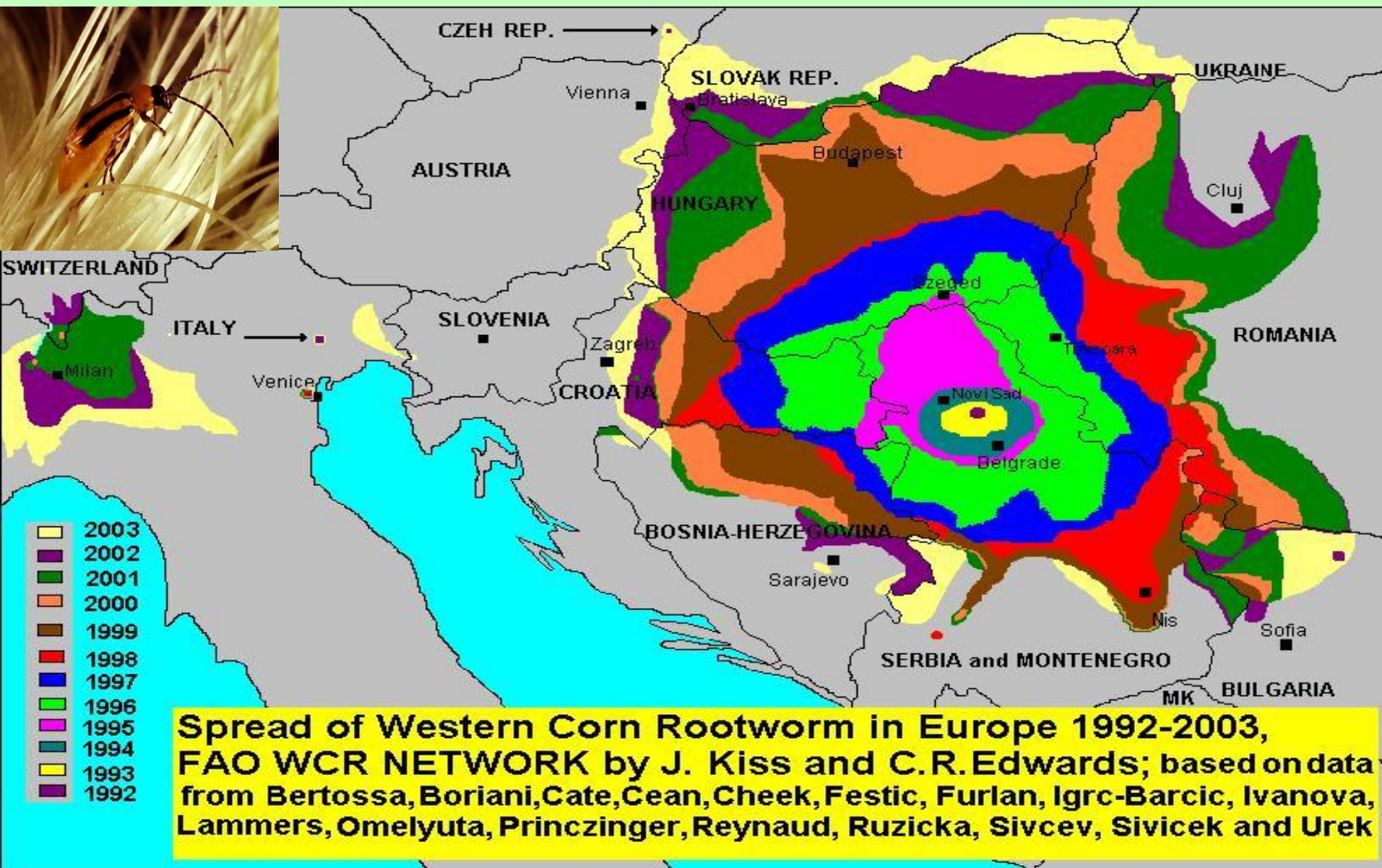


Rovarkártevők elleni rezisztencia

- 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 → át lehet vinni
- *Bacillus thuringiensis* toxin: a rovarok bélcsatoráját károsítja. Növénybe beépített a toxin-gén → állandóan termeli a toxinfehérjét



Az amerikai kukoricabogár (*Diabrotica virgifera*) elterjedése 1992-2003



Herbicide (weed killer) resistance

A chemical weed killer products number is over 100.

Every weed killer must be selective: the crop must not be damaged, but the weeds must be killed. The more weeds are killed, the better. If the gene is inserted into the crop, it becomes resistant: this increases the selectivity.

There is a chance, that with the insertion of a single gene, it is possible to protect the crop. Pl.:

- enzyme degradation
- enzyme inhibition



Szárazság- és sótűrő növények:

Bonyolult, specifikus mechanizmusok: pl. ozmoprotektív fehérjék génjeinek bevitele.

Hideg- és fagytűrő 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.



Élelmiszernövények minőségjavítása

- Kedvezőbb élvezeti érték
- Hosszabb tárolhatóság
- Kedvezőbb tápérték, egészségi haszon
- Kedvezőbb fehérje összetétel
- Megnövelt szénhidráttartalom
- Megnövelt terméshozamok
- Érés, eltarthatóság szabályozása



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.



Növényi GMO: deklarált célok

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



Problémák 1: Fenntarthatóság

- Nagyüzemi módszerek esetén alkalmazható
Az intenzív gazdálkodás intenzifikálása
- Csak meghatározott GM vonalat szaporít →
Fokozza a genetikai egyhangúságot a természetes biodiverzitás és a természetű fajták ellenében genetikai beszűkülés, beltenyésztettség le-
romlás, esetleg nem várt kórokozók elleni védtelenség.
- Károsító rezisztencia alakulhat ki →
Ellenálló gyomok, gombák, rovarok kifejlődése
- Magas költségigény → tőkekoncentráció →
Vetőmag-gyártó cégek bekebelezése



Tájvédelem, a hagyományos termelési 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: *Rhisomania* rezisztencia gén szökése talajbaktériumokba)

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

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



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 fehérjék, fehérjedarabok szintetizálódhatnak

Génátvitel veszélye bélbaktériumokba, utódokba
(kísérleti adatok)



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



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.

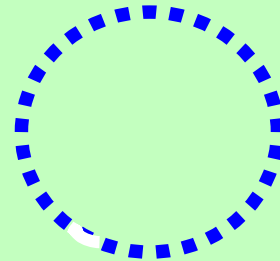
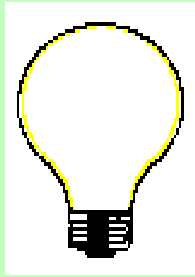


A GMO kutatásban és forgalmazásban résztvevő (legnagyobb/multi) cégek

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



SZABADALMAZTATHATÓSÁG



Precedens genetikai szabadalomra:

USA olajbontó baktérium

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



Gazdasági következmények

- A haszon a szabadalmásé, a következmény (környezet, egészségügy) a termelőké és a fogyasztóké
- Vetőmag-előállítás koncentrációja kevés kézben
- Élelmiszerellátás koncentrációveszélye
- WTO eljárás USA kezdeményezésre 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)



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



Morális szempontok

- A független kutatás és oktatás elsorvasztása
- 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 megerősökölása géncserékkel (az emberiség hozzájárulása nélkül beindítható-e egy visszafordíthatatlan folyamat?)



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.

