

## 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.

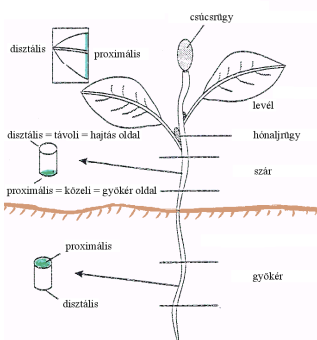
1

## 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



22. ábra. Merisztémák elhelyezkedése a növény föld feletti és föld alatti szerveiben  
A fekete pontokból a hajtás-, illetve gyökérmérszékletük jellemezhető.

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

4

## KALLUSZTENYÉSZET

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



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



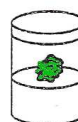
Kb. 1 cm-es korongokat vágunk ki a levél-lemez-ből



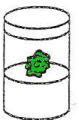
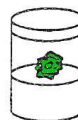
A korongokat auxint és citokinint tartalmazó agaros táptalajra helyezik, 20 C-on megvilágítva inkubálják

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

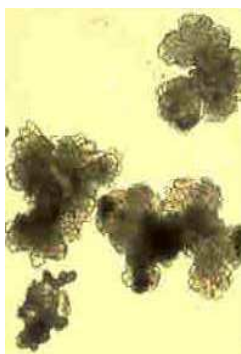
## Szuszpenziós tenyészet

Rendszerint nem különálló sejtek, hanem sejtcsomók

Előállítása kallusz tenyészetből

- centrifugával 50 rpm-el (=üleítés)
- kis mennyiségű sejtfallbontó 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

- enzim sejtfallbontás (celluláz, pektináz) és/vagy mechanikus roncsolás
- nagy ozmózisnyomás (szaharóz, mannitol) beállítása
- nagyon érzékeny ozmotikus és mechanikai hatásokra
- osztódásra, szaporodásra képes
- a sejtfall újraszintézise kiváltható → kalluszá alakul → teljes növény



8

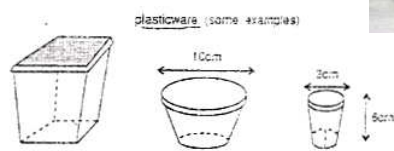
## TENYÉSZTÉSI KÖRÜLMÉNYEK

- Hőmérséklet: 15-32 °C, befolyásolja a szaporodási sebességet
- Gázösszetétel: néha 1-5 % CO<sub>2</sub>, etilén
- Páratartalom: magas, az edényekben 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

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 <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,65
KNO <sub>3</sub>	1,90
CaCl <sub>2</sub> *2H <sub>2</sub> O	0,44
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	0,37

**Mikrokomponensek, mg/l**

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

**Vitaminok (mg/l)**

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

**Vas, komplex formában**

FeSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	27,8
Na <sub>2</sub> EDTA*2H <sub>2</sub> O	37,3

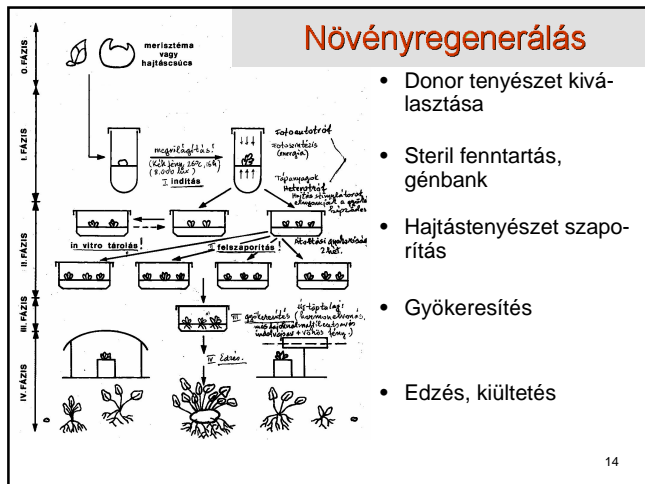
12

## NÖVÉNYI HORMONOK

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

13

## Növényregenerálás



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

14

## Hajtástenyészetek

- Gyökér nélküli hajtások növekedése táptalajon steril, kontrollált körülmények között
  - Előállítása: hajtásokból és levélhóaljban 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 hajtáserkentők elnyomják a gyökérképződést
- Hormonvonással viszont indukálható
- Vörös fény
- Gyümölcsfáknál nehéz megvalósítani



16

## Edzés, kiültetés

- Steril körülmények között nem adaptálódott a környezet-höz 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, növényvédőszerrel)
- Tűrőképeség fokozása (szárazság, hőmérséklet-ingadozás)
- Nitrogén-fixálás bevitel
- Hozam javítása (termés/felület/idő)
- Minőség/összetétel javítása (fehérjetartalom, 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,  $\beta$ , 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.

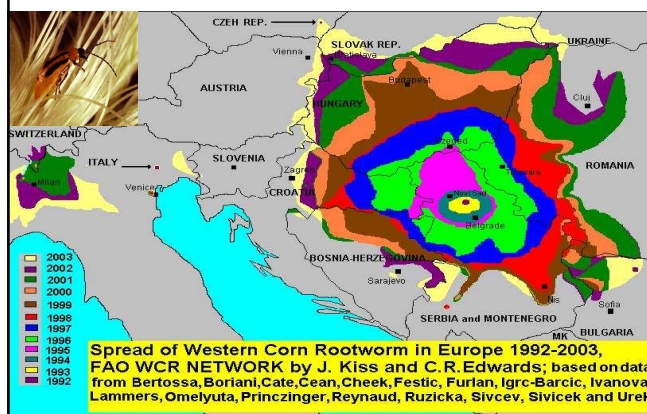
20

## 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

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



## 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 szénhidráttartalom
- 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 természetből fajták ellenében genetikai beszűkülés, beltenyésztettség leromlás, esetleg nem várt kórokozók elleni védtelenség.
- Károsító rezisztencia alakulhat ki → ellenálló gyomok, gombák, rovarok kifejlődése
- Magas költségigény → tőkekoncentráció → 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



31

### 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.

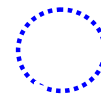
34

### 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 feljelentik

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 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 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