

# Tartalom

Előszó .....	9
I.1. A növények szaporodásának alapvető jellemzői .....	11
I.2. A természetes vegetatív szaporodás és a mesterséges vegetatív szaporítás formái... 15	
I.2.1. A vegetatív szaporodás változatai a növényvilágban .....	17
I.2.2. Tőosztás, bujtás, dugványozás, oltás és szemzés.....	19
I.3. A szaporító sejtek általi ivartalan és ivaros szaporodás változatai .....	35
I.3.1. Spórák általi ivartalan szaporodás .....	35
I.3.2. Gaméták általi ivaros szaporodás .....	37
I.4. Sporofiton és gametofiton életszakaszok.....	41
I.4.1. Szaporodási ciklusok és szaporító szerkezetek moháknál, izospórás és heterospórás harasztoknál, valamint a fenyőféle nyitvatermőknél.....	43
I.5. Sporogenezis, gametogenezis és kettős megtermékenyítés a zárvatermőknél.....	51
I.5.1. Mikrosporogenezis és a pollen szerkezete .....	52
I.5.2. Mikrogametogenezis a pollenben.....	54
I.5.3. Makrosporogenezis a magkezdeményben.....	55
I.5.4. Makrogametogenezis és az embriózsák szerkezete .....	56
I.5.5. Megtermékenyítés a zárvatermőknél .....	58
I.6. A megtermékenyítés elmaradásával történő embrióképződés (apomixis) változatai.....	61
I.7. A megporzás típusai és a virágok szerveződési formái.....	65
I.7.1. Önmegporzás és keresztezett megporzás .....	65
I.7.2. Anemofil, hidrofil és zoofil megporzási változatok.....	68
I.7.3. Alaktani virágtípusok.....	72
I.7.4. A zárvatermők virágának felépítése .....	74
I.8. Pollen-bibe kölcsönhatás .....	85
I.9. Virágzatok.....	87
I.10. Embriogenezis, endospermatogenezis és magképződés.....	91
I.10.1. A mag felépítése .....	97
I.11. A termés.....	101
I.12. A magvak és termések elterjesztése .....	109
II.1. A növények mikroszaporításának és regenerációs képességének biotechnológiai alkalmazásai .....	115
II.2. Növényi szaporítóanyag alapuló biotechnológiák .....	121

II.3. A növényi biotechnológia tárgya és nemzetközi fejlesztésének fő irányai: növényvédelmi (rezisztenciafokozási), nemesítési és termésfokozási stratégiák, ezek gazdasági jelentősége .....	127
II.4. A növénybiotechnológiák időbeni fejlődése.....	129
II.5. A növénybiotechnológia gazdasági alkalmazásának lehetőségei.....	133
II.5.1. Alkalmazási lehetőségek a növénynemesítésben .....	133
II.5.2. Biotechnológiai stratégiák a növényvédelemben .....	137
II.5.3. A biotechnológia alkalmazása a növényi szaporítóanyag előállításában.....	141
II.5.4. A növények termelékenységét befolyásoló biotechnológiák.....	143
II.6. A növényi sejt- és szövettenyésztés módszereit alkalmazó biotechnológiai eljárások. <i>In vitro</i> klónozás általi mikroszaporítás és kórokozómentesítés. Merisztéma- és hajtástenyészetek. Merisztémák és embriók fagyaszttva tárolása (krioprezervációja), az örökletes változatossági tartalékok megőrzése <i>in vitro</i> génbankokban és a genetikai stabilitás biztosítása.....	149
II.6.1. <i>In vitro</i> klónozás általi mikroszaporítás.....	150
II.6.2. Merisztématenyészetek útján nyert hajtástenyészetek és járulékos szervek tenyésztete .....	152
II.6.3. Növényi inokulumok kórokozómentesítése .....	154
II.6.4. <i>In vitro</i> génbank létesítése a biodiverzitás megőrzésére.....	156
II.7. Növényregenerálás sejt-, szövet és szervtenyészetekből a morfogenezis alternatív útjain .....	159
II.8. Szomatikus embriógenézis és a mesterséges mag létrehozása.....	165
II.9. Növényi generatív szaporítóelemek <i>in vitro</i> tenyésztésén alapuló biotechnológiák: virág-, magház-, magkezdemény-, nucellusz-, endospermium-, portok-, pollen- és embriókultúrák létesítése és felhasználása .....	169
II.10. <i>In vitro</i> megporzás és mesterséges megtermékenyítés növényeknél .....	173
II.11. Pregerminálkultúrák és posztgerminálkultúrák előállítása és felhasználása.....	175
II.12. Mesterséges ginogenezis és androgenézis általi haploidia indukálása izogén vonalak előállítására .....	177
II.13. A szomaklonális variabilitás kialakulása és felhasználása.....	183
II.14. Növényi sejtenyészetek.....	187
II.15. Mutánsizoláció növényi sejt- és szövettenyészetekben .....	191
II.16. Protoplasztok fúziója általi szomatikus sejthibridizáció .....	195
II.17. A szomatikus hibridek sejtszintű és növényregeneráció utáni szelekciója. A fajhatárok átlépése paraszexuális távoli sejthibridizációval .....	201
II.18. Aszimmetrikus sejthibridek.....	205

II.19. Extranukleáris (plasztidiális és mitokondriális) tulajdonságok átvitele és kombinálása cibridizációval .....	207
II.20. Izolált sejtmagok és metafázisos kromoszómák átvitele protoplasztokba .....	211
II.21. Transzgénikus növények létrehozása DNS-transzformációval: <i>Agrobacterium</i> plazmidok és dezoxiribovírusok általi, valamint közvetlen génátviteli módszerek Génexpressziós vizsgálatok transzgénikus növényekkel.....	213
II.21.1. <i>Agrobacterium</i> Ti-plazmidokat felhasználó génátviteli rendszerek .....	217
II.21.2. Dezoxiribovírusok felhasználása növényi génátvitel vektoraiként .....	220
II.21.3. Transzgénikus növények létrehozása közvetlen DNS-bevitellel.....	221
II.22. Idegen gének megnyilvánulása a transzgénikus növényekben.....	223
II.23. A regenerálódó növényi biomassza felhasználása üzemanyag- és energiatermelésre, a vegyipar, az élelmiszeripar és az egészségügy számára.....	227
Név és Tárgymutató.....	233
Irodalomjegyzék.....	239

## I.1. A növények szaporodásának alapvető jellemzői

A szaporodás minden élőlény egyik alapvető tulajdonsága, hiszen az önfenntartó szerkezetek és folyamatok mellett az élő szervezetek utódok képzése által a fajfenntartást is biztosítják, újraképezve alapvető jellemvonásaikat a kialakuló új egyedekben. Így, az egyedek rövid élete ellenére, biztosítható a fajok fennmaradása sokkal hosszabb időre, valamint az elterjedés új életterekben, tehát a szaporodás biztosítja az élet folytonosságát és rendezett változatosságát a Földön. A szaporodás lényegében egy élőlénynek az a képessége, hogy önmagához hasonló utódot hozzon létre, vagyis alapvető tulajdonságait átjuttatja a következő nemzedékbe. A jellegek újraképzése az utódokban a **reprodukciónak**, és általában ezzel egyidejűleg az egyedszám is növekedik, amit **multiplikációnak** nevezünk. Ez utóbbi, bár nagyon jellemző a növényvilágra, nem szükségszerű velejárója a szaporodásnak, hiszen például, amikor két szülőnek egyetlen utódja keletkezik, ekkor az egyedszám a következő nemzedékben ezáltal a felére csökken. A szaporodás sejtszintű alapja a sejtosztódás és a keletkező utódsejtek önállóvá válása (másképp a sejtosztódás csak testnövekedést okoz), molekuláris alapja pedig a DNS önmegkettőződése (autoreduplikációja).

A szaporodásnak két alapvető típusát szoktuk megkülönböztetni: az ivartalan és az ivaros szaporodást. **Ivartalan** szaporodásról akkor beszélünk, amikor egyetlen szülőegyed hozza létre az utódot, melynek keletkezésekor nem történik megtermékenyítés. Az ivartalan szaporodásnak is két változatát lehet elkülöníteni: a vegetatív szaporodást és a szakosodott szaporítósejtek (spórák) általi szaporodást. Vegetatív szaporodáskor az utód a szülőegyed testének egy olyan részéből keletkezik, amely nem kifejezetten csak szaporodást szolgál, az utódképzéshez hozzájáruló sejtosztódás pedig a mitózis (számartó sejtosztódás). A szűkebb értelemben vett ivartalan szaporodás olyan szakosodott szaporító sejtek által történik, melyek általában meiózissal (számfelező sejtosztódással) keletkeznek, és nem képesek részt venni a megtermékenyítési folyamatban (nem egyesülnek másik szaporítósejttel az új szervezet kialakításakor), tehát az utódot ebben az esetben is egyetlen szülő hozza létre. **Ivaros** szaporodásról akkor beszélünk, amikor a meiózist követően kialakult, két különböző nemű szaporító sejt (női és hím gaméta) a megtermékenyítés folyamatában egyesül egymással, és a keletkező utódban kombinálódnak a két ivarsejt örökletes tulajdonságai (melyek általában két különböző szülőegyedtől származnak). Következésképpen a vegetatív ivartalan szaporodás stabilan megőrzi az utódokban a szülő tulajdonságait, a spórák általi ivartalan szaporodás (amikor a spórák meiózissal keletkeznek) egyetlen szülő tulajdonságainak különböző kombinációit hozza létre az utódokban, az ivaros szaporodás pedig az utódok változatosságát (sokféleségét) ezáltal növeli, hogy legtöbbször két különböző szülő tulajdonságainak más-más kombinációit társítja egymással a kialakuló új egyedekben. A gaméták közötti véletlenszerű megtermékenyítéssel beteljesülő ivaros szaporodás a szülői tulajdonságok sokféle új kombinációját hozza létre az utódokban. Ezekhez a

véletlenszerű mutációk is társulhatnak, így a faj egyedei nagyon változatosak lesznek. Ez a sikeres evolúció alapfeltétele, hiszen ha a környezeti körülmények változnak, a sokféle egyed közül nagy valószínűséggel lesz olyan, amely az újfajta környezetbe jobban beilleszkedik, elszaporodik, biztosítja fajának fennmaradását és fokozatos hozzáidomulását az új körülményekhez.

A növényvilágban a szaporodásnak nagyon változatos formái alakultak ki, amelyek által a növények benépesítették a legkülönbözőbb vízi és szárazföldi élettereket, ahol elsődleges szervesanyag-termelőkként lehetővé tették a többi élőlény létezését is.

A növények szaporodására vonatkozó ismereteink fokozatosan gyarapodtak az idők során. Például, a XVIII. században Spengler „A természet felfedett titka a növények felépítésében és a megtermékenyítésben” című művében a növények virágrészeit (a porzót és a termőt) az állatok és az ember hím és női ivarszervével (a hímveszővel, valamint a hüvellyel és a méhvel) hasonlította össze. Azt is leírta, hogyan szaporodnak a növények különböző „szerelmi küldöncök” (rovarok, madarak, a víz és a szél) segítségével, melyek az ondófoládék nélküli hímport eljuttatják a várakozó petesejtet magában rejtő női szaporító készülékhez. Műve olyan felháborodást keltett korának értelmiségi köreiből, hogy még iskolamesteri állásából is elbocsátották, a könyvet pedig kivonták a forgalomból. Ma elmondhatjuk, hogy a növények és az állatok szaporodásának alapvető mechanizmusa lényegében megegyezik. Minden élőlény úgy tartja fenn az élet folytonosságát, hogy a szülők örökítő anyaga sejtszinten átadódik az utódokba. A különbségek pedig főleg abban mutatkoznak, hogy a növényvilágban általánosan elterjedt az ivartalan szaporodási mód, gyakori a kétneműség (hímnősség), és a növények többsége élete során ivartalanul és ivaroson egyaránt szaporodik, így szaporodási ciklusuk kétszakaszos (van külön haploid testű életszakaszuk is).

Az egysejtűek szaporodása általában kettéosztódással történik, melynek során az anyasejt teljes örökítő anyagának egy-egy példánya egyformán eljut mindkét utódsejtbe. A sejtek önálló életet folytatnak, vagy együtt maradhatnak többsejtű telepet alkotva. Többsejtűeknél a telep feldarabolódásával is megvalósulhat az elszaporodás, a regenerációs képesség érvényre jutásával.

Hajtásos növények esetében az ivartalan szaporodásnak van egy vegetatív (nem szakosodott) és egy spórák általi (specializálódott) formája, az ivaros szaporodásban pedig általában egy nagyobb és mozgásképtelen női gaméta (petesejt) és egy kisebb, helyét változtató hím gaméta vesz részt. A spórák általi ivartalan szaporodás és a gaméták segítségével megvalósuló ivaros szaporodás a legtöbb hajtásos növény életszakaszában (akárcsak számos algánál és a moháknál is) társul egymással, az ivartalan (spóráképző) és az ivaros (gamétaképző) életszakasz szabályosan követi egymást. Ez nagyobb fennmaradási és elterjedési esélyt biztosít a fajoknak a nagyon sokféle, stabil vagy változó környezeti körülmény között, hiszen az ivartalan és az ivaros szaporodási formáknak egyaránt vannak előnyeik és hátrányaik.

**Ivartalan vegetatív szaporodás** által, ha egy növényegyed eljut egy számára megfelelő új élőhelyre (pl. egy szigetre), itt sok új példányban leképezi önmagát, és rövid időn belül benépesíti a vidéket. Az **utódok** mind **egyformák**, alkalmazkodó képességük nem jobb, de nem is rosszabb, mint a szülőnövényé. Ezért, ha a körülmények lényegesen megváltoznak, valószínű, hogy egyikük sem éli túl az új helyzetet. Ezzel szemben az **ivaros szaporodás** olyan **utódokat** eredményez, melyek két szülő örökítő anyagát különböző kombinációkban tartalmazzák, bizonyos mértékben egymástól és a szülőktől is **különböznek**. Közülük egyesek kevésbé alkalmazkodóképesek a helyi körülményekhez, mint szüleik, mások viszont jobban beilleszkednek környezetükbe. Ha pedig az életfeltételek megváltoznak, fennáll annak esélye, hogy – bár legtöbbjük elpusztul – egyesek sikeresen életben maradjanak, és tovább szaporodjanak, mert a sok változat között van olyan is, ami jól elviseli az új helyzetet. Állandó környezetben tehát az ivartalan, változó környezetben pedig az ivaros szaporodás lehet előnyösebb. A körülmények előreláthatatlansága miatt pedig számos növény ivartalan és ivaros úton egyaránt szaporodik. Így, például, a földi eper indák segítségével nagyon sok azonos ikerutódot hoz létre, ugyanakkor virágozik is, és bár a magkezdemények petesejtjei genetikailag azonosak, a szél vagy a rovarok számos más, távoli epernövény virágából hozhatnak pollenszemeket, így a magvakban kialakuló embriók apai eredetű örökítő anyaga nagyon sokféle lehet.

A növényvilág evolúciója során nyomon követhető a **szaporodási módok fejlődése** is, mely párhuzamosan haladt a vízi életmódtól egyre függetlenebbé váló szárazföldi életmód kialakulásával és az utódok védelmének fokozódásával. A vízben élő algák ivartalan és ivaros szaporító sejtjei (spórái és gamétái) általában ostoraik segítségével önállóan úsznak. A szárazföldi, de még nedves helyeken élő moháknál és harasztoknál csak a hím ivarsejtek mozognak vizes közegben, a petesejt mozdulatlan, a spórák pedig passzívan szóródnak ki. Virágos növényeknél már a hím gaméták is passzívan szállítódnak a petesejthez. Ugyanakkor a megtermékenyítés is fokozatosan **függetlenné válik a víztől**.

Számos alga ivarsejtjei a vízben egyesülnek egymással. A mohák és harasztok hím gamétái vízben úszva jutnak el a női ivarszervhez, de a megtermékenyítés már nem vízben játszódik le. A virágos növények mozgásképtelen hím gamétáit pedig a pollentömlő citoplazma-áramlása vezeti a magkezdemény női ivarkészülékéhez, tehát itt a megtermékenyítés előtt sincs szükség vízre, a hím gaméták ostor nélküliek. A telepes növények ivartalan szaporító sejtjei a telep egyes részein fejlődnek ki. A páfrányok többségénél a spórák a valódi levelek fonákján kialakuló képződményekben jelennek meg, magvas növényeknél pedig **módosult levelekből** létrejön egy nagyobb védelmet biztosító szaporító hajtás: a **virág**. Fejlett zárvatermőknél a virágkelemek összenövése és a magház vacokba süllyedt, alsó állása fokozza a magkezdemények biztonságát.

A növények törzsfejlődése és szélsőségesebb éghajlatú élőhelyeken való elterjedése során kialakulnak a nyugalmi állapotú ivartalan szaporító képződmények is. A

szárazföldi növények spórái kiszáradt állapotban rendkívül ellenállóképesek, csakis kedvező körülmények között fejlődnek tovább (ivarszerveket fejlesztő előteleppé). Ugyanígy a virágos növények magvai nyugalmi állapotban hosszú ideig (akár több ezer évig) átvészelik a kedvezőtlen időszakot, és csak ennek befejeztével hozzák létre az új csíranövényt.

## I.2. A természetes vegetatív szaporodás és a mesterséges vegetatív szaporítás formái

A vegetatív szaporodás alapja a mitotikus sejtosztódás, illetve a regenerációs képesség, vagyis az, hogy a növényi sejtek omnipotenciájának tulajdoníthatóan egy növény valamely, egy- vagy többsejtes testrészéből új, teljes növényegyed alakulhat ki. A vegetatív ivartalan szaporodás, vagyis egyetlen szülő vegetatív testi sejtjeiből történő, szakosodott szaporító sejtek (spórák, gaméták), meiózis és megtermékenyítés nélküli utódképzés fő előnyei:

- mozgásképes szervezetek esetében nem kell energiát és időt befektetni az azonos fajú, ellentétes nemű partner megtalálására, a mozgásképtelen egyedek pedig nem kell biztosítsák a hím és női gaméták egymáshoz jutását és egyesülését, vagyis egy egyed szaporodása nem függ egy másik egyed jelenlététől és szaporodási stádiumától;
- nincs anyag- és energiaelhasználás gaméták képzésére (a hím csírasejtek, bár kicsik, általában nagyon nagy számban termelődnek, a petesejtekben pedig sok tartalék tápanyag képződik);
- egy új élőhely benépesítésére elegendő egyetlen egyed megtelepedése, melynek utódai gyorsan elterjednek a rendelkezésre álló térben; rövid idő alatt nagy számú új egyed keletkezhet (például, ha egy alga új vízi környezetbe kerül), ezek pedig gyorsan kihasználják a rendelkezésre álló forrásokat;
- a környezetéhez jól alkalmazkodott szülőegyed tulajdonságai az utódokban megőrződnek, így ezek ugyanolyan eséllyel fejlődnek az illető környezetben, mint elődjük;
- fenntarthatók betelepített növények olyan élőhelyeken is, amelyeknek természetes növényzetébe nem illeszkedtek be (pl. nálunk a burgonya, a muskátli, a fukszia, az olasz nyárfa, a szobafikusz, a ginkó vagy páfrányfenyő), illetve amelyek nem virágoznak, és nem képeznek magot (pl. nemesített banán, ananász).

Az ivartalan szaporodás fő hátrányai:

- a sok egyforma igényű utód egyöntetű populációt alakít ki, mely túlnépesedés során kimeríti az élettér tápanyagforrásait, ami tömeges pusztuláshoz vezethet;
- nincs elegendő örökletes változatosság az utódok között, így a környezet megváltozásakor nincs szelekciós kínálat, ami – bizonyos eltérő tulajdonságú egyedek előnybe kerülése által – fenntartaná a populációt az illető élőhelyen; például egy fertőző mikroorganizmus egyformán terjed el minden egyedben, nincsenek ellenálló változatok, így a betegség a teljes növényállományt elpusztítja.

Az ember által végzett mesterséges vegetatív szaporítás sajátos előnyei:

- a kívánt tulajdonságot viselő növényegyednek meghatározott idő alatt korlátlan számú másolatát (klónját) lehet létrehozni (1. ábra);





**1. ábra.** A hagymák általi vegetatív szaporítással nagy egyedszámban megőrizhetők és reprodukálhatók a nemesített növényváltozatok értékes tulajdonságai (a szerző felvétele a hollandiai Keukenhofban)

- a módszer gyors, egyszerű, viszonylag kis helyet igényel és egész évben végezhető, a kinti időjárástól függetlenül;
- olyan nemesített növényfajták, melyek sterilek (pl. banán) vagy nagyon alacsony csírázási rátát mutatnak (pl. orchideák), csak vegetatív úton szaporíthatók hatékonyan;
- elkerülhető a fertőző betegségek terjedése az utódokban, hiszen továbbszaporítás céljából kiválogathatók a kórokozómentes testrészek (pl. csúcsmerisztémák).

A mesterséges vegetatív szaporítás fő hátrányai:

- az utódok előállításának viszonylag magas költsége;
- a mesterséges termesztési körülmények következtében az utódok érzékenyek a szélsőséges környezeti hatásokra, ezért edzeni, akklimatizálni kell őket a szabadba való kiültetés előtt;
- szintén a mesterséges körülményeknek és kezelési módoknak tulajdoníthatóan az utódok örökletes anyaga instabillá válhat, előre nem látható, véletlenszerű változások alakulhatnak ki (szomaklonális variabilitás), így egyes utódok hasznos tulajdonságai elveszülhetnek; ez főleg olyan szövettenyészetekben történik meg, amelyekben differenciálatlan állapotban (izolált, osztódóképes sejteken, kalluszon) keresztül regenerálódnak az új növények.

### 1.2.1. A vegetatív szaporodás változatai a növényvilágban

A természetes vegetatív szaporodás széles körben elterjedt a növényvilágban.

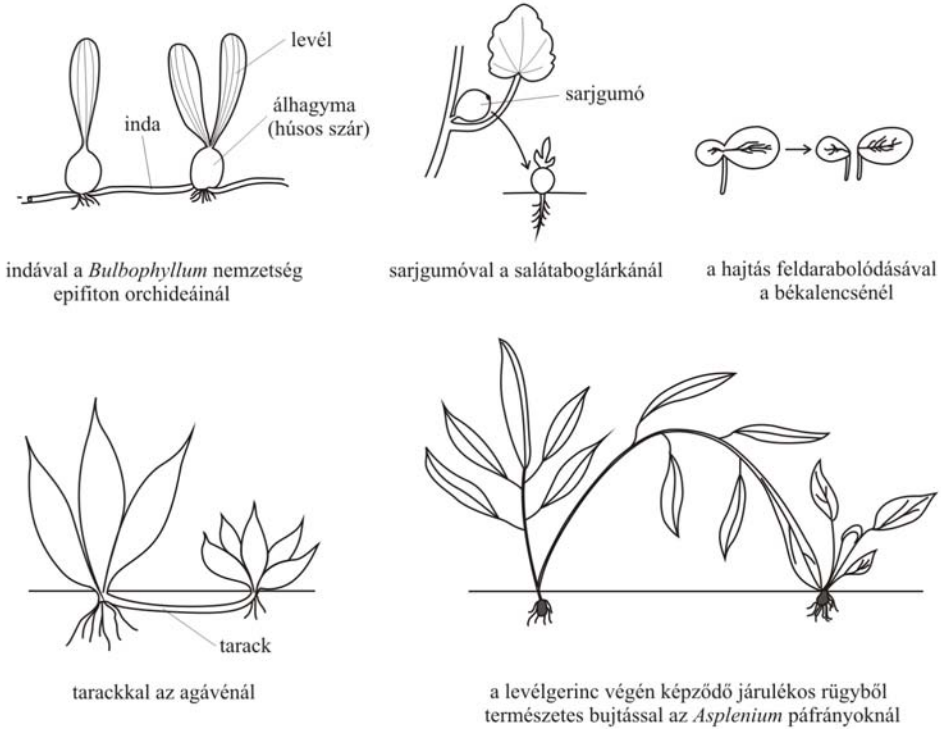
A mitotikus sejtosztódás az egysejtű algák természetes szaporodási módja, aminek segítségével kedvező életkörülmények között benépesítik a vízi élettereket, melyeknek ezáltal mennyiségileg a legszámottevőbb elsődleges szervesanyag-termelői. Az anyasejt sejtmagja, majd teljes beltartalma kettéosztódik, a két leánysejt pedig, miután kialakítja saját egységes plazmamembránját és sejtfalát, elválik egymástól, és önálló életet kezd, miközben folyamatosan növekedik. Algáknál a leánysejtek közötti elválasztó sejtfal a mitózis végén általában ellentétes irányt követve alakul ki, mint a hajtásos növényeknél: a fikoplasztnak nevezett közös válaszfal a középpontból terjed sugárirányban a felület felé, nem pedig kívülről induló betüremkedésként (ahogyan hajtásos növényeknél a fragmoplaszt fejlődik a leánysejtek között). Egyes egysejtű és cönóbiális algáknál az anyasejt sejtfa által közrezárt térben keletkező kettő, négy vagy több, kisméretű utódsejtet autospórának szokták nevezni (pl. *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Pediastrum*, *Chlorococcum* fajoknál). Ez nem egészen helyes kifejezés, mert ezek a leánysejtek nem szakosodott szaporító sejtek (nem spórák), mitózissal keletkeznek és növekedve új felnőtt egyedekké válnak, felszakítják az eredeti anyasejt falát és önálló életet kezdenek.

A többsejtű telepes algák és mohák vegetatív úton általában a **telep feldarabolódásával** és a fragmentumokból új egyedeknek a regenerálódásával szaporodnak. Például, a békanyál fonala egyes harántfalak mentén több rövidebb szakaszra válhat szét, melyek mindegyike önálló egyedként folytatja életét. A májmohák lemezes teleptestén kis kosár alakú sejtcsoportok, propagulumok különülnek el, melyekből új növények fejlődnek. Ilyen propagulumok vannak egyes teleptestű vörös- és barnaalgáknál is.

A hajtás feldarabolódása által történő vegetatív szaporodás egyik legismertebb példája a vízi hajtásos növényeknél figyelhető meg. Az anyanövényről leváló leveles szárszakaszokkal szaporodik a kanadai átokhínár (*Elodea canadensis*, mely nálunk nem virágzik, így ivarosán képtelen szaporodni), a süllőhínár (*Myriophyllum spicatum*), a békaszőlő (*Potamogeton natans*), a békalencse (*Lemna minor*), a rucaöröm (*Salvinia natans*), továbbá a szárazföldi növények közül a menta, a pimpó, a sivatagi fügekaktusz szexuálisan meddő fajai stb. Ezt a fragmentációs és regenerációs hajlamot használják fel a mesterséges vegetatív szaporításban is.

Szintén egyes vízi hajtásos növényekre jellemző a sajátos áttelelő **sarjtrügyek** általi vegetatív szaporodás. Ezek a hajtásnak olyan csúcsrügyei, melyek tartalék tápanyagot halmoznak fel, ősszel leválnak az anyanövényről, a víz alján védetten áttelelnek, majd tavasszal kihajtanak, a tartalék tápanyagok felhasználásakor könnyebbekké válnak, és az új növények kiemelkednek a vízfelszín közelébe, ahol jobban éri őket a napfény. Így szaporodik, például, az apró rákokat emésztő vízi rence (*Utricularia vulgaris*), a békatutaj (*Hydrocharis morsus-ranae*) stb.

Néhány hajtásos növény olyan elkülönülő járulékos rügyek által képes vegetatív módon szaporodni, amelyek keletkezhetnek a levéllemez szélei mentén (pl. az őszülőnél vagy másik nevén az „elevenszülő” pozsgás sarjikánál, *Bryophyllum pinnatum*), gyökereken (pl. hárs, kőris, orgona, bodza, lórom, torma) vagy a virágzatokban (pl. egyes hagyma, perje és agávé fajok). Ezek a rügyek lehullanak az anyanövényről, meggyökeresnek és önálló, azonos örökítő anyagú utódnövényekké fejlődnek. Például, vannak olyan terjedelmes nyírerdők, melyek egyetlen nyírfa sarjzadás általi vegetatív szaporodásával kialakult ikeregvedekből állnak.



2. ábra. A vegetatív szaporodás néhány módja hajtásos növényeknél (eredeti)

A **hagymák, gumók, hagymagumók, gyöktörzsek, sarjgumók** és **sarjgumók** olyan módosult hajtások, melyek a kedvezőtlen évszak átvészélése és tartalék tápanyagok raktározása mellett rügyeik által vegetatív szaporodást is szolgálnak. Például számos liliomféle egyszikű növény szaporodik hagymák és gyöktörzsek által, de sok egyéb évelő, lágú szárú hajtásos növényfaj is. A föld feletti **indák** és a földbeni **tarackok**, bár nem halmoznak tartalékanyagot, az előbbiekhöz hasonlóan a vegetatív szaporodást (a klonalitást) szolgálják (pl. földi eper, kúszó boglárka, libapimpó, tarackbúza). Például, az amerikai, afrikai és ausztrál esőerdőkben fánlakó életmódot folytató *Bulbophyllum* nemzetség orchideái vékony, vízszintes indákkal kúsznak a faágakon. Ezek az indák hagymaszerűen húsos szár alsó részéből erednek, és rövid idő alatt számos új klónnövényvel (ramettel) telepítik be a faágak felületét.

A sivatagok laza homokos talaján földbeni tarackokkal szaporodik az agávé, a *Sporobolus* nemzetségbe tartozó pázsitfűvek pedig szintén tarackokkal terjeszkednek a trópusi tengerpartok homokján. Ezeknél a növényeknél elég nehéz eldönteni, hogy minden gyökeres hajtás egy-egy egyedet képvisel-e, vagy pedig a vegetatív szaporító szárákkal egymással közvetlen kapcsolatban maradó részek egyazon terjeszkedő szervezet tartozékai. Nedves erdőtalajon az összetett levelek gerincének földre hajló végén levő sarjrügyekből gyorsan gyökerező új növénykéik keletkeznek az *Asplenium* nemzetség páfrányainál. A lombhullató erdők aljnövényzetében gyakori salátaboglárka levélhómaljaiban keletkező, húsos tengelyű sarjgumók a földre hullva új növényeket alakítanak ki, tehát szintén a vegetatív szaporodást szolgálják (2. ábra).

## I.2.2. Tőosztás, bujtás, dugványozás, oltás és szemzés

A mesterséges vegetatív szaporítás széles alkalmazási körnek örvend a kertészeti növénytermesztésben, értékes tulajdonságú dísznövények, gyümölcsfák, nemes szőlőfajták, leromlott területek újratelepítésére kiválogatott cserjék és erdőalkotó fák, fűszer- és gyógynövények, egyes zöldségnövények stb. esetében. Egyes változatait régóta alkalmazzák, és folyamatosan tökéletesítik a növények szerkezetének és életműködéseinek (elsősorban az osztódó szöveteknek és a differenciálódás genetikai és hormonális szabályozásának) egyre alaposabb megismerésével, mások pedig már a modern biotechnológiák körébe tartoznak. Ilyen a steril sejt, szövet- és szervtenyészeteken alapuló *in vitro* vegetatív mikroszaporítás, melyet főleg a nagyüzemi növénykereskedésben, a dísz- és haszonnövények genetikai transzformálás általi nemesítésében, új fajták előállításában és az értékes ritka növények génbankjainak létesítésében alkalmaznak.

A mesterséges vegetatív szaporítás alapja a dedifferenciálódás és redifferenciálódás, a járulékos szervképződés, illetve a teljes regenerációs képesség, aminek tulajdoníthatóan a hajtásos növény bizonyos különválasztott testrészei teljes szervezetekké fejlődnek. Az így létrejött egyedek alkotják a **sarjnemzedéket**, melynek egymással és a szülőnövényvel azonos tagjait klónoknak is nevezzük (a *klon* görögül ágacska-t jelent, utalva arra, hogy a növényről leválasztott ágacska nedves talajban meggyökereszik és új növényé alakul). Az ivartalanul szaporított növényfajtáknál a klón fogalmát szűkebb értelemben is használják: egy meghatározott, ismert anyanövény ivartalan szaporulatát értjük rajta.

Magról szaporítva általában nem lehet olyan egységes növényállományt nevelni, mint vegetatív szaporítással, ezért olyan esetekben, amikor fontos az egyedek egyöntetűsége, a vegetatív szaporítást lehet alkalmazni. Az utódok tulajdonságai kismértékben itt is módosulhatnak: olyan örökletes változások (mutációk) jöhetnek létre, amelyek a megnyilvánuló tulajdonságok bizonyos változásával járhatnak. Ha a kedvezőtlen tulajdonságok felhalmozódnak, a vegetatíván szaporított fajták

leromlanak. A fajtaleromlás elkerülése végett a vegetatíván szaporított fajtákat folyamatosan vizsgálni és válogatni kell, ez a **klónszelekció**. Ilyenkor a fajta legalkalmasabb egyedeit választják ki anyanövénynek, ezeket szaporítják.

A hagyományos vegetatív szaporítási módok két fő csoportba sorolhatók. Az egyikben az elkülönített vegetatív testrészek felhasználása saját gyökerű szaporulatot eredményez, a másik pedig (az oltások és szemzések csoportja) szervátültetésen alapul: a nemes anyanövény rügyeit vagy többrügyes hajtásrészét kell átültetni és összenövesztetni a gyökeret adó alanynövényvel, ami két vagy több növényegyed vegetatív részeiből továbbfejlődő utódot, oltványt eredményez. A szervátültetés vagy **transzplantáció** során egy leválasztott növényi rész (rügy, leveles szár, fiatal ág rügyekkel) egy másik növényen ejtett sebre helyezve összeforrad, majd tovább fejlődik. Az összeillesztett részek szövetei hegyszövetet (sebkalluszt) hoznak létre, majd kapcsolat létesül a képződő szállítóedények között. A gyökeres vagy még gyökér nélküli alsó növényi rész az alany, a ráhelyezett transzplantátum pedig a nemes rész. Az egybeforradt két növényi rész együtt az oltvány.

A mesterséges vegetatív szaporítás fő változatai a tőosztás, a bujtás, a dugványozás, az átoltás, a szemzés és a mesterséges táptalajon történő steril szövettenyésztés. A fiókhagymák és a rügyek leválasztásával hagymák, gumók, gyöktörzsek és indák segítségével is lehet mesterségesen vegetatív szaporítást végezni (ez gyakorlatilag a tőosztásnak egy sajátos változata).

A **tőosztás** az az eljárás, amellyel főleg az alapi részükön elágazó szárú, terjedő tövű évelő növények, cserjék szaporíthatók. Ide tartozik a hagymás, gumós, hagymagumós, rizómás növények szétválasztásos szaporítása is. A nyár végén vagy ősszel virágzó évelő növények tövét tavasszal, a tavaszi virágzásúakét pedig ősszel kell szétosztani, így az utódnövények a következő virágzásig megerősödnek. Egy-egy elágazó szártövet több részre is szét lehet választani, ügyelve arra, hogy mindegyik darabon elegendő gyökérzet maradjon. Például, a páfrányfélék általában több új hajtáscsúcsot képeznek, ezek egymástól, a gyöktörzs és a gyökerek egy-egy részével elválaszthatók, és önálló növényekké fejlődnek. A lombhullató fás növények tőosztását csak a nyugalmi időszakban lehet sikeresen végezni, azaz ősztől tavasszal, még a rügybomlás előtt.

A hagymás növényeket úgy lehet szaporítani, hogy a hagymatest tönkjén (a lapos szártengelyen) fejlődő fiókhagymákat különválasztják. A csupasz, buroklevelek nélküli liliom- és császárkorona-hagymát a húsos hagymapikkelyek szétválasztásával szaporítják, melyek tövében fiókhagymák képződnek (3. ábra). A gumók szaporítása a rajtuk található apró rügyeknek, az alattuk levő táplálósöveti rétegnek egy kis darabjával együtt történő leválasztásával végezhető. A gyöktörzsek rügyes szártagokra oszthatók, melyeket a vastagságukkal megegyező magasságú talajréteggel kell befedni az új egyedek kifejlődéséhez. A hagymás növények átültetését, a fiók- és sarjthagymák leválasztását, az ikerhagymák szétválasztását (pl. a nárciszoknál), a gumók és gyöktörzsek feldarabolását nyugalmi állapotuk idejére kell végezni. A

mi éghajlati övezetünkben a hagymákat és gumókat 15-20°C-on száraz, árnyékolt és szellős helyen kell tárolni augusztus végéig vagy szeptemberig, amikor állandó helyükre lehet ezeket ültetni. A hagymákat átmérőjük két-háromszorosának megfelelő mélységbe szokás ültetni, hogy védve legyenek a fagytól és a túlzott kiszáradástól. A fagyérzékeny kardvirág hagymagumóit, a dáliagyökereket, a begónia gumóit, a kanna gyöktörzseit minden évben a fagyok előtt föl kell szedni, és az április-májusi kiültetésig 5°C feletti hőmérsékleten kell tárolni.

A fás növények közül némelyik gyökér- és tősarjakat képez, melyeket saját gyökerekkel együtt a talajból kiemelve új növények hozhatók létre. A gyökérsarjak a talajfelszín közelében haladó gyökerek járulékos rügyeiből képződnek az anyanövénytől nagyobb távolságokra is, a tősarjak pedig a gyökérnyak tájékán nőnek ki az anyanövény közvetlen közelében. A sarjakat mindig a növény nyugalmi periódusában kell szétültetni. A gyümölcsfélék közül sarjakról szaporítható a birs, a meggy, a szilva, a málna, a mogyoró, a szeder, a ribizske. Ezeket azonban csak akkor érdemes így szaporítani, ha a növény saját gyökerű. Oltott fáknak és cserjéknek mindig az alanya sarjadzik, a sarjakról tehát csak az alanynövények szaporíthatók. Egyes fák törzsén magasabb helyzetben is megjelennek sarjak, ezeket a törzsről leválasztva, fejdugványként lehet meggyökereztetni. Szobai dísznövényeink közül így szaporítják a csavarpálmákat (*Pandanus sp.*), a sárkányfákat (*Dracaena sp.*) stb. Egyes broméliák a levelek hónaljában kis gyökeres sarjakat fejlesztenek, ezekből az anyanövényről való leválasztás után új növények nevelhetők. A kövirózsákat az apró, tarackok vagy indák végén képződő sarjlevélrózsák leválasztásával lehet gyorsan elszaporítani. Az indák szárcsomóin képződő, járulékos gyökereket és leveles szarát viselő új hajtások szétválasztásával szaporítható a számóca, az illatos kerti ibolya, a csokrosinda, számos kötőrőfűféle stb. A tűzliliomot és egyéb liliomokat a föld feletti hajtás leveleinek hónaljában kialakuló sarjhagymák által szokás szaporítani.

A **bujtás** elnevezés arra utal, hogy a hajtásrészeket a gyökeresedés idejére a talajba bujtatják, nedves földdel takarják. A bujtás során az anyanövény leveles ágait úgy gyökereztetik, hogy eközben az anyanövényen maradnak, ettől mindvégig vizet és tápanyagokat kapnak, és csak a gyökeresedés után kerülnek szétválasztásra, amikor már önálló egyedekként fejlődnek tovább. Ezt a módszert a nehezebben, lassabban gyökeresedő növények szaporítására szokták alkalmazni, illetve akkor, ha kevés utódnövényre van szükség. Bujtással csak azokat a növényeket lehet szaporítani, amelyek saját gyökerekön is jól fejlődnek és más, egyszerűbb módon nem szaporíthatók. A bujtás három gyakoribb változata a feltöltéses bujtás, a vesszőfektetés és a közönséges bujtás.

A feltöltéses bujtás az egyik legnagyobb szaporulatot eredményező bujtásmód, mely cserjetermetű növényeknél alkalmazható. Amikor az oldalágak a 20-30 cm hosszúságot elérték, alapi részüket a levelekkel együtt, mintegy 1/3 magasságig laza szerkezetű talajjal fel kell tölteni. Ahogy a hajtások tovább növekednek, a feltöltést folytatni kell mindaddig, amíg a 30-40 cm magasságot el nem éri. Az alsó részükön



talajjal betakart hajtáságak gyökeresedése a nyár végén kezdődik, és a gyökerek növekedése az ősz elején vesz nagyobb lendületet. A feltöltést a fagyok beállta előtt le kell bontani, a meggyökeresedett ágakat pedig ezután le kell vágni az anyanövénytől. Az így kapott gyökeres bujtványcsemeték azonnal állandó helyükre ültethetők. Ha a fagyok korán beköszöntenek, a feltöltés lebontását és a csemeték leszedését tavaszra lehet halasztani, ekkor azonban a rügpattanás kezdete előtt el kell végezni. Feltöltéssel bujtással sikeresen lehet szaporítani az almafa és a birs alanyait, a fűgét, a hortenziát, az orgonát, a labdarózsát stb. Oltott növényeket feltöltéssel bujtással nem ajánlatos szaporítani, mert az alany sarjai fajtakeveredést okozhatnak. Kivétel, ha az alanyból sarjadzó gyümölcsfának épp az alanyát akarjuk elszaporítani.

A vesszőfektetés általi bujtás, melyet a kertészeti szaknyelvben neveznek sugaras vagy kínai bujtásnak is, jó eredménnyel alkalmazható kúszó cserjék, illetve az ágak hosszában (a szárcsomók szintjén) könnyen meggyökeresedő növényeknél. Az anyanövénytől kiindulva körben, sugárirányban 10-15 cm mély árkok készülnek, majd ezek aljába le kell hajlítani, és kampókkal rögzíteni kell a szélső oldalágakat (úgy, hogy ezek vízszintes helyzetben maradjanak). Ebben a helyzetben a rügyek többsége kihajt. Amikor az új hajtások az árkokból kiemelkednek, vagyis elérik a 10-15 cm magasságot, alapi részüket laza komposztfölddel be kell takarni a hajtások mintegy feléig. Ezt a feltöltést meg szokás ismételni, amíg eléri a 20-30 cm magasságot. Ezután, a nyár közepétől már csak a feltöltés folyamatos nedvesen tartásáról kell gondoskodni, és időnként gyomtalanítani kell a körülöttük levő talajrészt. Ősz végére a talajba lefektetett ágak meggyökeresednek. Ekkor a töltést le kell bontani, a vízszintes helyzetű ágat pedig fel kell darabolni úgy, hogy mindegyik új hajtáshoz (melyek felfele állnak) elegendő gyökér is jusson. Így szaporíthatók a magnólia nagy virágú változatai, a láncszárú iszalag, a mogyoró, a lila akác stb.

A közönséges bujtás készítésekor az anyanövény mellett a talajban néhány cm széles rést kell nyitni, és ebbe a résbe kell lehajlítani egy alsóbb helyzetű oldalágat úgy, hogy ennek csúcsa a talajfelszín fölé emelkedjék, ívesen meghajlított középszakasza pedig a rés aljára kerüljön (3. ábra). A rést laza talajjal kell feltölteni. Fontos, hogy az ág minél meredekebben legyen lehajlítva a talajba, mert ha emelkedő íve marad, ezen a részen sok új hajtás képződik, és így a gyökeresedés gyenge lesz vagy teljesen elmarad. Ősz végén a bujtások kibonthatók a talajtöltésből, és ha meggyökeresedtek, akkor az anyanövénytől elválasztva új növényekként állandó helyükre ültethetők. A kúszónövényeknek egy-egy ágát több helyen is le lehet bujtatni (a szárcsomók szintjén), míg egyes szakaszok a talaj felszíne fölött ívelnek. Ennek a változatnak a neve hullámos bujtás, és segítségével egy ágból annyi új növény állítható elő, ahány helyen megtörtént a lebujtás. Közönséges bujtással szaporítható, például, a gyertyán, a hárs, a japánbirs, a havasszépe (rododendron), a kúszó boróka. A szőlő szaporításában a bujtás elsősorban a homoki szőlőknél alkalmazható, melyek saját gyökerű (nem átoltott) nemes fajták. Mivel a lebujtott vesszők zavarják a művelést, egyre kevésbé használják és egyre gyakrabban cserélik fel a dugványozással. Azonban kora tavasszal, a nyugalmi időszak végén rendszeresen alkalmazzák a

tőkepótló bujtást a hiányzó szőlőtőkék helyén. Ebben az esetben a vesszőt mintegy 40 cm mély gödörbe hajlítják le (csúcsi részével a talajból kiálló helyzetben) valamelyik szomszédos tőkéről, a közönséges bujtás módszerével.

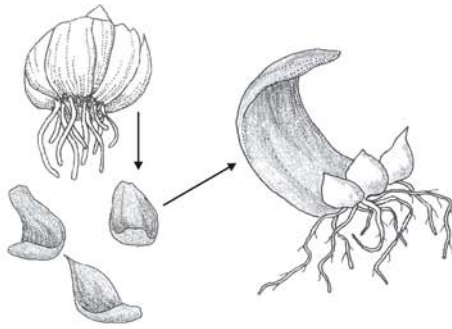
A **dugványozás** a mesterséges vegetatív szaporítás legáltalánosabban elterjedt és legegyszerűbb módja. Dugványozáskor az anyanövényről leválasztott testrészt (lágú vagy fás szárszakaszt, levelet, gyökeret) meggyökereztetik. A módszer neve arra utal, hogy nedves talajba vagy vízbe dugva a szervdarab alsó része gyökeret fejleszt és kihajt. A leválasztás metszésfelületén hegszövet (sebkallusz) keletkezik, a sérülés szomszédságában levő sejtek visszanyerik osztódó képességüket, új rügy keletkezik, mely kihajt és létrehozza az új növényt. A módszer alkalmazási körét korlátozza az, hogy bizonyos növénycsoportok, például a pillangósvirágúak (hüvelyesek) képviselői nehezen vagy egyáltalán nem képesek járulékos gyökerek kialakítására. Aszerint, hogy melyik növényi szerv részéből származik az utódnövény, a dugványozásnak 4 fő változata van: hajtásdugványozás, levéldugványozás, fásdugványozás és gyökérdugványozás.

A hajtásdugványozás alapja, hogy az anyanövényről leválasztott leveles szárrészek általában jól meggyökeresednek, növekednek, és új rügyeket fejlesztenek (3. ábra). A hajtások feldarabolásával készített dugványok lágú és fás szárú növények vegetatív szaporítására egyaránt alkalmasak. Mivel a hajtásdugványok levelei viszonylag sok vizet párologtatnak, gyökeresedésig az egyik legfontosabb feladat a dugványok vízvesztésének csökkentése és a víz pótlása. Ezt a dugványok, magas (96-98%) relatív páratartalmú zárt légtérbe való helyezésével, árnyékolással és vízpermetezéssel lehet elérni. A hajtásdugványokban kevés a tartalék tápanyag, ezért a gyökeresedéshez a levélfelületekre is szükség van, melyek a felfogott fény energiájával nappal új szerves tápanyagokat állítanak elő. Mivel ehhez fényre van szükség, a dugványokat csak annyira kell árnyékolni, amennyire ez a túlzott párologtatás megakadályozásához szükséges. A levágott szárdarabon maradó leveleket nem kell felénel nagyobb mértékben kurtítani, hogy az asszimiláló felület ne csökkenjen túlságosan.

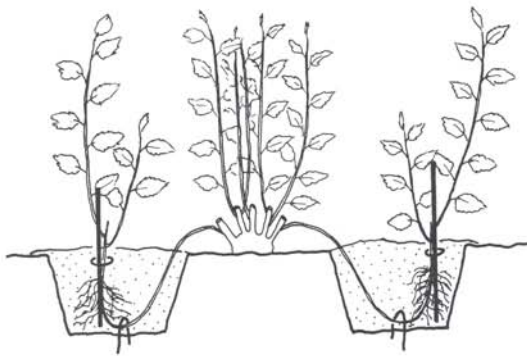
A szabadföldi fás növények hajtásdugványozása nálunk május végén, június elején kezdődhet, amikor a hajtások még intenzíven növekednek. A lomblevelű örökzöld növények hajtásai a nyár folyamán, júliustól októberig gyökerezethetők. Nyár végén, ősz elején szokás dugványozni a fenyőfélék közül a borókaváltozatokat, a ciprusfajtákat, a tuját és a tiszafát. A legkisebb dugványon egy levél és egy rügy van, ezt nevezik levélrügydugványnak. A levélhez az illető szárcsomó alatt és felett 1-1 cm-nyi szárrészt is kell vágni. Leggyakoribb a 4-6 levelet tartalmazó dugvány. Az alsó 1-2 levelet a dugványnak azon a részén, amely a talajba kerül, el szokás távolítani, a nagyobb levelű fajok felső leveleit pedig ajánlatos a csúcstól feléire vágni. A dugványok szárának alapi részét a legalsó szárcsomó alatt 1-2 mm-rel szokás átmetszeni. A gyökereztetés közege mindig levegős legyen, emellett elegendő vizet is tartalmazzon és legyen mentes a fertőző forrásoktól. Tőzegben a dugványok nagyon jól gyökeresednek, sűrűn elágazó bojtos gyökeret fejlesztenek. Tőzeggel



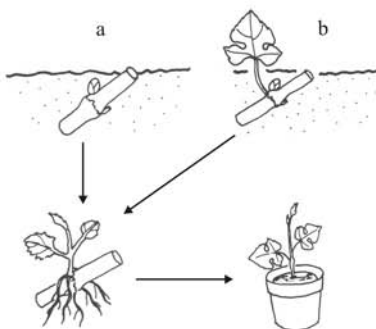
javíthatók a homok tulajdonságai is, keverékük levegős és jó a víztartó képessége is. A gyökereztető közeg iránti igényeknek leginkább a talajkeverékek felelnek meg (pl. kerti föld komposzttal és homokkal keverve), ellenben hátrányuk az, hogy nagyobb bennük a fertőzésveszély. 4-6 leveles hajtásdugványok egyszerűen állott (klórmentes) vízbe állítva is 4-6 hét alatt meggyökeresednek szobahőmérsékleten, szórt fényben.



**tőosztás**  
(pl. a liliom hagymapikkelyein kialakuló fiókhagymákkal)



**bujtás**



**dugványozás**  
rügyes (a) és leveles (b)  
hajtásrészsel

**3. ábra.** Vegetatív szaporítási formák (Czáka és mts. 1995 után)

A levéldugványozás alapja, hogy néhány növény levelei (főleg puha, árnyékkedvelő levelek) vagy levélrészei úgy regenerálódnak, hogy meggyökeresednek, majd hajtáskezdemények (rügyek) alakulnak ki rajtuk, végül teljesen új növény fejlődik ki belőlük. Legismertebb az afrikai vagy fokföldi ibolya (*Saintpaulia ionantha*), a begóniák és a tigrislevel (*Sansevieria sp.*) levéldugványozással való szaporítása. A fokföldi ibolyánál a kifejlett levelet levéllemezrel együtt kell leválasztani az anyanövényről, a járulékos gyökerek és később az apró hajtások a levélnyel alapján jelennek meg. A tigrislevel vagy szanzevieria hosszú, lándzsás levelét 8-10 cm hosszú szakaszokra lehet vágni, ügyelve arra, hogy eredeti alapi részük kerüljön a gyökereztető közegbe. Minden levéldarab előbb meggyökeresedik, majd az alapi részből hajtás fejlődik. A folyamat elég lassú (kb. 1 év) és a sárga szegélyű vagy hosszanti fehér csíkos levelű változatok levéldugványozással a képződő utódnövényekben nem tartják meg ezt a csíkozottságot. A begóniák leveléből úgy szokás dugványokat készíteni, hogy néhány cm-es lemezeket kell kivágni a nagyobb levélerek mentén, ügyelve arra, hogy a lemezek alapi része levélerek találkozási pontjánál legyen. A levelekből úgy is nyerhetők új növények, hogy a levéllemez a nagyobb levélerek találkozási pontja alatt bemetszjük, és párás környezetben (pl. nedves homokon üvegharanggal lefedve, gyenge fényben) a metszési pontokon új gyökeres növénykéik képződnek. A szabadföldi növények közül a kövirózsákat (*Sempervivum sp.*) és a varjúháj fajokat (*Sedum sp.*) a teljes levél felhasználásával lehet levéldugványról szaporítani, az ép szélű egyszerű leveleket fejlesztő gímpáfrányt pedig (*Phyllitis scolopendrium*) levélnyelével együtt dugványozva lehet levélről szaporítani.

A fásdugványok a néhány éves fásodott ágakból nyugalmi periódus alatt készült rügyes szárszakaszok. Ezeken nincs asszimiláló és párologtató levélfelület, ezért kezelésük egyszerűbb, mint a lágyszárú hajtásdugványoké. Fásdugványokat lombohullástól egészen rügyattanásig lehet leválasztani az anyanövényről. 20-25 cm hosszú szakaszokra kell darabolni úgy, hogy minden rész alapját rügy alatt 1-2 mm-rel kell átvágni, az ágszakaszok felső végét pedig ferde síkban szokták lemetszeni. A fásdugványokat a téli tárolás alatt meg kell óvni a vízvesztéstől, a fagyástól és a rügyek kihajtásától, ezért ezeket nyirkos homokba vagy fűrészporba kell vermelni (beásni) 0°C körüli hőmérsékleten. Szabadban a fásdugvány kötegeket télire 80-100 cm mély veremben, nyirkos homok közé állítva lehet tárolni a tavaszi kiültetésig. Dugványozni akkor ajánlatos, amikor a talaj felső rétege már 10-12°C-ra fölmelegedett (ez nálunk általában áprilisban következik be).

Gyökérdugványozással azok a növények szaporíthatók, amelyek gyökerükön járulékos rügyeket, gyökérsarjakat képeznek. Ilyen a málna, a szeder, a birs és egyes almaalanyok, az akác, az ecetfa, az ezüstfa, a homoktövis, a mályvacserje stb. A gyökérdugvány úgy készül, hogy az ősz vége felé, a fagyok előtt az anyanövény egyik oldalán eltávolítják a felszíni talajréteget a gyökérsarjra és kb. ujjnyi vastagságú gyökérrészt vágnak le, melyet 5-10 cm hosszú szakaszokra darabolnak. A gyökérdarabokat fagymentes helyen, tőzeges homokban kell tárolni, ügyelve, hogy ne

száradjanak ki. A dugványozást (elültetést) tavasszal kell végezni, ferde helyzetben (45 fokos szögben a függőlegeshez viszonyítva) vagy 4-5 cm talajmélységben vízszintesen lefektetve. A vízszintes dugványozás előnye, hogy nem kell ügyelni az alapi és csúcsi végek helyes irányára.

Az **oltás** transzplantációs (szervátültetés általi) vegetatív szaporítási mód, melyet széles körben alkalmaznak a gyümölcsfák, a szőlő, a díszfák, a díszcserjék és a fenyőfélék termesztésében. Bár az új egyed legalább két szülőnövénnytől származó testrészekből alakul ki, nem ivaros szaporodási forma, hiszen a két szülő örökítő anyaga nem találkozik egymással, a folyamatban nem vesznek részt egymást megtermékenyítő gaméták, hanem továbbfejlődő vegetatív testrészek között alakul ki tartós kapcsolat. Azoknak a növényeknek, amelyeket semmilyen módszerrel nem lehet járulékos gyökerek képzésére készíteni, az oltás az egyetlen gazdaságos szaporítási módja, ugyanakkor az oltással létrejött új növény az alanya révén sajátos, előnyös tulajdonságokkal is gazdagodhat. Az oltás során két, ritkábban három növényegyed részeinek összenövesztésével alakítunk ki új növényt. Ez az **oltvány**. A gyökeret és esetleg a szár egy részét adó komponens az **alany**, erre oltjuk a kívánt nemes fajtát, melyet **oltócsap**nak vagy oltóvesszőnek is nevezünk. Ritkábban az alany és a nemes fajta közé egy harmadik, ún. közbeoltott növényi rész is kerülhet. Az oltással összenövesztett alany és nemes rész sejtjei nem olvadnak össze, öröklött tulajdonságaikat az együttélés során is megőrzik. Ellenben a két rész anyagcsere-rendszere szoros kölcsönhatásba kerül, így egymás tulajdonságait, például növekedési erélyét módosíthatják.

Az alany bizonyos tulajdonságai (pl. a talaj magas mésztartalmának tűrése, a kártevőkkel és kórokozókkel szembeni fokozott ellenállóképeség) lehetővé teszik, hogy az oltványt az alanyra helyezett nemes fajta igényeitől eltérő körülmények közé is telepíthessük, kiterjesztve ennek elterjedési területét. Továbbá, oltás által az idősebb fák kivágása nélkül is telepíthetünk új fás növényeket egy erdős társulásba, és általában a meglevő fák alanyaira átoltott fák gyorsabban teremnek, mintha újat telepítettünk volna. A sérült törzsű (pl. nyulak által körberágott kergű) fákat pedig ún. áthidaló vesszők ráoltásával menthetjük meg a pusztulástól.

Az egymásra oltott növényi részek egységes egyeddé való összeforrásában a kambiumnak van alapvető szerepe. A száruk sérülésekor a **kambium** működése következtében a sebfelületen laza parenchimatikus sejtömeg, sebkallusz vagy hegyszövet jelenik meg, melynek felülete később elparásodik, belsejében pedig szállítószöveti edénykezdemények fejlődnek. Oltáskor az alanyon és a ráillesztett hajtásrészen sebet ejtünk, és a két komponens sebfelületét úgy illesztjük össze, hogy kambiumgyűrűjük minél nagyobb felületen illeszkedjék, találkozzék. Az alany és az oltócsap sebfelületén megindul a **sebkallusz** képződése, ez rövidesen kitölti a két növényi rész közötti rést (4. ábra). A gyökeres alanyon általában erőteljesebb a kalluszképződés, mint a nemes növény oltócsapján. Kezdetben a roncsolt sejtekből elválasztó réteg keletkezik az alanyból és a nemes részből képződött kallusztarétegek

között. Ez azonban sikeres oltás esetén 1-2 hét után felszívódik, és a kalluszsejtek egymás közé nyomulva érintkeznek egymással. A kalluszsejtek kapcsolata lehetővé tesz ugyan bizonyos mértékű anyagkicserélődést és kommunikációt az alany és az oltócsap között, a normális szállítási folyamatok kialakulásához azonban a **fa- és hánccselemek összekapcsolódására** van szükség. A kambiumgyűrű hormonális hatásának következtében, valamint a fiatal fa- és hánccselemek hatására a kalluszsejtek között új fa- és hánccsejtek jelennek meg. Mindkét növény összeillesztett sebfelülete mentén a kambiumsejtek tovább osztódnak, egymás felé terjednek és érintkeznek, így kialakul az egységes kambiumpalást. Ez a kambiumgyűrű most már az oltási helyen is összefüggő fa- és hánccsejtsövet képez, ami lehetővé teszi a két komponens közötti kölcsönös hosszú távú anyagszállítást (az alany látja el vízzel, ásványi sókkal és a gyökér által termelt fejlődés-szabályozó hatóanyagokkal a ráoltott részt, míg ez utóbbi szerves asszimilátumokat és a hajtásban képződő sajátos metabolitokat juttat az alanyba). Tökéletes összeforrás általában csak azonos fajhoz tartozó vagy közeli rokon növények esetében következik be. **Oltási összeférhetlenségről** beszélünk akkor, ha az összenövési folyamat nem megy végbe, ennek korai tünete a fa és hánccsejtszállítóelemek kialakulásának hiánya a sebhely övezetében. Ilyenkor az elfásodó kallusz együtt tarthatja a komponenseket, de az oltvány nem növekszik, elpusztul.

Oltóvesszőt és szemzőhajtást csak egészséges, jó élettani állapotban levő, rendszeresen és bőven termő, ismert fajú vagy fajtájú fás növényről ajánlatos szedni. A termő fáknak a korona középső vagy felső részén, napfényes helyen fejlődött, ép rügyeket viselő, nyugalmi állapotban levő vesszői alkalmasak oltásra. Oltóvesszőt lombhullástól kezdve rügybomlásig lehet szedni. A jó oltás feltétele, hogy az oltóvessző rügyei az összeforrásig, mintegy 4-6 héten keresztül, nyugalomban maradjanak. Megindult rügyű ággal eredménytelen az oltás. A kiválasztott oltóhajtásokat a gyűjtéstől az átoltásig 0 és +2°C közötti hőmérsékleten ajánlatos tárolni. Tároláshoz és szállításhoz az oltóvessző vágásfelületét parafinozzák vagy fémentes festékbe mártják, ami a kiszáradás és a sebhelyi fertőződés ellen nyújt védelmet.

Minden oltásmód arra irányul, hogy az alany és az oltócsap vastagságától függően készített metszési felületekkel (metszlapokkal) a két komponenst jól össze lehessen illeszteni, és az illesztésnél a **kambiumgyűrűk** metszetei minél jobban **átfedjék egymást**. A legismertebb oltásmódok a párosítás, a lapozás, az ékoltás vagy hasítékoltás, a hég alá oltás, a zöldoltás és az ablaktálás (4. ábra). Sajátos módszer a szemzés (szintén több változattal), melyet külön tárgyalunk. A módszert elsősorban aszerint választjuk meg, hogy egymáshoz viszonyítva mennyire vastag az alany és az oltócsap.

A **párosítás** általi oltás akkor alkalmazható, amikor megközelítőleg azonos vastagságú az alany és az oltóvessző. Az alanynak a csúcsi részén, az oltóvesszőnek pedig az alapi részén egy-egy sima, ferde irányú metszlap készül, az így kapott ovális felületeket össze kell illeszteni, majd szorosan körbe kell kötözni rafiával, szupervinil

vagy polietilén kötözőszalaggal. (A rafia természetes rost, a Madagaszkáron őshonos *Raffia rufia* pálmafaj levélereinek szklerenchimatikus háncrestjából készül.) A metszlapok hosszúsága az oltóág vastagságának 2,5-3-szorosa szokott lenni, továbbá előnyös, ha a metszésfelület egy rüggyel szemben készül, mivel a rügy működése vegyi úton serkenti az összeforrást. A síkfelületű, jól egyeztetett és azonos hosszúságú metszlapok minden oltásmódban meghatározó jelentőségűek. A metszésfelület sohase legyen homorú, mert ilyenkor a sebhelyek között sok levegő marad, ami gyors kiszáradáshoz vezet. A rügyek szabadon hagyásával szorosan körbekötözött párosításokat oltóviasszal kell bekenni, vagy megolvasztott parafinba kell mártani, hogy ne száradjanak ki. A párosítást elsősorban 1-2 éves fiatal alanycsemeték szabadban végzett oltására használják, idősebb fák átoltására a párosítás csak akkor alkalmazható, ha a fát előzetesen megfiatalították, erőteljesen visszavágták, és az oltáshoz megfelelően vékony egyéves vesszők vannak a koronában. A szőlő, egyes gyümölcsfák és díszfák oltásának gyakori módszere az ún. nyelv párosítás, amikor a metszlapok felől a hossz tengellyel párhuzamosan kis bevágás készül, és az így keletkező nyelveket egymás alá tolva jobban összeilleszthető az alany és az oltócsap metszlapja. Előnye, hogy a nyelv jobban rögzít, és a két komponens átmetszett kambiumgyűrűje nagyobb felületen illeszkedik.

Sajátos eset a díszkaktuszok oltása, ugyanis ezek nem fás szárú növények és a párosítás nem mindig a szaporítást szolgálja. Néhány kaktuszfajnál (pl. *Gymnocalycium michanovichii*) felnevelhetők olyan klorofillhiányos, gyakran élénkpiros vagy sárga színű pozsgás szárat fejlesztő egyedek, amelyek nem képesek fotoszintézis által önállóan táplálkozni, hanem heterotróf életmódot folytatnak, vagyis kész, vízben oldott szerves tápanyagot igényelnek. Ezek normális zöld alanyra való ráoltással tarthatók életben. Az alany szárának csúcsi részét és az ráoltandó szárrész alapi részét kaktuszoknál általában vízszintes síkban kell simára metszeni, majd a két metszésfelületen tömörebb pontokként látható kis fa-hánc nyalábok átvágott végeit kell minél pontosabban összeilleszteni. Ha a ráoltott kaktusz heterotróf (nem zöld, hanem más színű) mutáns, akkor az alanynak jóval nagyobbak kell lennie, hogy az általa előállított szerves asszimilátumokkal győzze ellátni, az összeforrás során létrejövő egységes hánccsedény-rendszer útján, a rajta fejlődő másik hajtást, anélkül, hogy tápanyagkészletei kifogynának. A párosítással életben tartott heterotróf hajtás, miután tovább növekedik, hasonló módon zöld alanyokra oltott szárszakaszokkal tovább szaporítható.

A **lapozás** általi oltás olyan esetekben ajánlott, amikor az alany már valamivel vastagabb, mint a nemes oltóág, de átmérője nem haladja meg a ráoltott ág alapi részének 3-4-szeresét. A közönséges lapozáshoz elsőként az alanyt kell átmetszeni az oltás helye felett, kissé ferde metszlappal. Ezután az alany magasabbik oldalán az oltókést fölfelé húzva kell levágni az oltóág vastagságának megfelelő szélességű, pajzs alakú lapocskát úgy, hogy a kemény fatestbe is kissé bele kell vágni. Az oltóágon sima, ferde metszlapot kell vágni, amit úgy kell ráilleszteni az alany sebfelületére, hogy a két kambiumgyűrű minél nagyobb részen fedje egymást. Az alany szabadon

maradó nagy sebfelületét, az illesztés környékét és az oltóág csúcsát oltóviasszal vagy parafinnal kell lefedni. Amikor az alany oldalán vágott profilba egyetlen rügyet tartalmazó pajzsot helyeznek, ezt az oltásmódot rügylapozásnak nevezzük.

Az **ékoltás** vagy hasítékoltás ma már csak idősebb fák és szőlőtőkék átoltásakor használt eljárás. A vastag ágakat, törzseket a tervezett oltás helyén le kell fűrészelni, majd a seb peremét simára kell vágni. Lapos ék alakra vágott oltóágakat illesztünk a hasíték két egymással szembeni végébe úgy, hogy az ágak külső szélén az alany és az oltócsap kambiumának metszésvonalai találkozzanak. Az oltóágakat olyan mélyen kell a hasítékba csúsztatni, hogy metszlapjuk ne emelkedjék az alany felszíne fölé, különben könnyen kiszáradnak. Ezzel a módszerrel az idős szőlőtökéket általában a gyökérnyak szintjén oltják át.

A **héj alá oltás** az egyik leggyakoribb, könnyen elvégezhető, sokoldalúan használható és nagyon eredményes változat. Olyan esetekben alkalmazható, amikor az alany sokkal vastagabb, mint a nemes oltócsap. Az oltócsapot az alany háncsszövege alá kell csúsztatni (közvetlenül a parás héjkéreg alatti puha, élő hengerpalástba), így ovális metszfelülete többé-kevésbé az alany kambiumszövetére fekszik. Héj alá oltást csak akkor lehet végezni, amikor a növényekben már elindult a nedvkeringés. Ideje nálunk általában április elejétől május közepéig tart, a legbiztonságosabb a virágzás periódusában. Az oltócsapok helyén a héjkérget és a háncsot a farészig függőlegesen be kell metszeni, és kissé fel kell feszíteni. Vékonyabb alanyba csak egy, vastagabb ágakba, törzsekbe több, 3-5 oltóágot is el lehet helyezni. Az oltócsapon a legalsó rüggyel szemközi oldalon egyetlen vágással sima felületű ferde metszlap készül, majd az oltócsapot a metszlappal az alany háncsszövetén levő hasítékba, a háncs és a farész közé kell csúsztatni. Jobb az összeforrás, ha az oltócsapon az alsó rügy alatt, a metszlappal szemben még egy rövid metszlap készül, vagy ha lefejtjük az oltóág héját. Az alsó rügyre azonban nagyon kell vigyázni, mert sikeres oltáskor ennek a kihajtása a legvalószínűbb. Az oltás helyét be kell kenni oltóviasszal vagy parafinnal. Fontos, hogy az alany nagyméretű sebfelülete védve legyen a kiszáradástól. Az oltócsap rügyeit szabadon kell hagyni, ellenben ennek csúcsát ajánlatos bekenni szigetelő oltóviasszal. Héj alá oltást az alany visszametszése nélkül az alany oldalára is lehet végezni. Erre olyankor van szükség, amikor az alany saját lombkoronáját az összeforrásig meg kell tartani. Ilyenkor az alany héjkérget és háncsövetét T alakban be kell metszeni, és a T függőleges szára mentén a két hánclapot fel kell feszíteni, hogy ide be lehessen csúsztatni az oltócsap alsó részét.

A **zöldoltás** alapja, hogy egyes növények egymásra oltott részei akkor forrnak gyorsan össze, ha az oltásra zöld állapotban, a vegetációs periódusban kerül sor. Ilyenkor csupán az okoz nehézséget, hogy a zöld oltóhajtás a napsütésben könnyen kiszáradhat. Ezért célszerű, ha a zöldoltást borús időben végzik. Legmegfelelőbb időszaka általában június első fele, ilyenkor az illető évi fiatal hajtások már kezdenek fásodni, ezeket lehet nemes oltócsapként használni. A zöldoltás leggyakoribb módja a hasítékoltás, és mivel az alany és a nemes oltócsap azonos vastagságú kell legyen,



### I.3. A szaporító sejtek általi ivartalan és ivaros szaporodás változatai

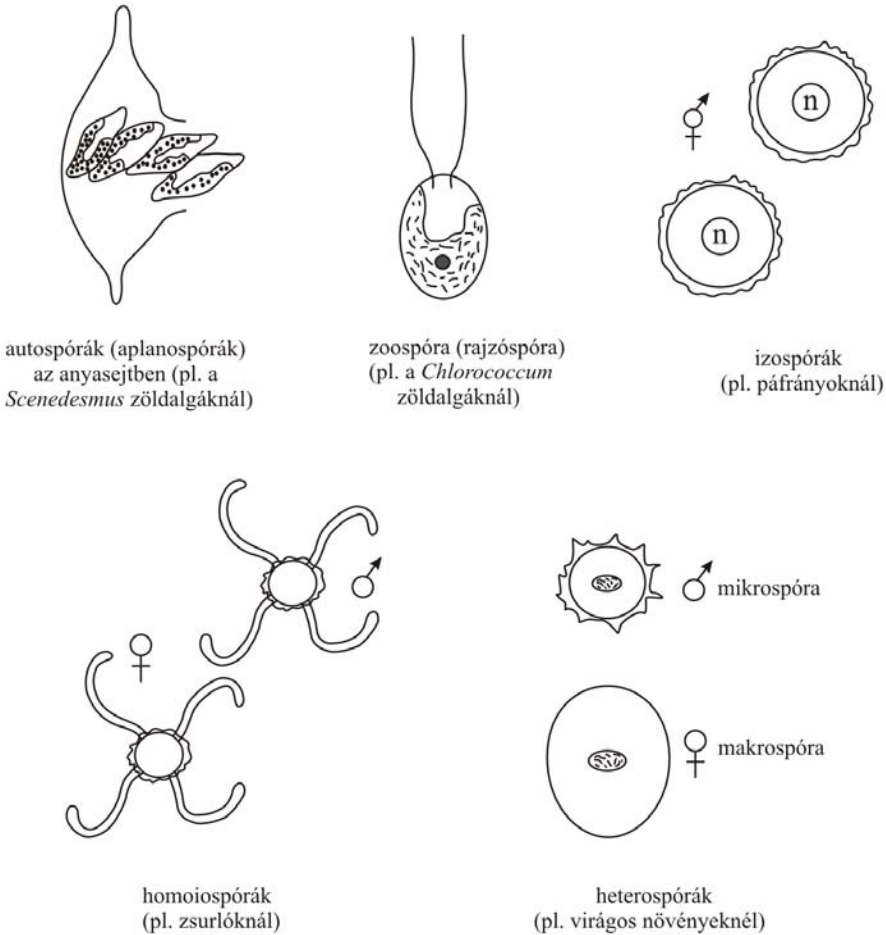
Szűkebb értelemben az ivartalan szaporodás önálló továbbfejlődésre és egyedképzésre képes, specializálódott szaporító sejtek által valósul meg. Ezeket **spóráknak** nevezzük, a szaporodási folyamatra sajátosan jellemző meiózissal (redukciós vagyis számfelező sejtosztódással) keletkeznek, mitózisokkal tovább osztódhatnak új többsejtű test kialakításakor, és a gamétákkal ellentétben sohasem vesznek részt ivaros folyamatban, vagyis a spórák nem képesek kettőnként egyesülni, megtermékenyíteni egymást. E szakosodott ivartalan szaporító sejteken kívül a biológiai szaknyelv a baktériumok és egyes protiszták szélsőséges környezeti körülményeket sikeresen átvészelő, nyugalmi állapotban levő ellenálló („betokozódott”) sejtformáit is spóráknak nevezi, ezek azonban nem a szaporodást, hanem az egyedi túlélést szolgálják. A növényekéhez hasonlóan szaporodást megvalósító spórák a gombák világában fordulnak elő.

Mivel az ivartalan szaporodási szakaszt általában egy ivaros szaporodási szakasz követi, a meiotikus spóráképzéssel kezdődő haploid életszakasz a gamétaképzéssel teljesedik be, majd a női és hímnemű gaméták egyesülésével a keletkező zigóta, mely a következő nemzedék első stádiuma, visszaállítja a diploid életszakaszt, mely később szintén spórákat fog képezni, amikor szaporodni kezd. Mivel a növény diploid életszakasza hozza létre a spórákat, ezt **sporofiton**nak nevezzük, míg a spórákból kifejlődő életszakasz, mely gamétákat fog kialakítani, a **gametofiton** nevet viseli. Tehát a diploid sporofiton meiózissal spórákat képez, a spórából kialakuló haploid gametofiton pedig mitózissal gamétákat képez, melyek részt vesznek a megtermékenyítésben. E két életszakasz szabályos egymásutániséga minden nemzedékben megismétlődik. A folyamatot régebb nemzedékváltakozásnak nevezték, ami nem egészen helyes, mert a sporofiton és a gametofiton egyazon nemzedék két életszakaszát jelöli, nem két külön nemzedéket.

#### I.3.1. Spórák általi ivartalan szaporodás

Az ostorral rendelkező, az állatokhoz hasonló módon önállóan úszó spórasejt a **zoospóra** vagy rajzóspóra (6. ábra), ez jellemző számos zöldalgára, barnaalgára és egyéb algacsoportokra. Az ostor nélküli, önálló mozgásra képtelen spóra az **aplanospóra**, ez megtalálható a vörösalgáknál (melyek körében soha nincsenek ostoros sejtek), egyes zöldalgáknál, a moháknál, a harasztoknál, a nyitvatermőknél és a zárvatermőknél. A virágos növények spórái a pollenszemcsék és a magkezdemények embriózsák-sejtjei. Az ősbibb növényformák egysejtű spóráképző részét sporocisztának nevezzük, a többsejtű spóráképző szerv pedig, melyben megtörténik a meiotikus sejtosztódás, a sporángium. A mohák spóráképző teleprésze a sporogonium nevet viseli. Az azonos spórákat **izospóráknak** nevezzük. A méret és alak szempontjából egyforma, de továbbfejlődésük tekintetében kétféle spórákat

**homoiospóráknak** nevezzük, ezek közül egyesek női, mások pedig hím ivarszerveket fognak kialakítani.



**6. ábra.** Spóratípusok a növények ivartalan szaporodásában, mozgáskéességük és a belőlük kialakuló ivarszerkezetek szempontjából (eredeti)

A morfológiai és élettani szempontból egyaránt eltérő spórákat (természetesen egyazon fajon belül) **heterospóráknak** nevezzük (6. ábra). A heterospórák közül a nagyobbik a **makrospóra**, ez fogja kialakítani a női ivarszervet, a kisebbik pedig a **mikrospóra**, belőle fog kifejlődni a hím ivarszerv. Például a harasztok körében a páfrányok izospórák, a zsurlók homoiospórák, a csipkeharasztok pedig heterospórák. A virágos növények mind heterospórák: mikrospórájuk a pollenszemcse, makrospórájuk az embriózsák-sejt. A spórák mindig mitotikus osztódásokkal alakítják ki a haploid életszakaszt (a gametofitot). Általában a spóra osztódásai során előbb egy többsejtű, haploid teleptest jön létre, ez az előtelep vagy protallium (moháknál fonalas szerveződésű és protonémának nevezzük).



Az előtelepen különülnek ki a női és hím ivarszervek, ahol majd létrejönnek a női és hím gaméták. A hajtásos növényeknél a spórák sajátos szaporító leveleken kialakuló sporangiumokban keletkeznek. Ezeket a spóráképző leveleket, melyek virágos növényeknél a virágban találhatóak, **sporofillum**oknak nevezzük. Például a zárva termők körében a pollenképző mikrosporofillum a porzó, az embriózsákot létrehozó makrosporofillum pedig a termőlevél.

### I.3.2. Gaméták általi ivaros szaporodás

Az ivaros szaporodás női és hímnemű **gaméták** egyesülése által valósul meg, tehát lényege a megtermékenyítés (fekundáció) folyamata. A gaméták (ivarsejtek) haploidok, és a növényvilágban (az állatokkal ellentétben) az őket képező ivarszervek általában már haploidok (mert a spóráképző meiózis után jöttek létre), így a növényi gaméták mitózissal keletkeznek. Az ősbibb típusú, általában egysejtű ivarkészülék a **gametociszta**, a védőréteggel rendelkező, többsejtű ivarszervet pedig általánosan **gametangium**nak nevezzük. A hím gamétát képező gametociszta a spermatangium, a női gamétát létrehozó gametociszta pedig az oogónium. A gametangiumnak a hím gamétákat képező változata az anterídium, női gamétát létrehozó formája pedig az archegónium. A növények ivaros életszakaszát, mely a spórákból kiindulva létrehozza a gamétákat, **gametofiton**nak nevezzük, ez jelenti a haploid életszakaszt vagy haplofázist. Aszerint, hogy a női és hím gaméták a fajon belül egyformák-e vagy sem, valamint aszerint, hogy a női gaméta önállóan mozog vagy mozgásképtelen, az ivaros szaporodásnak három változatát lehet megkülönböztetni (7. ábra).

Az **izogámia** esetében a női és hím gaméták alak és méret szempontjából egyformák, és ostoraik által önállóan úsznak a vizes környezetben. Ez az ősbibb ivaros szaporodási forma, egyes ostorosalgákra, zöldalgákra, barnaalgákra, kovaalgákra jellemző. Számos fajnál az izogaméták ugyanúgy néznek ki, mint a rajzospórák vagy zoospórák, csak hogy a gaméták sohasem képesek önállóan továbbfejlődni új növényi testté, hanem egyesülniük kell ahhoz, hogy a keletkező zigóta új egyed kialakulását biztosítsa.

A **heterogámia** vagy anizogámia esetében a női és a hím gaméta nem egyforma. Általában a hím gaméta kisebb, ez a mikrogaméta, a női gaméta pedig nagyobb, ezért makrogamétának nevezzük. A tipikus heterogámia esetében, mely egyes algákra jellemző, a hím és a női gaméta egyaránt ostorral rendelkezik, önálló mozgásra képes, a megtermékenyítés (akár izogámia alkalmával) a vízi környezetben történik, a szülőnövényektől függetlenül.

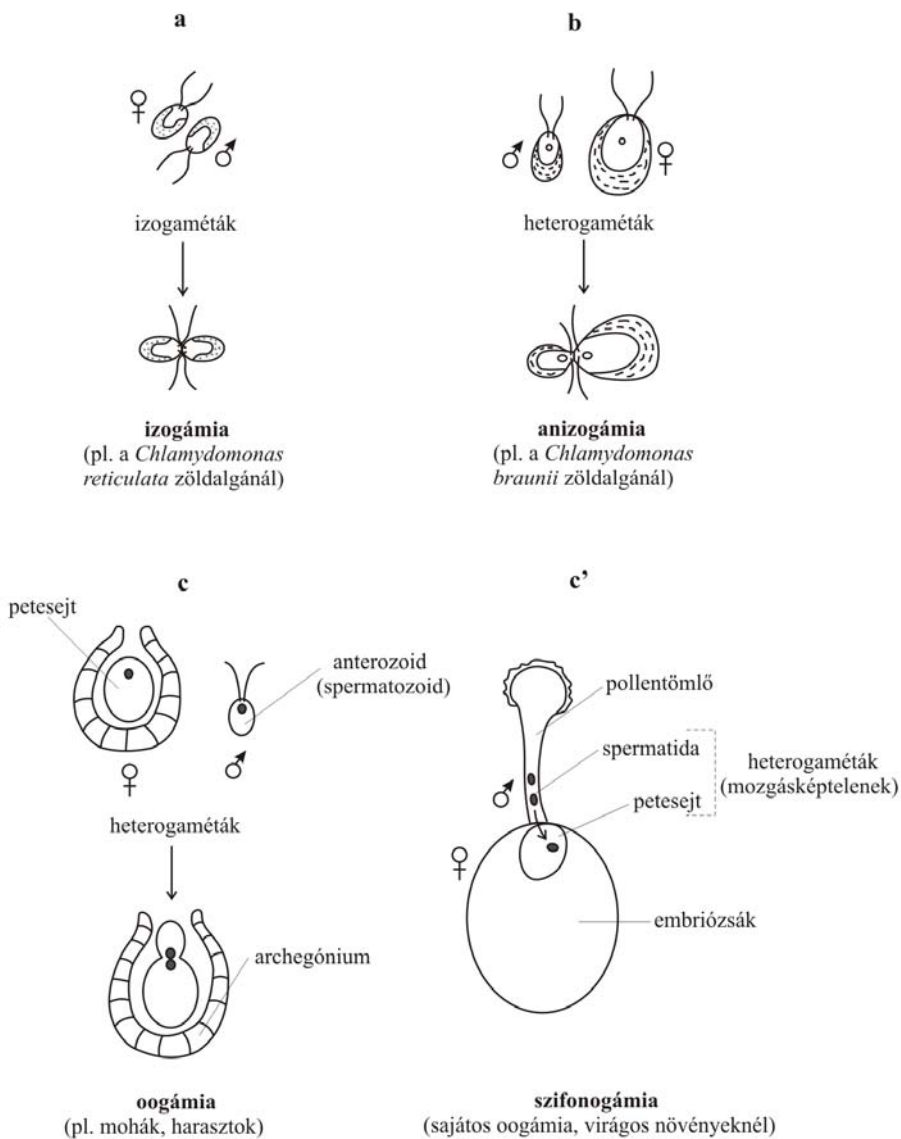
Az **oogámia** a heterogámianak az a sajátos változata, amikor a hím gamétánál nagyobb női gaméta mozgásképtelen, nincs ostora és nem szabadon található, hanem a női ivarszervben rögzül. Ez az ivaros szaporodás legfejlettebb változata, megtalálható egyes zöldalgáknál, vörösalgáknál, barnaalgáknál, és kizárólag az oogámia terjedt el a szárazföldet meghódító moháknál, harasztoknál és virágos

növényeknél. A mozdulatlan makrogamétát, mely nagy, gömb alakú sejt sok tartalék tápanyaggal és általában egyedül van jelen a női ivarszervben, petesejtnak vagy ooszférának nevezzük. A saját ostorával vizes közegben önállóan mozgó mikrogaméta neve anterozoid vagy spermatozoid, ez jellemző a legtöbb algára, a mohákra, a harasztokra és az ősi nyitvatermőkre (ginkófélék, cikászfélek). A vörösalgáknál és a legtöbb virágos növénynél (a fejlettebb nyitvatermőknél és a zárvatermőknél) a hím gamétának nincs ostora, mozgásképtelen, nem juthat önállóan a női gamétához. Ezt a mozgásképtelen mikrogamétát spermatidának nevezzük (a spermatozoiddal ellentétben nincs a „zoid” utótag, mely arra utal, hogy állatokra jellemzően helyét változtatja). Mivel az ostor nélküli hím gamétát egy csőszerű képződmény (pl. a pollentömlő) szállítja el a petesejthez, az ilyen megtermékenyítést, ahol a hím gaméta nem önállóan úszik a petesejzig, **szifonogámiának** nevezzük.

Az ivaros szaporodásnak egy sajátos változata a **szomatogámia**, mely csak a zöldalgák közé tartozó járommoszatokra (pl. a békanyálra) jellemző. Ebben az esetben a megtermékenyítésben szaporodásra nem szakosodott testi sejtek vesznek részt, ezek beltartalma keveredik össze a két szülőegyed között. Két fonalas teleptestű egyed egymás mellé kerül, ezeknek egy-egy szemben álló sejtje egymás felé egy-egy nyúlványt fejleszt, ezek vége egymással érintkezve összeolvad és kialakul egy kopulációs csatorna, amelyen az egyik sejt beltartalma átfolyik a másikba. A két, különböző egyedektől származó sejtmag egybeolvad és létrejön a diploid sejtmagvú, két szülő örökletes tulajdonságait kombináltan tartalmazó zigóta. Ez később közvetlenül meiózissal osztódik (így kimarad a sporofiton életszakasz), és utólagos mitózisokkal kialakítja az új fonalas zöldalgát. A kopulációs csatorna általi egyesülést (egyfajta egyszerű megtermékenyítést) **konjugációnak** nevezzük. A folyamat **gametangiogámiának** is felfogható, vagyis olyan ivaros szaporodásnak, ahol a szaporító szerkezetek teljes egészükben egyesülnek egymással, tehát a megtermékenyítés nem elkülönült gamétákkal történik.

A megtermékenyítést még **amfimixisnek** is nevezzük, ami arra utal, hogy két különböző ivarsejt örökítő anyaga keveredik egymással („amfi”– kétfelől, „misis”– keveredés). A két gaméta sejt tartalmának az összeömlése a plazmogámia, a két különböző sejtmag összeolvadása pedig (ami a megtermékenyítés lényegi mozzanata) a **kariogámia**. A hím gaméta és a petesejt többi sejtszervecskéi nem egyesülnek, csak egymás mellé kerülve kevert együttest alkotnak a zigótában. Virágos növényekben általában a hím gamétának csak a sejtmagja kerül át a petesejtbe a zigóta kialakulásakor, így a plasztiszok és a mitokondriumok extranukleáris örökítő anyaga nem keveredik az utódban, hanem csak anyai ágon öröklődik (csak a petesejtből kerül a zigótába). A megtermékenyítés által keletkező diploid **zigóta** az új egyed első, egysejtű állapota, mely minden örökletes tulajdonsága tekintetében két (azonos vagy eltérő) példányban tartalmaz gént, így nagyobb a genetikai változatossága, mint a haploid sejtekből álló szerkezeteknek, ezáltal nagyobb az életképessége, a rátermettsége és a túlélési esélye. Amikor a zigótában két különböző egyed gamétái által hozott tulajdonságok keverednek, az ivaros szaporodással keletkező utódok

egyedi példányok, nem azonosak sem egymással, sem a szüleikkel, ezáltal nő az egyedeknek a fajon belüli változatossága, a faj sokfélesége, ami jelentős előnyt jelent a környezeti változásokhoz való alkalmazkodásban és az evolúcióban.



7. ábra. Gamétatípusok az ivaros szaporodás fő változataiban (eredeti)

## I.5. Sporogenezis, gametogenezis és kettős megtermékenyítés a zárvatermőknél

A zárvatermők heterospórák és oogamiás növények, így virágukban a spóráképzés és a gamétaképzés két-két folyamatot foglal magába. A mikrosporogenezis a pollensejtek (mikrospórák) kialakulását jelenti, ami a porzók portokjának pollensákjaiban történik, a makrosporogenezis pedig az egysejtmagvú vagy primer embriózsák-sejt (a makrospóra) kialakulását jelenti, ami a termő magházában levő magkezdemények testében (a nucelluszban) megy végbe. A spóráképzést követi a gamétaképzés, ami tulajdonképpen a hím és női gametofiton életszakasz kifejlődését jelenti. A mikrogametogenezis a pollenszemcsében, ennek egyetlen haploid sejtmagjából kiinduló lépéseket foglalja magába, melyek során kialakul a két spermátida, míg a makrogametogenezis a primer (egyetlen haploid sejtmagvú) embriózsákban történő folyamatokat öleli fel, melyek során létrejön a petesejt.

A zárvatermők virágában a **mikrosporofillum**ot a **porzó** képviseli, ennek **pollensákjai** a **mikrosporángiumok**, melyekben meiózissal kialakulnak a **mikrospórákat** képviselő **pollenszemcsék**. A pollenben belső előtelep maradványaként létrejön a vegetatív sejt, a hím ivarszervet (anterídiumot) pedig a pollen generatív sejtje jelenti, mely mitózissal kialakítja a két spermátidát a pollentömlőben. A **makrosporofillum** megfelelője a virág termőjének **termőlevele**, az általa kialakított zárt magházban fejlődő **magkezdemények** teste vagy nucellusza a **makrosporángiumot** képviseli, itt jön létre egy sejt meióziséval egyetlen életben maradó **makrospóra**: a **primer embriózsák-sejt**. Ebben keletkezik a sejtmag osztódásaival a női előtelep redukált formáját jelentő ellenlábás vagy antipodiális sejtek csoportja, továbbá az archegónium maradványának tekinthető petekészüléki két segédsejt vagy szinergida, valamint a petesejt (ovum vagy ooszféra) és egy diploid fúziós sejtmag a kifejlett embriózsák közepén, melynek nincs megfelelője a növényvilág többi részében. Mindkét gametofiton erősen redukált és a sporofitontól függ, ennek virágrészeibe zártan, a külső környezettől védetten alakul ki. Már az ivartalan szaporító szervek, a sporofitonhoz tartozó sporángiumok is zártak a spóráképzéskor: a pollensákok a portokokban vannak és csak a pollenszemcsék kialakulása után nyílnak fel, a magkezdemények pedig a magházba zártan fejlődnek. Hasonlóan, az előtelepek, az ivarszervek csökevényei és a gaméták a spórasedjtek belsejében alakulnak ki, a hím gaméták egyenesen a női gametofitonba jutnak át a hím gametofitonból (a pollentömlőből a magkezdemény embriózsákjába). Csupán két, mozgásképtelen hím gaméta jut egy pollenből az embriózsákba, és mindkettő külön-külön részt vesz egy-egy megtermékenyítési folyamatban, bár csak egy zigóta keletkezik. A makrosporofillum mindvégig magába zártan védi a makrosporángiumot, amelynek belsejében megtörténik a megtermékenyítés, így a mag a termés belsejében fejlődik ki, mely később hozzájárul elterjesztéséhez (a mag a makrosporángiumból, a termés a makrosporofillumából keletkezik).

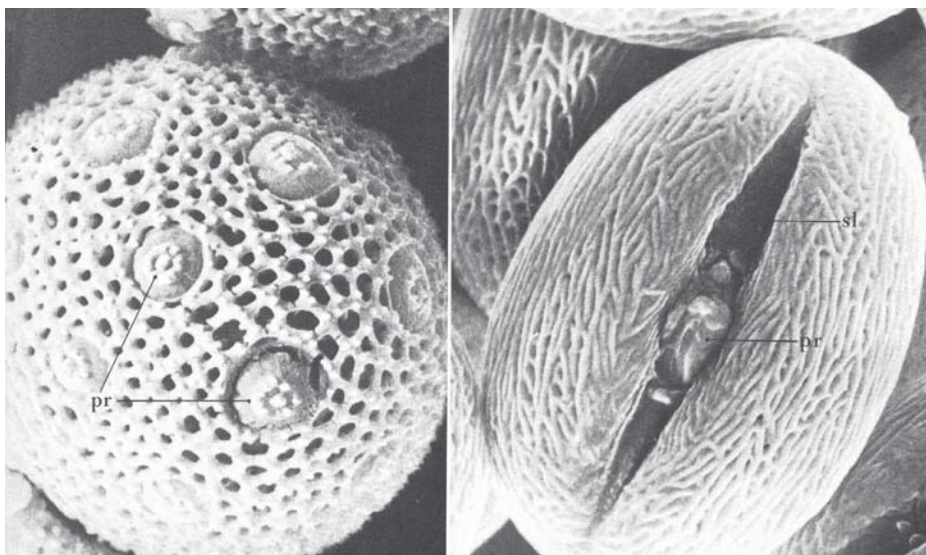
### I.5.1. Mikrosporogenezis és a pollen szerkezete

A **mikrosporogenezis** vagyis a pollensejtek keletkezése a porzó (mikrosporofillum) portokjának pollenzsákjaiban (mikrosporángiumokban) történik. A pollenzsákokban kezdetben parenchimatikus, diploid sporogén szövet található, melyet a portokfal zár közre. A sporogén szövet anyasejtjei meiózissal osztódnak és végül mindegyikből négy kis haploid sejt: pollenszemese (mikrospóra) keletkezik. A pollenszemcsék tehát négyesével, tetrádokban keletkeznek egy-egy anyasejtből, és egyetlen haploid sejtmagjuk van. Genetikai állományuk nem teljesen azonos, mert a meiózis redukciós szakaszában megtörtént a kromoszómák közötti rekombináció (crossing-over és a kromoszómák tánca a homológ párok tagjainak szétválásakor). A pollenszemcsék a diploid pollenzsák-sejtek ketté, majd négybe osztódásával alakulnak ki, az anyasejt fala által határolt térben. A meiózissal keletkező haploid sejtmagok közötti sejttérben a válaszfalak (fragmoplastok) képződhetnek egymás után, szukcedán módon, a redukciós és az ekvációs szakaszok végén (általában az egyszikűeknél), vagy egyszerre, szimultán módon, csak az ekvációs szakasz végén (általában a kétszikűeknél).

Minden **pollensejt** fala, vagyis a sporoderma, két fő rétegből áll: a belső az intine, a külső pedig az exine (ez további alrétegekből épül fel). Az intine közvetlenül körülveszi a plazmamembránt, vékony és képlékeny, elsősorban pektin alapállományba ágyazott cellulóz rostokat és kallózt tartalmaz. Tömlőképzéskor kitüremkedik az exine egyik pórúsán és erőteljes felületi növekedésbe kezd, ez határolja a pollentömlő beltartalmát. Az exine a pollenanyasejt felől centrifugálisan erősen megvastagodik, mechanikai és vegyi szempontból egyaránt nagyon ellenállóvá válik. Ezért a tömlőt nem hajtott pollen megfelelő tartósító közegben (például a tűzeglápokban) akár évmilliókig megmaradhat, és az érintetlen exine mintázata alapján azonosítható, hogy melyik növényfajé volt (12. ábra). Vagyis a különböző geológiai korokból származó talajrétegekből kivett pollenszemcsék segítségével rekonstruálni lehet egy terület virágos növénytakarójának a változásait az évezredek és akár évmilliók során. Az őspollen segítségével végzett paleobotanikai vizsgálatokkal a palinológia foglalkozik.

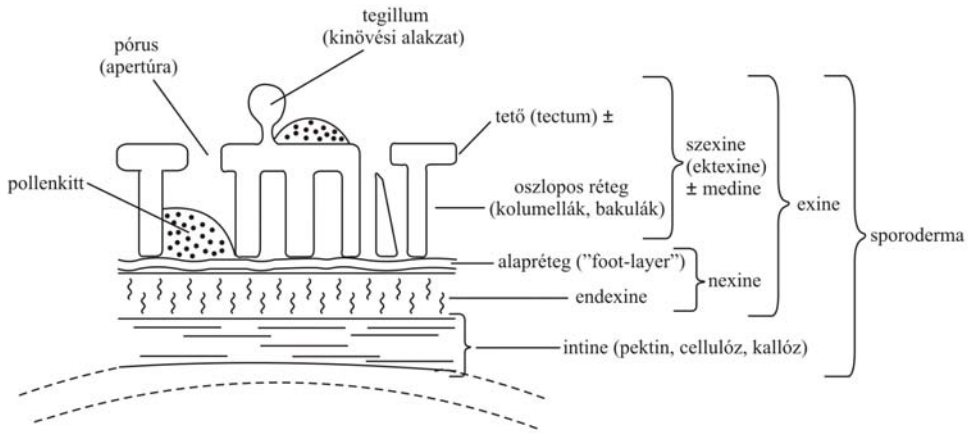
A **pollenfal** exinájének legjellegzetesebb anyaga, mely fokozott vegyi ellenállással rendelkezik, a sporopollenin. Ez lipid típusú vegyület, kialakulásában karotenoidok polimerizációja is közrejátszik. Az **exine** legbelső, az intine felületével érintkező rétege az endexine, ez kifele egy vékony, enyhén lemezes szerkezetű alaprétteg (ang. „foot-layer”) folytatódik, ezen támaszkodik az oszlopos réteg. Az endexine és az alaprétteg együtt a **nexine**, mely homogén felépítésű, mintázatok, kiemelkedések nélküli. A nexinét követi kifele a **szexine** vagy ektexine, mely fajra vagy növénynemzetségre jellemző szupramolekuláris szerveződést, mikroszkóppal felülnézeten látható sajátos mintázatot mutat. Néha a nexine és a szexine között medine nevű köztes réteg is húzódhat. A szexine oszlopos rétegében hengeres kiemelkedések és kúpos kinövések (kolumellák és bakulák) vannak. Az oszlopok

közötti szabad tér egy részében ragacsos pollenkitt lehet jelen, mely segíti a pollen megtapadását a megporzást végző állat testén vagy a bibén. Egyes oszlopok külső végén lapos, a felülettel párhuzamosan elhelyezkedő lemezek lehetnek, ezek alkotják a tetőt vagy tektumot. Számos faj pollenfaláról ez a tető hiányzik. A tető felületén helyenként változatos alakú kinövések: tegillumok alakulhatnak ki. A kinövések főleg az állatok általi megporzáshoz alkalmazkodott növények pollenjére jellemzők, a szélmegporzású fajok pollenje gyakran sima vagy hálózatos felületű. Az exine felületén, a tető lemezkéi vagy az oszlopok között szabad nyílások: pórusok vagy apertúrák vannak, ahol megfelelő váladékösszetételű bibén az **intine** kitüremkedésével a pollen tömlőt hajthat. A homogén nexine és a rajta levő, mintázatos szexine együtt az exinét képezi, ez pedig az intinével együtt a pollensejt teljes falát: a **sporodermát** alkotja (13. ábra). A pollenfal felületén egyes anyagok – amikor a levegőben lebegő pollen az orr nyálkahártyájához jut – testidegen antigénekként prozstaglandinok, hisztamin, leukotriének és egyéb védőanyagok felszabadulását váltják ki védekezési reakcióként, ami pollenallergiaként nyilvánul meg („szénanátha”). Különböző személyek más-más növényfajok (egyes pázsitfűvek, a parlagfű stb.) pollenjére lehetnek érzékenyek. A pollenallergia sokkal elterjedtebb városiaknál és szellemi foglalkozásúaknál, mint vidéken élő és fizikai munkát végző személyeknél. Úgy tűnik, hogy a nagyvárosok lakosságának kb. 90%-a allergiás valamely növény pollenjére.



**12. ábra.** Rovarmegporzású és szélmegporzású növényfajok (mécsvirág, *Melandrium album* és tárnics, *Gentiana pneumonanthe*) pollenfelülete (pásztázó mikroszkópos kép, 3400 X-os nagyítás). pr – pórus (nyílás az exinén a pollentömlő számára), sl – tömlőhajítási rész (Roland és Roland 2005 után)



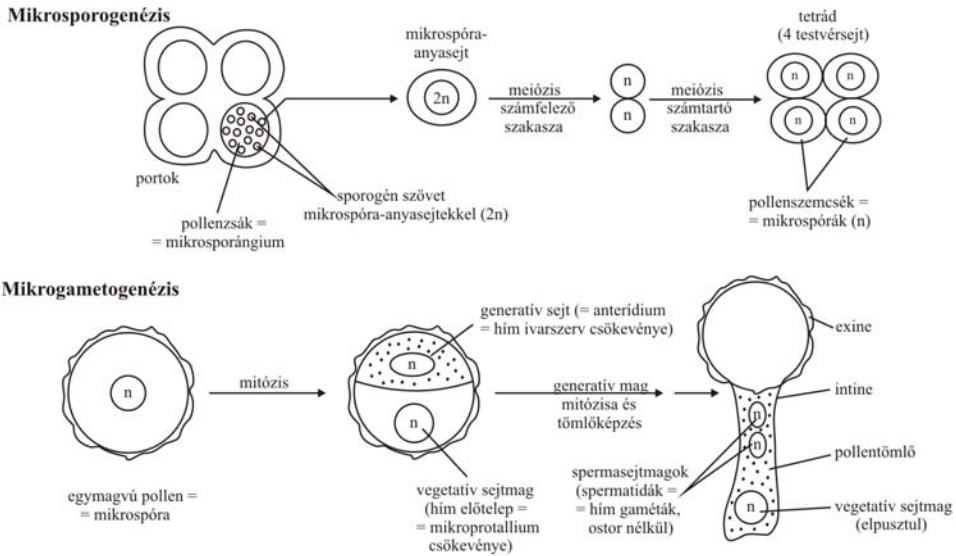


13. ábra. A pollenfal felépítésének vázlata (eredeti)

### I.5.2. Mikrogametogenezis a pollenben

A **mikrogametogenezis** a két hím gaméta (spermatida vagy spermasejtmag) kialakulása a pollensejt (mikrospóra) által létrehozott hím gametofiton fejlődési szakasz során, a pollentömlőben. A pollen egyetlen haploid sejtmagja a kialakulását követően vagy akár hetek után mitózissal kettéosztódik, és a két sejtmag körül a pollensejt beltartalma két kisebb sejtre különül. Az egyik, mely általában a kisebbik, domború lencse alakú és sejtmagja elliptikus, a **generatív sejt**, ez jelenti az egyetlen sejtre redukálódott hím ivarszervet (anterídiumot). A **vegetatív sejt**, mely a pollen belsejének nagyobb részét foglalja el és sejtmagja gömbölyű, rövid életű, a pollentömlő kialakulásának irányításában vesz részt, és az egyetlen sejtre redukálódott hím előtelepet (mikroprotalliumot) képviseli. Az illető pollen számára fogadóképes bibén az exine egyik (alsó helyzetű) pórusán az intine kitérűnkedésével pollentömlő keletkezik, melybe bejut előbb a vegetatív, majd a generatív sejt tartalma, az eredeti sporoderma által határolt tér pedig kiürül. A pollentömlő élénk csúcsnövekedést és citoplazmaáramlást mutat, csúcsának közelében általában a vegetatív sejtmag található a magkezdemény embriózsákjához való elérkezésig. A vegetatív sejtmag mögött a pollentömlőbe jutó generatív sejtmag mitotikusan kettéosztódik, így létrejön a megtermékenyítésre képes két hím gaméta: a spermatidák vagy **spermasejtmagok**. Ostoruk természetesen nincs, hiszen csupán sejtmagok, melyeket a pollentömlő citoplazmaáramlása szállít csúcsi irányba, a bibeszálon keresztül a magház üregébe, és innen egy magkezdemény nucelluszába az embriózsákhoz. Amikor a pollentömlő csúcsa érintkezik az embriózsák falával, a két határolóréteg az érintkezés helyén enzimatikusan felnyílik, a vegetatív sejtmag elpusztul, a pollentömlőből pedig a két

spermasejtmag bejut az embriózsákba, ahol megtörténik a kettős megtermékenyítés. Megfigyelhető, hogy a zárvatermők hím gametofitonja nagymértékben redukált (két haploid sejt, majd 3 haploid sejtmag). A sporofiton testében (a porzók pollenzsákjaiban) kezd el, majd a felnyílt portokból kiszóródó és bibére érkező pollenben folytatja fejlődését (14. ábra), mely biztosítja a hím gaméták eljuttatását a megtermékenyítés helyéig, a pollenfal által védve ezeket a kiszáradástól (hiszen a gaméták már nem a víz útján jutnak a női szaporító készülékhez).



14. ábra. Mikrosporogenezis és mikrogametogenezis a zárvatermőknél (eredeti)

### I.5.3. Makrosporogenezis a magkezdeményben

A **makrosporogenezis** a haploid embriózsák-sejt meiózisz általi képződését jelenti, ami a termőlevelek (makrosporofillumok) összezárulásával kialakult termő magházának üregében, a külső kedvezőtlen körülményektől védetten kifejlődő ivartalan szaporító szervek: a magkezdemények két integumentummal burkolt testében, a nucelluszban (makrosporángiumban) történik. A nucellusz sok diploid parenchimatikus sejtje közül csak egyetlen, általában a csírapapu vagy mikropile (integumentummal nem burkolt csúcsi, csupasz magkezdemény-felület) közelében levő, a szomszédos sejtekhez viszonyítva jelentősen nagyobb, diploid archespora-sejt osztódik ketté mitózissal. Így keletkezik egy felsőbb helyzetű (mikropiléhez közelebbi), rövid életű diploid fedősejt és egy alsóbb helyzetű, szintén diploid makrospóra-anyasejt. A fedősejt mitotikusan néhány sejtéből álló sapkát hoz létre, mely enyhén a nucellusz belseje felé nyomja a makrospóra-anyasejtet. Ez utóbbi meiózissal osztódik, a redukciós szakaszban két, majd az ekvációs szakaszban összesen 4, egymás fölött oszlopszerűen elhelyezkedő haploid makrospóra-sejt keletkezik. Ezek közül a 3 felső sejt elpusztul, ezek anyagát



átveszi a legalsó haploid sejt, mely erőteljes vakuolizáció közben zsákszerűvé növekszik. Ez az egyetlen megmaradó haploid makrospóra a primer embriózsák-sejt. Ritka esetben a makrospóra-anyasejt meióziséből származó 2 haploid sejtmag vagy mind a 4 sejtmag megmarad, és részt vesz az embriózsák létrehozásában, ezt nevezzük bispórás, illetve tetraspórás embriózsák-képződésnek.

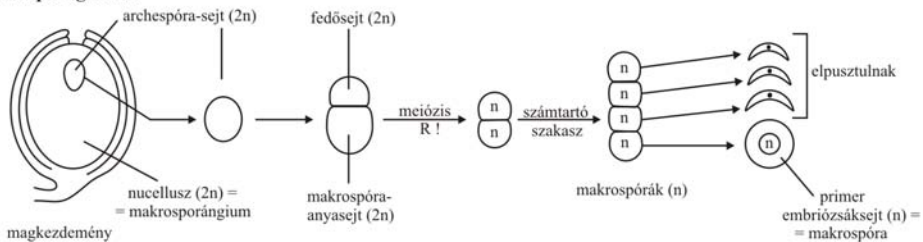
#### I.5.4. Makrogametogenezis és az embriózsák szerkezete

A **makrogametogenezis** a petesejt (ovum vagy ooszféra) kialakulása a makrospóra (embriózsák) által létrehozott női gametofitonban. A folyamat a makrosporogenezis folytatásaként, a magházban levő magkezdemények belsejében, a primer embriózsáksejt egyetlen haploid sejtmagjának további osztódásaival valósul meg. A vakuolizált, megnövekedett embriózsák-sejt kezdeti sejtmagja 3 egymás utáni mitózissal 2, 4, majd 8 haploid sejtmagot hoz létre az embriózsák-sejt belsejében. Ezek közül 4 sejtmag a sejt felső, mikropiléhez közelebbi részében, a másik 4 sejtmag pedig az ezzel ellentétes, alsó sejtővezetben helyezkedik el. A következő lépésben mindkét négyes csoportból egy-egy sejtmag, a vakuólumok közötti citoplazma-sávok áramlásával egymással szembe halad az embriózsák-sejt közepe felé. Itt a két haploid sejtmag érintkezik egymással és összeolvad (fuzionál) egyetlen, diploid (dihaploid) sejtmaggá. Ez lesz az **embriózsák** utólag kialakuló **másodlagos sejtmagja**. Az összeolvadó két haploid sejtmag közös eredetű és teljesen egyforma génállományú, így a folyamat nem jelent megtermékenyítést, a keletkező diploid sejtmag pedig homozigóta lesz (az anyai géneket két egyforma példányban tartalmazza). A zárvatermőkre sajátosan jellemző módon az embriózsák diploid sejtmagja is megtermékenyítődik a pollentömlővel érkező egyik spermasejtmag által, de a keletkező triploid járulékos zigótából nem fejlődik új növényegyed, hanem az embrió körüli táplálósövetet alakítja ki, mely a magból felhasználódik.

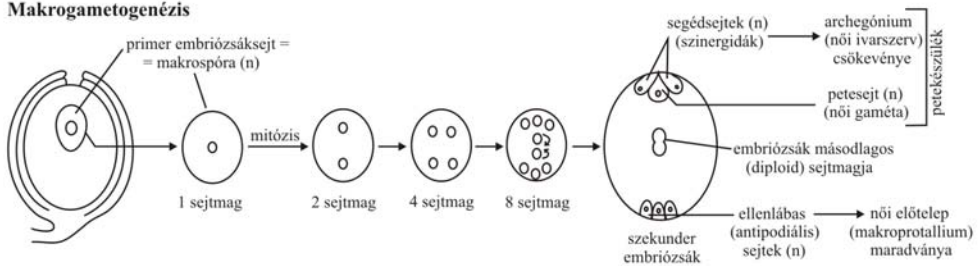
Az embriózsákban levő másik 6 sejtmag közül a mikropile felőli sejtpóluson levő 3 a petekészülék. Itt 2 **segédsejt** vagy szinergida a női ivarszerv (archegónium) 2 sejtre redukált maradványát jelenti, a harmadik sejt pedig a **petesejt**. Ez nincs mindig a petekészülék közepén (2 oldalán 1-1 segédsejttel) és nem mindig nagyobb, mint a szinergidák, viszont a segédsejtekkel ellentétben vakuólumai mindig a sejtmag alatt található, így a felülről érkező spermasejtmag könnyen találkozik a petesejt magjával, de nem olvadhat össze egy szinergida sejtmagjával. Ha egy spermasejtmag egy segédsejthez jut, innen oldalirányban eltér a petesejt felé, miközben a szinergida segíti a petesejt és a hím gaméta egymásra találását. A petekészülékkel ellentétes oldalon, az embriózsák alsó (a magkezdemény közepe felé eső) pólusán 3 másik haploid sejtmag a körülöttük levő kis citoplazma-részekkel együtt elhatárolódik 3 ellenlábás (antipodiális) sejtjé, melyek a redukált női előtelepet (makroprotalliumot) képviselik. Egyes növényeknél nincsenek **ellenlábás sejtek**, itt az embriózsákban csak 4 sejtmag van (3 haploid sejtmag a petekészülékben és egy dihaploid központi

sejtmag), néhány fajnál pedig 11 antipóda keletkezik az embriózsák alsó részében, így az embriózsákban összesen 15 sejtmag van (amelyek közül egy diploiddá vált). Megfigyelhető, hogy a zárvatermők női gametofitonja is nagymértékben redukálódott (6 haploid sejt és egy diploid sejtmag a kifejlett, ún. szekunder embriózsákban) és nem önálló, hiszen a sporofiton testében (a virágok magházainak magkezdeményeiben) található, soha nem jut ki a makrosporángiumból (15. ábra).

### Makrosporogenezis

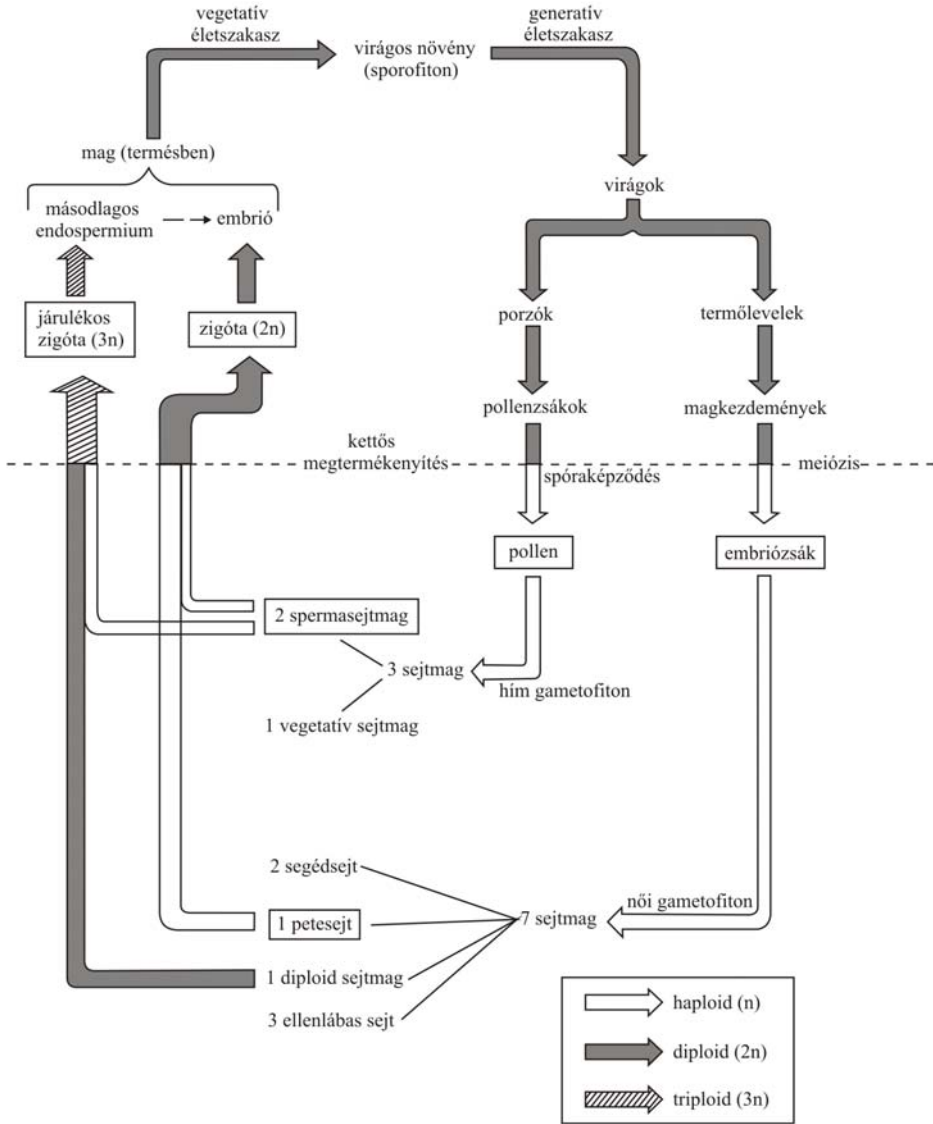


### Makrogametogenezis



15. ábra. Makrosporogenezis és makrogametogenezis a zárvatermőknél (eredeti)

A zárvatermők kétszakaszos életciklusát, a virágokban történő szaporodás fő lépéseivel együtt, a 16. ábra foglalja össze.



16. ábra. A zárva termők szaporodási ciklusának vázlatja (Taylor 1999 után módosítva)

### I.5.5. Megtermékenyítés a zárva termőknél

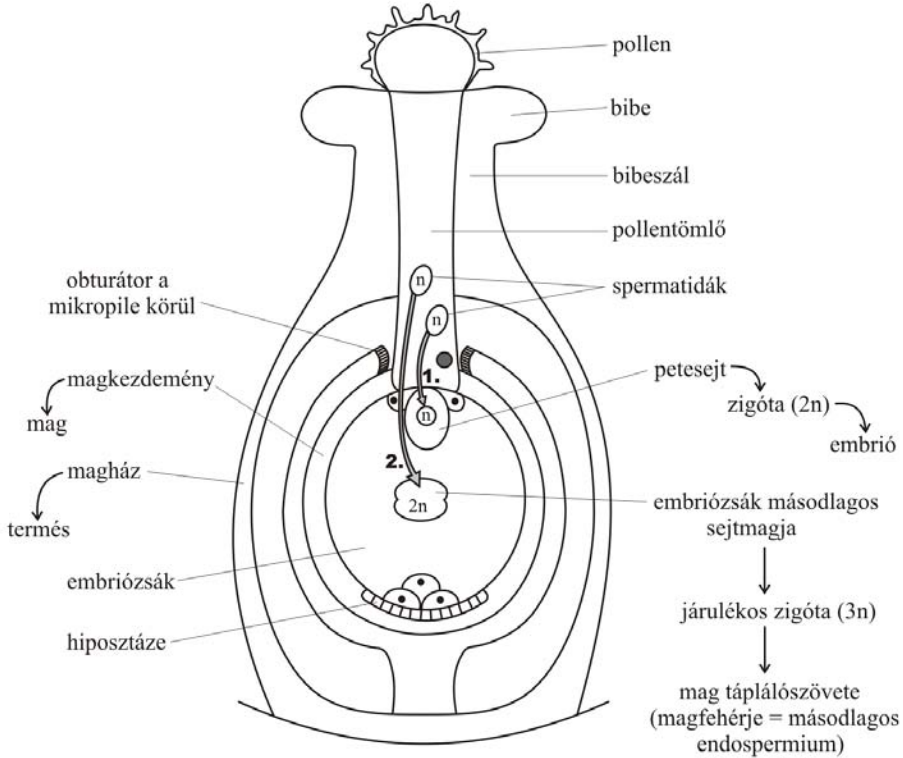
A megtermékenyítés, melynek általános jellemzőit az ivaros szaporodással kapcsolatban már megismertük, a virágos növényeknél a megporzás után következik be, hiszen a külső környezetben nem a hím gaméták, hanem a mikroszporák jutnak el a hím szaporító szervekből a női szaporító készülékhez. A termő bibéjének glanduláris

szövege által termelt és csöves plazmodezmákon keresztül kiválasztott sűrű (8-85%-os) cukoroldat hatására a bibe felületén megtapadt pollen tömlőt hajt. Kezdetben az intine az exine minden pórusán elkezd kitüremkedni, de csak ott fejlődik tovább, ahol a kesztyűujjszerű nyúlványba bejutnak a haploid sejtmagok. A pollen tömlőképzésig a bibén maradhat 1 naptól (pl. pázsitfüveknél) akár 220 napig (pl. almafáknál). A bibeszál sztigmatoid szövege lehet szivacsos vagy csatornás (csöves) szerkezetű, és nagy intercelluláris járataiban cukros nedv van, ami végig táplálja a gyors csúcsnövekedésű, negatív oxitróp (a kisebb oxigénkoncentráció felé hajló) pollentömlőt, mely pektinázok szekréciójával segíti saját előrehaladását a bibeszál sejtjei között. Egy bibeszálban egyszerre nagyon sok pollentömlő haladhat lefele a magház falába, ahonnan kemotropizmussal talál rá az embriózsákra a magkezdemény nucelluszának mikropile felőli részében. A magkezdeménybe hatolást segítik a mikropilét határoló obturátor sejtek, melyek nyálkát termelnek és felszakítják a nucelluszsejteket ott, ahol a pollentömlő behatol. Általában a pollentömlő belépése a magkezdeménybe a mikropilén keresztül történik, ezt nevezzük porogámiának. Ha a pollentömlő a magkezdemény oldalán átfúrja az integumentumokat, a behatolás neve aporogámia, ha pedig a magkezdemény alapi részén, a chalazán keresztül jut a nucelluszba (az embriózsák alatti, tápanyagban gazdag, hiposztáze rétegnek nevezett nucelluszrész irányában), chalazogámiáról beszélünk (pl. a diófa női virágaiban).

Az embriózsákig eljutó pollentömlő csúcsa egy szinergidával érintkezve feloldódik. Az egyik spermasejtmag egyesül a petesejt magjával és létrejön a **diploid zigóta**, anyai és apai örökítő anyaggal. A másik spermasejtmag továbbjut az embriózsák egyik citoplazmasávján a középrészig, ahol egyesül az embriózsák diploid sejtmagjával. Így keletkezik a **triploid járulékos zigóta**, melyből a zárvatermők magjára jellemző másodlagos endospermium vagy magfehérje nevű táplálószövet keletkezik az embrió körül (17. ábra). E kettős megtermékenyítés lényege, hogy nemcsak a zigóta, hanem a körülötte levő, az egyedfejlődés legkritikusabb kezdeti (csírázási) szakaszának energiaalapját biztosító táplálószövet kiindulási sejtje, a járulékos zigóta is kettős eredetű, anyai és apai örökletes anyagot egyaránt tartalmaz. Mivel e **másodlagos endospermium** sejtjei triploidok (minden géntípust két anyai és egy apai példányban tartalmaznak), ez nemcsak nagyobb genetikai változatosságot, hanem génamplifikációt is jelent: ezek a triploid sejtek nagyobbak és több tartalék tápanyagot képesek felhalmozni, mint a diploid sejtek vagy a nyitvatermőknél megismert haploid elsődleges endospermium (női előtelep) sejtjei. Mindez lényegesen nagyobb túlélési és elterjedési lehetőséget biztosít a zárvatermő fajoknak kevésbé kedvező környezeti körülmények között is, hiszen több tartalékkal a csíranövény hosszabb ideig gazdálkodhat a szülőktől származó szerves tápanyaggal, ennek felhasználásával gyorsabban növekedhet, és könnyebben átjuthat a csírázás utáni kritikus perióduson, amíg első leveleinek és gyökérzetének kifejlesztésével aktív önálló anyagcserét végezhet.

A megtermékenyítés után leáll a bibevaladék és a nektár termelése, mert a hánccs által a virágba szállított cukrok elsősorban a maggá alakuló magkezdeményben

létrejövő embrió táplálására és a másodlagos endospermium tápanyagraktározására irányítódnak át, másik részük pedig a terméssé fejlődő magház falába kerül.



17. ábra. A kettős megtermékenyítés vázlatja (eredeti)

valamint a fűgénéél. Ma főleg az értékes, nemesített haszonnövény-fajták megőrzése és keresztezése érdekében alkalmazzák a mesterséges megporzást (pl. a kukoricánál, gyümölcsfáknál, napraforgónál, melegházi zöldségnövényeknél).

### I.7.3. Alaktani virágtípusok

A megporzás valamely formájának az előnyben részesítésével, elsősorban a különböző állatok általi keresztezett megporzás elősegítésével függ össze a fő alaktani **virágtípusok** kialakulása a különböző zárvatermő növénycsaládok evolúciója során. E virágtípusok közül említést érdemelnek a korongvirágok, a tölcsérvirágok, a harangvirágok, a nyeles tányérvirágok, az ajakos virágok, a pillangós virágok, a sarkantyús virágok, a nyelvés virágok, a csöves virágok és a rovarcsapda virágok. Mindezek alapvető alaktani sajátosságait főleg a párta vagy a lepel szerveződése, másodsorban pedig a porzótáj és a termő elhelyezkedése adja, beleértve a különböző virágelemek egymáshoz viszonyított helyzetét is (21. ábra).

A **korongvirágok** pártája lapos, szíromlevelei szabadok és sugarasan szétállnak, nagy leszállási felületet biztosítanak a repülő rovaroknak. Egyesek pollenvirágok (pl. tavirózsa, pipacs, májvirág, hérics, fecskéfű, napvirág), mások nektártermelő virágok, gyakran mézfejtő-gyűrűvel a magház körül (pl. ernyősvirágzatúak, juharfa, hársfa, cseresznyefa, szamóca, szeder, boglárka, som, galagonya). Ide sorolható a káposztafélék keresztes virága is, melyben a négy szíromlevél egy síkban, egymásra merőlegesen helyezkedik el (pl. repce, pásztortáska).

A **tölcsérvirágok** pártája forrt szirmú (vagy a lepel összenőtt lepellevelű), fent szélesebb és a vacok felé fokozatosan, kúp alakban keskenyedek (infundibuliform), szimmetriája sugaras, a termő a középtengely mentén található, a porzók pedig általában szabadok vagy porzószálaikkal a szíromlevelek belső felületére rögzülnek (pl. dohány, tök, meténg, sáfrány, kikerics, maszlag, menta, szulák, angyaltrombita).

A **harangvirágok** pártája többé-kevésbé henger vagy csengettyű alakú (kampanuliform) és a virágkocsány lefele hajlik, a szírmok vagy a lepellevelek lehetnek szabadok vagy forrtak (pl. gyöngyvirág, áfonya, liliom, harangláb).

A **nyeles tányérvirágok** vagy hipokrateriform virágok szirmjai alul cső alakban körben összeforrtak, felső részük pedig erre a nyélszerű pártacsőre merőlegesen szétterül egy lapos felület mentén (pl. orgona, kankalin, szegfű, kéknefejejcs, tüdőfű, habszegfű, mécsvirág).

Az **ajakos virágok** kétoldalian részarányosak, alakjuk a rovarmegporzáshoz alkalmazkodott. A párta 3 felső szíromlevele egymással összenőve egy nagyobb, előregöbült felső ajakot alkot, az alsó két szíromlevél pedig egy kisebb alsó ajakká nőtt össze. A felső ajak belső felületéhez rögzülnek a porzószála (az árvacsalánfélénél a 4 porzó közül kettőnek hosszabb, a másik kettőnek rövidebb a porzószála, más esetekben csak 2 porzó van jelen). A kifejtett termő bibéje hosszan

kinyúlik a porzók között. Az alsó ajak leszállópályaként szolgál a rovar számára, mely a hozott pollent a bibére kenő, majd bennebb haladva a lehajló portokokról a hátára kerül a virág saját pollenje, mellyel a rovar tovarepül egy másik virágra (pl. tátogató, zsálya, kakukkfű).

A **pillangós virágok** szintén kétoldali szimmetriát mutatnak (zigomorfoz), de csak a két alsó, kisebb szíromlevél nő össze a középvonal mentén egy ún. **csónakká**. Ebben a pártacsónakban található az általában falkákba összenőtt porzószerű porzók, melyek közül kiemelkedik a bibe. A két oldalsó szíromlevél a két szárnyyszerű **evező**, ezek irányítják a leszálló rovar. A felső szíromlevél nagyobb, felfele hajlik és a **vitorlát** alkotja, mely könnyebben észrevehetővé teszi a virágot. A nektárt a vacok öble vagy a termő tövében levő nektárium termeli, és ezt a rovar a csónakba hatolva éri el. A csónakot a rászálló rovar lenyomja és a szaporító szervek kiemelkednek belőle, így jut a pollen a rovar hasi oldalára (pl. akác, lucerna, csillagfürt, lóbab).

A **sarkantyús virágok** szintén kétoldali szimmetriájúak, de ez szemből nézve nem mindig derül ki, mert a párta alsó szíromlevelének egy hátrafelé hajló, kesztyűujjszerű nyúlványa van. Ez a sarkantyú, melynek alján nektár található. A rovar a sarkantyú felé haladva dörzsöli a hozott pollent a bibéhez és viszi el a sarkantyú bemeneti nyílása körül levő portokokról a virág pollenjét (pl. árvácska, gyújtóvirág, szívvirág, keltike, füstike).

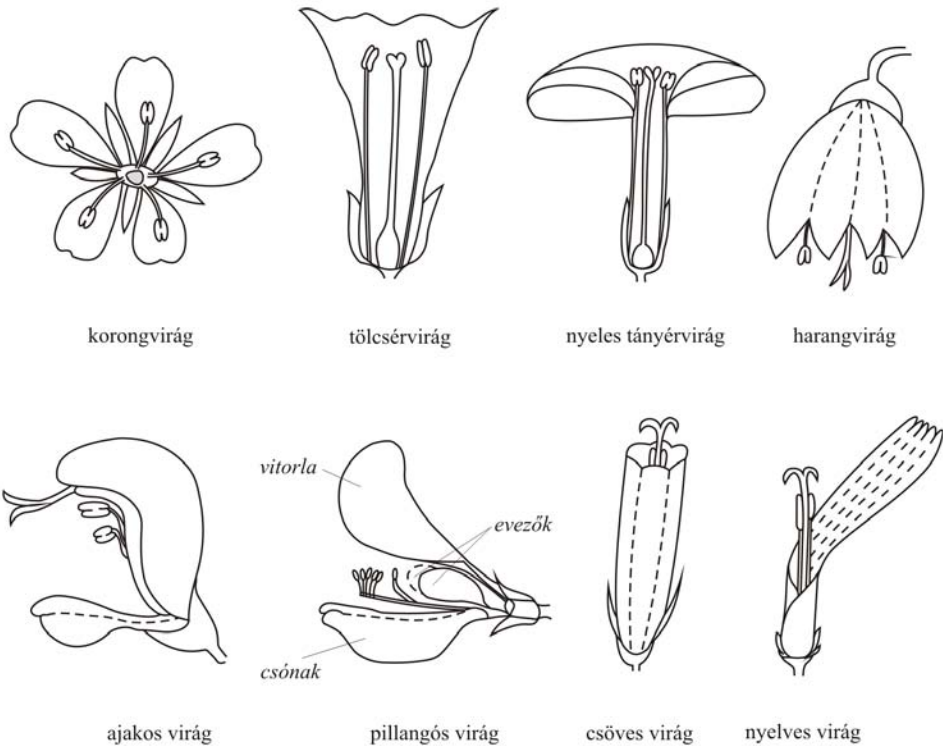
A **nyelves virágok** kétoldalian részarányos pártája liguliform, vagyis az összenőtt szíromlevelek rövid alsó része egy hengeres pártacsövet alkot, ez védi a ránőtt porzókat és az alsó magházú termőt, a szíromlevelek hosszabb felső szakasza pedig egyoldalasan egy síkba rendeződik, lapos nyelvű képződményt alkotva, mely csalogatja a rovarokat (pl. pitypang, katáng, hölgymál, dália, őszirózsa, krizantém, a napraforgó fészekvirágzatának külső, steril virágai).

A **csöves virágok** forrt szirmú pártája tubuliform, a szíromlevelek teljes hosszukban hengeres képződménnyé nőttek össze, így a virág sugaras szimmetriájú (aktinomorf) és keskeny (pl. gerebesin, aranyvessző, betyárkóró, a napraforgó, a margitvirág és az orvosi széklő fészekvirágzatának belsőbb helyzetű, termős virágai). A fészekvirágzatúak számos fajánál a csöves és a nyelvű virágok egymással társultan találhatóak: a külsőbb helyzetű, messziről nagy színes szíromlevelekhez hasonló nyelvű virágok csalogatják a megporzó állatokat, a tányérszerű virágzati tengely felületének belsőbb övezetében pedig a sok apró csöves virág hatékonyan védi a szaporító szerveit (a pártacsó közepén általában csak a kétágú bibe emelkedik ki, a nektárért és a pollenért az állatnak be kell nyúlnia a virág belsejébe).

A **rovarcsapda virágok** sajátos alakúak, hosszabb időre fogva tartják az apró rovarokat, melyek a hozott pollent a fogadóképes bibére juttatják. Csak ezután nyílnak fel a portokok, és a virág csak azután engedő szabadon a rovarokat, miután a portokok a virág saját pollenjét rászórták a rovarok testére. A pártacsóban vagy a lepelcsőben általában lefele hajló merev szőrök tömege nem engedő ki a bejutott rovarokat,



ameddig a szőrök el nem hervadnak (pl. farkasalma). Hasonlóan tölti be keresztezett megporzást szolgáló szerepét a kontyvirágok virágzata, csapdaként szolgáló virágzati buroklevele és szőrszerű steril virágai által, itt viszont nem az egyes virágok alkotják a csapdát, hanem az egész torzsavirágzat a hozzá tartozó nagy felleléssel.



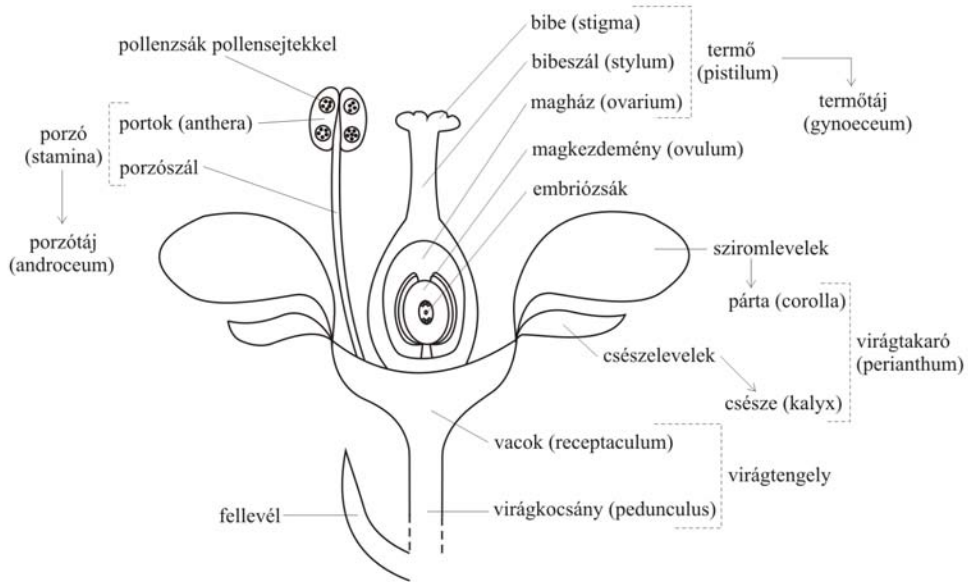
21. ábra. Néhány virágtípus alaktani jellegeik alapján (eredeti)

#### I.7.4. A zárvatermők virágának felépítése

A virág (*flos* vagy *anthos*) részei nemcsak a megporzást, hanem a szaporító elemek (főleg a magkezdemények és a bennük kialakuló megtermékenyített petesejt) védelmét szolgálják. A virág nem más, mint egy korlátolt növekedésű, rövid életű szaporító hajtás, melynek száreredetű tengelyszerve és levéleredetű oldalszervei vannak (22. ábra). Hajtásként nem egy szervnek, hanem egy szervrendszernek felel meg, mely a szaporodási életműködésre szakosodott. A virágok felépítése fajokra, nemzetségekre, növénycsaládokra jellemző sajátosságokat mutat. Egy teljes virág részei a virágkocsány (*pedunculus*), a vacok (*receptaculum*, a virágkocsány kiszélesedő felső folytatása, melyen a többi virágelem rögzül), a virágtakaró (a csésze és a párta vagy mindkettő helyett a lepel), a porzótáj (a hím spóráképző szervekkel)



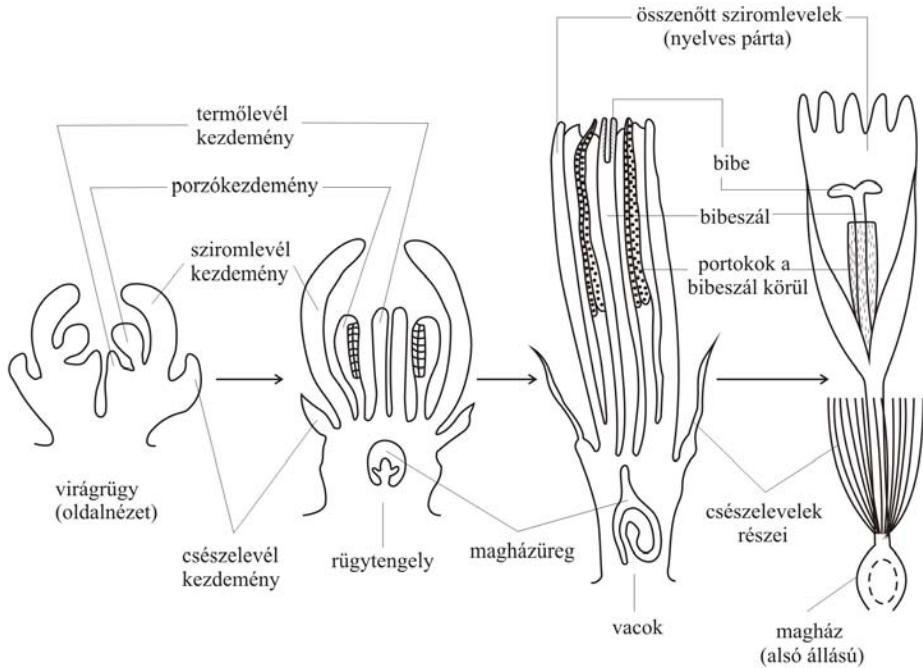
és a termőtáj (a női spóráképző szervekkel). A virág szabad szemmel látható részei a sporofiton életszakaszhoz tartoznak, az ivarszervek mikroszkopikus méretűek és az ivartalan szaporító szerkezetekben rejtetten találhatóak. Szimetriaviszonyait tekintve a virág lehet sugaras szimetriájú vagy **aktinomorf** (pl. róza), kétoldalian részarányos vagy **zigomorf** (pl. borsó), ritkábban biszimmetrikus vagyis két, egymásra merőleges szimmetriasíkkal, mint például a szívvirág (*Dicentra spectabilis*), valamint aszimmetrikus (szimmetriasík nélküli, pl. a *Canna indica* virága).



22. ábra. A virág felépítése a zárvatermőknél (eredeti)

Az ősi virágtípusban a virágtakaró elemek és a szaporító szervek csavarvonal mentén, **spirálisan** sorakoznak a vacok felületén, számuk pedig nagy és meghatározatlan, vagyis egy faj különböző egyedeinél az elemek száma változik, továbbá a virágelemek szabadon állnak, a termőtáj pedig felső állású, a vacok felületén ülő magházzal (pl. magnóliaféléknél, boglárkaféléknél, tündérrózsaféléknél). A fejlettebb, leszármazott virágtípusban a virágelemek koncentrikus körökbe rendeződnek (pl. a **tetraciklikus** virágban van egy csészekör, egy pártakör, egy porzókör és egy termőkör, a pentaciklikus virágban lehet egy csészekör, egy pártakör – vagy ezek helyett két lepelkör –, két porzókör és középen egy termőkör), a virágelemek száma állandósult (pl. **trimer** virágokban egy körben 3 egyforma elem van, tetramer virágokban egy körben 4, **pentamer** virágokban egy körben 5 virágelem helyezkedik el), továbbá a virágelemek egyre inkább összenőttek egymással, a termőtáj pedig közép- vagy alsó helyzetű (a termő részben vagy egészen a vacokba mélyedt).

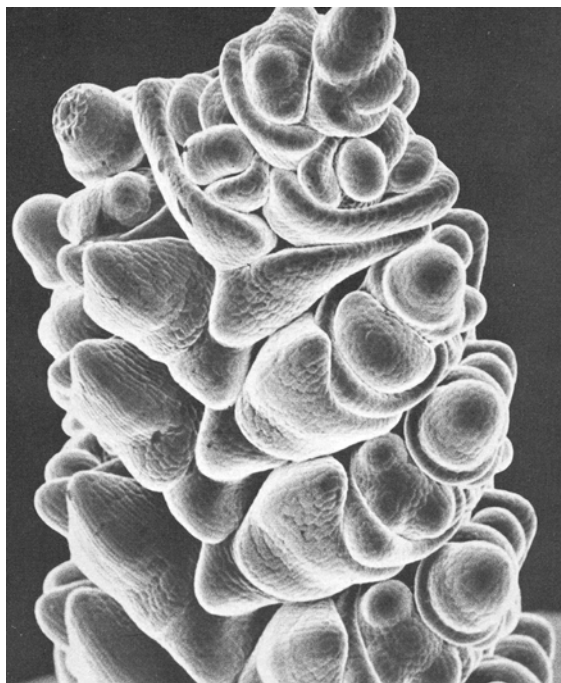
A virágrészek között korrelatív kapcsolat van, egymás növekedését kölcsönösen befolyásolják. Sok növénynél a csészelevél kezdemények fejlődése indukálja a szíromlevél kezdemények utólagos kifejlődését, ezek után pedig a porzók kezdenek differenciálódni, majd legvégül alakulnak ki a termőlevelek, melyek szabadok maradnak vagy összenőnek. A porzósálak és a bibeszálak utólagos interkaláris növekedéssel nyúlnak meg, a magház pedig a vacokkal párhuzamosan fejlődik. A virágképződés első fázisában a tenyészőcsúcsba transzlokálódott bioregulátorok hatására a csúcsmerisztémák növekedése átmenetileg megáll. Ezen átmeneti nyugalom során a génaktivitás megváltozik. A viszonylagos nyugalom után bekövetkező intenzív sejtosztódás során létrejönnek a virág részeinek kezdeményei. Ebben az időszakban az auxinszint igen alacsony, az apikális dominancia megszűnik. A virág kialakulásának harmadik szakaszában a virágrészek szöveteinek intenzív megnyúlásos növekedése következtében létrejön a virágbimbó (virágrügy), majd bekövetkezik a virágok nyílása (23. ábra).



23. ábra. Virágképződés vázlata a salátánál (eredeti)

A hajtás-csúcsban a virágzási periódusba való átmenet során időrendben a következő változások mennek végbe: 1. A génaktivitás megváltozásának szakasza: a csúcsmerisztéma centrális és perifériás zónája a virágzási hormonok hatásának elsődleges helye. E szakaszban a sejtek szinkronizálódnak, valamennyi a sejtciklus G2 fázisába kerül, a génműködés módosul, és amikor a sejtek újra osztódnak, már

új minőségű sejtek keletkeznek. 2. Szintetikus szakasz: a virágzást szabályozó hormonok hatására jelentősen növekszik a nukleinsav-és fehérjeszintézis intenzitása. 3. Mitotikus szakasz: egy-két nappal a virágindukció után a merisztémákban a sejtek intenzív osztódásba kezdenek, a mitózisok gyakorisága növekszik. Ezzel párhuzamosan az endoplazmatikus retikulum és a Golgi készülék ciszternáinak száma gyarapszik, szoros kapcsolatban a sejtosztódást követő sejtfolképződéssel. 4. Morfogenetikai szakasz: kialakulnak a virág részeinek kezdeményei, majd ezek megnyúlásos növekedése közben megjelenik a virágrügy. Ezeket a változásokat fokozott fehérjeszintézis követi. Virágzatokban a virágrügyek egymás utáni sorrendben fejlődnek ki (fürtös virágzatokban akropetálisan, az alap felől a virágzat csúcsa felé haladó sorrendben), és a szomszédos virágkezdemények között szoros koreláció van a tápanyagok megoszlását és a hormonális összehangolást tekintve (24. ábra).



**24. ábra.** Virágok fejlődése fiatal búzakaralásban a hajtáscsúc merisztémájának generatív stádiumba jutása során (pásztázó mikroszkópos kép, 190 X-es nagyítás, Troughton és Donaldson 2002 után)

Mérsékelt égövi lombhullató fáknál a virágkezdeményeket magukba foglaló termőrügyek a vegetatív testet gyarapító levélrügyekkel azonos időben, rendszerint nyár elején differenciálódnak. Nyár végén e rügyek fejlődése leáll, nyugalmi állapotba kerülnek, és csak hideghatásra lejátszódó hormonális változások után, a következő tavasszal folytatódik. A növényenkénti virágok száma tehát az előző évben lejátszódó rügydifferenciálódás során eldől.

A több termőlevélből összenőtt termők esetében, az összenövés módja alapján, a magház lehet **euszinkarp** (amikor a termőlevelek a magházüreg középpontjáig hatolva találkoznak egymással és a magházüreget elkülönült rekeszekre tagolják), **parakarp** (amikor a termőleveleknek csak a szélei nőnek össze körben, így a magházüreg egységes marad) és **lizikarp** (amikor a termőlevelek összenövésével keletkező válaszfalak részlegesen, nem hatolnak a középpontig és csak a magházüreg külső övezetét tagolják részlegesen rekeszekre, a magház üregének a közepén pedig kialakulhat egy függőleges oszlop).

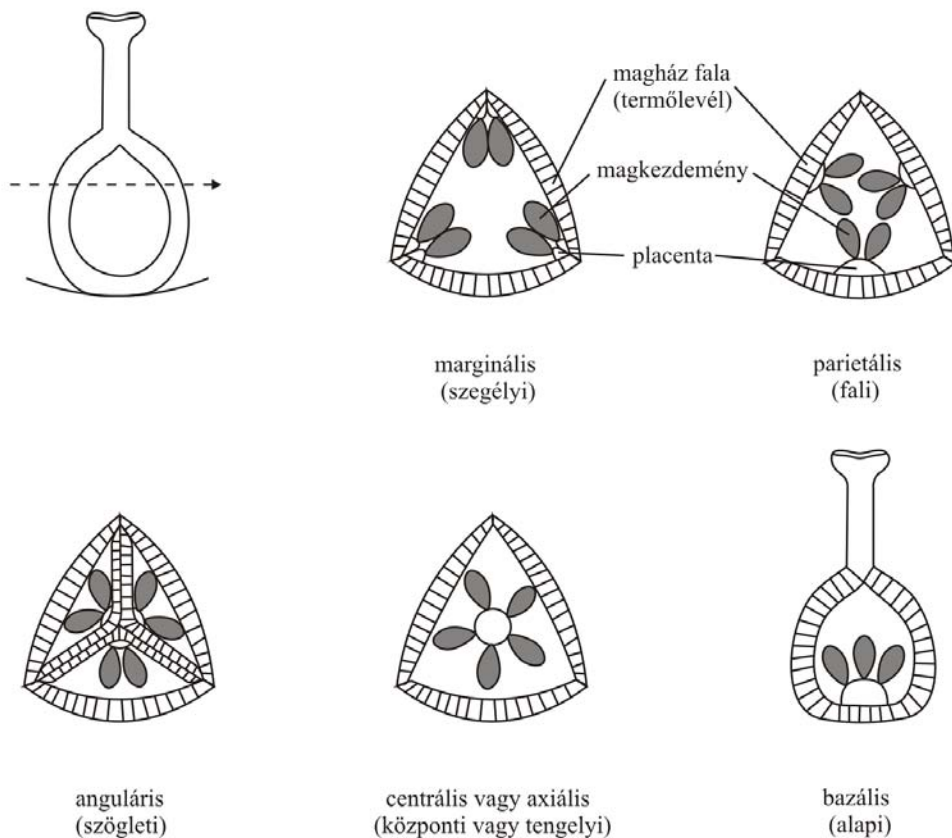
#### I.7.4.4. A placentáció típusai és a magkezdemény szerveződése

A magház szintjén a termőlevelek belső oldalán dudorként alakul ki a placenta (magléc vagy magtanya), mely által a magház üregében levő magkezdemény rögzül a magház falához és ettől tápanyagokat kap. Azt, hogy a termőlevél melyik részén található a placenta, vagyis a maglécek helyzetét a magházban, a **placentáció** típusa jelzi (28. ábra). **Marginális** vagy szegélyi placentáció esetében a magkezdeményeket rögzítő placenták a termőlevelek összenőtt szélein alakulnak ki (pl. boglárkaféléknél). **Parietális** vagy fali placentációról akkor beszélünk, amikor a placenták a magház falának belső felülete mentén sorakoznak, beleértve a termőlevelek főere irányában levő szakaszokat is (pl. ibolyafélék). Az **anguláris** vagy szögleti placentáció az euszinkarp magházakra jellemző és azt jelenti, hogy a placenták a magház középpontjáig hatoló termőlevelek találkozási szögletéből kifelé nőnek a magházrekeszek üregébe (pl. liliomfélék). A **centrális** vagy axiális (központi vagy tengelyi) placentáció esetében a magház alapjától egy függőleges szövetoszlop nyúlik be a magház üregének középtengelye mentén, és ezen a központi oszlopon emeletesen, körbe rendeződve rögzülnek a magkezdemények (pl. kankalinfélék). Végül pedig a placentációnak van egy **bazális** vagy alapi változata, amikor a vacok felől, a magház alapi részén alakul ki a dudor, amelyen a magkezdemény rögzül (pl. keserűfélék, dió).

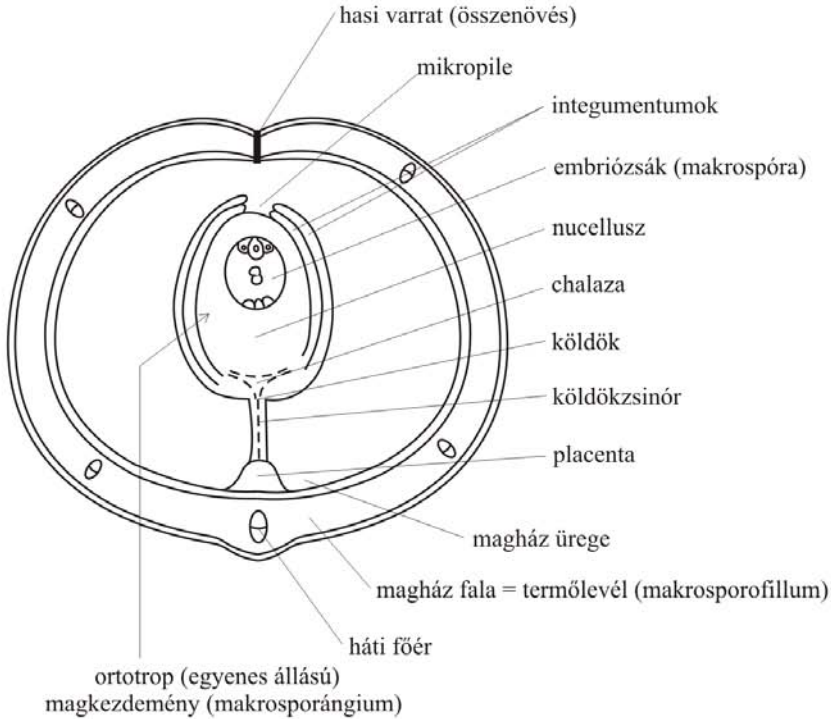
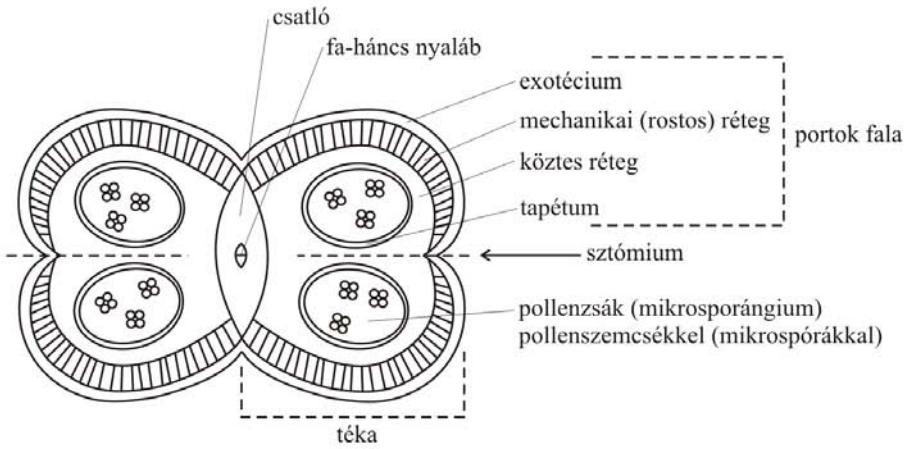
A **magkezdemény** (*ovum*) a makrospórát létrehozó ivartalan szaporító szerv, a sporofiton életszakasz része. Benne fejlődik ki a női gametofiton (a 7 sejtjes embriózsák). A magkezdemény soksejtjes, tojásdad alakú teste a **nucellusz**, ebben van a sporogén sejt, mely egyszer meiotikusan osztódik. A magkezdemény burka az egyszerű vagy kettős **integumentum**. A magkezdemény csúcsán az integumentumok által be nem borított apró csupasz folt a csírapapu vagy **mikropile**, általában itt hatol be a pollentömlő a nucelluszban levő embriózsák felé. A magkezdemény alapját a **köldökszínór** vagy funikulusz kapcsolja a magház falán levő placentához. A köldökszínór végének a magkezdemény alapjának felületén levő kapcsolódási helye a köldök vagy **hilum**. Itt hatol be a placentától a köldökszínóron keresztül haladó faháncs nyáláb a magkezdemény testének alapi részébe, és itt a **chalazán**ak nevezett övezetben elágazódik az oldalirányban levő integumentumok felé (29. ábra). Egyes növényeknél a mikropile körül többsejtjes dudor képződik, ez az ún. **obturátor**, mely

táplálja és irányítja az itt áthatoló pollentömlőt. Szintén csak egyes növényfajoknál van jelen az embriózsák alapja körül egy néhány sejtsornyi sajátos nucelluszréteg, melyet hiposztázénak nevezünk (a magképződéskor van szerepe). A magkezdemény térbeli helyzete lehet egyenes állású (**ortotrop** vagy atrop), amikor csúcsa van legtávolabb a placentától, továbbá lehet visszafordult (**anotrop**), amikor csúcsával 180 fokban a placenta felé hajlik (ez a leggyakoribb változat), valamint kb. 90 fokban oldalra görbült (**kampilotrop** vagy amfitrop), amikor nem fordul az egész teste az eredési hely irányába, hanem vese alakban részben meggörbül (pl. ilyen helyzetű magkezdeményből keletkezik a babszem). Az anotrop magkezdemények egyik oldalának felületéhez hozzátapad a köldökszinór, ez az érintkezési sáv a köldökvonal vagy rafé.

A megporzás és a petesejt megtermékenyítése után a magkezdemény maggá, az ezt körülzáró magház pedig terméssé alakul.



28. ábra. A placentáció típusai (eredeti)



**29. ábra.** A portok és az egy termőleveles magház keresztmetszeti vázlatja, egy magkezdemény hosszsmetszeti képével (eredeti)



## I.8. Pollen-bibe kölcsönhatás

A bibe szöveteiben egyaránt jelen lehetnek a **pollentömlő növekedését serkentő és gátló anyagok**. A bibe serkentő anyagainak a pollentömlő kemotrópos növekedésében (az embriózsák felé irányuló megnyúlásában), a gátló anyagoknak pedig a pollentömlő és a bibe közti felismerési, illetve inkompatibilitási reakcióban van szerepük. Megfelelő cukorkoncentrációjú és szacharidösszetételű bibevaladék hiányában a pollen nem hajt tömlőt (az intine nem türemkedik ki).

A magházak magkezdeményeinek megporzás iránti fogékonysága vagyis termékenyülési képessége sok esetben néhány órára korlátozódik, más esetekben néhány napig is elhúzódhat. A sikeres megporzás időtartama alapvetően a petesejt élettartamának függvénye.

A pollen rendszerint csak ugyanazon növényfaj bibéjén hajt tömlőt, idegen fajokén nem vagy igen rosszul. Ez az **interspecifikus inkompatibilitás**. Továbbá, a zárwatermők kb. 40%-ára jellemző az **autoinkompatibilitás** is, mely esetben a pollen ugyanazon virág bibéjén (önmegporzáskor) nem hajt tömlőt. Ez a genetikai rekombinációt és ezáltal az egyedek nagyobb változatosságát és életképességét segíti elő (heterózis). Például a legfontosabb almafajták (Jonathán, Golden, Delicious, Starking) teljesen önmeddőek, egymás között viszont kölcsönösen jól termékenyülnek. Önmeddő a cseresznye is, míg a kajsi és az őszibarack öntermékenyülő.

Az inkompatibilitás a termő érése során fokozatosan alakul ki, majd fokozatosan meg is szűnik. **Inkompatibilis pollen-bibe reakció** esetén a pollentömlő csúcsát kallóz veszi körül, ami megakadályozza a pollentömlő további növekedését, ezzel szemben kompatibilis pollen esetében kallózlerakódás nem tapasztalható. A pollen-bibe **felismerési reakcióban** specifikus **glikoproteidek** vesznek részt, amelyek a pollenben és a bibében az érési folyamat során szintetizálódnak. Amikor az inkompatibilis pollen a nedves bibefelszínre jut, sejtfalának külső rétegéből glikoproteidek szabadulnak fel és a bibe szövetébe diffundálnak, majd specifikusan kötődnek a bibe egyes sejtalfelhérjéihez. A kötődés csak inkompatibilis pollen-bibe reakció esetén lehetséges és antigén-antitest típusú immunreakcióhoz hasonló. A két fehérje közötti kapcsolat létrejötte után egy diffuzibilis anyag szabadul fel, ami a **kallózsintézist** indukálja. Az inkompatibilitási reakció tehát a pollen glikoproteidjei és a bibe sejtalfelhérjéi közötti primer reakció specifikusságán alapul. Az inkompatibilitás azonban nem szorítkozik a porzó és a termő közötti kapcsolatra. Előfordul, hogy a fejlődő embrió fiatalon abortál, mert ez esetben az embrió és az anyanövény közötti inkompatibilitási reakció lép fel. A szöveti összeférhetetlenség transzplantáció (szemzés, oltás) esetén fajok és fajták között gyakori jelenség. Ilyenkor az oltás vagy szemzés eredménytelen, mert a transzplantátum és az alany inkompatibilis. A fajok közti kereszteződési határok *in vitro* mesterséges sejthibridizációval (protoplasztfúzióval) hághatók át, a regenerált hibrid utódok pedig vegetatív úton szaporíthatók, klónozhatók.

Az öninkompatibilitás olyan fajon belüli korlátozó folyamat, amely megakadályozza az önmegtermékenyítést és biztosítja 2 különböző szülő szaporító elemeinek a részvételét az utódképzésben hímnős egyedek által képviselt virágos növényfajoknál. Ez azáltal valósul meg, hogy amikor egy bibére ugyanannak az egyednek a pollenje kerül, a pollentömlő növekedése leáll a petesejt és a spermasejtmag egymásra találásának lehetősége előtt. Az önsterilitás a mai virágos növénytaxonok csaknem felében észlelhető, és egymástól függetlenül többször is megjelent a növényvilág evolúciója során, ezért különböző növénycsaládokban a saját pollen felismerésének és gátlásának részben eltérő mechanizmusai vannak.

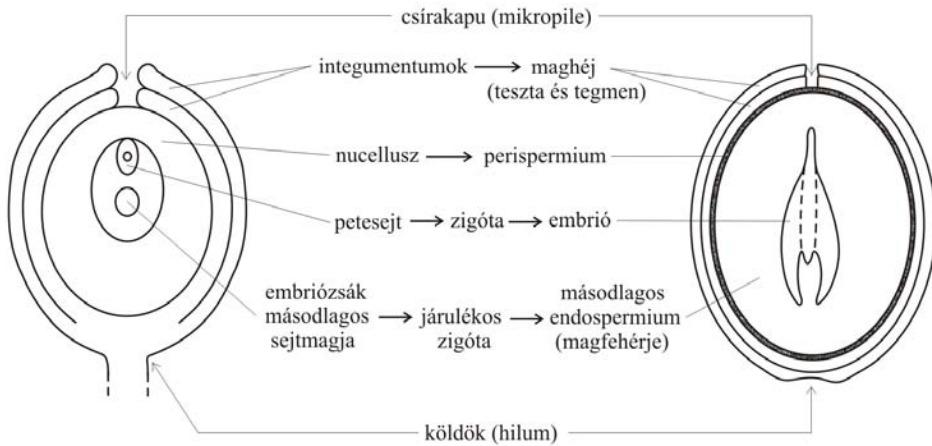
Az öninkompatibilitás megvalósulásának 3 fő változata: 1. a pollentömlő kifejlődését a bibesejtek és a pollensejtek felületén levő egyedspecifikus receptorok és ligandumok kölcsönhatása állítja le, amihez intracelluláris jelzésekaskad aktiválása társul a pollenben; 2. a pollentömlőt citotoxikus hatású ribonukleázok pusztítják el, melyek csak a növény saját pollenjében bontják le a citoplazmában levő RNS molekulákat és állítják le ezáltal a fehérjeszintézist; 3. programozott sejthalál indukálódik a pollenben az azonos egyed termőjén. Egyes családokban, például a keresztesvirágúaknál és a pázsitfűféléknél, az öninkompatibilitás zavart okoz a pollen-bibe kölcsönhatás korai folyamataiban, aminek eredménye a saját pollen hidratációjának és tömlőfejlesztésének elmaradása a bibefelülettel való érintkezés első perceiben. Más családokban az öninkompatibilitás a pollentömlő kialakulása és termőbe hatolása után lép fel, és a pollentömlő növekedésének leállása a bibeszövet belsejében (pl. a mákféléknél) vagy a bibeszál szintjén következik be (pl. a burgonyafélék, a rózsafélék és a tátogatófélék családjaiban). Mindegyik öninkompatibilitási rendszerben szükség van legalább 2 gén kifejeződésére, amelyek közül egyik a termő sejteiben, a másik pedig a pollenben van. A virágos növények pollen-bibe öninkompatibilitása és a gerinces állatok immunitása között számos közös vonás észlelhető. Mindkét rendszer nagyon változatos receptorokat használ erősen változó ligandumok felismerésére. Továbbá, az öninkompatibilitási rendszer, mely elpusztítja a pollentömlőt, a fertőző mikroorganizmusok elleni védekezésben is hatásos: például a programozott sejthalál egyaránt kiváltható az inkompatibilis pollentömlő által és a fertőzéssel szembeni immunválasz során is. Növényekben és állatokban egyaránt, az immunitásban és a szaporodásban, a saját és az idegen közötti különbségeket felismerő rendszerek hasonló szelekciós nyomás hatására fejlődtek ki egymással párhuzamosan.

## I.10. Embriogenezis, endospermatogenezis és magképződés

A zárvatermőknél a sajátos kettős megtermékenyítés következményeként a virágok magkezdeményeiben két fejlődési folyamat indul be: a zigótából kialakul az embrió vagy csíranövény, a triploid járulékos zigótából pedig az embrió körüli táplálószövet (a másodlagos endospermium) jön létre, miközben az egész magkezdemény maggá alakul, a magházból pedig termés lesz. A csíranövény kialakulása a zigótából az embriogenezis folyamatát jelenti, míg a másodlagos endospermium létrejötte a járulékos zigótából az endospermatogenezist képviseli. Ez utóbbi nem tévesztendő össze a nyitvatermőknél levő elsődleges endospermium kialakulásával a makrospóra osztódásai során, hiszen az elsődleges endospermium a megtermékenyítés előtti életszakasz része, haploid sejtekből álló női előtelepként. Az embriogenezist és zárvatermőknél az endospermatogenezist is magába foglaló magképződés másik neve szeminogenezis (*semen* – mag), az ezzel párhuzamosan történő termésképződés pedig a karpogenezis (*carpos* – termés).

A megporzást és megtermékenyítést követően időrendi sorrendben előbb a másodlagos endospermium alakul ki, mert a járulékos zigóta hamarabb kezd el osztódni, mint a zigóta, mely előbb egy nyugalmi perióduson megy át (ami néhány órától néhány hónapig terjedhet), és csak ezután hozza létre az embriót a körülötte már meglévő táplálószövet által körülvett térben. Például az őszi kikericsnél az embriózsák két sejtmagjának (a petesejtnek és a diploid sejtagnak) a megtermékenyítése őszel történik, a triploid járulékos zigóta ezután mindjárt osztódni kezd, a zigóta viszont csak 4-5 hónapi nyugalom után, tavasz elejére alakítja ki sorozatos mitotikus osztódásokkal az embriót a magkezdeményből kifejlődő mag belsejében. Ekkor már a magban jelen van a triploid táplálószövet, mely tápanyagokat szolgáltat a heterotróf embrió növekedéséhez (31. ábra).

Magképződéskor a szerves tápanyagok több szakaszos utat tesznek meg az anyanövényből az utódig. A virágzó növényben a levelektől az asszimilátumok jelentős részét a hánccsedények a virágkocsányon keresztül, illetve a termőlevelek erein és a köldökzsinóron át a chalazáig juttatják, innen töltődik fel tápanyagokkal a nucellusz. Megtermékenyítés után az embriózsákból kifele terjeszkedő másodlagos endospermium sejtjei átveszik a nucellusztól a tápanyagok nagy részét, majd ezek a magban levő embrió szikleveleinek kialakulása során (magfehérje nélküli magvaknál) vagy csupán a csírázás ideje alatt (magfehérjés magvaknál) az endospermiumból átkerülnek a csíranövény testébe. Ezzel párhuzamosan a tápanyagok egy része a magház falának termésfallá való továbbfejlődésére használdik.

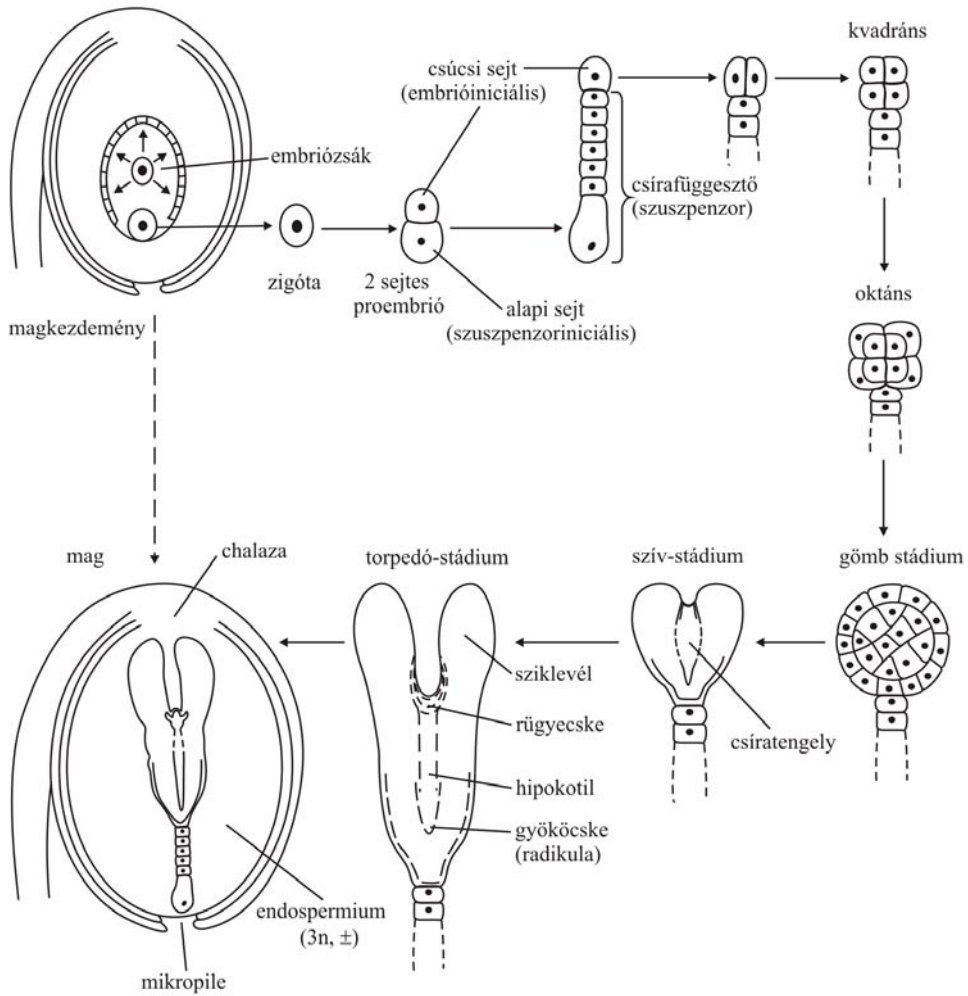


**31. ábra.** A mag részeinek kialakulása a zárvatermők magkezdeményéből a kettős megtermékenyítés után (eredeti)

A zigóta intracellulárisan polarizált, az osztódási válaszfalak képződési iránya örökletesen meghatározott. **Embriogenezis** alkalmával (32. ábra) az embriózsáknak a mikropile felőli pólusán levő zigóta első osztódása általában harántfallal történik, így jön létre egy nagyobb **alapi sejt**, mely a mikropiléhez (a felülethez) közelebb található és egy kisebb **csúcsi sejt**, mely az embriózsák közepéhez van közelebb. Ez a kétsejtes **proembrió**. Először az alapi sejt osztódik, mindig harántfalak képződésével, létrehozva egy olyan sejtsort, amely az embriózsáknak a mikropile felőli falán támaszkodik és befele terjeszkedik, az embriózsák belseje felé tolva a csúcsi sejtet. Ez a sejtfonal a csírafüggesztő vagy **szuszpenzor**. Hólyag alakú alapi sejtje hausztóriumként működik, tápanyagokat szív fel az embriózsákban már kialakult endospermiumból. Orchideáknál a teljes szuszpenzor hausztóriumként működik, és mivel itt nem alakul ki másodlagos endospermium, a tápanyagokat az embriózsák körül levő nucellusztól veszi át. Számos zárvatermőnél a szuszpenzor csúcsi sejtje hozzájárulhat az embrió gyököcskéjének kialakításához, az itt szerveződő protoderma és alapmerisztéma egyik részének létrejöttéhez. A szuszpenzor eredetű sejtsoportot is magába foglaló alsó proembrió-részt hipofízisnek nevezzük. Maga a szuszpenzor az embrió testének kifejlődése folyamán eltűnik, felhasználódik.

A proembrió csúcsi sejtje, mint embrióiniciális, hosszanti és harántfalakkal 4 sejtre osztódik, ez az állapot a **kvadráns**. A következő lépésben ezek mindegyike harántfalakkal osztódik és 8 sejtől álló **oktáns** jön létre. A szuszpenzor felőli 4 sejtől származik a hipokotil és a gyököcske, a másik 4-ből pedig az epikotil és a sziklevek. Az oktáns minden sejtje periklinális (a felülettel párhuzamos) falképződéssel osztódik, így létrejön egy felületi sejtréteg és egy belső sejt tömeg,

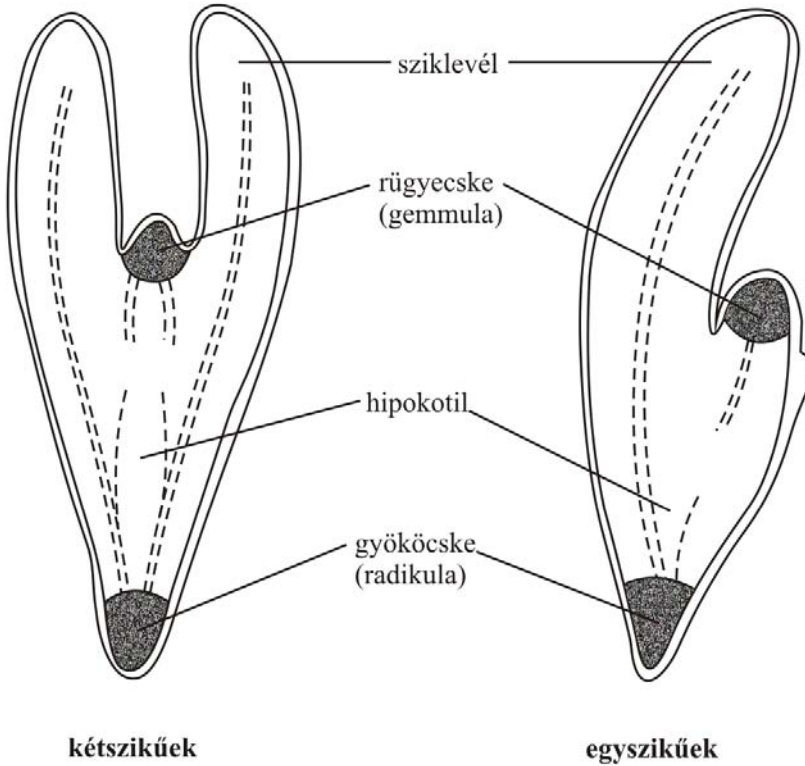
vagyis egy kerületi és egy központi rész. A külső rétegből ered a protoderma, a belsőből pedig az alapmerisztéma és a prokambium. Ez a fejlődési állapot a proembrió **gömbstádiuma**. A gömb alakú fiatal embrió alsó része a hipofízis, ez kapcsolódik a szuszpenzorhoz és ebből származik a gyököcske és a hipokotil. A fölötte levő rész az epifízis, ebből ered a rügyecske a sziklevelekkel együtt.



**32. ábra.** Az embriogenezis fő lépései a virágos növényeknél (például egy kétszikű zárvatermőnél) (eredeti)

A következő lépésben az embrió testén megjelenik egy kis csúcsi bemélyedés, melynek két oldalán láthatóvá válnak, dudorok formájában, a sziklevek kezdeményei. Ez az embrió **szívstádiuma**, mely nevét alakjáról kapta, és már nem sugaras szimmetriájú, hanem kétoldalian részarányos. Tehát a proembrió aktinomorf,

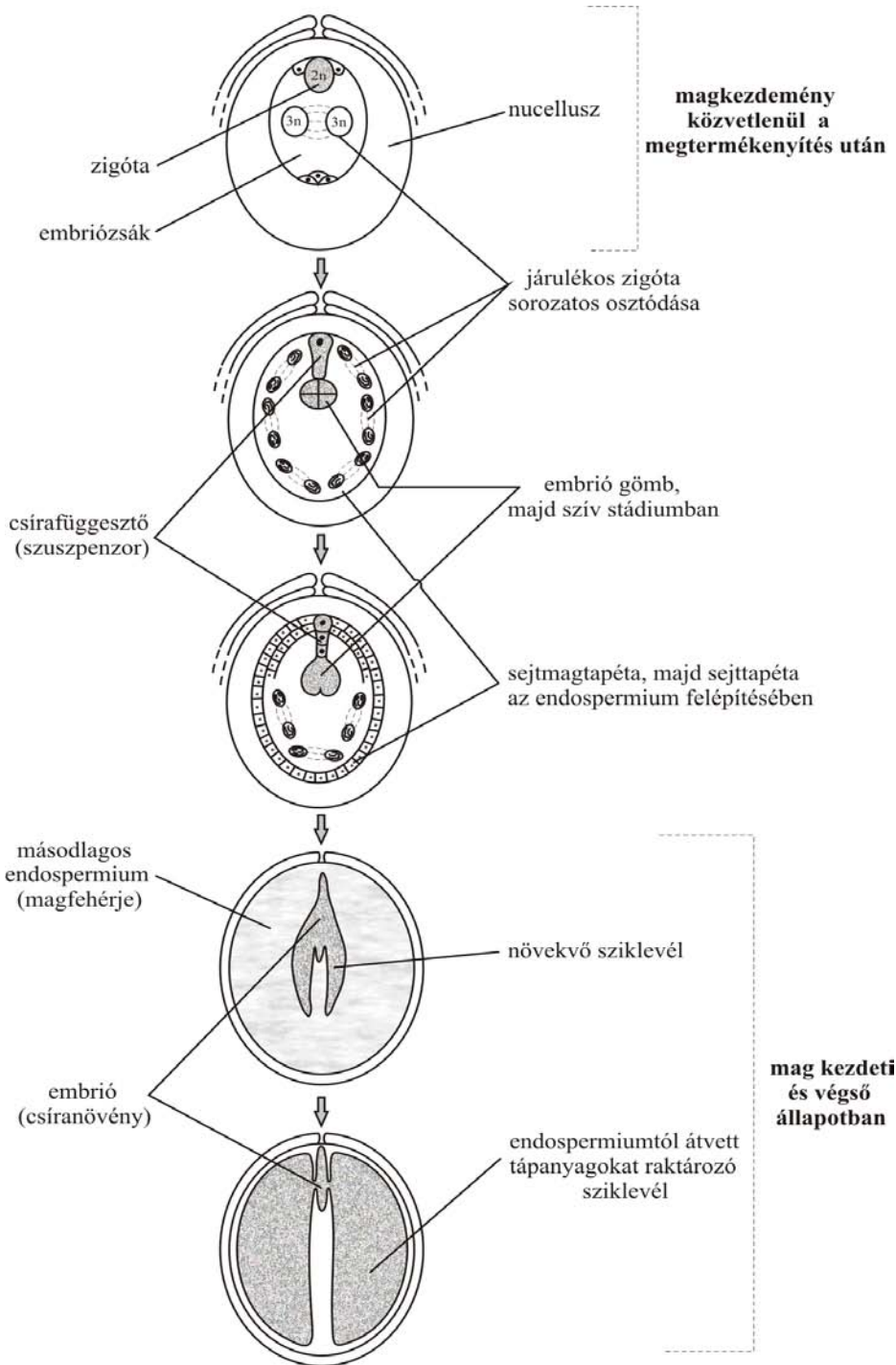
az embrió viszont már zigomorf. Ez a kétszikűekre jellemző, ahol a két egyforma sziklevédudor miatt az embrió szimmetrikus, és a rügyecske középtengelyi állású. Egyszikűeknél csak az egyik oldali sziklevédudor fejlődik tovább, hengeressé és csúcsállásúvá válva, a rügyecske pedig oldalhelyzetű és a sziklevélalap tokszerű oldalnyúlványa burkolja. Következésképpen az egyszikűek embriója aszimmetrikus (33. ábra).



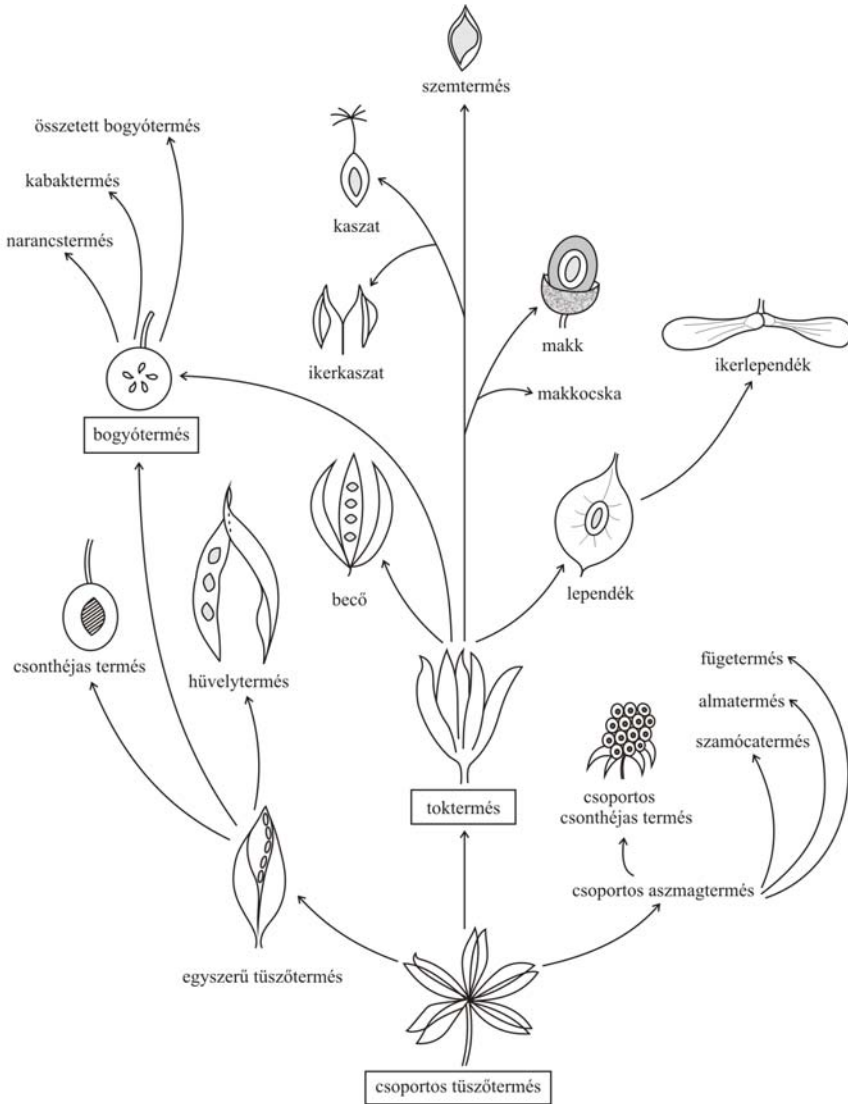
33. ábra. Kétszikűek és egyszikűek embriójának általános testszerveződése (eredeti)

A szívstádiumban az embrió testének a mikropile felőli részén kezd szerveződni a gyököcske (radikula), a másik végén pedig kialakul a kezdetleges hajtáscsúcs: a rügyecske (plumula vagy gemmula). A sziklevédudorok a hipokotillal együtt megnyúlnak, mivel sejteik főleg harántfalak képződésével osztódnak. Az élénken osztódó merisztematikus övezetek a csíratengely két szemközti (alsó és felső) pólusán lokalizálódnak, az embrió bipoláris lesz. Ez az ún. **torpedó stádium**. A gyököcske szintjén ekkor már elhatárolható a protoderma, az alapmerisztéma és a prokambium, a rügyecskében viszont gyengébben látható a tunika és a korpusz (34. ábra).





**35. ábra.** A zigóta és a járulékos zigóta továbbfejlődése a zárvatermők magfehérje nélkülivé váló magjának kialakulása és érése során (eredeti)

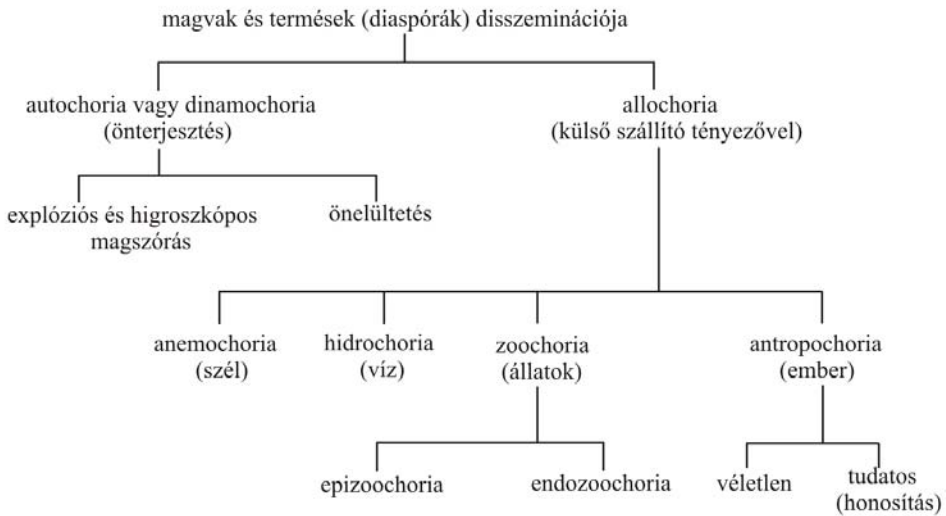


**39. ábra.** A fő terméstípusok közötti valószínű filogenetikai kapcsolatok (Gulyás Sándor személyes közlése után)

Az érett termések az elsárguló levelekhez hasonlóan válnak le a növényről: a terméskocsány alapi részén a hossz tengelyre merőleges elválasztó réteg (szeparációs lemez) alakul ki, mely szintjén a terméskocsány leválik (abszcízió), a növény felőli leválási heget pedig a szár külső szövetsávjai felől kialakuló sebpara borítja be és szigeteli el a környezettől. Kupacsosoknál (például a bükkféléknél) a fellevelek szintjén bekövetkező alapi fásodás a megérett makktermés kihullását eredményezi a kupacsból. A termések érését és lehullását a növényi hormonok közül elsősorban az etilén és az abszcizinsav szabályozza.

## I.12. A magvak és termékek elterjesztése

Akár a megporzáshoz, a magvaknak és terméseknek különböző környezeti viszonyok között megvalósuló elterjesztési változataihoz is sajátosan alkalmazkodtak a szaporító szerkezetek, hiszen a rendelkezésre álló életterek minél szélesebb körű benépesítése, a területegységre jutó egyedszám szabályozása és az elterjedési terület bővítése új élőhelyek felé alapvető feltétele a növényfajok fennmaradásának és továbbfejlődésének. A növény térben elterjesztett (disszeminált) egysége (termés, mag, leváló testrészt), melyből új növény keletkezik, a **diaspóra**. A terjedést biztosító tényező alapján megkülönböztetünk közvetlen vagy önterjesztést és külső tényező által közvetített terjedést (40. ábra).



40. ábra. A magvak és termékek terjedésének változatai (eredeti)

Az önterjesztés (**autochoria** vagy **dinamochoria**) azt jelenti, hogy a növény önmaga biztosítja a diaspora szétszórását, külső szállító tényezők nélkül. Legegyszerűbb formája az érett termékek leválása a növényről (pl. almánál a terméskocsányon képződő elválasztó pararéteggel, kupacsosoknál a makktermésnek az elfásodó alapú fellevél-kupacsból való kiesésével) vagy a magvak földre hullása a felnyíló termékekből (pl. a vadgesztenyénél, a diónál). Az egyszerű lehullástól eltérően a diasporák szétszórása a növény részéről valamilyen passzív vagy aktív mozgásformát igényel, de előnye, hogy az utódok nagyobb távolságra jutnak az anyanövénytől.

A turgornyomás változásán alapuló explóziós mozgás az autochoria látványos változata. Példa rá a magrugó vagy föccsuborka (*Ecballium elaterium*), mely a kabaktermés falán a terméskocsány hirtelen leválásának helyén kialakuló

nyíláson akár 5 méterre is kilöveli a nyálkaanyagba ágyazott sok kis magot. A nenyúlhozám (*Impatiens noli-tangere*) toktermései mechanikai ingerre hirtelen felhasadva felgömbölnék és szerte dobják a magokat. Hasonló jelenség észlelhető a madársóskánál, a kutyatejfélek családjába tartozó trópusi *Hura crepitans* hirtelen kopácsokra szakadó toktermései pedig jól hallható csattanás kíséretében akár 25 méteres átmérőjű területre szórják szét a magokat.

A kiszáradás során bekövetkező egyenlőtlen zsugorodás és a sejtfalakban kialakuló mechanikai feszültség miatt kialakuló higroszkópos mozgások szintén az önterjesztést valósítják meg. Például a kiszáradó hüvelytermések falának két fele felnyíláskor felcsavarodik (pl. a veteménybabnál), a toktermések kopácsaik hirtelen gömbülésével tehetik szabaddá a magokat (pl. az ibolyánál). Más esetekben a higroszkópos zsugorodás a résztermések széteséséhez vezethet (pl. a gólyaornnál), vagy pedig a termések a magvakat fokozatosan a talajba fúrnak. Ez utóbbi eset számos sziklalakú és pusztai növényre jellemző, melyek számára nehéz a csírázáshoz szükséges rögzülés egy stabil helyen (pl. árvalányhaj, gémorri, árpa).

A magvak „elültetése” irányított gömbüléssel növekedéssel is megvalósulhat. Például negatív fototrópos növekedéssel (a sötétebb hely felé való elhajlással) a földimogyoró ginofórja (a magházat viselő virágtengely rész) a megtermékenyítés után lefele gömbül és benő a talajba. Hasonló jelenség észlelhető a ciklámennél és a *Trifolium subterraneum* lóherefajnál. A tengerparti mocsárerdőt (mangrové társulásokat) alkotó számos fának (pl. a *Rhizophora* fajoknak) a magja az anyanövényen csírázik és fejlődik tovább, amíg több tíz centiméternyi magas lesz, ekkor lehull a lombkorona magasságából és erős karógyökereivel befúródik a tengerpart nedves talajába. Másképp a mag a tengerbe sodródna és nem csírázna ki. Ebben az esetben a növény nem a magját, hanem a már elég nagyra nőtt utódnövényeket „ülteti el”.

A közvetített terjesztés történhet a szél, a víz, az állatok és az ember segítségével. Hatásosságának növelésére a termések és/vagy magvak felépítésében a szállító tényezőtől függő sajátos alkalmazkodások alakultak ki.

**Anemochoria** vagyis szél általi terjesztés esetében a diaspora könnyű, nagy relatív felülete van. Repítőberendezésként szolgál a termésfal szárnyszerűen ellaposodó része (pl. a kőris, a szilfa, a juhar lependékeinél), a maghéj szárnya (pl. fenyőknél), a termésen maradó tollas bibe (pl. iszalag, kökercsin), a toklász hosszú, tollas szálkája (pl. árvalányhaj), a virág csészéjéből kialakuló bóbíta vagy pappusz (pl. pitypang, bogács), illetve a maghéjon kialakuló, levegővel telt, hosszú repítőtrichómák kötege (pl. gyapot, nyárfa, fűzfa, selyemkóró). Az apró magok kis súlyuk miatt könnyen sodródhatnak a szélben (pl. orchideák, hangafélék, körtikék, szádorgó, mák). Egyes esetekben egy-egy nagyobb növényi hajtásrész válik diasporává, kiszáradva gömbölyű lesz, így a szél könnyen görgeti a pusztákon, a sivatagokban. Ilyen, például, az ördögsekér vagy sztyepproller, melynek kiszáradó leveles szára gyökerek nélkül gördül, majd nedves helyre jutva kiszórja magjait. Hasonló jelenség észlelhető az Arabiai sivatagban élő keresztesvirágú fajnál: a jerikói rózsánál

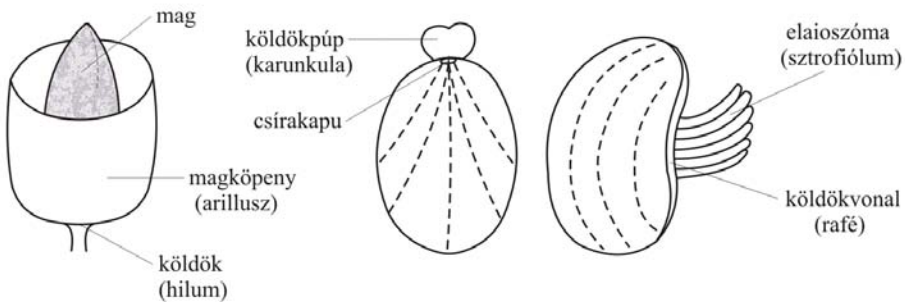
(*Anastatica hierochuntica*), mely száraz, anhidrobiotikus állapotban gömb alakúvá hajlítja össze ágait, így görgeti a szél nagy távolságokra, miközben a felflyt becőkből szétszóródnak a magok. Amikor a növény átnedvesedik, az ágak szétterülnek és a gyökerek új élőhelyén a talajba rögzítik.

**Hidrochoria** esetében a víz terjeszti a terméseket és magvakat. Alapvető feltétele, hogy a diaspóra a szállítás közben ne nedvesedjen át és ne merüljön el. Egyes esetekben a magok légzsákjai vagy aerenchimát tartalmazó tömlőszerű képződményei biztosítják a lebegést (pl. tavoróza, sás, káka, gyékény), máskor a kis fajsúlyú, száraz és laza rostos mezokarpium tartja fenn a vizen a termést (pl. kókuszdió), a vastag viaszréteggel átitatódott, vízhatlan kutikula pedig megakadályozza az átnedvesedést (pl. a tengeribab egymagvú hüvelyszakaszainak falán vagy a maldívdíó több kilogrammos magján). Máskor nem a víz áramlása, hanem az esőcseppek mechanikai ereje az, ami a szárnyas nyélen ülő, turbinalapáthoz hasonló terméket kilendíti, aminek eredménye a magvak szétrepítése (pl. a tarsókánál, a gyíkfűnél stb.).

A **zoochoria** nagyon elterjedt formája a diasporák elterjesztésének, ami által a növények „kihásználják” azt, hogy az állatok náluk sokkal mozgékonyabbak. **Endozoochoria** vagyis az állat testében történő szállítás alkalmával a diaspóra egy részét az állat megeszi, de a csíranövény védve van a rágástól és az emésztőnedvek hatásától, így ép állapotban végighalad a tápcsatornán, majd egy másik élőhelyen kijut az állat testéből. Ez egyes esetekben (pl. amikor az akácia hüvelyterméseit elefántok fogyasztják el) az élőködőktől való megszabadítást is jelenti, mert pl. a termésekben levő hernyók az emésztéskor elpusztulnak. A növényi diaspóra általában felületi csalogatóanyagot termel: ízletes tápanyagot (cukrot, olajat stb.) vagy vonzó szín- és illatanyagot, a csírákat pedig emészthetetlen, kemény maghéj vagy termésfal védi (szkleroteszta, csonthéj). A száraz diasporákat (pl. szemtermés, makk stb.) főleg rágcsálók és madarak szállítják, gyűjtik és raktározzák, gyakran pedig el is rejtik, vagyis a csírázásnak kedvező környezetbe „elültetik”. Az **ornitochor** (madarak által terjesztett) diasporák élénk színűek (főleg pirosak vagy sárgák), közepes méretűek, puha héjúak és fagyállóak (pl. málna, szeder, áfonya, fagyal, fagyöngy, berkenye, magnóliamag stb.), a **mammalochor** (emlősök által terjesztett) termések pedig illatosak (aromásak), könnyen erjedők, keményebb héjúak és lehullók (pl. narancs, tökfélék, csonthéjasok, bogyótermések). A **mirmekochor** diasporákat hangyák szállítják, miközben húsos függelékeiket (a magköpenyt, a köldökpúpot, az elaioszómát vagy olajtestet) apránként elfogyasztják (pl. ricinus, fecskéfű, keltike, ibolya, hóvirág, árvacsalán stb.).

A **maghéj** sajátos **függelékei** általában az állatok általi elterjesztéshez járulnak hozzá (41. ábra). A **magköpeny** (*aryllus*) a maghéj felületén kialakuló húsos burok, mely a mag alapi részén a szarkotesztából (a húsos külső maghéj-rétegből) és részben a köldökzsinórból képződik, a magot részben (pl. a tiszafánál) vagy majdnem teljesen beburkolja (pl. a tavorózsánál, a muskátdíónál). A tiszafánál élénk vörös színű, főleg madarakat csalogat, a női növényegyedek egyetlen nem mérgező része, alulról és

oldalt övezi a magot (mintha termés lenne), de a mag csúcsi része szabadon áll. A kecskerágónál narancssárga és mikropiláris eredetű, a tündérrózsánál levegőtartó úszóhólyagot alkot a mag körül (itt a hidrochóriát segíti elő). A **köldökpúp** (*caruncula*) a maghéjnak a csírákaput fedő húsos, fehérjében és olajban gazdag kinövése (pl. a kutyatejfélék, a mákfélék és az ibolyafélék egyes fajainál). Az **elaioszóma** (*strophium*) vagy olajtest a tesztának a köldöksinór tapadási sávja (a köldökvonal vagy ráfé) mentén kialakuló, lebenyszerű, lipidekben gazdag kinövése (pl. a vérehulló fecskefűnél, a keltikénél). A maghéj függelékei közül a szárny és a repítőtrichóma a szél általi elterjesztést szolgálja (lásd fennebb).



41. ábra. A maghéj függelékei állatok általi terjesztéshez (eredeti)

**Epizoochoria** vagy ektozoochoria esetében a növényi diasporák az állatok testének felületéhez rögzülve szállítódnak. A vízi és mocsári növények magvait és termésait a vízi- és gázlőmadarak viszik a lábaikra és tollaikra tapadó iszapban, és a vándormadarak segítségével e növények nagy távolságokra, gyakran egyik kontinensről a másikra eljutnak, így széles körben elterjedt, kozmopolita fajokká válnak (pl. szittyók, füzények). A szárazföldi növények magvai mirigyszövetek által termelt ragacos, nyálkás felületükkel tapadnak az állatokra, tehát nedvesen terjednek (pl. útifű, fagyöngy, egyes epifitonok), vagy horogszerű kapaszkodó képződményeikkel szárazon terjednek (pl. kapaszkodószőrrel a galaj, horgas bibeszállal a gyömbérgyökér, tüskés csésze- és fellevelekkel a szerbtövis, a bogáncs, horgas termésfallal a sárgarépa, a lucerna, a farkasfog). Ezeket madarak és emlősök szállítják, melyeknek tollába, illetve szőrébe akadnak be (42. és 43. ábrák).



## II.2. Növényi szaporítóanyag alapuló biotechnológiák

A modern fajtákkal szembeni egyik legfontosabb követelmény, hogy lehetővé váljon a **környezetbarát termesztési technológiák** alkalmazása. Ha elfogadjuk azt a megállapítást, hogy az előnyös fajták előállítását végző növénynemesítési tevékenység az egyik meghatározó eleme minden, a növénytermesztéssel és kertészettel kapcsolatos fejlesztési törekvésnek, akkor könnyen beláthatjuk a biotechnológia szerepét is. A növénynemesítés lényegét úgy fogalmazhatjuk meg, mint egy genetikai beavatkozást, amely során a növények fenotípusos jellemzőinek értékelésével történik a legkedvezőbb génkombinációkkal rendelkező egyedek kiválasztása, majd a belőlük létrehozott populációk agronómiai értékelése után a nemesített szaporítóanyag előállítása. A genetikai beavatkozás főként keresztezést és szelekciót jelent, bár a poliploidizáció, a mutánsok előállítása szintén eredményes lehet. A biotechnológia ezt a metodikai eszköztárat bővíti ki a génszabászat beavatkozásokkal és a sejtszintű genetikai manipulációval. Mivel az új genotípusok létrehozása sejtszinten történik, legtöbbször mesterséges tenyészetekben, elengedhetetlen követelménnyé válik a felnevelt növények utólagos kiértékelése a populációk szintjén. A fentiek szerint a növénynemesítésben alkalmazott biotechnológia a növényi sejtek és sejtorganelumok genetikai programjának megváltoztatását és az így kialakított új képességek technológiai felhasználását jelenti, emellett pedig egyes szaporítási technológiákat, illetve biológiailag aktív anyagok sejttenyésztési előállítását is ide soroljuk. A legújabb ilyen vonatkozású biotechnológiai irányzat keretében megnövekedett jelentőséget kap a szélsőséges környezeti behatásokkal szembeni **ellenállóság kialakítása**. Az aszálykárok okozta veszteségek új alkalmazkodási képességek létrehozását igénylik, amelyet a biotechnológiai megoldások biztosíthatnak. A kórokozókkal szemben ellenálló fajták megalapozhatják a **vegyszerhasználat csökkentését**, új anyagcsereutak beépítésével átalakulhat a műtrágyázás gyakorlata.

Az a tény, hogy jelenleg 800 millió ember éhezik, és évente 80 millióval nő a népesség, megköveteli a növényi termékek előállításának növelését. A statisztikai előrejelzések szerint a következő 20-30 évben meg kell duplázni a világ élelmiszertermelését, és ezt a növekedést úgy kell biztosítani, hogy a megművelt terület korlátolt, inkább egyre csökken, ugyanakkor a környezetvédelmi szempontok érvényesítése elkerülhetetlen. Egyfajta megoldás az lenne, hogy kiegyenlítve a termelési egyenlőtlenséget, a fejlett, túltermelő országok látnák el az éhezőket. A segélyakció lehetősége azonban korlátozott, és a megoldást csak az élelmiszerek helybeni előállítása jelentheti. Ehhez pedig új, a helyi adottságok között használható fajták, szaporító-anyagok kellenek, melyek létrehozásakor különös jelentőséggel bír a kórokozók és kártevők által előidézett veszteségek mérsékelése.

A fejlődő országok egy jelentős részében nagy kapacitással folyik a biotechnológiai módszerek alkalmazásának bevezetése a **fajtaelőállításba**. Ezek között említhető Kína, India és számos dél-amerikai állam. A biotechnológia által szolgáltatott megoldások, a helyi fajtákat felhasználva, a kevésbé fejlett országokban is jól hasznosíthatók.

Egy ország vagy régió növénynemesítési biotechnológiai aktivitását számszerűen a transzgénikus növényekkel végzett szabadföldi kísérletek adataiból becsülhetjük meg a legjobban. A transzgénikus növények előállítása egyaránt magába foglalja a géntechnológia, valamint a sejt- és szövettenyésztés alkalmazását. Génsebészeti módszerekkel történik a mezőgazdaságilag pozitív hatású gén izolálása, amely a génátviteli vektorba kerül beépítésre. A vektorban megtalálható a gén kifejeződését biztosító nukleotid-szekvencia, az ún. promoter, illetve az új gént hordozó sejteknek, majd a belőlük fejlődő növényeknek a kisselektálását lehetővé tevő rezisztenciagén. Tehát a transzgénikus növények rendelkeznek olyan mesterségesen beépített génnel, amely génsebészeti beavatkozás eredményeként került izolálásra. A beépített gének származhatnak más növényekből vagy egyéb élő szervezetekből. (A génbeépítés folyamatát transzformációnak, az előállított növényeket pedig transzformánsoknak nevezzük.)

A fejlett országokban engedélyhez kötött a transzgénikus növényekkel folytatott **szabadföldi kísérletezés**. A világon 1986 és 1995 között 3650 engedélyezett szabadföldi kísérletet végeztek transzgénikus növényekkel. Ezek 67%-a észak-amerikai kísérlet volt, az európaiak csupán 22%-ot tettek ki. Európa elmaradása még kifejezettebb a génsebészeti úton előállított növények termesztését és fogyasztását illetően, a legtöbb ilyen termék jelenleg az USA-ban és Kanadában van forgalomban. Az amerikai cégek közül a Monsanto aktivitása kiemelkedő, de a Pioneer és a DuPont cégek is jelentős számban folytatnak szabadföldi kísérleteket biotechnológiai úton átalakított termesztett növényekkel. Tevékenységük Európában is egyre intenzívebb, bár problémát jelent az Európai Unió fokozott bevezetési szigora, illetve a közvélemény tiltakozása a transzgénikus szervezetek ellen. A kelet-európai országok közül csak Oroszország és Bulgária rendelkezik jóváhagyott géntechnológiai törvénnyel.

A nemzetközi irányzatok egyértelműen arra mutatnak, hogy a növénynemesítésben, a vetőmag előállításában, a növénytermesztés és a kertészet területén egyaránt, a biotechnológiai háttér fejlesztése a versenyképesség megőrzésének meghatározó tényezőjévé válik. A mikroszaporításnak, mint jövedelmező biotechnológiai ágazatnak a továbbfejlesztése szempontjából célszerű a jelenleg túlnyomórészt dísznövényekre korlátozó kapacitás kiterjesztése az erdészeti fafajokra, a gyógynövényekre és a bogyótermő gyümölcsfákra is.

A biotechnológiai alkalmazásokhoz a növénytermesztésben a potenciálisan hasznos gének és szabályozó szekvenciák azonosításának biztosítására indokoltak a következő **prioritások**:

1. stresszindukált gének feltárása (a gének forrásául szárazságtűrő, hidegtűrő, szennyeződéstűrő növényfajok szolgálhatnak, mint például a cirok és a lucerna)
2. növények fejlődését és növekedését szabályozó gének, konstitutív és szövetspecifikus szabályozó szekvenciák azonosítása

3. elterjedt vírus, gomba és baktérium kártevők elleni védekezés technológiájának kidolgozása, az ehhez szükséges gének azonosítása és klónozása
4. új biofermentoros technológiák megalapozása növényi hatóanyagok hatékony ipari termelésére.

A gyógyszeripari és növénybiotechnológiai kutatások integrálása a növényeknek biofermentorként való alkalmazására nagy gazdasági potenciállal rendelkezik. Ehhez szükséges a gyógyszeripari cégek részvételének támogatása a technológiai fejlesztésben (a fehérjetermelés fokozása, a fehérjeszintézis optimalizálása), illetve a prioritások meghatározásában (mely növényi hatóanyagok, állati és humán fehérjék, szintetikus peptidek fontosabbak vagy előnyösebbek). A biotechnológiák mezőgazdasági és élelmiszeripari alkalmazása területén pedig a termésbiztonság növelését célzó, már kidolgozott technológiák eredményeinek (gyomirtó-, vírus- és rovarellenállóság) átvétele és a helyi nemesítésű fajtákba való beépítése a nemzetközi versenyképesség alapvető feltétele. Ennek elmaradása a helyi fajták kiszorulását jelenti nemcsak a külföldi, de a saját belső piacról is.

A hagyományos diagnosztikai módszerekhez képest a növényvédelemben merőben új lehetőséget jelent a kórokozók DNS-ének vagy RNS-ének a kimutatásán alapuló modern diagnosztika. A DNS nagyon sokáig megmarad, régebben elpusztult szervezetekből, sőt múmiákból vagy sok millió éves csontokból is kimutatható és vizsgálható, míg maga a kórokozó elpusztul, fehérjei pedig gyorsan lebomlanak. További előnyt jelent, hogy ugyanolyan módszerekkel vizsgálhatók a parazitás, a baktériumos, a vírusos és az öröklődő betegségek. Ha sikerül egy kórokozót tiszta tenyészetben elkülöníteni, akkor DNS-ének vizsgálatával nagyon pontosan, viszonylag gyorsan és egyszerűen jellemezhető.

A fitopatológiai alkalmazású biotechnológiák egyik ígéretes módszere a **DNS-hibridizáció**, mely két nukleinsavminta rokonsági fokát mutatja ki. Egy ismert származású DNS-szakaszt egyszálúvá alakítva izotópos vagy nem izotópos módon megjelölünk (pl. digoxigeninnel), majd reagáltatjuk egy speciális szűrőre felcseppentett minta ("dot blot") szintén egyszálúvá tett (hő- vagy lúgos kezeléssel denaturált) DNS-ével. Ha ezek megfelelően hasonlóak (pl. ugyanaz a vírus található mindkét mintában), akkor a két, különböző eredetű egyszálú DNS-szakasz a bázispárosodás törvénye alapján társul egymással duplexet alkotva (hibridizál). A módszer lényege, hogy először méret szerint agaróz gél-elektroforézissel elkülönítjük a resztrikciós enzimessal nyert DNS-fragmentumokat, ezeket pedig szűrőkre visszük át, a jelölt mintával való reagáltatás előtt. Ez az ún. **Southern blot**. A módszer alkalmas RNS láncok detektálására is, ezt **Northern blot**-nak nevezzük (Southern még a feltaláló neve volt, de a tréfás kedvű kutatók ettől kezdve az égtájakról nevezték el a molekuláris hibridizáció különböző formáit, például a **Western blot** a szűrőlemezekre rögzített (előzőleg elektroforézissel elkülönített) fehérjéknek ellenanyaggal való reagáltatása az azonosítás céljából). A DNS-hibridizáció jelenlegi legkifinomultabb változata a szövettani metszeteken végzett

mikrohibridizáció, melynek eredménye mikroszkópi készítményben vizsgálható. Ez nemcsak egy vírus jelenlétét jelzi, hanem azt is mutatja, hogy hol mennyi van belőle. Szintén modern módszer a FISH (ang. „fluorescence *in situ* hybridization”), ami alkalmas, például, a gének kromoszómákban elfoglalt helyének vizualizálására fluoreszcencia mikroszkóppal. Lényege, hogy egy meghatározott génszakaszhoz kémiaiilag hozzákapcsolnak egy kötőanyagot (pl. biotin, dinitrofenil), és ehhez fog kapcsolódni a fluorokróm anyag, mely a kötődés helyén vörös, zöld vagy kék fluoreszcenciát mutat (vagy ezek kombinált színét, pl. sárgát).

Legrohamosabban kétségtelenül e területen a **polimeráz láncreakció** (polymerase chain reaction, PCR) módszere terjed. Népszerűségének oka, hogy gyors, specifikus és függetlenül attól, hogy miből származik a kimutatandó DNS, egyöntetűen kell végrehajtani. Így nagyon könnyű egy új kórokozó vagy egy új örökletes betegség kimutatására átállni, csupán egyetlen új anyagra van szükség: egy új primer párra. Ezek szintetikus úton előállított rövid oligonukleotid molekulák, amelyek viszonylag olcsón megrendelhetők a szolgáltatóknál. A primer párt úgy tervezik, hogy elhatárolnak egy aránylag rövid DNS-szakaszt a genomból, majd speciális polimeráz enzim segítségével ezt a szakaszt milliányi példányban sokszorosítják. Ehhez szükséges egy sajátos berendezés, mely kb. percenként képes a mintát és a reagenseket három hőmérsékleten ciklikusan inkubálni. Az elsőn (pl. 94°C-on) szétválik a kétszálás DNS, a másodikon (pl. 55°C-on) rátapadnak a primerek, a harmadikon (pl. 72°C-on) egy hőtűző polimeráz enzim felépíti a köztes DNS-szakaszt. Egy újabb magas hőmérsékletű periódusban ismét szétválik egymástól a régi és az új DNS-szál, és most már mindkettő mintaként szolgál a következő ciklusban, ezért a nyert DNS-szakasz mennyisége mindig négyzetesen (mérteni haladvány szerint) sokszorozódik.

A fitopatológiai biotechnológiák másik módszere, amely a legpontosabb információt szolgáltatja, a **DNS szekvenálása**. Ez faj, sőt változat szinten azonosítja a kórokozót. Általában molekulárisan klónozni kell a szekvenálandó DNS-szakaszt, ami annyira munka- és időigényes, hogy gyakorlatilag csak a kutatásban alkalmazzák, ráadásul meglehetősen drága és technikailag nehéz feladat. Egyszerűbbé tehető, ha klónozás helyett PCR sokszorozással állítunk elő olyan mennyiségű DNS-t, amelyet már lehet szekvenálni. A két módszer társítása azért ígérkezik a jövő leghatékonyabb technikájának, mert a PCR nagy pontossággal állítja elő a számunkra szükséges DNS-szakaszt, a szekvenálás pedig nagyon pontosan jellemzi ezt.

Egyéb modern diagnosztikai biotechnológiák nem nukleinsavakat, hanem fehérjéket használnak fel. A kórokozók fehérjéi vagy az ellenük termelt ellenanyagok szintén specifikusan jelzik, hogy milyen fertőzéssel állunk szemben. A legnépszerűbb modern szerológiai módszer az **ELISA** (enzyme-linked immunosorbent assay), melynek nagy előnye, hogy ma már a különböző kórokozók kimutatására készen megvásárolhatók az ELISA-lemezek, így bármely ellenanyagot vagy antigént gyakorlatilag ugyanazokkal a lépésekkel lehet kimutatni. Ezzel a módszerrel egy

adott fehérje kimutatására gyakran alkalmazzák a **monoklonális ellenanyagokat**, melyek legnagyobb előnye a kifejezett specificitás.

A klasszikus vizsgálati módszernél több információt szolgáltató eljárás az **immunoblot** (Western blot) eljárás is. A vizsgálandó fehérjét először molekulatömegük különbözősége alapján el kell különíteni nátrium-dodecilszulfát **poliakril-amid gél-elektroforézissel** (PAGE), majd speciális szűrőlemezekre visszük (pl. elektroblotting segítségével nitrocellulóz lapra), és az itt rögzített fehérjét reagáltatjuk a vizsgált szérummal. A fehérjéhez kapcsolódó ellenanyagot az ezen ellenanyag számára termelt másodlagos (jelölt) antitesttel mutatjuk ki egyszerű színreakció útján.

A biotechnológiai úton átalakított sejtek tenyésztésével az utóbbi években lehetővé vált számos specifikus szennyezőanyag kivonása, összegyűjtése és biológiai átalakítás általi hatástalanítása. **Környezetisztító biotechnológiát** jelent a genetikailag módosított élőlényekkel végzett talajvíz-tisztítás, a radioaktív anyagok kivonása a vízből, valamint a fosszilis energiahordozók kénmentesítése (aminek következtében pl. a kőszénnel működő hőerőművek nem szennyeznék kén-dioxiddal a légkört). Ehhez elsősorban vegetatív úton (klonalitással) jól szaporodó, gyorsan növekvő és gyorsan terjedő növények alkalmasak, melyek fitoextrakciós képessége fokozott.

A háztartási hulladékok és ipari melléktermékek fermentációs típusú lebontását végző génmanipulált sejtvonalakat alkalmazó biotechnológiák kettős hasznot hoznak: eltüntetik a környezetszennyező anyagokat és ugyanakkor üzemanyagot állítanak elő, melyet az energetikai ipar hasznosíthat. Ilyen például az etanol előállítása egyéb célra nem használt növényi biomasszából, ami a benzinnél környezetkímélőbb üzemanyag, vagy a metanogenezis, ami fűtőanyagot biztosít. Szintén jelentősek a **szennyvíztisztításban** egyre szélesebb körben alkalmazott biotechnológiák és azok, amelyek a vizek ipari hőszennyeződésének megszüntetésével egybekötött regenerálható biomassza-termelésen alapulnak. A 44. ábra az egyéb célokra nem használható biomassza átalakításán alapuló főbb biotechnológiai eljárásokat és termékeket foglalja össze. A növények kifejezett reprodukciós és regenerációs képességének tulajdoníthatóan a növényi biomassza folyamatosan megújuló nyersanyag- és energiaforrást képvisel.

## II.5. A növénybiotechnológia gazdasági alkalmazásának lehetőségei

Ma még korai lenne a növénybiotechnológia széles körű üzemi alkalmazásáról beszélni, mert a biotechnológiának is, mint minden szintáttörést jelentő gazdasági lehetőségnek, évekre, sőt egyes esetekben évtizedekre van szüksége ahhoz, hogy általánosan elterjedt felhasználást nyerjen. Az alábbi felsorolás a növénybiotechnológia alkalmazásának mérföldköveit szemlélteti:

- 1954: Merisztématenyésztéses mikroszaporításra alapozott vírusmentesítési kutatások kezdete (Franciaország)
- 1956: Növényi sejtek általi fermentációs termelési első szabadalom (USA)
- 1966: A vegetatív mikroszaporítást alkalmazó első kereskedelmi laboratóriumok létesítése
- 1975: Haploidia útján előállított első rizsfajta (Kína) és első dohányfajta (Japán) mezőgazdasági minősítése
- 1979: Szabadalom a növényi sejtek immobilizációjára termelési folyamatban (Németország)
- 1982: Szabadalom a szomatikus embriók kapszulázására, vagyis a mesterséges mag előállítására (USA)
- 1983: Az első üzemi sejtfermentációval előállított növényi termék (a sikonin) megjelenése a világpiacon (Japán)
- 1984: Az első növényi gén szabadalmaztatása (USA)
- 1986: Az első búzafajta minősítése, amelynek előállítása során az androgenézis módszerét alkalmazták (Franciaország)
- 1986: Az első minősített növényfajta (egy káposztafajta), amelynek előállítása során a protoplasztfúzió módszerét alkalmazták (Japán)
- 1988: Transzgénikus növények először szántóföldi kipróbálása (USA)

Jelenleg a növénybiotechnológia fő alkalmazási lehetőségei a növénynemesítésben, a biológiai növényvédelemben, a vegetatív szaporítóanyag előállításában és a növényi produkció feljavításában lelhetők fel.

### II.5.1. Alkalmazási lehetőségek a növénynemesítésben

A növénybiotechnológia alkalmazásának leglátványosabb és legnagyobb gazdasági hasznot hozó területe a növénynemesítés, annak ellenére, hogy a mezőgazdaságban csak olyan új fajtákat lehet termeszteni, amelyek az állami fajtaminősítés 3-5 éves kísérleteiben megfelelő teljesítményt nyújtottak és felülmúlják a köztermesztésben levő fajtákat.



A biotechnológiának a növénynevelésben alkalmazott legfontosabb módszereit és célkitűzéseit az alábbi felsorolás foglalja össze:

a.) Merisztématenyésztés:

- vegetatív szervek élettani manipulációja mesterséges körülmények között
- kórokozómentesítés (vírus, baktérium, gombafertőzés teljes hiánya)
- üzemi méretű vegetatív mikroszaporítás
- génbank létrehozása korlátlan időre való megőrzésre
- értékes fajtajelöltek gyors felszaporítása

b.) Embriótenyésztés, magkezdeménykultúra, *in vitro* megtermékenyítés:

- csírányugalom mesterséges megszüntetése
- nemzedékváltás gyorsítása
- öninkompatibilitás kiküszöbölése beltenyésztéskor
- nemzetség- és fajhibridek előállítása a keresztezési inkompatibilitás kiküszöbölésével
- haploidok előállítása

c.) Androgenézis és ginogenézis:

- teljes homozigóták (izogén vonalak) előállítása
- gametoklonális variabilitás előidézése
- mutánsok szelekciója
- heterózisnevelés idejének csökkentése
- recesszív tulajdonságok vizsgálata, kiválogatása és felhasználása a nevelésben

d.) Kalluszkultúra és sejtenyésztés:

- másodlagos anyagcseretermékek bioszintézise
- üzemi sejtfertőzés
- sejtszintű mutánsizolálás (szárazság-, hideg-, vegyszer-, kártevő-, kórokozó- és egyéb stressz-rezisztencia kialakítására)
- alapanyag létrehozása protoplasztizációhoz
- génbank mélyfagyasztott sejtek gyűjteménye által
- szomaklonális variabilitás kiváltása
- mesterséges mag előállítása

e.) Protoplasztok izolációja és szomatikus sejthibridizációs fúziója:

- paraszexuális faj- és nemzetséghibridek előállítása által távoli rokon növények hasznos tulajdonságainak egyesítése
- gének, kromoszómák átvitele fajok és fajták között aszimmetrikus hibridizációval
- poliploidok gyors és irányított előállítása

f.) Cibridizáció:

- új sejtmag-mitokondrium-kloroplasztisz kombinációjú sejtek létrehozása
- hímsterilitás átvitele különböző fajokba
- herbicidrezisztencia átvitele szentitív fajokba

- a fotoszintézis és a légzés hatékonyságának javítása

g.) Növényi génekből:

- vírus-, baktérium-, gomba-, rovar-, állat-, és emberi gének bevitelével növényekbe (horizontális rekombinációval)
- stresszrezisztencia átjuttatása szenzitív fajtákba
- speciális termékek (főleg számunkra hasznos fehérjék) termeltetése szántóföldön, új céllal termesztett növényfajok megjelenése.

A növénybiotechnológia az élővilágban egyedülálló lehetőséget nyújt azért, hogy a meiotikus rekombináció következményeként kialakuló gamétavariabilitás tisztán, a másik szülői gaméta hatása nélkül, az *in vitro* androgenézissel, illetve ginogenézissel a kifejlett növényegyed szintjére hozható (amikor az utód egyetlen, megtermékenyítésben részt nem vevő szaporítósejtéből fejlődik ki). Ez a **gametoklonális variabilitás**, amely a változatosság egy teljesen új forrását jelenti a nemesítés számára. Ugyanilyen jelentőségű lehet a **szomaklón vonalak** előállítása, vagyis a tenyésztett szomatikus sejtek variabilitásának növény szintű megnyilvánulása. E lehetőség az élővilágban jelenleg egyedül a növények esetében alkalmazható a gyakorlatban.

A növényvilág örökletes változatosságának a megőrzése és a génerózió megelőzése céljából a természetes növényzet és a kultúrflóra különböző fajainak a fellelhető populációiból az egész világon mintákat vesznek, melyek *in vitro* **génbankok**ban vagy csíraplazmabankokban őrizhetők meg az utókor számára. A megőrzés a minták fenntartását, illetve tartós tárolását jelenti. Ennek leggyakoribb formája a generatív úton szaporított növényeknél a magként való tárolás 6-10%-os légköri nedvességtartalom és 5-20°C-os hőmérséklet körülményei között. A vegetatív úton szaporított növényfajok esetében erre nincs lehetőség, ezért ezek számára a növénybiotechnológia két megoldási lehetőséget kínál: a genetikai tartalékok *in vitro* tenyésztésben való megőrzését (aktív gyűjtemény friss táptalajra való rendszeres steril átoltással), vagy a növényi sejtek, szövetek (főleg merisztémák) és szervek speciális körülmények közti fagyasztását és mélyhűtött tárolását (bázisgyűjtemény krioprezerváció útján).

A növény nemesítés területén a biotechnológia napjainkban megfigyelhető előtörésének az alapját azok a módszerek teremtették meg, amelyek a növények tulajdonságainak célirányos megváltoztatását teszik lehetővé az örökítő anyagban végzett módosításokon keresztül. Ennek egyik útja a **szomatikus hibridek** előállítása, vagyis különböző növények teljes vagy részleges genetikai állományának kombinálása a protoplasztok mesterséges fúziója által. A protoplasztfúzió és az ezt követő növényregeneráció az ivaros keresztezés analógjaként fogható fel, hiszen eredményeként mindkét szülőfaj genetikai állományát hordozó hibridek jönnek létre. A szomatikus hibridizáció két lényeges vonatkozásban szolgálhat az ivaros keresztezés alternatívájaként: egyrészt lehetővé teszi a fajhatárokon keresztüli génátvitelt, másrészt biztosítja a **sejtorganelumokban** (kloroplasztisban, mitokondriumban)

**kódolt tulajdonságok rekombinálódásának** a lehetőségét, tekintve, hogy nemcsak a sejtmagok, hanem a szülői citoplazmák keveredését is eredményezi, szemben az ivaros keresztezéssel, mely az extranukleáris tulajdonságok kizárólagosan anyai öröklődésével jár együtt.

Egyes speciális nemesítési problémák megoldásában a szomatikus hibridizáció módszere a leghatékonyabb eljárás lehet. Ezek közé tartoznak: 1) a természetett növényfajokkal közeli rokon, de ezekkel nem kereszteződő vad fajok értékes rezisztencia-tulajdonságainak elérhetővé tétele a nemesítés számára; 2) a kromoszómaszám helyreállítása a dihaploid nemesítés során; 3) az extranukleárisan öröklődő hímsterilitás gyors és hatékony átvitele új genotípusokba. Ez utóbbi a hibrid vetőmag előállítására szempontjából rendkívül jelentős lehetőség, melyet számos növényfajnál alkalmaztak már sikeresen. A további technológiai fejlesztések középpontjában azok a lehetőségek állnak, amelyek ellenőrizhetővé próbálják tenni a fajok közötti korlátozott genomátvitelt (aszimmetrikus szomatikus hibridizáció). Ez a módszer egy vagy néhány kromoszóma, illetve kromoszómadarab átjuttatását, és így a több gén által közösen meghatározott (poligéniás) tulajdonságok átvitelét teheti lehetővé.

A növénynemesítési biotechnológiák keretében a legfontosabb előrelépést a **molekuláris módszerek** bevezetése hozta, ami által a gének szintjén történő szelektálás valósulhat meg. Az utóbbi években a molekuláris biológiai módszerek fejlődésének köszönhetően a restriktív enzimekre és az izolált ("klónozott") DNS-szakaszokra, valamint a polimeráz láncreakció (PCR) módszerére alapozva a genetikai polimorfizmus új formái váltak elérhetővé a nemesítők számára: a DNS restriktív-fragmentum hossz-polimorfizmusa (RFLP), a random amplifikált polimorf DNS-szekvenciák (RAPD), a miniszatellit szekvenciák és az amplifikált fragmentumhossz polimorfizmus (AFLP). Ezek a DNS szintű markerek ideálisak jól használható genetikai térképek elkészítésére, melyek segítségével a nemesítési szempontból értékes génnel szorosan kapcsolt molekuláris jelzők viszonylag egyszerűen azonosíthatók. A **molekuláris markerek** nagy előnye, hogy segítségükkel nemcsak egyedi gének által kódolt jelleget, hanem kvantitatív, poligénes tulajdonságokat is (pl. terméshozamot, környezeti stressz-adaptációs képességet, növekedési sebességet stb.) kezelhetünk, ugyanis ezek felbonthatók a markerek segítségével mendeli módon öröklődő egyedi genetikai komponenseikre, amelyek száma és az adott tulajdonsághoz való hozzájárulási mértéke meghatározható.

További nagy előnye a molekuláris markerek nemesítési felhasználásának a **viisszakeresztezéses nemesítés** felgyorsítása. Nagy sűrűségű molekuláris térképek segítségével mindössze két nemzedék során közvetlenül szelektálhatók azok az egyedek, melyekben a fontos génlókuszt közelében mindkét oldalon rekombináció következett be, és a kívánt génhez kapcsoltnak csupán kis donor kromoszómarégiót hordoznak. Erre hagyományos szelektív módszerekkel több, mint száz generációra lenne szükség. A molekuláris markerek ezen kívül kiválóan

alkalmasak **fajtaazonosításra**, illetve fajták, változatok, vonalak közötti rokonsági fok megállapítására, hiszen környezeti hatásoktól és élettani változásoktól független, nagyfokú polimorfizmust detektálnak. A fentiek alapján nem meglepő, hogy a legjelentősebb termesztett növényfajok (pl. kukorica, búza, rizs, szója, paradicsom, burgonya) molekuláris genetikai térképei napról napra újabb markerek tucatjaival gazdagodnak, ugyanakkor egyre fejlettebb számítógépprogramok segítik a markerek, illetve a követni kívánt fenotipikus jelleg és a markerek kapcsoltságának megállapítását. Mindez a nemesítési folyamatok jelentős felgyorsulását eredményezheti, különösen akkor, ha a közeljövőben a teljes folyamatot, a DNS-mintavételtől a kiértékelésig, sikerül automatizálni. A módszer hátránya ugyanis az egyelőre elég magas költség- és munkaerőigény.

A molekuláris növénybiotechnológiai módszerek keretében jelenleg a gének azonosítása és a DNS-szekvenciájuk meghatározása mellett nagy erőfeszítések történnek a gének funkciójának megállapítására. Konkrét választ a gének a növényben betöltött szerepére csak a gén mutációs megváltozása adhat, és ennek érdekében a legcélravezetőbb megközelítésnek tűnik a növényi gének módosítása genetikai transzformáció segítségével. A fentiekkel kapcsolatosan megemlíthetjük, hogy egyes vélemények szerint a **növényi genomprogramok** sikerének az elkövetkező száz évben nagyobb jelentősége lesz az emberiség jövőjének tekintetében, mint az emberi genom teljes megszekvenálásának, figyelembe véve a növekvő élelmezési és környezeti, valamint a megújuló természeti erőforrásokkal kapcsolatos problémákat.

## II.5.2. Biotechnológiai stratégiák a növényvédelemben

A növénynemesítés mellett a növényvédelem az a terület, amelyben a biotechnológia nagy gazdasági jelentőségre tehet szert. Ennek lényege a fajtaspecifikus peszticidek előállítás, ami egyben a peszticid és a vetőmag kapcsolt kereskedelmét is feltételezi.

A növényvédelem területén a biotechnológiai fejlesztés két fő csoportra osztható:

- 1) a gazdanövény és a parazita közti kapcsolat biotechnológiája: különböző rezisztenciagének keresése az élővilágban és e gének átvitele termesztett növényekbe;
- 2) a növény és a növényvédő szer közti kapcsolat biotechnológiája: peszticid-rezisztens növényi sejtek szelekciója és a tűrőképesség átvitele más hasznos sejtvonalakba cibridizációval vagy génszétválasztási úton.

A cél:

- vírusrezisztens
- rovarrezisztens
- fitopatogén baktériummal szemben ellenálló
- gombás fertőzésnek ellenálló vagy
- gyomirtó szerekkel szemben rezisztens transzgenikus növények létrehozása.

Az első gazdaságilag fontos biotechnológiai eredmények a termesztett növények védelmének területén születtek meg, és számos esetben ezek az ellenálló növényfajták már több ezer hektáron természetve bizonyítják hasznosságukat.

**Vírusrezisztens növények** létrehozásakor tudni kell, hogy a keresztvédetség eredményeként az első vírusfertőzést követően a második, felülfertőző vírus tünetei nem vagy csak jelentős késéssel jelennek meg, az így kialakuló rezisztencia pedig általában ideiglenes. A transzformációval történő rezisztencia kialakítása során vírusgén-szekvenciák kifejeztetése vezet a növények vírusfertőzéssel szembeni ellenállóságához. Az egyik ilyen lehetséges megközelítés a **vírusburok-fehérjék termeltetése** expressziós vektorok segítségével a transzformáns növényekben. A vírusrezisztencia kialakításának másik lehetősége a kisméretű ún. **szatellit RNS** molekulák termeltetése a növényekben, jelenleg azonban még nem ismert, hogy miként vezet a szatellit RNS-ek jelenléte a tünetek mérsékléséhez.

A biotechnológiai módszerek alkalmazása előtt a növényi vírusok elleni védekezés csak a megelőzésre és az időigényes rezisztencianemesítésre szorítkozott. Az újabb eljárások azonban lehetővé tették, hogy víruseredetű kapszidgén szekvenciákkal védettség alakuljon ki az adott vírusra és a rokon törzseire. Az eddigi konkrét eredmények közül kiemelendő az Y-vírusnak és a levélsodródás vírusának ellenálló burgonya, valamint a dohánymozaik vírusnak ellenálló paradicsom.

Említést érdemel a víruseredetű replikáz génjének beépítésével kapott rezisztencia is, amely azonban erősen szekvenciaspecifikus és szűkebb körű ellenállóképességet alakít ki. Továbbá, a vírusok elleni védekezésben ismert az ún. **antiszensz stratégia** is, mely által a vírusgén-szekvenciával ellentétes irányú nukleinsavszakasz alakítja ki a védettséget. Bizonyos vírussaládok esetében a szatellit RNS-ek mellett a defektív interferáló RNS-ek is gátolják a szülővírus replikációját. Ugyanakkor a ribozim struktúrák specifikus vírusgénszekvenciához kötésével növényi vírusok és elsősorban viroidok elleni védekezés kialakítása körvonalazódott. Legújabbán élesztőből származó, kettős szálú vírus-RNSeket speciálisan bontó ribonukleáz kódoló gén beépítésével széleskörű vírusellenállóságot értek el termesztett növényekben.

A fertőző **baktériumokkal szembeni ellenállóság** kialakítása elsősorban a kórokozó baktérium toxinját lebontó enzimeket kódoló gének azonosításával és izolálásával, majd hajtásos növények sejtjeibe való beépítésével történik.

A **gombás fertőzésnek ellenálló növények** létrehozása terén a gombaölő szerek felhasználásának csökkentése érdekében olyan alternatív eljárásokra került sor, melyek során a kultúrnövény önmagában képes a kórokozónak ellenállni. Ennek egyik példája a veteménybabból származó, etilénnel indukálható, kitináz enzimet kódoló gén izolálása és dohányba, illetve repcébe való beépítése, miáltal a kitinalapú sejtfallal rendelkező *Rhizoctonia solani*-val szemben alakult ki rezisztencia. Hasonlóan sikeres ellenállóságot értek el a földimogyoróból és szőlőből izolált, sztilbén-szintáz génnel, mely a resveratrol nevű fitoalexin szintéziséhez szükséges enzimet kódolja.

Ez a gén dohánynövénybe építve képes volt a kívánt fitoalexint felszaporítani és a növényt ellenállóvá tenni. Ily módon állítottak elő *Botrytis*-ellenálló szamócat, mely szabadföldi kísérletekben is bizonyította a sztilbén-szintáz génjének jelentőségét az ellenállóképesség kialakításában.

A **rovarrezisztens növények** biotechnológiai előállítására a biológiai növényvédelem azon tényéből indul ki, hogy a *Bacillus thuringiensis* nevű baktérium különböző törzsei a sporuláció során rovarölő hatású fehérjekristályokat képeznek endotoxinként, melyek faj-, illetve családspecifikusan képesek a *Lepidoptera* és *Diptera* rovarokat (hernyókat, legyeket, szúnyogokat) elpusztítani. A rovarlárvák emésztőképzőszékében e kristályok feloldódásával 130-160 kDa-os molekulatömegű fehérje szabadul fel, amelyből proteázok hatására egy kismolekulájú toxikus fragmentum keletkezik.

A **baktériumtoxin** génjének izolálásával és hajtásos növényekben való expresszállatásával lehetővé vált, hogy a rovarirtó szerekekkel való, környezetszennyező hatású permetezés ezáltal kiküszöbölhető, annál is inkább, hogy a termesztett növényeket károsító rovarok az intenzív és egyoldalú rovarirtóhasználat miatt gyorsan ellenállóvá válnak, és az új rezisztens rovarpopuláció elleni védekezés egyes esetekben szinte megoldhatatlan.

A bakteriotoxin termelésének képessége által rovarellenálló kukoricát és gyapotot ma már millió hektár nagyságú területeken termesztik, elkerülve a költséges és környezetet szennyező permetezést.

A kártevő rovarok elleni védekezésnek alternatív útja a nagyfokú fajspecifikussággal rendelkező **bakulovírusok rekombinánsainak felhasználása** a növényvédelemben. Ezek a rekombináns bakulovírusok csak egy rovarfaj egyedeit támadják meg, így felhasználásuk más rovarfajokra teljes mértékben veszélytelen.

Sikeres stratégiáknak látszanak továbbá azok is, amelyek az egyes rovarok táplálkozási szokásaira alapozva olyan anyagok szintézisét idézik elő egy adott növényben, amelyek ezt kellemetlenné, íztelessé vagy mérgezővé teszik a rovar számára. Például a *Solanum chacoense* növényfaj olyan lektint termel, amely a kolorádóbogárra repellensként hat, és amennyiben az állat többet fogyaszt belőle, pusztulását okozza. Így a toxikus vegyületet kódoló génnek termesztett növényekbe való beépítésével lehetővé válik a növények rovarellenállóságának kialakítása, ami feleslegessé teszi a szintetikus rovarirtó szerek használatát.

A **gyomirtó szerekekkel szemben ellenálló termesztett növények** létrehozása a növénybiotechnológia egyik legfontosabb gyakorlati eredménye. A modern termelési technológiák és a környezetvédelmi szempontok mind szigorúbb követelményeket támasztanak az új herbicidekkel szemben. Lényeges, hogy igen kis dózisban már hatásosak legyenek, és környezetkímélőeknek kell lenniük, ami elsősorban a gyors lebontást és veszélytelen termékek képződését jelenti. A napjainkban használatos növényvédő szerek mintegy 60%-a gyomirtó (herbicid), amelyek használatától a



mezőgazdaság nem tekinthet el, a talaj további terhelése pedig komoly veszélyt jelent.

Ha sikerül a rezisztenciát kialakítani a termesztett növényekben, akkor az eredetileg totális herbicidek szelektívvé válnak az adott növény tekintetében. Az önmagukban szelektív herbicidekkel szemben a monokultúrás gazdálkodás következtében ellenálló gyomnövény változatok alakultak ki. Ennek jól ismert példája a triazin-rezisztencia. Biotechnológiai úton a herbicidrezisztenciáért felelős géneket beépíthetjük a kívánt termesztett növénybe, így ez ellenállóvá válik és lehetőséget ad az illető gyomirtó szer használatára. E téren közismert a Calgene nevű amerikai vállalat eredménye, amikor *Salmonella typhimurium*-ból izolált *aroA* gént ültettek be paradicsomnövénybe, melyet ezáltal glifozát-ellenállóvá tettek, ugyanis a paradicsomban megnyilvánuló bakteriális gén terméke lebontotta a gyomirtót. (A glifozát nem szelektív herbicid, s ez a tény gátolja alkalmazhatóságának körét.) A Monsanto cég kutatócsoportja az említett *aroA* gént több másolatban építette be a petúniába és számos haszonnövénybe, elérve azt, hogy a herbicidet lebontó gén mennyisége megtöbbszöröződött, s így a növények teljesen herbicidellenállóvá váltak. Ezek az új mikro-herbicidek specifikusságuknál fogva jelentős mértékben csökkentik a felhasznált gyomirtó mennyiségét, és ezzel **mérsékelik a talajok vegyszerterhelését** is.

A biotechnológiai úton előállított rezisztens kultúrnövények termesztése az integrált növényvédelem egyik új lehetősége. Ma már jól ismert, például, a Monsanto cég Round-up nevű ellenálló szójája, valamint számos herbicidrezisztens kukoricafajta, amelyeket több százezer hektáron termesztenek. Az ellenállóképesség indukálása előtt azonban szükséges a különböző herbicid típusok hatásának pontos ismerete. Például a glifozát (N-foszfonometil-glicin, Roundup) létfontosságú aromás aminosavak bioszintézisét akadályozza meg. Tekintettel arra, hogy a természetes szubsztrátum és a glifozát egyaránt egy adott enzim (az enolpiruvil-sikimin-3-foszfát szintetáz) aktív centrumához kötődve gátol, várható, hogy az aktív centrum módosításán alapuló rezisztencia kedvezőtlen hatású lesz a növények produktivitására. Ez előtérbe helyezi a lebontáson, illetve az inaktiváción alapuló megközelítések jelentőségét.

Egy másik gyakran használt herbicid a foszfinotricin (Basta), mely a glutaminszintetáz (GS) enzimet gátló, aminosavanalóg típusú gyomirtóként az ammónia felhalmozódása által vezet a kezelt növények elpusztulásához. Ennek ismeretében előrelátható, hogy a foszfinotricinnel szembeni rezisztencia kialakításának legvalószínűbb útja az ammóniát detoxifikáló enzimek szintézisének indukálása és működésük fokozása.

A gabonafélék szelektív herbicidjei a szulfonil-urea típusú vegyületek, mint például a klórszulfuron (Glean). E gyomirtó szerek támadási pontja az acetolaktát-szintetáz (ALS), amely a valin és az izoleucin bioszintézisének kulcsenzime. Ismertek olyan mutánsok, amelyekben az enzim génjében egyetlen bázispár kicserélődése felelős a rezisztenciáért. A mutáns és a vad típusú polipeptid aminosavsorrendjét összehasonlítva megállapították, hogy a pontmutáció eredményeként egy prolin

szerinre cserélődött ki, ez pedig elég volt ahhoz, hogy az enzim érzéketlenné váljon a herbicidre. Miután az *Arabidopsis thaliana*-ból (lúdfűből, a modern növénygenetika kedvenc alanyából) a rezisztenciát biztosító gént transzformációval beépítették dohánynövényekbe, ezek képesek voltak 100  $\mu\text{M}$  klórszulfuron jelenlétében is nőni, míg a kontroll növényekre 10  $\mu\text{M}$  már letális. A rezisztencia az utódokra is átöröklődött. Ez a kísérlet példát szolgáltat arra, hogy az ellenállóképességet biztosító növényi gének átvitelével kialakítható a herbicidekkel szembeni szelektivitás.

Az előzőekben ismertetett eredmények alátámasztják azt az elképzelést, hogy a transzformáns növények révén **szélesíthető a szelektív herbicidek köre**. Az ilyen fejlesztésekben elsősorban a totális herbicideket gyártó cégek érdekeltek. Környezetvédelmi szempontból ezek a kutatások csak akkor jelentenek előrelépést, ha ezzel a valóban környezetkímélő szerek használata bővül és helyettesítődnek a kedvezőtlen mellékhatású készítmények. Megjegyzendő ugyanakkor, hogy a tesztnövényekkel kapott alapkutatói eredmények birtokában még éveket igénybe vevő nemesítési munkára van szükség, ami magába foglalja a bevitt idegen gén hatásának sokoldalú értékelést.

### II.5.3. A biotechnológia alkalmazása a növényi szaporítóanyag előállításában

Az a tény, hogy mesterséges táptalajon, steril tenyészetekben a növények merisztematikus szövetéből nagyszámú új növényt lehet előállítani, a mikroszaporítási technológiák széleskörű kifejlesztését tette lehetővé. Ennek az eljárásnak külön jelentőséget ad, hogy a **merisztémacsúcsból** felnevelt növények egyúttal **vírusfertőzés-mentesek** is, így a szaporítóanyag értéke is nagyobb. A vegetatív mikroszaporítási biotechnológiák alkalmazásának mértékét példázza, hogy 1995-ban Kína 25 tartományában 675000 hektáron termesztettek vírusmentes burgonyát, és a termelésnövekedést 3750 kg/ha-ra becsülik. Ez a technológia hasonló jelentőségű a banánnál is, mely magról szintén nem szaporítható.

A mikroszaporítási eljárások speciális változata az, amikor a testi sejtekből embrió fejlődését indukálják a tenyészetekben. Ezek a **szomatikus embriók** kiszáritás után vagy hordozóanyagokba csomagoltan **mesterséges mag** formájában értékesíthetők. Piaci felhasználásuk nagy értékű kertészeti növények (paradicsom, mag nélküli dinnye stb.) és hibridek esetében jöhet szóba, ugyanakkor különösen nagy kapacitással folynak a kutatások a skandináv országokban a fafajok ilyen úton történő szaporítása érdekében.

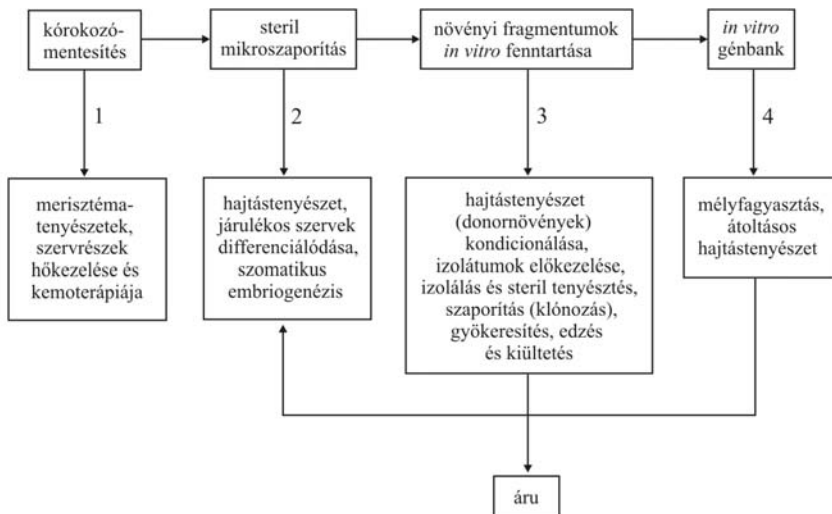
A **haploid növények** igen előnyös genetikai konstrukciót jelentenek számos növénynemesítési cél érdekében. Segítségükkel hatékonyabbá válhat a vírus- és nematodarezisztens szaporítóanyagok létrehozása, amint ezt a burgonya, az árpa és a rizs nemesítési eredményei mutatják. A mikrspóra (pollen) eredetű szövetekből vagy embriókból ma már nagy hatékonysággal lehet felnevelni haploid növényeket

a gazdaságilag fontos fajok legtöbbszörénél. A portok- és pollentenyészetek használata szervesen beépült a növénynevelési programokba, és ezzel gyakorlati hatásában az egyik legeredményesebb növényi biotechnológiai módszernek tekinthető.

Azok a kutatások, amelyek során izolált petesejtek (ooszférák) mesterséges megtermékenyítését követően nevelnek fel teljes értékű növényeket, jelenleg még kezdeti stádiumban vannak. Ilyen irányú sikeres kísérletek jelenleg főleg a kukoricával és a búzával folynak. A megtermékenyítés nélküli embriókialakulás (az apomixis) indukálása mesterséges körülmények között szintén új lehetőségeket nyújt például a hibridhatás stabilizálására.

Az *in vitro* szövettenyésztéssel megvalósított növényfelnevelés, akár sejtekből, akár szövetrészekből, kikerülhetetlen lépés a növények transzformálását célzó módszerek alkalmazása során is. A növényi szövettenyésztési kutatás egy fontos pillérét teremtette meg a genetikai transzformációnak és ezzel integráns elemévé vált a biotechnológiai fejlesztéseknek.

Amióta Morel felfedezte a járulékos merisztémasejt-csoportokból (protokormokból) való vegetatív szaporítás módszerét az orchideáknál, a világon évente több, mint 300 millió palántát állítanak elő **steril klónozással** (és ezek csaknem egy tizede még mindig orchidea). A vegetatív mikroszaporításra specializálódott üzemi biotechnológiai laboratóriumok száma gyorsan növekszik. Az európai országok közül Anglia, Franciaország, Belgium és Olaszország rendelkezik a legnagyobb kapacitású cégekkel. A steril vegetatív mikroszaporítás vagy gyors klónozás ma már olyan területe a növénybiotechnológiának, amelyet üzemi mértékben alkalmaznak (főleg a dísznövények előállításában), a többmillió nagyságrendű termelés pedig már nemzetközi piacutatást és az előállítási folyamat automatizálását igényli (45. ábra).



45. ábra. A kórokozómentes növényi szaporítóanyag előállításának fontosabb technológiai egységei és alkalmazott módszerei (Smith 2000 után módosítva)

A növényi mikroszaporítási technológia nagy előnye, hogy uniformizálható, programozható és **automatizálható**. Egész kereskedelmi laboratóriumok, teljes felszereléssel és technológiával vásárolhatók és telepíthetők az egész világon. A technológia bevezethetősége nem az elhelyezéstől, az ország fekvésétől vagy a termesztett növényfajoktól függ, hanem a szükséges infrastruktúra meglététől. Az *in vitro* mikroszaporítási biotechnológia fő lépései, mint a táptalajadagolás, a növényi anyag izolálása, a tenyésztés és steril átoltás jól meghatározható műveletek, amelyek szabályos időközönként ismétlődnek.

#### II.5.4. A növények termelékenységét befolyásoló biotechnológiák

A növények anyagcseréjének és táplálkozási igényeinek, valamint az egyedfejlődést befolyásoló külső tényezők hatásainak ismeretében lehetővé vált a növényi szervesanyagtermelés irányított átprogramozása gyakorlati céljainak megfelelően.

A növények produktivitását meghatározó táplálkozási tényezők közül kiemelt jelentősége van a nitrogénellátásnak. A citoplazmatikus **glutamin-szintetáz** génjének túltermeltetése növénytömeg és a **fehérjetartalom növekedését** eredményezi, és ugyanilyen hozamfokozó hatást lehet elérni az aszparagin-szintetáz génjének fokozott kifejeztetésével. Mindez hozzájárulhat a környezet műtrágyaterhelésének mérsékléséhez. Intenzív kutatások folynak a szacharóz-szintetáz és a keményítő-szintetáz működésének módosítására, különös tekintettel az anyagcseretermékek arányának és lokalizációjának befolyásolására. Így például, a 6-foszfofruktóz-2-kináz aktivitásának növelése a növényekben a **keményítő felhalmozásának** irányába tolja el az anyagcsere folyamatokat. Hasonló kísérletek folynak a ligninbioszintézis szabályozása terén is.

A biotechnológia lehetővé teszi a termesztett növényekben olyan anyagok nagy mennyiségeinek a termeltetését is, amelyek egyébként csak egzotikus növényfajokban vagy más élőlényekben fordulnak elő, vagy olyanokét, amelyek csak szintetikusán állíthatók elő vagy pedig normális körülmények között a növényben csak nagyon kis mennyiségben képződnek. Ilyen tekintetben a szántóföldi növények biomasszaprodukciója versenyképes bármely más előállítási technológiával: a terméképződési folyamat olcsó és nem igényel speciális feltételeket, ugyanakkor az előállítható mennyiség nagyon nagy, hiszen millió tonnákban mérhető a növényekből napjainkban előállított cukrok, fehérjék, lipidek mennyisége is. A **biofermentorok** szerepét betöltő növények a mikrobiális rendszerekkel szemben rendelkeznek egy nagy előnnyel: míg az eukarióták fehérjei a bakteriális rendszerekben gyakran oldhatatlan, szerkezetileg és funkcionálisan hibás formában képződnek, addig növényekben az eukarióta eredetű fehérjék szerkezetének kialakulása pontosan megy végbe és funkcionális terméket eredményez. Ezek alapján a növények számos, elsősorban gyógyszer- és élelmiszeripari felhasználásra kerülő alapanyag ésszerű, alacsony költségigényű és megújítható forrásaiként szolgálhatnak a közeljövőben.

Az ember számára hasznos növényi anyagcseretermékek széles skáláját érzékelteti, hogy például a jelenleg használt gyógyszer-alapanyagok egy negyede az amazonászi esőerdő növényeiből származik, annak ellenére, hogy az itt élő növényfajoknak alig 2%-át tanulmányozták ezidáig közelebbről.

Növényekben újfajta molekulák állíthatók elő az **anyagcsereutak módosítása** által. Konkrét példaként említhetjük a keményítősintézis módosítását transzgénikus burgonyában, ami által amilózmentes keményítő, számos ciklodextrin, fruktán és trehalóz állítható elő. Hasonló próbálkozások érvényesülnek a növényi zsírsavanyagcsere mind étkezési, mind ipari célú módosítása kapcsán. Például jelenleg szabadföldi kísérletek folynak olyan **módosított zsírsav-összetételű transzgénikus repcenövény**nel, ami a teljes zsírsavtartalmából 40% sztearinsavat tartalmaz (a margarinok és a kakaóvaj gyártásához), vagy olyannal, amely 60% laurilsavat termel (detergensok előállításához), illetve amely 90% erucilsavat (22:1) bioszintetizál (kozmetikumok, gyógyszerek, polimerek, kenőanyagok számára). 1997 óta olyan transzgénikus repce is létezik, mely jelentős mennyiségben állít elő polihidroxivajsavat, ami **biodegradálódó műanyagok** gyártásában jut felhasználásra. Új enzimatikus lépéseket iktatva be a növényi olajok szintéziséért felelős anyagcsereutakba, új, a felhasználási célnak jobban megfelelő olajok állíthatók elő a növényekben.

A jövőben a **kőolaj helyettesítése** is lehetővé válhat bizonyos ipari alkalmazásokban a homogén, szennyezőanyagoktól mentes növényi olajokkal, amelyek ráadásul nem igényelnek további finomítást. A nem megújítható fosszilis szénhidrogénkészletek fokozatos kimerülését figyelembe véve pedig a távolabbi jövőben a biotechnológiai úton előállított növényi olajok jelenthetik az egyetlen nagyvolumenű ipari szénhidrogénforrást.

A cukrokon és lipideken kívül a növényekben bármilyen gyógyászati vagy ipari célra alkalmas heterológ polipeptid is megtermeltethető, de a gyakorlati alkalmazásokat hátráltatja az idegen fehérje bioszintézisének viszonylag alacsony hatékonysága (az eddigi legmagasabb érték 15% idegen fehérje egy dohánynövény teljes fehérjetartalmából). Ennek ellenére a transzgénikus növények a humán gyógyászatban használatos számos peptidnek szolgálhatnak gazdaságos és megújítható forrásul. Ilyen például az AIDS vírusának (a HIV) replikációját gátló alfa-trihoszantin, az enkefalin, az eritropoetin, a szomatotropin, a szérum-albumin és az interferon. Az idegen fehérje tisztításával kapcsolatos problémák megoldhatóknak látszanak úgy, hogy a **terápiás célra szolgáló fehérjét** emberi vagy állati fogyasztásra alkalmas növényben termeltetjük és közvetlenül, táplálékkiegészítőként használjuk fel.

Az 1990-es években figyelemre méltó eredmények születtek a növényi sejtek osztódását szabályozó mechanizmusok megismerésében is, ami a növényi struktúrák kialakulásának tervezhetőségét vetíti előre. Bizonyítást nyert a ciklinfehérjék és a velük kölcsönható kinázok előfordulása és működése a növényekben, ami lehetőséget nyújt arra, hogy a megfelelő izolált gének birtokában befolyásolhassuk a mitózist, mint

lényeges testépítő sejtfunkciót. Továbbá, tekintve, hogy a hormonális jelátvitelben kiemelt szerepe van a fehérjék foszforiláltságának, kinázok és foszfatázok génjeinek a működését megváltoztatva igen jelentős élettani hatások érhetők el biotechnológiai jelentőségű növényi sejtenyészetekben vagy manipulált növényekben.

Azok a merész törekvések, amelyek vegetatív vagy generatív szervek szerkezetének, méretének vagy helyzetének a megváltoztatásával kívánják a termést befolyásolni, nem tekinthetnek el attól a ténytől, hogy a növényekben is működnek homeotikus gének, amelyek termékei transzkripciós faktorokként egyéb gének kifejeződésének szabályozása által a szervkialakulás meghatározói. Kiemelt figyelmet érdemelnek az **egyedfejlődési program sebességét ellenőrző** gének is, hiszen a virágzás ideje, az érés gyorsasága, az embrió és a mag mérete, a csírázási képesség stb. mind piaci értékmeghatározó. Például Kanadában termesztésben vannak olyan repcefajták, amelyek biotechnológiai beavatkozás folytán kialakított hímsterilitást hordozó szülők származékai, és intenzíven folynak azok a kutatások, amelyek az apomixis felhasználásával próbálják a heterózishatást rögzíteni, új alapokra helyezve ezzel a hibridvetőmag előállításának iparágát.

A növények terméshozamának értékelésekor figyelembe kell venni, hogy nincs olyan termesztési terület a világon, ahol ne kellene tartani a szélsőséges időjárási viszonyok előfordulásától, és ezáltal a növényeket károsító stresszhatások által okozott termés kieséstől. Tekintettel a veszteségek nagyságára, a **stresszrezisztencia javítása** a növénybiotechnológiai programok központi célkitűzése. Emiatt kerültek, például, az érdeklődés középpontjába a **deszaturáz** enzimek, amelyek módosítják a zsírsavak telítettségi állapotát és egyben fluiditását, ezen keresztül pedig a növények alkalmazkodóképességét szélsőséges hőmérsékletekhez. A növényekben a stresszfaktorok az anyagcsere egyensúlyának felbomlását eredményezhetik. Ilyen feltételek között a sejtek károsításában az oxigén szabad gyökeinek döntő szerep jut, hiszen az **oxidatív stressz** okozói (szuperoxid gyök, hidroxil gyök, hidrogénperoxid) a membránok integritásának elvesztését eredményezik. E tekintetben a biotechnológiai beavatkozások célja egyrészt a károsító gyökök képzésének mérséklése, másrészt a **védekezési reakciók hatékonyságának fokozása**. Az ilyen stratégiák használhatóságát támasztja alá, például, hogy a kloroplasztisban levő Cu/Zn-szuperoxid-diszmutáz génjének túltermeltetése fokozza a fotooxidatív stresszel szembeni ellenállóképességet.

Nagyszámú növényi gén izolálása, szabályozásuk megismerése és a növények genetikai transzformációjának módszertani kidolgozása lehetővé tette a növényi tulajdonságok irányított megváltoztatását idegen géneknek a növényi genomba való beépítésével. Az idegen géneket tartalmazó **transzgenikus növények** a jövő mezőgazdaságában és számos iparágban alapvető szerephez juthatnak. Ennek legalább két oka van: a rendelkezésre álló fenotipikus tulajdonságok körét kiterjesztik az ivaros keresztezés határain túl elvileg minden ismert jellegre, másrészt az egyedi



tulajdonságok célzott megváltoztatásával rendkívül felgyorsítják az új fajták előállítását.

A transzgénikus növények technológiai szinten való alkalmazásának három jól körülhatárolható követelménye van:

- 1) az adott tulajdonság megváltoztatásáért felelős gén, az ún. „agronómiai gén” azonosítása és izolálása; ez származhat bármilyen élőlényből, vagy lehet mesterségesen szintetizált DNS-szekvencia;
- 2) az idegen gén kifejeződését megfelelően szabályozó régiók (promoter, terminátor stb.) megléte;
- 3) a létrehozott génkonstrukcióknak az adott növény genetikai állományába való beépítését lehetővé tevő genetikai transzformációs rendszer.

Ma már nincs sem elvi, sem technikai akadálya az idegen gének beépítését szolgáló követelmények együttes teljesülésének a legfontosabb gazdasági növényeink esetében. A génbevitel módszere leggyakrabban génbelövés vagy *Agrobacterium*-os transzformálás, és az így elért eredmény általában vírus-, gyomirtó- és rovarrezisztencia, a beporzódás szabályozása (pl. repcénél) vagy a termésérés késleltetése (pl. paradicsomnál).

A különböző jelátviteli láncolatok azonosítása és ezek tagjainak szabályozott kifejeztetése transzgénikus növényekben az adott szignáltranszdukciós hálózat által ellenőrzött komplex tulajdonságok, mint például az alak, a méret, a növekedési mód, az organogenezis, a sejtosztódás, a stressztűrés, a fotoszintetikus hatékonyság, a fertilitás stb. megváltoztatásához vezethet. Napjainkban a fentiekhez kapcsolódó alap kutatási eredmények közzétételét megelőzi az azonosított **gének szabadalmi védelme**. Az idegen gének kifejeződését szabályozó speciális DNS-régiók, vagyis a promoterek szintén szabadalmazható termékeket jelentenek, annál is inkább, mivel jelenleg a megfelelő szabályozó régiók hiánya jelenti a transzgénikus megközelítés egyik korlátozó tényezőjét.

A kutatások során nyilvánvalóvá vált, hogy nincs, és nem is lehet univerzális **génátviteli módszer**. Minden növényfaj esetében szükség van az alapvető módszerek megfelelő adaptálására. A három leggyakrabban alkalmazott megközelítés:

- 1) az agrobaktériumos transzformációra alapozott génátvitel;
- 2) a közvetlen DNS-bevitel protoplastokba elektroporálás útján (elektromos impulzusok által keltett membránfelnyílásokkal);
- 3) fém (pl. arany) mikrorészecskék felületén adszorbeált DNS-molekulák „belövése” a sejtekbe.

Az agrobaktérium-rendszerek elsősorban a kétszikű növényekre korlátozódnak, a közvetlen génátvitel megköveteli a növény – protoplast – növény *in vitro* tenyésztési rendszer meglétét. A legáltalánosabb alkalmazhatónak a „génbelövés” tekinthető, azonban ez a módszer viszonylag kevésbé hatékony és gyakran vezet kimerék keletkezéséhez (ezek olyan transzgénikus növények, melyeknek nem minden sejtje

hordozza az idegen gént). Gyakran a fiatal virágokba, illetve a szaporítósejtekbe kísérelik meg az új gén bejuttatását, elkerülve így a néha nehézkes növényregenerációs lépést.

A génátviteli rendszerek fontos alapeleme a **szelekciós marker gén**, amely lehetővé teszi a transzformált sejtek gyors és megbízható azonosítását, még a növényregenerációs lépést megelőzően. Ezek a gének általában valamilyen rezisztencia-tulajdonságért felelősek, és ez az általuk biztosított ellenállóképesség szolgál a transzgenikus sejtek kisselektálására a többiek közül, a megfelelő stresszhatást gyakorló szelekciós közegben. A növényi szelekciós markerek nagy része antibiotikummal szembeni rezisztenciagéneken alapul. Ezeknek a jelenléte és kifejeződése a termesztett növényekben azonban nem kívánatos, ezért biztonságosabban alkalmazható rezisztenciagénekkel (pl. a herbicidrezisztencia meghatározóival) történő kiváltásuk a biotechnológiai alkalmazásokban fontos szempont, különös tekintettel arra, hogy ezek a gének és a rájuk alapozott szelekciós rendszerek is szabadalmaztatható, védett biotechnológiai termékeknek tekinthetők.

A növényekbe beépített idegen gének működése, még a legmegbízhatóbb promoter szekvencia alkalmazásakor is, mutathat bizonytalanságot. Az átvitt gén aktivitása nagymértékben függ a genomba való integrálódásának helyétől (ez az ún. pozíció-effektus), a beépült másolatok számától és esetleges rekombinációjától, a potenciális inaktiválási mechanizmusoktól (pl. metiláció), és amennyiben módosított növényi génről van szó, a rokon szekvenciák között fellépő kölcsönhatásoktól („transgene silencing”).

A **génkifejeződés stabilitásának** utódgenerációkon keresztül fenntartása (pl. irányított integrációval aktívan átíródó kromoszómaregiókba) a biotechnológia sikeres gyakorlati alkalmazásának talán jelenleg a legalapvetőbb problematikája. A növények esetében még kidolgozatlan az a módszer, amely lehetővé tenné az idegen gén és a növény azonos funkcióit ellátó saját génjének kicserélését. Ellenben igen ígéretesek azok a próbálkozások, amelyek az idegen géneknek **kloroplasztiszokban való kifejeztetését** helyezik előtérbe. Ez a megközelítés, amennyiben megfelelő szelekciós nyomással biztosítható a transzgenikus kloroplasztiszok kiválogatása és fenntartása a növényi sejt osztódásai során, az egyetlen sejtben belüli nagyszámú kloroplasztisz meglétének köszönhetően jelentős génexpressziós szintnövekedést, valamint a pozícióeffektus valószínűségének lényeges csökkentését tenné lehetővé, tekintve, hogy a kloroplasztisznak egyetlen kromoszómátípusa van, ami nem túl sok (száz-kétszáz) gént tartalmaz. Nem utolsósorban pedig minimális lenne az idegen gén pollen általi átterjedése más növényekre, hiszen a pollen nem tartalmaz kloroplasztiszokat.

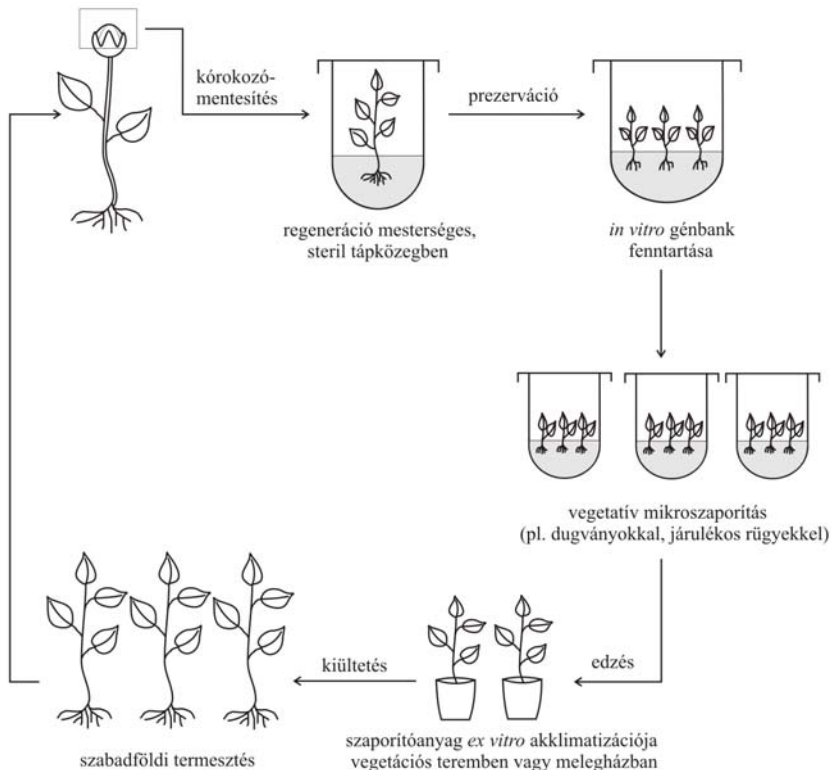
A növények termelékenységét befolyásoló biotechnológiák széleskörű alkalmazásának elengedhetetlen feltétele a transzgenikus növények **szabadföldi kihelyezése**. E tekintetben az Egyesült Államokban a Calgene cég 1994-ben kapott engedélyt biotechnológiai úton módosított élelmiszertermékre, a ma már közismert

lassú érésű paradicsom szabadföldi termesztésére. Ezt követően, transzgénikus növényeket 1996-ban mintegy 2,8 millió hektáron termesztettek kereskedelmi célra az USA-ban, Kanadában, Kínában, Ausztráliában, Argentínában és Mexikóban. Az utóbbi években a transzgénikus növényekkel bevetett területek négyszer nagyobb mértékben növekedtek a fejlett országokban, mint a fejlődőekben. Ez elsősorban arra vezethető vissza, hogy az Egyesült Államokban a gyomirtó-ellenálló szója termesztése óriási mértékben megnőtt, és ugyanez a tendencia figyelhető meg a kanadai herbicidrezisztens repce esetében is. Nagy gazdasági hasznot hozott ugyanakkor az USA-ban termesztett Bt rovarellenálló gyapot, mely az évi permetezések számát kétfelére csökkentve 280 dolláros hektáronkénti költségcsökkentést tett lehetővé, mindamellett, hogy a rovarellenálló gyapot mintegy 20%-os többletermést is adott. Az európai országokban is kerültek kibocsátásra különböző szabadföldi növények, mint a vírusellenálló sárgadinnye és paradicsom, vagy a gyomirtó-ellenálló repce és kukorica.

A transzgénikus növények szabadföldi kihelyezésével kapcsolatos, elsősorban a környezetvédők által felvetett aggályok készítették az ezzel foglalkozó kutatókat a kockázati tényezők feltérképezésére és a környezetre esetleg negatív hatással bíró tényezők csökkentésére. Így például, különböző termőterületeken több transzgénikus kultúrnövény kiültetésével vizsgálták az illető gén elsodródását a populációkban. Ha önmegporzó (autogám) vagy kizárólag vegetatív úton szaporodó növényről van szó, ez nem jelent kockázatot, míg idegentermékenyülő (allogám, pánmiktikus) növényeknél, mint amilyen a repce, a transzgénikus kultúrnövényből a pollen segítségével a beépített gén vad rokonfajokba is átkerülhet. Ez viszont a gyomirtó-ellenállóság esetében, az eddigi eredmények alapján, nem jelent szelektív előnyt a természetes ökoszisztémában élő fajok számára (ahol nincs jelen a herbicid), így a gén átkerülése várhatóan semmilyen hatással nem lesz a természetes ökoszisztémák biocönózisaira.

**II.6. A növényi sejt- és szövettenyésztés módszereit alkalmazó biotechnológiai eljárások. *In vitro* klónozás általi mikroszaporítás és kórokozómentesítés. Merisztéma- és hajtástenyészetek. Merisztémák és embriók fagyaszttva tárolása (krioprezervációja), az örökletes változatossági tartalékok megőrzése *in vitro* génbankokban és a genetikai stabilitás biztosítása**

A steril körülmények között végzett vegetatív mikroszaporítás a növényi biotechnológiának az a területe, amelyet jelenleg a legszélesebb körben alkalmaznak a gyakorlatban, illetve az üzemi technológiák részévé vált. A hagyományos *in situ* technikákkal ellentétben az *in vitro* szaporításra felhasznált inokulumok olyan kicsik, hogy csak steril körülmények között tarthatók életben, kívülről pótoltt tápanyagok és fejlődést szabályozó vegyületek segítségével. A vegetatív mikroszaporítás két fő technikáját a merisztématenyészet és a hajtáskultúra jelenti. E módszerekkel korlátlan mennyiségű (pl. milliárdos nagyságrendű) szaporulat érhető el évente, és ennek minősége pontosan ellenőrizhető. Az *in vitro* merisztématenyészetek kiváló feltételeket teremtenek a vírusmentesítés módszereinek felhasználásához, valamint a kórokozómentesített tenyészetek tartós tárolásához génbankokban (46. ábra).



**46. ábra.** Növényi szaporítóanyag mesterséges előállításának fő lépései (eredeti)

## II.5. A növénybiotechnológia gazdasági alkalmazásának lehetőségei

Ma még korai lenne a növénybiotechnológia széles körű üzemi alkalmazásáról beszélni, mert a biotechnológiának is, mint minden szintáttörést jelentő gazdasági lehetőségnek, évekre, sőt egyes esetekben évtizedekre van szüksége ahhoz, hogy általánosan elterjedt felhasználást nyerjen. Az alábbi felsorolás a növénybiotechnológia alkalmazásának mérföldköveit szemlélteti:

- 1954: Merisztématenyésztéses mikroszaporításra alapozott vírusmentesítési kutatások kezdete (Franciaország)
- 1956: Növényi sejtek általi fermentációs termelési első szabadalom (USA)
- 1966: A vegetatív mikroszaporítást alkalmazó első kereskedelmi laboratóriumok létesítése
- 1975: Haploidia útján előállított első rizsfajta (Kína) és első dohányfajta (Japán) mezőgazdasági minősítése
- 1979: Szabadalom a növényi sejtek immobilizációjára termelési folyamatban (Németország)
- 1982: Szabadalom a szomatikus embriók kapszulázására, vagyis a mesterséges mag előállítására (USA)
- 1983: Az első üzemi sejtfermentációval előállított növényi termék (a sikonin) megjelenése a világpiacon (Japán)
- 1984: Az első növényi gén szabadalmaztatása (USA)
- 1986: Az első búzafajta minősítése, amelynek előállítása során az androgenézis módszerét alkalmazták (Franciaország)
- 1986: Az első minősített növényfajta (egy káposztafajta), amelynek előállítása során a protoplasztfúzió módszerét alkalmazták (Japán)
- 1988: Transzgénikus növények először szántóföldi kipróbálása (USA)

Jelenleg a növénybiotechnológia fő alkalmazási lehetőségei a növénynemesítésben, a biológiai növényvédelemben, a vegetatív szaporítóanyag előállításában és a növényi produkció feljavításában lelhetők fel.

### II.5.1. Alkalmazási lehetőségek a növénynemesítésben

A növénybiotechnológia alkalmazásának leglátványosabb és legnagyobb gazdasági hasznot hozó területe a növénynemesítés, annak ellenére, hogy a mezőgazdaságban csak olyan új fajtákat lehet termeszteni, amelyek az állami fajtaminősítés 3-5 éves kísérleteiben megfelelő teljesítményt nyújtottak és felülmúlják a köztermesztésben levő fajtákat.

A biotechnológiának a növénynevelésben alkalmazott legfontosabb módszereit és célkitűzéseit az alábbi felsorolás foglalja össze:

a.) Merisztématenyésztés:

- vegetatív szervek élettani manipulációja mesterséges körülmények között
- kórokozómentesítés (vírus, baktérium, gombafertőzés teljes hiánya)
- üzemi méretű vegetatív mikroszaporítás
- génbank létrehozása korlátlan időre való megőrzésre
- értékes fajtajelöltek gyors felszaporítása

b.) Embriótenyésztés, magkezdeménykultúra, *in vitro* megtermékenyítés:

- csírányugalom mesterséges megszüntetése
- nemzedékváltás gyorsítása
- öninkompatibilitás kiküszöbölése beltenyésztéskor
- nemzetség- és fajhibridek előállítása a keresztezési inkompatibilitás kiküszöbölésével
- haploidok előállítása

c.) Androgenézis és ginogenézis:

- teljes homozigóták (izogén vonalak) előállítása
- gametoklonális variabilitás előidézése
- mutánsok szelekciója
- heterózisnevelés idejének csökkentése
- recesszív tulajdonságok vizsgálata, kiválogatása és felhasználása a nevelésben

d.) Kalluszkultúra és sejtenyésztés:

- másodlagos anyagcseretermékek bioszintézise
- üzemi sejtfertőzés
- sejt szintű mutánsizolálás (szárazság-, hideg-, vegyszer-, kártevő-, kórokozó- és egyéb stressz-rezisztencia kialakítására)
- alapanyag létrehozása protoplasztizációhoz
- génbank mélyfagyasztott sejtek gyűjteménye által
- szomatoklonális variabilitás kiváltása
- mesterséges mag előállítása

e.) Protoplasztok izolációja és szomatikus sejthibridizációs fúziója:

- paraszexuális faj- és nemzetséghibridek előállítása által távoli rokon növények hasznos tulajdonságainak egyesítése
- gének, kromoszómák átvitele fajok és fajták között aszimmetrikus hibridizációval
- poliploidok gyors és irányított előállítása

f.) Cibridizáció:

- új sejtmag-mitokondrium-kloroplasztisz kombinációjú sejtek létrehozása
- hímsterilitás átvitele különböző fajokba
- herbicidrezisztencia átvitele szentitív fajokba



- a fotoszintézis és a légzés hatékonyságának javítása

g.) Növényi génekből:

- vírus-, baktérium-, gomba-, rovar-, állat-, és emberi gének bevitelével növényekbe (horizontális rekombinációval)
- stresszrezisztencia átjuttatása szenzitív fajtákba
- speciális termékek (főleg számunkra hasznos fehérjék) termeltetése szántóföldön, új céllal termesztett növényfajok megjelenése.

A növénybiotechnológia az élővilágban egyedülálló lehetőséget nyújt azért, hogy a meiotikus rekombináció következményeként kialakuló gamétavariabilitás tisztán, a másik szülői gaméta hatása nélkül, az *in vitro* androgenézissel, illetve ginogenézissel a kifejlett növényegyed szintjére hozható (amikor az utód egyetlen, megtermékenyítésben részt nem vevő szaporítósejtéből fejlődik ki). Ez a **gametoklonális variabilitás**, amely a változatosság egy teljesen új forrását jelenti a nemesítés számára. Ugyanilyen jelentőségű lehet a **szomaklón vonalak** előállítása, vagyis a tenyésztett szomatikus sejtek variabilitásának növény szintű megnyilvánulása. E lehetőség az élővilágban jelenleg egyedül a növények esetében alkalmazható a gyakorlatban.

A növényvilág örökletes változatosságának a megőrzése és a génerózió megelőzése céljából a természetes növényzet és a kultúrflóra különböző fajainak a fellelhető populációiból az egész világon mintákat vesznek, melyek *in vitro* **génbankok**ban vagy csíraplazmabankokban őrizhetők meg az utókor számára. A megőrzés a minták fenntartását, illetve tartós tárolását jelenti. Ennek leggyakoribb formája a generatív úton szaporított növényeknél a magként való tárolás 6-10%-os légköri nedvességtartalom és 5-20°C-os hőmérséklet körülményei között. A vegetatív úton szaporított növényfajok esetében erre nincs lehetőség, ezért ezek számára a növénybiotechnológia két megoldási lehetőséget kínál: a genetikai tartalékok *in vitro* tenyésztésben való megőrzését (aktív gyűjtemény friss táptalajra való rendszeres steril átoltással), vagy a növényi sejtek, szövetek (főleg merisztémák) és szervek speciális körülmények közti fagyasztását és mélyhűtött tárolását (bázisgyűjtemény krioprezerváció útján).

A növény nemesítés területén a biotechnológia napjainkban megfigyelhető előtörésének az alapját azok a módszerek teremtették meg, amelyek a növények tulajdonságainak célirányos megváltoztatását teszik lehetővé az örökítő anyagban végzett módosításokon keresztül. Ennek egyik útja a **szomatikus hibridek** előállítása, vagyis különböző növények teljes vagy részleges genetikai állományának kombinálása a protoplasztok mesterséges fúziója által. A protoplasztfúzió és az ezt követő növényregeneráció az ivaros keresztezés analógjaként fogható fel, hiszen eredményeként mindkét szülőfaj genetikai állományát hordozó hibridek jönnek létre. A szomatikus hibridizáció két lényeges vonatkozásban szolgálhat az ivaros keresztezés alternatívájaként: egyrészt lehetővé teszi a fajhatárokon keresztüli génátvitelt, másrészt biztosítja a **sejtorganelumokban** (kloroplasztisban, mitokondriumban)

**kódolt tulajdonságok rekombinálódásának** a lehetőségét, tekintve, hogy nemcsak a sejtmagok, hanem a szülői citoplazmák keveredését is eredményezi, szemben az ivaros keresztezéssel, mely az extranukleáris tulajdonságok kizárólagosan anyai öröklődésével jár együtt.

Egyes speciális nemesítési problémák megoldásában a szomatikus hibridizáció módszere a leghatékonyabb eljárás lehet. Ezek közé tartoznak: 1) a természetett növényfajokkal közeli rokon, de ezekkel nem kereszteződő vad fajok értékes rezisztencia-tulajdonságainak elérhetővé tétele a nemesítés számára; 2) a kromoszómaszám helyreállítása a dihaploid nemesítés során; 3) az extranukleárisan öröklődő hímsterilitás gyors és hatékony átvitele új genotípusokba. Ez utóbbi a hibrid vetőmag előállítására szempontjából rendkívül jelentős lehetőség, melyet számos növényfajnál alkalmaztak már sikeresen. A további technológiai fejlesztések középpontjában azok a lehetőségek állnak, amelyek ellenőrizhetővé próbálják tenni a fajok közötti korlátozott genomátvitelt (aszimmetrikus szomatikus hibridizáció). Ez a módszer egy vagy néhány kromoszóma, illetve kromoszómadarab átjuttatását, és így a több gén által közösen meghatározott (poligéniás) tulajdonságok átvitelét teheti lehetővé.

A növénynemesítési biotechnológiák keretében a legfontosabb előrelépést a **molekuláris módszerek** bevezetése hozta, ami által a gének szintjén történő szelektálás valósulhat meg. Az utóbbi években a molekuláris biológiai módszerek fejlődésének köszönhetően a restriktív enzimekre és az izolált ("klónozott") DNS-szakaszokra, valamint a polimeráz láncreakció (PCR) módszerére alapozva a genetikai polimorfizmus új formái váltak elérhetővé a nemesítők számára: a DNS restriktív-fragmentum hossz-polimorfizmusa (RFLP), a random amplifikált polimorf DNS-szekvenciák (RAPD), a miniszatellit szekvenciák és az amplifikált fragmentumhossz polimorfizmus (AFLP). Ezek a DNS szintű markerek ideálisak jól használható genetikai térképek elkészítésére, melyek segítségével a nemesítési szempontból értékes génnel szorosan kapcsolatos molekuláris jelzők viszonylag egyszerűen azonosíthatók. A **molekuláris markerek** nagy előnye, hogy segítségével nemcsak egyedi gének által kódolt jelleget, hanem kvantitatív, poligénes tulajdonságokat is (pl. terméshozamot, környezeti stressz-adaptációs képességet, növekedési sebességet stb.) kezelhetünk, ugyanis ezek felbonthatók a markerek segítségével mendeli módon öröklődő egyedi genetikai komponenseikre, amelyek száma és az adott tulajdonsághoz való hozzájárulási mértéke meghatározható.

További nagy előnye a molekuláris markerek nemesítési felhasználásának a **viisszakeresztezéses nemesítés** felgyorsítása. Nagy sűrűségű molekuláris térképek segítségével mindössze két nemzedék során közvetlenül szelektálhatók azok az egyedek, melyekben a fontos génlókuszt közelében mindkét oldalon rekombináció következett be, és a kívánt génhez kapcsolatosan csupán kis donor kromoszómarégiót hordoznak. Erre hagyományos szelektív módszerekkel több, mint száz generációra lenne szükség. A molekuláris markerek ezen kívül kiválóan

alkalmasak **fajtaazonosításra**, illetve fajták, változatok, vonalak közötti rokonsági fok megállapítására, hiszen környezeti hatásoktól és élettani változásoktól független, nagyfokú polimorfizmust detektálnak. A fentiek alapján nem meglepő, hogy a legjelentősebb termesztett növényfajok (pl. kukorica, búza, rizs, szója, paradicsom, burgonya) molekuláris genetikai térképei napról napra újabb markerek tucatjaival gazdagodnak, ugyanakkor egyre fejlettebb számítógépprogramok segítik a markerek, illetve a követni kívánt fenotipikus jelleg és a markerek kapcsoltságának megállapítását. Mindez a nemesítési folyamatok jelentős felgyorsulását eredményezheti, különösen akkor, ha a közeljövőben a teljes folyamatot, a DNS-mintavételtől a kiértékelésig, sikerül automatizálni. A módszer hátránya ugyanis az egyelőre elég magas költség- és munkaerőigény.

A molekuláris növénybiotechnológiai módszerek keretében jelenleg a gének azonosítása és a DNS-szekvenciájuk meghatározása mellett nagy erőfeszítések történnek a gének funkciójának megállapítására. Konkrét választ a gének a növényben betöltött szerepére csak a gén mutációs megváltozása adhat, és ennek érdekében a legcélravezetőbb megközelítésnek tűnik a növényi gének módosítása genetikai transzformáció segítségével. A fentiekkel kapcsolatosan megemlíthetjük, hogy egyes vélemények szerint a **növényi genomprogramok** sikerének az elkövetkező száz évben nagyobb jelentősége lesz az emberiség jövőjének tekintetében, mint az emberi genom teljes megszekvenálásának, figyelembe véve a növekvő élelmezési és környezeti, valamint a megújuló természeti erőforrásokkal kapcsolatos problémákat.

## II.5.2. Biotechnológiai stratégiák a növényvédelemben

A növénynemesítés mellett a növényvédelem az a terület, amelyben a biotechnológia nagy gazdasági jelentőségre tehet szert. Ennek lényege a fajtaspecifikus peszticidek előállítás, ami egyben a peszticid és a vetőmag kapcsolt kereskedelmét is feltételezi.

A növényvédelem területén a biotechnológiai fejlesztés két fő csoportra osztható:

- 1) a gazdanövény és a parazita közti kapcsolat biotechnológiája: különböző rezisztenciagének keresése az élővilágban és e gének átvitele termesztett növényekbe;
- 2) a növény és a növényvédő szer közti kapcsolat biotechnológiája: peszticid-rezisztens növényi sejtek szelekciója és a tűrőképesség átvitele más hasznos sejtvonalakba cibridizációval vagy génszétválasztási úton.

A cél:

- vírusrezisztens
- rovarrezisztens
- fitopatogén baktériummal szemben ellenálló
- gombás fertőzésnek ellenálló vagy
- gyomirtó szerekkel szemben rezisztens transzgenikus növények létrehozása.

Az első gazdaságilag fontos biotechnológiai eredmények a termesztett növények védelmének területén születtek meg, és számos esetben ezek az ellenálló növényfajták már több ezer hektáron természetve bizonyítják hasznosságukat.

**Vírusrezisztens növények** létrehozásakor tudni kell, hogy a keresztvédettség eredményeként az első vírusfertőzést követően a második, felülfertőző vírus tünetei nem vagy csak jelentős késéssel jelennek meg, az így kialakuló rezisztencia pedig általában ideiglenes. A transzformációval történő rezisztencia kialakítása során vírusgén-szekvenciák kifejeztetése vezet a növények vírusfertőzéssel szembeni ellenállóságához. Az egyik ilyen lehetséges megközelítés a **vírusburok-fehérjék termeltetése** expressziós vektorok segítségével a transzformáns növényekben. A vírusrezisztencia kialakításának másik lehetősége a kisméretű ún. **szatellit RNS** molekulák termeltetése a növényekben, jelenleg azonban még nem ismert, hogy miként vezet a szatellit RNS-ek jelenléte a tünetek mérsékléséhez.

A biotechnológiai módszerek alkalmazása előtt a növényi vírusok elleni védekezés csak a megelőzésre és az időigényes rezisztencianemesítésre szorítkozott. Az újabb eljárások azonban lehetővé tették, hogy víruseredetű kapszidgén szekvenciákkal védettség alakuljon ki az adott vírusra és a rokon törzseire. Az eddigi konkrét eredmények közül kiemelendő az Y-vírusnak és a levélsodródás vírusának ellenálló burgonya, valamint a dohánymozaik vírusnak ellenálló paradicsom.

Említést érdemel a víruseredetű replikáz génjének beépítésével kapott rezisztencia is, amely azonban erősen szekvenciaspecifikus és szűkebb körű ellenállóképességet alakít ki. Továbbá, a vírusok elleni védekezésben ismert az ún. **antiszensz stratégia** is, mely által a vírusgén-szekvenciával ellentétes irányú nukleinsavszakasz alakítja ki a védettséget. Bizonyos víruscsaládok esetében a szatellit RNS-ek mellett a defektív interferáló RNS-ek is gátolják a szülővírus replikációját. Ugyanakkor a ribozim struktúrák specifikus vírusgénszekvenciához kötésével növényi vírusok és elsősorban viroidok elleni védekezés kialakítása körvonalazódott. Legújabbán élesztőből származó, kettős szálú vírus-RNSeket speciálisan bontó ribonukleáz kódoló gén beépítésével széleskörű vírusellenállóságot értek el termesztett növényekben.

A fertőző **baktériumokkal szembeni ellenállóság** kialakítása elsősorban a kórokozó baktérium toxinját lebontó enzimeket kódoló gének azonosításával és izolálásával, majd hajtasos növények sejtjeibe való beépítésével történik.

A **gombás fertőzésnek ellenálló növények** létrehozása terén a gombaölő szerek felhasználásának csökkentése érdekében olyan alternatív eljárásokra került sor, melyek során a kultúrnövény önmagában képes a kórokozónak ellenállni. Ennek egyik példája a veteménybabból származó, etilénnel indukálható, kitináz enzimet kódoló gén izolálása és dohányba, illetve repcébe való beépítése, miáltal a kitinalapú sejtfallal rendelkező *Rhizoctonia solani*-val szemben alakult ki rezisztencia. Hasonlóan sikeres ellenállóságot értek el a földimogyoróból és szőlőből izolált, sztilbén-szintáz génnel, mely a resveratrol nevű fitoalexin szintéziséhez szükséges enzimet kódolja.

Ez a gén dohánynövénybe építve képes volt a kívánt fitoalexint felszaporítani és a növényt ellenállóvá tenni. Ily módon állítottak elő *Botrytis*-ellenálló szamócat, mely szabadföldi kísérletekben is bizonyította a sztilbén-szintáz génjének jelentőségét az ellenállóképesség kialakításában.

A **rovarrezisztens növények** biotechnológiai előállítására a biológiai növényvédelem azon tényéből indul ki, hogy a *Bacillus thuringiensis* nevű baktérium különböző törzsei a sporuláció során rovarölő hatású fehérjekristályokat képeznek endotoxinként, melyek faj-, illetve családspecifikusan képesek a *Lepidoptera* és *Diptera* rovarokat (hernyókat, legyeket, szúnyogokat) elpusztítani. A rovarlárvák emésztőképzőanyagában e kristályok feloldódásával 130-160 kDa-os molekulatömegű fehérje szabadul fel, amelyből proteázok hatására egy kismolekulájú toxikus fragmentum keletkezik.

A **baktériumtoxin** génjének izolálásával és hajtásos növényekben való expresszáltatásával lehetővé vált, hogy a rovarirtó szerekekkel való, környezetszennyező hatású permetezés ezáltal kiküszöbölhető, annál is inkább, hogy a termesztett növényeket károsító rovarok az intenzív és egyoldalú rovarirtóhasználat miatt gyorsan ellenállóvá válnak, és az új rezisztens rovarpopuláció elleni védekezés egyes esetekben szinte megoldhatatlan.

A bakteriotoxin termelésének képessége által rovarellenálló kukoricát és gyapotot ma már millió hektár nagyságú területeken termesztik, elkerülve a költséges és környezetet szennyező permetezést.

A kártevő rovarok elleni védekezésnek alternatív útja a nagyfokú fajspecifikussággal rendelkező **bakulovírusok rekombinánsainak felhasználása** a növényvédelemben. Ezek a rekombináns bakulovírusok csak egy rovarfaj egyedeit támadják meg, így felhasználásuk más rovarfajokra teljes mértékben veszélytelen.

Sikeres stratégiáknak látszanak továbbá azok is, amelyek az egyes rovarok táplálkozási szokásaira alapozva olyan anyagok szintézisét idézik elő egy adott növényben, amelyek ezt kellemetlenné, íztelessé vagy mérgezővé teszik a rovar számára. Például a *Solanum chacoense* növényfaj olyan lektint termel, amely a kolorádóbogárra repellensként hat, és amennyiben az állat többet fogyaszt belőle, pusztulását okozza. Így a toxikus vegyületet kódoló génnek termesztett növényekbe való beépítésével lehetővé válik a növények rovarellenállóságának kialakítása, ami feleslegessé teszi a szintetikus rovarirtó szerek használatát.

A **gyomirtó szerekekkel szemben ellenálló termesztett növények** létrehozása a növénybiotechnológia egyik legfontosabb gyakorlati eredménye. A modern termelési technológiák és a környezetvédelmi szempontok mind szigorúbb követelményeket támasztanak az új herbicidekkel szemben. Lényeges, hogy igen kis dózisban már hatásosak legyenek, és környezetkímélőeknek kell lenniük, ami elsősorban a gyors lebontást és veszélytelen termékek képződését jelenti. A napjainkban használatos növényvédő szerek mintegy 60%-a gyomirtó (herbicid), amelyek használatától a

mezőgazdaság nem tekinthet el, a talaj további terhelése pedig komoly veszélyt jelent.

Ha sikerül a rezisztenciát kialakítani a termesztett növényekben, akkor az eredetileg totális herbicidek szelektívvé válnak az adott növény tekintetében. Az önmagukban szelektív herbicidekkel szemben a monokultúrás gazdálkodás következtében ellenálló gyomnövény változatok alakultak ki. Ennek jól ismert példája a triazin-rezisztencia. Biotechnológiai úton a herbicidrezisztenciáért felelős géneket beépíthetjük a kívánt termesztett növénybe, így ez ellenállóvá válik és lehetőséget ad az illető gyomirtó szer használatára. E téren közismert a Calgene nevű amerikai vállalat eredménye, amikor *Salmonella typhimurium*-ból izolált *aroA* gént ültettek be paradicsomnövénybe, melyet ezáltal glifozát-ellenállóvá tettek, ugyanis a paradicsomban megnyilvánuló bakteriális gén terméke lebontotta a gyomirtót. (A glifozát nem szelektív herbicid, s ez a tény gátolja alkalmazhatóságának körét.) A Monsanto cég kutatócsoportja az említett *aroA* gént több másolatban építette be a petúniába és számos haszonnövénybe, elérve azt, hogy a herbicidet lebontó gén mennyisége megtöbszöröződött, s így a növények teljesen herbicidellenállóvá váltak. Ezek az új mikro-herbicidek specifikusságuknál fogva jelentős mértékben csökkentik a felhasznált gyomirtó mennyiségét, és ezzel **mérsékelik a talajok vegyszerterhelését** is.

A biotechnológiai úton előállított rezisztens kultúrnövények termesztése az integrált növényvédelem egyik új lehetősége. Ma már jól ismert, például, a Monsanto cég Round-up nevű ellenálló szójája, valamint számos herbicidrezisztens kukoricafajta, amelyeket több százezer hektáron termesztenek. Az ellenállóképesség indukálása előtt azonban szükséges a különböző herbicid típusok hatásának pontos ismerete. Például a glifozát (N-foszfometil-glicin, Roundup) létfontosságú aromás aminosavak bioszintézisét akadályozza meg. Tekintettel arra, hogy a természetes szubsztrátum és a glifozát egyaránt egy adott enzim (az enolpiruvil-sikimin-3-foszfát szintetáz) aktív centrumához kötődve gátol, várható, hogy az aktív centrum módosításán alapuló rezisztencia kedvezőtlen hatású lesz a növények produktivitására. Ez előtérbe helyezi a lebontáson, illetve az inaktiváción alapuló megközelítések jelentőségét.

Egy másik gyakran használt herbicid a foszfinotricin (Basta), mely a glutaminszintetáz (GS) enzimet gátló, aminosavanalóg típusú gyomirtóként az ammónia felhalmozódása által vezet a kezelt növények elpusztulásához. Ennek ismeretében előrelátható, hogy a foszfinotricinnel szembeni rezisztencia kialakításának legvalószínűbb útja az ammóniát detoxifikáló enzimek szintézisének indukálása és működésük fokozása.

A gabonafélék szelektív herbicidjei a szulfonil-urea típusú vegyületek, mint például a klórszulfuron (Glean). E gyomirtó szerek támadási pontja az acetolaktát-szintetáz (ALS), amely a valin és az izoleucin bioszintézisének kulcsenzime. Ismertek olyan mutánsok, amelyekben az enzim génjében egyetlen bázispár kicserélődése felelős a rezisztenciáért. A mutáns és a vad típusú polipeptid aminosavsorrendjét összehasonlítva megállapították, hogy a pontmutáció eredményeként egy prolin



szerinre cserélődött ki, ez pedig elég volt ahhoz, hogy az enzim érzéketlenné váljon a herbicidre. Miután az *Arabidopsis thaliana*-ból (lúdfűből, a modern növénygenetika kedvenc alanyából) a rezisztenciát biztosító gént transzformációval beépítették dohánynövényekbe, ezek képesek voltak 100  $\mu\text{M}$  klórszulfuron jelenlétében is nőni, míg a kontroll növényekre 10  $\mu\text{M}$  már letális. A rezisztencia az utódokra is átöröklődött. Ez a kísérlet példát szolgáltat arra, hogy az ellenállóképességet biztosító növényi gének átvitelével kialakítható a herbicidekkel szembeni szelektivitás.

Az előzőekben ismertetett eredmények alátámasztják azt az elképzelést, hogy a transzformáns növények révén **szélesíthető a szelektív herbicidek köre**. Az ilyen fejlesztésekben elsősorban a totális herbicideket gyártó cégek érdekeltek. Környezetvédelmi szempontból ezek a kutatások csak akkor jelentenek előrelépést, ha ezzel a valóban környezetkímélő szerek használata bővül és helyettesítődnek a kedvezőtlen mellékhatású készítmények. Megjegyzendő ugyanakkor, hogy a tesztnövényekkel kapott alapkutatói eredmények birtokában még éveket igénybe vevő nemesítési munkára van szükség, ami magába foglalja a bevitt idegen gén hatásának sokoldalú értékelést.

### II.5.3. A biotechnológia alkalmazása a növényi szaporítóanyag előállításában

Az a tény, hogy mesterséges táptalajon, steril tenyészetekben a növények merisztematikus szövetéből nagyszámú új növényt lehet előállítani, a mikroszaporítási technológiák széleskörű kifejlesztését tette lehetővé. Ennek az eljárásnak külön jelentőséget ad, hogy a **merisztémacsúcsból** felnevelt növények egyúttal **vírusfertőzés-mentesek** is, így a szaporítóanyag értéke is nagyobb. A vegetatív mikroszaporítási biotechnológiák alkalmazásának mértékét példázza, hogy 1995-ban Kína 25 tartományában 675000 hektáron termesztettek vírusmentes burgonyát, és a termelésnövekedést 3750 kg/ha-ra becsülik. Ez a technológia hasonló jelentőségű a banánnál is, mely magról szintén nem szaporítható.

A mikroszaporítási eljárások speciális változata az, amikor a testi sejtekből embrió fejlődését indukálják a tenyészetekben. Ezek a **szomatikus embriók** kiszáritás után vagy hordozóanyagokba csomagoltan **mesterséges mag** formájában értékesíthetők. Piaci felhasználásuk nagy értékű kertészeti növények (paradicsom, mag nélküli dinnye stb.) és hibridek esetében jöhet szóba, ugyanakkor különösen nagy kapacitással folynak a kutatások a skandináv országokban a fafajok ilyen úton történő szaporítása érdekében.

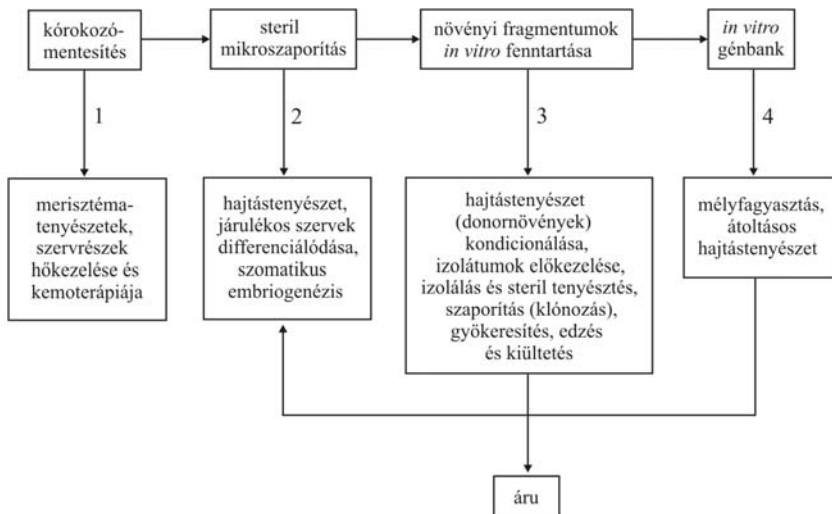
A **haploid növények** igen előnyös genetikai konstrukciót jelentenek számos növénynemesítési cél érdekében. Segítségükkel hatékonyabbá válhat a vírus- és nematodarezisztens szaporítóanyagok létrehozása, amint ezt a burgonya, az árpa és a rizs nemesítési eredményei mutatják. A mikrspóra (pollen) eredetű szövetekből vagy embriókból ma már nagy hatékonysággal lehet felnevelni haploid növényeket

a gazdaságilag fontos fajok legtöbbszörénél. A portok- és pollentenyészetek használata szervesen beépült a növénynevelési programokba, és ezzel gyakorlati hatásában az egyik legeredményesebb növényi biotechnológiai módszernek tekinthető.

Azok a kutatások, amelyek során izolált petesejtek (ooszférák) mesterséges megtermékenyítését követően nevelnek fel teljes értékű növényeket, jelenleg még kezdeti stádiumban vannak. Ilyen irányú sikeres kísérletek jelenleg főleg a kukoricával és a búzával folynak. A megtermékenyítés nélküli embriókialakulás (az apomixis) indukálása mesterséges körülmények között szintén új lehetőségeket nyújt például a hibridhatás stabilizálására.

Az *in vitro* szövettenyésztéssel megvalósított növényfelnevelés, akár sejtekből, akár szövetrészekből, kikerülhetetlen lépés a növények transzformálását célzó módszerek alkalmazása során is. A növényi szövettenyésztési kutatás egy fontos pillérét teremtette meg a genetikai transzformációnak és ezzel integráns elemévé vált a biotechnológiai fejlesztéseknek.

Amióta Morel felfedezte a járulékos merisztémasejt-csoportokból (protokormokból) való vegetatív szaporítás módszerét az orchideáknál, a világon évente több, mint 300 millió palántát állítanak elő **steril klónozással** (és ezek csaknem egy tizede még mindig orchidea). A vegetatív mikroszaporításra specializálódott üzemi biotechnológiai laboratóriumok száma gyorsan növekszik. Az európai országok közül Anglia, Franciaország, Belgium és Olaszország rendelkezik a legnagyobb kapacitású cégekkel. A steril vegetatív mikroszaporítás vagy gyors klónozás ma már olyan területe a növénybiotechnológiának, amelyet üzemi mértékben alkalmaznak (főleg a dísznövények előállításában), a többmillió nagyságrendű termelés pedig már nemzetközi piacutatást és az előállítási folyamat automatizálását igényli (45. ábra).



45. ábra. A kórokozómentes növényi szaporítóanyag előállításának fontosabb technológiai egységei és alkalmazott módszerei (Smith 2000 után módosítva)

A növényi mikroszaporítási technológia nagy előnye, hogy uniformizálható, programozható és **automatizálható**. Egész kereskedelmi laboratóriumok, teljes felszereléssel és technológiával vásárolhatók és telepíthetők az egész világon. A technológia bevezethetősége nem az elhelyezéstől, az ország fekvésétől vagy a termesztett növényfajoktól függ, hanem a szükséges infrastruktúra meglététől. Az *in vitro* mikroszaporítási biotechnológia fő lépései, mint a táptalajadagolás, a növényi anyag izolálása, a tenyésztés és steril átoltás jól meghatározható műveletek, amelyek szabályos időközönként ismétlődnek.

#### II.5.4. A növények termelékenységét befolyásoló biotechnológiák

A növények anyagcserejének és táplálkozási igényeinek, valamint az egyedfejlődést befolyásoló külső tényezők hatásainak ismeretében lehetővé vált a növényi szervesanyagtermelés irányított átprogramozása gyakorlati céljainak megfelelően.

A növények produktivitását meghatározó táplálkozási tényezők közül kiemelt jelentősége van a nitrogénellátásnak. A citoplazmatikus **glutamin-szintetáz** génjének túltermeltetése növénytömeg és a **fehérjetartalom növekedését** eredményezi, és ugyanilyen hozamfokozó hatást lehet elérni az aszparagin-szintetáz génjének fokozott kifejeztetésével. Mindez hozzájárulhat a környezet műtrágyaterhelésének mérsékléséhez. Intenzív kutatások folynak a szacharóz-szintetáz és a keményítő-szintetáz működésének módosítására, különös tekintettel az anyagcseretermékek arányának és lokalizációjának befolyásolására. Így például, a 6-foszfofruktóz-2-kináz aktivitásának növelése a növényekben a **keményítő felhalmozásának** irányába tolja el az anyagcsere folyamatokat. Hasonló kísérletek folynak a ligninbioszintézis szabályozása terén is.

A biotechnológia lehetővé teszi a termesztett növényekben olyan anyagok nagy mennyiségeinek a termeltetését is, amelyek egyébként csak egzotikus növényfajokban vagy más élőlényekben fordulnak elő, vagy olyanokét, amelyek csak szintetikusan állíthatók elő vagy pedig normális körülmények között a növényben csak nagyon kis mennyiségben képződnek. Ilyen tekintetben a szántóföldi növények biomasszaprodukciója versenyképes bármely más előállítási technológiával: a terméképződési folyamat olcsó és nem igényel speciális feltételeket, ugyanakkor az előállítható mennyiség nagyon nagy, hiszen millió tonnákban mérhető a növényekből napjainkban előállított cukrok, fehérjék, lipidek mennyisége is. A **biofermentorok** szerepét betöltő növények a mikrobiális rendszerekkel szemben rendelkeznek egy nagy előnnyel: míg az eukarióták fehérjei a bakteriális rendszerekben gyakran oldhatatlan, szerkezetileg és funkcionálisan hibás formában képződnek, addig növényekben az eukarióta eredetű fehérjék szerkezetének kialakulása pontosan megy végbe és funkcionális terméket eredményez. Ezek alapján a növények számos, elsősorban gyógyszer- és élelmiszeripari felhasználásra kerülő alapanyag ésszerű, alacsony költségigényű és megújítható forrásaiként szolgálhatnak a közeljövőben.

Az ember számára hasznos növényi anyagcseretermékek széles skáláját érzékelteti, hogy például a jelenleg használt gyógyszer-alapanyagok egy negyede az amazonászi esőerdő növényeiből származik, annak ellenére, hogy az itt élő növényfajoknak alig 2%-át tanulmányozták ezidáig közelebbről.

Növényekben újfajta molekulák állíthatók elő az **anyagcsereutak módosítása** által. Konkrét példaként említhetjük a keményítősintézis módosítását transzgénikus burgonyában, ami által amilózmentes keményítő, számos ciklodextrin, fruktán és trehalóz állítható elő. Hasonló próbálkozások érvényesülnek a növényi zsírsavanyagcsere mind étkezési, mind ipari célú módosítása kapcsán. Például jelenleg szabadföldi kísérletek folynak olyan **módosított zsírsav-összetételű transzgénikus repcenövény**nel, ami a teljes zsírsavtartalmából 40% sztearinsavat tartalmaz (a margarinok és a kakaóvaj gyártásához), vagy olyannal, amely 60% laurilsavat termel (detergensok előállításához), illetve amely 90% erucilsavat (22:1) bioszintetizál (kozmetikumok, gyógyszerek, polimerek, kenőanyagok számára). 1997 óta olyan transzgénikus repce is létezik, mely jelentős mennyiségben állít elő polihidroxivajsavat, ami **biodegradálódó műanyagok** gyártásában jut felhasználásra. Új enzimatis lépéseket iktatva be a növényi olajok szintéziséért felelős anyagcsereutakba, új, a felhasználási célnak jobban megfelelő olajok állíthatók elő a növényekben.

A jövőben a **kőolaj helyettesítése** is lehetővé válhat bizonyos ipari alkalmazásokban a homogén, szennyezőanyagoktól mentes növényi olajokkal, amelyek ráadásul nem igényelnek további finomítást. A nem megújítható fosszilis szénhidrogénkészletek fokozatos kimerülését figyelembe véve pedig a távolabbi jövőben a biotechnológiai úton előállított növényi olajok jelenthetik az egyetlen nagyvolumenű ipari szénhidrogénforrást.

A cukrokon és lipideken kívül a növényekben bármilyen gyógyászati vagy ipari célra alkalmas heterológ polipeptid is megtermeltethető, de a gyakorlati alkalmazásokat hátráltatja az idegen fehérje bioszintézisének viszonylag alacsony hatékonysága (az eddigi legmagasabb érték 15% idegen fehérje egy dohánynövény teljes fehérjetartalmából). Ennek ellenére a transzgénikus növények a humán gyógyászatban használatos számos peptidnek szolgálhatnak gazdaságos és megújítható forrásául. Ilyen például az AIDS vírusának (a HIV) replikációját gátló alfa-trihoszantin, az enkefalin, az eritropoetin, a szomatotropin, a szérum-albumin és az interferon. Az idegen fehérje tisztításával kapcsolatos problémák megoldhatóknak látszanak úgy, hogy a **terápiás célra szolgáló fehérjét** emberi vagy állati fogyasztásra alkalmas növényben termeltetjük és közvetlenül, táplálékkiegészítőként használjuk fel.

Az 1990-es években figyelemre méltó eredmények születtek a növényi sejtek osztódását szabályozó mechanizmusok megismerésében is, ami a növényi struktúrák kialakulásának tervezhetőségét vetíti előre. Bizonyítást nyert a ciklinfehérjék és a velük kölcsönható kinázok előfordulása és működése a növényekben, ami lehetőséget nyújt arra, hogy a megfelelő izolált gének birtokában befolyásolhassuk a mitózist, mint

lényeges testépítő sejtfunkciót. Továbbá, tekintve, hogy a hormonális jelátvitelben kiemelt szerepe van a fehérjék foszforiláltságának, kinázok és foszfatázok génjeinek a működését megváltoztatva igen jelentős élettani hatások érhetők el biotechnológiai jelentőségű növényi sejtenyészetekben vagy manipulált növényekben.

Azok a merész törekvések, amelyek vegetatív vagy generatív szervek szerkezetének, méretének vagy helyzetének a megváltoztatásával kívánják a termést befolyásolni, nem tekinthetnek el attól a ténytől, hogy a növényekben is működnek homeotikus gének, amelyek termékei transzkripciós faktorokként egyéb gének kifejeződésének szabályozása által a szervkialakulás meghatározói. Kiemelt figyelmet érdemelnek az **egyedfejlődési program sebességét ellenőrző** gének is, hiszen a virágzás ideje, az érés gyorsasága, az embrió és a mag mérete, a csírázási képesség stb. mind piaci értékmeghatározó. Például Kanadában termesztésben vannak olyan repcefajták, amelyek biotechnológiai beavatkozás folytán kialakított hímsterilitást hordozó szülők származékai, és intenzíven folynak azok a kutatások, amelyek az apomixis felhasználásával próbálják a heterózishatást rögzíteni, új alapokra helyezve ezzel a hibridvetőmag előállításának iparágát.

A növények terméshozamának értékelésekor figyelembe kell venni, hogy nincs olyan termesztési terület a világon, ahol ne kellene tartani a szélsőséges időjárási viszonyok előfordulásától, és ezáltal a növényeket károsító stresszhatások által okozott termés kieséstől. Tekintettel a veszteségek nagyságára, a **stresszrezisztencia javítása** a növénybiotechnológiai programok központi célkitűzése. Emiatt kerültek, például, az érdeklődés középpontjába a **deszaturáz** enzimek, amelyek módosítják a zsírsavak telítettségi állapotát és egyben fluiditását, ezen keresztül pedig a növények alkalmazkodóképességét szélsőséges hőmérsékletekhez. A növényekben a stresszfaktorok az anyagcsere egyensúlyának felbomlását eredményezhetik. Ilyen feltételek között a sejtek károsításában az oxigén szabad gyökeinek döntő szerep jut, hiszen az **oxidatív stressz** okozói (szuperoxid gyök, hidroxil gyök, hidrogénperoxid) a membránok integritásának elvesztését eredményezik. E tekintetben a biotechnológiai beavatkozások célja egyrészt a károsító gyökök képzésének mérséklése, másrészt a **védekezési reakciók hatékonyságának fokozása**. Az ilyen stratégiák használhatóságát támasztja alá, például, hogy a kloroplasztisban levő Cu/Zn-szuperoxid-diszmutáz génjének túltermeltetése fokozza a fotooxidatív stresszel szembeni ellenállóképességet.

Nagyszámú növényi gén izolálása, szabályozásuk megismerése és a növények genetikai transzformációjának módszertani kidolgozása lehetővé tette a növényi tulajdonságok irányított megváltoztatását idegen géneknek a növényi genomba való beépítésével. Az idegen géneket tartalmazó **transzgenikus növények** a jövő mezőgazdaságában és számos iparágban alapvető szerephez juthatnak. Ennek legalább két oka van: a rendelkezésre álló fenotipikus tulajdonságok körét kiterjesztik az ivaros keresztezés határain túl elvileg minden ismert jellegre, másrészt az egyedi

tulajdonságok célzott megváltoztatásával rendkívül felgyorsítják az új fajták előállítását.

A transzgénikus növények technológiai szinten való alkalmazásának három jól körülhatárolható követelménye van:

- 1) az adott tulajdonság megváltoztatásáért felelős gén, az ún. „agronómiai gén” azonosítása és izolálása; ez származhat bármilyen élőlényből, vagy lehet mesterségesen szintetizált DNS-szekvencia;
- 2) az idegen gén kifejeződését megfelelően szabályozó régiók (promoter, terminátor stb.) megléte;
- 3) a létrehozott génkonstrukcióknak az adott növény genetikai állományába való beépítését lehetővé tevő genetikai transzformációs rendszer.

Ma már nincs sem elvi, sem technikai akadálya az idegen gének beépítését szolgáló követelmények együttes teljesülésének a legfontosabb gazdasági növényeink esetében. A génbevitel módszere leggyakrabban génbelövés vagy *Agrobacterium*-os transzformálás, és az így elért eredmény általában vírus-, gyomirtó- és rovarrezisztencia, a beporzódás szabályozása (pl. repcénél) vagy a termésérés késleltetése (pl. paradicsomnál).

A különböző jelátviteli láncolatok azonosítása és ezek tagjainak szabályozott kifejeztetése transzgénikus növényekben az adott szignáltranszdukciós hálózat által ellenőrzött komplex tulajdonságok, mint például az alak, a méret, a növekedési mód, az organogenezis, a sejtosztódás, a stressztűrés, a fotoszintetikus hatékonyság, a fertilitás stb. megváltoztatásához vezethet. Napjainkban a fentiekhez kapcsolódó alap kutatási eredmények közzétételét megelőzi az azonosított **gének szabadalmi védelme**. Az idegen gének kifejeződését szabályozó speciális DNS-régiók, vagyis a promoterek szintén szabadalmazható termékeket jelentenek, annál is inkább, mivel jelenleg a megfelelő szabályozó régiók hiánya jelenti a transzgénikus megközelítés egyik korlátozó tényezőjét.

A kutatások során nyilvánvalóvá vált, hogy nincs, és nem is lehet univerzális **génátviteli módszer**. Minden növényfaj esetében szükség van az alapvető módszerek megfelelő adaptálására. A három leggyakrabban alkalmazott megközelítés:

- 1) az agrobaktériumos transzformációra alapozott génátvitel;
- 2) a közvetlen DNS-bevitel protoplastokba elektroporálás útján (elektromos impulzusok által keltett membránfelnyílásokkal);
- 3) fém (pl. arany) mikrorészecskék felületén adszorbeált DNS-molekulák „belövése” a sejtekbe.

Az agrobaktérium-rendszerek elsősorban a kétszikű növényekre korlátozódnak, a közvetlen génátvitel megköveteli a növény – protoplast – növény *in vitro* tenyésztési rendszer meglétét. A legáltalánosabb alkalmazhatónak a „génbelövés” tekinthető, azonban ez a módszer viszonylag kevésbé hatékony és gyakran vezet kimerék keletkezéséhez (ezek olyan transzgénikus növények, melyeknek nem minden sejtje



hordozza az idegen gént). Gyakran a fiatal virágokba, illetve a szaporítósejtekbe kísérelik meg az új gén bejuttatását, elkerülve így a néha nehézkes növényregenerációs lépést.

A génátviteli rendszerek fontos alapeleme a **szelekciós marker gén**, amely lehetővé teszi a transzformált sejtek gyors és megbízható azonosítását, még a növényregenerációs lépést megelőzően. Ezek a gének általában valamilyen rezisztencia-tulajdonságért felelősek, és ez az általuk biztosított ellenállóképesség szolgál a transzgenikus sejtek kisselektálására a többiek közül, a megfelelő stresszhatást gyakorló szelekciós közegben. A növényi szelekciós markerek nagy része antibiotikummal szembeni rezisztenciagéneken alapul. Ezeknek a jelenléte és kifejeződése a termesztett növényekben azonban nem kívánatos, ezért biztonságosabban alkalmazható rezisztenciagénekkel (pl. a herbicidrezisztencia meghatározóival) történő kiváltásuk a biotechnológiai alkalmazásokban fontos szempont, különös tekintettel arra, hogy ezek a gének és a rájuk alapozott szelekciós rendszerek is szabadalmaztatható, védett biotechnológiai termékeknek tekinthetők.

A növényekbe beépített idegen gének működése, még a legmegbízhatóbb promoter szekvencia alkalmazásakor is, mutathat bizonytalanságot. Az átvitt gén aktivitása nagymértékben függ a genomba való integrálódásának helyétől (ez az ún. pozíció-effektus), a beépült másolatok számától és esetleges rekombinációjától, a potenciális inaktiválási mechanizmusoktól (pl. metiláció), és amennyiben módosított növényi génről van szó, a rokon szekvenciák között fellépő kölcsönhatásoktól („transgene silencing”).

A **génkifejeződés stabilitásának** utódgenerációkon keresztül fenntartása (pl. irányított integrációval aktívan átíródó kromoszómaregiókba) a biotechnológia sikeres gyakorlati alkalmazásának talán jelenleg a legalapvetőbb problematikája. A növények esetében még kidolgozatlan az a módszer, amely lehetővé tenné az idegen gén és a növény azonos funkcióit ellátó saját génjének kicserélését. Ellenben igen ígéretesek azok a próbálkozások, amelyek az idegen géneknek **kloroplasztiszokban való kifejeztetését** helyezik előtérbe. Ez a megközelítés, amennyiben megfelelő szelekciós nyomással biztosítható a transzgenikus kloroplasztiszok kiválogatása és fenntartása a növényi sejt osztódásai során, az egyetlen sejten belüli nagyszámú kloroplasztisz meglétének köszönhetően jelentős génexpressziós szintnövekedést, valamint a pozícióeffektus valószínűségének lényeges csökkentését tenné lehetővé, tekintve, hogy a kloroplasztisznak egyetlen kromoszómatípusa van, ami nem túl sok (száz-kétszáz) gént tartalmaz. Nem utolsósorban pedig minimális lenne az idegen gén pollen általi átterjedése más növényekre, hiszen a pollen nem tartalmaz kloroplasztiszokat.

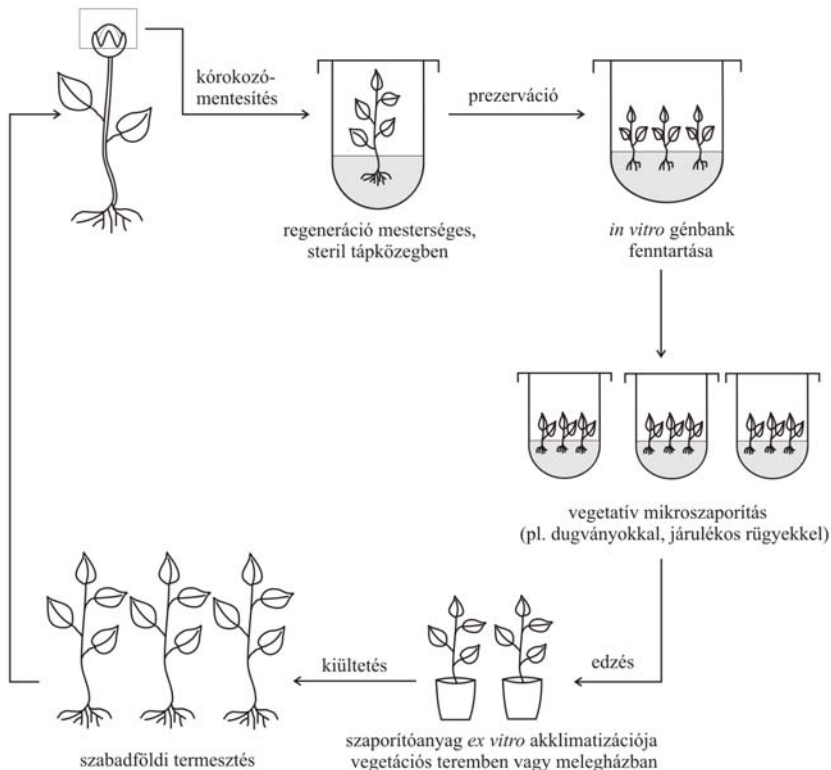
A növények termelékenységét befolyásoló biotechnológiák széleskörű alkalmazásának elengedhetetlen feltétele a transzgenikus növények **szabadföldi kihelyezése**. E tekintetben az Egyesült Államokban a Calgene cég 1994-ben kapott engedélyt biotechnológiai úton módosított élelmiszertermékre, a ma már közismert

lassú érésű paradicsom szabadföldi termesztésére. Ezt követően, transzgénikus növényeket 1996-ban mintegy 2,8 millió hektáron termesztettek kereskedelmi célra az USA-ban, Kanadában, Kínában, Ausztráliában, Argentínában és Mexikóban. Az utóbbi években a transzgénikus növényekkel bevetett területek négyszer nagyobb mértékben növekedtek a fejlett országokban, mint a fejlődőekben. Ez elsősorban arra vezethető vissza, hogy az Egyesült Államokban a gyomirtó-ellenálló szója termesztése óriási mértékben megnőtt, és ugyanez a tendencia figyelhető meg a kanadai herbicidrezisztens repce esetében is. Nagy gazdasági hasznot hozott ugyanakkor az USA-ban termesztett Bt rovarellenálló gyapot, mely az évi permetezések számát kétfelére csökkentve 280 dolláros hektáronkénti költségcsökkentést tett lehetővé, mindamellett, hogy a rovarellenálló gyapot mintegy 20%-os többletermést is adott. Az európai országokban is kerültek kibocsátásra különböző szabadföldi növények, mint a vírusellenálló sárgadinnye és paradicsom, vagy a gyomirtó-ellenálló repce és kukorica.

A transzgénikus növények szabadföldi kihelyezésével kapcsolatos, elsősorban a környezetvédők által felvetett aggályok készítették az ezzel foglalkozó kutatókat a kockázati tényezők feltérképezésére és a környezetre esetleg negatív hatással bíró tényezők csökkentésére. Így például, különböző termőterületeken több transzgénikus kultúrnövény kiültetésével vizsgálták az illető gén elsodródását a populációkban. Ha önmegporzó (autogám) vagy kizárólag vegetatív úton szaporodó növényről van szó, ez nem jelent kockázatot, míg idegentermékenyülő (allogám, pánmiktikus) növényeknél, mint amilyen a repce, a transzgénikus kultúrnövényből a pollen segítségével a beépített gén vad rokonfajokba is átkerülhet. Ez viszont a gyomirtó-ellenállóság esetében, az eddigi eredmények alapján, nem jelent szelektív előnyt a természetes ökoszisztémában élő fajok számára (ahol nincs jelen a herbicid), így a gén átkerülése várhatóan semmilyen hatással nem lesz a természetes ökoszisztémák biocönózisaira.

**II.6. A növényi sejt- és szövettenyésztés módszereit alkalmazó biotechnológiai eljárások. *In vitro* klónozás általi mikroszaporítás és kórokozómentesítés. Merisztéma- és hajtástenyészetek. Merisztémák és embriók fagyasztvá tárolása (krioprezervációja), az örökletes változatossági tartalékok megőrzése *in vitro* génbankokban és a genetikai stabilitás biztosítása**

A steril körülmények között végzett vegetatív mikroszaporítás a növényi biotechnológiának az a területe, amelyet jelenleg a legszélesebb körben alkalmaznak a gyakorlatban, illetve az üzemi technológiák részévé vált. A hagyományos *in situ* technikákkal ellentétben az *in vitro* szaporításra felhasznált inokulumok olyan kicsik, hogy csak steril körülmények között tarthatók életben, kívülről pótolta tápanyagok és fejlődést szabályozó vegyületek segítségével. A vegetatív mikroszaporítás két fő technikáját a merisztématenyészet és a hajtáskultúra jelenti. E módszerekkel korlátlan mennyiségű (pl. milliárdos nagyságrendű) szaporulat érhető el évente, és ennek minősége pontosan ellenőrizhető. Az *in vitro* merisztématenyészetek kiváló feltételeket teremtenek a vírusmentesítés módszereinek felhasználásához, valamint a kórokozómentesített tenyészetek tartós tárolásához génbankokban (46. ábra).



**46. ábra.** Növényi szaporítóanyag mesterséges előállításának fő lépései (eredeti)

## II.12. Mesterséges ginogenézis és androgenézis általi haploidia indukálása izogén vonalak előállítására

A **ginogenézis** azt a folyamatot jelenti, mely során a magkezdemény termékenyítetlen embriózsákjának valamelyik haploid sejtjéből embrió, illetve növény fejlődik. A növények női gametofitonját potenciális haploidforrásnak tekinthetjük, viszont az apomixisnek ez a formája a természetben nagyon ritka. A fontosabb természetett növények közül napjainkig a rizs, a kukorica, a búza, az árpa, továbbá két dohányfaj, az olaszperje és a csomós ebír magháztenyésztéseiben, valamint a cukorrépa és a napraforgó magkezdeménytenyésztéseiben sikerült a ginogenézist mesterséges körülmények között indukálni és fenntartani. A fajok többségénél ezt a **haploid apomixist** a táptalajhoz adagolt speciális vegyületekkel (pl. auxinhatású „dicamba” nevű anyaggal) váltják ki, bár hatékonyabb módszerek tűnik a pollenstimuluson alapuló technika.

A legjobb eredményt nyújtó jelenlegi haploidelőállítási módszer az 500 Gy gamma-sugár dózissal irradiált pollennel termékenyített növények magházainak *in vitro* tenyésztete. A besugárzott pollen a ginogenézis serkentése mellett részt vehet a megtermékenyítésben (egyik spermasejt által), ami apai eredetű kromoszómaszakaszok megjelenésével járhat a regenerált haploidokban, melyeket az apai génekiegészítés miatt „**haploid-plusz**” növényeknek nevezünk.

Bár kevésbé terjedt el, a ginogenézisnek több előnye is van az androgenézishez viszonyítva: a regenerált haploid növények között jóval kisebb az albinók aránya, az izolált magházak vagy magkezdemények számához viszonyítva a nyert haploidok gyakorisága 10-20%.

Az **androgenézis** a pollen valamelyik haploid sejtjéből kiinduló növényfejlődés folyamatát jelenti. Napjainkig már mintegy 80 nemzetség több, mint 300 növényfajának pollenjéből sikerült az *in vitro* androgenézis indukációjával haploid kalluszt, embriót, illetve növényt előállítani. E technikával az egyedfejlődést a gametofitonról megtermékenyítés nélkül a sporofitonra lehet átállítani mesterséges körülmények között, a természetben pedig ez a folyamat nem létezik. Az androgenézis, vagyis csak apától származó tulajdonságokkal rendelkező utódok keletkezése, csakis a génműködés regulációjába való drasztikus beavatkozással lehetséges, amit közvetve sok tényező befolyásolhat (pl. a donornövény genotípusa, környezeti feltételei és kora, a pollen és a portok fejlődési stádiuma, az inkubációs körülmények stb.). Az androgenézis sikeres indukciója szempontjából az a legfontosabb, hogy izoláláskor a portokban levő pollenszemek gametofiton determinációja (továbbfejlődésük irányának meghatározódása) még ne következzen be, ugyanis csak az **indeterminált pollen** fejlődése módosítható az androgenetikus pályára való eltérítéssel (átprogramálással). Ez a kritikus fázis fajtól függően a pollen egysejtmagvú vakuólumos állapotától a kétsejtmagvas (generatív és vegetatív sejtmagvú, még gaméták nélküli) stádiumáig tart.

Azok a pollenszemtípusok, amelyekből *in vitro* pollenembrió alakul ki, *in vivo* az érett portokban is megtalálhatók, de jelentősen különböznek az élettanilag normális pollenszemektől, ezért először S-pollennek (ang. „small”), később P-pollennek vagy embriogén pollennek nevezték el. A **P-pollen** a többinél kisebb, kevés citoplazmát tartalmaz és nem érintkezik közvetlenül a portok falával, illetve a tapétummal. A **pollendimorfizmus** lényege, hogy az izolált portokokban kétféle pollenszem van jelen, amiből csak az egyik, a P-pollen képes embrióvá vagy organogén kallusszá fejlődni.

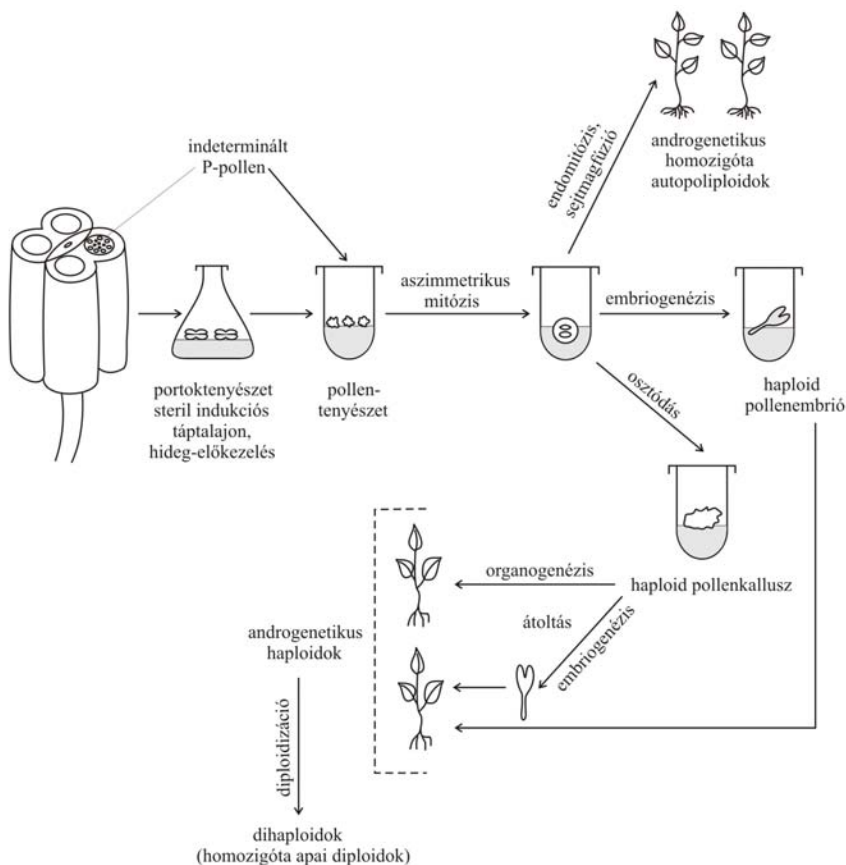
A kipreparált és steril táptalajra helyezett portokokat az inkubáció előtt rövidebb-hosszabb időre alacsony hőmérsékletre kell helyezni (pl. árpánál 4°C-on 28 nap a javasolt előkezelés). A portoktenyészeteket a pollenkallusz vagy a pollenembriók megjelenéséig célszerű sötétben tartani, 25-30°C-os hőmérsékleten. Az etilén, a nitrogéngáz és a szén-dioxid koncentrációjának növelésével fokozható a pollenembriók száma, a növényregenerálódáskor pedig legalább 300 lux megvilágítás szükséges. Az esetek többségében csak az a pollen fejlődik embrióvá, amelynek portokját a pollenizolációt megelőzően androgenetikus indukciós táptalajon tenyésztették. Feltételezhető, hogy az androgenézis már a pollenizolálás előtt indukálódott.

Az androgenézis eredményei alapján a zárvatermők mikrospórája morfogenetikai szempontból még labilis sejtnek tekinthető. A mikrosporogenezis bizonyos szakaszában tehát még nincs determinálva a továbbfejlődés iránya, ami lehetővé teszi a sporofiton típusú fejlődési út indukcióját. Ez az indeterminált periódus a meiózissal kezdődik (amikor létrejön a diploid sporogén anyasejtéből a négy haploid, egysejtmagvú pollensejt) és a pollenmitózis II-vel ér véget (miközben a számtartó osztódással létrejött vegetatív és generatív sejtmagok közül az utóbbi kettéosztódik).

A többsejtmagú embriogén vagy kalluszképző pollen által képviselt hím gametofiton három jól elkülöníthető úton alakulhat ki az androgenetikus növényregeneráció kiindulási stádiumában. Az A típusú fejlődés aszimmetrikus mitózissal kezdődik és a **soksejtes pollen** megjelenése a pollenmitózis I után a vegetatív sejt további osztódására vezethető vissza. A generatív sejt esetleg egyszer osztódik, de mindenképpen degenerálódik. A B típusú fejlődés szimmetrikus mitózissal kezdődik, amelynek során két hasonló diffúz sejtmag alakul ki a vegetatív és a generatív sejtmag helyett. Ha az osztódást elválasztó sejtfal kialakulása is kíséri, a két haploid sejt egyaránt részt vehet az új növény fejlődésében, mely sporofiton típusú, de haploid. Gyakori azonban, hogy a sejtfal tökéletlen kialakulása miatt a két egyenértékű sejtmag fúzionál, ami diploidok kialakulásához vezet. A jelenség apai eredetű klónozásnak felel meg, hiszen az utódnövények mindkét kromoszóma-garnitúrája a pollenszemből származik. A C típusú fejlődés az A pályához hasonló aszimmetrikus mitózissal kezdődik és a pollenmitózis I után kialakuló vegetatív és generatív sejt egyaránt részt vesz a sporofiton típusú növényképzésben. A C típusú fejlődés során gyakori az endoreduplikáció vagy endomitózis, az endoreduplikálódott generatív és vegetatív

sejtmagok, illetve sejtek továbbfejlődése esetén a pollentenyészetekből különböző ploidszintű, autopoliploid növényeket nevelhetünk fel a haploidok helyett. Számos poliploid változatot magasabb terméshozam, jobb ellenállóképesség és plasztikusabb alkalmazkodóképesség jellemez, genetikai szempontból az így nyert poliploidok teljesen homozigóták. Az **androgenetikus poliploidia** tehát a pollenszemből az androgenézis indukcióját követő endomitózisra, endoreduplikációra, illetve a haploid és poliploid sejtmagok fúziójára vezethető vissza. Mivel az így kapott új növények végeredményben haploid sejtekből keletkeznek, homozigóta autodiploidokat vagy autopoliploidokat képviselnek.

A fenti három fejlődési út bármelyikén kialakult soksejtes pollen további szerveződéssel **pollenembriókat**, osztódásos proliferációval pedig **pollenkalluszt** eredményezhet. A pollenből kiinduló embriogenezist követően, főleg az A úton, haploid növényeket nevelhetünk fel. A másik lehetséges fejlődési irányban a pollenből képződő haploid kallusztenyészetekben általában külön táptalajra való áttöltéssel kell indukálni a növényregenerálódást, amelynek a szomatikus tenyészetekhez hasonlóan két útja lehetséges: embriogenezis vagy organogenezis (51. ábra).



51. ábra. Mesterséges androgenézis portok- és pollentenyészetek által (eredeti)



Megállapítható tehát, hogy a mesterséges körülmények között kiváltható „haploid sporofiton” típusú egyedfejlődés androgenéziskor általában a mikrospóra-sejtmagra vagy a pollen vegetatív sejtjére vezethető vissza, melyeknek további osztódásai során soksejtes pollenszemek alakulnak ki, ezekből pedig pollenembriogenezis vagy pollenkalluszképződés és ebből kiinduló organogenezis indukciójával nevelhetők fel haploid növények. Ennek megfelelően apai ágon a haploidia megvalósulhat közvetlen androgenézissel, embrióképződés útján, vagy pedig kétlépéses közvetett androgenézissel, amikor a pollenből kallusz keletkezik, majd ebből organogenezis útján alakulnak ki növények.

A **haploidia** nemesítésben való alkalmazásának egyik alapfeltétele, hogy a kiválasztott növényi alapanyagból megbízhatóan és viszonylag nagy számban lehessen haploidokat előállítani. *In vitro* androgenézissel több száz növényváltozat haploid alakját sikerült létrehozni pollenből, az androgenézis felhasználási köre tehát nem korlátozott. Ezzel szemben az *in vitro* ginogenezis sikeres alkalmazási köre jelenleg nem éri el a húszt fajt, a kromoszómaelimináción és *in vitro* embriótényésztésen alapuló bulbusumtechnika felhasználása pedig egyelőre az árpára és a búzára korlátozódik.

A portok- és pollentényeszetek gyakorlati jelentőségét az esetek többségében nem maguk a haploid növények adják, hanem a belőlük nyerhető autodiploid alakok, a teljes **homozigóták előállítás**a. Ezek az *in vitro* módszerek, az élővilágban gyakorlatilag egyedülállóan, a hajtásos növényeknél lehetővé teszik a ploidszint redukcióját, így a nemesítőnek nemcsak a növények ploidszintjének növelésére (poliploidizációra), hanem a csökkentésére is lehetősége van. A szaporítósejtek (spórák, gaméták) a képződésükhöz vezető meiózis során lejátszódó rekombináció (crossing over, homológ kromoszómák véletlenszerű szétválása) miatt genetikailag különböznek. A haploidia pedig lehetővé teszi, hogy az önálló szaporítósejtek szintjén jelentkező örökletes változatosságot, a másik nemű gaméta ráhatása nélkül, a megtermékenyítés kihagyásával, az intakt növényegyedek szintjére hozzuk. A hajtásos növényeknél ilyen módon megnyilvánuló és megőrizhető **gametoklonális variabilitás** egyedülálló jelenség az élővilágban.

Továbbá, haploid szinten lehetőség van a különböző rejtve maradó recesszív tulajdonságok fenotípusos megnyilvánulására és az ezekre irányuló szelekcióra, ugyanakkor jelentősen növelhető a sejt szintű mutáns izoláció hatékonysága.

A haploidokból (melyek homológ kromoszómapárok hiányában meiózisra képtelenek, tehát nem tudnak szaporítósejteket termelni) reduplikációval (pl. kolchicines kezeléssel) autodiploidok nyerhetők, melyek tiszta homozigóták és az amúgy **recesszív tulajdonságokat is megnyilvánítják**. Ugyanakkor ezúton a keresztezett megporzású (allogám), idegentermékenyülő növények beltenyésztésének (homozigotálódásának) ideje, ami fajtól függően 6-12 nemzedéken keresztül történő öntermékenyítést jelent hibridizáció után, végülis egyetlen generációra csökkenthető, ami szántóföldi növényeknél legalább 3-6 év időmegtakarítást jelent.

Amellett, hogy az androgenézis lehetőséget ad a gametoklonális variabilitás nemesítési felhasználására és lerövidíti a genetikailag tiszta vonalak létrehozásának idejét, a haploid genomok felhasználhatók a kromoszómapárosodási (homológia) vizsgálatokhoz, amelyek a rokon fajok genomevolúciójához szolgáltathatnak további hasznos adatokat. Erre példa a *Brassica* nemzetségen belüli fajképződés vizsgálata. A különböző faj- és nemzetségkeresztezésben a haploidia lehetővé teszi szubsztitúciós és addíciós hibridek előállítását, mint amilyen a búza (*Triticum*) és a rozs (*Secale*) amphiploid típusú hibridje, a *Triticale* (mely a búzához hasonlóan nagy terméshozamú és a rozshoz hasonlóan jó ellenállóképességgel rendelkezik).

Az egyes haploid (monoploid) vonalakba történő génbeépítéssel, majd a különböző monoploidok fúziójával 2-4 fontos tulajdonság egyesíthető a diploidokban, illetve a tetra-ploidokban. Nemi kromoszómákkal rendelkező (XY), kétlaki vagy többlaki fajoknál, mint amilyen az étkezési spárga, a kender, az eperfa stb., ezzel a módszerrel az Y kromoszómán levő géneket fokozottan megnyilvánító, jobb tulajdonságokkal rendelkező **szuperhím** (YY) alakok állíthatók elő. A legértékesebb dihaploid fajtákat, amelyeknél az androgenézist használták fel, a rizsnél, a búzánál, a dohánynál és az olajrepcénél hozták létre.

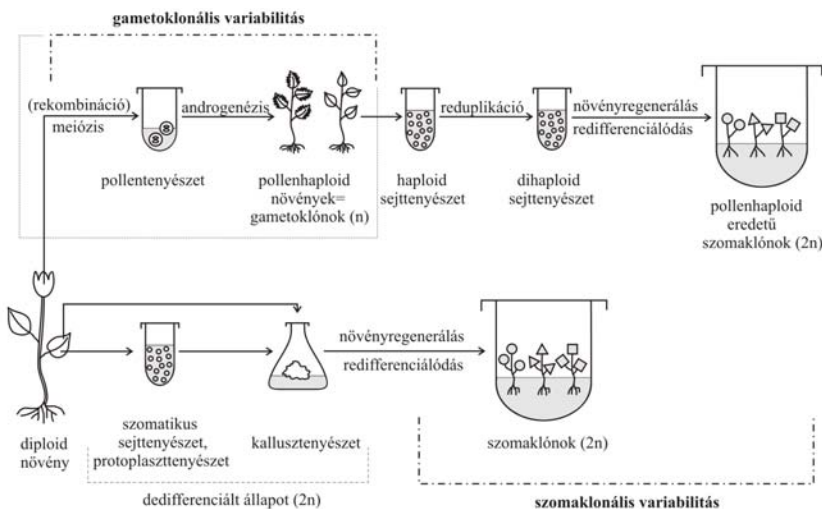
## II.13. A szomaklonális variabilitás kialakulása és felhasználása

Szomaklonális variabilitásnak nevezzük a növények eredetileg azonos örökletes anyagú testi (szomatikus) szöveiteiből létesített *in vitro* tenyészetekből (kalluszkultúrából, sejtszuszpenzióból, protoplasztokból) vegetatív úton regenerált (klonozással nyert) utódnövények között kimutatható, örökletesen determinált különbségeket, mely eltérések a mesterséges körülmények közti fejlődés miatt alakulnak ki. Az így regenerált növényegyedek és utódaik a **szomaklónok**, amelyeknek szimbóluma SC<sub>1</sub>, SC<sub>2</sub>, SC<sub>3</sub> stb.

Keletkezési módjuk szerint a szomaklónok különböző típusokba sorolhatók (52. ábra):

1. A klasszikus értelemben vett szomaklónok olyan diploid növények, amelyeket a zigóta eredetű diploid egyedek szomatikus szöveiteinek *in vitro* tenészeiteiből regenerálnak. A felnevelt növényegyedek közti variabilitás forrása a tenyésztett diploid sejtek genetikai instabilitása.
2. A pollenhaploid szomaklónok diploid növények, melyeket androgenetikus eredetű haploid növények szomatikus szöveiteinek reduplikáció utáni *in vitro* tenészeiteiből regenerálnak.
3. Az autodiploid szomaklónok olyan diploid növények, amelyeket a rediploidizált, tehát teljes homozigóta növények szomatikus szöveiteinek *in vitro* tenészeiteiből nevelnek fel.

A fentiekkel ellentétben, a gametoklónok specializált szaporítósejtekből származó növények, melyek változatosságának eredete a meiózis során bekövetkező rekombináció.



**52. ábra.** Szomaklonális és gametoklonális variabilitás, mint a növények örökletes változatosságának mesterséges növelési lehetősége *in vitro* mikroszaporítás alkalmával (eredeti)

A szomaklonális variabilitás tulajdonképpen a változatosság növelésének új lehetősége a növényvilágban. Azért csak a növényeknél, mert sem az állatok, sem az ember testi sejtjeiből még nem vagyunk képesek kifejlett egyedeket reprodukálni. Megjegyzendő azonban, hogy a szomaklonális variabilitás esetenként akadályozhatja a mesterséges vegetatív mikroszaporítással előállított növények hasznosítását. Például, Malaéziában az olajpálma ültetvényeket kicserélték *in vitro* szövettenyésztésben felszaporított, nagy produktívitású anyanövénytől származó klónnövényekkel. Csak 5 évvel később derült ki, amikor az olaj előállítására szolgáló termések ki kellett volna alakuljanak, hogy a mikropropagált pálmák sterilek voltak. Ennek oka az a genetikai változás volt, ami a mesterségesen módosított fejlődési körülmények között a szövettenyésztés sejtjeiben történt. Az ilyen esetek elkerülése a kiválasztott változatok alapos életteni, biokémiai és genetikai vizsgálatát teszi szükségessé, ami tovább növeli az *in vitro* mikroszaporításon alapuló növénynevelés összköltségét.

A genetika posztulátumai alapján a növény különböző sejtjeiből regenerált utódegyedeknek genetikailag azonosnak kell lenniük (klónok), azonban a regeneránsok között a valóságban különbségek is vannak. Először ezt epigenetikai változásnak, illetve a külsőleg adagolt hormonok utóhatásának tartották, majd bebizonyították a mesterséges körülmények között tenyésztett növényi sejtek **genetikai instabilitását**. A variabilitás eredete ma még nem egyértelműen világos, és a legfontosabb lépés annak tisztázása, hogy a változás ideiglenes-e (tranzien) vagy stabil. A szomaklonális variabilitás genetikai okai két fő csoportra oszthatók aszerint, hogy a változás az izolálás előtt az anyanövényben *de novo*, vagy az izolálást követően, az *in vitro* körülmények hatására következik-e be. Az első csoportba tehát a primer szövet sejtjeiben már eleve létező különbségek, a másodikba pedig a szövettenyésztés által meghatározott genetikai instabilitás formái tartoznak.

A különböző növényi szövetek között a DNS-tartalomban, illetve a kromoszómaszámban mutatkozó eltéréseket részletesen az utóbbi években kezdték vizsgálni. Ezek a változások (endopoliploidia, endomitózis, politénia stb.) nagy valószínűséggel a különböző szövetek és szervek differenciálódásakor, továbbá a növény élete során bekövetkező mutációs események következményeként alakulhatnak ki. Eredményük a növények sejtszintű szomatikus mozaikossága, amit **poliszomatikusságnak** nevezünk. A merisztéma- és hajtástenyésztésekben az örökletes módosulások nagyon ritkák, ellenben a hosszú időtartamú kallusz- és sejtszuspenziós tenyésztésekben a differenciálatlan fázis és a gyakori sejtosztódás miatt a genetikai változásoknak valószínűsége nagy. E tenyésztésekből regenerált szomaklónok variabilitása döntően az *in vitro* tenyésztés következményének tekinthető.

Az *in vitro* tenyésztett dedifferenciálódott, tulajdonképpen funkció nélküli és folyamatosan osztódó sejtekben, miután kikerülnek a szervezet korrelatív hatása alól, a genetikai változások bekövetkezésének valószínűsége jelentősen megnő. Hosszú időtartamú tenyésztés során ezek a módosulások egyre növekvő arányban

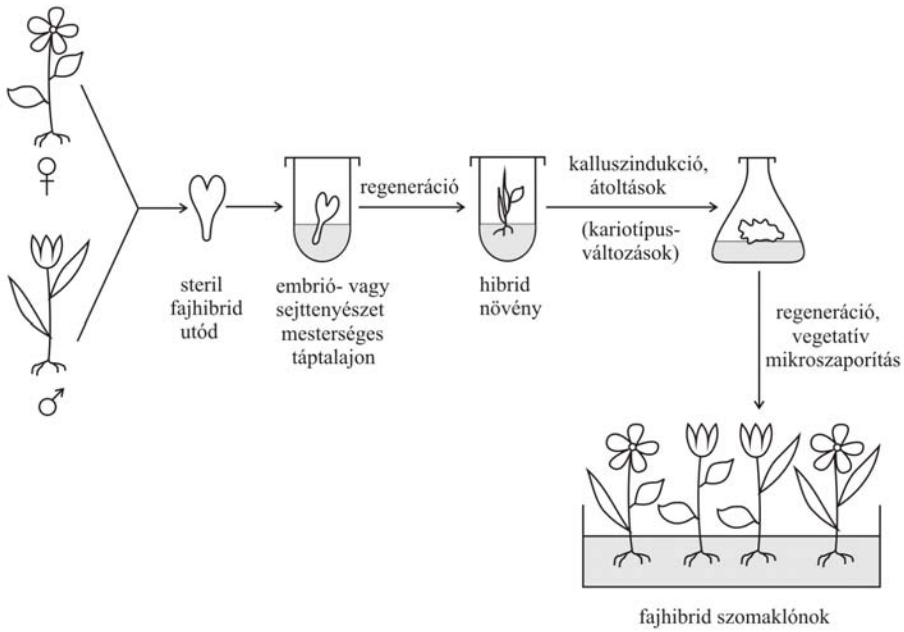
halmozódnak fel a tenyészetekben. A redifferenciálódás indukciójával a sejtszintű variabilitás az ép növényegyedek szintjére hozható.

A mesterséges körülmények között történő tenyésztés során bekövetkező változások okai két fő csoportra oszthatók: kariotípusváltozásokra és molekuláris változásokra. A **kariotípus-változások** lehetnek kromoszómaszám-módosulások (poliploidia és aneuploidia), valamint kromoszóma-átrendeződések. A mesterséges körülmények közötti tenyésztésnek, mint stresszkörülménynek a hatására kromoszómatörések, újraegyesülések, transzlokációk, multicentrikusságot eredményező folyamatok következhetnek be. A kromoszóma-átrendeződések során bizonyos gének expresszáldhatnak, illetve represszáldhatnak, ami növeli a variabilitást. A leggyakoribb változások közé a reciprok transzlokáció, a deléció, az inverzió, a nem homológ transzlokáció, a centrikus és acentrikus fragmentek keletkezése tartozik. A tenyésztési feltételek hatására a szomatikus crossing-over gyakorisága is nő, amin belül a szimmetrikus testvérkromatida is kicserélődhet, delécióval, duplikációval, illetve ezek szegregánsaival a későbbi mitózisok során. A **molekuláris változások** közé tartozik a DNS-szakaszok elvesztése és cseréje, az organellum-DNS rekombinációja stb. Például, a szövettenyésztés során sokan észlelték a G-C-ban gazdag szatellit-DNS amplifikációját. A dedifferenciálódás első lépéseként differenciált replikáció következik be, amit differenciált transzkripció követ specifikus RNS-ek szintézisével. A sejtmag- és organellum-DNS-ben bekövetkező változások detektálására a restriktív endonukleázokkal történő emésztést (láncszakítást) követő, ún. restriktív fragmentanalízis (RFLP) alkalmas. A változásokért felelős mechanizmusok ma még ismeretlenek, de feltételezhető, hogy jelentős szerepe lehet a gén-amplifikációnak, a metilációnak és a mozgékony genetikai elemeknek (transzpozonok vagy IS-elemek).

A legnagyobb variabilitás elérése azoktól a biotechnológiai módszerektől várható, amelyek a dedifferenciálódás, a differenciálatlan növekedés és a redifferenciálódás indukcióját igénylik. Ide sorolhatók a protoplaszttenyészetek, a kalluszkultúrák és a sejtszuspenziók. Abból a tényből kiindulva, hogy a molekuláris változások fenotípusos megnyilvánulásának valószínűsége a ploidfok növekedésével csökken, az izolátumok ploid szintjének redukciójával a szomaklonális variabilitás fokozható (**pollenhaploid szomaklónok** által). Az indukált mutációval szemben a szomaklónok a változatosság növelésének új forrásai, ami magából az élő anyag működéséből származik. Növénynemesítési felhasználásuk két fő céllal történhet: meglévő fajták vagy fajtajelöltek javítása 1-2 tulajdonságban, valamint faj- és nemzetséghibridekből gazdaságilag értékes fertilis (addíciós, szubsztitúciós) növényegyedek előállítására.

A szomaklonális variabilitás távoli hibridizációval kombinálva lehetőséget ad idegen géneknek vagy kromoszómáknak a termesztett fajokba való viszonylagos gyors bevitelére. A **faj- és nemzetséghibrid szomaklónok** jelentik a másik fontos felhasználási területet. Az általában steril hibridnövényekből szövettenyészetet létesítenek, a hibrid sejtek és kalluszok megfelelő időtartamú tenyésztését követően pedig növényeket regenerálnak. A dedifferenciáció miatt a tenyésztett leánysejtek,

illetve a belőlük felnevelt növények a legkülönbözőbb számban és kombinációkban fogják tartalmazni a szülői kromoszómákat, kromoszómaszegmenteket, illetve a géneket (53. ábra). Ezzel a kromoszóma-szubsztitúción alapuló nemesítés (pl. stresszrezisztencia kialakítás) idejét jelentősen lerövidíthetjük.



**53. ábra.** Fajhibrid szomaklónok előállításának szemléltető vázlata (eredeti)



## II.14. Növényi sejttenyészetek

A steril tápoldatban, szakaszos vagy folyamatos tenyésztési rendszerekben létesített növényi sejtuszpenziók elsősorban gyógyszeripari, élelmiszeripari és vegyipari alapanyagok termelésére, továbbá szomatikus embriók és protoplasztok előállítására, valamint új növényváltozatok nyerését szolgáló mutánsizolációra használhatók a mai biotechnológiai iparban, tehát a biomassza-hasznosítás és a növénynemesítés szempontjából egyaránt fontosak. Mivel fenntartási költségük viszonylag magas, jelenleg legkifizetődőbb alkalmazásuk a természetes gyógyszerek előállítása terén észlelhető. A hasznos anyag termeltetése kombinálható bizonyos környezetszennyező anyagoknak metabolikus alapanyagként történő hatékony feldolgozásával is.

Sejttenyészetek nyerhetők növényi szöveteknek pektináz enzimmel való kezelése során, amikor a szomszédos sejteket összetartó sejtfali középlemez lebomlik, így a sejtek önállósulnak és legömbölyödnek. A pektinázzal kezelt szerv- vagy szövetdarabot átmosás után szűrni kell, és a szűrőn áthaladó önálló sejtek steril körülmények között tápoldatba vihetők. Legkönnyebben kalluszból vagy parenchimákból lehet pektinolízissel elkülöníteni a sejteket. Laza szerkezetű, könnyen szertefoszló kalluszból mechanikai úton, tápoldatban történő erősebb rázatással is leválaszthatók önálló sejtek vagy kisebb sejtcsoportok, ez egy olcsóbb módszer és nem kell eltávolítani a pektint bontó enzimet. Az izolált sejtek megfelelő közegben dedifferenciálódnak és osztódni kezdenek. Sejttenyészetek protoplasztokból is nyerhetők, a sejtfal regenerálódása során. A sejttenyészeteket folyékony tápközegben szokás fenntartani, és a megfelelő gázcserre, valamint az egyenletes eloszlás céljából rázatni vagy buborékoltatni kell. A jó sejtuszpenzióban a sejtek egyenként vannak vagy esetleg kis csoportokat alkotnak, de nem tapadnak össze nagy csomókká. A szétszéledést sok esetben elősegíti a tápközegben levő magasabb auxinkoncentráció, a cukor-tartalom növelése viszont általában a nagyobb aggregátumok kialakulásának kedvez.

A legtöbb sejttenyészet heterotróf vagy mixotróf típusú, a tápoldatból szerves szénforrásként egyszerű cukrokat vesz fel. Ha vannak kloroplasztiszai, akkor az *in vitro* tenyész körülmények között megtelnek keményítőszemcsékkel, ami akadályozza a fotoszintetikus szénasszimilációt. A heterotróf sejttenyészeteket nem szükséges megvilágítani, de bizonyos anyagcsere-termékek képződését a fény szabályozza, így ezek előállításához szükséges a megvilágítás. A fotoautotróf sejttenyészetek ritkábbak, ezek megfelelő megvilágítás mellett cukor hiányában tarthatók fenn (így olcsóbb a tápoldat), de mivel a tenyészédény kis zárt terében a kevés szén-dioxid a fotoszintézis fő korlátozó tényezője, szén-dioxid utánpótlást kell biztosítani számukra buborékoltatás vagy pH-stabilizálás mellett végzett bikarbonát-adagolás által. Ugyanakkor a fotoautotróf sejttenyészeteket gyakrabban kell átoltani, mert sűrűbb szuszpenziókban a sejtek túlságosan beárnyékolják egymást, ez pedig erős megvilágítással nem kerülhető el, mert a magas fényintenzitás könnyen fotoinhibíciót

okoz. Parenchimatikus eredetű heterotróf vagy mixotróf sejtenyészetekből a tápoldat cukortartal-mának fokozatos csökkentésével, folyamatos megvilágítással és a közeg szén-dioxid tartalmának legalább 0,5%-ra való emelésével kiszelektálhatók fotoautotróf sejtuszpenziók, melyek tápközegéből teljesen hiányozhat a cukor.

Nagy mennyiségű sejtenyészetet a baktériumos és élesztőgombás fermentorokhoz hasonló **bioreaktorokban** lehet megvalósítani, zárt vagy nyílt rendszerben. A **zárt rendszerben** (ang. „batch culture”) csak a tenyészet iniciálásakor juttatnak steril tápoldatot a tenyészedénybe, ezt beoltják egy kis mennyiségű sejtuszpenzióval, majd lezárják és 2-3 hetes időtartamig a sejtek viszonylag optimális körülmények között osztódnak. Mikor a sejtenyészet elér egy optimális sejtűrűséget (térfogategységenkénti sejtszámot), a keverés vagy buborékolatás megszüntetésével a sejteket leüleptítik vagy a szuszpenziót centrifugálják és felhasználják a létrejött biomasszát vagy a felülúszóban levő kiválasztott hatóanyagot. A zárt rendszer hátránya, hogy a sejtek fokozatosan felhasználják a tápanyagokat és ezzel párhuzamosan felgyűlnek a tenyészetben az anyagcseréjükéből származó kiválasztási termékek, ugyanakkor módosul a közeg pH-ja, mindez pedig a tenyészet előregedéséhez vezet. A **nyílt** vagy **folyamatos rendszerben** a tápoldatot rendszeresen felfrissítik (pótolva az elfogyasztott anyagokat és eltávolítva a bomlástermékek egy részét), ugyanakkor a sejtek egy részének eltávolításával a sejtűrűség hosszabb ideig az optimális szinten tartható.

A sejtek lehetnek szabadon elvegyülten a tápoldat tömegében vagy **immobilizálhatók** megfelelő beágyazó anyagokban. A rögzítést a tápoldatba sülyesztett kis, gélállagú poliuretán kockák, kalcium-alginát gömböcskék vagy porózus porcelánszemcsék felületére szokás végezni. Az immobilizált sejtek olyan metabolitokat termelhetnek és juttathatnak ki a tápoldatba, amelyeket szuszpenzióban nem szintetizálják. A kiválasztott anyagokat (pl. alkaloidokat, glükózidokat, festékanyagokat, enzimeket) viszonylag könnyen izolálni lehet a begyűjtött tápoldatból. Megfelelő prekursoroknak (a hasznos növényi termék metabolikus előállításához szükséges előanyagoknak) az adagolásával sok esetben növelni lehet az immobilizált sejtek segítségével történő hatóanyag-termelést. Ha a számunkra hasznos anyagot a sejtek nem választják ki a tápközegbe, akkor kinyerése a sejthártya permeabilizálásával és a sejtek elpusztításával valósítható meg. Ekkor a szuszpenziót le kell szűrni és a szűrletből kell kivonni a hasznos terméket. A rázatott és buborékolatott sejtenyészetekben egy nem kívánatos jelenség a habképződés, ami a sejtek nyálkaanyag-kiválasztásának tulajdonítható. Különböző célokra létrehozhatók **szinkronizált** sejtenyészetek, amelyekben a sejtek 80-90%-a egyszerre osztódik és egyidőben megy át a sejtciklus összes szakaszán. A szinkronizálás megvalósítható, például, 5-aminouracil vagy 5-aminotimidin adagolásával, ami leállítja a DNS szintézisét és a gátlóanyag eltávolításakor a sejtek a sejtciklusnak ugyanabból a pontjából indulnak tovább.

Egy frissen inokulált sejtenyészetben, ahol a sejtűrűség kicsi, több napon át a sejtszám stagnál vagy nagyon gyengén növekedik („lag” fázis). Ezután következik

az exponenciális sejtszám-növekedési szakasz, melyben a sejtek aktívan osztódnak, a nemzedékek gyorsan követik egymást, sok a fiatal, élénk anyagcseréjű sejt. Ennek az exponenciális gyarapodási szakasznak az elején a legsikeresebb a protoplasztok előállítására és az új sejttenyészetek iniciálása. Ezt a szakaszt követi egy magas sejtsűrűség beállása, vagyis a tenyészet stacionárius fázisa, melyben időegység alatt nagyjából ugyanannyi sejt keletkezik, mint amennyi elpusztul. Számos hasznos szekunder metabolit termelődése ekkor történik a legnagyobb mértékben, ugyanakkor ebben a szakaszban a legnagyobb a tenyészet biomasszája. Ezt követi a tenyészet hanyatlási szakasza, melynek elején a tápözeg részleges felfrissítésével vissza lehet állítani a maximális sejtsűrűséget.

Mivel a biotechnológiai termékek a gyógyászatban szélesebb körű elfogadásnak örvendenek, mint az élelmezésben, ugyanakkor a farmakológiai hatóanyagok kisebb mennyiségben szükségesek és egységáruk magasabb, a sejttenyészeteket főleg a gyógyszergyártásban alkalmazzák. Tekintve, hogy számos hatóanyagot a növény védekezési reakciók során termel, számos gyógyszeranyag termelése **elicítással** fokozható. Ez azt jelenti, hogy az illető növényfajt megtámadni képes valamely mikroorganizmus (fitopatogén gomba, baktérium) kivonatával, mely fertőzés elleni metabolikus védekezést indít be, jelentősen növelni lehet a kívánt hatóanyag termelésének mértékét. Például, bizonyos sejttenyészetekben az *Agrobacterium rhizogenes* baktériummal történő fertőzés egyrészt serkenti egyes szekunder metabolitok termelését, másrészt génátvivő vektorként a baktérium genetikai transzformációs tényezőként is használható.

Gyógyászati hatóanyagok, élelmiszeripari adalékanyagok (pl. természetes színező és ízesítő anyagok), valamint vegyiparban hasznosítható termékek előállítására mellett a növényi sejtszuszpenzióknak egyéb alkalmazása is lehet. Például alkalmasak stressz-szelekciós mutagenézisre, ugyanis kis térben nagy számú sejtet lehet mutagén tényezővel kezelni, így viszonylag nagy eséllyel lehet kiválogatni egy kívánt mutáns sejtípust. Távlati alkalmazásként, a fotoautotróf növényi sejttenyészetek, melyek biomasszájukat csupán víz, szén-dioxid, ásványi sók, fény és megfelelő hőmérséklet jelenlétében képesek gyarapítani, az ürrepülések alkalmával az úrhajósok megújuló (pótlódó) táplálékként szolgálhatnak. Továbbá, a sejttenyészetek sikeresen alkalmazhatók szomatikus embriók előállítására. Homogén sejtszuszpenzióban, megfelelő körülmények között minden sejt sorozatos osztódással szomatikus embriót hoz létre. A folyamathoz szükséges egy auxin jelenléte (melyet később el kell távolítani) és ammónium formájában levő redukált nitrogén. A kialakult embriók nyugalmi állapotának kiváltásához abszcizinsav adagolása szükséges, így az embriók tárolhatók és időzíthető a mesterséges magok vetése. Amikor pedig a cél kallusz előállítására, a sejtszuszpenziót agar-agarral megszilárdított táptalajra kell helyezni.

## II.18. Aszimmetrikus sejthibridek

A szomatikus fajhibridekben a spontán kromoszómavesztés néhány kivételtől eltekintve ritka, ellenben a szomatikus nemzetséghibridizációra kidolgozott biotechnológiai módszer felhasználásával az utóbbi években sejtfúziós úton megkezdődött az aszimmetrikus fajhibridek létrehozása is. Az egyik szülői genom fokozott instabilitásának indukálására bevált módszer a protoplasztok kezelése nagy dózisú **gamma- vagy röntgensugárzással**. Ezzel elérhető a besugárzott sejtmagok fragmentációja és fokozott elvesztése a hibridsejtek osztódása során. Feltételezve, hogy a szomatikus hibridekben rekombináció is bekövetkezhet a szülői kromoszómák között, ez a módszer a jövőben fontos szerepet kaphat a vad fajokból történő génátvitelben. Az indukált kromoszóma-vesztés következtében lényegesen lecsökkenthető a szükséges visszakeresztezések száma, ami jelenleg elengedhetetlen az ivaros fajhibridek növénynemesítési felhasználásához.

Már a legelső fúziós kísérletekből kiderült, hogy az egybeolvadás létrejöttében nem jelent korlátozó tényezőt a protoplasztok eredete, vagyis ezen a szinten mindent mindennel lehet fuzionáltatni. Így ellenállhatatlan kísértést jelentett az új lehetőség, amely eddig teljesen elképzelhetetlen távlatokat csillantott fel a rendszertanilag igen távoli növények tulajdonságainak kombinálására. A sejtkompatibilitás nem jellemző a növényi sejtek közötti kölcsönhatásokra az általánosan alkalmazott tenyésztési körülmények között. Különösen érvényes ez azokra a fúziós kombinációkra, amelyekben az egyik szülősejt dedifferenciált és mitotikusan aktiválni képes a másik partner nem osztódó sejtjeit. A fuzionált sejtek osztódásának megindulása természetesen még nem jelenti azt, hogy hibrid növények is felnevelhetők.

Néhány fúziós kombinációban megfigyelhető a már említett fokozatos kromoszómavesztés, amelynek következtében a hibridsejtek csak néhány kromoszómát hordoznak az instabil szülőtől. Így kialakul az aszimmetrikus hibrid, melynek génállományát alapvetően az egyik szülő határozza meg, a másik szülő hozzájárulása pedig nagymértékben redukált. Egy konkrét példaként a *Brassica oleracea* és a *Moricandia arvensis* szomatikus hibridje azért érdekes, mert a két szülő fotoszintetikus CO<sub>2</sub>- megkötési rendszere eltérő. A *Brassica* C<sub>3</sub>, míg a *Moricandia* C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> intemedier típusú. Tekintve, hogy a C<sub>4</sub> típusú szénasszimiláció jellegeit akár részlegesen is mutató növények hatékonyabb CO<sub>2</sub>-fixációja és nagyobb nettó fotoszintetikus biomasszatermelési rátája jobb energiagazdálkodást eredményez, e sajátosság sejthibridizáció általi átvitele a C<sub>3</sub>-as haszon-növényekbe igen hasznos kutatási eredmény lenne a meleg égővi növénytermesztés számára. Az eddig előállított szomatikus hibridek egy része *Brassica*, másik része *Moricandia* típusú kloroplasztiszokkal rendelkezett, de a plasztisz-DNS típusától függetlenül a C<sub>4</sub>-es sajátosságok részlegesen sem fejeződtek ki.

A kívánt genotípus kialakításához egyrészt a kromoszómavesztés fokozására, másrészt az átmenetileg fizikai közelségbe kerülő genomok közötti rekombináció elősegítésére

van szükség. A mesterségesen létrehozott aszimmetrikus nemzetséghibridek mindinkább az érdeklődés középpontjába kerülnek, mivel ez a hibridtípus jól megfelel a nemesítési programok által megjelölt követelményeknek. A csupán néhány tulajdonság átvitelét biztosító aszimmetrikus hibridizáció mind több növény nemesítéséhez használt módszerré válik. Ezidáig a kromoszómavesztést kétféle úton próbálták fokozni: **osztódó és mitotikusan inaktív protoplasztok fúziója** útján, valamint nagy dózisu besugárzás által. Az előbbi módszer alapja, hogy az egybeolvasztott protoplasztok sejtciklusuktól függő kölcsönhatásba lépnek. Különösen kifejezett az eltérés, ha az egyik szülő protoplasztjai gyorsan növvő, mitotikusan aktív sejtszuszpenziós kultúrából származnak, a másik partner pedig sejtciklust nem folytató, Go stádiumú, mitotikusan inaktív levélprotoplaszt. (Ez utóbbi képez sejtfalat, de nem osztódik a tenyészoldatban.) Az a tény, hogy protoplasztfúzióval génátvitel valósítható meg, és az idegen genomrészek rekombinálódnak a recipiens sejt kromoszómáinak növekedése nélkül, kiemelt jelentőséget ad az ilyen szomatikus hibridizációnak, tekintve, hogy az így kialakuló genotípusok állnak a legközelebb az introgresszív ivaros keresztezések végeredményét jelentő genetikai konstrukcióhoz.

A spontán kromoszómavesztés következtében kialakuló aszimmetria gyakran nem elegendő a rendellenességektől mentes termékeny hibridek létrehozásához. Így merült fel az igény a kromoszómavesztés irányának és mértékének befolyásolására. Ismert ugyanis, hogy akár röntgen-, akár gammasugárzással a sejtmagok kromatinállománya összetörhető, fragmentálható, így a kezelt sejtek maganyaga a hibridekben fokozott instabilitást mutat. Erre alapozva terjedt el a **besugárzott protoplasztokkal** végzett aszimmetrikus sejthibridizáció módszere. A besugárzott fúziós partner kromoszómaállománya jelentősen csökkenhet, és a hibridekben csak egy-két kromoszóma marad vissza az illető donorfajból. A kialakuló aszimmetrikus hibrid genom fenotípusos hatásaként több, a kezelt szülőre jellemző biokémiai vagy morfológiai bélyeg is megnyilvánul a hibrid növényeknél.

Az aszimmetrikus hibridekkel kapcsolatos lehetőségeket értékelve figyelembe kell venni azokat az adatokat, amelyek az átvitt idegen gének kifejeződéséről tájékoztatnak. Például a *Daucus* x *Petroselinum* és a *Datura* x *Physalis* (maszlag x zsidóceseresznye) sejtfúziók esetében az albinizmus (klorofillihiány) génjeinek komplementációja szolgált a hibridszelekció alapjául. Így a hibridekben bioszintetizálódott klorofillok minősége és mennyisége információt szolgáltat az idegen genetikai háttérben megnyilvánuló gén működéséről. Mindkét fenti szomatikus hibrid esetében az a- és b-klorofillok össz mennyisége kb. egytizede annak, amit a vad típusú szülők termelnek azonos körülmények között. A *Daucus* x *Petroselinum* hibridekben hasonló csökkenés mutatható ki a karotenoidok mennyiségében is, ugyanakkor lényegesen megváltozik az a/b klorofill molarány. Ezek az adatok egyértelműen figyelmeztetnek az átjutott idegen gének működésével kapcsolatos lehetséges zavarokra.

## II.19. Extranukleáris (plasztidiális és mitokondriális) tulajdonságok átvitele és kombinálása cibridizációval

A kloroplasztiszokban és a mitokondriumokban önálló információtartalmat hordozó DNS molekulák vannak. A felépítésükben résztvevő extranukleáris gének a fotoszintetikus és a légzési funkciók ellátásához szükséges fehérjék szintézisét a sejtmagi génekkel szoros együttműködésben irányítják. Ivaros szaporodáskor az apai plasztiszok nem vagy csak ritkán vesznek részt az utódok citoplazmatikus génállományának kialakításában. Megjegyezzük, hogy míg zárwatermőknél a plasztiszok és a mitokondriumok mindig anyai úton öröklődnek, a nyitwatermők különböző családjaiban az extranukleáris átörökítés apai úton (a pollen által) is történhet. Például, a *Pinaceae* és *Taxaceae* családokban a plasztiszok apai, a mitokondriumok anyai úton öröklődnek, az *Araucariaceae* családban pedig a mitokondriumok öröklődnek apai úton. A ginkónál, a cikászoknál és a *Gnetaceae* család fajainál csak anyai úton öröklődnek át a színtestek és a mitokondriumok is. Az apai vonal szaporító sejtjeiben mindig lényegesen nagyobb a mutációk gyakorisága, mint az anyai vonalon, és ez érvényes mind a neutrális (sem előnyt, sem hátrányos jelleget nem kölcsönző), mind a szelekciónak kitett gének tekintetében.

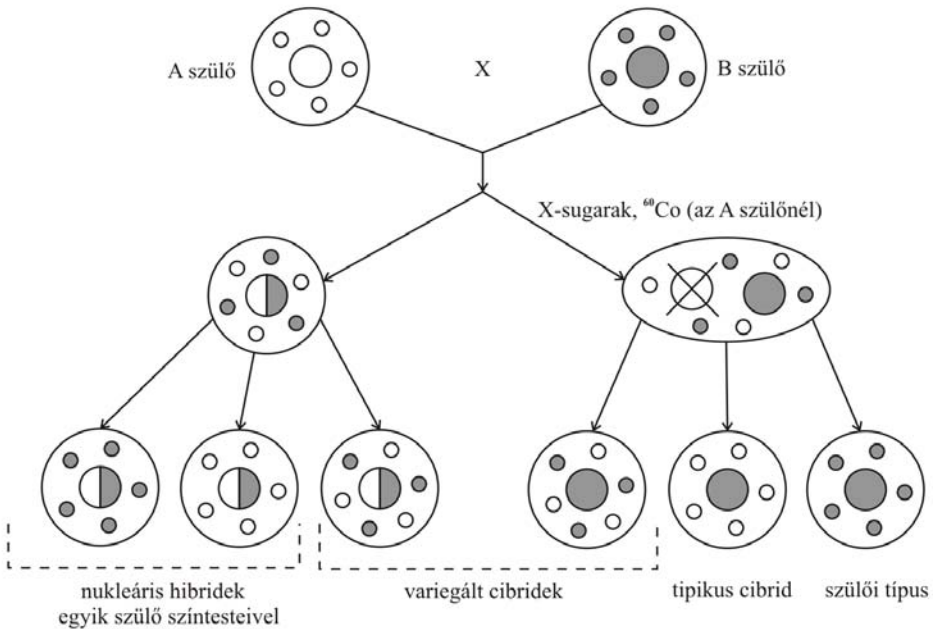
A kereszteződéskor észlelt egyirányú organellum-átvitel magyarázata a plasztiszok elvesztése a spermatogenezis során, a megtermékenyítéskor bekövetkező elimináció (hiszen a hím gamétának általában csak a sejtmagja jut a petesejtbe és vesz részt az utódképzésben), vagy ritkábban a zigótában végbemenő apai organellumdegradáció. Ezzel szemben a protoplasztok fúziója **kevert citoplazmájú sejtek** kialakulásával jár, így a különböző örökletes programot hordozó **organellumok együttes jelenléte** a hibridsejtek citoplazmájában alapvetően új lehetőséget nyújt az extranukleáris gének kölcsönhatásának tanulmányozására. Például ezáltal tanulmányozták a kloroplasztisz (és egyben az egész élővilág) legnagyobb mennyiségű és a bioszféra szervesanyag termelése szempontjából legfontosabb fehérjéjét, az 560 kD-os molekulatömegű ribulóz-1,5-difoszfát karboxiláz/oxigenáz enzimet (Rubisco, „fraction I protein”), és sikerült kideríteni, hogy a kloroplasztisz által kódolt nagy alegység (58 kD) izoelektromos fókuszálása fajokként különböző fehérjemintázatot eredményezhet. Az eltérések módot adnak a kloroplasztiszok azonosítására, ugyanakkor a kis alegység vizsgálata információt szolgáltat a sejtmagi génekkel jellemzett hibriditásról.

A protoplasztok fúziójának eredményeként először kialakul a hibridsejt, amelynek citoplazmájában egyaránt jelen vannak mindkét szülő organellumai. A tenyésztés során, a sejtosztódások sorozatán keresztül létrejön a hibrid kallusz, amelynek egyedi sejtjeiből új növények regenerálódnak. Az osztódások folyamán, a sejtmagi háttér befolyása alatt folyamatosan változik az organellumpopuláció, az érvényesülő tendenciák pedig eltérnek a kloroplasztiszok és a mitokondriumok esetében. A sejt-fúzió eredményeként a különböző eredetű kloroplasztiszok keverednek, és ez a vegyes állapot kalluszstádiumban, sőt növényregeneráció után is fennmaradhat. Az



eltérő típusú kloroplasztiszok egyidejű jelenlétét szemléletesen mutatják a variegált (világos és sötétzöld foltos vagy fehér-zöld mintázatos) növények. A fehér foltok megjelenése a zöld növényekben a normális kloroplasztiszok szektoriális elvesztését jelzi. A kevert organellum-kombinációjú szomatikus hibridek előfordulása ellenére, általánosabb és gyakoribb jelenség a kloroplasztiszpopulációk kiválogatódása, aminek eredményeként csupán egyfajta színtest marad meg hibrid növényekben, vagyis **extranukleáris aszimmetria** észlelhető.

Mind alapkutatósi, mind növénynevelési szempontból olyan organellumátviteli módszer kívánatos, amely érintetlenül hagyja a recipiens (befogadó) sejt nukleáris génállományát. Magas dózisu röntgen- vagy gammasugárzással elérhető, hogy a kezelt szülő sejtmagja ne osztódjon, DNS-ei fragmentálódjanak, és így a hibridsejt kialakulása folyamán teljesen vagy jelentős mértékben eliminálódják. Ugyanakkor a kétféle szülősejtől származó organellumok keveredése következtében a cibriditás fennmarad. Az ilyen protoplasztfúziós termékekből olyan **cibrid** (citoplazmatikus hibrid) növényeket lehet felnevelni, amelyek sejtmagja az egyik szülőtől, organellumai pedig a másik szülőtől származnak (57. ábra).



**57. ábra.** Kloroplasztisz típusok szegregációja és kicserélődése szomatikus hibridsejtekben cibridizáció útján (Smith 2000 után módosítva)

A szülői kloroplasztiszok együttes jelenléte a fuzionált sejtekben megteremti a feltételt annak, hogy különböző eredetű organellumok érintkezzenek és DNS állományuk kicserélődjék, tehát elvileg lehetővé válik az **extranukleárisan kódolt tulajdonságok rekombinációja**, ami a természetben nem létező változatossági

tényező. Az eddigi kísérletek egyrészt igazolják az organelláris rekombináció lehetőségét a szomatikus hibridekben, másrészt alátámasztják azt a feltételezést, hogy az ilyen esemény nagyon ritka.

Természetesen a mitokondriumok is összekeverednek a sejtfüzió során. A szomatikus hibridnövények mitokondriumainak jellemzése gyakran az extranukleáris hímsterilitás átvitelének tanulmányozásához kapcsolódik, és tekintettel e sajátosság növénynemesítési fontosságára a tiszta vonalak megőrzésekor, ezek a kísérletek elősegítik az eredményes fajtaelőállítás. Tehát a sejthibridizáció alkalmazható a **mitokondriális hímsterilitás** átvitelére, illetve újfajta, rekombinált mtDNS molekulák létrehozására is.

## II.23. A regenerálódó növényi biomassza felhasználása üzemanyag- és energiatermelésre, a vegyipar, az élelmiszeripar és az egészségügy számára

A növényi szervezetek által természetes vagy mesterséges körülmények között bioszintetizált, számunkra hasznos vegyületek végső soron a fotoszintézis által megkötött napfényenergiát tartalmazzák, vagyis külső, kozmikus eredetű energiát hordoznak, mely a kőszénben, kőolajban és földgázban levőhöz viszonyítva nemrég alakult át vegyi energiává és a növényi anyag feldolgozásával tovább alakítható egyéb energiaformákká, vagy kémiai kötésekben megőrizhető. A növényekből kiaknázzható energiának nagy előnye, hogy pótlódik, újraképződik, hiszen a megmaradó növényi anyag állandó növekedésre és továbbfejlődésre képes, vagyis a fitomassza regenerálódik, nem fogy el felhasználásának mértékével arányosan. Jelenlegi magasabb hasznosítási költségeinek ellenére **önmegújuló** jellege teszi a fitomasszát az egyik legígéretesebb jövőbeni alternatív nyersanyag- és energiaforrássá. Energetikai és ipari célokra elsősorban ott alkalmazhatók a növényi biotechnológiák, ahol nem versengenek a mezőgazdasági felhasználású területekkel (pl. sivatagban, a tundrán, hegyvidéken, meddőhányókon, szikeseken stb.), vagy pedig a hasznos részek mellett megmaradó növényi hulladékanyagok szolgálhatnak üzemanyagforrásként (pl. cukorrépa és burgonya levelei, gabonafélék szára, előregedett díszfák stb.). Az ipari alkalmazásra szánt fitomassza-termelés (az egységnyi élőhelyfelületre és időegységre vonatkoztatott növényi élőanyag mennyisége) növelhető a növényegyedek növekedésének fokozásával vagy pedig az egyedsűrűség növelésével az egymást zavaró határ eléréséig. Tekintve, hogy a fitomassza megújul, rendszeresen újraképezi önmagát, a növényi hulladékanyagok ipari felhasználása nemcsak, hogy nem vezet pótolhatatlan veszteségekhez, hanem bizonyos körülmények között meg is tisztítja a környezetet a túl sok maradéktól. A növényi hulladék-anyagok jelenlegi leghatékonyabb felhasználási módja az alkoholos erjesztést követő lepárlás, ami **alkoholpárlatok** nyeréséhez vezet, melyeket egymagukban vagy benzinnel keverve belső égésű motorok hajtóanyagaként lehet értékesíteni, ezáltal pedig a kipufogógáz levegőszennyező hatása is mérséklődik. Ugyanakkor számos országban a fűtőanyag 20-50%-át már közvetlen fotoszintetikus energiamegkötéssel képződő regenerálódó biomassza szolgáltatja.

A növényi sejttenyészeteken alapuló biotechnológiákban gyakran nem alkalmazható a fotoszintetikus biomassza-termelés, mert a sejtek heterotróf táplálkozásmódja szerves szén- és energiaforrást igényel, ami növeli a gyártási folyamat költségeit. Ezért az ilyen **sejttenyészeteket** elsősorban speciális anyagok, főleg gyógyszerek előállítására használják. A sejtvonalak kiválogatásakor néhány alapkövetelményt kell figyelembe venni, mint amilyen:

1. a hasznos vegyület minél nagyobb koncentrációja a száraz fitomassza tömegben vagy a tápközegben;

2. a hasznos anyag könnyű kivonása és tisztíthatósága szerkezeti és aktivitásbeli változások nélkül;
3. a sejtek jó fejlődőképessége könnyen hozzáférhető és olcsó tápközegi alapanyagokon;
4. a tenyészet termelőképességének időbeni stabilitása;
5. gyors megújuló képesség és ellenállóság kedvezőtlen külső hatásokkal szemben;
6. káros hatású melléktermékek hiánya.

Az **ipari felhasználású növényi biomassza** fő forrásai világviszonylatban a gyors növekedésű fák (ún. lignocellulózikus metanolforrások), a nagy tűrőképességű hajtásos vízinövények (vízi saláta, vízi jácint, békalencse metángáz előállítására), az alkoholos erjesztésre alkalmas fűfélék (gazohol gyártására), politerpénekben gazdag tejnedvet tartalmazó kutyatej- és fikuszfélék (kőolajpótló szénhidrogének nyerésére), anaerob hidrogéngáz termelésre képes zöldalgák vagy fokozott glicerinszintézist végző halofil algák.

A **lignocellulózikus** fitomassza gyors növekedésű és magas termelékenységgű (évenként hektáronkénti 8-12 tonna szárazanyagot létrehozó) **fás növényekből** származik, mint amilyen az eukaliptusz, a nyárfa, a hegyi juhar, a platán és az erdei fenyő. A faanyag teljes lepárlásával **metanol** nyerhető, az átalakulás energetikai hatásfoka kb. 70%, a metanol pedig gépkocsik üzemanyagaként használható. A tápanyagokban szegény talajokon is jól fejlődő eukaliptusz (évi 20 t hektáronként) ültetvényeit metanoltermelésre hasznosítják Brazíliában, Ausztráliában és Gabonban.

A **vízi hajtásos növények** nem versengenek a termőföldekért haszonnövényeinkkel és nem ismerik a szárazságstressz hatásait, viszont fokozott ásványi tápanyagellátást (főleg nitrogén- és foszforbőséget) igényelnek gyors biomassza-gyarapodásuk fenntartásához. Ez utóbbi igényük jól felhasználható eutrofizált, nitrogén- és foszfortöbblettel szennyezett vizek természetes úton történő megtisztítására, így az elszaporodó vízi növények biomasszájából anaerob fermentációjával történő **metángáztermelés** mellett (ami fűtőanyagként használható fel) egyúttal **környezettisztítás** is történik. Az ilyen célokra legalkalmasabb növények a vízi saláta (*Pistia stratiotes*), a vízi jácint (*Eichhornia crassipes*) és a békalencse (*Lemna sp.*). E növények egyúttal xenobiotikus szennyező anyagokat (szintetikus peszticideket, nehézfémeket) is kivonnak a vízi környezetből és bioakkumulálják ezeket saját testükben, ami takarmányként alkalmatlanná teszi őket, ellenben metánképzésre jól használhatók. Louisiana-ban például egy szennyezett tó felületén elszaporodó, néhány példányban betelepített vízi jácint kezdetben 6 naponként duplázta meg élő tömegét miközben aktív felszívó működést végző dús gyökérzetével kivonta a vízből a fölösleges nitrátot, foszfátot, rezet és nikkelt, majd a keletkezett biomasszát összegyűjtve egy év alatt anaerob fermentációval 70 000 m<sup>3</sup> metángázt nyertek belőle.

Az ún. **alkoholigén fűnemű növények** nagy mennyiségű tartalék cukrot (keményítőt, szacharózt) raktároznak, ami könnyen hidrolizálható, majd a keletkező monoszacharid alkoholos erjesztéssel etanollá alakítható. Jelenleg etil-alkoholt elsősorban a cukornád és a manióka maradék fitomasszájából, valamint a takarmányrépából, a cirokból és a csicsókából állítanak elő kielégítő hatékonysággal. Az így nyert etanolt először Brazíliában használták fel benzinnel kevert formában, **gazohol** néven gépkocsik üzemanyagaként, ami a tiszta benzinnél kevésbé környezetszennyező. Ezt az ún. bioetanolt Brazíliában elsősorban cukornádból, az Amerikai Egyesült Államokban főleg kukoricából, Franciaországban cukorrépából és gabonafőlöslegből, Svédországban búzából, számos országban pedig faanyagból (lignocellulózikus biomasszából) nyerik savas vagy enzimes hidrolízis után. Jelenleg gépkocsik működtetésére a fitomassza lepárlásával leginkább az E85 jelzésű üzemanyagot alkalmazzák, mely 85% etil-alkoholt és 15% benzint tartalmaz. Ennél még környezetkímélőbb a jelenleg kísérleti stádiumban levő E95, mely 95% etanolt és csupán 5% benzint tartalmaz. Ausztráliában algákból is állítanak elő etil-alkoholt, amit biodízel nevű üzemanyagként használnak fel. Továbbá, egyre nagyobb területeken termesztik bioüzemanyag nyerésére a kukorica helyett a *Miscanthus x giganteus* hibrid fűnemű C4-es növényt, melyből etanoltermelés céljából hektáronként 60 tonna biomasszát lehet nyerni, mérsékelt égövön áprilistól októberig fotoszintetizál, és a tél folyamán is be lehet gyűjteni. A *Spartina anglica* nevű, szintén C4-es fűféle pedig még alacsony hőmérsékleten is jól nő és a földfeletti részek betakarítása után gyorsan regenerálódik. Számos évelő fűfélélet azonosítottak az utóbbi években, melyeket fel lehet használni üzemanyag előállítására, és egyik előnyük, hogy e célból nem lényeges a nitrogénellátás, hiszen etil-alkohol képzéshez a növényi anyagból csak a szén és a hidrogén szükséges.

Egyes növényekből közvetlenül, erjesztés nélkül nyerhetők üzemanyagok **kőolajpótló szénhidrogének** vagy hidrogéngáz formájában. Kőolaj helyett felhasználható szénhidrogéneket termel hidrofób cseppek formájában a *Botryococcus braunii* nevű egysejtű zöldalga, viszont ennek növekedése a környezettel való anyagkicszeréldést gátló szénhidrogén-burok miatt nagyon lassú. Szénhidrogének elsősorban kutyatejfélek és fikuszfélék tejnedvéből nyerhetők és a kőolajhoz hasonló üzemanyagforrásként használhatók fel. Például az *Euphorbia lathyris* évi 25 tonna hektáronkénti szárazanyagának 5%-a terpén, ami heptánnal vonható ki a latexből, majd zeolitikus katalizátorok segítségével a benzinhoz hasonló szénhidrogén eleggyé alakítható. Franciaországban ugyanennek a kutyatej fajnak a magjából olajat állítanak elő, míg a mediterrán gyomnövényként elterjedt *Euphorbia characias* 25% kaucsuktartalmú tejnedvét a vegyipar használja fel különböző szénhidrogének forrásaként. Mindezek mellett a mezőgazdasági felhasználásra alkalmatlan területekre ültetett kutyatejfélek és egyéb latextermelő növények tejnedvét jelenleg legjövődelműbb módon gumióvszer és autógumi gyártására használják fel.

A **glicerintermelés** biotechnológiája a *Dunaliella salina* és *Dunaliella bardawill* sejtfal nélküli halofil zöldalgák sejttenyészeit alkalmazza 3,5-4,5 M-os NaCl koncentrációjú sós vízbe helyezés által kiváltott hiperozmotikus stressz körülményei között, amikor az ozmoreguláció (anatonózis) során tartalék szacharidjainak szénvázából a sejtek olyan nagy mennyiségű glicerint halmoznak fel, hogy ez a szárazanyag 80%-át is kitehetti.

A környezetkímélő üzemanyagként nagy energetikai hatásfokkal felhasználható **hidrogéngáz termelésének növényi biotechnológiája** bizonyos mikroalgafajok fotoautotróf tenyészeit vagy kloroplasztiszok szuszpenzióján alapul hipoxiás vagy időlegesen anoxiás körülmények között. A fotoszintetikus hidrogéntermelés előnye, hogy alapanyaga (a víz) bőven rendelkezésre áll és újraképződik, energiaforrása (a napfény) korlátlan és ingyenes, a reakció közönséges hőmérsékleten zajlik, nem igényel külső anyagbefektetést és nem hoz létre toxikus köztes- vagy végtermékeket, a keletkező hidrogén pedig könnyen tárolható, nem szennyez és magas kalóriaértékű. A folyamat fő korlátozó tényezője a molekuláris oxigén, mely gátolja az algasejtek hidrogenáz enzimét. A hidrogéntermelés hatékonyságának növelésére több próbálkozás történt:

- a) a vízbontásból származó oxigén eltávolítása a termelt hidrogénnél olcsóbb oxigénkötő anyagok adagolásával;
- b) szerves hidrogéndonorok alkalmazása a vízmolekulák helyett és a kettes fotokémiai rendszer fotolitikus oxigéntermelésének gátlása, figyelembe véve, hogy a hidrogéngáz képződéséért felelős fotoredukciós lépést biztosító ferredoxin elektrontovábbítása csak az 1-es fotokémiai rendszer működéséhez kapcsolódik (ciklikus elektrontranszporttal is fenntartható);
- c) levelekből izolált kloroplasztiszok és oxigénre kevésbé érzékeny bakteriális hidrogenáz enzim együttesének alkalmazása szuszpenzióban, *Scenedesmus* vagy *Chlorella* algasejtek helyett, ami viszont a hidrogéntermelő rendszer működési időtartamát lerövidíti, hiszen az izolált kloroplasztiszok csupán néhány órán át maradnak aktív állapotban;
- d) nagyon alacsony fényintenzitás alkalmazása, hogy a PS II minimális működése nagyon kevés oxigént eredményezzen, ugyanakkor alacsony szén-dioxid koncentráció fenntartása, hogy ne használódjon sok redukáló erő (ferredoxin által redukált NADPH) és ATP a szénasszimilációhoz.

A fenti követelmények miatt a növényi rendszerekhez képest hatékonyabb hidrogéntermelés érhető el nitrogénkötő fonalas cianobaktériumok segítségével, melyeknél a vegetatív sejtekben végbemenő vízbontásos oxigéntermelés térbeli elkülönülést mutat a heterocisztákban történő nitrogénkötéshez kapcsolódó hidrogéntermeléstől. A molekuláris oxigén egyaránt gátolja a hidrogenáz szintéziséért felelős gének kifejeződését és a hidrogenáz enzimfehérje katalitikus működését. A hidrogenáznak az oxigén mellett szintén erős gátlóanyaga a szén-monoxid is.



Néhány mikroszkopikus zöldalga faj, mint például a *Chlamydomonas reinhardtii*, képes élni és fotoszintetizálni anaerób körülmények között is, és ilyenkor spontán módon aktiválódnak benne a hidrogénáz képződését biztosító gének, így oxigén hiányában elkezd hidrogéngázt termelni. A hidrogéntermelés a PS I által továbbított elektronokkal történik, melyek anaerób körülmények között a sztróma felőli donoroktól (pl. cukrokból) pótlódnak a tilakoidális plasztokinonok nem-fotokémiai redukciójával (II-es típusú NADH-dehidrogenázzal, klororespiráció által). Ebben a folyamatban a hidrogéngáz gyakorlatilag a fotoszintetikus szénasszimiláció cukormolekuláiból ered, a PS I-en keresztüli tilakoidális klororespirációs elektronszállítás útján, a tilakoidokhoz kapcsolódó hidrogénáz segítségével. A hidrogénáznak három fő típusa van, ezek közül az egyik nikkel-vas központot, egy másik vas-vas központot, a harmadik pedig egyetlen vasion tartalmú katalitikus központot tartalmaz. Hidrogéntermelésre alkalmas zöldalgákban létezik egy úgynevezett anaerób oxigénikus fotoszintézis, amikor a légzési oxigénfogyasztás erőteljesebb, mint a fotoszintetikus oxigéntermelés. Ilyen körülmények között, melyeket például a szulfátellátás korlátozásával lehet elérni, a fotoszintézis intenzitása a légzés alá csökken, így nem marad a sejtekben szabad oxigén és beindul a hidrogéntermelés. A kloroplastisban a vízmolekulák fotólíziséből a hidrogénatomok elektronjai és protonjai felhasználódnak hidrogéngáz képzésére, az oxigén pedig átjut a mitokondriumokba, ahol a cukorbontásból származó NADH redukálóerejével vizet képez, vagyis átalakul és nem gátolhatja a hidrogénáz. Két vízmolekula fotoszintetikus bontásakor a 4 elektron egyenként végighalad a tilakoidális elektrontranszport-láncon és a PS I-en keresztül eljut négy ferredoxin molekulára, majd ehhez a 4 elektronhoz társul 4 proton és a hidrogénáz segítségével 2 hidrogénmolekula keletkezik. Tehát a vízbontás hidrogénatomjai nem közvetlenül vesznek részt a  $H_2$  termelésében.

Ezidáig növényi rendszerekben a legnagyobb mértékű hidrogéntermelést a *Kirchneriella lunaris* ( $32,1 \mu\text{mol } H_2 \text{ mg}^{-1} \text{ fehérje h}^{-1}$ ), a *Coelastrum proboscidentum* ( $24,6 \mu\text{mol } H_2 \text{ mg}^{-1} \text{ fehérje h}^{-1}$ ), a *Scenedesmus obliquus* ( $20,2 \mu\text{mol } H_2 \text{ mg}^{-1} \text{ fehérje h}^{-1}$ ), a *Chlorella protoheccides*, *Ch. vacuolata*, *Ch. vorokiniana* és az *Ankistrodesmus braunii* zöldalgák tenyészeiben sikerült elérni. Kísérleti jelleggel svéd kutatók jelenleg mesterségesen előállított kettes fotokémiai rendszer által próbálnak fényenergiával közvetlenül hidrogéngázt termelni, de egyelőre ennek a mesterséges rendszernek még alacsony a hatásfoka és a stabilitása. Az alapelv az, hogy az összes megújuló és fenntartható energiaforrás közül a napfény a legelőnyösebb, és a napfény energiája üzemanyagként hasznosítható. Mesterséges fotoszintézissel napfényből és vízből hidrogén és oxigén hozható létre, majd a hidrogén az oxigénnel reagáltatható, hogy ismét vizet és energiát nyerjünk. Ebben a teljes ciklusban végül a napfény közvetlenül hasznosítható energiaformává alakul.

Az Európai Unióban konkrét előírások vannak arra vonatkozóan, hogy a következő évtizedekben az összesített energiatermelés hányad része származzon

megújuló forrásokból (a szél, a Nap, a növényi biomassa energiájából). Megújuló energiaforrásként a növényi biomasszát két fő célra lehet felhasználni:

1. villamos energia (villanyáram) termelésére: kőszén helyett hőerőművekben faanyagot (például erdőgazdálkodási hulladékot) lehet felhasználni, ami egyben a levegőszennyezést is csökkenti, mert kevesebb kén-dioxid, nitrogén-oxid, por, illetve korom keletkezik, mint a kőszén elégetésekor;
2. folyékony üzemanyag termelésére: kőolaj helyett például a kukorica- és szójatermesztés során a termés betakarítása után visszamaradó növényi anyagból etil-alkohol vagy egyéb, a benzinhoz hasonló üzemanyag állítható elő és használható fel.

Ehhez az alternatív energiatermeléshez nálunk biomassa-forrásként felhasználhatók:

- a) az „energiafák”, például gyorsan növekvő fűz, nyárfa stb. ültetvények;
- b) az „energianád”, vagyis a nádnak gyorsan növekvő helyi változatai, melyekkel nedves területek ültethetők be;
- c) az „energiafű”, olyan lágyszárú növényekből kialakított gyepek formájában, melyek üres területeken honosíthatók meg, ahol nincs erdő és nedves terület az előbbi kétféle növénytípus számára.

Mindezek a fitomassza-hasznosítási eljárások környezetvédelmi szempontból sokkal előnyösebbek, mint a hagyományos üzemanyagokon alapuló energiatermelési változatok, ugyanis kevésbé szennyeznek és ugyanakkor felhasználják a faipari és mezőgazdasági hulladékokat. A hatékonyság biztosítása és növelése céljából természetesen ismerni kell az energiaforrásként alkalmazható növények ökológiáját, aminek alapján a rendelkezésre álló területek környezeti körülményei között a megfelelően tűrőképes és nagy produktivitású helyi változatok azonosíthatók és értékesíthetők, az érintett élőhelyek és életközösségek károsítása nélkül. A fotoszintézisnek központi szerepe van minden bioüzemanyag előállításában (bioetanol, biodízel, biometán, hidrogéngáz, folyékony üzemanyaggá alakítható biomassa), és ezáltal a napfény energiája úgy használható fel üzemanyagként, hogy eközben nem szabadul fel a légkörbe szén-dioxid. Jelenleg és a közeljövőben ez jelenti a növénybiológiai ismeretek egyik legaktuálisabb felhasználási irányát.