

NÖVÉNYNEMESÍTÉS

Az Agrármérnöki MSc szak tananyagfejlesztése
TÁMOP-4.1.2-08/1/A-2009-0010



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Előadás áttekintése

Szövettenyésztés története

Sejt és szövettenyésztés módszerei

Embriókultúra

Haploid növények előállítása

Portoktenyésztés

A szövettenyésztés kezdete

1902 Heberlandt elsőként próbálkozott a növények vegetatív sejtjeinek tenyésztésével totipotenciát feltételezte

1904 Hanning retekembrióból növényt kapott

1925 Laibach hibrid embriókból növényt regenerált

**1920-as évek Robbins (USA) és Kotte (Európa) gyökérmerisztémákból gyökér
azonban a tenyészetek befertőződtek**



STERIL SZÖVETTENYÉSZTÉSI MÓDSZEREK KIDOLGOZÁSA

A szövettenyésztés alapjai

1932 White (USA) sikerrel tenyésztett ovulumokat

1934 White paradicsom gyökércsúcsból korlátlan idejű növénytenyészet

1939 Gautheret és Nobecourt sárgarépa kalluszkultúra

1954 Hildebrandt sejtszuszpenzió létrehozása

1962 Skoog és Murashige MS táptalaj

1965 pollenhaploidia

1950-60 évek gyors fellendülés a szövettenyésztésben

Különböző szervek sikeres in vitro tenyésztése

Merisztématenyésztésre alapozott vírusmentesítés

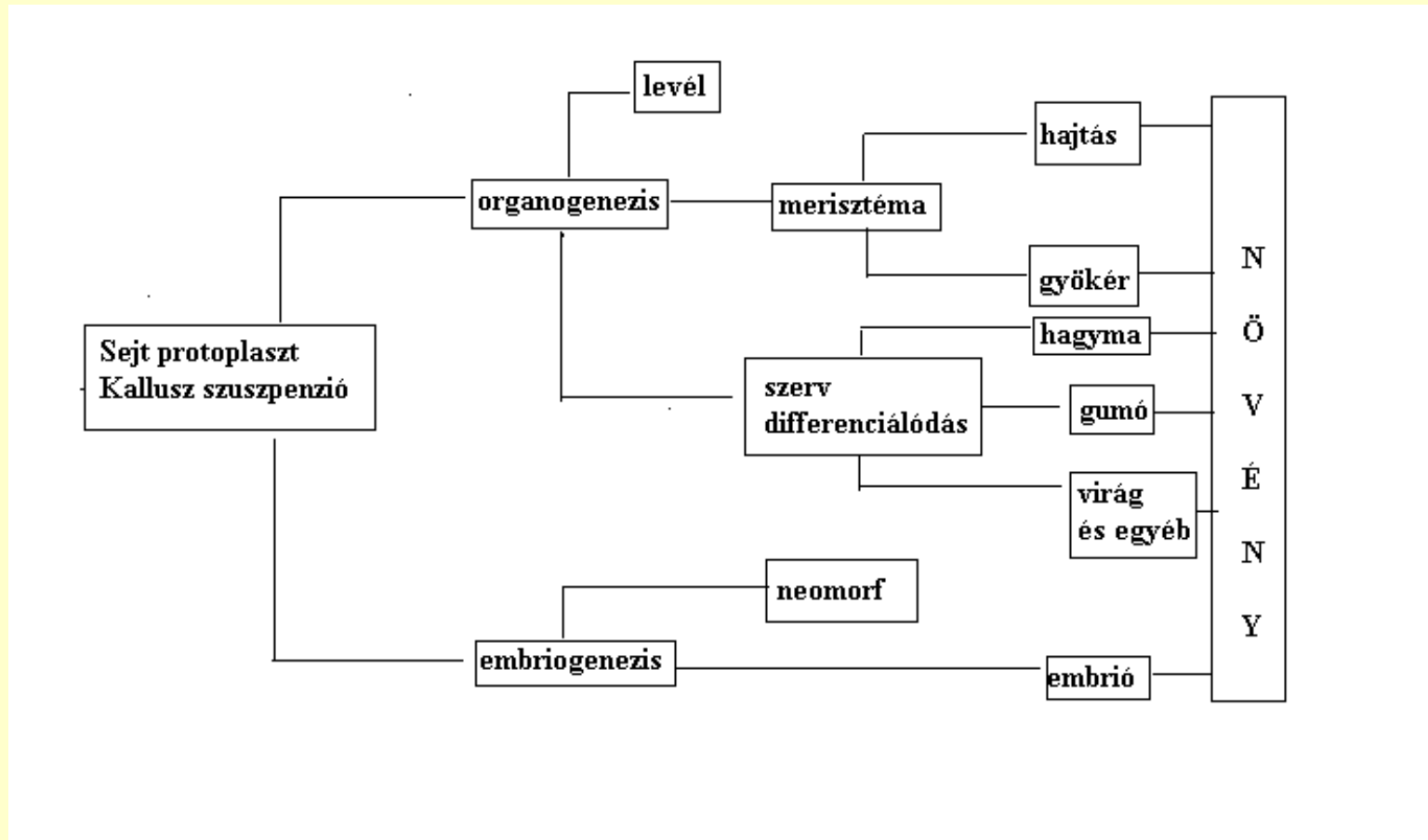
In vitro termékenyítés

1960-as évek vége a fontosabb tesztnövények (dohány, sárgarépa, rizs, árpa)

növény-sejt-növény rendszere készén állt

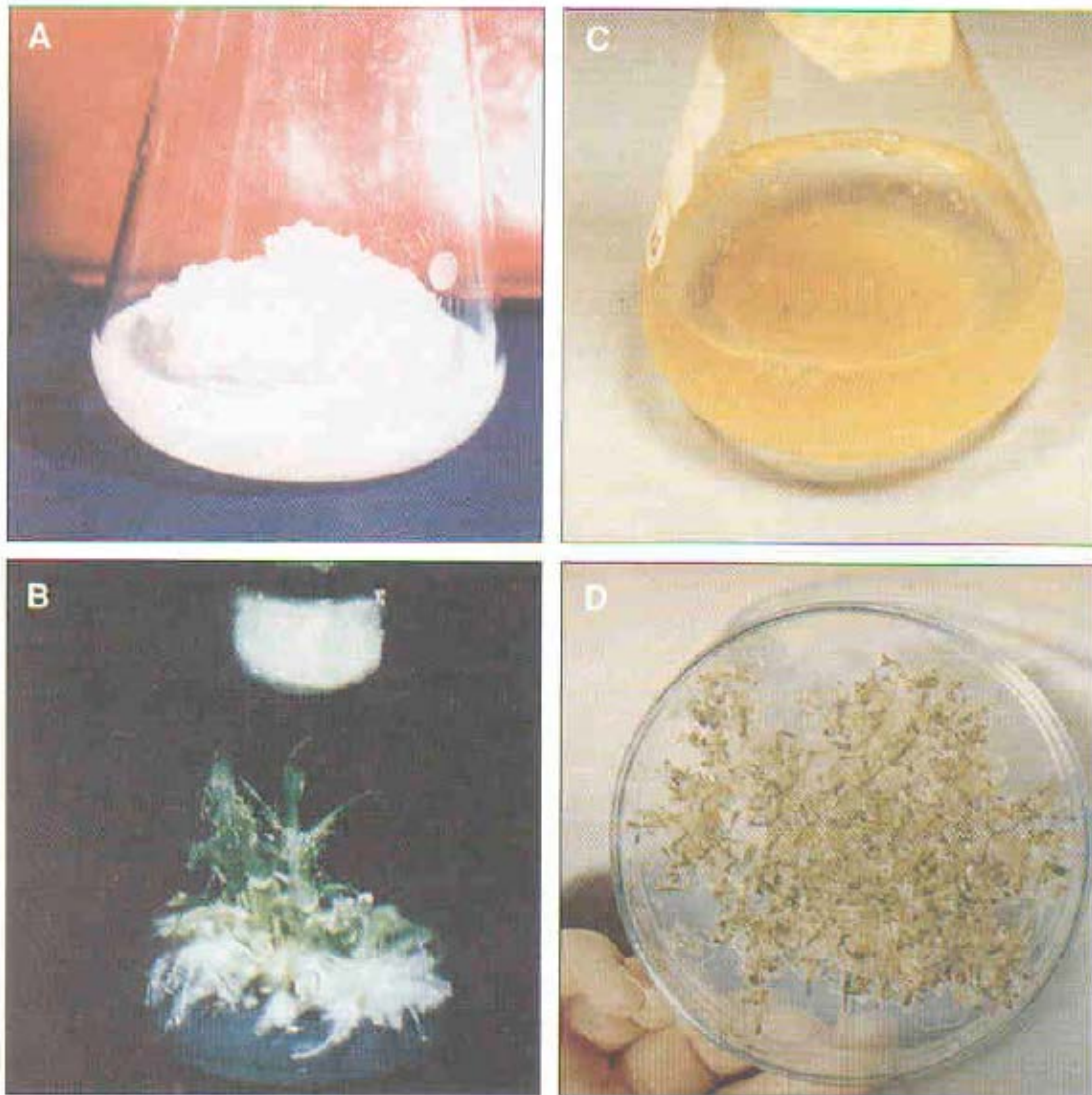
Protoplaszt tenyészetek

A morfogenezis alternatív útjai



Forrás:Dudits-Heszky 2000. Növényi biotechnológia és géntechnológia

A növényi biotechnológia és a sejt növényrendszer



Két alaptechnikája:

A és B **kallusztenyésztés**

C és D **sejttenyésztés**

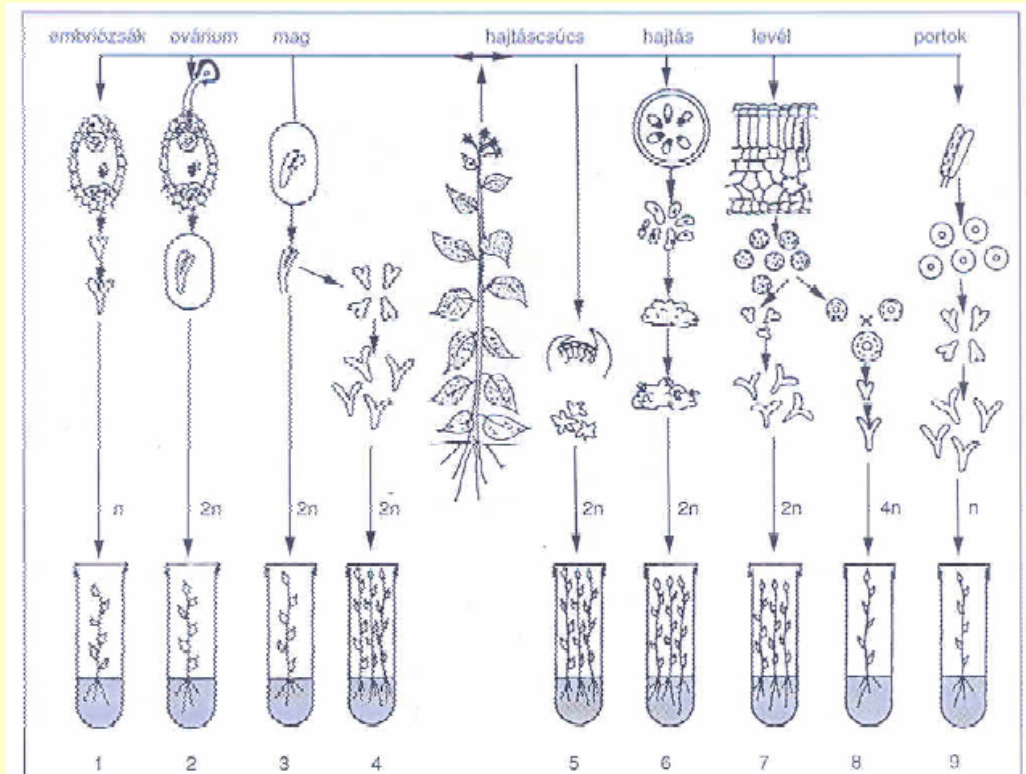
A: kallusz szövet, differenciálatlan parenchima sejtekből

B: dohány növényregenerálás organogenezissel

C: sejtuszuszpenzió, mely sejtaggregátumokból áll

D: sárgarépa növényregenerálás szomatikus embriógenézissel

Sejt és szövettenyésztés legfontosabb technikái



1. In vitro ginogenezis
2. In vitro termékenyítés
3. Embriótenyésztés
4. Vegetatív szaporítás járulékos embriógenézissel
5. Vegetatív szaporítás járulékos merisztéma tenyésztéssel
6. Kallusz kultúra
7. Protoplaszt tenyésztés
8. Szomatikus hibridek
9. Portok, mikrospóra kultúra

Forrás: Dudits D. és Heszky L. Növényi biotechnológia és géntechnológia 30. oldal

In vitro ginogenezis

A petesejt (embriózsák) eredetű haploidok felnevelhetők termékenyítetlen ováriumok és ovulumok tenyészetében.

Egy ovulumból (ováriumból) több növény is fejlődhet (pl. árpa).

Hatékonysága 1-10% (pl. búza, hagyma), az izolált ovulumokra vonatkoztatva.

Hátránya, a diploid és poliploid regeneránsok haploid eredetét nehéz bizonyítani.

In vitro termékenyítés

☀ Új fajhibridek és nemzetséghibridek előállítása

1970-es évek Zenkteler

Első interspecifikus és intergenerikus hibridek előállítása

☀ Öninkompatibilis fajok beltenyésztése

☀ Haploidok előállítása

Embriókultúra

Az embriótenyésztés az embriógenézis különböző stádiumában lévő zigotikus embrió kipreparálását, ontogenezisének fenntartását és befolyásolását jelenti táptalajon, steril, klimatizált feltételek között.

Embriókultúra célja

Embriók növekedéséhez és fejlődéséhez szükséges feltételek mesterséges biztosításával kifejlett „csírázóképes” embriókat kapjunk.

Embriókultúra módszere

Izolálás

Az izolálandó porembrió mérete függ a fajtól és a megtermékenyítéstől eltelt napok számától (3-30nap).

Táptalaj

▣ Szervetlen sók

KCl, CaCl₂ növelésével korai proembriók abortálásának elkerülése
amónium, Fe-EDTA csökkentésével fiatal embriók túlélése javul

▣ Szénhidrátok

szacharóz – táptalaj ozmolaritásának biztosítása

▣ Nitrogén

NH₄NO₃ és KNO₃ szervetlen nitrogénforrások

Táptalaj

- ▣ **Aminosavak és amidjai
glutamin**

- ▣ **Természetes növényi kivonatok**

 - kókuszdiótej (CM) 1940 Van Overbeek**

 - benne cukrok, aminosavak, növekedésserkentő anyagok**

 - „embriófaktorok” hőstabilak**

 - endospermium**

- ▣ **Növekedésszabályozó anyagok**

 - abszcizinsav (ABA) meggátolható in vitro nevelt embriók korai csírázása**

 - gibberellinek serkenti az embrió korai csírázását**

 - auxinek és citokininek nem nélkülözhetetlenek, bár kis koncentrációban az embriógenézist serkentik**

Tenyésztési feltételek

0,5-1,5%-os agar táptalaj szilárdításához

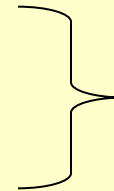
**a kisebb koncentráció, mely gélszerűen körülveszi az embriót
kedvezőbbnek bizonyult**

Folyékony tenyészet kis oxigénkoncentrációja

serkenti a sziklevek fejlődését

meggátolja a korai csírázást

csökkenti a hipokotil megnyúlását



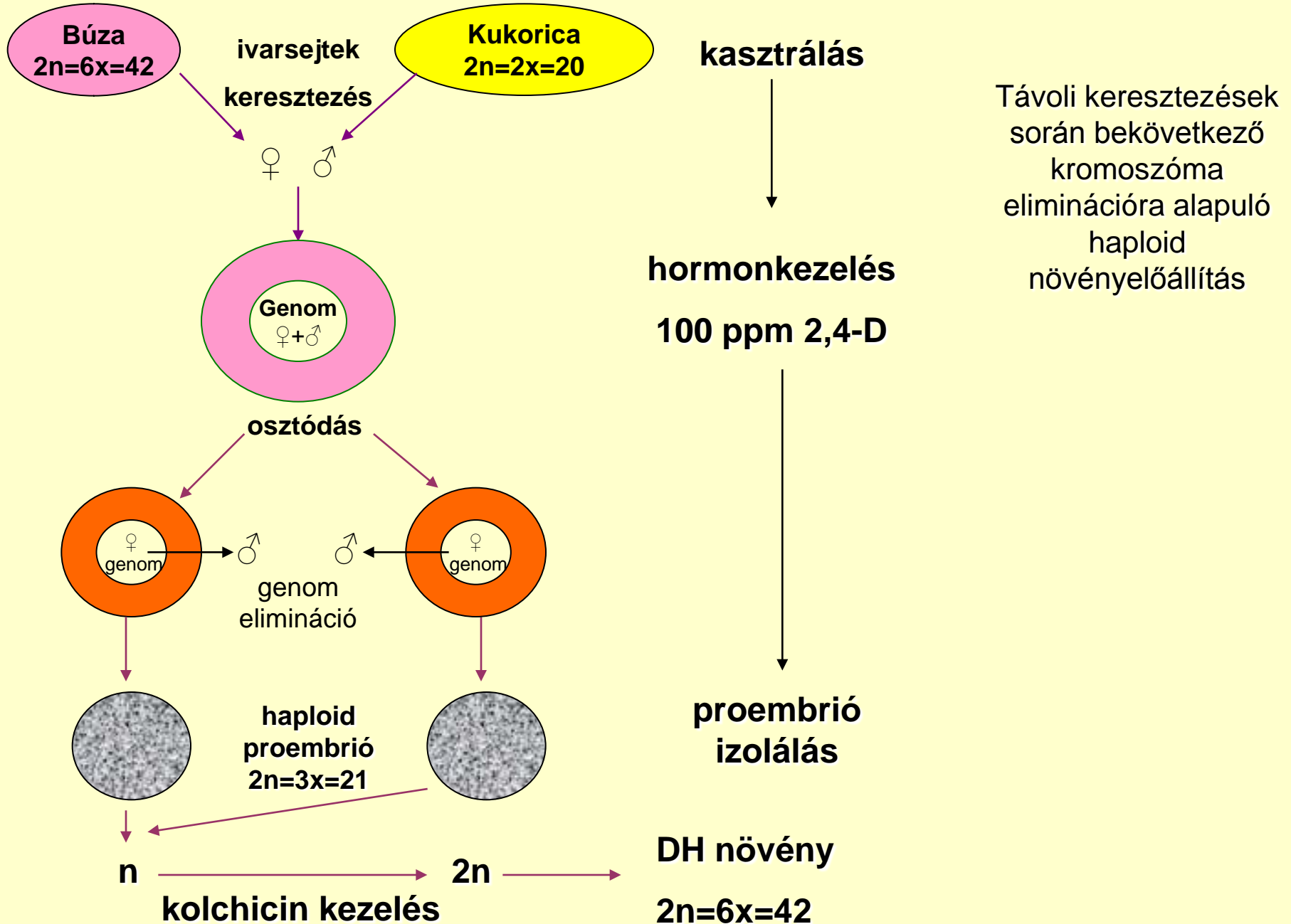
**Normális
embriófejlődést elősegíti**

Optimális pH 4,5-5,5

Tenyésztési hőmérséklet 15-30°C között

**Proembriókat sötétben, majd folyamatos
vagy periodikus világítás**

Haploidok előállítása bulbosum technikával



Portoktenyésztés (in vitro androgenézis)

A portokkultúra a fejlődés meghatározott stádiumában lévő pollent tartalmazó portokok (antérák) kipreparálást, a mikrospórában pedig az androgenézis indukcióját és fenntartását jelenti táptalajon, steril, klimatizált feltételek között és a haploid növények regenerálása.

Célja

A gamétákból redukált ploidszintű növények (pollenhaploidok) felnevelése in vitro. Az androgenézis a növények esetében a mikrospórából, vagy a fiatal pollen valamelyik haploid sejtjéből történő növényfejlődés folyamatát jelenti.

Az in vitro androgenezisnek feltétele

A tenyészetben legyenek, olyan mikrospórák melyekben gametogenezis determinációja még nem következett be.

Ezekben a mikrospórákban az ontogenezis programját indukálni lehessen.

Portoktenyésztés

A haploid sporofita fejlődés általában, a mikrospóra sejtmagra vagy a vegetatív sejtre vezethető vissza, amelynek további osztódásai során soksejtes pollenszemek alakulnak ki.

A soksejtes pollenszemekből pollen embriogenezis vagy pollen kallusz- és organogenezis indukcióval nevelhetők fel haploid növények.

Portokkultúra módszert befolyásolja

- A donor növények genotípusa
- A donor növény kora és környezeti feltételei
- A donor virágok, virágzatok előkezelése
- A portokok, mikrospórák előkezelése
- Táptalaj
- Inkubáció
- Double haploid növények előállítás

In vitro mikroszaporítás

Az in vitro mikroszaporítás során a növény különböző vegetatív sejtjeit, szöveteit, szerveit tenyésztjük steril, ellenőrzött körülmények között.

A vegetatív szaporítás tulajdonképpen ivartalan szaporodást jelent, tehát az új egyed testi sejtekből alakul ki és nem a zigótából.

Az így keletkezett utódok genetikailag azonosak, sem a kiinduló növénytől, sem egymástól elvben nem különböznek.

Megfelelő in vitro feltételek megteremtése esetén a növények különböző részei teljes növényregenerációra képesek, ezáltal a klónozás elvi lehetőségét adják.

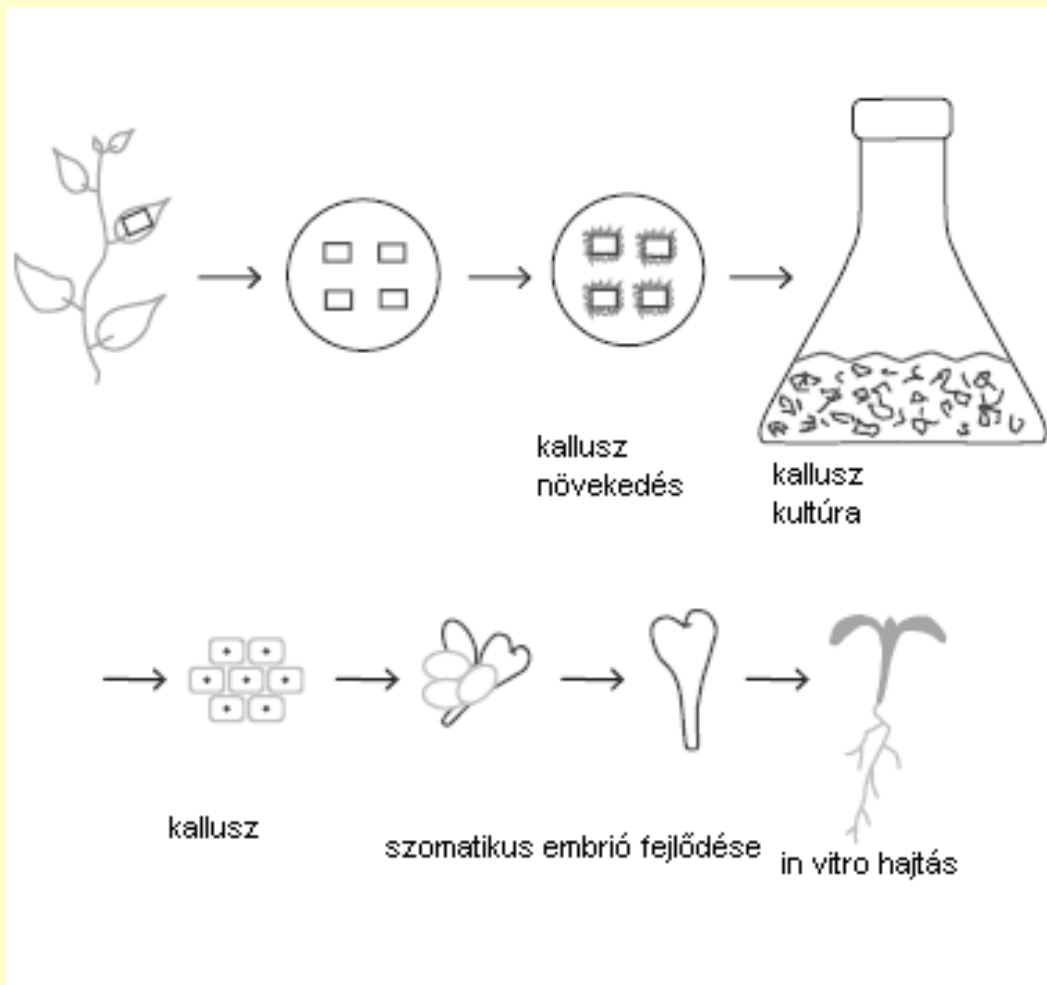
A vegetatív mikroszaporítás fő technikái

- **Merisztéma és hajtáskultúrák**
- **Járulékos szervek**
- **Szomatikus embriók tenyésztése**

A módszerekkel elvben korlátlan szaporulat érhető el.

Az in vitro kultúrák kiváló feltételeket teremtettek a kórokozó mentesítésére, továbbá a mentesített tenyészetek tárolására is (génbank).

Szomatikus embriogenezis



Előadás összefoglalása

Szövettenyésztés története

Sejt és szövettenyésztés módszerei

Embriókultúra

Haploid növények előállítása

Portoktenyésztés

Előadás ellenőrző kérdései

- Sorolja fel a sejt és szövettenyésztés legfontosabb technikáit.
- Foglalja össze az embriókultúra módszer lényegét.
- Mi befolyásolja a portokkultúra módszert?
- Hogyan lehet előállítani haploidokat?

KÖSZÖNÖM FIGYELMÜKET

KÖVETKEZŐ ELŐADÁS CÍME

**Genetikai manipuláció, GMO (genetikailag
módosított szervezetek) létrehozása,
mezőgazdasági alkalmazása**

Előadás anyagát készítették:

Dr. Pepó Pál