

ROVATVEZETŐ:

Dr. Heszky László *akadémikus*

Figyelemmel az ALS/AHAS-gátló herbicidek és azokra toleráns hagyományos fajták gyors terjedésére hazánkban, indokoltnak tartottuk bemutatni ezeknek a fajtáknak az előállítását és termesztésük tapasztalatait az Agrofórum 2013. augusztusi számában. „Az imidazolinon-toleráns, nem transzgénikus fajták előállítása és termesztése” című cikk végül is kakukktojásnak számít a „Tanuljunk géntechnológiául” című sorozatban. Természetesen a géntechnológiai megközelítés is létezik, ezt ismertetjük ebben a számban.

Tanuljunk „géntechnológiául” (37.)

A transzgénikus növényvédelem (VI./6.)

Imidazolinon-toleráns transzgénikus (GM) fajták előállítása és termesztése

Dr. Heszky László

SzIE Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Genetika és Biotechnológiai Intézet,
Gödöllő

Bevezetés

Az előző részben részletesen bemutatottuk az ALS/AHAS-gátló herbicid-hatóanyagokat és azokat a molekuláris folyamatokat, ahogyan ezek a herbicidek az elágazó szénláncú aminosavak (valin, leucin és izoleucin) bioszintézisét gátolják. Ismertettük az imidazolinon típusú herbicidekre toleráns fajták hagyományos nemesítéssel történő előállítását, a spontán, valamint indukált mutációkat, továbbá mutáns sejtek és növények szelekcióját. Bemutattuk azokat az aminosavcseréket, melyek felelősek a különböző növények hagyományos nemesítéssel előállított fajtáiban az imidazolinon és szulfonilurea (továbbiakban IMI és SU) toleranciáért. Röviden utaltunk ezekre a toleráns fajtákra kidolgozott, hazánkban is gyorsan terjedő, Clearfield termesztési tech-

nológiának az előnyeire és kockázataira.

A szulfonilurea (továbbiakban SU) gyomirtó szerek a múlt század utolsó évtizedében széles körben használatosak voltak a gabonákban. A kukorica hibridek azonban érzékenyek voltak a szerre, ezért – a klórszulfuron perzisztenciája miatt – veszélyes volt a búza után kukoricát vetni. Ez volt a legfontosabb oka annak, hogy a DuPont kutatói kidolgozták a klórszulfuron (SU), később az imidazolinon (IMI) hatóanyagú herbicidekre toleráns növények előállításának géntechnológiai módszerét.

A SU és IMI herbicidek hatásmechanizmusa

Mivel a SU és IMI gyomirtó szerek a glifozáthoz hasonlóan az aminosavak bioszintézisét gátol-

ják, a géntechnológiai megközelítés is ahhoz hasonló. A glifozát az aromás aminosavak bioszintézisét gátolja, az egyik lépést katalizáló enzim (EPSP-szintáz) kompetitív gátlásával (ld. Agrofórum 2013. májusi számában). A glifozát-toleráns növények előállításának egyik stratégiája a mutáns gén géntechnológiai felhasználása volt. A toleráns transzgénikus növények, a mutáns transzgénről egy módosított (mutáns) EPSP-szintáz enzimet termelnek, amihez a glifozát már nem tud kapcsolódni.

Az *imidazolinon* (IMI) és *szulfonilurea* (SU) *hatóanyagú gyomirtó szerek az elágazó szénláncú aminosavak* (leucin, valin és izoleucin) *bioszintézisét gátolják*. Az IMI és SU hatóanyagok a bioszintézis első lépését katalizáló acetolaktát-szintáz (ALS), más néven hidroxiecetsav-szintáz (AHAS)

enzimhez kapcsolódva gátolják annak működését. Az enzim gátlásának következménye a nyílt szénláncú aminosavak termelődésének hiánya, mely a sejtekben a fehérjeszintézis leállításához vezet. A fehérjeszintézis hiánya a sejtek, majd a szövetek és szervek, végül az egész növény pusztulását eredményezi.

Molekuláris megoldás stratégiája

A géntechnológia stratégiája a herbicid hatóanyag által gátolt enzim mutáns változatának előállítására és felhasználására alapul. Ennek érdekében az ALS/AHAS enzim génjében olyan mutációkat alakítottak ki – tehát a gén nukleotid/bázissorrendjében (szekvenciájában, tripletjeiben) olyan módosításokat végeztek –, amelyeknek következtében a módosított génről szintetizálódó „mutáns” enzimfehérje aminosav-sorrendjében egy vagy több helyen változás történik. Ennek következtében a mutáns génről szintetizálódó enzimfehérje szerkezete is megváltozik. A megváltozott (mutáns/módosított) ALS/AHAS enzimhez az IMI és SU hatóanyagok már nem képesek kapcsolódni. A tole-

rancia lényege tehát, hogy mutáns génnel történő transzformációt követően, a transzgenikus növények sejtjeiben az adott enzimfehérjének kétféle változata szintetizálódik, az eredeti génről az érzékeny, a mutáns transzgenről pedig a toleráns enzim. A permetezést követően a SU és IMI hatóanyagok hozzákapszolódnak az eredeti génről szintetizálódó ALS/AHAS enzimhez. A GM-növény azonban mégsem pusztul el, mert a transzgenről a sejtekben a mutáns ALS/AHAS enzim is termelődik, amit a hatóanyagok nem tudnak gátolni. A mutáns enzim működése biztosítja, a nyílt szénláncú aminosavak folyamatos termelődését. A következmény pedig a sejtek, illetve a növények szulfonilurea és/vagy imidazolinon hatóanyagú herbicidekkel szembeni toleranciája.

Géntechnológia kivitelezés

IMI és SU gyomirtó szerekre rezisztens géneket először baktériumokból és élesztőből, majd növényből is sikerült izolálni. Az első mutáns növényi gént dohányból izolálták az 1980-as évek második felében. A dohány toleranciát bizto-

sító génjét először gyapotba és paradicsomba vitték át.

Igazi átütő sikert azonban a Pioneer HI-bred International kutatóinak sikerült elérnie kukoricán. Nagyszámú rezisztenciát biztosító mutáns ALS gén szekvenálását követően pontosítani tudták azt az egy bázispárnnyi mutációt a kukorica ALS géncsaládban, ami biztosítja a toleranciát. Ez a mutáció az enzimben, a 621-es pozícióban lévő szerin/aszparagin aminosavak cseréjét jelenti és ez elegendő a toleranciához. Ez az aminosavcsere az ALS enzim génjében egy triplet mutációjának eredménye. Az AGT tripletben, a második bázis guanin (G), adeninre (A) cserélődött. Végül eredményben, a mutáns AAT triplet az oka, hogy a génről szintetizálódó ALS enzimben a 621-es pozícióban a szerin aszparagin helyettesíti. Mivel ez a csere a gyomirtószer-hatóanyagok kapcsolódási helyén történt, a kompetitív gátlás nem jöhet létre, aminek következménye a GM-növények SU/IMI toleranciája.

Az 1./A. ábrán látható génkonstrukció, a kukorica ALS génjének toleranciát biztosító mutáns változatát (*zm-hra* gén) tartalmazza, aminek működését a kukorica eredeti *als* génjének konstitutív promotere (*zm-als*) szabályozza. A transzgent burgonya *pinII* génjének a terminátor fragmentuma zárja le. A génkonstrukcióba beépítettek még több – a transzgen működését serkentő – ún. enhancer elemet is.

A génkonstrukciót az *Agrobacterium tumefaciens* baktérium Ti-plazmidja határszekvenciái közé kapcsolták és magát a géntranszfert *in vitro* a növényi szövettenyésztéssel való együtt tenyésztéssel (co-culture) hajtották végre (2. ábra). A módszer részletesen olvasható a „Géntranszfer technikák” c. részben (ld. Agrofórum 2011./2., februári számában). A transzgenikus növény minden sejtje tartalmazza a mutáns gént, és mivel a génkonstrukcióban eléje egy folyamatosan működő (konstitutív) promotert kapcsolnak, a mutáns fehérjét a GM-növény minden sejtje termeli a növény egész élete folyamán. Ennek előnye, hogy a SU és IMI hatóanyagú herbicidek perme-

1. ábra

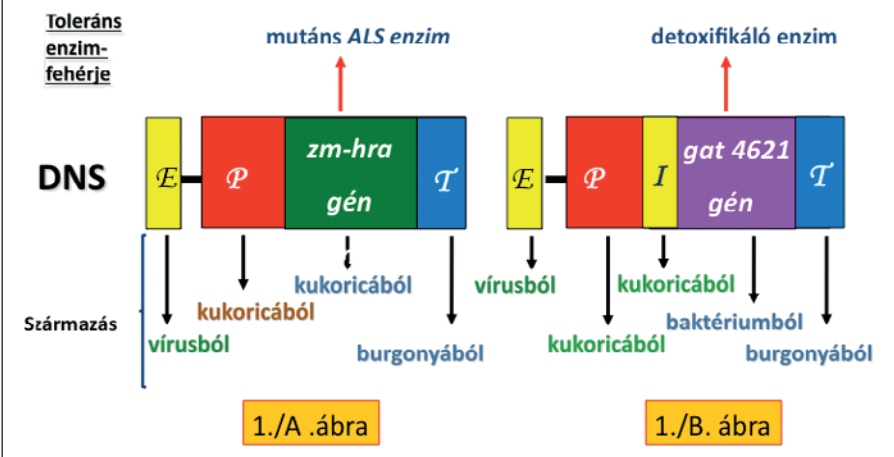
Imidazolinon (A) és a glifozát (B) hatóanyagú herbicidekkel szemben toleranciát biztosító, két transzgent tartalmazó génkonstrukció

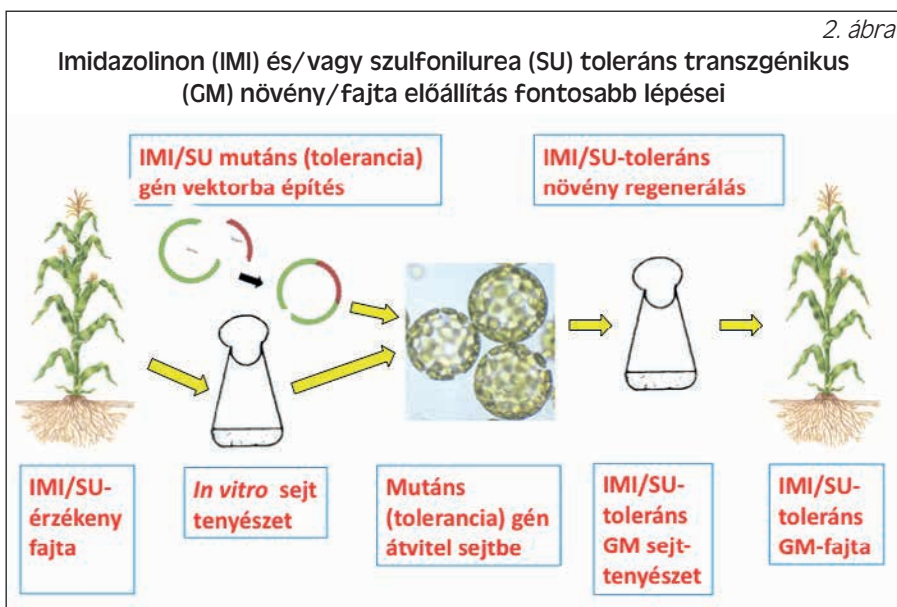
A: A *zm-hra*, mutáns ALS/AHAS enzimet kódoló transzgen, a kukorica toleranciáját biztosítja a szulfonilurea és imidazolinon hatóanyagú gyomirtó szerek ellen.

B: A *gat 4621*, detoxifikáló enzimet kódoló transzgen, toleranciát biztosít a glifozát ellen.

Vektor konstrukciók genetikai elemei különböző élőkből származnak:

P: promóter, T: terminátor, I: intron, E: átírást erősítő (enhancer) elem.





1. táblázat

Fontosabb SU és IMI toleranciát biztosító gének származása és funkciója, valamint sikeres alkalmazásuk különböző kultúrnövények GM-fajtáiban (GM Approval Database- ISAAA.org.htm)

Faj/fajták	Transzgén/ származás	Herbicid - tolerancia	Fajtanév
Szefű: 15 fajta	<u>surB</u> mutáns ALS dohányból	szulfonilurea	Moondust™ Moonshade™, Moonshadow™ Moonlite™, Moonaqua™, Moonvista™
Gyapot: 1 fajta	<u>S4-HrA</u> mutáns ALS alegység dohányból	szulfonilurea	
Len: 1 fajta	<u>als</u> mutáns ALS Arabidopsis-ből	szulfonilurea	CDC Triffid Flax
Kukorica: 4 fajta	<u>zm-hra</u> mutáns ALS kukoricából	imidazolinon, szulfonilurea	Optimum™, GAT™
Szója: 4 fajta	<u>csr1-2</u> , mutáns AHAS Arabidopsis-ből <u>gm-hra</u> mutáns ALS alegység szójából	imidazolinon szulfonilurea	Treus™, Plenish™, Optimum, GAT™

tezését a GM-fajta fejlődésének bármelyik fázisában el lehet végezni, továbbá a hatóanyag a növény bármelyik részére kerülhet, a GM-fajta egyetlen egysége sem fog károsodni.

Gyakorlati alkalmazás

Az imidazolinon (IMI) és szulfonilurea (SU) hatóanyagú herbicidekkel szemben ellenálló GM-növényeket különböző természet

fajokból állítottak elő, de köztermesztésbe csak a szefű, len, kukorica és szója GM-fajtái kerültek (1. táblázat). A transzgénikus fajták azonban nem tudtak széles körben elterjedni. Ennek oka az volt, hogy sikerült hagyományos módszerek felhasználásával, tehát géntechnológia nélkül is előállítani IMI és SU toleráns fajtákat (ld. Agrofórum 2013./8. augusztusi számában). Mivel ezekre nem vonatkoznak az

adott ország géntechnológiai törvényei, az Express és Clearfield stb. technológiák gyorsan terjednek, még olyan GMO-ellenes országokban is, mint hazánk.

A konvencionális nemesítéssel (nem géntechnológiával) előállított hagyományos (nem GMO) IMI és SU toleráns fajtáknak és hibrideknek (pl. kukorica, napraforgó, repce stb.) is vannak gyenge pontjaik. Ilyenek például, hogy toleranciájuk géndózis függő, rezisztens gyomok hamar kialakulhatnak, sőt kultúrgyomként is megjelenhetnek.

Ezeknek a problémáknak a megoldása a jövőben növelheti a transzgénikus GM-fajták jelentőségét, mert egy génkonstrukcióba többféle gyomirtó szer rezisztencia transzgénje is beépíthető. A 1./A. és 1./B. ábrán egy ilyen konstrukciót mutatunk be, melyet a világ számos országában már kipróbáltak. Az ábrán látható kukoricára kidolgozott kétegén konstrukcióban a SU és IMI toleranciát biztosító transzgén mellé (1./A. ábra) egy glifozát toleranciáért felelős transzgént is (1./B. ábra) kapcsoltak. A gént a *Bacillus licheniformis*-ből izolálták és a glifozát N-acetiltranszferáz detoxifikáló enzimet kódolja (ld. Agrofórum 2013./5. májusi számában). Ez a konstrukció biztosítja a GM-fajta IMI, SU és glifozát hatóanyagú herbicidekkel szembeni toleranciáját. Ezek a többgén GM-fajták a jövőben lehetővé fogják tenni a különböző hatóanyagú gyomirtó szerek rotációját, amivel a toleráns gyomok is kiirthatók és a herbicid-toleráns fajták árvakelései is megsemmisíthetők, továbbá toleranciájuk stabil és nem dózisfüggő.

A transzgénikus és hagyományos gyomirtószer-toleráns fajták előállításával és alkalmazásával kapcsolatos részt befejeztük. A következő számban a transzgénikus (GM) rovarrezisztencia kialakításával és felhasználásával foglalkozunk.

A kutatás a TAMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0011 „A tehetség gondozás és kutatóképzés komplex rendszerének fejlesztése a Szent István Egyetemen” c. pályázat támogatásával valósult meg.