

Mezőgazdasági Biotechnológia – Növényi Biotechnológia

Szarka András

Abiotic stress



heat



cold

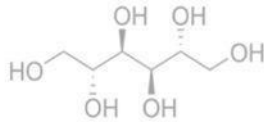
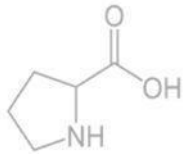


drought

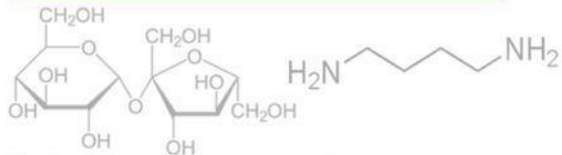
salt

metals

flooding



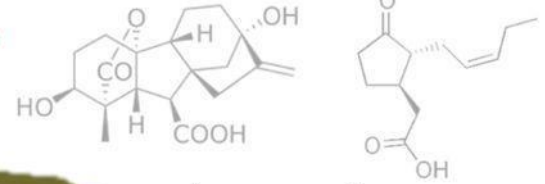
primary metabolites



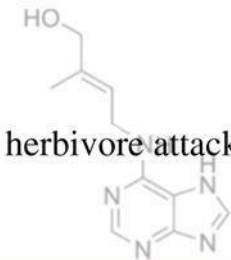
plant development

Biotic stress

pathogen attack

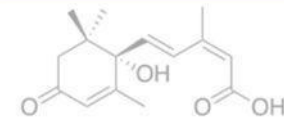


insect attack

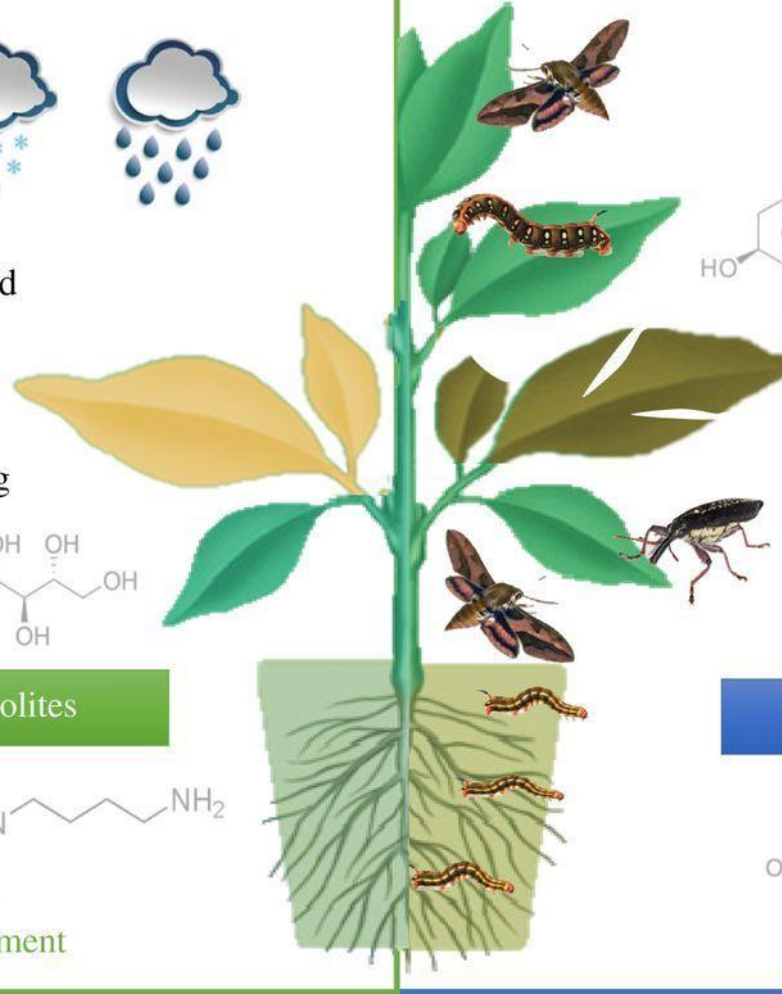


herbivore attack

phytohormones



plant defence



Stressz válasz:

1. Stressz érzékelése
2. Szignál
3. Válaszreakció: metabolikus, fejlődési

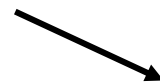
Túl sok fény

A túl sok fény károsítja a növényeket.
A PSII nagyon érzékeny a túl sok fényre



Alacsony hőmérséklet esetén különösen gond: nagy a klorofil fényelnyelése, de a fotoszintézis kémiai reakciói lelassulnak.

Sok fény → sok gerjesztett elektron a kloroplasztban



Fotooxidatív károsodások

A tilakoid lumen gyors lesavanyodása

Limit feletti fotokémiai elektronáram
NADP helyett



oxigénre lépnek az elektronok a



Szuperoxid anion képződés

Reaktív oxigénvegyületek



Oxigén
 O_2



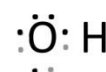
Szuperoxid anion
 O_2^-



Peroxid
 O_2^{-2}



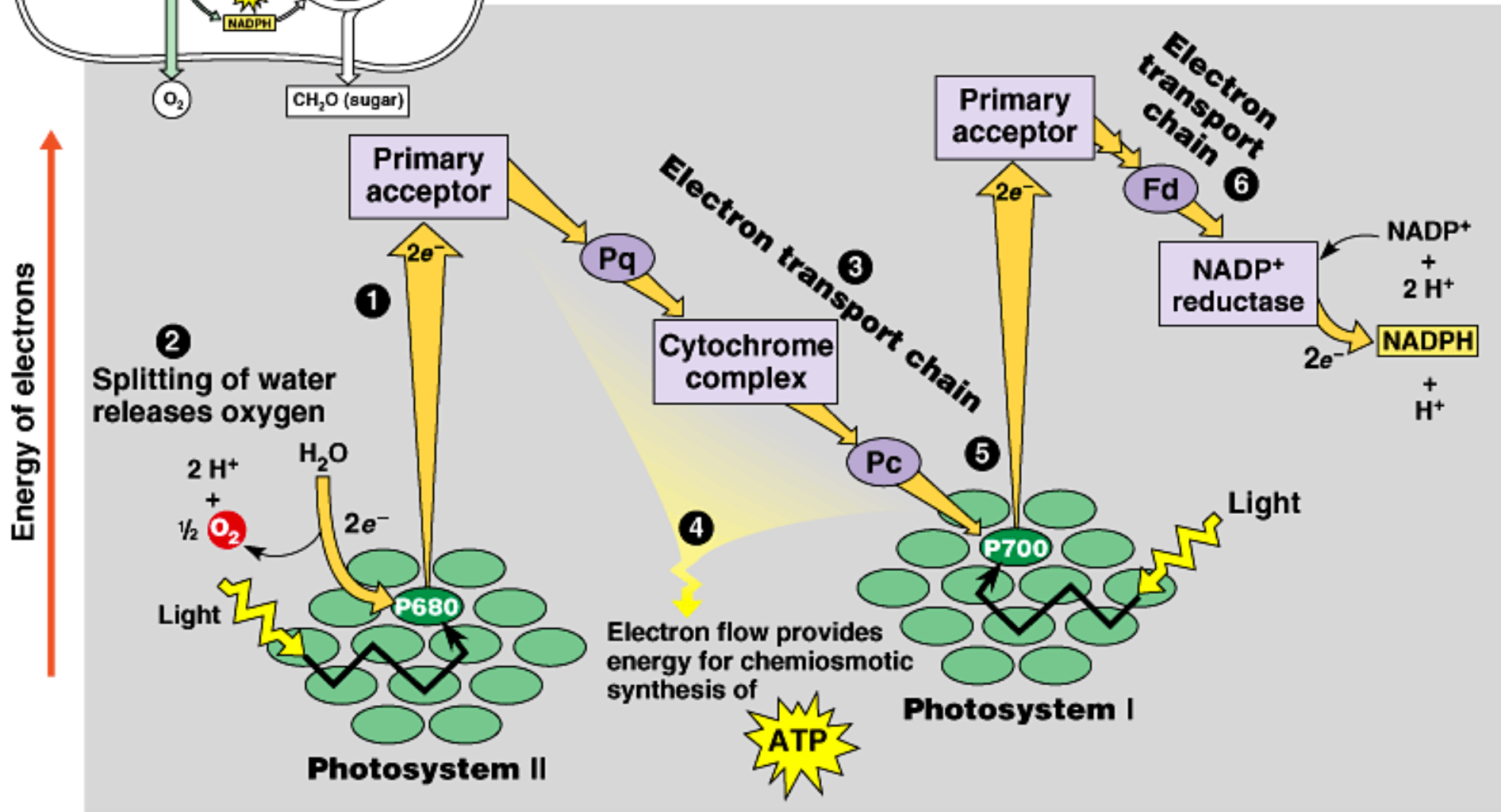
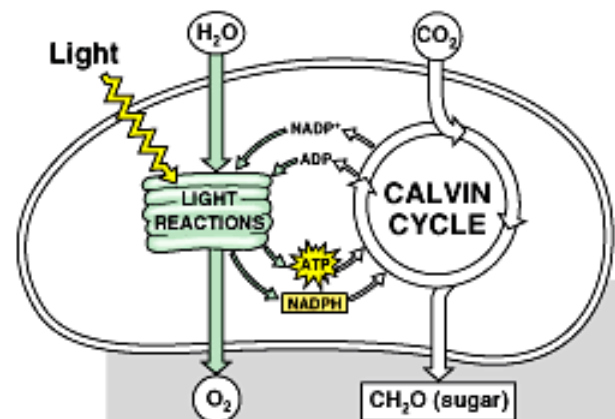
Hidroxil gyök
 $\cdot\text{OH}$



Hidroxil ion
 OH^-

· Párosítatlan elektronok

A fotorendszer I reakciócentrumából távozó elektronok ferredoxin közvetítésével NADP⁺-ra kerülnek



Lipidek: OH-gyök szikraszerűen lipidperoxidációt iniciálhat

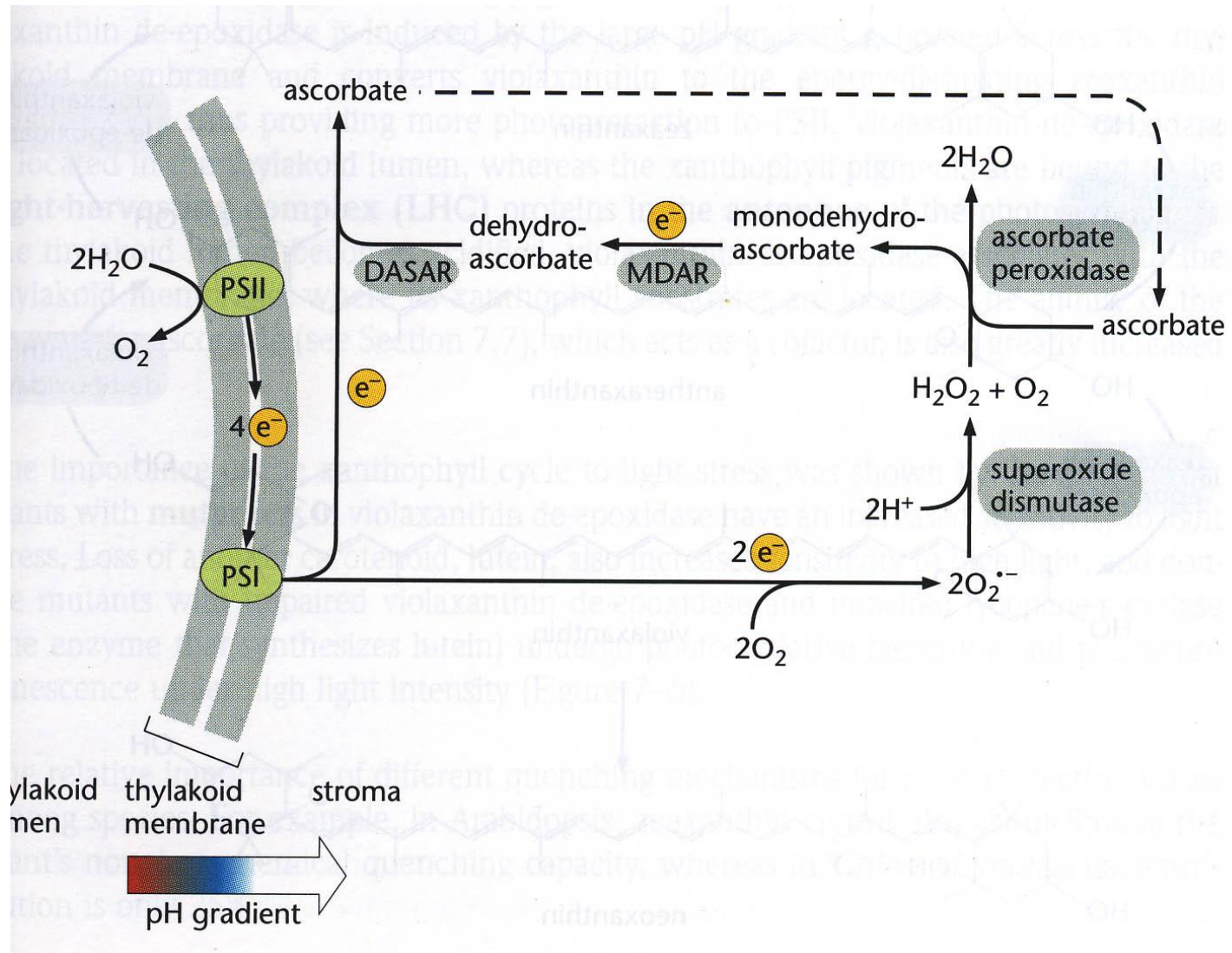
Fehérjék: aminosav módosulások, peptid fragmentációk, keresztkötések, torzult töltéseloszlás. S-tartalmú aminosavak!

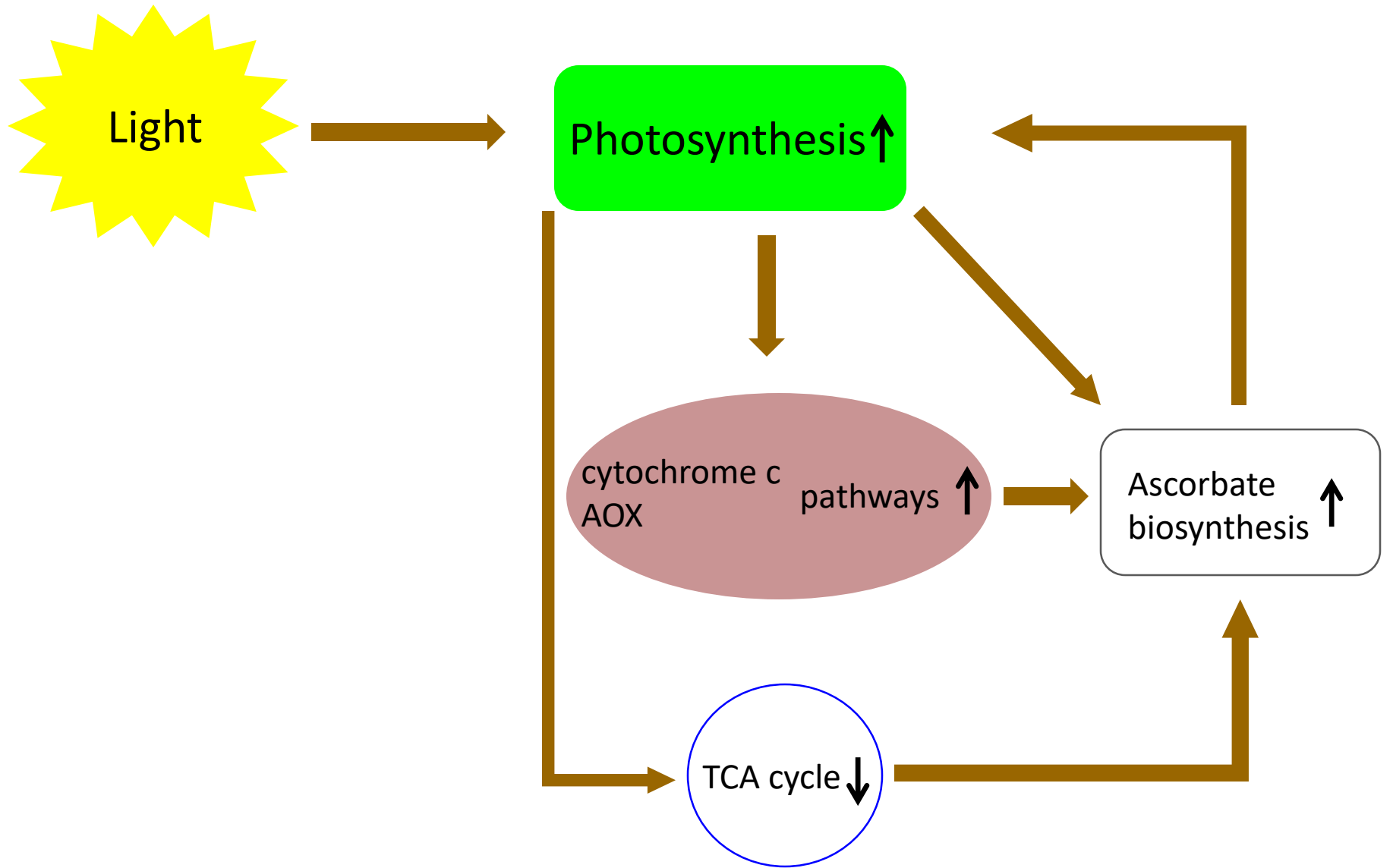
DNS: Leggyengébb „láncszem”

Cukor, bázis is érzékeny. Bázislebomlás, fehérje keresztkötések (timin-cisztein)

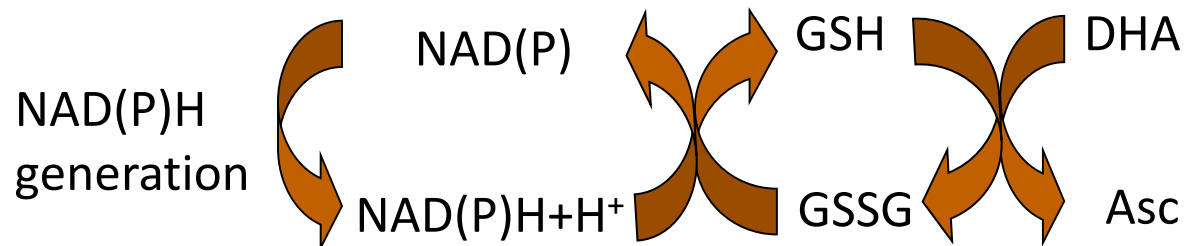
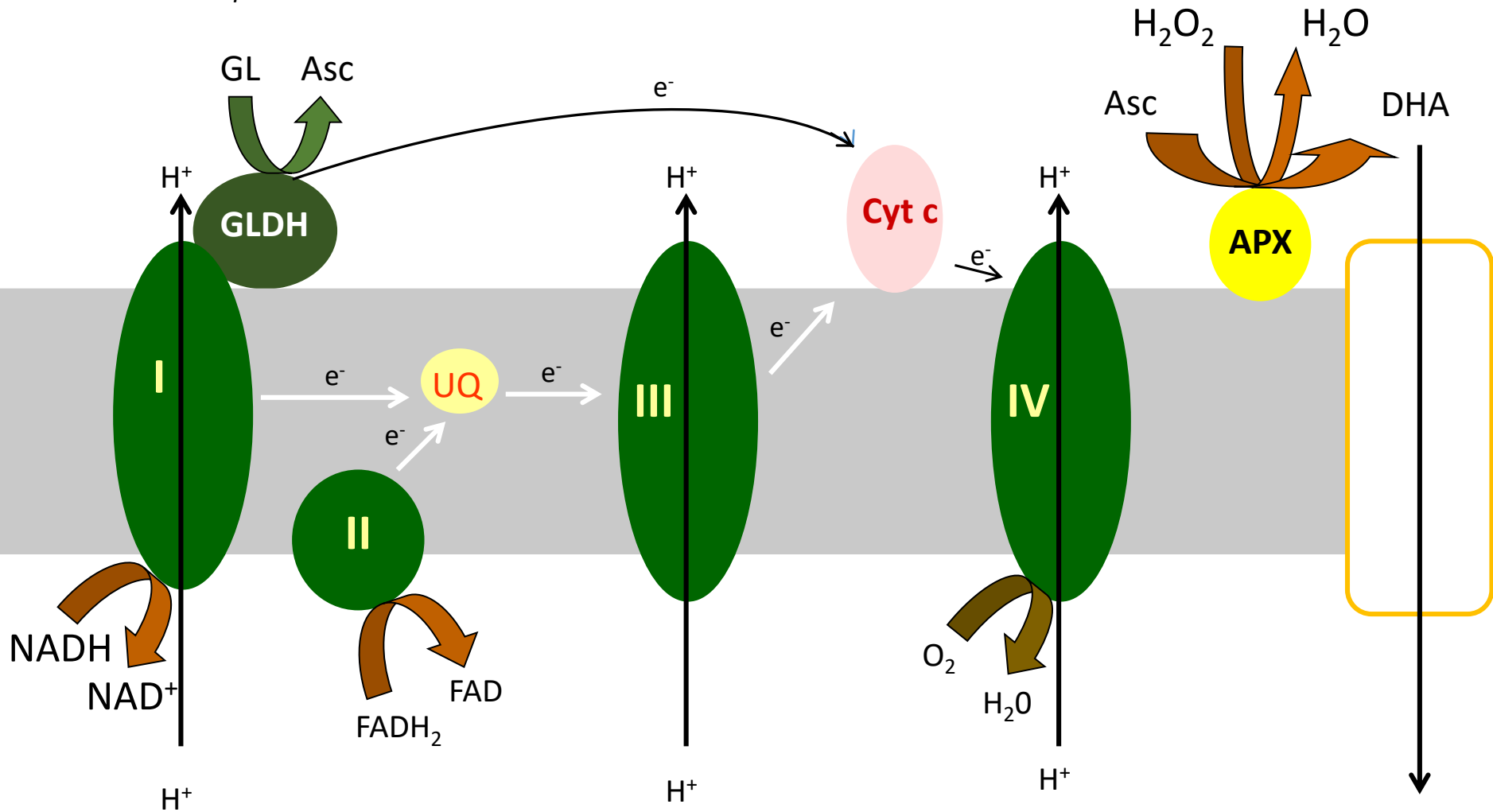
Láncszakadás: cukoroxidáció miatt

A víz-víz ciklus





Intermembrane space



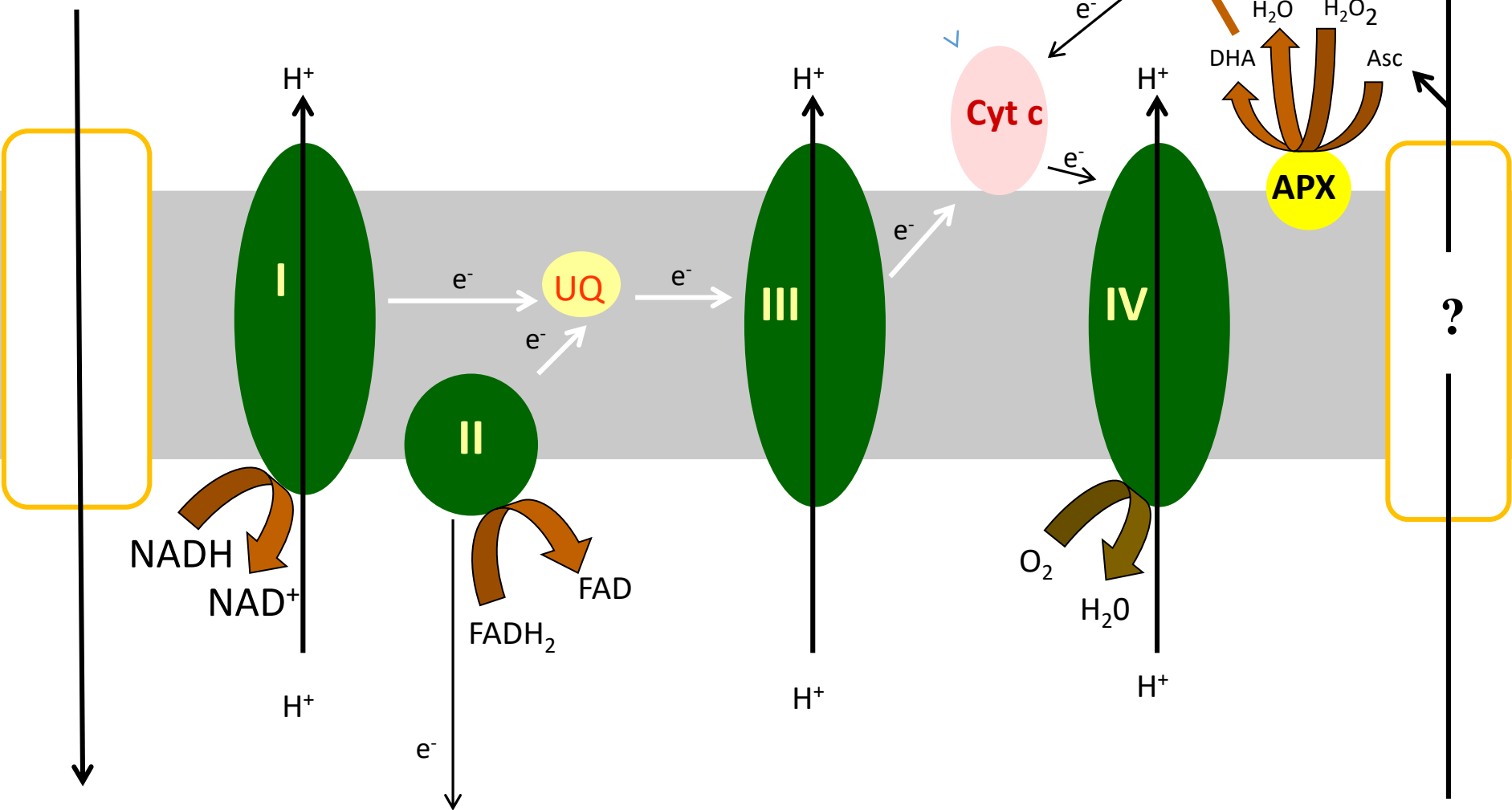
Matrix

Intermembrane space

DHA

DHA

Asc



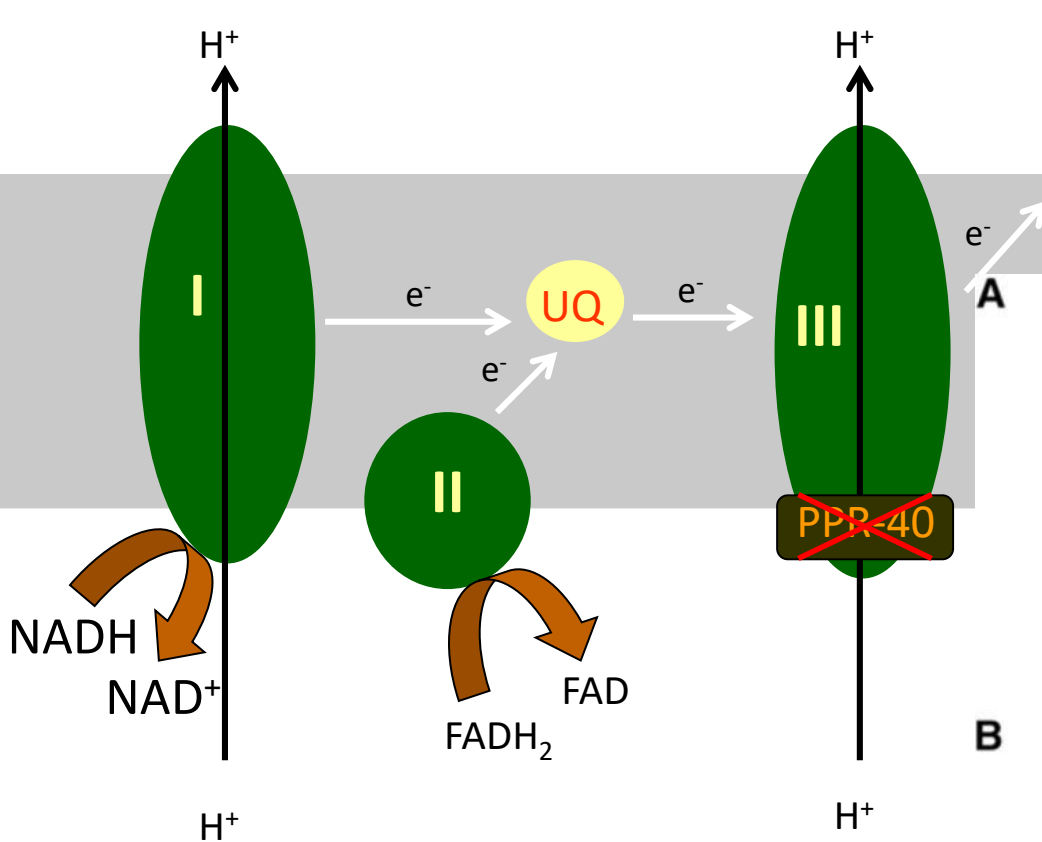
DHA

Asc

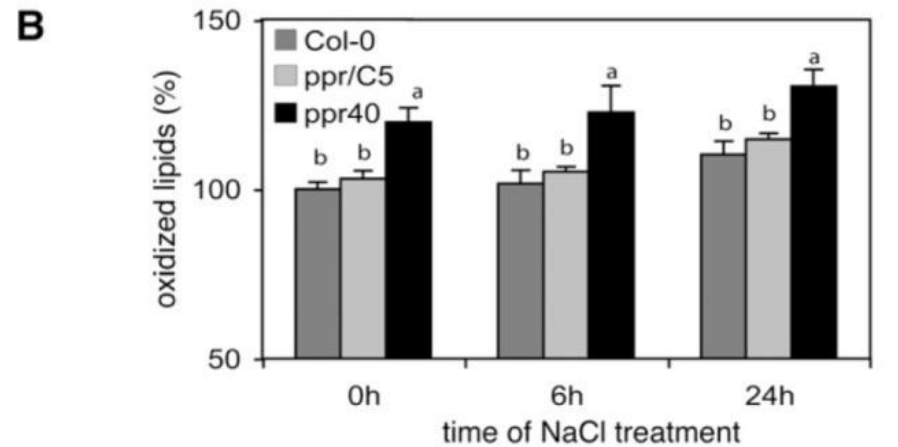
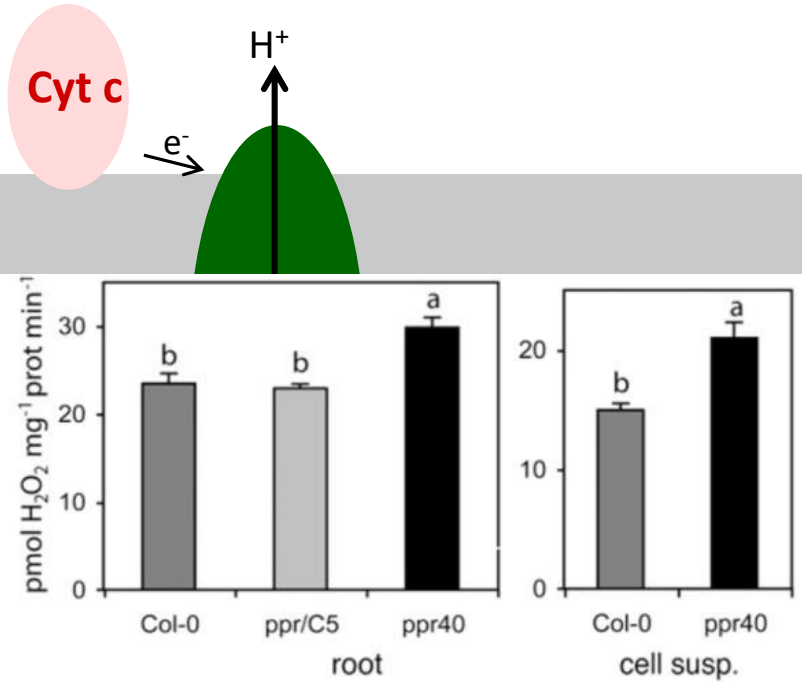
Matrix

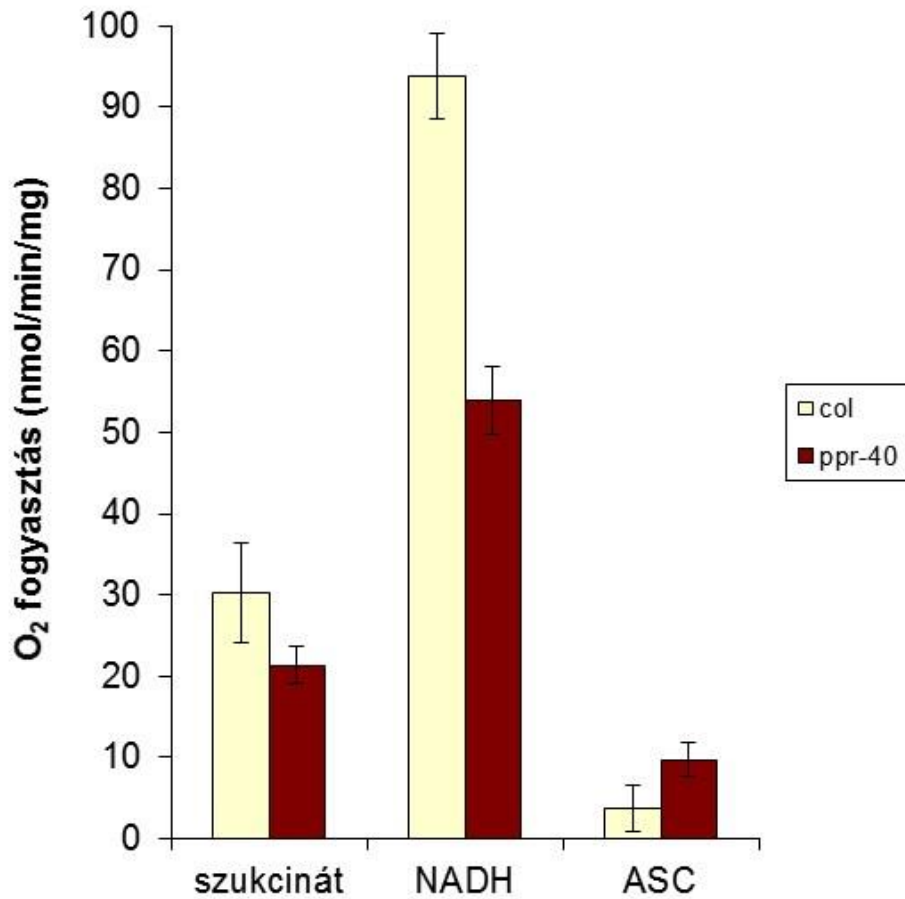
Fokozott ROS termelés és aszkorbát fogyasztás a PPR-40 *Arabidopsis*ban

Intermembrán tér

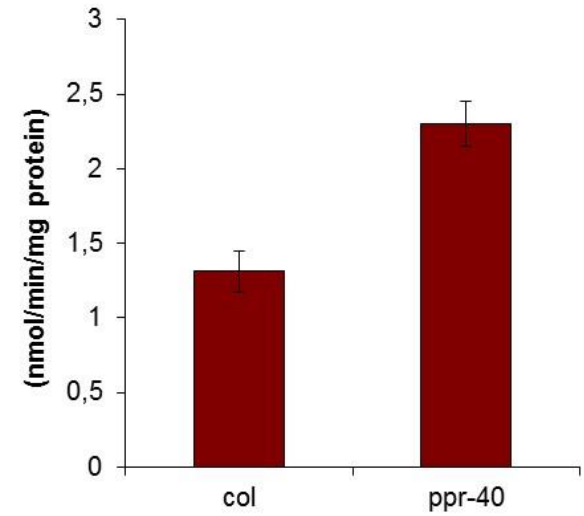


Mátrix

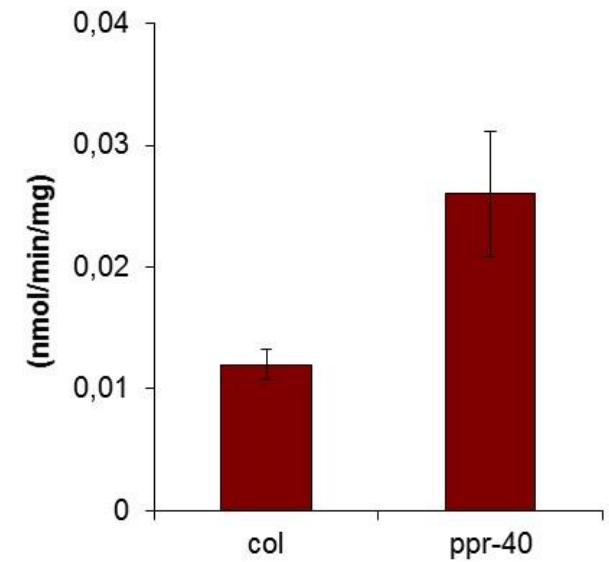




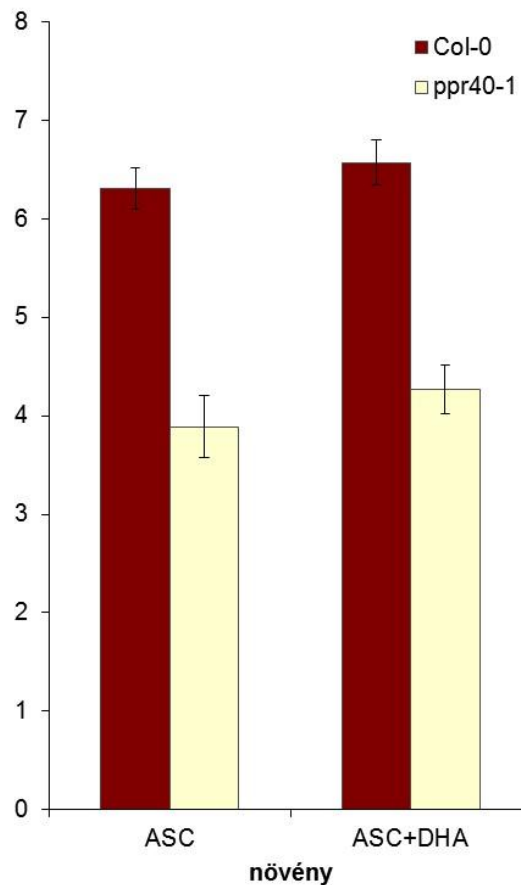
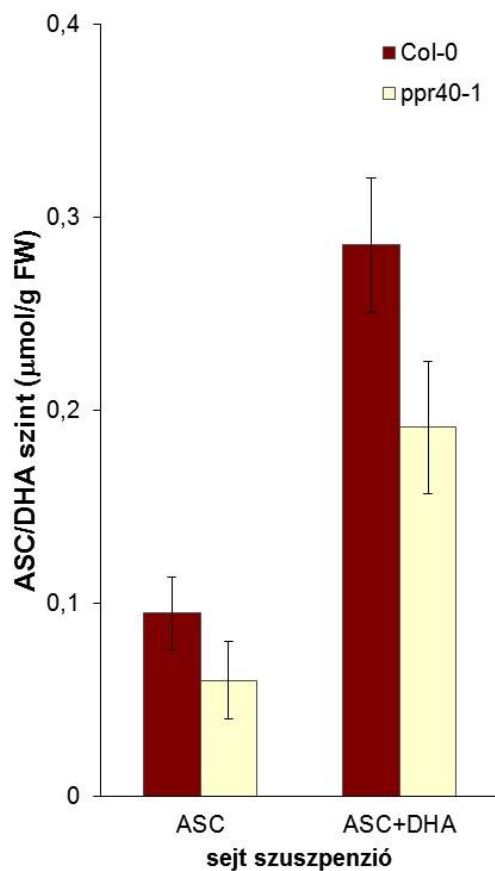
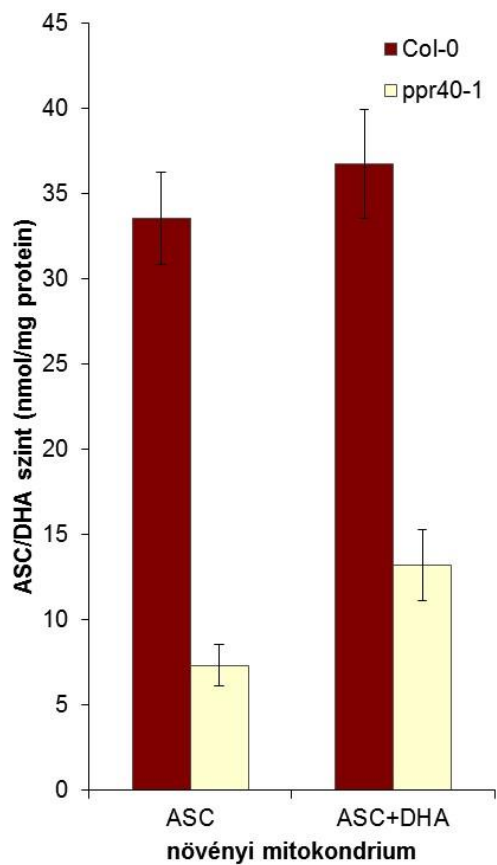
aszorbát fogyasztás



citokróm C oxidáz aktivitás

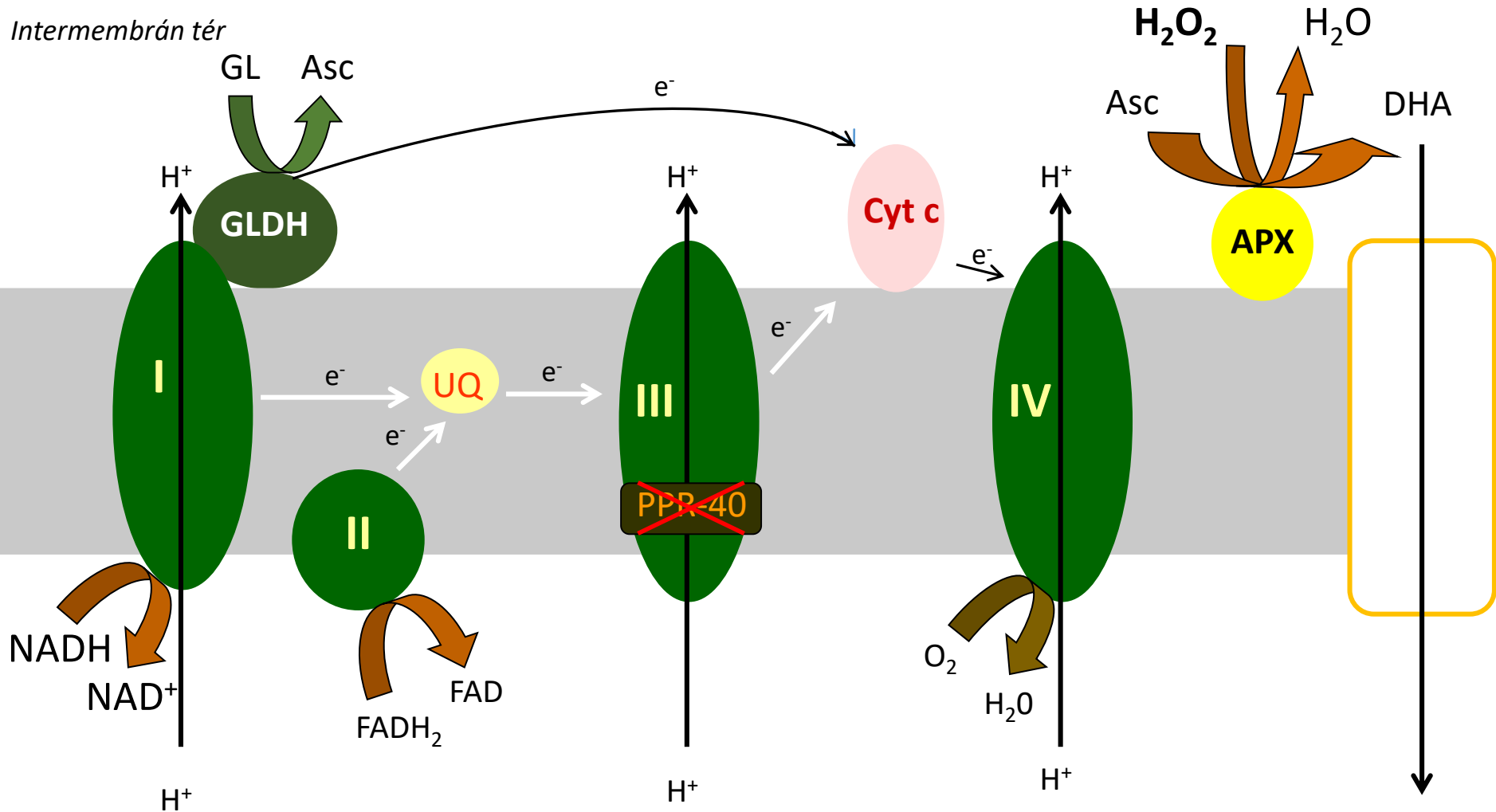


Vad típusú és ppr-40 sejt, szövet és mitokondrium C-vitamin szintek



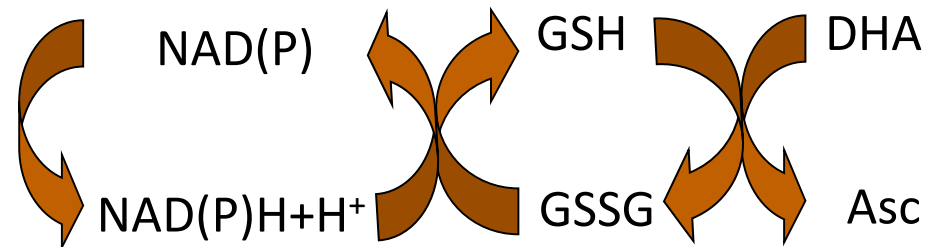
Aszkorbát anyagcsere ppr-40 mitokondriumban

Intermembrán tér

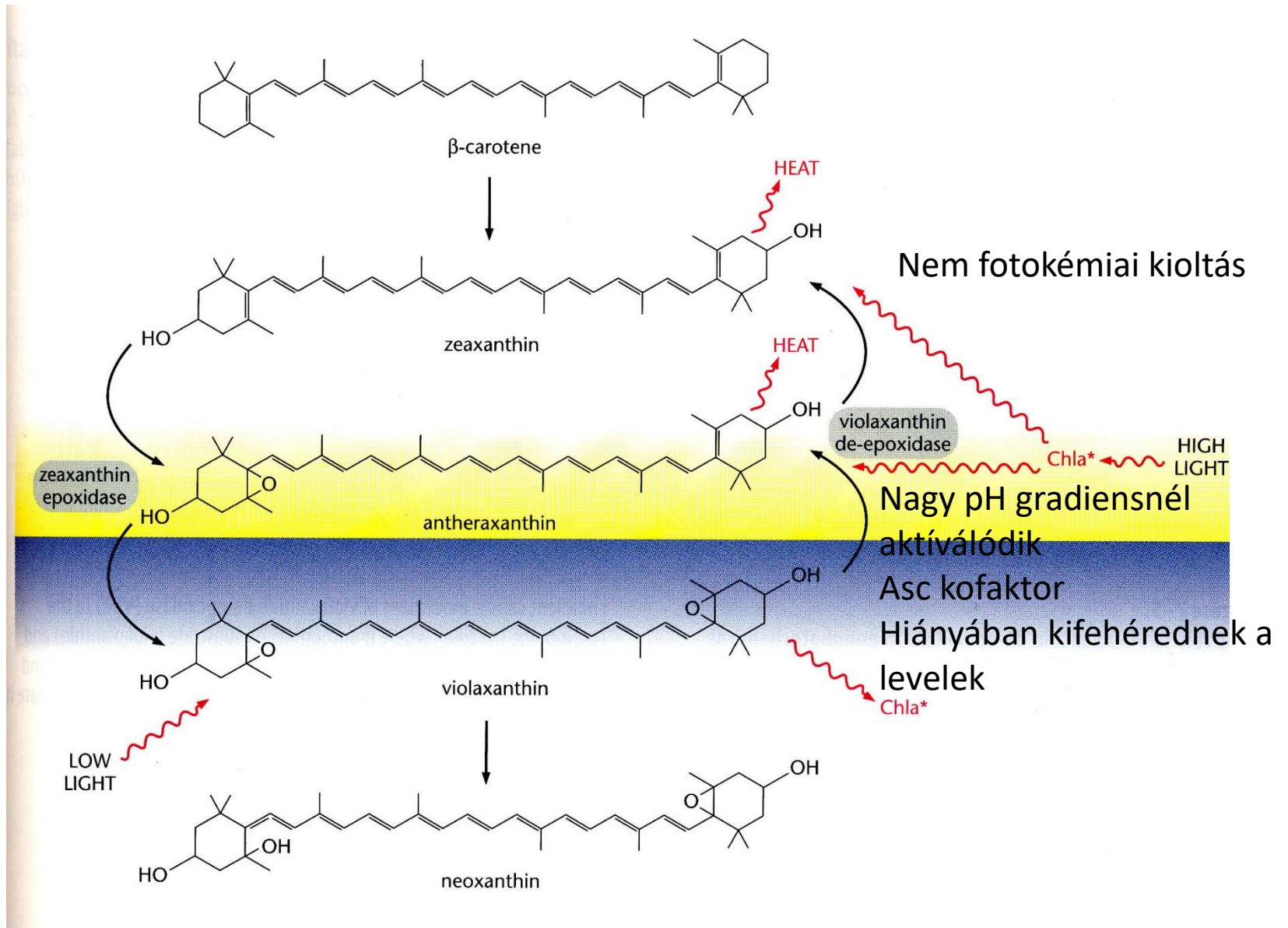


Mátrix

NAD(P)H
képződés



A xantofil ciklus



Magas hőmérséklet stressz

Átlagos túlélési határ: 45 °C

Stressz: 30°C felett

Néhány mediterrán növény túlélési határa: 48-55 °C

Trópusi fák: 45-55°C

Szubtrópusi növények: 50-60°C

A levél 5-10 °C-kal melegebb, mint a környezet hőmérséklete.

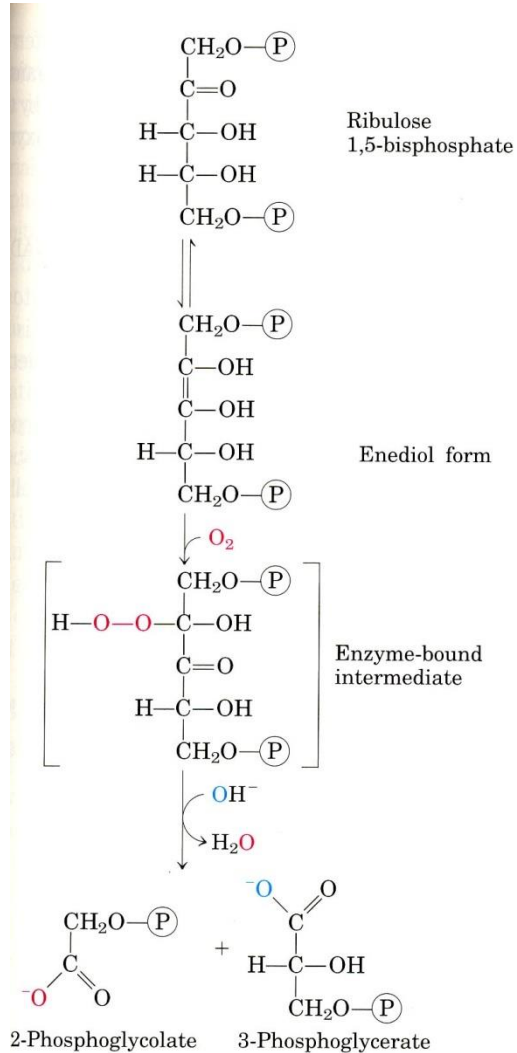
Magok, pollenek tűréshatára: 70-120 °C

Szénnyereség csökken! A fotoszintetikus beépítés és a szénvesztés egyenlősége:

kompenzációs pont

Fotorespiráció

A RUBISCO specificitása limitált.



$$O_2: K_M = 350 \mu M$$

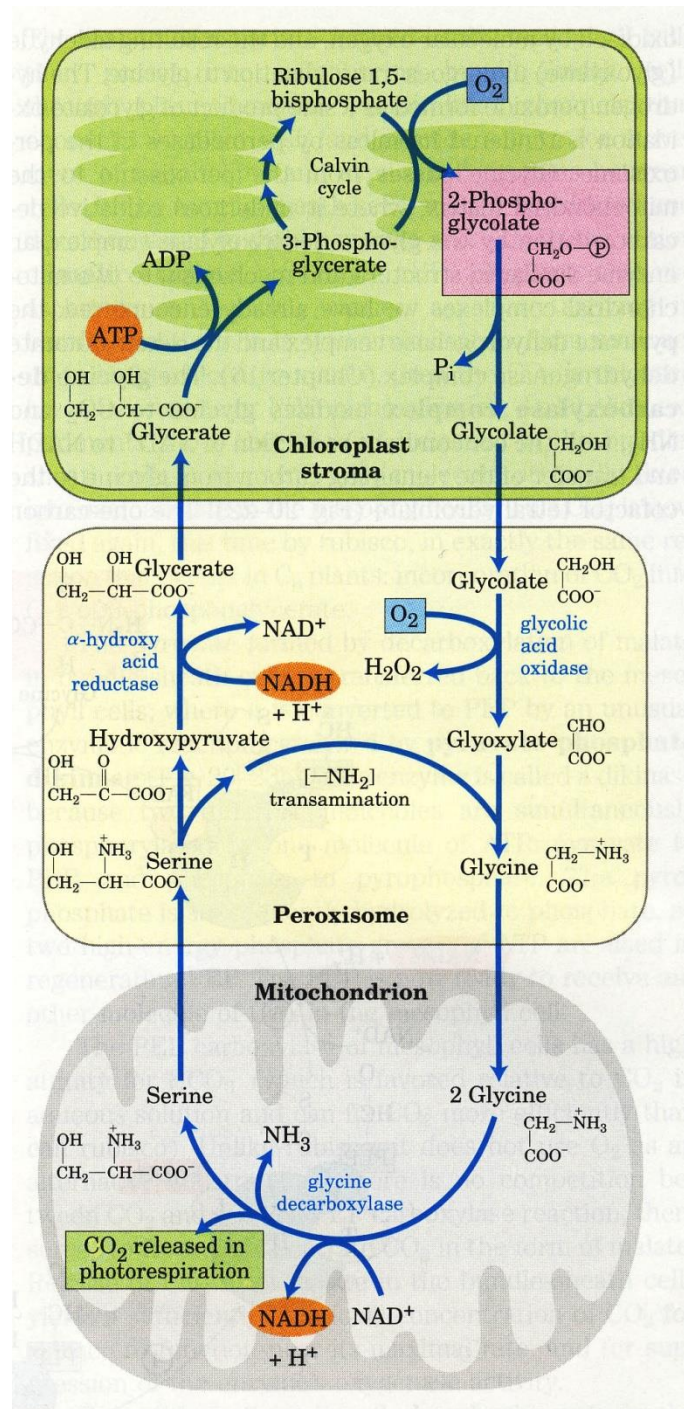
$$CO_2: K_M = 9 \mu M$$

A hőmérséklet növekedtével nő az O_2/CO_2 oldódási aránya

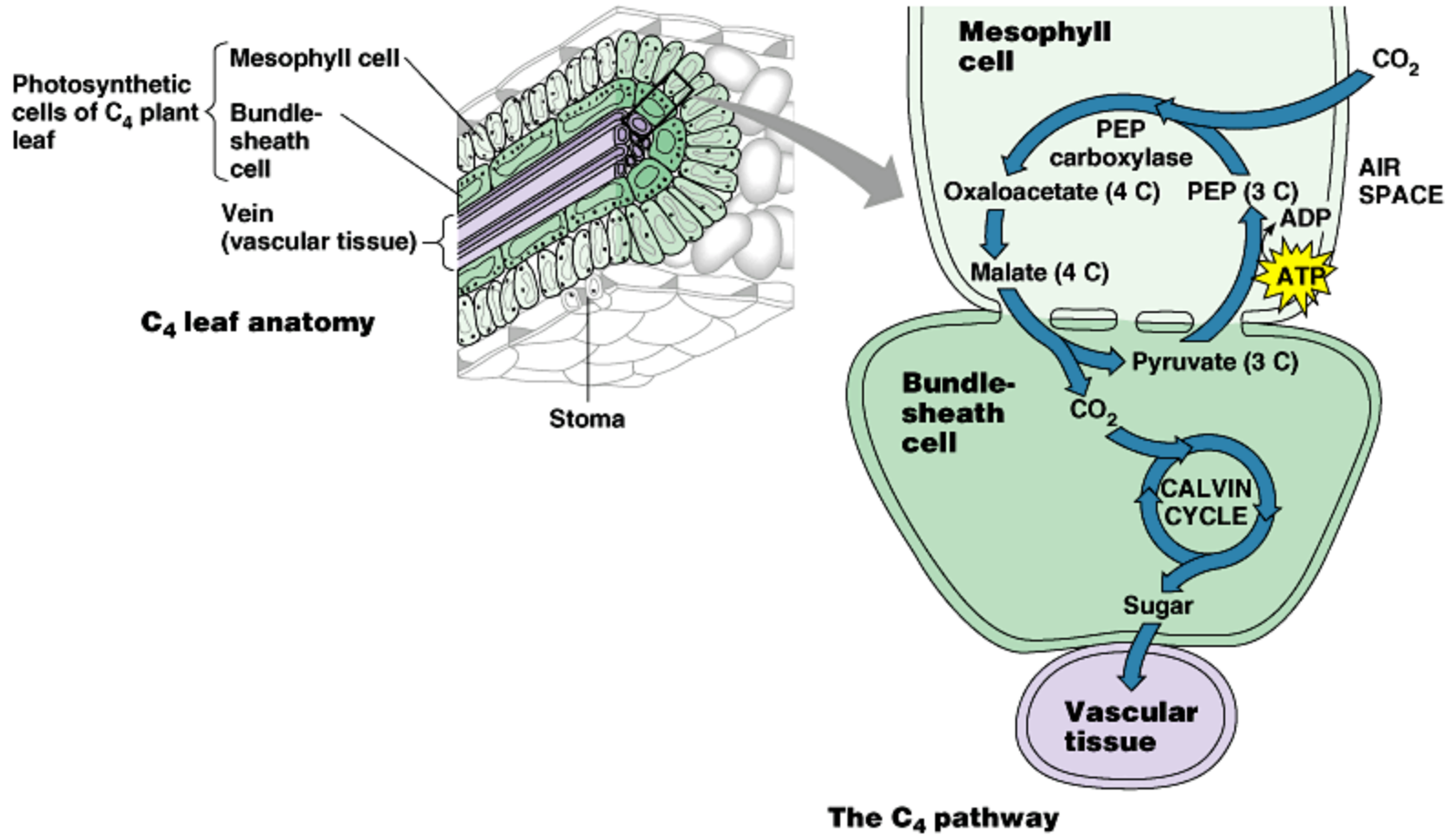


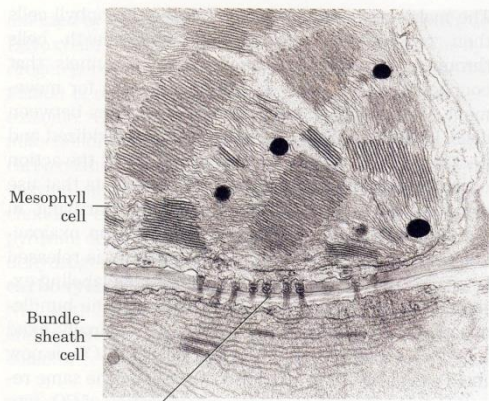
Fotorespiráció jelentősége megnő

Glikolát útvonal



A meleg száraz éghajlaton élő növények a CO_2 beépítés C_4 -es útját választották

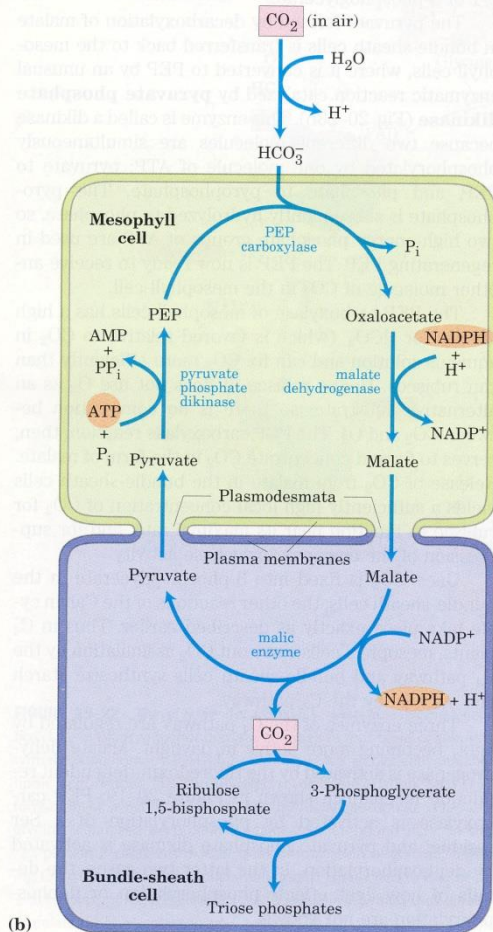




(a) Plasmodesmata

C4-es útvonal enzimeit a világosság szabályozza:

- Malát DH
- PEP karboxiláz
- Piruvát-foszfát dikináz



(b)

C4 energiaigényesebb: 5 ATP vs. 3 ATP

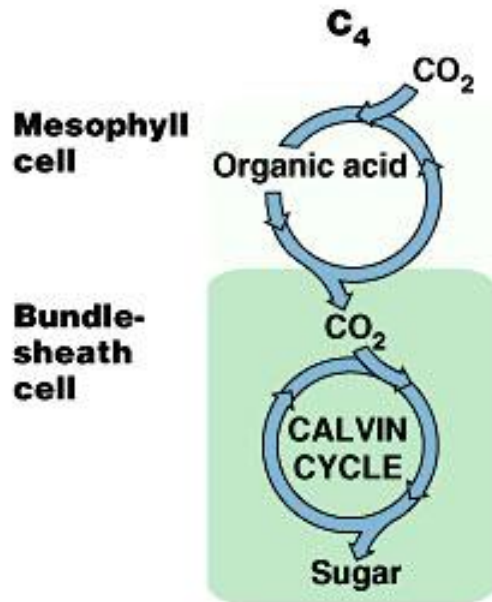
28-30 °C felett



Sugarcane



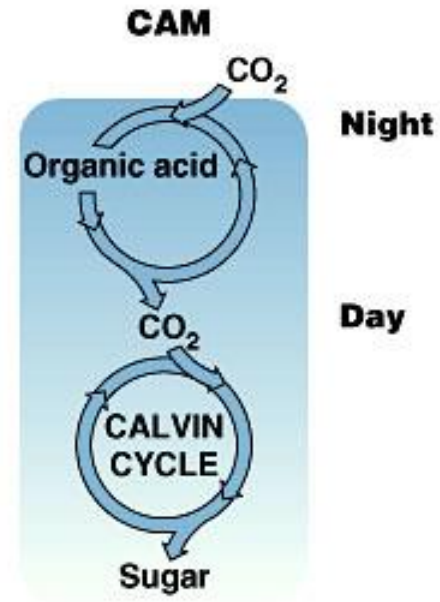
Pineapple



1 CO₂ incorporated into four-carbon organic acids (carbon fixation)

2 Organic acids release CO₂ to Calvin cycle

(a) Spatial separation of steps



(b) Temporal separation of steps

Hősokk fehérjék

A normálnál magasabb, szubletális hőmérsékleten indukálódnak
5 csoportba oszthatók a moltömeg alapján: HSP 100, 90, 70, 60, kis HSP

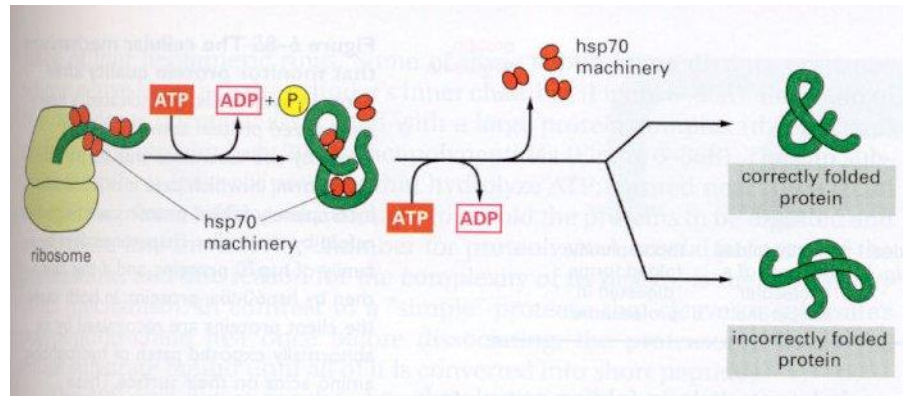
Arabidopsis HSP 100 családtagok különösen fontosak a hőtolerancia kialakításában.

Ha kiütjük akkor 38 °C-on kondicionált növények növekedése elmarad. 45 °C
-on

Túltermeltetve pedig fokozódik a hőtűrésük.

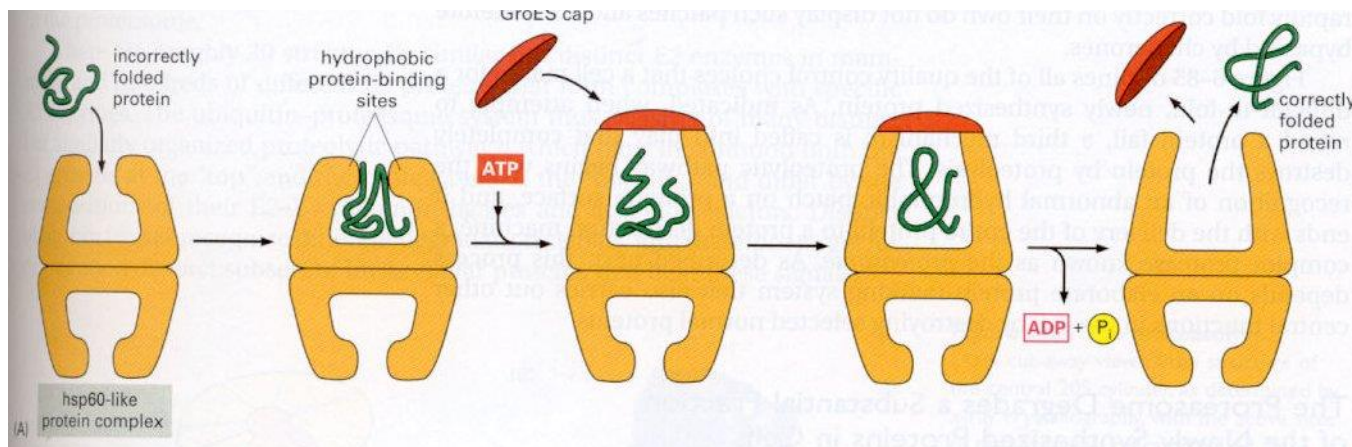
Molekuláris chaperonok - dajkafehérjék

A fehérjék gardedámjai: megakadályozzák aggregálódásukat,



segítik refoldingjukat

A hsp70 család és működési területe



A hsp 60 család

Növények klónozása

Célok

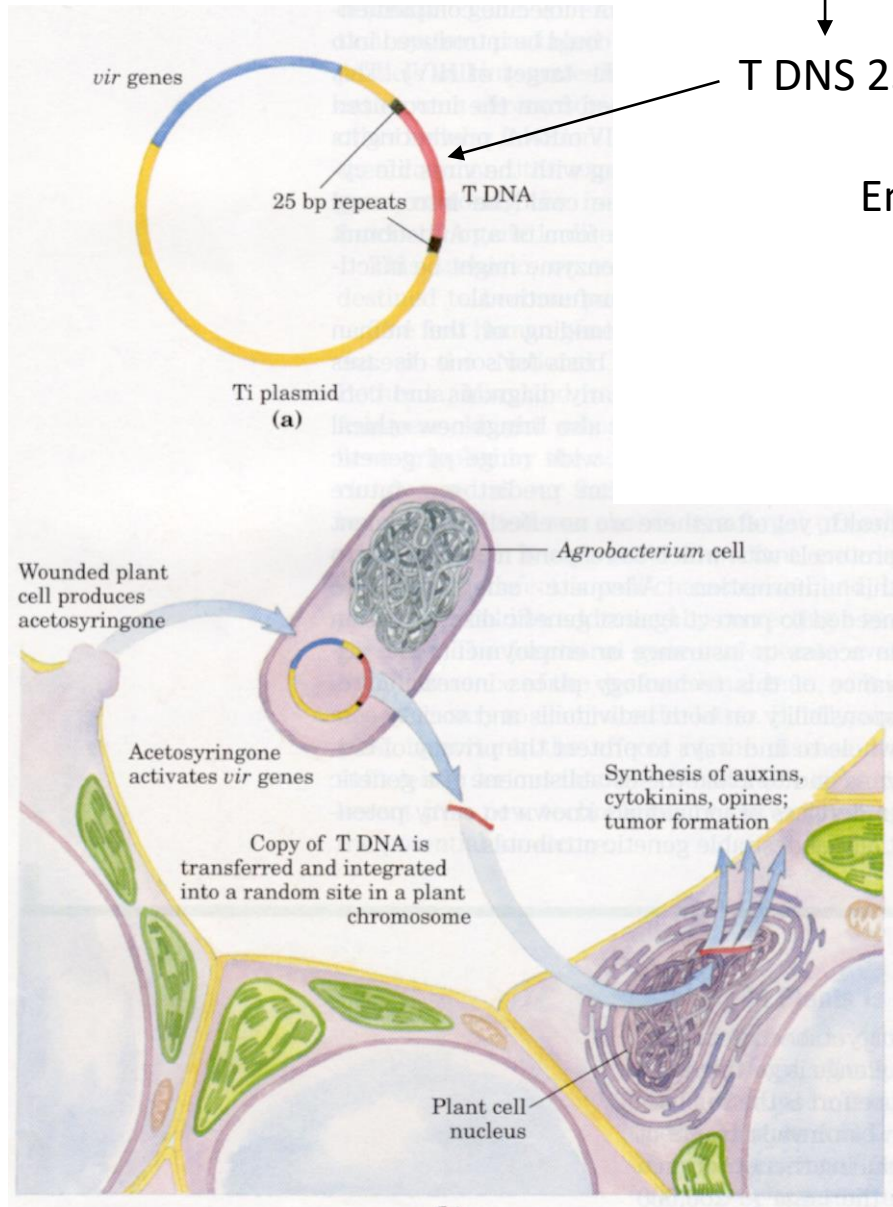
- Táplálkozástani érték növelése
- hozam növelése
- Rezisztencia kialakítása (rovar, gyomirtó szer, betegség, hideg, só, szárazság)

Legnagyobb kihívás: növényi plazmid nem ismert.

Hogyan jut a DNS a sejtbe?

Megoldás: Agrobacterium tumefaciens

Nagyméretű (kb. 200 000 bp) plazmidot tartalmaz (Ti plazmid)



T DNS 23 000 bp

Enzimeket kódol

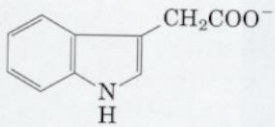
A gőb növekedését elősegítő növényi hormonok

szokatlan aminosavak (opinok)

A baktérium saját hasznára hajtja a növény erőforrásait.

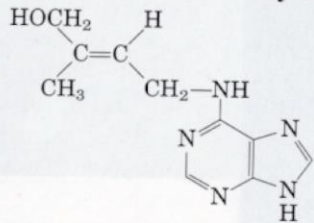
Ritka példa a prokarióta.eukarióta DNS transferre

Auxins

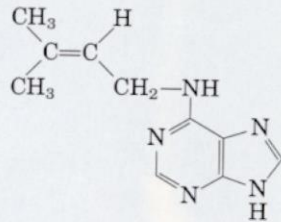


Indoleacetate

Cytokinins

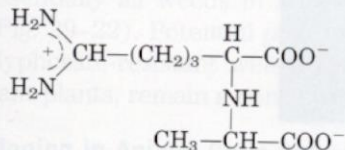


Zeatin

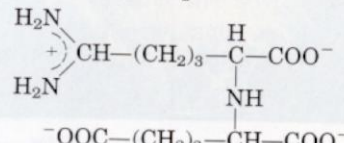


Isopentenyl adenine
(i⁶ Ade)

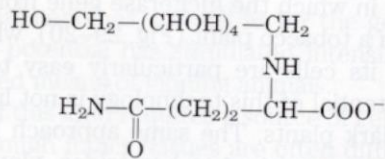
Opines



Octopine



Nopaline



Mannopine

Természetes génmérnökség

Jó lehetőség a növényekbe történő rekombináns DNS bejuttatására

Klónozás Ti plazmid segítségével

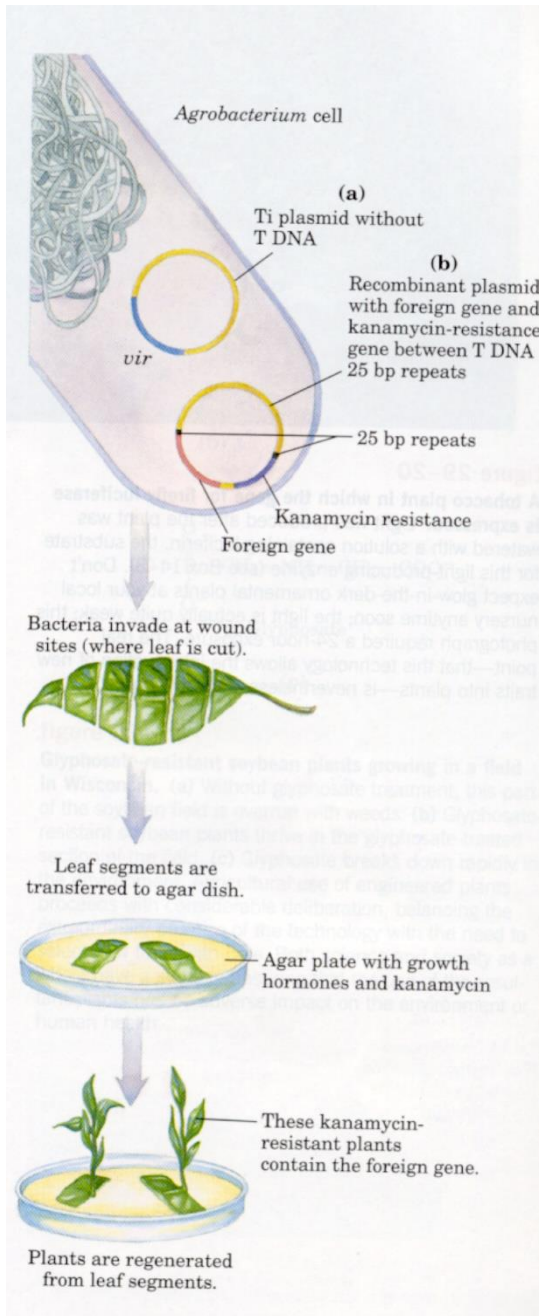
1. T DNS mentes Ti plazmid
2. Agrobacterium-E coli vektor



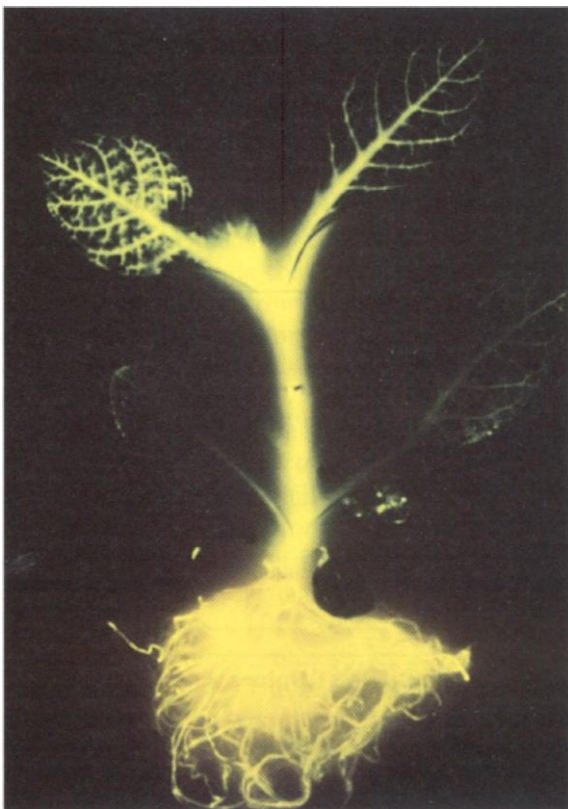
-Nincs tumornövekedés (T DNS hiányzik)

-Helyette idegen gén kifejeződik

Kanamycin tartalmú agaron növesztik a növényt, melynek minden sejtjében jelen lesz az idegen gén



A Klónok Támadása



Szent-János bogár luciferáz kifejezése dohány
növényben



Rovar rezisztens paradicsom

A bevitt gén egy bakteriális (*Bacillus thuringiensis*)
toxint tartalmaz



Növényvédőszer rezisztens (RoundUp Ready) szója

Spanyolország

0,1 millió ha

kukorica

Németország

<0,05 millió ha

kukorica

Románia

0,1 millió ha

szója

India

0,5 millió ha

gyapot

Kanada

5,4 millió ha

Repce, kukorica,
szója

USA

47,6 millió ha

Szója, kukorica,
gyapot, repce

Mexikó

0,1 millió ha

Szója, gyapot

Honduras

<0,05 millió ha

kukorica

Kína

3,7 millió ha

gyapot

Fülöp-szigetek

0,1 millió ha

kukorica

Ausztrália

0,2 millió ha

gyapot

Brazília

5,0 millió ha

szója

Kolumbia

<0,05 millió ha

gyapot

Argentína

16,2 millió ha

Szója, kukorica, gyapot

Uruguay

0,3 millió ha

Szója, kukorica

Paraguay

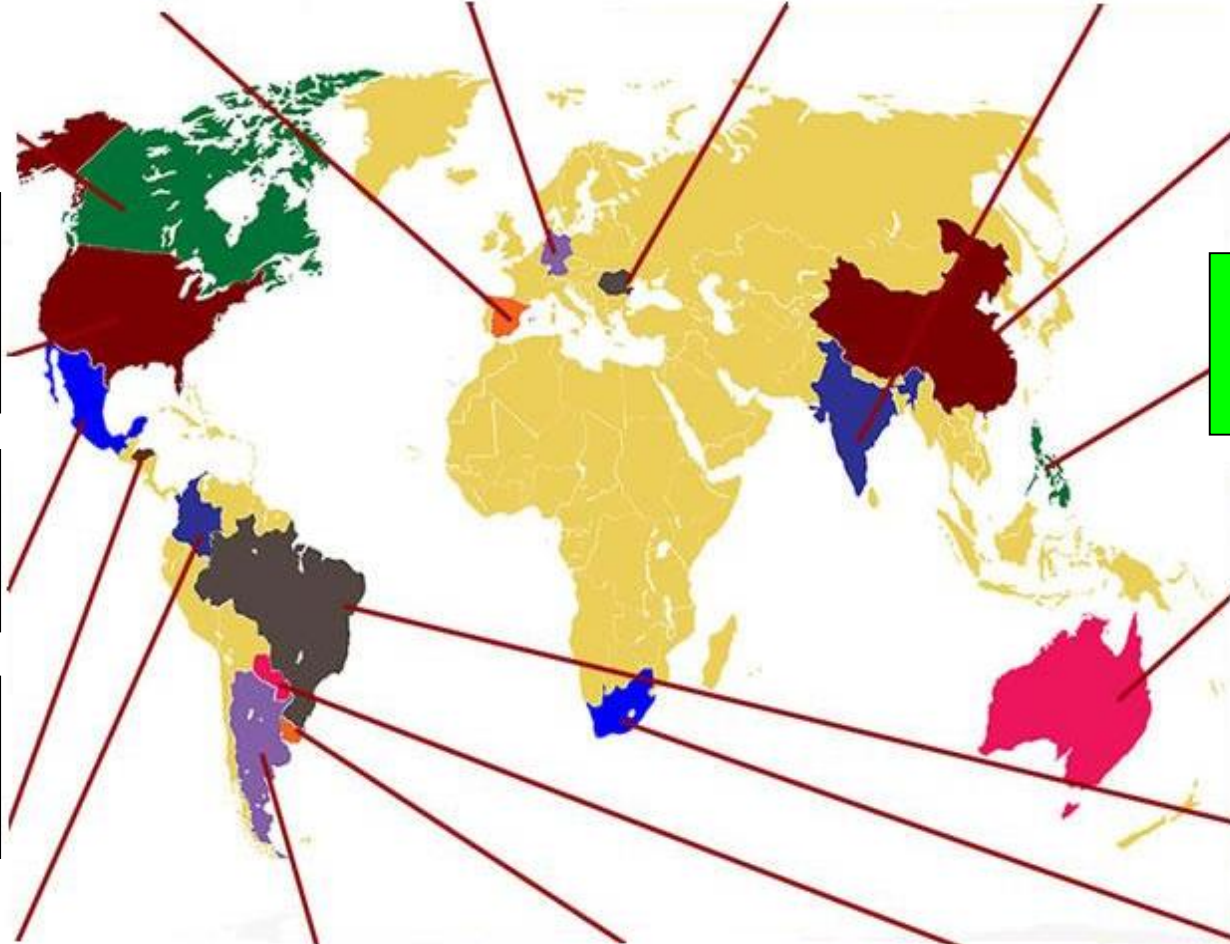
1,2 millió ha

szója

Dél-Afrika

0,5 millió ha

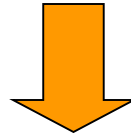
Szója, kukorica,
gyapot



Fogyasztói magatartás: EU-ban a lehetséges kockázatok miatt nagy ellenszenv

Jelöléskötelezettség: 1829/2003 EK rendelet

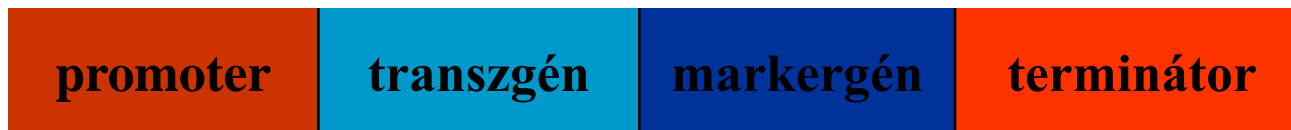
Küszöbérték: 0,9%



Technológiai oldalról: validált módszerek kidolgozásának szükségessége, amelyekkel kvantitatív módon meghatározható a GM összetevők aránya

Célkitűzés

GMO mennyiségi meghatározására alkalmas általános szűrőmódszer kidolgozása kukorica és kukorica alapú ipari termékekre



CaMV 35S

NOS

Abiotic stress



heat



cold

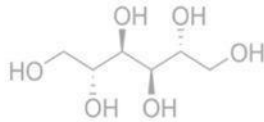
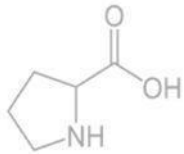


drought

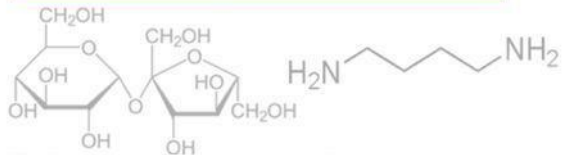
salt

metals

flooding



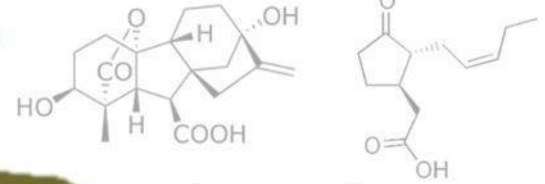
primary metabolites



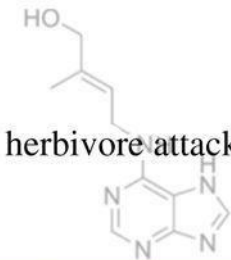
plant development

Biotic stress

pathogen attack

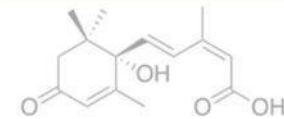


insect attack

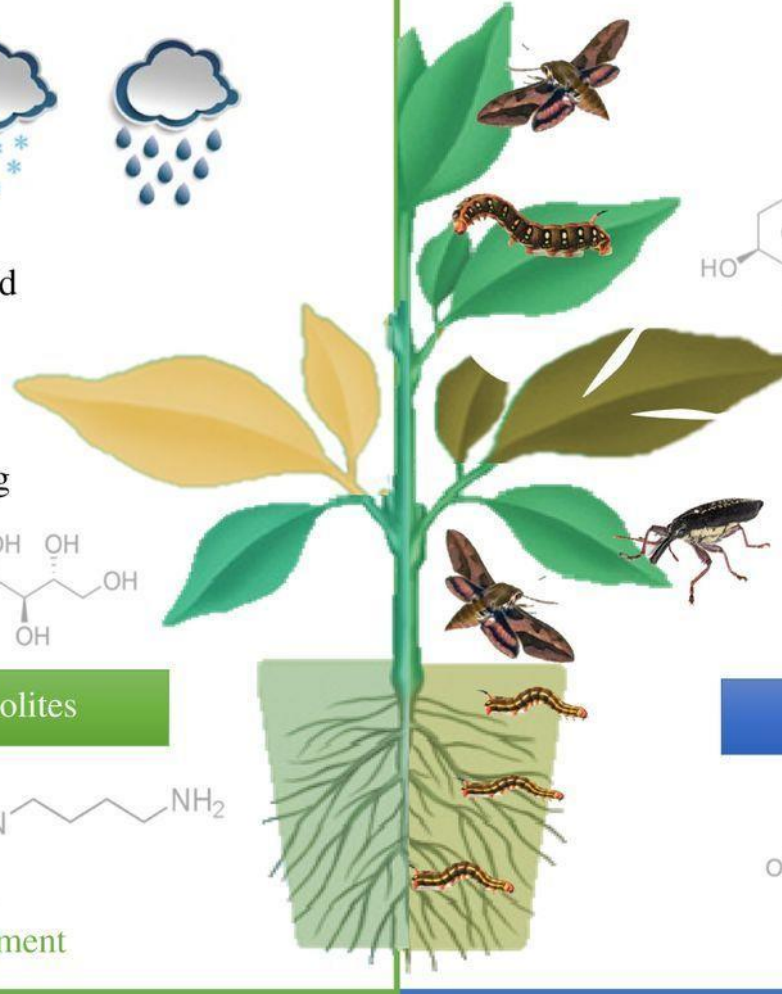


herbivore attack


phytohormones




plant defence



A harpin fehérjék

- **Biotikus stressz kiváltására alkalmas bakteriális (növénypatogén) eredetű fehérjék**
 - jellegzetes molekuláris motívumot tartalmazó fehérjék (PAMP)
- **Harpinek által kiváltott biotikus stressz:**
 - Valódi patogén fertőzés nincs
 - A növényi immunválasz létrejön

***megnövekedett
ellenállóképesség***
- **További pozitív hatások:**
 - Intenzívebb növekedés
 - Nagyobb termés hozam
- **Ökotoxikológia**
 - Elhanyagolható mértékű környezeti hatás

alternatív permetszer (biopesticid)

A harpinek hatásmechanizmusa

- Receptorhoz (jelenleg nem azonosított) kötődés
- Harpin fehérjék által kiváltott biotikus stressz:
 - Legkorábbi sejtválasz: *oxidatív kitörés*
 - magas reaktivitású gyökök és molekulák mennyiségének hirtelen, ugrásszerű növekedése
 - A reaktív oxigénvegyületek (ROS) kettős védelmi szerepe:
 - patogén károsítása
 - szignálmolekula
 - A túlzott mértékű ROS akkumuláció megelőzése létfontosságú
 - oxidatív károk
 - esetleges fatális következmények