

A
BIOTECHNOLÓGIA
JELENTŐSÉGE ÉS SZEREPE
A
MEZŐGAZDASÁGBAN

VEAB

1987

**A BIOTECHNOLÓGIA JELENTŐSÉGE ÉS SZEREPE
A MEZŐGAZDASÁGBAN
(Tudományos ankét, Veszprém 1986)**



**VEAB
1987.**

Szerkesztette:
DR. NAGY GYÖRGYNÉ
egyetemi adjunktus

ISBN 963 7121 99 4

Kiadja: Az MTA Veszprémi Akadémiai Bizottsága
Felelős kiadó: Salánki János, a VEAB elnöke
Műszaki szerkesztő: Kovács István

TARTALOM

ELŐSZÓ (Dr. Sutka József, Dr. Varga János)	5
--	---

ELŐADÁS:

Dr. Sutka József: A biotechnológia jelentősége és szerepe a mezőgazdaságban	7
--	---

KORREFERÁTUMOK:

Dr. Barnabás Beáta: Androgenetikus haploidok előállítása búzánál és kukoricánál	28
Dr. Heszky Lászlóné: Biotechnológiai módszerek alkalmazása a burgonyanemesítésben	33
Dr. Vértesy Judit: Törzses gyümölcsfajok vírusmentesítése és mikroszaporítása in vitro módszerekkel	38
Dr. László Miklós: A növényi szövettenyésztés alkalmazása toxiko- lógiai és tápanyagutánpótlási vizsgálatok meggyorsítására.	42
Simon István, Zatykó József: In vitro eljárások szerepe a gyümölcsnemesítésben	50
Retkes József: Üvegházi dísnövények mikroszaporítása	55
Dr. Gergátz Elemér: Biotechnikai és biotechnológiai kutatások tapasztalatai a juhtenyésztésben	58
Dr. Iváncsics János: A szárvasmarha ivarszabályozás kutatásának helyzete és eddigi eredményei	65
Dr. Baintner Ferenc, Dr. Schmidt János, Dr. Szigeti Jenő, Dr. Dr. h. c. Varga János: Tejsavbaktérium kultúrák felhasználása a takarmánytartósításban	68
a) A startertörzsek hatékonyságát befolyásoló néhány tényező vizsgálata	68
b) A tejsavbaktérium kultúrával történő oltás hatása az erjedés lefolyására	77
AJÁNLÁS (Dr. Nagy György, Dr. Veisz Ottó)	84

ELŐSZÓ

A Magyar Tudományos Akadémia Elnökségének a biotechnológia hazai fejlesztésével kapcsolatos legutóbbi állásfoglalása elsődleges feladatnak tekinti ezen a téren a magas színvonalú alapkutatások előmozdítását, különösen azokon a területeken, amelyek a magyar népgazdaságban hagyományosan jó színvonalat képviselnek és jelentős szerepet játszanak exportunkban, így a mezőgazdaságban és az élelmiszergazdaságban is.

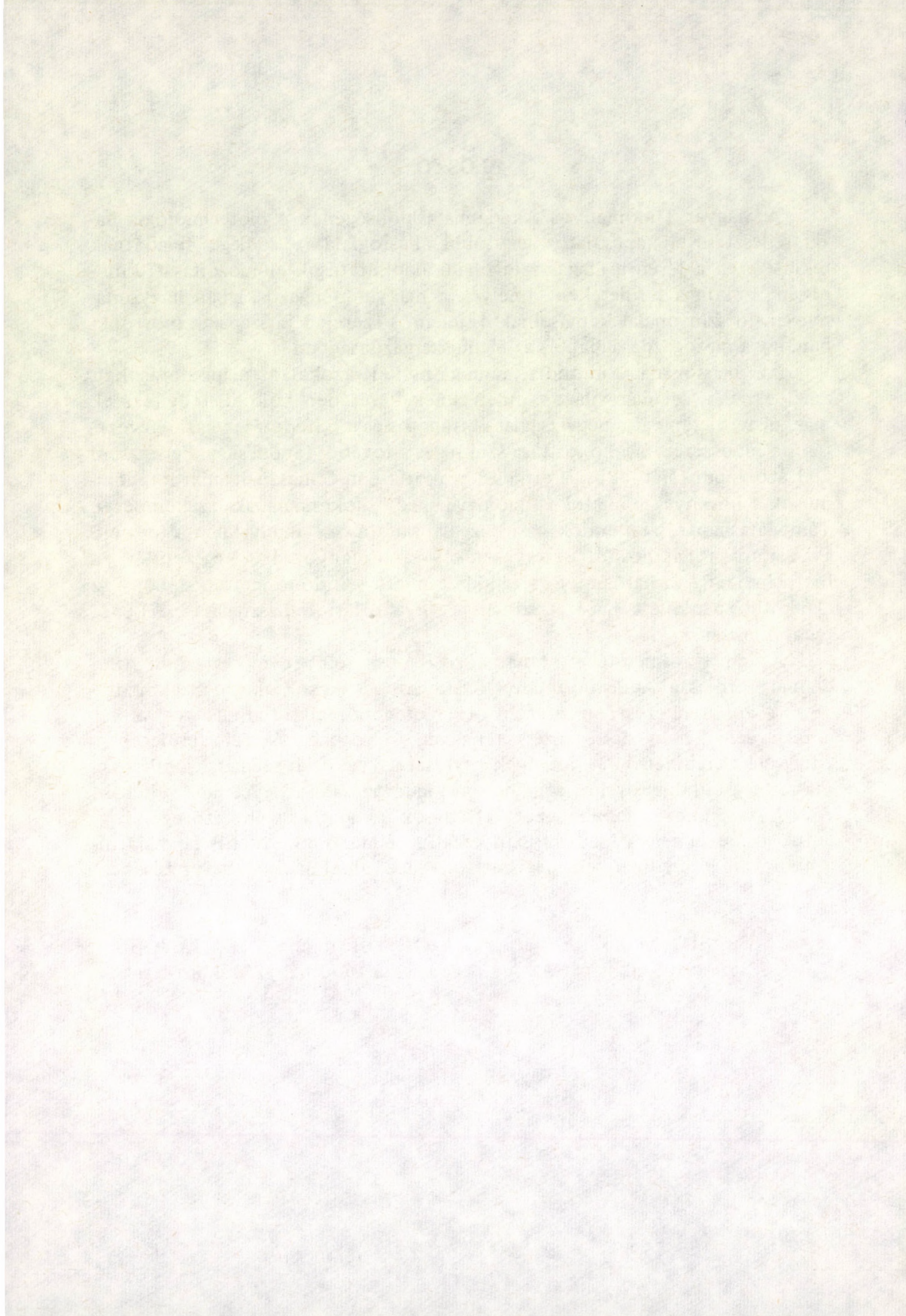
Az állásfoglalás kimondja, támogatni kell azokat az alapkutatásokat, amelyeknél a cél már világos, amelyeknek keretében külföldi felfedezések más, új területen való megvizsgálása kívánatos és a felfedezések hazai bevezetése, a módszerek meghonosítása szükséges a további fejlődéshez. Fejleszteni kell azok munkáját, akik a termelői gyakorlatban felhasznált mikroorganizmusok, növények, állatok fiziológiájának, biokémiájának szakemberei. Támogatásban részesítendőek azok az alapkutatások, amelyekben a termelő gyakorlatban hasznosított szervezeteket tanulmányozzák. Végezetül – a biotechnológia várhatóan gyors fejlődése miatt – különösen fontos, hogy az alapkutatásban elért hazai eredmények gyakorlati felhasználása zökkenőmentes legyen.

A fentiek ismeretében tanácskozott Veszprémben a Veszprémi Akadémiai Bizottság Agrártudományi Szakbizottsága és Biológiai Szakbizottsága közös rendezésében összehívott biotechnológiai tudományos ankét azzal a céllal, hogy összegezze a témában – elsősorban a régió területén – eddig elért eredményeket, amelyek egyrészt a gyakorlat számára ajánlhatók, másrészt a kutatás további céljainak meghatározásában figyelembe vehetők.

A tanácskozáson elhangzott előadások és ajánlás teljes szövegét foglaltuk össze ebben a kiadványban azzal a céllal, hogy ezzel is hozzájáruljunk az eddigi eredmények megismertetéséhez, alkalmazásuk bevezetéséhez.

DR. SUTKA JÓZSEF
a Biológiai Szakbizottság
elnöke

DR. DR. h. c. VARGA JÁNOS
az Agrártudományi Szakbizottság
elnöke



A BIOTECHNOLÓGIA JELENTŐSÉGE ÉS SZEREPE
A MEZŐGAZDASÁGBAN

A biotechnológia fogalma

A biotechnológia szó napjainkban már a nagyközönség körében is elterjedt, annak ellenére, hogy a jelentését nem is olyan egyszerű definiálni. Általános, tágabb értelmezésben biotechnológiának nevezik az életfolyamatokra alapozott gyártási eljárást. Ennél konkrétabb és pontosabb az a meghatározás, amely szerint a biotechnológia a biológiai rendszerek (mikroorganizmusok, növényi és állati sejtek, szövettenyészetek, sejtalkotórészek) képességének genetikai manipulációja, bizonyos gyakorlati feladatok megoldása érdekében. Vannak, akik a biotechnológia kifejezés jelentését nagyon leszűkítik, és csak az utóbbi évtizedben forradalmian új technikára, a génmanipulációra, illetve a rekombináns DNS technológiára gondolnak. Az utóbbi inkább egy kutatási iránynak nevezhető és aligha elégíti ki a biotechnológia ténylegesen ma elfogadott fogalmát.

A biotechnológia éppen úgy a tudományos kutatások eredményeit használja, mint más technológiai jellegű manipuláció. Bizonyos értelemben a növény-nemesítés is biotechnológiának tekinthető, amely teljes növény vagy populáció szinten integrálja és hasznosítja a genetika, fiziológia, agrotechnika, talajtan, növénykórtan stb. tudományágak eredményeit a fajtaelőállítás érdekében. A biotechnológiai sejtszintű manipuláció ennél még bonyolultabb, hiszen méginkább interdiszciplináris jellegű, akár a különböző objektumokra, akár a módszerekre, akár az elvégzendő feladatokra gondolunk. Az *innovációs lánc* mindenképpen magában foglalja az alap- és alkalmazott kutatásokat, különös tekintettel az interdiszciplináris kutatásokra. Ezek alapján új technológiát vagy eljárást dolgoznak ki, amelyeket azután üzemi méretű alkalmazássá fejlesztenek, például növényi sejttenyésztés → vírusmentes növények in vitro előállítása → üzemelés és forgalmazás.

Történeti áttekintés

Az ember tulajdonképpen ősidők óta alkalmazza a biotechnológiát. Az élő szervezetek működését egyszerű tapasztalati alapon befolyásolta és használta anélkül, hogy egyáltalán ismerte és értette volna, miről is van szó. Az

ember évezredekén keresztül kenyeret készített, alkoholos italokat erjesztett, tejet alvasztott, anélkül, hogy tisztában lett volna az ezt előidéző mikrobiális életfolyamatokkal. A tudomány fejlődésével, az ismeretek bővülésével az élő szervezetek ésszerű felhasználásának és befolyásolásának lehetősége megnőtt. Ebben különösen nagy szerepe volt a biológia, és elsősorban a molekuláris genetika fejlődésének. Ismertté vált a genetikai információ tárolása, replikációja, transzkripciója és translációja, vagyis a fehérjeszintézis.

A széleskörű tudományos kutatás eredményei alapján szemléletváltozás következett be. Kiderült, hogy egy adott élőlény genetikai állományából egy információs egységet megfelelő technika segítségével közvetlenül ki lehet venni és át lehet vinni egy másik élőlénybe. Ennél is érdekesebb és meglepőbb, hogy ez az élőlény az új információtartalom előírásait végre is képes hajtani.

Nagyon érdekes az a sejtbioológiai felismerés is, hogy a testi ún. szomatikus növényi sejtek totipontesek, vagyis a teljes növény regenerációjához szükséges valamennyi genetikai információt tartalmazzák, és ez az információ meghatározott sorrendben meg tud nyilvánulni, a sejt szomatikus embrióvá, majd növényi szervezetté fejlődhet. Lényeges továbbá az a felfedezés is, hogy ezen az alapon a sejtek differenciálódása és az egyedfejlődés átprogramozható.

Ezek és hasonló szenzációs eredmények nagyon gyorsan felkeltették a tudomány-, a gazdaságpolitikusok, valamint az üzletemberek érdeklődését. A fejlett tőkés országokban a biotechnológiával összefüggő alap és alkalmazott kutatások az 1970-es évek végén, 1980-as évek elején milliárd dolláros nagyságrendű támogatást kapnak. Több száz létszámú biotechnológiai fejlesztő vállalatok jöttek létre. Az Amerikai Egyesült Államokban a nagymértékű tőkebefektetés a mintegy 100 biotechnológiai vállalatra koncentráldott. A tőkebefektetés fokozatos növekedése 1981-ben érte el a maximumot, majd ezt követően némi csökkenés tapasztalható. A biotechnológiai nagyvállalatok egyrésze ma már megszűnt, és a további biotechnológiai kutatás kisebb létszámú vállalatoknál és egyéb akadémiai-egyetemi kutatóhelyeken folytatódik tovább. Az üzletembereknek tudomásul kellett venniük, hogy a biotechnológia egyelőre nem csodaszer, nem hoz olcsó és gyors konkrét eredményt, hanem sokkal inkább olyan perspektívát jelent, amely a jövőben további kitartó és drága kutatásokat igényel. A laborkutatások eredményeinek gyakorlati alkalmazásához méretnövelés szükséges. Ehhez drága vegyszerek, eszközök, épületek, jól képzett és nagyszámú biotechnológus stb. szükséges, amelynek biztosítása még az Egyesült Államokban sem látszik egyszerűnek és egyértelműen megoldottnak.

A jelenlegi felmérések szerint a világon évente körülbelül egy milliárd dollárt költenek biotechnológiai laboratóriumok felszerelésére és fejleszté-

sére. Ezekben a laboratóriumokban elsősorban molekuláris genetikával és sejtgenetikával foglalkoznak.

A hazai biotechnológiai kutatás első eredményei döntően az 1970-es évek második felében születtek. Magyar kutatók előljártak a növényi sejtgenetikai kutatásokban, például mutáns fúzióval, gyorsan és magas színvonalon adaptálják a rekombináns DNS technológiát (gensebészet), a monoklonális ellenanyag-termelésének technikáit. A biotechnológiai kutatásokban rejlő potenciális jelentőséget hazánkban is felismerték és a magyar kormány 1983-ban jóváhagyta „A biotechnológiai eljárások kutatása, fejlesztése és alkalmazása a mezőgazdaságban és iparban” c. biotechnológiai programot.

A biotechnológia fejlődését kétségtelenül gátolta az a tény, hogy a legutóbbi fél évtizedben az alapkutatások támogatása nemcsak relatív, hanem abszolút értelemben is csökkent. Nem sikerült a kutatási infrastruktúrát fejleszteni, a beszerzéseknél devizális nehézségek léptek fel. A biotechnológiát szolgáló alapkutatások támogatásában jelenleg pozitív irányú szemléletváltozásnak vagyunk tanui, és az ország szerény lehetőségeihez viszonyítva némi előrehaladás várható az alapkutatások anyagi támogatásában is.

Biotechnológia a mezőgazdaságban

1. Növénytermesztés

A növényi szövetek *in vitro* tenyésztését már mintegy 50 éve felfedezték, de szélesebbkörű elterjedése csak az 1970-es években következett be. A tenyészetek két csoportba sorolhatók. Az egyik csoportban a szövetek, szervek a táptalajra való helyezés után is megőrzik sejtjeik funkcióját és folytatják differenciálódásukat. Ebbe a csoportba tartoznak a merisztéma- és embriókultúrák. A másik csoportba a táptalajba adott növényi hormonok hatására megindul a sejtek specializáltságának elvesztése, végbemegy az ún. dedifferenciálódás folyamata. Ez az intenzív osztódás a kalluszövet kialakulását eredményezi.

A *merisztémakultúrákat* döntően mikroszaporításra és vírusmentesítésre használják. A növények merisztémája, amely differenciálatlan sejtekből áll, hosszú ideig megtartja osztódóképességét. Táptalajon, megfelelő inkubációs feltételek esetén, a merisztéma hajtást fejleszt. A merisztémakultúrák előnye abban van, hogy egyetlen merisztémából nemcsak egy, hanem több hajtás is nyerhető és a tenyészetekből felnevelhető növények száma jelentősen növelhető. Ezzel a módszerrel tehát a növények *in vitro* szaporíthatók, évente elvileg több millió növényt lehet előállítani. A MERIKLON Gazdasági Társulás és más vállalatok, intézmények a *mikroszaporítást* már üzemi szinten végzik. A módszert elsősorban a vegetatív úton szaporítható növényfajoknál (gyümölcs, dísnövény, zöldség, burgonya) használják.

A hatékony növényszaporítás mellett ez a módszer lehetővé teszi a *virusmentes* tenyésztésanyag előállítását is. Ismeretes, hogy a vírussal erősen fertőzött növények intezíven osztódó hajtásmerisztéma sejtjei általában vírusmentesek. Amennyiben sikerül megfelelően kicsi, valóban csak a tenyésztő-csúcsot tartalmazó szövetet táptalajra helyezni, akkor a belőlük felnevelt növények vírusmentesek lesznek. A vírusmentes merisztéma kultúrák könnyen szállíthatók és génbank céljából is értékesek. A cseppfolyós nitrogénben tárolt (mélyhűtött) merisztémák regenerálóképességüket, sok növényfaj esetében, hosszú ideig megőrzik.

Az *embriókultúrákat* már több évtizede használják. Ha a proembrió az embriógenesis korai stádiumában, a kukorica és búza esetében például a megporzást követő 13–14. napon kiperarálják a sterilizált magkezdeményből és hormon nélküli alaptáptalajra helyezik, akkor az embriógenesis folytatódik. Az embriógenesis befejeződése után a kifejlett embrió a táptalajon kicsírázik és normális növényé fejlődik.

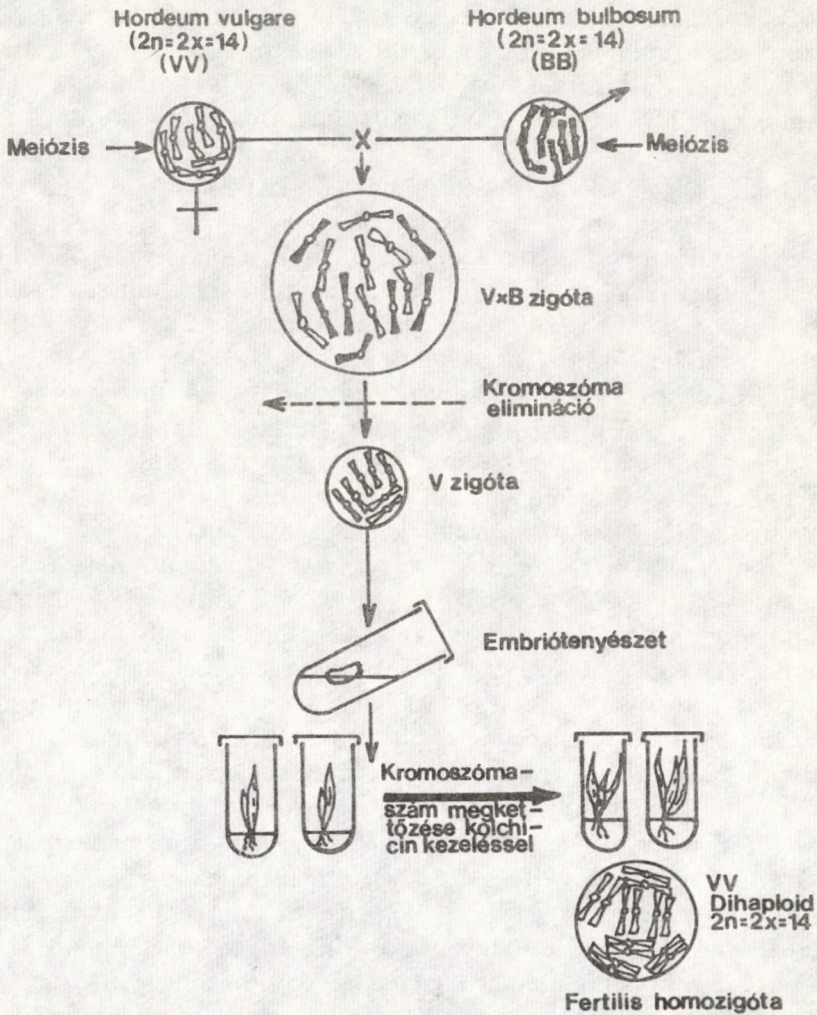
A faj- és nemzetségkeresztezésekben gyakran elfordul, hogy a megtermékenyülés végbemegy ugyan, de a zigóta kialakulását követően ún. *inkompatibilitás* (összeférhetetlenség) nyilvánul meg és a hibrid embrió elpusztul. Némely esetben az összeférhetetlenség az embrió és endospermium között alakul ki. Az embriókultúra felhasználásával sikerült például árpa x búza hibridet előállítani.

Embriótenyésztet használnak az egyik haploidelőállítási módszernél is. Két árpafaj, a termesztett *Hordeum vulgare* és a vad *Hordeum bulbosum* keresztezésével 70 százalékos magkötést is el lehet érni, de az embriók kifejlődéséhez és felneveléséhez mesterséges embriótenyésztés szükséges. A hibrid embriókból a *H. bulbosum* kromoszómái fokozatosan eliminálódnak és így haploid kromoszómaszámú *H. vulgare* csíranövények jönnek létre. Spontán vagy kolchicinnel indukált rediploidizálás után homozigóta növények állíthatók elő (*1. ábra*).

Ha az inkompatibilitás abban jut kifejezésre, hogy a pollen a bibe felületén nem csírázik, a pollentömlő növekedése a bibeszálban megáll, vagy a tömlő nem éri el az embriószakot, akkor *in vitro megtermékenyítést* is lehet alkalmazni. A módszer abból áll, hogy az ováriumból megfelelő placenta darabból kioperálják az ovulákat, majd megfelelő táptalajra helyezik őket. A porzóként használt fajról külön gyűjtenek virágport és táptalajon inkubálják a tömlőhajtást. Az így előkezelt pollent átviszik az embriószakokat tartalmazó tenyésztésre, ahol megfelelő feltételek biztosítása esetén a termékenyítés bekövetkezik. Az ovulában fejlődő embriókból vagy a primér tenyésztetben, vagy további átoltást követően növények fejlődnek.

Az embrió és merisztéma tenyésztési eljárás az *in vivo* körülményeket igyekszik fenntartani. Ezzel szemben a kallusztenyésztési eljárás a sejtek

dedifferenciálódását idézi elő. A *kallusz* tehát dedifferenciálódott sejtek halma. A kalluszosodás természetes (β -indolecetsav) és szintetikus (2,4-diklorfenoxi-ecetsav és naftil-ecetsav) auxinokkal váltható ki és tartható fenn. A fenntartáshoz és a szaporításhoz a primér kalluszt többször átoltják (passzálják). Kallusz indukálására általában intenzíven osztódó szöveteket, embriókat, szerveket használnak. A tenyészetbe vitt szövetet *inokulum*nak nevezik.



1. ábra: Haploid árpa előállítási sémája kromoszóma eliminációval.

A kallusztényészetben a dedifferenciáltság állapota megszüntethető és kiváltható a differenciálódás folyamata (szomatikus embriógenézis), amely a teljes növény regenerációját eredményezi. A dedifferenciálódás alapfeltétele a kívülről adott auxinok mennyiségének jelentős mértékű csökkentése mind abszolút értékben, mind a citokininekhez viszonyított arányukban.

A növényrenegálás függ a kallusztényészet időtartamától, a tenyésztésre használt szövet eredetétől, genotípusától. Előregedett kalluszokból nehéz vagy lehetetlen növényt felnevelni. Az éretlen embrió vagy a hajtásmerisztéma eredetű kalluszsövet elfogadható regenerációs képességgel rendelkezik. A kukoricánál jól ismert, hogy egyes beltenyésztett vonalak kalluszai viszonylag könnyen, másoké ezeddig gyakorlatilag nem regenerálthatók. A búzában a Chinese Spring fajta igen jól, a Cheyenne fajta nagyon rosszul regenerálódik. Chinese Spring/Cheyenne kromoszóma szubsztitúciók felhasználásával megállapítottuk, hogy a növényregenerációra való képességet egészében poligén rendszer determinálja. Némely kromoszóma (7B, 7D, 1D) jelentősen csökkenti a regenerálódóképességet.

A hatékony növényregenerálódást az üvegházi vagy szántóföldi kiültetéshez megfelelő edzési folyamatnak kell követni, ami azt jelenti, hogy a lombikban ideális körülmények között fejlődő csíranövénynek először páradús, megfelelő hőmérsékletű és megvilágítású feltételeket kell biztosítani, majd fokozatosan hozzászoktatni a természetes körülményekhez.

Elvileg azt várnánk, hogy a sejt- vagy szövettenyésztésből regenerált növények genetikailag identikusak vagy nagyon hasonlóak a kiindulási növényekhez. Ma már több száz kutatási eredmény arról tanuskodik, hogy a tenyészetekben és a regenerált növényekben spontán genetikai variáció figyelhető meg. Ezt a variációt *szomaklonális variációnak* nevezték el. Gyakran jelentős kromoszóma számbeli és szerkezeti változás figyelhető meg, amely a növény morfológiai és élettani változásában is megnyilvánul. A jelentős kromoszóma szintű változások csökkenthetik a szomaklonális variáció mint új genetikai alapanyag neumesítési értékét. Némely szomaklon normális kromoszóma konstitúcióval rendelkezik és színében, rezisztenciában stb. eltér az eredeti, kiindulási anyagtól. Ebből arra lehet következtetni, hogy a genetikai változás kiterjed a génekre is. A genetikai instabilitást általában a táptalajban levő auxinnak és citokinineknek, továbbá a természetes körülményektől eltérő mesterséges stressz viszonyoknak tulajdonítják.

A szomaklonális variáció elősegítheti a növényneumesítésben szükséges génállomány bővítését, ugyanakkor hátrányos lehet abban az esetben, ha a sejt- és szövettenyésztet a géntartalékok megőrzésére kívánjuk felhasználni.

A növényi szövettenyésztési technikát felhasználják a *mutánssejtek előállítására*, illetve *izolálására* is. Ennek előnye abban van, hogy laboratóriumi körülmények között sejtszinten, szuszpenziós sejt kultúrában lehet szelektálni óriási, több ezer vagy akár millió sejtet tartalmazó populációból.

Egy sejt egyenértékűnek tekinthető egy teljes növényvel, mivel – elvileg legalábbis – minden tenyésztett sejtől növény regenerálható. A sejt- és szövettenyésztetek természetesen olyan mutánsok szelekciójára alkalmasak, amelyek a tenyésztett sejtek szintjén is megnyilvánulnak. Ilyen tulajdonság például a toxinrezisztencia, hidegtűrés, sőtűrés, herbicidrezisztencia, aminosavtúltermelés.

Előfordul, hogy a sejtszinten mutánsnak ítélt sejt a regenerált növényben nem jelenik meg, vagyis csupán alkalmazkodásról van szó (epigentikus változás), ezért az *in vitro* szelektált mutánsok öröklődéséről keresztezéssel és utódellenőrzéssel meg kell győződnünk.

A mutáns sejtek szelekciója alapozódhat a spontán variációra (szomaklonális variáció), ugyanakkor a kémiai, illetve fizikai mutagének lényegesen növelhetik a megjelenő mutánsok gyakoriságát.

A mutáns sejtek szelekciójának az a lényege, hogy a táptalajhoz herbicidet, patotoxint, antibiotikumot, aminosav analógot stb. adunk, majd az ellenálló (túlélő) sejtekből, sejtagregátumokból vagy kalluszokból teljes növényt regenerálunk. Ha a regenerált egyedben is megjelenik az adott tulajdonság (pl. herbicidrezisztencia) akkor ellenőrizzük, hogy az az új tulajdonság öröklődik-e.

Ezzel a módszerrel sikerül például a *Helminthosporium maydis* toxinjának ellenálló kukoricavonalakat előállítani. Ismeres, hogy ennek a gombának a T-rassza a citoplazmáson himsteril kukorica vonalakat fertőzi. A normál vonalakat ellenállnak a fertőzésnek. Gegenbach és munkatársai (1977) a fogékony himsteril növények kallusztenyésztésében toxinrezisztens sejtvonalakat szelektáltak, majd a gombafertőzésnek ellenálló sejtekből növényeket regeneráltak. A rezisztencia anyai úton öröklődött. A rezisztens vonalokból izoláltak mitokondriumok, ugyanúgy, mint a természetes rezisztenciát mutató növények mitokondriumai a toxin adásra nem károsodtak, így a rezisztencia kialakulása valószínűleg a mitokondrium-DNS mutációjának a következménye.

A dohány szövettenyésztésben Picloram herbiciddel szemben ellenálló mutáns sejtvonalakat szelektáltak. A sejtvonalakból regenerált növényekkel végzett keresztezésekből kiderült, hogy ezt a tulajdonságot egy domináns gén ellenőrzi. A búzában például Atrazin rezisztens sejtvonalat állítottak elő, amelynek génje a kloroplasztiszban található.

Szövettenyésztésből sikerült aminosav (pl. metionin) túltermelő mutáns-

kat is szelektálni, igaz, a mutánsokból regenerált növények a kukorica esetében nem szintetizáltak több metionint.

Ha a mikro- vagy makrospórákat tartalmazó portokból (anthéra) vagy magházból (ovárium) *in vitro* sikerül növényeket regenerálni, akkor haploidokat kapunk. Jelenleg a mikrospóratenyészetek felhasználása jóval elterjedtebb, mint a makrospóratenyészeteké. A mikrospórák a portokból való kipreparálás nélkül is tenyészethetők, vagyis lehetőség van arra, hogy a mikrospóra fejlődését *in vitro* az érett pollent eredményező mikrogametogenezisből profita irányba tereljük. Az *in vitro* androgenézis során az egymagvas mikrospórákból vagy proembrió, vagy kallusz képződik. Embriógenézissel a proembrióból embrió, majd haploid csíranövények fejlődnek. A haploid kalluszból organogenezissel lehet haploid növényeket indukálni. (2. ábra). Az androgenézis nagymértékben függ a genotípustól és a tenyésztés hőmérsékletétől. Az optimális hőmérséklet 25°C és 30°C.

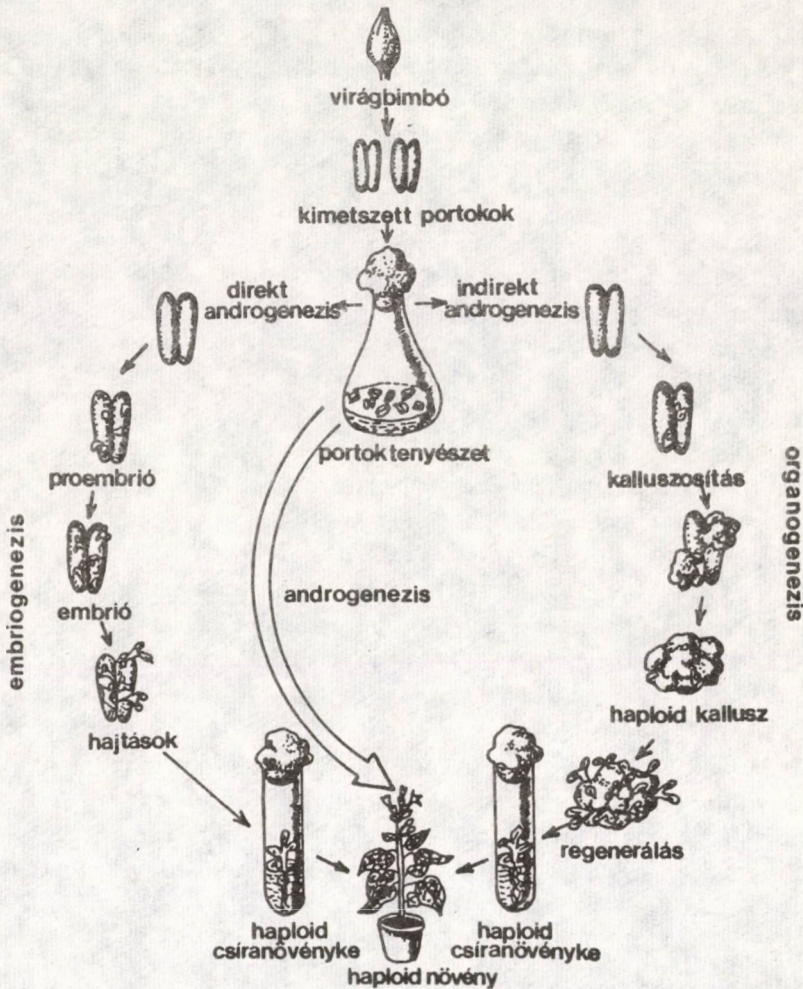
A portoktenyésztés és növényregenerálás során spontán rediploidizáció következhet be, amely a búzánál a 30 százalékot is elérheti. A kolchicin kezeléssel nagyobb gyakoriságú rediploidizáció is nyerhető, de az így kapott dihaploidokban gyakrabban fordulnak elő aneuploidok és egyéb kedvezőtlen változások és ezért az utóbbi időben a portok kultúráknál a spontán rediploidizációt előnyben részesítik. A dihaploidok stabil homozigóták és így például a kukoricánál beltenyésztett vonalak, a búzánál, rizsnél, dohánynál stb. fajták előállítására használhatók.

A növényi sejtek tényleges genetikai manipulációjának ma már egyik alapvető feltétele a *protoplasztok* előállítása. Protoplasztnak nevezzük a sejt-fal nélküli, sejtmembránnal határolt növényi sejtet. A poliszaharid sejt-falat enzimkeverékkel (celluláz, hemicelluláz, pektináz) távolítják el. A frissen izolált protoplasztok az enzimoldatból történt kimosás után táptalajon tenyészthetők, a sejt-falképződés után teljes növények állíthatók elő. Sajnos, ez a kísérleti rendszer nagyon genotípus függő. A gabonafélékre egyelőre nem sikerült jól működő protoplaszt rendszert kiépíteni.

A protoplasztok izolálása lehetővé tette, hogy azonos vagy különböző eredetű protoplasztok fúziója révén *szomaikus hibrideket* állítsanak elő.

A frissen izolált protoplasztok spontán módon nagyon ritkán fuzionálnak. A membrán felületek közvetlen molekuláris kapcsolatának kialakulásához a töltésviáshoz módosítása szükséges. Ezt szolgálják a különböző fúziós módszerek. Korábban különböző kémiai ágenseket (fúziogének) használtak a fúziók gyakoriságának növelésére. Először NaNO₃ kezelést alkalmaztak, de ez alacsony fúziós gyakoriságot eredményezett. Hatékonyabbnak bizonyult a 37°C-on magas Ca⁺⁺-tartalmú és 8–10 pH-jú oldattal végzett 30 perces kezelés. Ennél a módszernél a protoplasztok gyakran károsodtak. A legáltalánosabban használt módszer a Ca⁺⁺ jelenlétében végzett

polietilén-glükol (PEG) kezelés, amelynek hatására a protoplasztok szorosan összetapadnak, majd a membránfúzió eredményeképpen megtörténik a protoplasztok egybeolvadása, a citoplazmák összekeverődése. A PEG által indukált fúzió gyakorisága változó, az átlag 10% körül van. A protoplasztok fúzióját elektromos depolarizációval is elérhető. Ennek a módszernek az előnye abban van, hogy a kémiai fúzióéknál viszonyítva a protoplasztok életképességét kevésbé befolyásolja, ugyanakkor közel 100 százalékos fúzió eredményez.



2. ábra: Portoktenyészet felhasználása haploid növények előállítására.

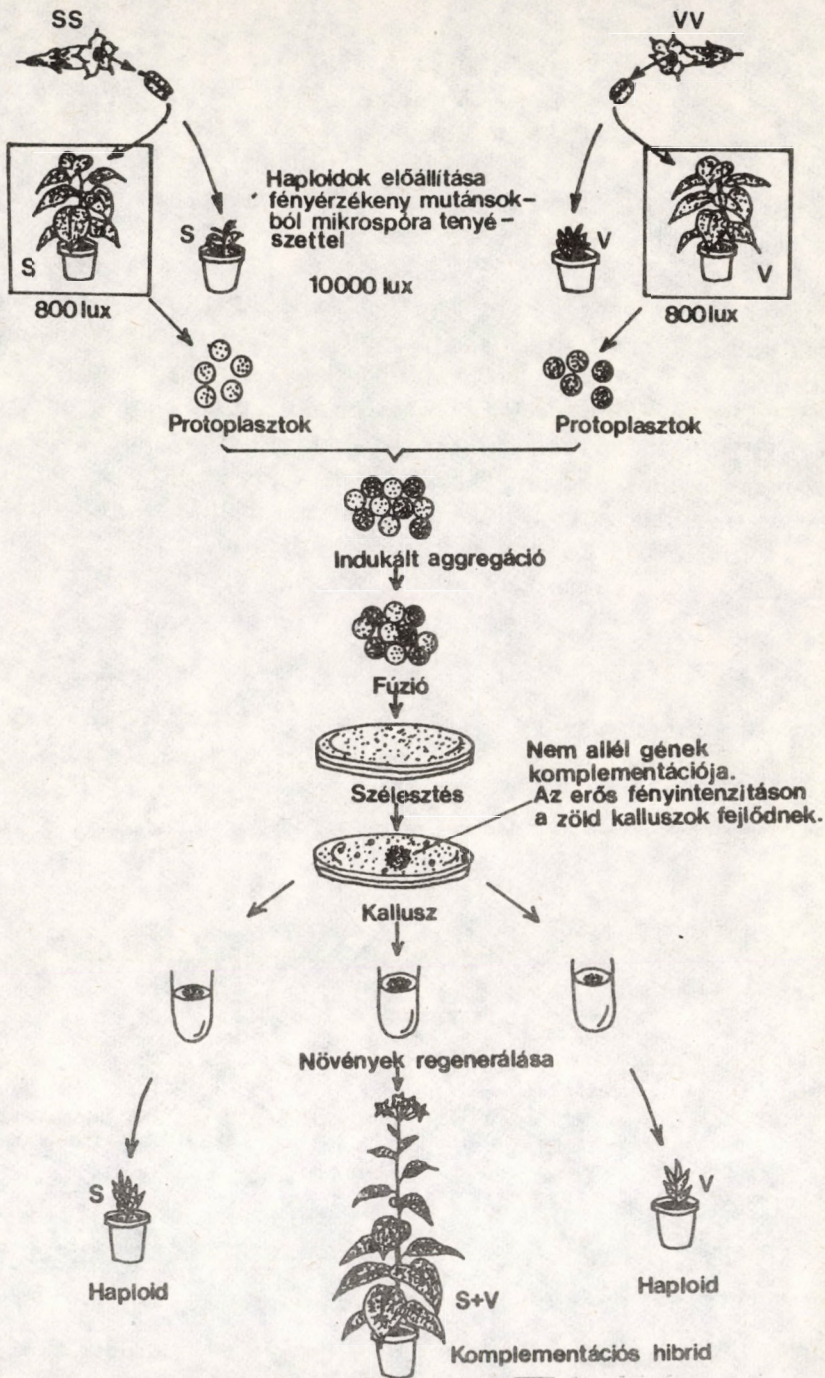
A protoplaszt-fúzió lehetővé teszi, hogy különböző fajok sejtmagjai egyetlen sejtbe kerüljenek. A különböző fajok sejtmagjait egyaránt tartalmazó sejtet *heterokrionnak* nevezzük. Ha a fúzióban azonos fajú protoplasztok vesznek részt, *homokarionok* keletkeznek. A fúziót követően a hibridsejteket a sejt keverékből mikromanipulátorral vagy szelekciós módszerrel különítik el. A sejtfal újraképződik és sejtosztódás következik be. Az első sejtosztódás végbemehet úgy, hogy csak az egyik szülői sejtben történik le a mitózis. Az ilyen ún. *aszinkron mitózisok* következtében az egyik szülő sejtmagja gyakran elkülönül, majd eliminálódik. A mitózis egyszerre is megindulhat a heterokarion mindkét sejtmagjában.

A szomatikus sejthibridek felismerésében lényeges szerepe van a szelekciós technikának. Tételizzük fel, hogy a v (virescent) és az s (sublethal) gének a homozigóta dohány növények normális fotoszintézisét erős megvilágításnál (10 000 lux) gátolják. A nem allél recesszív gének komplementációjának következtében a heterozigóták normálisan növekednek. Ha az s protoplasztot együtt tenyésztik a v protoplaszttal, akkor erős megvilágítás esetén csak a fuzionált heterozigóták ($s+v$) tudnak „zöld” kallusszá, illetve növényekké fejlődni. Az $s+s$ vagy $v+v$ fúziók erős fény hatására kifehérednek. A haploid sejtek hasonló feltételek között halvány színűek maradnak és gyenge, apró növényekké differenciálódnak (3. ábra). Hasonló szelekciós rendszer hő- és vegyszerérzékeny mutánsokkal is kiépíthető.

Protoplaszt-fúzióval fajon belüli és fajok közötti szomatikus hibridizáció egyaránt végezhető. Az első szomatikus amfidiploid fajhibrid növényt *Nicotiana glauca* és a *Nicotiana langsdorffi* dohányfajok protoplasztjainak fuzionáltatásával állították elő. Sikerült előállítani a paradicsom (*Lycopersicon esculentum*) egyik világos zöld mutánsából ($2n = 24$) és egy dihaploid burgonya (*Solanum tuberosum*, $2n = 24$) kallusztenyészetéből izolált protoplasztok fúziójával a szülői kromoszómákat egyesítő ($2n=48$), valamint annál nagyobb kromoszómaszámú szomatikus hibridnövényeket is. Ezek a növények a két szülőhöz viszonyítva lassúbb növekedést mutattak. Egy részük hosszú, megnyúlt gumókat, másik részük kis bogyókat fejlesztett. Magképződést még visszakeresztezéssel sem sikerült elérni.

Ha a fúziós partnerek között az evolúciós különbség még nagyobb, akkor a hibridsejtből az egyik faj kromoszómái a növény regenerálása előtt részben vagy teljes egészében elvesznek. Ha az egyik fajból csak néhány kromoszóma marad meg a szomatikus hibridben, akkor ún. asszimétrikus hibrid keletkezik.

Valamelyik szülő kromoszómáinak elvesztése a protoplasztok fúzió előtti besugárzásával meggyorsítható. Az egyik kísérletben a 9000 R dózissal X-sugárral kezelt petrezselyem (*Petroselinum hortense*, $2n=22$) levélprotoplasztokat fuzionáltatták az albino sárgarépa mutánsal (*Daucus carota*).

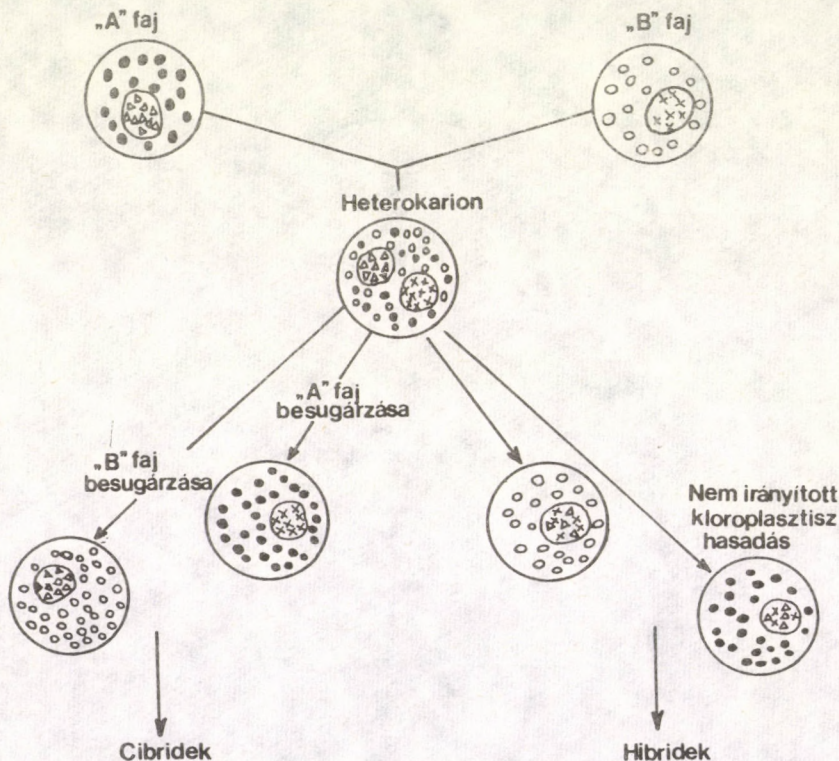


3. ábra: Szomatikus sejthibridek előállítása a nem allél fényérzékeny dohány mutánsok között.

2n=18). A fúzió kijavította a sárgarépa mutáns hibáját és a kisselektált zöld szövetekből teljes növényt lehetett regenerálni. A fúziót követően a regenerált növények gyökércsúcsaiban 2n=19 kromoszómaszámot találtak (DUDITS 1982). Ezeknek a növényeknek fenotípusos és biokémiai jellemzése arra utal, hogy a fúzió eredményeképpen petrezselyem gének kerültek át a répa genomba. A besugárzás így elősegítette a szomatikus inkompatibilitásból származó nehézségek csökkentését.

Ebből a kísérletből egyrészt az következik, hogy rokonságilag távoli fajok vagy nemzetségek között a szomatikus hibridnövények létrehozása a szomatikus inkompatibilitás miatt igen nehéz vagy lehetetlen, másrészt a fúzió révén kromoszóma szegmentum vagy gén átvihető, még akkor is, ha az egyik szülő genomja a fúziót követően fokozatosan eliminálódik.

A különböző eredetű protoplaszt-fúziók esetén mindkét szülő kloroplasztiszi és mitokondriumi bekerülnek a hibrid sejtbe. Ez új lehetőséget jelent az extranukleáris gének tanulmányozásában. A *cibrideknek* nevezett fúziós termékekben az egyik szülő nukleáris génjei mellett különböző eredetű citoplazmatikus organelumok vannak (4. ábra). Ilyen szomatikus



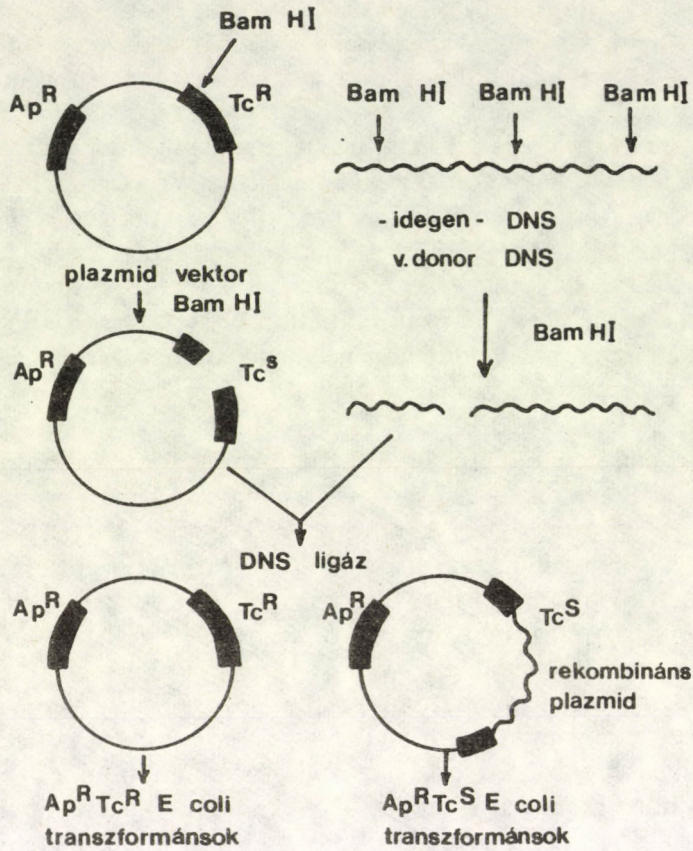
4. ábra: Nukleáris és kloroplasztisz genomok hasadása a protoplaszt fúziót követően.

cibrideket úgy próbálnak létrehozni, hogy az egyik vagy másik szülő protoplasztját nagy dóziszú X-sugárzással kezelik és ezáltal a sejtmagot eltávolítják. Ebben a kísérleti rendszerben a sugárzással fregmentált sejtmagból történő génátépülés lehetősége nem zárható ki, ezért a sejtmageltávolításnak más módszere (például a sejtmag kicentrifugálása) célravezetőbbnek és pontosabbnak látszik. A protoplaszt-fúzióknak ez a módszere lehetővé teszi többek között a mitokondriális eredetű himsterilitás átvitelét is. Az idegen kloroplasztiszok között sikerült rekombinációt is kimutatni. A protoplasztok segítségével már sikerült nukleáris eredetű metafázisos kromoszómákat is izolálni és átvinni egyik fajból a másikba. Például előállítottak olyan sejtvonalat, amelyben a búzakromoszómákkal együtt egy kisméretű sárgarépakromoszóma is található. Ezzel a módszerrel szintén átvihetőek gének a fajok között.

A protoplasztok felhasználhatók DNS transzformációra is akár rendelkezésre áll izolált gén, akár az összes DNS jelenti az átviteli rendszert. Több kísérletben is igazolták, hogy a növényi protoplasztokat DNS-oldattal inkubálva a DNS-molekulák egy része bejut a növényi citoplazmába, illetve bizonyos esetekben kimutatható a sejtmagban is. Idegen DNS bejuttatására a recipiens sejtbe más módszereket is kezdenek kifejleszteni (mikroinjektálás, elektroporáció.)

A génátvitelnek legmodernebb és legpontosabbnak ígérkező lehetőségét a génsébeszet vagy pontosabb elnevezéssel a rekombináns DNS technológia jelenti. A génsébeszet lényege, hogy restriktációs endonukleáz enzimek segítségével a donor DNS-t és a vektor DNS-t (például plazmidot) meghatározott helyeken hasítják, majd a két DNS molekulát ligáz enzimmal összekötik. A manipulációt tekintsük át egy konkrét példán. Az utóbbi időben gyakran használt vektor DNS-ként a pB322 plazmidot használják, amely replikálódni képes az *E. coliban*, hordoz egy ampicillin (*Ap*) és egy tetraciklin (*Tc*) rezisztencia gént, valamint több egyedi felismerő helyet restriktációs endonukleázok számára. A plazmid DNS-t linearizálják BamHI restriktációs enzimmal. Az idegen vagy donor DNS-t, amit be akarunk építeni a vektor plazmidba, szintén BamHI-gyel hasítják. Ha ezután a vektort és a donor DNS-t összekeverik, akkor a BamHI hasításakor keletkező komplementor ragadós végek megtalálják egymást és H-kötéssel kapcsolódnak, majd a hozzáadott ligáz enzim kovalens kötést létesít a molekulák között. Így *in vitro* hoztak létre *rekombináns plazmidot*, amely vektorból és donor DNS-ből áll (5. ábra).

Sok plazmid összezárul anélkül, hogy idegen DNS épülne be, ezért a *rekombináns plazmid DNS-t szelektálják*. Ebből a célból az így létrehozott plazmid populációt *E. coli* baktériumba transzformálják. A szelekció alapja az, hogy a plazmidot tartalmazó transzformánsok az ampicillines agar lemezen telepeket képeznek, mivel ampicillin rezisztencia gént (*Ap^R*) hordoz-



5. ábra: Donor DNS beépítése a vektor plazmidba.
R: rezisztens, S: szenzitív, Ap: ampicillin, Tc: tetraciklin.

nak. A $Bam\ H\ I$ restrikciós enzim a tetraciklin rezisztens (Tc^R) gént kettéhasítja. Amennyiben ide idegen DNS épül be, a Tc^R gén inaktíválódik, a baktérium tetraciklin érzékeny (Tc^S) transzformánsok hordoznak rekombináns plazmidot. A génszűrésrel történő génátvitel több lépést foglal magába:

1. A kívánt növényi gén klónozása.
2. A klónozott DNS beépítése egy vektorba például plazmidba, vírusba, transzpozonba.
3. A vektorral a klónozott DNS átvitele a recipiens növényi protoplasztba, vagy *Agrobacterium tumefaciens* baktériumba, amely – fertőzve a növényt – bejuttatja a T-DNS-ébe épített gént.

4. Az átvitt DNS beépülése a recipiens növényi sejt nukleáris kloroplasztisz vagy mitokondriális DNS-ébe.
5. A beépült DNS replikációja és megnyilvánulása a recipiens sejtben.
6. A transzformált sejtek szelektálása a kezelt sejtpopulációból.
7. A szelektált sejtekből teljes növény regenerálása.
8. Az átvitt gén megnyilvánulásainak ellenőrzése növényi szinten.

A növényi gének klónozása azzal kezdődik, hogy a génekről megfelelő mennyiségű és tiszta mRNS-t állítanak elő és a mRNS-ről kétfonális DNS-másolatot (komplementer DNS, c-DNS) készítenek, majd a c-DNS fragmentumokat bakteriális plazmidba vagy fágba építik. Az így létrehozott kiméra plazmiddal a baktériumtenyészet transzformálható és az egyes transzformánsok által hordozott plazmidok kolóniahibridizációval azonosíthatók. Ezzel a módszerrel már több specifikus növényi gént (például kukorica zein génje) hordozó DNSm fragmentumot is létrehozta. Ezek a DNS fragmentumok in vitro a növény transzformációs vektoraival összeépíthetők.

A tisztított és izolált rekombináns plazmid molekulák közvetlenül bejuttathatók a protoplasztba, majd növények regenerálhatók. Kimutatták, hogy a protoplasztok felveszik a bakteriális plazmidot és a bevitt gének megnyilvánulnak a növényekben.

A génátvitel történhet az *Agrobacterium tumefaciens* talajbaktérium Ti-plazmidja mint transzformációs vektor segítségével is. A Ti-plazmid elnevezést a tumorindukáló tulajdonsága miatt kapta. A tumorképzéssel kapcsolatos gének nem szabálytalanul szétszórva, hanem a cirkuláris Ti-plazmidok genetikai térképének egy specifikus helyén (T-DNS) találhatóak. A sebzésen keresztül történő baktériumfertőzés hatására kialakul a tumoros állapot, amikor a szövetek növényi hormontermelővé válnak és különleges aminosavszármazékokat, például oktopint, nopalint szintetizálnak. A megfigyelt változásokért a Ti-plazmidból származó T-DNS felelős, amely a növények sejtmagi DNS-ébe integrálódik. A tumoros szövetekben T-DNS specifikus fehérjék mutathatók ki. Igazolták, hogy a T-régióba épített idegen gén a Ti-plazmid közvetítésével bevihető a tumoros sejtek genomjába és a metotrexát-rezisztencia génje a tumoros dohánysszövetekben érvényre jut. Az *A. tumefaciens* baktériummal végzett fertőzés során így a vektor-DNS bejuthat a kétszikű növények (dohány, napraforgó) sejtjeibe. Az egyszikűeknél, például gabonafélék, ez az út gyakorlatilag járhatatlannak látszik, mert ezek a növények *A. tumefaciens* baktériummal nem fertőződnek.

A génátvitelre némely növényfajnál (keresztes virágúak) transzformációs vektorként a karfiol mozaikvírust igyekeznek felhasználni. Ennek a génátviteli rendszernek hátránya, hogy a mozaikvírusba csak kisméretű gének építhetők be és a fertőzés kevés növényfajra korlátozódik.

Az újabb kutatások eredményei szerint az elektroporációs DNS bevitel bizonyítottan nagy hatékonyságú.

A levegő szabad nitrogénjének megkötése döntően pillangós virágú növények gyökerein szimbiózisban élő nitrogénkötő baktériumban, a *Rhizobiumok*ban történik. Van olyan törekvés, hogy a nitrogén fixáló (Nif) géneket a pillangós növényekből rekombináns DNS technológiával átvigyék például a gabonanövényekbe is abban a reményben, hogy az átvitel után ezek a gének az új genetikai környezetben is fognak nitrogént kötni. Mivel a pillangós növény és a baktérium az evolúció folyamán adaptálódott egymáshoz, a két élő rendszer genetikai funkcionális kapcsolatot létesített, így a Nif-gén átvitelének nehézségeit valószínűleg nehezen tudják leküzdeni.

A növényi génebesztet az 1970-es évektől rendkívül gyorsan fejlődik. A génebesztet egyelőre inkább csak elméleti jelentőségű, de várható, hogy bizonyos területeken később a növénynevelés is hasznosítani fogja a betegségek ellenállóképességének javítására, az ozmoreguláció módosítására, a magban tárolt fehérjék összetételének javítására. A növényi génebesztet bizonyára hozzájárul majd a génállomány gazdagításához, a genetikai diverzitás növeléséhez. Természetesen azt aligha lehet remélni, hogy ezek a módszerek alternatívái lesznek a hagyományos növénynevelési módszereknek.

2. Állattenyésztés

A biotechnológiai kutatások napjainkban látványosan fejlődnek és hatalmas lehetőségeket rejtenek magukban az állattenyésztés számára is. A biotechnológia eddig sem volt ismeretlen az állattenyésztésben, hiszen a mesterséges megtermékenyítést és az ondó mélyhűtését már korábban is alkalmazták. Ma a kutatás döntően az embrió manipulálására irányul.

A mesterséges megtermékenyítés az ondó mélyhűtéses tárolásának megoldásával új alapokra helyezte a házi állatok tenyészték becslését, a szelekcióját és a párosítási eljárásokat. Az *embrióátültetés* ezeken kívül további előnyöket is magába foglal, így például lehetővé teszi az embriók ivarmeghatározását, a szexált embriók átültetését, az identikus ikrek létrehozását, a klónozást stb. Az újabb kutatások azt mutatják, hogy a morfológiai és funkcionális szempontból megfelelőnek ítélt embriók mélyhűthetők, majd a mélyhűtött embriók felolvasztás után átültethetők. Így *embrióbankokat* is létre lehet hozni, amelyek az értékes génkészleteket megőrzik, tárolják a jövőben sorra kerülő elméleti kutatások és gyakorlati felhasználások céljából.

Az *embrióátültetés* az egyidőben érő petesejtek számának növelését, a megtermékenyült petesejtek izolálását, vizsgálatát, tárolását és másik nőne-

mű állat (recipiens) méhébe való áthelyezését jelenti. Az embrióátültetés módszere már a gyakorlati megvalósítás szakaszába lépett, különösen a szarvasmarha tenyésztésben. Az embriókat szolgáltató (donor) teheneket a legnagyobb tenyészértékű bikanevelő egyedek közül választják ki. A megfelelő számú embrió előállítására céljából a donorok petefészékét stimulálják, hogy az egyetlen fejlődő és ovuláló tüsző helyett több fejlődjön ki és ovuláljon. Ezt a jelenséget *superovulációnak* nevezzük. A donorok mesterséges megtermékenyítése után az embriókat kimossák a méhből. A kinyeréstől az átültetésig az embriókat károsodás nélkül in vitro körülmények között életben kell tartani. E célból foszfáttal pufferált sóoldatot ($p=7,2-7,4$) és $35-37^{\circ}\text{C}$ állandó hőmérsékletet használnak. Az így tárolt, megfelelően előkészített embriót néhány óra múlva sebészeti eljárással vagy ún. vértelen úton beviszik az azonos ivarciklus-stádiumban levő recipiensbe.

Az embrióátültetés lehetővé teszi, hogy speciális beavatkozásokat hajtsanak végre. Az egyik ilyen beavatkozás az *ikrek előállítása* mikrosebészeti módszerrel. Ennek az a lényege, hogy az embriókat sebészeti úton megfelelően darabolják. Az eddigi kísérletek szerint az embriók felezésére a kétsejtes stádiumtól a késői blasztocisztáig minden stádium alkalmas.

Egy másik lehetőség, amelyet szintén az embrióátültetés módszere hozott felszínre, az *embriók nemének meghatározása*. Az 1970-es évek végén arról számoltak be, hogy az embriók ivarát citogenetikai módszerekkel meg lehet állapítani. Az ivart meghatározó kromoszómákat az embrionális sejtekből mutatták ki. Már 6–7 napos szarvasmarha-embrió ivara meghatározható, és ezáltal lehetőség nyílik arra, hogy még az átültetés előtt megállapítsák a zigóta ivarát. A kromoszóma vizsgálathoz szükséges sejtmintavétel nem károsítja az embriókat, azok minden akadály nélkül átültethetők, sőt szükség esetén, mélyhűthetők is. Ezzel az eljárással a kromoszómás ivarmeghatározáson kívül arra is lehetőség nyílik, hogy kiszűrjék az esetleges kromoszóma rendellenességeket, örökletes terheltséget és a citogenetikailag egészséges egyedeket szaporítsák tovább.

Az *ivararányok irányított megváltoztatásának* más lehetősége is van. A nőivart determináló X- és a hímivart meghatározó Y-kromoszómákat hordozó spermiumokat speciális módszerrel szétválasztják, vagyis ivarra orientált spermát hoznak létre. A spermiumok szétválasztásának több módszere is ismeretes. Az egyik az ún. áramlásos sejtanalízis, amely lézersugár alkalmazásával képes észlelni és szortírozni az X- és Y-kromoszómát hordozó spermiumokat. Egy másik módszer szerint a spermiumok szétválogatását az X- és az Y-kromoszómát hordozó ivarsejtek eltérő ülepedési sebessége alapján próbálják megoldani (szedimentációs módszer). Ugyancsak biztató kísérletek folynak az ún. monoklonális antigének hasznosítása céljából. Egekén végzett kísérletekben azt tapasztalták, hogy az H–Y antigén hatást

fejt ki a spermiumokra és a képződő H–Y ellenanyag elpusztítja a hímivart determináló ondósejtek bizonyos hányadát. Ebből pedig az következik, hogy születéskor a hímivarú egyedek száma és aránya jelentősen csökken.

Az ivarmeghatározással kapcsolatos biotechnológiai eljárásoknak rendkívüli jelentősége lehet a szarvasmarha-tenyésztésben. A hústermelő állományokban a hímivarú állatok nagyobb aránya kedvezőbb húshasznosítást eredményezhet. Tejtermelő állományokban ugyanakkor a nagyobb arányban jelentkező nőivarúak a tejtermelési tulajdonságok gyorsabb genetikai javítását, fokozott állományfejlést, nagyobb szelekciós nyomást tesznek lehetővé.

Az ondósejtek génkészletének beépülése nélkül létrejövő partenogenetikus (günogenetikus) ivadékok ivarát a petesejt határozza meg. A halakban például a sikeresen megvalósított günogenezis csak nőivarú ivadékokat eredményezett. Két petesejt magjának fuzionálásával is hoztak már létre kizárólag nőivarú egyedeket.

A biotechnika gyors fejlődése azt is lehetővé tette, hogy petesejteket *in vitro* termékenyítsék meg. Az *in vitro* megtermékenyítéssel párosuló embrióátültetésnek főként olyan esetekben lesz létjogosultsága az állatnemesítésben, ha kimagasló tenyészértékű apa- és anyaállatoktól meghatározott ivarú utódokat kívánnak létrehozni, és a drága ivarsejtek igen korlátozott mennyiségben állnak rendelkezésre. Az Amerikai Egyesült Államokban már sikerült egyetlen spermium felhasználásával *in vitro* megtermékenyítést elérni. Kutatások folynak abból a célból is, hogy mikroinjektálással spermiumot juttassanak be a petesejtbe.

Az állatoknál is előállíthatók *szomatikus sejthibridek*. A szomatikus sejthibrid-vonalakat felhasználják a géntérképek készítésénél. A szomatikus sejthibridizáció ún. *kimérák* létrehozását is eredményezheti. Brit kutatóknak például sikerült korai embriók fuzionáltatásával juh-kecske fajhibridet előállítani, amelyet juh *recipiens* hozott a világra. A „*kiméra*” egyed keverten mutatja a két faj jellegzetességeit. Ez az életképes állat különös figyelmet érdemel, mert a kecske és juh között ivarosán eddig nem sikerült hibridet előállítani.

A növényekhez hasonlóan elképzelhető egyes kromoszómák transzplantációja is az állatfajok között, amely meghatározott gének átvitelét eredményezheti. Az állatnemesítésben folyó alapkutatások a kívánatos gének klónozására és átültetésére megkezdődtek. A várható gyakorlati eredmények prognosztizálása ma még lehetetlen. Bizonyos elméleti kutatások eredményei a reményt már felcsillantották. Például a patkány növekedési hormon termelését kódoló génnek egérsejtbe történt beültetése útján sikerült óriásnövekedésű egereket előállítani.

3. Mikrobiológia és fermentáció

A biotechnológiát hazánkban már a XX. század elején is alkalmazták. Az 1920 és 1930-as években árusították a 20% etanolt tartalmazó MOTALKO üzemanyagot. Ez az etanol fermentációs eljárás terméke volt. A nyersolaj-kitermelés gyors fejlődése és alacsony piaci ára Magyarországon és külföldön egyaránt háttérbe szorította a biotechnológia szerepét.

Az ásványolaj árának robbanásszerű emelkedése új helyzetet teremtett. A korábban háttérbe szorult fermentációs eljárások újra jelentőssé váltak, mert a petrokémiai etanolgyártás gazdaságtalanná vált. Brazília különösen élen járt az etanol üzemanyagként való felhasználásában, hiszen a cukornád-ültetvényei elegendő nyersanyagot biztosítottak az alkoholprogram megvalósításához. Az USA gabonafeleslegének hasznosításával csökkentette az olajimportot.

Természetesen az emberiség, amikor világviszonylatban élelmiszerhiánnyal küzd, nem engedheti meg, hogy gabonát használjanak üzemanyagként, ezért előtérbe került a mezőgazdasági termelés hulladékanyagának, a cellulóznak és hemicellulóznak a hasznosítása. Nagyobb városok szeméjtének cellulóztartalma megközelíti az évi 400 ezer tonnát, amennyi egy cellulóz-bázisú, vegyianyagot termelő üzem számára szükséges.

A cellulóz enzimes bontása megoldottnak tekinthető. A nagyipari eljárás kifejlesztése azonban még várat magára, annak ellenére, hogy az ilyen módon nyert glükózoldat alkoholos erjesztése nem jelent technikai problémát. A cellulózból rövidebb úton is lehet etanolt gyártani, ha erjesztésre anaerób baktériumokat használnak. Nagy erjesztő aktivitású termofil baktériumokkal végzett cellulóz fermentációs eljárásnál a képződő etanol eltávolítása nem jelent problémát.

Az etanol alapanyagként több, fontos, nagy tömegben felhasználásra kerülő vegyület (etilén, acetaldehid, viniklorid stb.) előállítására alkalmas.

A cellulóztartalmú hulladékokból, sőt a szennyvíziszapból is megfelelő mikrobakeverék alkalmazásával *biogázt* (metánt) lehet gyártani.

A világ fehérjehiánnyal küzd, a világszükséglet 2000-re eléri a 400 millió tonnát. Elsőrendű fontosságú az állattenyésztés ellátása takarmányfehérjével. Ha nincs elegendő takarmányfehérje, akkor kétszeresére is nőhet a takarmányfelhasználás és a termékek önköltsége. A probléma megoldásában segítséget jelent a mikrobaeredetű fehérje gyártása, amely ma döntően ásványolajra alapozódik. Az n-paraffin és metanol alapú fehérjevitamin koncentrátum tartalmazza az összes esszenciális aminosavat megközelítően olyan mennyiségben, mint a hagyományos takarmánykiegészítők (szója, halliszt). Egészségügyi és állattakarmányozási szempontból ezek a termékek teljesen megbízhatónak bizonyultak. Elvileg mezőgazdasági cellulóztartalmú

hulladékon is lehet mikrobaeredetű fehérjét termelni, de a jelenlegi árviszonyok mellett ez a lehetőség ugyanúgy nem gazdaságos, mint az n-paraffin alapú takarmánygyártás.

Élelmezési célra a kémiai szintézis mellett mindmáig fennmaradt az alkoholból kiinduló ecetsavgyártási technológia. Fermentációs úton állítják elő többek között az antibiotikumokat, a vitaminok többségét, alkaloidokat stb.

A szennyvizek kezelésében jelentős szerepe van a mikroorganizmusoknak. A különféle mikroorganizmusok nemcsak a szennyvíz szervesanyagát és a kórokozókat távolítják el és kötik meg a fémeket (Zn, Hg), hanem a szennyvíziszap mikrotömegének fehérjeje értékes is. A fehérje kinyerésére általában csak az élelmiszeripari, az erjesztőipari és bizonyos mezőgazdasági szennyvizek alkalmasak, amelyeket takarmányba lehet keverni.

A környezetszennyeződés és a kifejlődő rezisztencia miatt a növényvédőszer alkalmazása mellett előtérbe került a környezetet nem szennyező biológiai védekezés. Ennek eszközei lehetnek a különböző baktériumok, vírusok, növekedésszabályozó anyagok, ferromonok stb. A *Bacillus thuringiensis* a hernyók ellen hatásos, mert olyan fehérjét termel, amely a hernyókat megöli.

A hatékony takarmányozás feltétele a takarmányok kifogástalan minőségének, illetve tápértékének megőrzése. A régen ismert spontán tejsavas erjesztéssel operáló silózást ma már oltóanyag (Siloferm, Monosil stb.) elősegítik a silóban lejátszódó fermentációs folyamatokat, azaz gyors tejsav emésztést biztosítanak, növelik a takarmányok emészthetőségét, valamint a takarmány karotin- és xantofiltartalmát is konzerválják.

Az élelmiszeriparban és a kapcsolódó technológiákban a baktériumok, élesztősejtek és enzimei a legszélesebb körben felhasználhatók. A fermentációs eljárással előállított enzimek egy része a biopolimerek kíméletes lebontását teszi lehetővé, viszonylag enyhe reakciókörülmények között. Ilyen az amiláz, pektináz stb. Az enzimek másik csoportja kisebb molekulák lebontását, kémiai átalakítását végzi. Ilyenek a maltáz, laktáz, invertáz, lipáz stb.

A pektináz enzimek segítségével állítanak elő például diétás, rosttartalmú gyümölcs- és zöldségleveket. Pektináz enzimet használ a konzervipar a gépi betakarítású paradicsom feldolgozásánál.

Jelenleg az enzimes eljárások nyújtotta lehetőségek jelentős hányada ma még a kutatás-fejlesztés szakaszában van. A nagyipari megvalósításban kedvező részeredmények vannak. Biztatók továbbá a laboratóriumi, félüzemi és üzemi méretű technológiák kidolgozásához szükséges fejlesztési eredmények is.

A felsorolásból, amely nyilvánvalóan nem lehetett teljes, látható, hogy a biotechnológia alkalmazása a mezőgazdaságban igen széleskörű. A kínálkozó lehetőségek teljes kihasználása és kiszélesítése csak akkor várható, ha kiépül az a teljes innovációs lánc, amely elvezet az alapkutatástól az új technológiák kidolgozásáig és azok alkalmazásáig.

A biotechnológia gyakorlati alkalmazásához részletesen tanulmányoznunk kell azokat az élő szervezeteket, amelyeket igényeink szerint kívánunk megváltoztatni. A megváltoztatásukban leglényegesebb szerepe a genetikai manipulációnak van, ezért ennek kutatása a legfontosabb feladat.

ANDROGENETIKUS HAPLOIDOK ELŐÁLLÍTÁSA BUZÁNÁL
ÉS KUKORICÁNÁL

Búza (*T. aestivum* L.) és kukorica (*Zea mays* L.) antérakultúrákban eredményesen alkalmaztuk, illetve továbbfejlesztettük a kínai kutatók által kidolgozott haploidindukciós módszereket. A pollen-kallusz indukciót és a növényregenerációt döntően a genotípus befolyásolta. A folyamatra hatást gyakoroltak az intérákat adó növények felnevelésének környezeti körülményei és az alkalmazott táptalajok is.

Bevezetés

Az elmúlt évtizedben francia és kínai kutatók (De Buyser et al. 1981, 1985, Ku-lu (1984) Hu et al. 1983, He – Ouyang 1983, Ouyang et al. 1983) lényeges eredményeket értek el búza és kukorica androgenetikus haploidok in vitro előállításának területén. A portokkultúrák segítségével előállított pollenvonalak felhasználásával új, előnyös agronómiai tulajdonságokkal rendelkező néhány rizs és búza fajtát nemesítettek.

A sikerek ellenére még számos kérdés vár megválaszolásra az in vitro haploidelőállítás területén. Annak érdekében, hogy a portokkultúrákból minél nagyobb számú zöld növényt tudjunk regenerálni, célszerűnek tűnik részleteiben megvizsgálni a genotípus, a környezeti és a tenyésztési tényezők hatását és ezek kölcsönhatását a pollen-kallusz indukcióra és a növényregenerációra. Az in vitro androgenezis folyamatának alapos megismerése pedig hozzásegíthet az albinizmus problémájának strukturális megközelítéséhez.

Anyag és módszer

Vizsgálataink anyagául 12 különböző őszi és egy tavaszi búzafajtát, valamint 6 kukorica hibridet és 3 beltenyésztett vonalat használtunk. A búzanövényeket fitotronban és üvegházban 16°C állandó hőmérsékleten, 8 órás megvilágítás mellett ($Q = 290 \text{ uE/m}^2 \text{ s}$, Cool white Gro-lux fénycsövek a fitotronban, $Q = 400 \text{ uE/m}^2 \text{ s}$ fémhalogén lámpák az üvegházban) a kukoricánövényeket pedig szabadföldön, valamint fitotronban és üvegházban 3 hétig 20/17°C hőmérsékleten, 8 órás megvilágítás mellett, majd 22/18°C-on 16 órás megvilágítás mellett ($Q = 330 \text{ uE/m}^2 \text{ s}$ a fitotronban, $Q = 600$

$\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ az üvegházban) neveltük. Az egy-sejtmagvas állapotú mikrospórákat tartalmazó antérákat steril környezetben táptalajra oltottuk. A búza antérakultúrákhoz P-2 (Chuang et al. 1978), N_6 (Chu 1978) és módosított N_6 (aktív szén és 2,4-D mentes, kiegészítésként 1 mg/l kinetint és 1 mg/l l-naftilecetsavat tartalmazó) táptalajokat használtunk. A növényregenerációt 190-2 (He – Ouyang 1983) táptalajon végeztük. A kukorica portokok kalluszindukciójához 15% szaharózt tartalmazó N_6 , a növényregenerációhoz pedig aktív szén mentes, 3% szaharózt tartalmazó N_6 táptalajt használtunk. A portokkultúrákat 29°C -on 40 napig inkubáltuk. A regeneráció 26°C -on történt. A pollen-kalluszokból, ill. embrioidokból kifejlődő haploid zöld növények kromoszómaszerelvényét kolchicinkezeléssel megdupláztuk és a dihaploid növényeket felneveltük.

Az androgenezis folyamatát a tenyészetekből 3 naponként fixált és ethidium bromiddal megfestett portokok felhasználásával fluoreszcenz mikroszkóp segítségével tanulmányoztuk.

Eredmények

Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a búza antérák kalluszindikációját és a növényregenerációt döntően a genotípus határozza meg, de a folyamatban az alkalmazott táptalajnak is szerepe van (1. és 2. táblázat). Kísérleteinkben, valamennyi genotípus esetében a P-2 táptalajon fejlődött a legtöbb kallusz, ill. pollen embrioid, ezért a további vizsgálatok során kizárólag ezt a táptalajt használtuk. Néhány genotípus antéráiból a módosított N_6 táptalajon is viszonylag nagy számban indukálódtak embrioidok, melyek ugyanezen a táptalajon növényekké fejlődtek.

A kalluszindikációt a portokot adó növény fiziológiai állapota is befolyásolta az eltérő nevelési körülményekből eredően. Véleményünk szerint elsősorban a fény spektrális eloszlásában, a fényintenzitásban, a nappalhosszban és a levegő iontartalmában lévő eltéréseknek lehet szerepük a fitotroni és az üvegházi növénynevelés során. A vizsgált genotípusok között voltak a környezeti körülményekre jobban, illetve kevésbé reagáló fajták (3. táblázat).

Kísérletünkben a különböző búzafajták kalluszindukciós gyakorisága P-2 táptalajon a leoltott antérákra vonatkoztatva 3–64.9%, a növényregeneráció pedig 0.6–35% között alakult. Az albinó regeneránsok aránya is genotípus függő volt.

A zöld búzaregeneránsok kb. 70%-a haploid kromoszómaszerelvényvel rendelkezett.

Fluoreszcenz mikroszkópos vizsgálatainkkal a búza in vitro androgenezisének két fő útját, a kallusz, ill. a pollen embrioid képződést tudtuk nyo-

Különböző táptalajok hatása a pollen-kallusz indukcióra *T. aestivum* antérakultúrákban

Genotípus	Módosított N ₆						Indukció (%)
	P-2	Kallusz (db)	Indukció (%)	Leoltott antéra (db)	Kallusz (db)	Indukció (%)	
Mv 06-83	770	500	64,9	869	245	28,2	8,4
Orofen	791	208	26,3	781	83	10,6	3,5
Mv 15-85	475	73	15,4	466	39	8,4	3,6
Mv 11	527	67	12,7	506	41	8,1	1,9
TAM 105	335	34	10,1	280	—	—	—

Kalluszindukció és növényregeneráció búza portokkultúrából
P-2 indukciós és 190-2 regenerációs táptalajon

Genotípus	Leoltott antéra (db)		Pollen-kallusz indukció (%)		Zöld növényregeneráció (%)		Albino növényregeneráció (%)	
	Leoltott antéra (db)	Indukció (%)	Pollen-kallusz indukció (%)	Indukció (%)	Zöld növényregeneráció (%)	Indukció (%)	Albino növényregeneráció (%)	
Fertődi 293	315	55,2	55,2	31,4	31,4	3,8	3,8	
Benoist	507	48,5	48,5	21,7	21,7	1,2	1,2	
Baranjka	956	17,1	17,1	3,3	3,3	1,4	1,4	
Martonvásári 8	828	6,8	6,8	2,7	2,7	—	—	
Jubilejnaja 50	804	16,0	16,0	2,5	2,5	1,0	1,0	

A növénynevelés körülményeinek hatása *T. aestivum* antérák pollen-kallusz indukciójára *in vitro*, P-2 táptalajon

Növénynevelés helye:

FITOTRON UVEGHÁZ

Genotípus	Leoltott antéra (db)	Kallusz (db)	Indukció (%)	Leoltott antéra (db)	Kallusz (db)	Indukció (%)
Mv 06-83	519	385	69,0	251	142	56,6
Benoist	789	301	38,1	534	161	30,2
Orofen	473	137	21,6	312	106	34,0
Mv 16-85	566	57	10,1	489	129	26,4
Mv 15-85	253	26	10,3	222	47	21,2
Mv 11	261	33	12,6	266	34	12,8

4. táblázat

A növénynevelés körülményeinek hatása az (A 654-I x A 654-79-6) x EA 2128 kukorica pollen-kallusz indukciójára *in vitro*

Növénynevelés helye	Leoltott antéra (db)	Kallusz (db)	Indukció (%)
Szabadföld	2700	95	3,5
Uvegház	1100	33	3,0
Fitotron	1200	10	0,8

monkövetni. A kalluszok és az embriodiok a mikrospóra sejtmagjának egyenlő osztódása révén keletkezett soksejtes pollenszemből, vagy a mikrospóra sejtmagjának egyenlőtlen osztódásával létrejött vegetatív és generatív sejtek további osztódásával alakulnak ki.

A kukorica esetében a vizsgált kilenc genotípus közül csak egy háromvonalas hibrid mutatott reakciót *in vitro* portokkultúrában. A szabadföldön és az üvegházban felnevelt növényekről származó antérák kalluszindukációja nagyobb volt a fitotroni növényekről származó portokokénál (4. táblázat), a kalluszindukációs gyakoriság azonban nem érte el a búzánál kapott értékeket. A regeneráció során a regeneránsok nagy része elpusztult és csak néhány növényke van jelenleg életben. A kukorica *in vitro* androgenezise területén még számos elméleti és metodikai probléma vár megoldásra.

Irodalom

- Chu, C. C. (1978): The N_6 medium and its application to anther culture of cereal crops. In Proc. Symp. on Plant Tissue Culture, Sci. Press, Peking, pp. 43–50.
- Chuang, C. C., Ouang, T. W., Chia, H., Chou, S. M., Ching, C. K. (1978): A set of potato media for wheat anther culture. In Proc. Symp. on Plant Tissue Culture. Sci. Press Peking, pp. 51–56.
- DeBuyser, J., Henry, Y., Laur, R., Lonnet, P. (1981): *In vitro* androgenesis in winter wheat breeding. Z. Pflanzenzüchtg. 87, 290–299.
- DeBuyser, J., Henry, Y., Taleb, G. (1985): Wheat androgenesis: Cytogenetical analysis and agronomic performance of doubled haploids. Z. Pflanzenzüchtg. 95, 23–24.
- He, D. G., Ouyang, Y. W. (1983): Callus and plantlet formation from cultured wheat anthers at different developmental stages. Plant Sci. Lett. 33, 71–79.
- Hu, D. F., Tang, Y. P., Yuan, Z. D., Wang, C. C. (1983): The induction of pollen sporophyte of winter wheat and the development of the new variety „Jinghua No. 1”. Sci Agric. Sinica. 1, 29–35.
- Ku, C., Lu, W. (1984): Studies on embryogenesis of anther culture of maize. Abstr. Int. Symp. Genetic Manipulation in Crops, Beijing 6. p.
- Ouyang, J. W., Zhou, S. M., Jia, S. E. (1983): The response of anther culture to temperature in *Triticum aestivum*. Theor. Appl. Genet. 66, 101–109.

BIOTECHNOLÓGIAI MÓDSZEREK ALKALMAZÁSA A
BURGONYANEMESÍTÉSBN

A modern nemesítői kutatás támaszkodik a különböző tudományágak eredményeire. Az elmúlt évtizedben világviszonylatban fokozódott a sejt szövet- és szerv kultúrák széleskörű felhasználása a növénynemesítésben. Nemzetközi és hazai kutatási eredmények valószínűsítik, hogy e technikák nagy hányada a burgonyánál eredményesen alkalmazható. Izolált növényi szervekből történő növényregenerálás, haploidok előállítása portok kultúrával, protoplasztok tenyésztése és fuzionáltatásuk már sikerült. Fentiek alapján feltételezhető, hogy a burgonya nemesítésébe az alábbi módszerek jól és eredményesen beilleszthetők.

A *merisztéma kultúra* a növényi szövetek in vitro tenyésztésének módjai közül napjainkban a leginkább használható a burgonyakutatás és nemesítés gyakorlatában. Hagyományos módszerekkel kombinálva a nemesítői munkát korszerűsíteni, időszükségletét csökkenteni képes. Új fajták, fajtajelöltek intenzív felszaporításának, gyors termesztésbe juttatásának biztos módja. Az utóbbi hat-nyolc évben a merisztémás mikroszaporítás számos módszerét dolgozták ki. (Roest és Bokelmann, 1976; Roca et al. 1978; Hamann et al, 1977; Heszky és Heszky, 1979). A több változatban használt hajtástenyészet mellett egyre fontosabb szerephez jut az in vitro regenerált szaporítóképletek, az úgynevezett mikro gumók programozott előállítása és felhasználásuk vírusszegény szaporítóanyag előállításában. A merisztéma kultúráknak a burgonya fajtafenntartó nemesítésében történő felhasználását főként az alábbiak indokolják:

- Vírus és baktérium mentes vetőgumó előállításának lehetősége
- Az úgyszólván korlátlan szaporítási ráta
- A genetikai változások (mutációk) kis valószínűsége
- A rendelkezésre álló in vitro tenyésztési eljárások sokfélesége

A különböző burgonya fajok, fajták, nemesítési alapanyagok, genetikai tartalékok fenntartását megnehezíti, olykor lehetetlenné teszi az erős vírusfertőzés, illetőleg következménye: a leromlás. A merisztéma kultúrának a burgonya in vitro tárolásában való felhasználhatóságát a hetvenes évek közepén ismerték fel, és akkor kezdődtek a burgonya fajok in vitro tárolását célzó kutatások. Napjainkban már szinte minden burgonyatermesztő ország rendelkezik in vitro burgonya génbankkal, melyek jelentősége az alábbiakban foglalható össze:

- Nemesítési szempontból értéket képviselő burgonya alapanyagok megmentése, a génerózió megakadályozása
- Vírusoktól és egyéb patogénektől mentesített anyagok – steril átoltásokkal – korlátlan ideig megőrizhetők
- Nagy gyűjtemények elfogadható költséggel és kis helyigénnyel fenntarthatók
- Évszakoktól való függetlenség
- Kórokozómentes nemzetközi alapanyagcsere lehetősége
- Felhasználhatóságuk rezisztencia vizsgálatokhoz
- A tárolt genotípusokból bármikor növények regenerálhatók

A tárolási eljárások fejlesztésére, továbbá a szubkulturálási időintervallum növelésére több módszertani megoldás ismert a nemzetközi szakirodalomban.

Kallusz szövet kultúrák

A dedifferenciálódott sejtekből álló kallusz szövetek genetikai instabilitása lehetőséget biztosít arra, hogy a növény-nemesítés számára változatos alapanyagot nyerjünk szomatikus vagy gaméta eredetű kallusz szövet kultúrákból. *Solanum tuberosum*-nál a kallusból történő növényregenerálás nagyobb számban és reprodukálható módon először Benke-nek (1975) sikerült. A kallusz kultúrák a burgonyánál ma már széles körben használatosak: in vitro mutáció indukciók és szelekciók történnek kallusz szinten.

Portok és pollen kultúrák

Pollenanyasejtekből előállított növényekről az első szakirodalmi közlés Foroughi-Wehr et al (1977) munkássága alapján jelent meg. Ma az ilyen irányú munkák már gyakorlatilag célkitűzésekkel folynak. Wenzel és Uhrig (1980) eljárást dolgoztak ki többezer dihaploid előállítására. Portok kultúra segítségével sikerült extrém PVX-, PVY, valamint „Pallida” rezisztenciával bíró homozigota dihaploid anyagot is előállítaniok.

Protoplaszt kultúrák

A regenerálással kapcsolt protoplaszt-rendszer a genetikai manipuláció szempontjából sok előnnyel bír, ezért számos növény-nél nagy figyelmet fordítanak a protoplasztból történő növényregenerálás hatékonyságára és reprodukálhatóságára (Thomas et al 1982; Shepard és Totten 1977; Sree Ramulu et al 1983).

Burgonya protoplasztok fuzionáltatásáról elsőként szovjet kutatók, Kucsko et al (1983) számoltak be. Egy tetraploid fajta („Priekul'szkij)

és egy diploid ($2n=2x=24$) *Solanum chacoense* klón izolált protoplasztjainak fuzionáltatásával hibrid sejteket, sejtkolóniákat, hibrid kalluszt és szomatikus hibrid növényeket állítottak elő.

A nyilvánvalóan felmerülő kérdésre, hogy napjaink szövettenyésztési kutatásainak eredményei átvihetők-e a burgonyanemesítés gyakorlatába; Ross professzornak, az NSZK-beli MAX Planck Intézet tudósának e témában tett, számunkra is irányt mutató megállapításai adnak választ (Ross, 1984). Ross professzor szerint a burgonya néhány lényeges sajátossága, mint: széleskörű géntartaléka, autotetraploid volta, plazmidokkal történő transzformálhatósága miatt különösen alkalmas az új technológiák alkalmazásához. A szövettenyésztési eljárásoknak a burgonyanemesítés gyakorlatába történő átvitelét szükségesnek és lehetségesnek tartja. Kiemeli, hogy az NSZK-ban termesztett fajták zöme egy vagy több vad faj génjeit tartalmazza, s hogy több évtizedes nemesítői munkát igényelt, amíg az F_1 vad génjeit – számos visszakeresztezés révén – *Solanum tuberosum* génekkel egészítették ki, melyeknél azután csak a kívánatos rezisztencia gén és egyéb értékes tulajdonságok maradtak meg. Szövettenyésztési módszerek alkalmazásával lehetőség nyílik arra, hogy egy értékes kombinációt egy hiányzó tulajdonsággal, – keresztezés nélkül – úgy egészítsenek ki, hogy közben genetikai alapját ne bontsák meg. Mindezeket szolgáló kutatási irányként említi:

- a szomatikus variációt
- az asszimmetrikus protoplaszt-fúziót
- és a plazmidok révén megvalósuló transzformációt.

A burgonyanemesítés számára beláthatatlan jelentősége lenne annak, ha szomatikus hibridizálás, vagy plazmidokkal megvalósuló transzformáció segítségével egyes kromoszómákat, vagy értékes gént (pl. egy vad faj rezisztenciáját) hordozó kromoszóma-részeket egy minőségi fajta genomjához úgy lehetne hozzáadni, hogy a recipiens fajta értékes génkészlete megmaradna. A leglátványosabb területnek természetesen a plazmidos géntranszformációt tartja, ugyanakkor – plazmid technikával foglalkozó kutatók véleményére hivatkozva – hangsúlyozza, hogy egy plazmid genetikával létrehozott burgonya genotípus megjelenéséig még legalább 5–10 évig várniuk kell.

Összefoglalás

A szövettenyésztési eljárások gyakorlati alkalmazásához a burgonya alkalmas növényfajnak bizonyult. Ebben valószínűleg szerepet játszik néhány sajátossága:

- Széleskörű géntartalékkal rendelkezik
- autotetraploid, tehát kromoszómaszerelvényeiben minden génhely négy allélpárral van képviselve
- protoplasztjaiból növények regenerálhatók, más fajokéval fuzionálhatók
- plazmidokkal transzformálható

A merisztéma kultúra fontos szerepet játszik a burgonyanemesítés gyakorlatában. Új fajták, fajtajelöltek intenzív felszaporításának, alacsony víruskoncentrációval gyors természetésbe juttatásuknak biztos módja. A fajtafenntartó nemesítésbe illesztve, segítségével a kórokozómentes *in vitro* anyagtól az egészséges szántóföldi szaporításig tartó folyamat megoldható.

Merisztéma kultúrákra épülnek az *in vitro* burgonya génbankok is. A vírusmentesítés, mikroszaporítás, génbankok létesítése nem nélkülözheti a speciális diagnosztikumokat, ezért a monoklonális ellenanyagok szerepe a burgonyánál is jelentős.

A géntechnikai eljárások pl. a plazmidokkal történő génátvitel, a burgonyanemesítés hatékonyságát jelentősen módosíthatják.

Irodalom

- Benke, M. (1975): Növényregenerálás néhány dihaploid *Solanum tuberosum* klón szövettanyészetéből (Regeneration in Gewebekulturen einiger dihaploider *Solanum tuberosum*-Klone). *Z. Pflanzenzüchtung* 75. 262–265. p.
- Foroughi-Wehr, B. – Wilson, H. W. – Mix, G. – Gaul, H. (1977): Monohaploid növények dihaploid burgonyafajta portokjaiból (Monohaploid plants from anthers of a dihaploid genotype of *Solanum tuberosum* L.). *Euphytica*, 26, 361–367. p.
- Hamann, U. – Pett, B. – Neitzel, K. – Bulnheim, U. (1979): Ipszerű burgonyatermesztéshez kórokozómentes kiindulási anyagok előállításának módszertani alapjai (Grundlagen zu Verfahren der Erzeugung erregungsfreien Ausgangsmaterials für die industriemassige Kartoffelproduktion). *Fortschrittsber. Landwirtschaft u. Nahrungswirtschaft* 17, 1, 58.
- Heszky, K. – Heszky, L. (1979): Merisztéma és hajtástenyésztési eljárás a burgonya (*Solanum tuberosum* L.) hosszúidőtartamú megőrzéséhez (Meristen and shoot culture method for long-term preservation of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Kolokvium o Rastlinnych explantátových kulturach.*, Piest, any 16–18. X. 1979.

- Kucsko, A. A. – Butenko, R. G. – Taraszenko, V. A. (1983): A burgonya szomatikus hibridizálása (Szomaticseszkaja gibrizacija kartofelja). *Szel,hoz. Biol.* 7, 54–57. p.
- Roca, W. M. – Espinoza, N. O. – Roca, M. R. – Bryan, U. E. (1978): Szövettenyésztési módszer a burgonya gyors szaporításához (A tissue culture method for rapid propagation of potatoes). *Am. Potato J.* 55, 691–705. p.
- Roest, S. – Bokelmann, G. S. (1976): A burgonya in vitro vegetatív szaporítása (Vegetative propagation of *Solanum tuberosum* L. in vitro). *Potato Res.* 19, 173–178. p.
- Ross, H. (1984): Hasznosíthatók e a gyakorlatban a burgonya nemesítéskutatás új eredményei? (Neue Ergebnisse der Züchtung-forschung an der Kartoffel umsetzbar in die Praxis? Der Kartoffelbau 35, 56. (10).
- Shepard, J. P. – Totten, R. E. (1977): Izoláció, proliferáció és növényregenerálás burgonya mezofillum protoplastokból (mesophyll cell protoplasts of potato: isolation, proliferation and plant regeneration). *Plant Physiol.*, 60, 313–316. p.
- Sree Ramulu, K. – Dijkhuis, P. – Roest, S. (1983): Tetraploid burgonya (*Solanum tuberosum* L, Bintje fajta) protoplasztjaiból regenerált növények fenotípusos eltérései és ploideasintje) Phenotypic variation and ploidy level of plants regenerated from protoplasts of tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Bintje). *Theor. Appl. Genet.*, 65, 329–338. p.
- Thomas E., – Bright, S. W. J. – Franklin, J. – Lancaster, V. A. – Mifflin, B. J. – Gibson, R. (1982): Protoszt eredetű burgonyanövények változatossága a „Maris Bard” fajtánál (Variation amongst protoplastderived potato plants *Solanum tuberosum* cv. Maris Bard). *Theor. Appl. Genet.*, 62, 1, 65–68. p.
- Wenzel, G. – Uhrig, H. (1980): A burgonya rezisztencia nemesítése szövettenyésztési eljárások alkalmazásával (Resistenzzüchtung bei der Kartoffel unter Einsatz von Gewebekulturmerknoden). In: Bericht über die Arbeitstagung 1980 der Arbeitsgemeinschaft der Sattzucht-leiter in Gumpeintein 217–226. p.

TÖRZSES GYÜMÖLCSFAJOK VIRUSMENTESÍTÉSE
ÉS MIKROSZAPORITÁSA IN VITRO MÓDSZEREKKEL

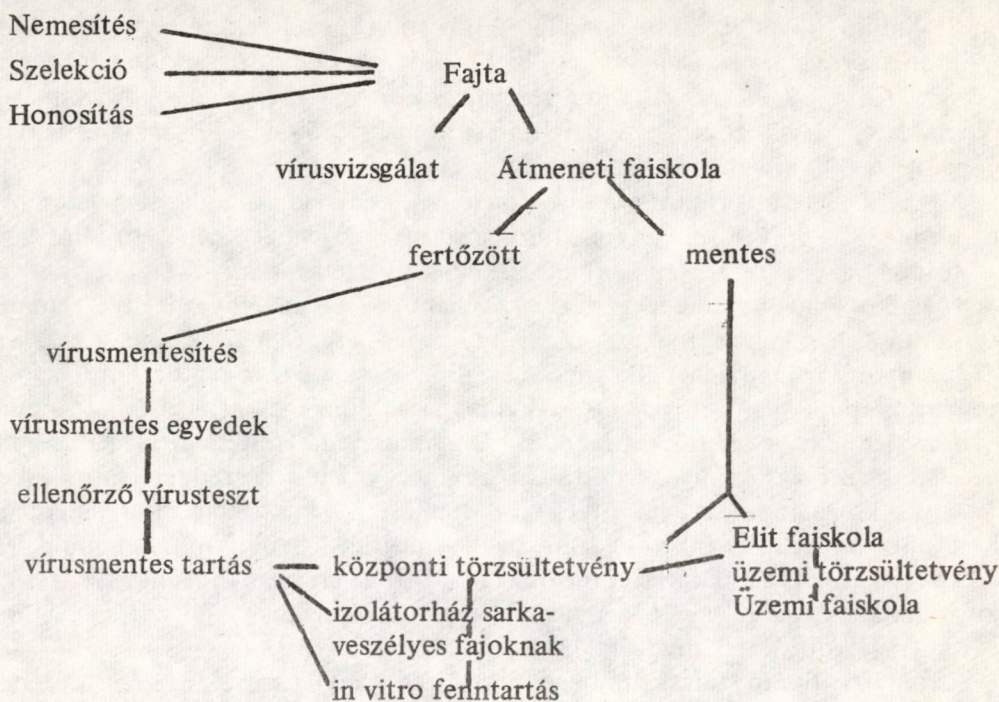
A törzses gyümölcsfajok nagyarányú vírusfertőzöttsége, a hőterápiás vírusmentesítés időigénye, a hőstabil vírusok elleni meddő küzdelem vetette fel alternatívák – szövettenyésztéses módszerek – bevezetésének szükségességét.

White már 1934-ben kimutatta, hogy a merisztéma szövetek sejtjeiben vírus nem található. Számos vírusmentes növényt állítottak elő a legkülönbözőbb fás növényfajok csúszmerisztémáinak in vitro tenyésztésével. Bizonyos vírus-gazda kombinációk tartóssága azt mutatja, hogy a kórokozó elhelyezkedése a növények hajtáscúcsaiban vírusonként eltérő, így a merisztéma-cúcs is lehet fertőzött. Törzses gyümölcsfajok esetében a Sarka vírustól merisztématenyésztéssel aránylag könnyű megszabadulni. (Vértessy, 1979). ILAR-vírusok fertőzése esetén mentes egyedek nyerésének aránya 0–80% között változik, míg a CLOSTERO-vírusokat merisztématenyésztéssel nem tudtuk kiküszöbölni.

A merisztématenyésztést más vírusszaporodást gátló kezeléssel célszerű kombinálni.

1. Hagyományosan hőkezelt növények hajtáscúcsait helyezzük hajtásszaporodást biztosító táptalajra.
2. In vitro hajtáscúcsstenyésztet létesítünk a lombikokban lévő növénykéket hőkezeljük, majd ezekről végzünk merisztématenyésztést.
3. A hajtás gyors megnyújtását indukáljuk (etiólálás, növekedés serkentők) vagy magának a sebzésnek vírusgátló hatását hasznosítjuk.
4. Vírusgátló anyagokat (virazol = 1- β -D-ribofuranosyl H-1, – 2,4-triazol-3-karbamid; (S)-DHPA = (S)-9-(2,3-dihidroxipropil/-adenin) adagolunk a táptalajba, melyen a mentesítendő növény hajtáscúcsstenyésztetét tartjuk (Nansen, 1979).
5. Amennyiben a fás növényeknél a szomatikus embriogenezis elfogadott szaporítási móddá válik, elképzelhető a vírusfertőzött növény mentes szöveiteiből kallusztenyésztet, ebből tömeges növényelőállítás.

Az előállított növényeket merisztéma klónonként tartjuk fenn az ellenőrző vírusesztek eredményeinek beérkezéséig (ELISA, LATEX teszt, vagy biológiai víruseszt, mikoris a vírusindikátorokkal történő mikrooltások ígérhetnek gyorsabb eredményt). A törzses növények vírusmentesítésének és fenntartásának vázlatos menete az 1. ábrán látható.



1. ábra: A vírusmentesítés menete

Az in vitro tartós fenntartás világszerte és Vállalatunknál is a kutatás stádiumában van: végezhetjük gyökeresítés előtt, vagy után, a táptalaj változtatásával, vagy hőmérséklet csökkentésével, különböző kryobiológiai megoldásokkal.

A mikroszaporítás lehetőségének felfedezését és megindítását Morel-nek (1963) köszönhetjük. Azóta igen gyorsan és széleskörűen hódított teret világszerte Murashige szerint 1968-ban 30, 1978-ban 300 és 1988-ban várhatóan 3000 növényfaj mikroszaporítása folyik. A gyümölcsfajok gyors in vitro szaporításában 1974-ben *Boxus* volt úttörő 1976-ban *Jones* adott lendületet. 1979-ben már 2 konferencián (USA, Olaszország) a gyümölcsfajok széles skálájával foglalkoznak. Azóta kb. 50 fajfaj mikroszaporításáról tudunk; a törzsés mérsékelt égövi gyümölcsstermő növények között említésre méltó az *Actinidia Castanea*, *Corylus*, *Malus*, *Prunus*, *Pyrus*, *Vitis*. Az első kereskedelmi laboratórium, az 1966-ban alakult Twyford 1971-től foglalkozik

fás növényekkel. Ma az USA-ban 250 ilyen laboratórium működik, 1983-ban 25 millió növényt állítottak elő. A fás mikronövények tömeges előállítását Franciaországban a Delbard cég, ki 1986-ban 5 millió rózsa kihozatalát tervezi, törpe cseresznye, Erwinia rezisztens körte in vitro alanyokból van áru kínálata. Az olaszországi Zanzivivai cég a méztűrő GF 677 alanyból hetenként 60 000 növényt állít elő.

Saját laboratóriumunk teljesítménye a fenti adatok tükrében szerény, évente 50–60 000 növény előállítására vagyunk jelenleg képesek. Mint külföldön is nagyrészt, elsősorban különböző értékes alanyok szaporításával foglalkozunk anyatelepek létesítése céljából. A fás növények tenyésztésének indítása évszakhoz kötött, az alanyok nevelésének időtartama gazdasági szempontból nem lehet 1 évnél hosszabb. A szaporítás – citokinin adagoláson alapuló hajtásnövekedés-serkentés – fajonként igen eltérő, táptalaj fény és hőigény szempontjából is. A gyökeresedés feltételei még differenciáltabbak, az auxinkoncentráció, auxinvegyületek szerepe jelentős lehet egyéb kezelések (hideg, sötét, stb.) mellett. A mikroszaporítás sikere az utolsó nevelési fázis, az akklimatizálás megfelelő lebonyolításán múlik. A szükséges magas páratartalom biztosítására, az in vitro növények edzésére számos megoldás látott napvilágot, melyek közül úgy látszik a cellulóz-műtrágya dugók alkalmazása a legtöbbet ígérő.

Sajátgyökerű fajták tömeges előállítása a 90-es évek elejére várható, amikorra is beérnek a már folyó termő gyümölcsösbeli kísérletek.

A szaporításnak új aspektusát jelentené a szomatikus embriogenezis, mely a szaporodási rátát sokszorosára emelné és az embriók drázsírozásával megszüntetné az akklimatizálási veszteségeket. Mivel ebben az esetben a kallusz-szövetekből történő regenerálás miatt több esély van nem kívánatos mutánsok véletlenszerű felszaporítására *De Fossard* egy a természeti csapások elleni kárbiztosításhoz hasonló rendszer kidolgozását javasolja.

A mikroszaporítás gyakorlati elterjedéséhez szükséges lenne néhány technológiai probléma megoldása: így a kemény fájú fafajok termőkori alakjainak tenyésztetbe állítása, az akklimatizáció tökéletesítése. Fontos lenne a kézi munkaigény és ezzel a költségek csökkentése, mely részben a műveletek egyszerűsítésével, részben mechanizálásával érhető el.

Irodalem

- Boxus, P. – Ouoirin, M. (1974): La culture de méristemes apicaux de quelques especes de Prunus. Bull. Soc. Roy. Bot. Belg. 107: 91–101.
- De Fossard, R. A. (1984): Tissue culture propagation: state of the art. Acta Horticulturae N^o. 166: 83–93.
- Hansen, A. J. (1979): Inhibition of apple chlorotic leaf stop virus in *Chenopodium quinoa* by ribavirin. Plant. Dis. Reprtr. 63: 17–20.
- Jones, O. P. (1976): Effect of phloridzin and phloroglucinol on apple shorts. Nature, 262: 392–393.
- Vértessy, J. (1981): Elimination of plum pox virus from plum (*Prunus domestica* L.) rootstocks by meristem culture. Plant virology, Brno: 197–200.
- White, Ph. R. (1934): Multiplication of viruses of Tobacco and Aucuba mosaics in growing excised tomato root tips. Phytopath. 24: 1003–1011.

A NÖVÉNYI SZÖVETLENYÉSZTÉS ALKALMAZÁSA
TOXIKOLÓGIAI ÉS TÁPANYAGUTÁNPÓTLÁSI VIZSGÁLATOK
MEGGYORSÍTÁSÁRA

A növények ásványi táplálkozása során nagy hangsúlyt kell fektetni a harmonikus tápanyagellátás biztosítására. A növények számára optimális tápelemszint megállapítása régikeletű, de állandóan szereplő kérdés. A szabadföldi kísérletek nem mindig váltják be a hozzáfűzött reményeket, a talajközeg bonyolultsága valamint környezeti tényezők változó befolyása miatt. Gyümölcsstermő növényeknél 3–4 év szükséges ahhoz, hogy a kezelések hatásáról a növénytől visszajelzést kapjunk (Papp, 1979). Fenti okok miatt felmerült egy egyszerűbb, gyorsabb az optimális tápanyagigény meghatározását célzó módszer kidolgozásának gondolata. *In vitro* körülmények között reprodukálható módon tudjuk nyomon követni a növények ásványi táplálkozását illetve az egyes ion-interakciókat (László, 1985). Az így nyert adatokat adaptálni lehet szabadföldi viszonyokra. A másik cél, a szövetenyésztésben használt legelterjedtebb táptalaj-receptúrák makro- és mikroelem összetevőinek módosítása az adott növény igényeinek megfelelően. Kézenfekvőnek látszik az egyes elemek gátló koncentrációjának meghatározása is. A biotechnikai módszer lehetőséget nyújt arra is, hogy a növények számára toxikus környezetszennyező elemek káros koncentrációjának befolyását is tanulmányozhassuk. Ezáltal teljesebb képet nyerhetünk a növények biológiai adottságairól és célirányosabbá tehetjük a tápanyag-utánpótlást.

A következőkben ezeken a területeken végzett kísérletekről számolunk be. Vizsgáltuk a málnakalluszok növekedését valamint K, Ca és P felvételét különböző N-tartalmú táptalajokon.

Alkalmaztuk a módszert málna mézserzékenységének meghatározására kalluszkultúrában, majd az itt kapott eredményeket adaptáltuk merisztéma eredetű növényekre.

Tanulmányoztuk a F^- , mint környezetszennyező elem málnakalluszokra gyakorolt hatását is.

Anyag és módszer

Malling Exploit hajtáscsúcs merisztémából származó kalluszkultúrákban illetve merisztéma növények steril tenyészeiben végeztük a kísérleteket. A kalluszokat kinetinmentes *Murashige – Skoog* (1962) táptalajon, 25°C-os,

sötét termosztátban 28 napig tenyésztettük. A tenéyszidő lejárta után mértük a kalluszok nyerssúlyát.

A merisztéma eredetű növények steril kultúráit *Nitsch–Nitsch* (1969) táptalajon szaporítottuk. Napi 16 órás 3000 lux fényerősség mellett két hónapig neveltük a növényeket 25°C-os klímatiszált térben.

A kalluszok és merisztéma növények K, Ca tartalmait AAS-1 típusú atomabszorpciós spektrofotométerrel, a P-t spektrofotométerrel mértük. A kalluszok F⁻ koncentrációját ionszelektív elektródás módszerrel határoztuk meg, Radelkis OP-F.7443 típusú elektróddal.

A mérési eredmények középértékeit diagramokban ábrázoltuk.

Eredmények

A táptalaj NH₄NO₃-tartalmának hatása a málnakalluszok növekedésére és egyes elemek felvételére

A N-nek, mint egyik fontos tápelemnek a kallusznövekedésre gyakorolt hatását vizsgáltuk. Ugyanakkor mértük a kalluszokban a K, Ca, P. koncentrációkat.

Az 1. ábrán a különböző NH₄NO₃ koncentrációjú táptalajon nőtt kalluszok növekedését, valamint K-felvételét ábrázoltuk. Látható, hogy alacsony N-koncentrációk mellett a kalluszok csekély növekedést mutattak. A kalluszok számára optimális N-koncentráció tartomány 2×10^{-2} – 5×10^{-2} M közöttinek adódott. 10^{-1} M-os NH₄NO₃ kezelés már gátolta a kalluszok növekedését. Érdekes, hogy a 10^{-2} M NH₄NO₃-nál mért kalluszsúly 1,8 g, míg 2,5-ször több N esetén 2,2 g, ami 22%-os súlynövekedést jelent. Ugyanakkor $2,5 \times 10^{-2}$ és 5×10^{-2} M-os N-kezelés között sem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a kalluszsúlyokban. Ez rávilágít arra a kérdésre, hogy egy optimális érték feletti N adagolás már nem eredményez további, számottevő kallusznövekedést. Sőt a K felvételét ezzel összefüggésben vizsgálva, arra az eredményre jutottunk, hogy az optimális N-táplálkozás tartománya meglehetősen szűk. Míg a $2,5 \times 10^{-2}$ M-os NH₄NO₃ tartalmú táptalajon a kalluszok K szintje 3% körüli, addig 5×10^{-2} M-nál ez az érték 2,5%. Tehát, az azonos kallusznövekedést eredményező N-kezelések közül, a K felvételt is figyelembe véve, a $2,5 \times 10^{-2}$ M NH₄NO₃ koncentráció tűnik optimálisnak. Az is kiderül a diagramokból, hogy a táptalaj N-tartalmának emelésével a K-felvétel enyhén emelkedő tendenciájú, de csak a kallusznövekedésre optimális N-koncentráció tartomány kezdeti szakaszáig. Ettől kezdve határozottan csökken.

A további diagramokon a kallusznövekedés görbáját minden esetben

felrajzoltuk, hogy a vizsgált tápelemek mennyiségi változásának tanulmányozása szemléletesebb legyen.

A 2. ábrán a kalluszok Ca felvételét ábrázoltuk. 10^{-4} – 5×10^{-3} M NH_4NO_3 táptalajkoncentráció mellett a kalluszok Ca-felvétele gyakorlatilag nem változott. Ennél nagyobb N-kezeléseknél csökkent a kalluszok Ca tartalma.

A kalluszok P-felvételét a 3. ábrán mutatjuk be. Látható, hogy K-hoz hasonlóan a P-szintek emelkedő tendenciát mutatnak a táptalaj N-koncentrációjának növelésekor. 5×10^{-3} -nál nagyobb NH_4NO_3 -kezelés csökkenti a P-felvételt.

A málna mészérzékenységének vizsgálata

A 4. ábrán a málnakalluszok növekedését mutatjuk be különböző CaCl_2 tartalmú táptalajon. 10^{-2} és 5×10^{-2} M CaCl_2 kezeléseket közötti tartományban fokozatos növekedésgátlást tapasztaltunk mind a kalluszok mind pedig a merisztéma növények kultúráiban. Látható, hogy a CaCl_2 koncentráció csökkentése nem okozott dramatikus hatást a kallusz növekedésben. Széles intervallumban (10^{-5} – 10^{-2} M CaCl_2) közel azonos kalluszsúlyokat mértünk.

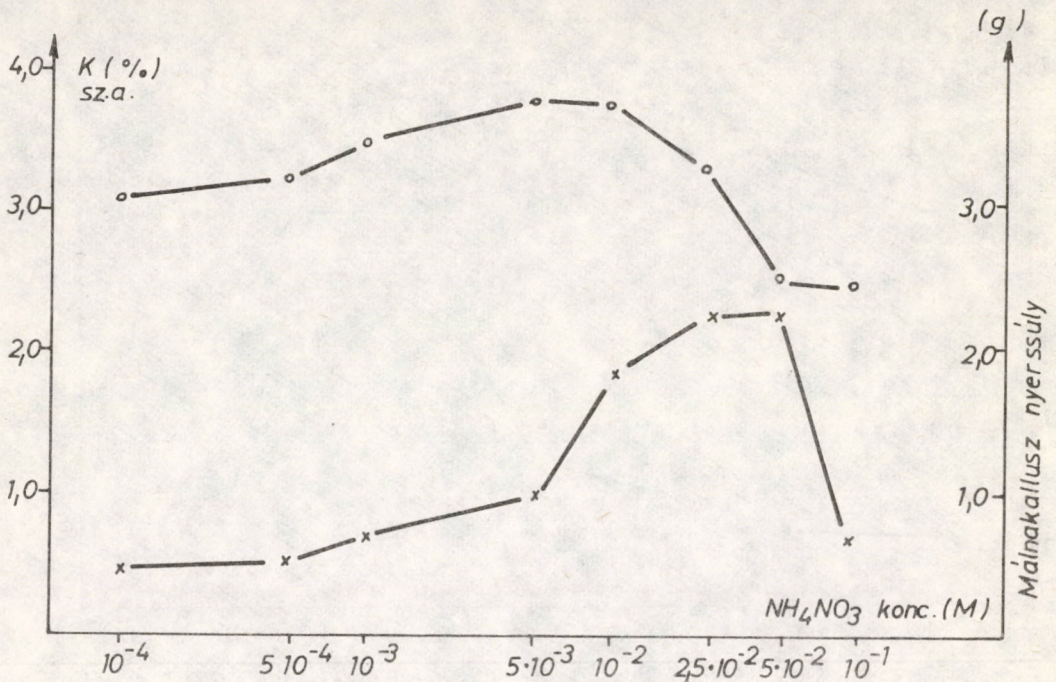
Az 5. ábrán a merisztéma növények által felvett Ca-mennyiségeket ábrázoltuk. A növények Ca-tartalma szinte lineárisan nő a táptalaj Ca koncentrációjának növelésével. A 0,1%-os Ca kezelésnél a Ca felvétel 2% körüli, míg a 0,04% Ca-tartalmú táptalajon 1%. Ily módon sikerült a málna mészérzékenységének határ-koncentrációját megállapítani.

A F^- mint környezetszennyező elem hatása a málnakalluszok növekedésére

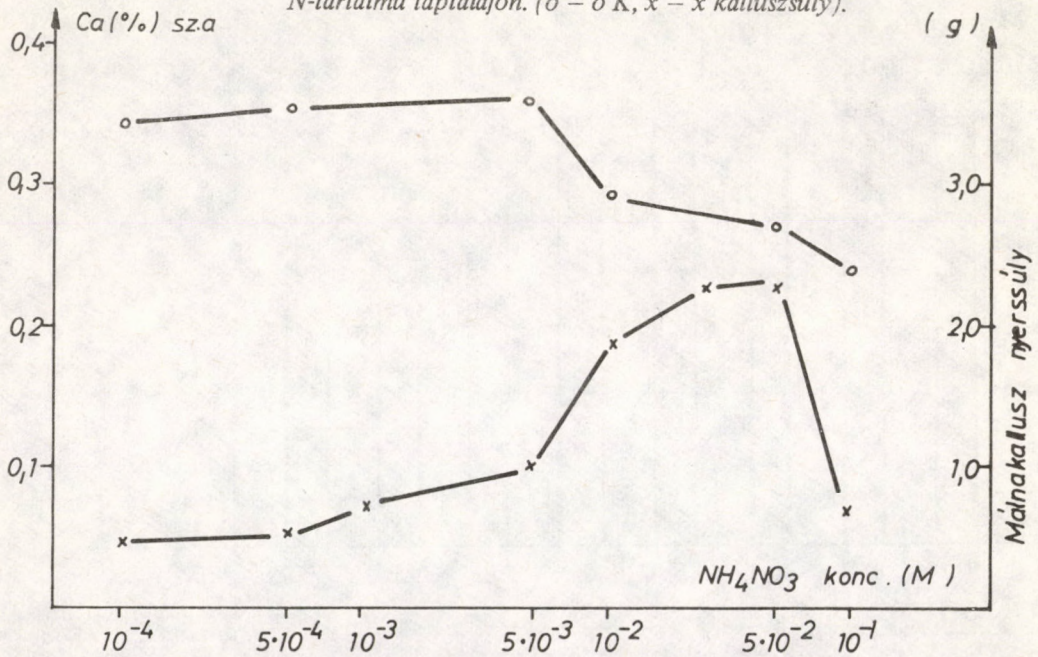
Ujabbán a környezetszennyezés kapcsán mint növénykárosító tényező került a kutatások előterébe a fluorid. A növényekre toxikus F^- koncentráció meghatározása fontos lépés a károsítás mechanizmusának felderítése során.

A 6. ábrán málnakalluszok növekedését ábrázoltuk a táptalaj NaF koncentrációjának függvényében. 10^{-5} és 5×10^{-3} M NaF koncentráció tartományban a kallusznövekedés nem szenvedett gátlást. Szaggatott vonallal a NaF mentes alaptáptalajon nőtt kalluszok növekedését ábrázoltuk (MS-Kin). 10^{-2} M NaF hatására a kallusznövekedés 63%-ban gátlódott.

A kalluszok F^- felvételét a 7. ábrán mutatjuk be. A F^- értékek exponenciálisan emelkednek a tápközeg NaF koncentrációjának növelésével.



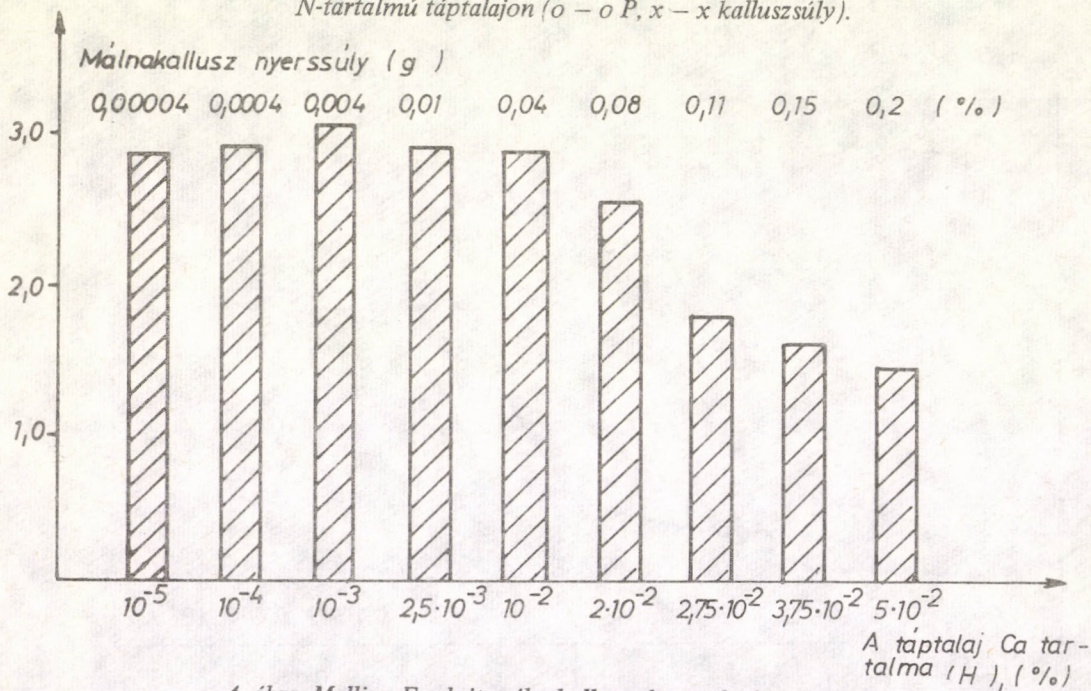
1. ábra: Malting Exploit málnakalluszok K felvétele különböző N-tartalmú táptalajon. (o - o K, x - x kalluszsúly).



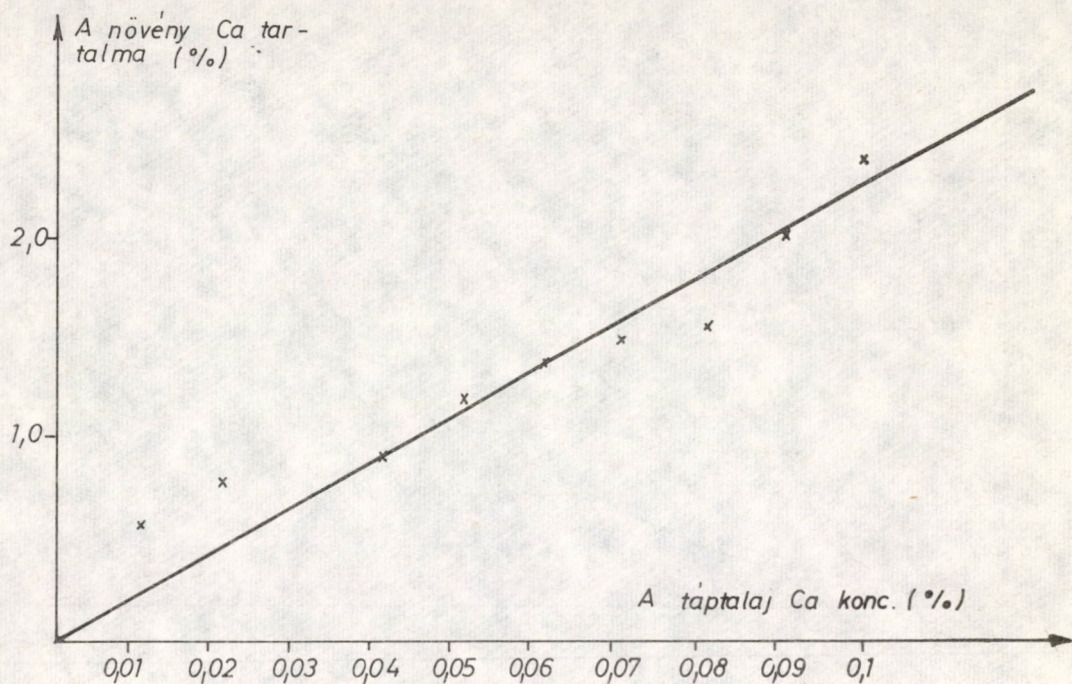
2. ábra: Malting Exploit málnakalluszok Ca felvétele különböző N-tartalmú táptalajon. (o - o Ca, x - x kalluszsúly).



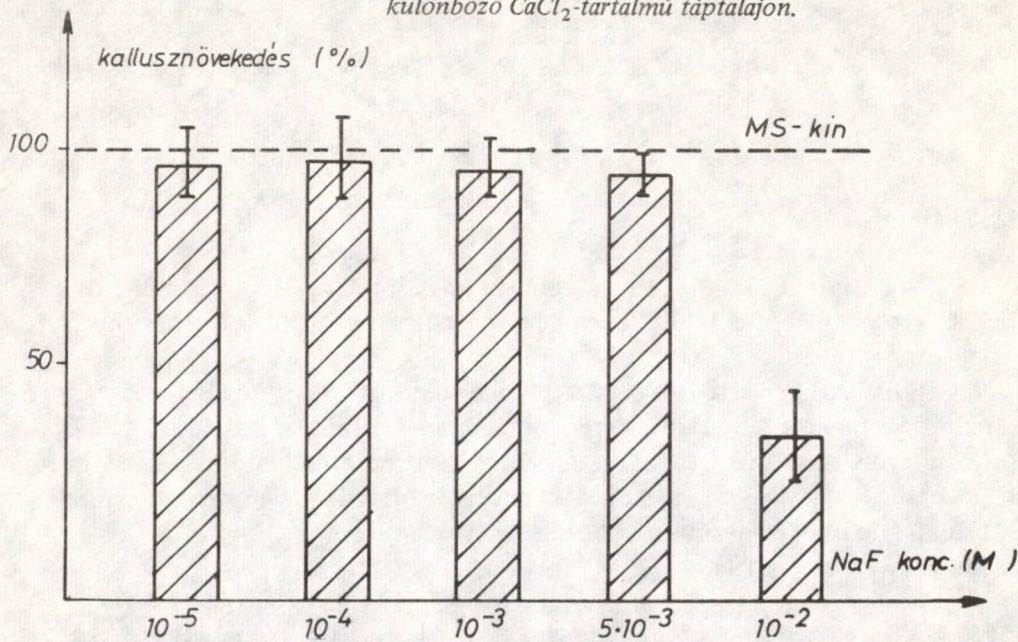
3. ábra: Malling Exploit málnakalluszok P felvétele különböző N-tartalmú táptalajon (o - o P, x - x calluszsúly).



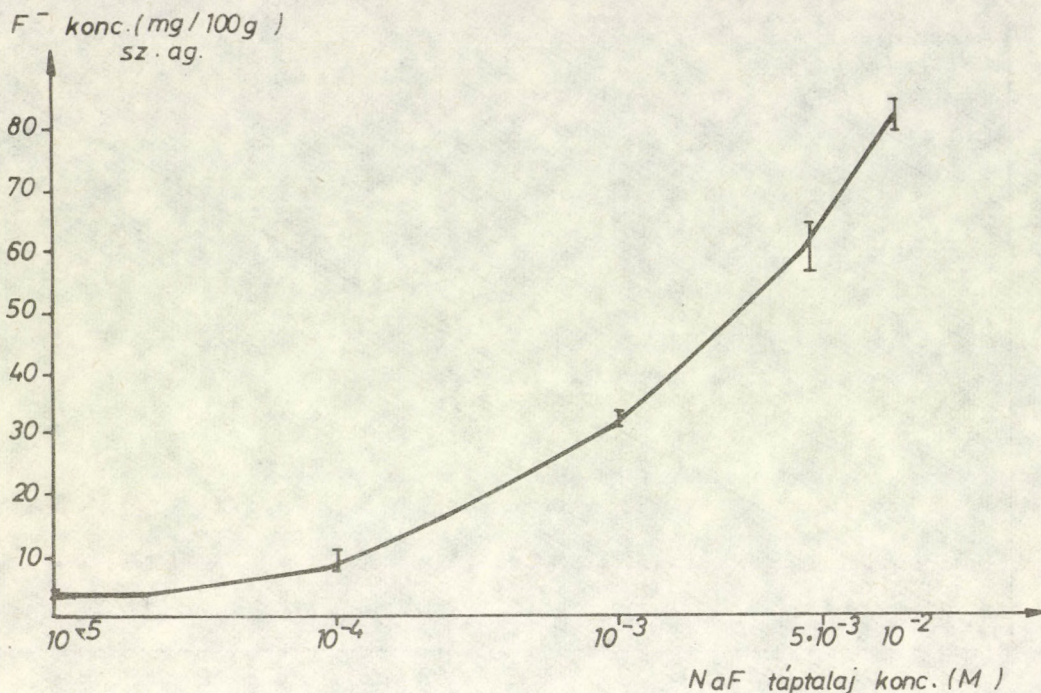
4. ábra: Malling Exploit málnakalluszok növekedése különböző CaCl_2 -tartalmú táptalajon.



5. ábra: Malling Exploit málna merisztéma növények Ca felvétele különböző CaCl_2 -tartalmú táptalajon.



6. ábra: Malling Exploit málnakalluszok növekedése különböző NaF-tartalmú táptalajon.



7. ábra: Malling Exploit málnakallusok F^- felvétele különböző NaF-tartalmú táptalajon.

ÖSSZEFOGLALÁS

Szövettenyésztési módszert alkalmaztunk a Malling Exploit málna optimális N táplálkozásának, mésztérékenységének és F^- tűrőképességének vizsgálatára.

Az *in vitro* szövettenyésztési technika alkalmazása a növények ásványi táplálkozásának vizsgálatára előnyös módszernek tűnik. A kezelések hatását, a környezeti tényezők standardizálásával, jól reprodukálhatóan lehet tanulmányozni. Az így nyert adatok a környezetvédelmi és a tápanyagoptimalizálási kísérletekhez hasznos alapot jelenthetnek.

Irodalom

- László M. (1985): Növények ásványi táplálkozásának vizsgálata *in vitro* szövettenyésztési technikával. II. Magyar Növényélettani Kongresszus, Szeged, előadaskivonat 27. old.
- Murashige, T. — Skoog F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15, 473–497.
- Nitsch J. P. — Nitsch C. (1969): Haploid plants from pollen grains. *Science* 163: 85–87.
- Papp J. (1979): Trágyázási kísérletek. In: Papp J. — Tamási J. „Gyümölcsösök talajművelése és tápanyagellátása”. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 337–340.

IN VITRO ELJÁRÁSOK SZEREPE A GYÜMÖLCSNEMESÍTÉSBEN

Több lágyszárú növényfajnál (burgonyafélék, fűfélék) már eredményesen alkalmazzák a nemesítő munka hatékonyságának növelésére az *in vitro* szövettenyésztési eljárásokat. Ugyanakkor az irodalomban viszonylag ritkán olvashatunk a gyümölcseszten végzett ilyen kísérletekről.

Az idetartozó fajoknak, mint általában a vegetatív szaporított növényeknek, viszont az az előnye a mezőgazdasági növények többségével szemben, hogy tenyésztésük, manipulálásuk során bekövetkezett örökletes változásokat könnyű stabilizálni, minthogy az újtulajdonságú egyedek heterozigóta állapotban is fenntarthatók. Szerencsés esetben egy pozitív mutáns, minimális további nemesítő beavatkozás árán, fajtajelöltnek léphet elő.

A genetikai változásokat célzó beavatkozások (mutáns indukció és izolálás, protoplaszt fúzió, transzformáció, olykor a pollenhaploidok létrehozása is) eredménye jól regenerálódó kalluszon keresztül érvényesül. Tehát a szövettenyésztéssel történő nemesítési alapanyag előállítás elsősorban a jól regenerálódó fajknál jöhet számításba (szamóca, egyes alma, szilva, cseresznye és mogyoró klónok). A többieknél törekednünk kell a regenerálódást elősegítő eljárások kialakítására.

Következőkben röviden áttekintjük a legfontosabb mérsékeltégyvi gyümölcsfajok nemesítésénél alkalmazható, szövettenyésztési módszereket. Az áttekintésből a szőlőt szándékosan hagytuk ki.

Embriótenyésztés

A steril tenyésztési technikák közül legkorábban kezdték el kutatási szinten alkalmazni ezt az eljárást, amely fajkeresztezésekből nyert hibrid-embriók felnevelésében nagy segítséget nyújt. A módszert kiterjedten használják csonthéjas gyümölcsök embrióinak felnevelésére. Különösen az őszibarack (Hesse és Kester 1955, Paunovic 1973) és cseresznye (Spitsyn 1972) teszteken értek el szép eredményeket, de olvashatunk alma és körte viszonylag korai stádiumában preparált embriók jó *in vitro* fejlődéséről is (Boiko 1971).

Ribizkén folytatott fertődi kísérletek szintén kedvező eredményre vezettek.

Haploid növények előállítása

Jelen tudásunk szerint gyümölcsfajok antératenyészetéből csak kivételesen képződnek pollen-haploidok. Egyetlen hitelesnek látszó dolgozat tanuskodik arról, hogy reális lehetősége van ilyen, a heterózisnemesítés szempontjából felbecsülhetetlen értékű, mérsékeltégövi fajokhoz tartozó, alapanyag létrehozására. Wü és munkatársai (1984) több mint 600 haploid növényt regeneráltak két almafajta antéráinak pollen-kalluszából. Bár cseresznye (Seirlis és mtsai 1980) és szamóca (Rosati és mtsai 1975) portokeredetű kalluszából is keletkeztek hajtások illetve növények, ezek differenciálódásának helye bizonytalan, genetikai értékük meghatározásra vár.

Laboratóriumunkban 1970 óta foglalkozunk ribiszke, málna, szeder és szeder málna antérák *in vitro* tenyésztésével haploidok indukálása érdekében. Eddig csak kalluszképződésig jutottunk el.

Mutációk indukálása

A génmutációkon alapuló fajtajavító nemesítés és a mutáns alapanyag előállítás hatékonyságát is számottevően növelik az *in vitro* tenyésztési eljárások.

A steril kultúrák megfelelő előkészítésével elérhetjük, hogy a táptalajhoz adott mutagén kemikáliák érzékeny fázisban találják a sejteket, következőképpen a mutációs ráta jelentősen emelkedik.

A kallusz-szinten nagyobb gyakorisággal bekövetkező spontán genetikai változások teljes növényben történő rögzítésével szintén értékes mutánsokhoz juthatunk. Ezek a szomatikus klónvariációk különösen a vegetatív úton szaporított növények – valamennyi gyümölcsfaj idetartozik – nemesítésénél nagyjelentőségűek. Amennyiben ezzel a módszerrel nagyszámú növényt állítunk elő, növeljük a standard fajta egy-két tulajdonságot érintő, kedvezőirányú, változásának valószínűségét. A szomaklón variációk területén szerzett tapasztalatok minden eddiginél hatékonyabb fajtajavító nemesítési eljárás körvonalainak kibontakozását sejtetik.

Érdekes módon a vázolt ígéretes módszereket csak elvétve alkalmazzák a gyümölcsnemesítésben (Oosawa és Takayanagi 1982). Ez a tény még külön kiemeli a fertődi laboratórium ilyenirányú kutatásainak jelentőségét.

A mutációs gyakoriság növelésére irányuló *in vitro* kísérletek teszt-növényeül a *Fertődi 4.* szamóca fajtajelöltet választottuk. A steril kultúrában nevelt gyökérnélküli növényeket etil-metán-szulfonát 470 ppm koncentrációjú oldatában 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 20,0 percig áztattuk, majd hajtáshozó táptalajra vittük. A második átoltás után a növények gyökerezte-

tő médiumra kerültek, és teljes növénné regenerálódtak. Első értékelésre 1986 tavaszán került sor. A 10 és 20 percig tartó kezelésben részesített növények között a kiinduló fajtából eltérő egyedeket találtunk.

A szomaklón variánsok nemesítési értékének meghatározása érdekében több mint ezer, különböző számócafajta antéra-kalluszából nyert, növényt ültettünk ki. Közülük a *Pocahontas* fajta mintegy 500 egyedének első értékelésére 1985 tavaszán került sor. A kalluszeredetű növények kromoszómaszáma a korai stádiumban észlelt citológiai zavarok ellenére végülis nem változott. Ugyanakkor érési idő, együttérés, betegséggellenállóság és gyümölcsminőség tekintetében a kiinduló törzstől jelentősen eltérő variánsokat találtunk. További fontos fajták (*Gorella*, *Vesper*) szomaklónjainak értékelése folyamatban van.

Poliploidizálás

A kromoszómaszám megduplázását, mely mind a fertilitás helyreállítását mind a gyümölcsminőség javítását célozza, szövettenyésztéses technikával két úton is megvalósíthatjuk. A táptalajhoz adagolt kolhicin általában hatékonyabb mint a hagyományos, nem steril körülmények között végrehajtott, kolhicin-kezelések. Még szerencsésebb, ha a kallusz-szinten viszonylag gyakran előforduló spontán poliploidizálásra építhetünk. Az ilyen eredetű növényeket nem terhelik a kolhicin kedvezőtlen mellékhatásai (káros génmutációk, mixoploidos megjelenési forma).

Nincs tudomásunk az előbbi lehetőségek gyümölcsnemesítési felhasználásáról. Laboratóriumunkban előkísérletek folynak steril számóca-kultúrákon, a kolhicin optimális koncentrációjának meghatározására. A tenyészetek 3 hétig fejlődtek 100, 250, 1000, 2000 mg/l hatóanyagtartalmú médiumon. A poliploidizáló anyag 500 mg/l töménységtől felfelé határozottan gátolta a kultúrák növekedését. A gátlás a kolhicin dózissal arányosan nőtt, és még két átoltás után is nyilvánvaló volt. A gátlás illetve a kezelő anyag toxicitásának mértéke a túlélő kultúrák arányával is jól kifejezhető. A 100 ppm. higítású kezelést a tenyészetek 70 százaléka a 2000 ppm töménységűt csak 40 százaléka élte túl. A jelek szerint hatékony kezelést közepes dózissal végezhetünk el.

A spontán poliploidizálódás szép példáját tapasztaltuk a kalluszeredetű *Bordurella* remontáló számócafajta citológiai vizsgálata során. Valamennyi egyednek ($2n=16x$) 112 kromoszómája van, szemben a standard anyanövények ($2n=68x$) 56 kromoszómaszámával. A lombikban keletkezett 16-ploid növények igen bőven virágoznak, leveleik feltűnően vastagok, bőrszerűek. Felhasználásuk új utat nyithat a számócanemesítésben.

Növények *in vitro* tárolása

Fajtagyűjtemények és nemesítési törzsállomány génbankszerű *in vitro* tárolási rendszerének kidolgozása alapvető fontosságú a gyümölcsnemesítésben és betegségmentes szaporítóanyag előállításában egyaránt. A technológia kialakításának feltételei adottak, de egyes fajok igényeinek megismerése érdekében kísérleteket kell végeznünk. Kidolgozott tárolási technikák birtokában, a hagyományos eljárásnál olcsóbban és megbízhatóbban őrizhetjük meg az értékes növényállományt.

Fent említett céllal, tartamkísérlet keretében, +4°C hőmérsékleten tárolt szamóca kultúrák állapotát 1985 novemberében ellenőriztük.

Örvendetes, hogy a fajták jelentős részének átoltás nélküli tárolhatósága elérte, sőt több esetben meghaladta, a 20 hónapot. Külön ki kell emelnünk a *Framura* fajtát, melynek tenyészetei 2 év elteltével is kitűnő állapotban voltak. Ugyancsak említést érdemel a *Hakras Romata* viszonylag jó kondícióban megért 31 hónapos tárolhatóságáért.

Az első ilyen kísérlet várakozáson felüli sikeréből arra következtetünk, hogy az eljárás kisebb módosításával a szamóca steril tenyészeteket akár 4–5 évre is hűtőkamrába helyezhetjük a pusztulás veszélye nélkül. A kultúrák élettartamát meghosszabbíthatja a nagyobb térfogatú edények és nagyobb mennyiségű táptalaj használata, valamint az edények zárásának tökéletesítése. Nem lehetetlen, hogy a raktározási technika tökéletesítése elvezet az élő növények iparszerű, szinte korlátlan ideig tartó, tárolásáig, ami a kutatás mellett előnyösen hat majd mind a szaporítóanyag termelésre mind pedig a kereskedelemre.

Összefoglalás

A szövettenyésztési technikák jelentős része a gyümölcsnemesítés kutatási szintjén érvényesül. Közülük szélesebbkörű alkalmazásra lehet ajánlani a hibrid-embriók steril felnevelésének módszerét, növények *in vitro* hidegen tárolását és a szomatikus klónvariációkban rejlő lehetőségek kiaknázását. Ez utóbbi eljárás jól regenerálódó kalluszú fajok (szamóca, egyes cseresznye, szilva, mogyoró és alma klónok) fajtajavító nemesítésében ígér sikereket.

Az *in vitro* poliploidizálás terén már születtek biztató kezdeti eredmények, de pollen-haploidok indukálásában csak akkor történhet előrelépés, ha a jelenleginél jóval nagyobb energiát fordítunk a tenyésztés finomabb részleteinek kimunkálására.

Irodalom

- Boiko G. N. (1971): Sborn. Nauchn. Rab. Vsesoyuz. Nauchn. – Issledov. Inst. Sadov. I. V. Mich., 15, 75–79.
- Hesse C. O. – Kester D. E. (1955): Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 65., 251–264.
- Cosawa K. – Takayanagi K. (1982): V. Int. Cong. Plant Tissue Cell Cult., Tokyo, Abstracts, 121.
- Paunovic S. A. (1973): Jugosl. Vocarst., 7/23/, 3–13.
- Rosati P. – Devreux M. – Laneri U. (1975): HortSci., 10, 119–120.
- Seirlis G. – Mouras A. – Salesses G. (1979): Ann. Amelior. Plant. 29, 145–161.
- Spitsyn I. P. (1972): Biolog. Sborn., 71–76.
- Wu J. – Huang D. – Han D. (1984): Int. Symp. on Genetic Manipulation in Crops, Beijing Abstracts, 4.

ÜVEGHÁZI DÍSNÖVÉNYEK MIKROSZAPORÍTÁSA

A biotechnológia határterülete – a növényi szövettenyésztés – korán polgárjogot nyert a dísnövénytermesztésben. A külföldi és hazai kutatási eredmények alapján folyik a vágottvirágok vírusmentesítése és részben tömeges elszaporítása.

A máig ismert módszerek sok dísnövényfaj tömeges szaporítását lehetővé tennék és mégis, mintha megfeledeznénk a gyakorlati alkalmazás fontosságáról és gazdasági jelentőségéről.

Hogy ez nem mindenütt van így, arra legyen példa a Hollandiában tapasztalható gyors fejlődés.

1. sz. táblázat

Merisztéma szaporítással foglalkozó laboratóriumok és az általuk előállított dísnövények mennyisége Hollandiában 1981–1985. években (+1986 előrejelzés)

Év	üzemek száma	főbb dísnövény csoportok			dísnövény összesen
		cserepes	vágott	egyéb	
1981	29	4 725 100	2 019 200	3 193 350	9 937 650
1982	28	11 208 260	2 275 235	2 789 410	16 272 905
1983	28	15 243 327	3 634 497	1 946 694	20 824 318
1984	33	15 428 130	10 036 990	3 234 902	28 700 022
1985	42	17 412 586	11 420 824	6 777 345	35 610 755
1986 +	50+				45 000 000 +

A holland szakemberek 1995-re, tehát 10 év múlva, 300 millióra becsülik a laboratóriumokban évente szaporított dísnövények számát. És ez csak a hollandiai szaporítás. Ehhez jön a francia, belga, dán, NSzK üzemek nem lebecsülendő tevékenysége.

Az így előállított szaporítóanyag jobb minőségű, magasabb biológiai értékű. Az exportra termelő üzemek nem térhetnek ki a kihívás elől, vagy megvásárolják, vagy maguk állítják elő a szükséges szaporítóanyagot, hogy termékük versenyképes maradjon. A szaporítóanyag nagy devizaigénye miatt – tartósan és nagy tömegben nem vásárolható meg külföldről. Marad tehát a hazai előállítás.

A dísnövénytermesztésben a szerkezetváltás a cserepes dísnövények termesztésének kedvez, és ez a tendencia – előrejelzések szerint – 2000-ig

is változatlanul tartani fog. Ezt figyelembe véve fokozott gondot kell fordítani a cserepes dísznövények mikroszaporítására.

Az eddigi kísérletek eredményeként Begoniák, Broméliák, Cordyline, Ficus, Gerbera, Kalanchoe, Philodendron, Nephrolepis, Saintpaulia, Schefflera, Syngonium nagytömegű szaporítására már ma is lehetőség volna. A hazai kínálat mégis vajmi kevés. Ennek egyik oka, hogy laboratóriumaink drágán dolgoznak és az általuk előállított szaporítóanyag árban nem versenyképes. Ennek köszönhető az is, hogy a szaporítóanyag-export nem indult meg a külföldi nagy felfutás ellenére sem.

Vegyük példának a Nephrolepist, amiből Hollandiában 2,7 millióról 10,1 millióra futott fel a laboratóriumban előállított szaporítóanyag termelés az elmúlt 5 év alatt. Hazánkban a Meriklón GT szaporít Nephrolepist. Exportra is gondoltak a szaporítás megindításakor, de évek óta még a hazai igényeket sem elégítik ki, mivel náluk ez a szaporítás nem elég gazdaságos. Így nem marad más hátra, a termelő üzemnek magának kell előállítani – versenyképes áron – saját laboratóriumában a szükséges szaporítóanyagot. Export esetén a nemzetközi piac értékítélete a döntő. Az sem tartható sokáig, hogy belföldön drágábban adunk el szaporítóanyagot, mert akkor a késztermék válik gazdaságtalanná.

Azokkal a fajokkal, fajtákkal, amelyekből külföldön nagy tömeget állítanak elő, ma már nehéz betörni a piacra. Marad az a lehetőség, hogy a hazai kutatók olyan fajok mikroszaporítási eljárásait dolgozzák ki, amelyek még hiánycikkek a külföldi piacon. Cserepes dísznövények közül ilyenek pl. az Araucaria, Codiaeum, Dieffenbachia, Howea stb. Ha ezek közül valamelyikkel sikerülne betörni a piacra, akkor könnyebb lenne a hagyományos fajtákkal is tért hódítani.

Az energiaárak magas szintje sok olyan dísznövény termesztését gazdaságtalanná tette, amelynek szaporításához – üvegházakban – nagy anyatelepeket kell fenntartani. A Ficus merisztéma szaporításának megoldásával lehetőség nyílt kisméretű anyanövények előállítására. Ezekről a növényekről csak mini fejdugványokat vágunk, így a korábbi anyatelep egyhuszad részének megfelelő területen ugyanannyi dugványt nyerünk, jobb minőségben, mint korábban.

Ezzel a módszerrel a korábbi szakaszos termesztés helyett – a kiültetett anyanövényekről csak ősszel és tavasszal lehetett dugványt vágni – most folyamatos a dugvány előállításunk és így a késznövény előállításunk is. A mikroszaporítás bevezetésével ismét gazdaságossá vált a Ficus termesztésünk, minőségben pedig versenyképes az áru a legigényesebb nyugati piacon is.

A fenti tapasztalatokból azt a következtetést vonjuk le üzemünk számára, hogy az üzemi laboratóriumunk kapacitásának növelésére kell töreked-

nünk, hogy versenyképességünket meg tudjuk őrizni. A saját laboratóriumban gyorsabban tudunk a mindenkori piaci igényekre reagálni, és új növények mikroszaporítási technológiáját vagy magunk fejlesztjük ki, vagy megvásároljuk de a tömegszaporítást mindenképp az üzembe végezzük.

Az üzemi laboratóriumok természetesen nem nélkülözhetik a kutató és fejlesztő laboratóriumokkal történő együttműködést, de a tömeges elszaporítás megítélésünk szerint mindenképp üzemi feladat marad.

A fejlesztések során tehát ezekről sem szabad megfeledkezni, mert ezek a kutatási eredmények realizálásának bázisai.

BIOTECHNIKAI ÉS BIOTECHNOLÓGIAI KUTATÁSOK TAPASZTALATAI A JUHTENYÉSZTÉSBEN

Összefoglaló: Az 1984-ben létrehozott Mosonmagyaróvári Biotechnikai Állomás kutatócsoportja elsősorban az állattenyésztési-állategészségügyi reprodukciós biotechnika-biotechnológia kérdéseivel foglalkozik. Biotechnikai eljárást dolgoztak ki bakteriális fertőző betegséggel terhelt import lacu-ne juhállomány genetikai anyagának megmentésére, s az eljárás alkalmazhatóságát a gyakorlatban is bizonyították, ezzel a generációváltásos állománymentesítés új módszerét adták az állategészségügy kezébe. A program során vizsgálatokat folytattak a szuperovuláltatás módszerének javítására juhoknál, az LH–RH hatását mérték, az ismételt szuperovuláltatás eredményességét vizsgálták, a két kezelés közti idő függvényében. Elsőként bizonyították, hogy a cervicouterianlis inszeminálás szuperovuláltatás esetén is alkalmas eljárás kellő számú embrió nyerésre. Alapprogramukhoz csatlakozva a Bécsi és Budapesti Állatorvostudományi Egyetem kutatóival közösen embriómanipulációs kísérletsorozatba kezdtek. Náluk született meg az első magyarországi, embriófelezéssel létrehozott monozygotikus ikerbárány pár 1985. áprilisában, majd 1986. áprilisában az első kiméra bárány. A csoport egyik törekvése, hogy az embrió transfert embriómanipulációs eljárásokat tökéletesítve finomabb biotechnológiai eljárások alkalmazásának lehetőségét teremtsen meg az embriónál.

Az állattenyésztési reprodukciós és produkciós teljesítmények fokozására irányuló biotechnikai-biotechnológiai eljárások megismerése, adaptálása, továbbfejlesztése, új eljárások kidolgozása, majd a nagyüzemi gyakorlatban való gyors bevezetése, s oktatásuk érdekében az ATEK. Kutatásszervezési és Termelésfejlesztési Intézeténél Mosonmagyaróvárrott 1984-ben Biotechnikai Állomást hoztunk létre. A kutatócsoport személyi összetétele, szakmai előélete alapján elsősorban a reprodukciós teljesítmények optimalizálására irányuló biotechnikai-biotechnológiai eljárásokkal foglalkozunk gazdasági haszonállatainknál.

A gazdaságosság fokozása érdekében a szap. biol. gondozás keretein belül korábban is beavatkoztunk haszonállataink reprodukciós életfolyamataiba, először terápiás célból, majd a termelési cél érdekeit egyre inkább szem előtt tartva, az életfolyamatok regulálásával. Ebből a munkából fejlődött ki a szaporítás biotechnikája, újabban pedig az embriómanipulációs eljárások tökéletesítése útján beavatkozunk az öröklésmenetbe, s a genetikai anyag megváltoztatására törekszünk. Az embriótranszfer, az embriómanipu-

lációs eljárások tökéletesítése teremti meg az alapot ahhoz, hogy a genetic engineering eljárásaitól várható előnyöket a tenyésztésben magánál az állati szervezetnél realizálni tudjuk.

Az előbbi célokat szolgáló munkát juhállományoknál kezdtük meg. Ehhez a fajhoz két körülmény vitt el bennünket. Egy-egy anya viszonylag kisebb gazdasági értéket képvisel mint a többi nőivarú haszonállat, így szűkös anyagi helyzetünkben ideális modell állat. Másrészt egy, a juhtenyésztés oldaláról jelentkező konkrét feladat megoldására az embrióátültetés látszott megítélésünk szerint a legalkalmasabb eljárásnak.

— Egyetlen import lacaune juhállományunk a Morel-féle betegséggel fertőzöttnek bizonyult. A kórokozó tulajdonságai miatt az állománymentesítés a hagyományos eljárásokkal valószínűtlennek látszott. Mivel e betegség Magyarországon eddig nem fordult elő, az ország állományának védelme érdekében a mindvégig karanténban tartott lacaune nyáj felszámolás előtt állt 1983 végén. Az állomány a tej és hústermelés szempontjából rendkívül nagy genetikai értéket képvisel, ezért kutatócsoportunk arra vállalkozott, hogy generációváltásos mentesítést — az egyetlen igazán biztonságosnak látszó módszerrel — embrióátültetéssel kísérli meg. Tudtuk, hogy vállalkozásunkkal új utakra indulunk, mert néhány juh-embrió átültetéséről már az 1930-as évektől jelentek meg beszámolók (Warwick és mtsai 1934; Casida és mtsai 1944; Warwick és Berry 1949; Lopyrin és mtsai 1950, 1951), majd a Cambridge-i csoport (Hunter és mtsai 1955; Averill és mtsai 1956, 1958; Rowson és Adam 1957; Averill és Rowson 1958) tisztáztak nagyon sok technikai kérdést de biotechnikai módszerrel végrehajtott állománymentesítésről eddig még nem voltak szakirodalmi adatok. Azóta bizonyítottuk, hogy alapgondolatunk helyes, e biotechnikai eljárás valóban alkalmas állománymentesítésre. A recipiensként felhasznált merinó anyáknál, valamint a megszületett lacaune bárányoknál a Morel-féle betegség tünetei nem jelentkeztek. Az embrió-átültetési technikát megismertük, s több kérdést tisztáztunk. Ezekből szeretnénk vázlatosan bemutatni néhányat: Irigykedhetünk csupán a humán biotechnikával-biotechnológiával foglalkozó kutató kollégákra, nekünk minden faj sajátosságait külön-külön meg kell tanulnunk. Nem lehet pl. a szarvasmarha embrióátültetésénél közölt ismereteket egy az egyben a juhnál alkalmazni, sőt a fajták közti eltérésekre is figyelniük kell. Az egyes biotechnikai preparátumok PMSG, PGF₂, LH—RH stb. applikációja során nemcsak az eltérő dózisokra kell figyelniük, de más a hormonkészítmények finomabb hatásmechanizmusa is az egyes fajoknál, különösen pedig ezek interakciója eltérő. Kísérlet sorozataink során szezonban akkor kaptuk a legkedvezőbb szuperovulációs választ, ha két megfigyelt, szabályos intervallumú ivarzás után a ciklus 10. napján applikáltuk a PMSG-t, majd a corpus luteum metoestrum progeszteron termelését a PMSG után az 55.—60.

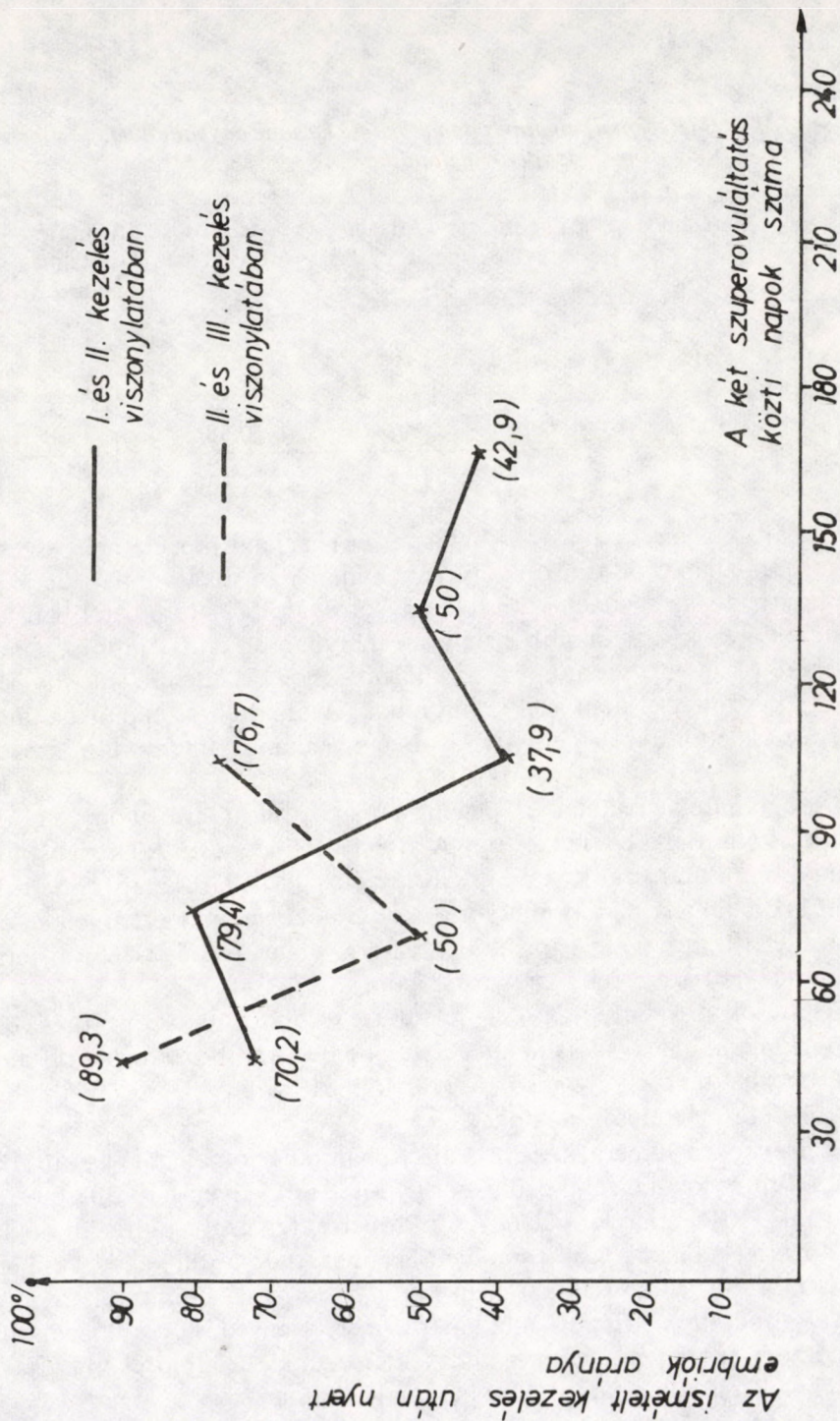
óra közt adott PGF_2 -val függesztettük fel. Nagyon vigyáznunk kell a PMSG dózisára, mert Moore és Shelton 1964 megállapításához hasonlóan mi is a luteális ciszták számának gyarapodását láttuk a dózis emelésével párhuzamosan. A szezon végén, a pótszezonban a ciklusos sárgatest progeszteron termelése egyedenként annyira szór, hogy a ciklus 5. napján pótlásként progesztagén-tartalmú implantáum alkalmazása látszik célszerűnek a szuperovuláltatás előtt.

Megállapíthatjuk azt is, hogy az egyes PG készítmények, illetve PG analógok eltérő mértékben ugyan, de gátolják a szuperovuláltatás után beinduló progeszteron termelést. Erre egyébként Willadsen 1979-ben már felhívta a figyelmet. Azt láttuk, hogy – különösen PG túladagolás után – az embrió fejlődése a 4. napos korban, kb. 8 sejtes állapotban megáll („leblokkol”), a sztereomikroszkóp alatt a blasztomérok még épeknek látszanak, de az átültetés eredménytelen lesz. Ez a 4. napos „blokk” a juh embrióra jellemző, a kezdő bírálót nagyon könnyen megtévesztő sajátosság. Valami hasonló jelenséget Booth 1975-ben, Bouters 1977-ben szarvasmarhánál figyelt meg, de ott ez sokkal kisebb jelentőséggel bír.

Az ovulációt siettető hormonkészítmények szuperovuláltatáskor történő alkalmazásával kapcsolatban nagyon eltérőek a kutatói vélemények. Wright 1980-ban LH preparátum alkalmazását javasolta a korai oestrus idején. Még korábban Killeen és Moore 1970-ben HCG kezelést végzett e célból. Mi egy LH-RH készítményt (Receptal) próbáltunk ki. A 2. inszemináláskor alkalmaztuk az ovulációk gyorsítása céljából. A kapott eredményeket az 1. táblázatban mutatom be. Az a véleményünk alakult ki, hogy alkalmazására nincs szükség. Ugy látszik az anyajuh rendelkezik megfelelő endogén LH-val ahhoz, hogy a szuperovuláció időben megtörténjen.

Összehasonlító kísérletsorozatainkkal bizonyítottuk, hogy a szakmai közvéleményben általánosan elfogadott sebészeti, vagy laparoszkópos intrauterinális inszeminálásra szuperovuláltatás után nincs szükség. A Tasi-féle katéterrel végrehajtott cervicouterinális inszeminálás egyszerűbb, gyakorlatiasabb, s vasektomizált kosok alkalmazásával eredményes, ld. 2 táblázat.

Ausztráliában Moore és Shelton 1962-ben egy éves intervallummal PMSG-vel végzett ismételt szuperovuláltatás után nem talált szignifikáns különbséget a szuperovulációs válasz mértékében. Írországban szintén PMSG kezelés után Lynch (1968) úgy találta hogy 6–9 hónapos periódus alatt akár háromszor is lehet szuperovuláltatni a juhot. Gherardi és Martin (1978) megnézték, hogy merinó anyák 1000 NE PMSG ismételt alkalmazására milyen választ mutatnak. Nem találtak progresszív hormonválasz csökkenést. Mi az ismételt szuperovuláltatás eredményességét műtétekkel is ellenőriztük. A kapott eredményt az 1. ábrán mutatom be.



1. ábra: Az ismételt szuperovuláltatás eredményessége a két kezelés közti idő függvényében

*Az LH–RH (Receptal) alkalmazásának hatása lacaune anyajuhoknál
szuperovuláltatáskor*

Csoport	Létszám	Átlagos sárgatest sz.	Átlagos petef. cystasz.	Átlagos petesejt sz.	Beültetésre alkalmas embrió sz.
Receptalt kaptak	618	3,4	0,57	0,50	0,96
Receptalt nem kaptak	303	3,8	0,28	0,58	1,48

Azt találtuk, hogy a fél éven belül végzett ismételt kezelésnél összességében kevesebb embriót tudtunk nyerni, mint előző alkalommal, de a két kezelés közti idő az ovulációs rátát nem befolyásolta, sőt a korábban végzett ismételt kezeléskor inkább nagyobb arányban sikerült embriókat kapnunk. Feltételezésem szerint ez azt jelenti, hogy nagyobb mennyiségű anti-PMSG képződéssel nem kell számolnunk. A csökkenést inkább az okozta, hogy az ismételt kezelés elnyúlásával egyre inkább kimentünk a szezonból.

Alaprogramunk alkalmat és pénzügyi alapot adott arra, hogy embriómanipulációs kísérletekbe kezdjünk. A Bécsi és Budapesti Állatorvostudományi Egyetem kutatóival közösen embriószétosztási eljárásokat próbáltunk ki különböző fejlődési stádiumú embriókkal. E közös munka eredményeként nálunk születtek meg 1985. áprilisában az első embriómanipulációval létrehozott monozygotikus ikrek Magyarországon.

Az eljárások továbbfejlesztését jelentette csoportunk azon törekvése, hogy embriómanipulációval kimérát állítsunk elő. Különböző technikai megoldásokat próbáltunk ki. Az első magyar kiméra bárány 1986. áprilisában született meg, természetesen nálunk.

Az idei évben a kiméra készítési mikromanipulációs eljárást továbbfejlesztettük. Juh és kecske fél-morulákat egyesítettünk. Ilyen kétfajú embriót inplantáltunk 10 merinó anyába. Az októberre tervezett biotechnológiai munkabizottsági találkozókor remélhetőleg már tudok juh-kecske kiméra bárányt is mutatni. Kutatásainkat nem korlátozzuk csak a juh fajra, de mindig hálával gondolunk kísérleti állatainkra, mert szenvedésük is hozzájárult ahhoz, hogy e területen új ismereteket szerezzünk, s a biotechnikai-biotechnológiai eljárásokat a társadalom hasznára alkalmazzuk.

A cervico-uterinális inszeminálás és a fedezetés eredményességének összehasonlítása lacuane anyák szuperovulátásakor az ivarzó csoporton hagyott vasektomizált próbakosok használatával vagy nélkülük

Próbakosok	Inszemilált csoport			Fedezettett csoport			Összesen		
	Létszám	Átl. emb. rió sz.	Átl. petes. v. retard embrió sz.	Létszám	Átl. emb. rió sz.	Átl. petes. v. retard embrió sz.	Létszám	Átl. emb. rió sz.	Átl. petes. v. retard embrió sz.
Az ivarzó cs.-ban voltak	80	2,93	1,03	80*	2,48	1,16	160	2,70	1,09
Nem voltak az ivarzó	80	1,11	3,08	28**	0,39	3,25	108	0,93	3,12
Összesen:	160	2,02	2,05	108	1,94	1,70	268	1,99	1,91

* Az anyákat a tenyészkosokkal kézből fedezettük 2x-3x az ivarzás alatt, s a csoportokra vasektomizált kosokat eresztettünk.

** Két három anyá és egy tenyészkos alkotott háremet.

Irodalom

- Averill, R. L. W. (1956): The transfer and storage of sheep ova. Proc. 3 rd. Int. Cong. Anim. Reprod. Camb. 3, 7-9.
- Averill, R. L. W. (1958): The production of living sheep eggs. J. Agric. Sci., Camb. 50. 17-33.
- Averill, R. L. W. and Rowson, L. E. A. (1958): Ovum transfer in sheep. J. Endocr 16. 326-336.
- Booth, W. D., Newcomb, R. (1975): Plasma oestrogen and progesterone in relation to superovulation and egg recovery in the cow. Vet. Rec. 97. 366-369.
- Bouters, R. Moyaert, I. (1980): Premature regression of the corpora lutea in superovulated cows. Theriogenology. 14, 207-216.
- Casida, L. E. Warwick, E. J. és Meyer, R. K. (1944): Survival of multiple-pregnancy in the ewe following treatments with pituitary gonadotropins J. Anim. Sci. 3. 22.
- Hunter, G. L., Adams, C. E. és Rowson, L. E. A. (1955): Interbreed ovum transfer in sheep. J. Agric. Sci. Camb. 46. 143-149.
- Killeen, I. D. és Moore. N. W. (1970): The effect of pregnant mare serum gonadotropin and HCG on ovulation and fertiliti in the ewe Aust. J. Agric. 21. 807-814.
- Lopyrin, A. I. Loginova, N. V. és Karpov, P. L. (1950): Sovetsk. Zootech. 8. 50.
- Moore, N. W. és Shelton. N. J. (1962): Oestrous and ovarian response of the ewe to a horse anterior pituitary extract. Nature. Lond. 194. 1283-1284.
- Moore, N. W. és Shelton, N. J. (1964): Response of ewe to a horse anterior pituitary extract. J. Reprod. Fert. 7. 79-87.
- Rowson, L. E. A. és Adams, C. E. (1957): An egg transfer experiment in sheep. Vet. Rec. 69, 849.
- Warwick, B. L., Berry. R. O. (1934): Results of mating rams to Angora female goats. Proc. 27th. Ann. Meet. Soc. Anim. Prod. 225-227.
- Warwick, B. L. és Berry, R. O. (1949): Inter-generic and intraspedifid embryo transfer. J. Hered. 40. 297-303.
- Willadsen, S. M. (1979): Embryo transplantation in sheep. Management and Diseases of Sheep. p. p. 69-85. Comm. Agric. Buc. Slough.
- Wright, R. W. Jr., Bondioli, K. R. (1980): FSH or FSH + LH superovulation in ewes following estrus synchronization with medroxyprogesterone acetate pessaries. J. Anim. Sci. 51. 339.

A SZARVASMARHA IVARSZABÁLYOZÁS KUTATÁSÁNAK HELYZETE
ÉS EDDIGI EREDMÉNYEI

A szarvasmarhatenyésztésben a specializált termelés jelentős előretörésével, a vegyeshasznosítás csökkenésével egyre erősödő igényként jelentkezett az ivarszabályozás kutatása annak lehetőleg eredményes megoldása. Közismert dolog az, hogy a kívánt ivar nagyobb aránya, elszaporítása mind közvetlen gazdasági előnyeivel, mind pedig közvetett genetikai előrehaladást fokozó – hatásánál fogva a nagyüzemi szarvasmarhatenyésztésben forradalmi változást hozhatna.

Az ivarszabályozás megoldására irányuló vizsgálatok a világ számos kutatóhelyén, különböző eljárásokkal, változó sikerrel folynak. Eddigi ismereteink szerint nem áll olyan módszer a gyakorlat rendelkezésére, amely biztosan reprodukálható eredményt szavatolhatna.

Az ivarszabályozási kísérletek hagyományos és jelenlegi biztos kontrollja a született borjak ivararánya, amelynek megállapításához közel egy év szükséges és ez egyértelműen hátráltatja az eljárás fejlesztését. Továbbá nehezíti az adott módszer tökéletesítését az is, hogy nagylétszámú állomány esetében is konzekvensen kell bizonyítani az elért, vagy elérhető ivararányt.

Kérdésként vetődik fel a hímivarú egyedek oldaláról közelítő módszerek esetén az, hogy a bikák egyedisége, kora, hím és nőivart hozó spermiumaik közötti dimorfizmus nagysága milyen mértékben befolyásolja az ivarorientálás érdekében végzett spermaszeparálás eredményét. Pillanatnyilag még nem tökéletesen megoldott az említett jellemzők előrejelzése. Az X-, illetve Y kromoszómát tartalmazó ivarsejtek azonosítására különféle módszerek szolgálnak. Ezek között a legmunkaigényesebb a spermiumok fejméreteinek mikroszkópos vizsgálata. Irodalmi adatok és saját vizsgálatok is bizonyítják, hogy az X kromoszómát hordozó sejtek fejszélessége 1–7%-kal, fejhosszúsága 0,5–6%-kal nagyobb az Y kromoszómával rendelkező sejtekhez képest. Az Y kromoszóma festése rendkívül jó megoldás lenne, azonban eddigi ismereteink szerint ez csak emberi spermiumok esetében alkalmazható. A leg-tökéletesebb megoldást az ún. áramlási sejtfuoriméter biztosítaná, amely lézeres detektálással pontosan mérheti a sejtek fejének dimenzióit és a bennük lévő DNS tartalmat. Az említett műszer további mérési „finomítása” hozhat számunkra kielégítő eredményt.

Ebből a szempontból igen nagy jelentősége lesz azoknak a vizsgálatoknak, amelyeket a Debreceni Állattenyésztő Vállalattal, a Debreceni Orvostudományi Egyetem Biofizikai Intézetével közösen végzünk az ivarorientá-

ció határfokának biofizikai kontrollja területén. Az áramlási sejt fluoriméterben végzett vizsgálatok együttműködésünk alapján nagyban hozzájárulhatnak szedimentációs módszerünk továbbfejlesztéséhez és az előállított ivarorientált sperma adagok teszteléséhez. Ezzel a korreferátumomban említett korlátozó időtényezőt kapcsolhatjuk ki, jelentősen gyorsulhat az ivarorientált sperma előállítás módszerének tökéletesítése.

Az ivarszabályozás kínálkozó módszerei közül saját vizsgálatainkban a megítélésünk szerint legeredményesebb megoldást jelentő szedimentációs módszerrel dolgoztunk. Véleményünk szerint az irodalomból ismert többi módszer (a testnedvek kémhatásának megváltoztatása, elektroforézis alkalmazása, „a célzott inszeminálás”, H–Y antigén használata) az eddigiekben nem hozott kielégítő és reprodukálható eredményt. Ez indokolta azt, hogy a szedimentációs módszert választottuk.

Az eddigiekben elvégzett szarvasmarha ivarszabályozási kísérletek összesített eredményét a mellékelt táblázat tartalmazza. A mintegy 2000 utódra vonatkozó nagyüzemi méretűnek tekinthető kísérletsorozat alapján megállapíthatjuk, hogy a szedimentációs módszer a gyakorlat által megkívánt 60–40% körüli eredményt biztosíthatja, különösen akkor ha a hibák egyediségét figyelembevéve azokat szelektíve alkalmazzuk az ivarszabályozás céljára. A citológiai vizsgálatok segítségével előre jelzett egyedi bika-tulajdonságok alapján kijelölhetjük azokat az egyedeket amelyek a szedimentációs módszer alkalmazása mellett kielégítő ivarszabályozási eredményt hoznak. Ezzel biztosítható lesz a gyakorlat számára megkívánt 60–40%-os ivararány.

1. táblázat

Ivarszabályozási eredmények
Nőivarra orientált termékenyítő anyagok használata esetén
(eredeti és szelektált adatok)

A kísérletbe vont bikák száma	összesen	hím- db	a született borjak		
			nőivarú	hím- %	nőivarú
9	1312	553	759	42,1	57,9
7	1087	444	643	40,8	59,2
Hímivarra orientált termékenyítő anyagok használata esetén (eredeti és szelektált adatok)					
7	711	426	285	60,0	40,0
4	553	347	206	62,7	37,3

Irodalom

- [¹] Iváncsics J.: (1984): Az ivarszabályozás módszerei és várható genetikai hatásuk. (Genetika és biotechnika az állattenyésztésben c. könyv) Szerk.: Dr. Fésüs L. Mg. Kiadó Budapest.
- [²] Iváncsics J.: (1984) A population genetical analysis of the sperm quality of beef and dairy bulls. EAAP. 6–9.08.1984. Hauge. Netherland.
- [³] Ivarszabályozási kísérletek eredményei, a fejlesztés lehetőségei. Interdiszciplináris kutatási együttműködés eredményei és feladatai az állattenyésztés fejlesztésében c. tudományos ülés. Debrecen 1984. szept. 18–19.

**BAINTNER FERENC, SCHMIDT JÁNOS, SZIGETI JENŐ
VARGA JÁNOS:**

**TEJSAVBAKTÉRIUM KULTURÁK FELHASZNÁLÁSA
A TAKARMÁNYTARTÓSÍTÁSBAN**

**A) A STARTERTÖRZSEK HATÉKONYSÁGÁT BEFOLYÁSOLÓ NÉ-
HÁNY TÉNYEZŐ VIZSGÁLATA**

Bevezetés

A tejsavas erjedés irányítása elvben egyrésről a tejsavképzés stimulálásával — fermentálható szénhidrátok és/vagy tejsavtermelő mikrobatorzsek adagolása —, ill. a nemkívánatos fermentáció szelektív gátlása révén valósítható meg.

Fenti eljárások segítségével a savanyított takarmányok végső pH-ját a Wieringa (1969) által javasolt szárazanyag (vízaktivitás) függő stabil értékre (1. ábra) kell beállítani.

Munkánk során egy olyan többkomponensű tartósítószer — keverékstarter készítmény, cukorforrás és szelektív gátlószer — kifejlesztését céloztuk meg, mely e kritériumot nagy hatásbiztonsággal megvalósítja. E közleményben az akrilsavnak, mint szelektív gátlószernek a hatását mutatjuk be a homofermentatív statertörzsekre, heterofermentatív tejsavtermelőkre és a káros mikroflóra vezéralakjára a *Clostridium tyrobutyricum*-ra.

2. Anyagok és módszerek

A szaporodási sebességre utaló nefelometriás vizsgálatokat Lanigan (1963) által javasolt tápközegben vizsgáltuk. A vízaktivitás szinteket Scott (1953) által alkalmazott sókeverékkel állítottuk be.

A gátlószer *Cl. tyrobutyricum*-ra gyakorolt hatását R. C. M. (Oxoid) táptalajban 10^6 -os ml-enkénti induló csíraszámmal inokulálva az aktív csíraszámot jelző gázképződés alapján vizsgáltuk. Az inkorporációs vizsgálatokhoz egy általunk összeállított speciális tápközeget használtuk, melyhez jelzett timint, uracilt és prolint adagoltunk, majd a szűrt sejttömeg utánmosása, szárítása, visszaoldása után mértük. A gátlószer beadagolás 25 perces log. fázisú szaporodás után következett.

A *P. cerevisiae*, a *L. plantarum* és a *L. mesenteroides* törzsekre a gátlást 0,01% akrilsav, 0,3% hangyasav és 0,5% sósav adagolás hatására vizsgáltuk. A pH értékek rendre: 6,0; 4,9 és 4,3-as voltak.

3. Eredmények és értékelésük

Az alkalmazandó homofermentatív *P. cerevisiae* és a *L. plantarum* startertörzsek izolálása és kiválasztása, valamint a heterofermentatív *L. mesenteroides* tesztörzsként való alkalmazása külföldi és hazai irodalmi adatok figyelembevételével történt Lanigan (1965), Bertram *et al.* (1974), Woolford (1978), Wilson *et al.* (1979) és Szigeti (1981).

Az akrilsav, a hangyasav, és a sósav hatását megfelelően pufferelt tápközegben, különböző vízakaktivitás szinteken a különböző tesztorganizmusokra a 2., 3. és 4. ábrán mutatjuk be. A pH értékeket szándékosan nem egálítottuk a kontrolléval, mivel a silózási körülményeket kívántuk modellezni.

Mint a 2. ábrából kitűnik a *P. cerevisiae* a gátlószerek hatásának a szilázskészítés körülményei közötti vízakaktivitás szinteken (0,98–0,96) viszonylag jól ellenáll, de pH tűrése mérsékelt.

A 3. ábrán látható, hogy a *L. plantarum* kitűnő gátlószer „rezisztenciája” jó pH tűréssel párosul.

A 4. ábrán bemutatott *L. mesenteroides*, mint a szilázsmikroflóra heterofermentatív vezéralakja az akrilsavra érzékenynek mutatkozik, ami igen előnyös, mert a nehezen erjeszthető szilázsokban a korlátozott mennyiségben jelenlévő fermentálható szénhidrátokat a homofermentatív törzsek „gazdaságosabban” erjeszthetik tejsavvá, ami intenzívebb pH csökkenést eredményez.

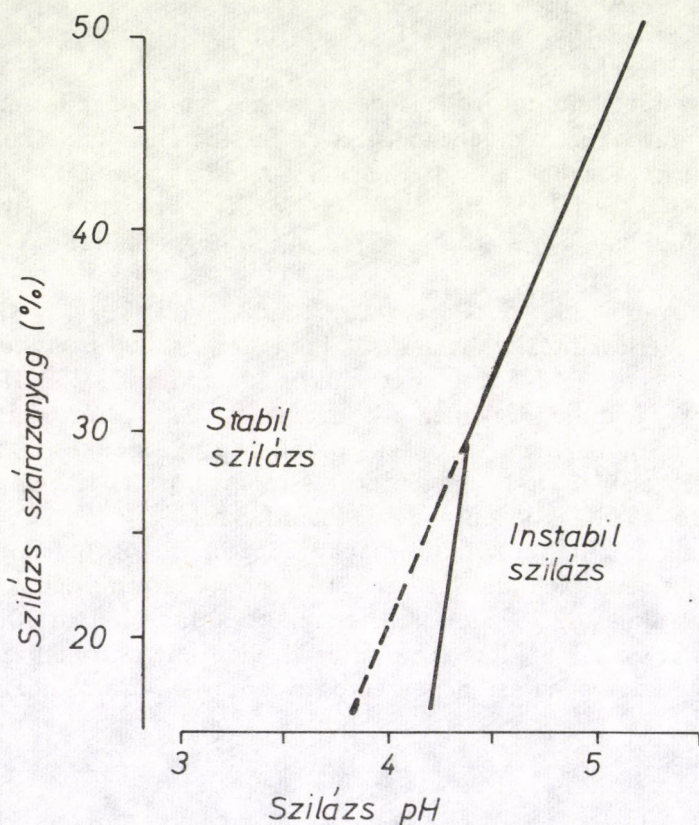
Mint további inkorporációs vizsgálataink, melyekben az akrilsav RNS-, DNS- és fehérjeszintézisre gyakorolt hatását mértük bizonyították, hogy a *L. mesenteroides* RNS szintézisét tápközegben már 0,025% Nátriumakrilát gyakorlatilag leállítja. Ugyanez a koncentráció a *L. plantarum*ra még hatástalan (5. ábra). Itt kívánjuk megjegyezni, hogy modell- és üzemi kísérletek eredményei alapján a *L. mesenteroides*re gyakorolt hasonló hatás, mintegy ötszörös akrilsavkoncentrációnál jelentkeznek.

A 6. ábrán különböző sóformában adagolt tartósítószer hatását mutatjuk be koncentrációjuk függvényében a *Cl. tyrobutyricum* ún. aktív csíraszámának Pulay (1967) megjelenéséig. Az ábrából látható 0,1% alatti akrilát mennyiség a 7,85 log. csíra/ml érték elérését több mint 80 órával késlelteti. Ugyanezt a hatást más szervessav sók 4–6-szoros dózisban eredményezik.

4. Összefoglalás

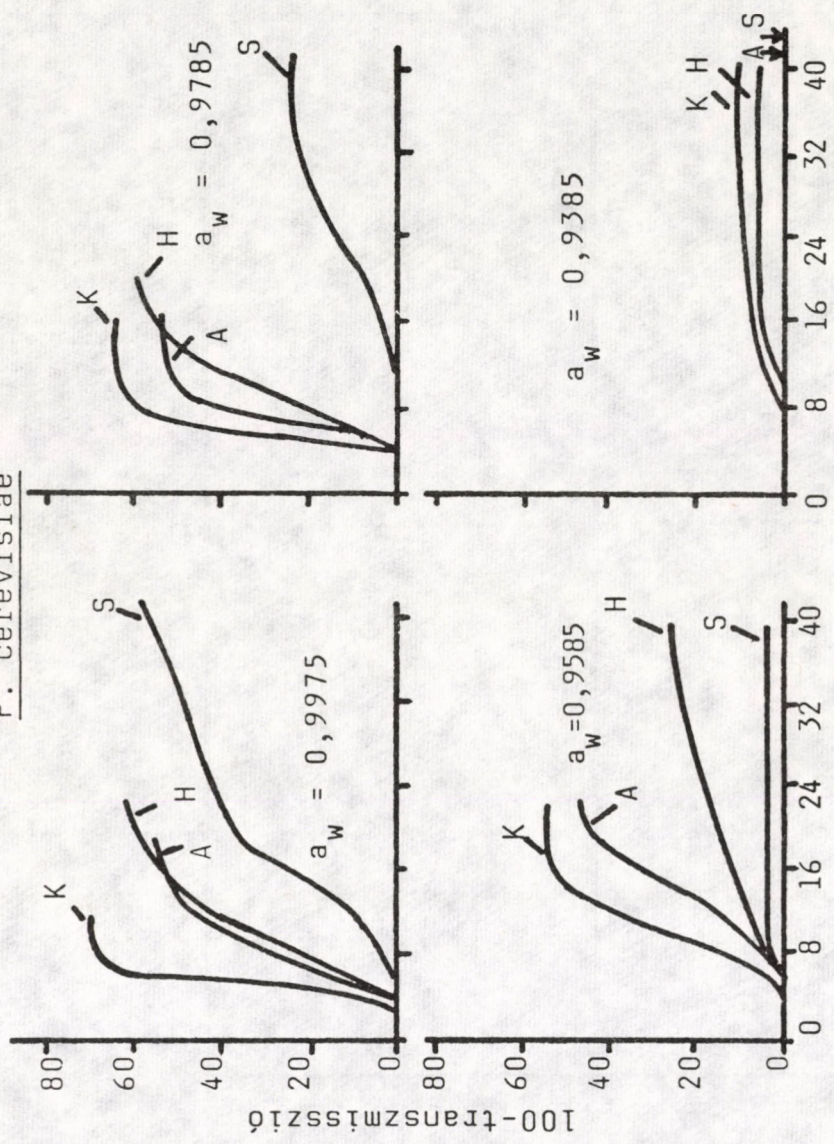
Vizsgálataink alapján az alábbi megállapításokat tehetjük:

- A *Pediococcus cerevisiae* és a *Lactobacillus plantarum* keverékstarter a szilázkészítési hőmérsékletintervallumban szelektív gátlókészítékek együttadagolása esetén is alkalmazható a tejsavas erjedés gyorsítására.
- Az akrilsav megfelelő koncentrációban adagolva szelektíven gátolja a heterofermentatív tejsavas erjesztőket és a romlásos jelenségek kezdeti és egyben kulcslépéséért (tejsav–vajsav átalakulás) felelős szaharolitikus klosztridiumokat.
- Az akrilsav, ill. sói a hagyományos szervessav sóknál 4–6-szor hatékonyabb.



1. ábra: A különböző szárazanyagtartalmú lucernaszilázsok stabilitását biztosító pH-értékek (Wieringa, 1969)

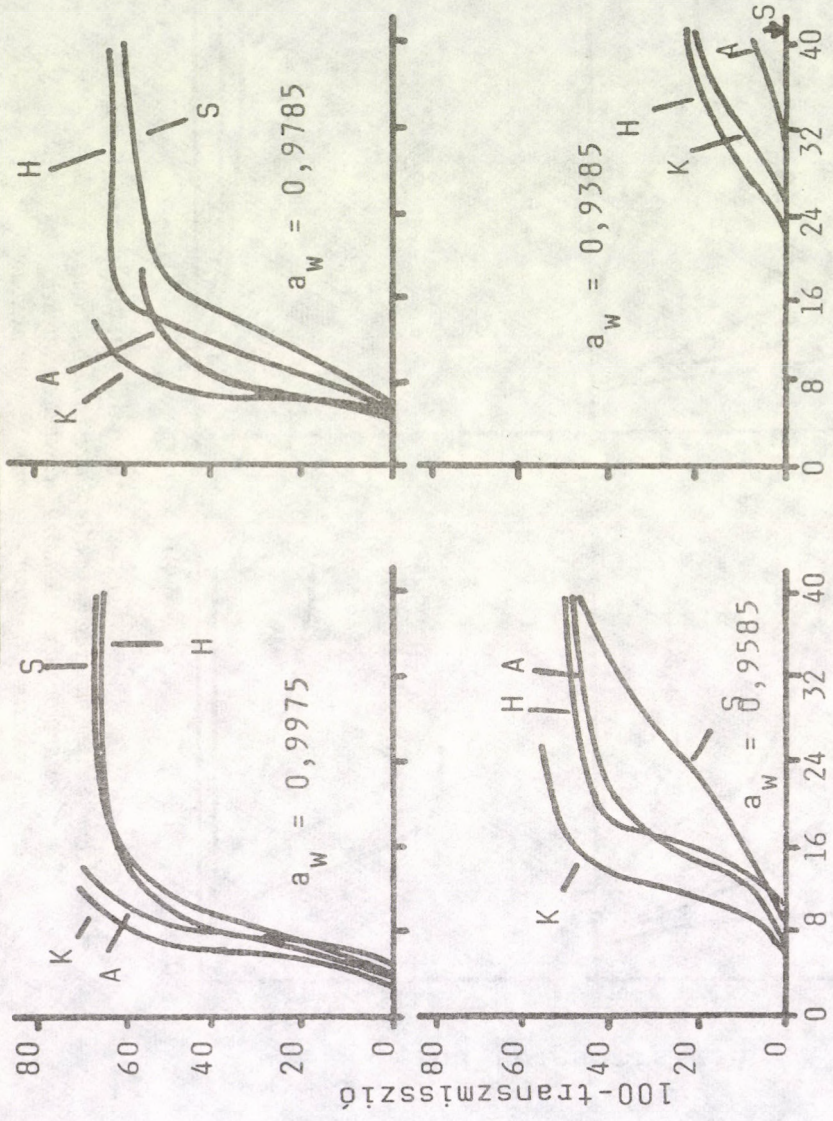
P. cerevisiae



Inkubációs idő (óra)

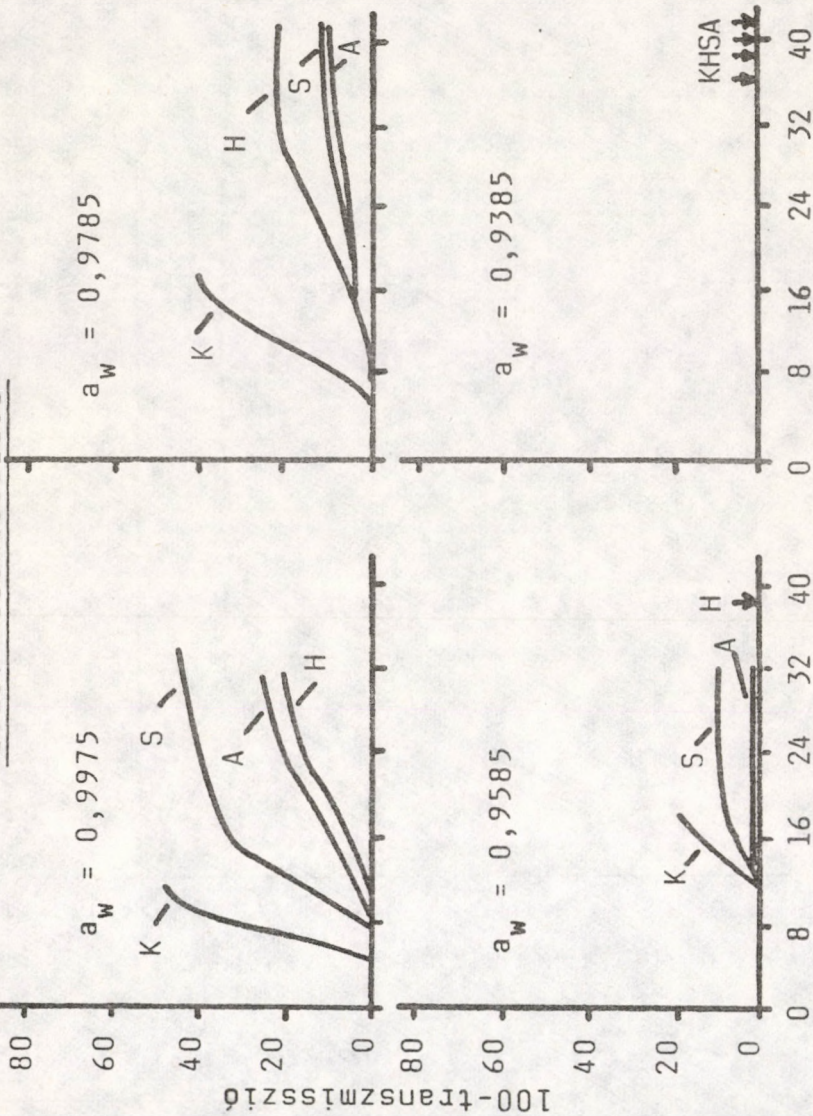
2. ábra: A sósav, hangyasav és akrilsav hatása a *Pediococcus cerevisiae* szaporodására különböző vízaktivitás-szinteken.
K = kontroll, S = sósav, H = hangyasav, A = akrilsav

Lb. plantarum



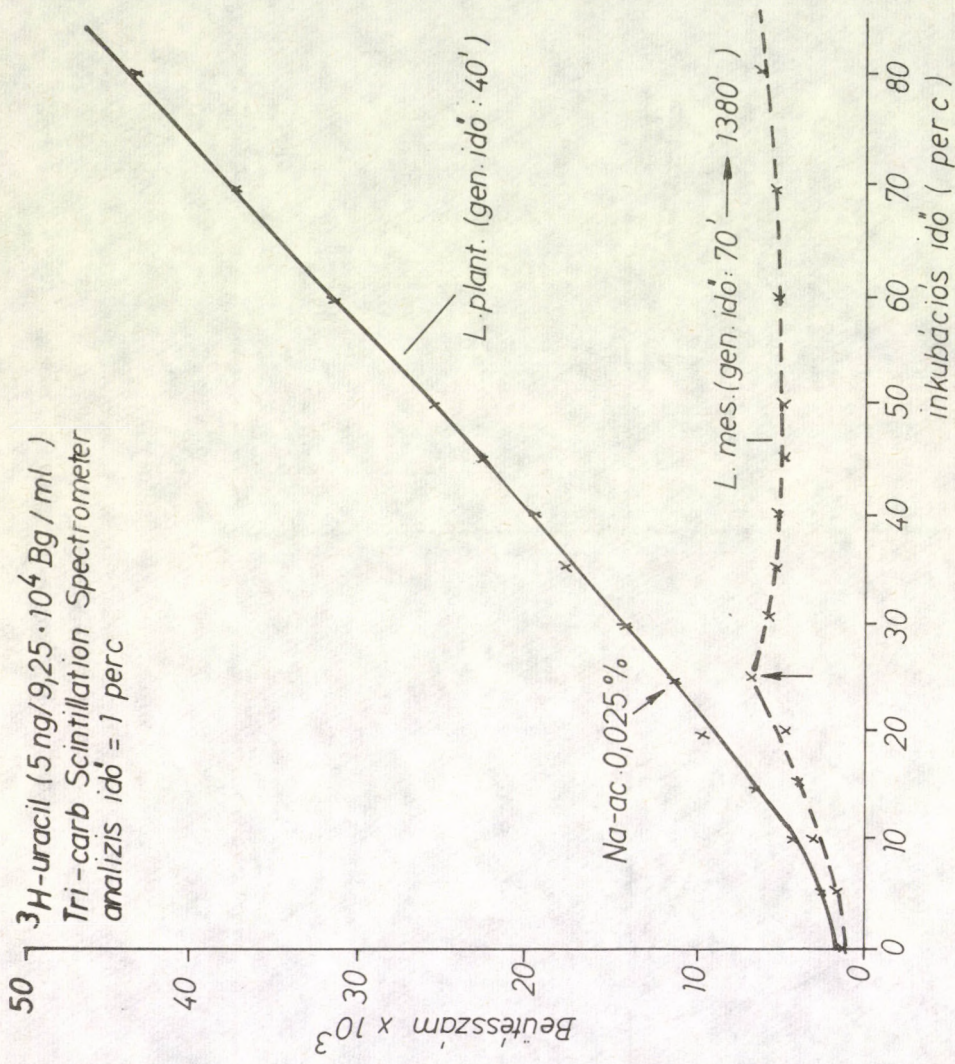
3. ábra: A sósav, hangyasav és akrilsav hatása a *Lactobacillus plantarum* szaporodására különböző vizaktivitás-szinteken.
 K = kontroll, S = sósav, H = hangyasav, A = akrilsav

Leuc. mesenteroides

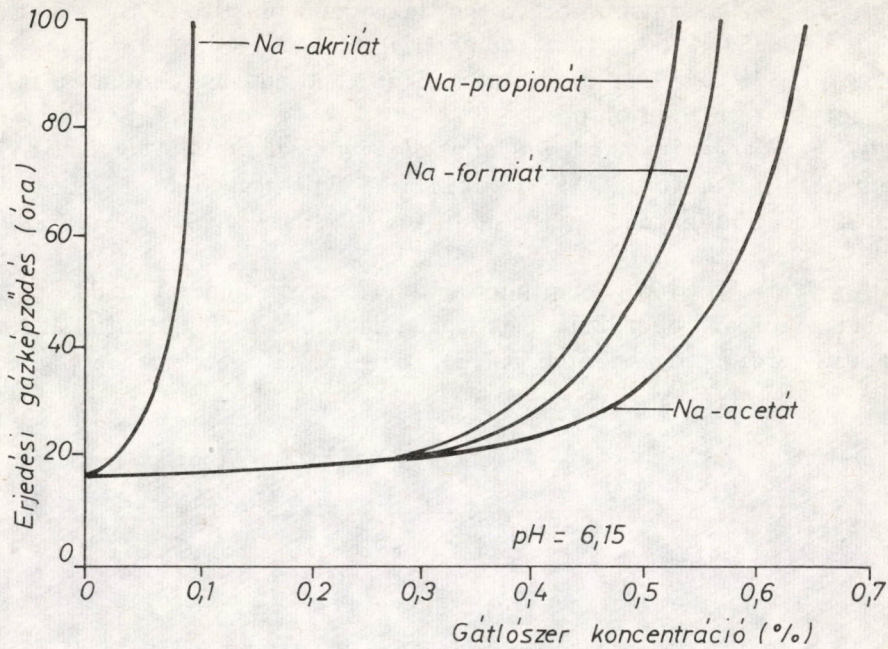


Inkubációs idő (óra)

4. ábra: A sósav, hangyasav és akrilsav hatása a Leuconostoc mesenteroides szaporodására különböző vízaktivitátszinteken.
K = kontroll, S = sósav, H = hangyasav, A = akrilsav



5. ábra: A Na-akrilát hatása a *L. plantarum* és a *L. mesenteroides* RNS szintézisére



6. ábra: Néhány sóformában adagolt tartósítószer hatása a *Cl. tyrobutyricum* fermentációs aktivitására R. C. M. tápközegben 37°C-on ($a_w = 0,9975$)

5. Irodalom

- Bertram, H., Fahnenstich R., Ivnkermann, H., Pohl, G. – Tanner, H., 1975: Ger. Offen 2 412801.
- Lanigan, G. W., 1963: Silage bacteriology. I. Water activity and temperature relationships of silage strains of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* and *Pediococcus cerevisiae*. *Aust. J. Biol. Sci.*, 16 (3), 606–615.
- Lanigan, G. W., 1965: Silage bacteriology. II. Influence of temperature differences on the composition of the lactic mikroflora. *Aust. J. Biol. Sci.*, 18 (3), 555–561.
- Pulay G., 1967., 1967: A sajtok vajsavas puffadását elősegítő és gátló tényezők vizsgálata. *Kandidátusi értekezés*. Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet, Mosonmagyaróvár.
- Scott, W. J., 1953: Water relations of *Staphylococcus aureus* at 30°C. *Aust. J. Biol. Sci.*, 4 (6), 549–564.

- Szigeti, J., 1979: Contribution to the theory and practice of the acidification on feed and food. *Acta Alimentaria*, 8 (1), 25–40.
- Wieringa, G. W., 1969: Influence of moisture and nutrient content of forage plants on fermentation processes.
Ber. 3. Kong. Europ. Grünlandvereinigung, Braunschweig, 133–137.
- Wilson, R. F., Woolford, M. K., Cook, J. E. — Wilkinson, J. M. 1979: Acrylic acid and Sodium acrylate as additives for silage. *J. Agric. Sci.*, 92 (2), 409–415.
- Woolford, M. K., 1978: Antimicrobial effects of mineral acids, organic acids, salts and Sterilizing agents in relation to their potential as silage additives. *J. Br. Grassl. Soc.*, 33 (2), 131–136.

B) A TEJSAVBAKTÉRIUM KULTURÁVAL TÖRTÉNŐ OLTÁS HATÁSA AZ ERJEDÉS LEFOLYÁSÁRA

A különböző tejsavtermelő baktériummal történő oltási kísérletek már a század elején megkezdődtek (Watson and Nash, 1960). Ennek elméleti háttere az, hogy a besilózandó növény felületén általában a tejsavbaktériumok száma az összcsíraszámhoz képest kevés, csak mintegy 10^3 – 10^5 a 10^7 – 10^8 /g összcsíraszámhoz képest. A tejsavbaktérium kultúra bevitele a csíracsoportok közötti arány megváltoztatásával kedvezően befolyásolhatja a fermentáció irányát és gazdaságosabb szénhidrát transzformációt eredményezhet. Ennek ellenére a korábbi oltási kísérletek nem vezettek a kívánt eredményre, az esetek többségében nem tudták a tejsavbaktériumokkal történő oltás kedvező hatását kimutatni.

Megállapították, hogy nincs szoros összefüggés a tejsavbaktériumok kezdeti csíraszama és a szilázs minősége között. Amennyiben a takarmány elegendő erjeszhető szénhidrátot tartalmaz az oltástól csak akkor várható kedvező hatás, ha a tejsavbaktériumoknak gyenge a vitalitásuk. (Beck, Th., 1969; Weise, F. 1969; Weise, F.—Honig, H. 1976.) Ennek miéértjére, várható előfordulására azonban nem adtak magyarázatot. Más szerzők az eredménytelenség okát abban látták, hogy a század elején még nem rendelkeztek megfelelően szelektált törzsekkel, a készítményekben gyorsan csökkent és kevés volt az oltással bevitt aktív csíraszám (Beck, Th. 1966., Gross, F. 1969.)

A biotechnológia fejlődése napjainkban új liofilezett, szelektált tejsavtermelő törzsekből álló készítmények megjelenését tette lehetővé. Ez indokolta az oltási kísérletek folytatását a szilázskészítés területén. Az ún. biológiai tartósítószernek két fő típusa van forgalomban Magyarországon, amelyek összetételben és a felhasználás területét illetően is különböznek. Az egyik csoport gyakorlatilag csak liofilezett kultúrát tartalmaz, (Silaferm, 1177) míg a második csoport a liofilezett kultúrán kívül valamilyen szénhidrát forrást is (Monosil, Monosil plus, Chinosisil).

A tejsavtermelő kultúrával történő oltás elsősorban a könnyen erjeszhető takarmányok esetében vitatott, mert ezeket a gyakorlat – az általános megítélés szerint – minden tartósítószer nélkül megfelelő minőségben tudja silózni, amennyiben a silózástechnika alapvető szabályait betartják. Ezért jelen silózási kísérleteinkben arra a kérdésre kerestünk választ, hogy szükséges-e, és ha igen milyen hatással van az oltás a könnyen erjeszhető, elegendő szénhidrátot tartalmazó takarmányok esetében az erjedés lefolyására és az erjedési veszteségekre.

Kísérleti módszerek

A kísérleteket viaszérésben betakarított silókukoricával, préseletlen és préselt cukorcirokkal (Honey,), valamint frissen kaszált és fonnyasztott gyepkeverékkel végeztük. Az oltáshoz Pioneer 1177 oltóanyagot használtunk az előírásnak megfelelő mennyiségben (0,5 kg/t takarmány), így az oltással bevitt csíraszám kb. 10^3 /g volt. Az apróra szecskázott takarmányhoz kézzel kevertük az oltóanyagot. A silózás 0,8 l-es, légmentesen záró üveg silókba történt. Minden egyes kezelésből 18 üveg silót töltöttünk meg, melyekből 3–3-at az erjedés 1., 3., 7., 14., 56. és 112. napján kibontottunk. Kibontásig a silókat szobahőmérsékleten tároltuk. A takarmánymintákon a következő vizsgálatokat végeztük el:

Mikrobiológiai vizsgálatok:

- aerob és fakultatív aerob összcsíraszám (lemezöntéssel, Plate Count agaron, Oxoid gym.)
- tejsavbaktériumok (China Blue Lactose agaron, Oxoid gym., lemezöntéssel)

Kémiai vizsgálatok:

- szárazanyagtartalom (60 C°-on 3 napig, majd 105 C°-on)
- pH (vizes kivonatból)
- tejsav (Barker és Summerson 1941. szerint)
- illó zsírsavak (gázkromatográffal)
- ammónia N (üveg elektródás NH₃ mérővel)

A szárazanyagvesztéséget súlyméréssel határoztuk meg. Az üvegsilókat 0,01 g pontosságú mérlegen (Mettler PC 2000) mérve feltételeztük, hogy anaerób körülmények között a súlyváltozás csak az erjedés során keletkező CO₂ eltávozásának a következménye.

1. táblázat

A cirokszilázsok erjedése során bekövetkezett szárazanyag veszteség %

		Erjedési idő (nap)				
		3	7	14	56	112
Préseletlen	ϕ	3,29	10,3	11,51	12,15	13,12
	1177	3,20	9,5	10,81	12,60	12,81
Préselt	ϕ	3,54	10,65	9,47	10,60	10,78
	1177	2,90	9,00	9,40	9,50	9,90

Eredmények és következtetések

A silókukoricára vonatkozó főbb vizsgálati eredményeket az 1. ábra tartalmazza. Oltás hatására növekedett a tejsavtermelők induló csíraszama, ennek ellenére a vizsgált mutatók tekintetében (tejsavtartalom, pH, szárazanyagvesztés) nem tapasztaltunk különbséget a kontrollhoz viszonyítva.

A cirokminták esetében (2. ábra) az oltás nem eredményezett kimutatható különbséget az induló csíraszámban, ennek ellenére a préselt cirokszilázsban oltás hatására mintegy 15%-al több tejsav képződött és mindkét szilázsban csökkent az alkoholtartalom. Ezzel összhangban 0,3 ill. 0,9%-al kisebb volt a szárazanyagvesztés. (1. táblázat).

Nem alakult ki oltás hatására különbség a tejsavtermelő baktériumok induló csíraszámát tekintve a fűminták esetében sem (3. ábra). A legnagyobb induló csíraszámot a hangyasavval kezelt minták esetében kaptuk.

Az enyhén fonnasztott fűszilázsban (szárazanyag 25%) oltás hatására meggyorsult a tejsavképződés kezdeti üteme és több tejsav is képződött a kontrollhoz viszonyítva, annak ellenére, hogy a végső pH értékben nem tudtunk különbséget kimutatni. Oltás hatására mintegy 2%-al csökkent a gázalakú erjedési veszteség. Az erjedésdinamikai vizsgálatok azonban arra is utalnak, hogy az oltott és kezeletlen szilázs közötti szárazanyagvesztés különbség a főerjedést követően mintegy 28 nap tárolási idő után kezdett csak kialakulni. Az erősen fonnasztott (36% sz. a.) fűnél az oltás nem jelentett kimutatható előnyt a tejsavtartalom, pH változás és szárazanyagvesztés tekintetében. A hangyasav kezelés a különböző szárazanyagtartalmú takarmányok mindegyikénél felülmúlta a kontroll minőségi mutatóit és az oltás hatását.

Az eredmények alapján a következő főbb megállapítások tehetők:

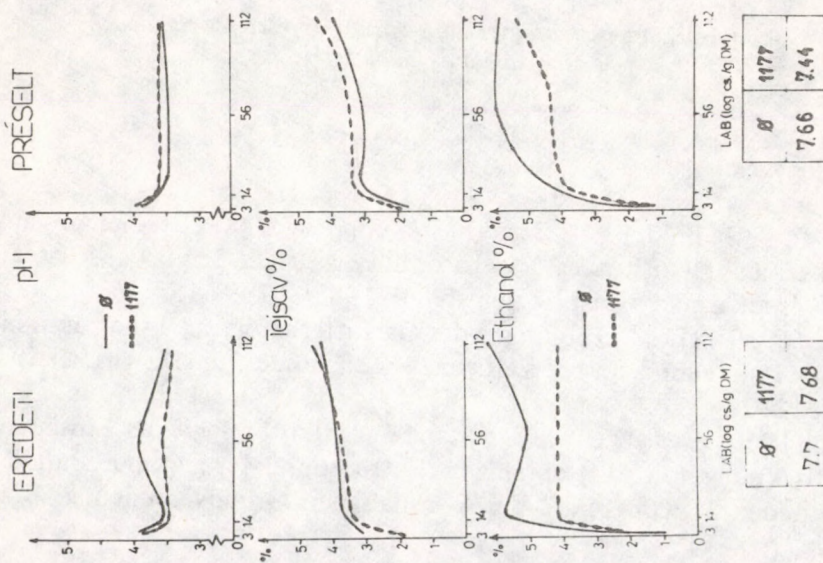
1. Eredményeink megerősítik (Beck, Th. (1969), Weise, F. (1969)) korábbi adatait, hogy nincs szoros összefüggés a jelenlegi módszer szerint meghatározott kolóniaképző tejsavbaktériumok száma és aktivitása ill. a képződött tejsav mennyisége között.
2. Kísérleteinkben a kezeletlen takarmányok induló tejsavbaktérium száma nagyobb volt, mint az irodalomban található $10^3 - 10^5$ érték (Stirling and Whittenbury, 1963). Az epiphyta flóra összetétele a külső hőmérséklettől függően széles határok között ingadozhat (Lindgren et. al. 1985), de az eredmény a tejsavbaktériumoknak a takarmány szecskázását (a sejtnedv felszabadulását) követő gyors szaporodásával is magyarázható, ami 2–3 óra elteltével $10^1 - 10^2$ nagyságrendbeli növekedést is eredményezhet (Szigeti, 1985).
3. A forgalomban lévő tejsavtermelő kultúrák kedvezően hatnak a tejsavas erjedésre, még az elegendő erjeszhető szénhidrátot tartalmazó takarmá-

nyok esetében is. Ez a tejsavképződés gyorsabb kezdeti ütemében, a képződött tejsav mennyiségének növekedésében, az alkoholtartalom csökkenésében és a szárazanyagveszteség csökkenésében kifejezésre jut. A kedvező hatás magyarázata, hogy az oltás eredményeképpen – rövid időn belül a homofermentatív fajok válnak uralkodóvá, visszaszorítva az *Enterobacteriaceae* családba tartozó ún. kevertsavas erjedést előidéző fajokat és a heterofermentatív tejsavas erjesztőket. Önmagában a szénhidrát kiegészítés sem csak oltással együtt biztosítja a homofermentatív *Lactobacillusok* teljes uralomra jutását (Lindgren et. al. 1983).

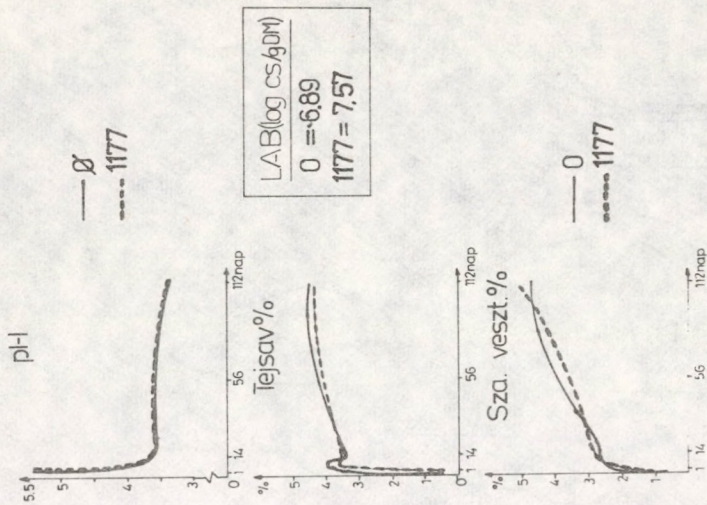
4. Az oltással ténylegesen elérhető hatás nagysága változó. A befolyásoló tényezők között jelentős szerepet játszik a takarmánynövény, annak pillanatnyi állapota. Az eredmények megerősítik Watson és Nash (1960) megállapítását, valamint a Silafermmel végzett korábbi, üzemi silózási kísérleteink eredményeit (Baintner, F. et. al. 1982).
5. Az oltással elért hatás a szilázs minősége és a szárazanyagveszteség szempontjából nem érte el a kémiai tartósítószerrel (hangyasav) kapott eredményt. További kutatásokra van szükség annak tanulmányozására, hogy az egyes tényezők (sejtnedv kémiai összetétele, vízaktivitása, a bevitt csíraszám stb.) miként befolyásolják az oltással elérhető hatás nagyságát. Tisztázni kell van-e létjogosultsága növény-specifikus oltóanyagok kidolgozásának?

Összefoglalás

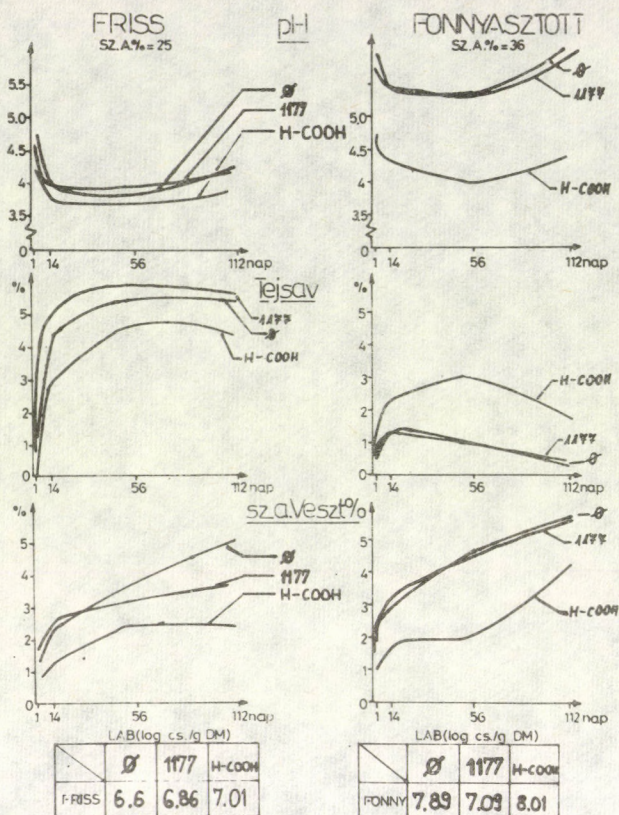
Modell silókban erjedésdinamikai vizsgálatok keretében értékeltük a Pi 1177 oltóanyag hatását néhány jól erjeszthető takarmány (silókukorica, silócirok, préselt silócirok, fű friss és fonnyasztott) tejsavas fermentációjára. Annak ellenére, hogy több esetben nem tudtuk kimutatni oltás hatására a tejsavbaktériumok induló csíraszámának növekedését az oltás kedvező hatással volt a tejsavképződésre, csökkentette az alkoholtartalmat és a szárazanyagveszteséget. Az elérhető hatás nagysága nagymértékben függött a takarmánynövénytől, annak pillanatnyi állapotától és elmaradt a kémiai tartósítószerrel (hangyasav) elérhető hatás nagyságától.



2. ábra: A pH, a tejsavtartalom és az alkoholtartalom alakulása oltás hatására (Sorghum, Honey)



1. ábra: A pH, a tejsavtartalom és a szárazanyagvesztesség alakulása oltás hatására (silókukorica) sz. a. % = 33,3



3. ábra: A pH, a tejsavtartalom és a szárazanyagvesztés alakulása oltás hatására (fűszilázs)

Irodalomjegyzék

- Baintner, F. – Schmidt, J. – Szigeti, J. – Sipőcz, J. (1982): Néhány biológiai takarmánytartósítószer összehasonlító vizsgálata. Phylaxia. Állategészségügyi és takarmányozási Közlemények. 1982/3. 149–154. p.
- Beck, Th. (1969): Die Mikrobiologie der Garfutterbereitung. Eine zusammenfassende Darstellung des derzeitigen Wissenstandes. Z. D. wirtschaftseig. Futter, 12, 227–263.
- Beck, Th. (1969): Der gegenwertige Stand der Mikrobiologie der Einsauerung und Trocknung von Futterpflanzen. Futtermittelkonservierung und Gründland. Berichte des 3. Kongresses der Europäischen Gründvereingung. Braunschweig. 207–219. p.

- Gross, F. (1969): Steuerung des Garverlaufs durch Zusatzmittel. Ber. 3. Kongr. Europ. Grünlandvereinig. 139–145. p.
- Lindgren, S. et al. (1983): Effect of inoculants, grain and formic acid on silage fermentation. Swedish J. agric. Res. 13 : 91–100 p.
- Lindgren, S. et al. (1985): Silage inoculation. Selected strains, temperature, wilting and practical application. Swedish J. Agric. Res. 15 : 9–18.
- Stirling, A. C. and Whittenbury, R. (1963): Sources of the lactic acid bacteria occurring in silage. Journal of Applied Bacteriology. 26 : 86–91.
- Szigeti, J. (1985): Szóbeli közlés.
- Watson, J. – Nash, J. (1960): The conservation of grass and forage crops. Oliver and Boys. Edinburgh. 2. edition. 293–297. p.
- Weise, F. (1960): Einfluss des epiphytischen Keimbesatzes auf den Garverlauf. Futterkonservierung und Grünland. Berichte des 3. Kongresses der Europäischen Grünlandvereinig. Braunschweig. 221–227. p.
- Weise, F. – Honig, H. (1976): Einfluss unterschiedlicher Vorwelkzeiten auf den Garverlauf bei Wiesenschwingel. Das wirtschaftseigene Futter. 21. 10–24. p.

AJÁNLÁS

Az ankét – az elhangzott előadás, korreferátumok és a tanácskozásban résztvevők véleménye alapján – ajánlását a következőkben foglalta össze.

I.

Klasszikus biotechnológiai eljárásokat a mezőgazdaságban évszázadok óta alkalmaznak és ma is használnak – többek között – a tej-, a sör- és a sütőiparban.

Az utóbbi egy-két évtized biotechnológiáját azonban az különbözteti meg a korábitól, hogy genetikailag manipulált mikroorganizmusok, növényi és állati sejtek, sejtalkotórészek, illetve szövettenyészetek, úgynevezett biológiai rendszerek képességeit használják fel bizonyos mezőgazdasági feladatok megoldására.

A biotechnológia alkalmazását az utóbbi évtizedekben különösen a molekuláris genetika, biokémia és citológia gyors fejlődése tette lehetővé. A tudományág jelentőségére utal, hogy a fejlett tőkés országokban a biotechnológia fejlesztésére és gyakorlati alkalmazására az 1970-es évek végén, az 1980-as évek elején óriási tőkebefektetést biztosítottak, vállalatokat hoztak létre.

A hazai alapkutatás első eredményei szintén az 1970-es évek második felében születtek meg: szövet- és sejttenyésztés, növények regenerálása sejt- és kallusztényszetekből, növényi mutánssejtek izolálása, protoplaszt-fúzió, génszétválasztás, monoklonális ellenanyagok termelésének módszerei, fermentációk optimalizálása, enzimmérnökség stb. Az elért eredmények – világviszonylatban is – jelentősnek tekinthetők, mégis – a legutóbbi félétizedben – az alapkutatások támogatása csökkent. Az eszközök hiánya, a beszerzések devizális nehézségei, a kutatási infrastruktúra elmaradottsága miatt nem növekedett kívánatos mértékben az új technikát alkalmazó kutatóhelyek és kutatók száma.

II.

A Veszprémi Akadémiai Bizottság (VEAB) régójában 6 munkahelyen folyik a biotechnológia fejlesztését és alkalmazását célzó kutatás.

Növénytermesztési témakörben:

Martonvásáron – a kínai módszerek adaptálása és továbbfejlesztése révén – a szövettenyésztéssel előállított haploid búza- és kukoricakultúrákkal értek el biztató eredményeket. Vizsgálták több, különböző genotípus felhasználásával a kalluszindukciós és növényregenerációs gyakoriságot a tenyésztési tényezők (különböző táptalajok, inkubációs viszonyok) függvényében. Ezek az értékek a FERTŐDI 293 és a BENOIST búzafajtáknál voltak a legnagyobbak (55,2 és 48,5% kalluszindukció, 31,4 és 21,7% zöld növényregeneráció). A kukorica esetében a kalluszindukciót sikerült 18%-ra növelni.

Keszthelyen merisztéma kultúrák felhasználását valósítják meg a burgonya nemesítésében és termesztésében, hogy a hazai klimatikus és kórtani viszonyaink mellett fellépő erős vírusfertőzés miatt a termesztésben lévő fajták ne romoljanak le rövid idő alatt.

Sopronhorpácson a szövettenyésztéses merisztémaszaporítást alkalmazzák a hatékonyabb cukorrépa nemesítés érdekében.

Fertődön a bogyós gyümölcsfajok – merisztéma-tenyésztéssel történő – vírusmentesítését, mikroszaporítását, steril génbankrendszerű hidegen tárolását és tápanyagigényük gyors – *in vitro* – meghatározását végzik.

Szombathelyen tőkés importot váltanak ki és a korábbi szakaszos termeléssel szemben folyamatos, igény szerinti szaporítást tudnak megvalósítani cseresep dísnövények szubmikroszaporításával.

Állattenyésztési témakörben:

Mosonmagyaróvárott – a biotechnika alkalmazása révén – egyrészt új, embrióátültetési eljárást dolgoztak ki, illetve embriómanipulációs kutatásokat végeznek, aminek keretében embriódarabolással létrehozott monozgotikus ikerbárányokat, majd báránykimérát állítottak elő, másrészt a mesterséges termékenyítés spermakezelési folyamatába jól beilleszthető – a termelés és a szelekció gazdaságosságára is kiható – eljárást fejlesztettek ki a szarvasmarha ivararányának az utódokban történő kívánt irányú és jelentős mértékű megváltoztatására.

Takarmánytartósítási témakörben:

Mosonmagyaróvárott a takarmánytartósításban használatos – mikrobiológiai szelekcióval előállított – sav- és aromatermelő baktérium startertörzsekkel kapcsolatos kutatások folynak.

III.

A fenti általános megállapítások figyelembe vételével, illetve a VEAB régió területén folyó biotechnológiai kutatások eddigi eredményei alapján a következők ajánlhatók:

1. KUTATÁS

- 1,1 A mezőgazdaságban az új biotechnológiát az alkalmazott biológiai objektumoktól függően a mikroszervezetekre, a növényi sejtekre, az állati sejtekre és az enzimekre alapozott eljárások területére szokás bontani. Kívánatos, hogy a kutatást mind a négy területen folytassuk.
- 1,2 A gyakorlati alkalmazáshoz részletesen tanulmányozni kell azokat az élő szervezeteket, amelyeket igényeink szerint kívánunk megváltoztatni; ebben lényeges szerepe lehet a génátvitelnek, rekombináns DNS technológiának, ezért ezek kutatása az egyik legfontosabb feladat.
- 1,3 Alap kutatás szintjén vizsgálni kell a tágabb értelemben vett genetikai manipulációt is, például fajidegen genetikai anyag bevitelét a kultúrfajtákba, stressz- és patogén rezisztens, jó tápanyag- és fényhasznosítású, kiváló beltartalmi értékű növényfajták előállítása céljából.
- 1,4 Mikroszervezetekre és növényi sejtekre alapozott témák.
- 1,41 A búza és a kukorica esetében a haploid technika még hatékonyabbá tétele érdekében célszerűnek látszik az albinizmus kérdésének és a spontán rediploidizációt fokozó tényezőknek a vizsgálata.
- 1,42 A merisztéma kutatás eddigi legjelentősebb eredményeinek (vírusmentesítés, gyors ütemű felszaporítás, fajtafenntartás) a realizálása érdekében fejleszteni kívánatos a burgonya-vírusok diagnosztizálásához szükséges monoklonális ellenanyagok előállítását.
- 1,421 Meg kell valósítani az *in vitro* génbankokban tárolt anyagok rendszeres ellenőrző vizsgálatát a fajtaazonosság megőrzése érdekében.
- 1,43 A cukorrépanemesítésben további kutatási feladat haploid, illetve homozygota diploid növények előállítása.
- 1,44 A törzses gyümölcsfajok esetében alapvető feladat a szomatikus embriogenezis indukálásának kidolgozása.
- 1,45 Nemesítési alapanyagok (szomaklón variánsok, mutánsok, poliploidok, kimerák) szövettenyésztési módszerekkel történő előállításának fejlesztése.

2. ALKALMAZÁS

2,1 Növénytermesztésben

- 2,11 Növények vírusmentesítése a burgonya és törzsés, illetve bogyós gyümölcsfajok esetében,
- 2,12 Mikroszaporítás cukorrépa tenyészanyagok, illetve bizonyos cserepes dísnövények (Begonia, Bromelia, Cordyline, Ficus, Gerbera, Kalanchoe, Monstera, Nephrolepis, Saintpaulia, Schefflera, Syngonium) nagytömegű gyors előállítására.
- 2,13 A növénynemesítés gyorsítását célzó dihaploidok előállítása (pl. búza, kukorica) valamint — a szomaklonális variációk létrehozása révén — a genetikai bázis szélesítése.

2,2 Állattenyésztésben.

- 2,21 Export orientált vágómarha előállítása húshozamú anyatehéntartás nélkül, embrió átültetés útján, tejtermelő alapon.
- 2,2 Az ivararányok megváltoztatása embriódarabolás, ikeregypedek létrehozása, illetve ivarspecifikus sperma előállítása révén.
- 2,23 Mélyhűtött kos-sperma előállítása és inszeminálási módszerének bevezetése.
- 2,24 Bika-sperma új mélyhűtési eljárásának bevezetése a gazdaságosság fokozása érdekében.
- 2,3 Enzimekre alapozott eljárások lehetővé teszik a másodlagos nyersanyagok humán célú hasznosítását, melléktermékek és hulladékok értéknövelésével takarmányfehérje bázisunk növelését, a megtermelt élelmiszer-nyersanyagok tárolását.

3. FEJLESZTÉS

- 3,1 A felsorolt lehetőségek teljes kihasználása és kiszélesítése érdekében kiépítendő az az innovációs lánc, ami elvezet az alapkutatótól az új technológiák alkalmazásáig.
- 3,2 Kialakítandó az az infrastruktúra, amiben megvalósulhat újabb fermentorok létrehozása, biotechnológusok képzése, valamint szoros együttműködés a kutatók és az eredményeket alkalmazók között.

DR. VEISZ OTTÓ
a Biológiai Szakbizottság
titkára

DR. NAGY GYÖRGY
az Agrártudományi Szakbizottság
titkára

A KÖTET SZERZŐI

- Dr. Baintner Ferenc a mezőgazdasági tudomány kandidátusa,
egyetemi docens
Agrártudományi Egyetem, Mosonmagyaróvár
- Dr. Barnabás Beáta a biológiai tudomány kandidátusa
tudományos főmunkatárs
MTA Mezőgazdasági Kutató Intézete, Martonvásár
- Dr. Gergátz Elemér tudományos főmunkatárs
Agrártudományi Egyetem, Mosonmagyaróvár
- Dr. Heszky Lászlóné tudományos munkatárs
Agrártudományi Egyetem, Keszthely
- Dr. Iváncsics János egyetemi docens
Agrártudományi Egyetem, Mosonmagyaróvár
- Dr. László Miklós tudományos munkatárs
Gyümölcs- és Dísnövénytermesztési Fejlesztő Vállalat
Fertőd
- Dr. Nagy György egyetemi tanár
a mezőgazdasági tudomány kandidátusa
Agrártudományi Egyetem, Mosonmagyaróvár
- Retkes József c. egyetemi docens
főmérnök
„Kertész” MgTSz., Szombathely
- Sági László tudományos segédmunkatárs
MTA Mezőgazdasági Kutató Intézete, Martonvásár
- Dr. Schmidt János a mezőgazdasági tudomány kandidátusa
egyetemi tanár
Agrártudományi Egyetem, Mosonmagyaróvár
- Simon István tudományos munkatárs
Gyümölcs- és Dísnövénytermesztési Fejlesztő Vállalat
Fertőd
- Dr. Sutka József a biológiai tudomány kandidátusa
tudományos főosztályvezető
MTA Mezőgazdasági Kutató Intézete, Martonvásár

- Szakács Éva tudományos ösztöndíjas
MTA Mezőgazdasági Kutató Intézete, Martonvásár
- Dr. Szigeti Jenő egyetemi adjunktus
Agrártudományi Egyetem, Mosonmagyaróvár
- Dr. Dr. h. c. Varga János a mezőgazdasági tudomány kandidátusa
egyetemi tanár
Agrártudományi Egyetem, Mosonmagyaróvár
- Dr. Veisz Ottó tudományos munkatárs
MTA Mezőgazdasági Kutató Intézete, Martonvásár
- Dr. Vértesy Júdit a mezőgazdasági tudomány kandidátusa
tudományos főmunkatárs
Gyümölcs- és Dísznövénytermesztési Fejlesztő Vállalat
Budapest
- Zatykó József tudományos munkatárs
laboratórium-vezető
Gyümölcs- és Dísznövénytermesztési Fejlesztő Vállalat
Fertőd



**ÚJ ÍZEKKEL BŐVÜLT A
KETCHUP TERMÉKCSALÁD**



**ÓVÁRI KONZERVGYÁR
MOSONMAGYARÓVÁR**

**Alkotmány út 15. 9200
Telefon: 15-733 Telex: 24335**



NÓVALAKT
TEJPORKÉSZÍTMÉNYEK
csökkentett laktóztartalommal

Alkalmasak a

TEJCUKORRA érzékenyek bekapcsolására a tejfogyasztásba.
A fizikai eljárással kivont tejcukrot dextroz vagy répacukor helyettesíti.

Felhasználási javaslat:

A tasakok tartalma 1–1 liter csökkentett laktóztartalmú tejjal készítéséhez elegendő. Fogyasztásuk különösen tejcukorérzékenyek részére ajánlott.

Fogyaszthatók:

Közvetlenül tejtalként, valamint turmix italok, krémek, pudingok készítéséhez, illetve a zsíros, a félszíros és a sovány Nóvalakt tejporkészítmény felhasználható tejjel készült tésztafélék, főzelékek készítéséhez.

Fontosabb alkotórészek	Zsíros	Félszíros	Sovány	Kávés	Kakaós
	NÓVALAKT készítmény				
tejfehérje (%)	25	29	35	22	27
tejcukor (%)	4	4,5	5	3	3
zsír (%)	26	21	1	16	1
Energiatartalom					
100 g-ban (kJ)	2050	1950	1506	1310	1653
(kcal)	(490)	(467)	(360)	(315)	(395)
Minőségét megőrzi a gyártástól számított . . . hónapig	2	2	6	2	6
Kiszerezési egység (g)	125	125	100	125	150

Tárolás: száraz, hűvös helyen.

Gyártja: GYŐR–SOPRON MEGYEI TEJIPARI VÁLLALAT GYŐR
Csornai Tejporgyára



A SZOMBATHELYI
ÁLLATTENYÉSZTŐ
VÁLLALAT

ajánlja tisztelt partnerei részére

TENYÉSZTÉSI SZOLGÁLTATÁSOK:

- minden állatfajra kiterjedő törzskönyvi ellenőrzés,
- az ellenőrzésbe vont állományok tenyésztési és termelési adatainak számítógépes nyilvántartása és feldolgozása,
- párosítási szaktanácsadással egybekötött genetikai programok elkészítése,
- termékenyítő anyag és szükséges eszközök biztosítása,
- apaállatgazdálkodási feladatok ellátása,
- tenyészállat-forgalmazás.

SZAPORODÁSBIOLOGIAI SZOLGÁLTATÁSOK:

- mesterséges termékenyítés,
- szaporodásbiológiai gondozás,
- korai vemhességvizsgálat végzése,
- sertés biotechnikai gondozás, ivarzás és ovuláció szinkronizálás.
- tőgyegészségügy és tejhigiénia

TAKARMÁNYOZÁSI SZOLGÁLTATÁSOK:

- komplex takarmánygazdálkodási tervekészítés,
- szaporodásbiológiával kapcsolatos, laboratóriumi vizsgálatokra alapozott takarmányozási programjavaslat összeállítása,

- takarmánykiegészítők, premixek, koncentrátumok, keveréktakarmányok forgalmazása,
- széna-, szenázs-, szilázkészítéshez technológiák és tartósítószerbiztosítása,
- gyepgazdálkodási szaktanácsadás, villanypásztorok forgalmazása.

MŰSZAKI SZOLGÁLTATÁSOK:

- fejőház építés és rekonstrukció,
- fejő- és hűtőgép szerviz és karbantartás,
- alkatrész ellátás

A SZOMBATHELYI ÁLLATTENYÉSZTŐ VÁLLALAT

*ajánlja tisztelt partnerei
részére*

