

Citokinin- és auxin szintek szerepe a Red Fuji és a McIntosh almafajták mikroszaporításában

Magyarné Tábori Katalin¹ – Dobránszki Judit¹ –
Ferenczy Antal² – Jámborné Benczúr Erzsébet³ –
Lazányi János¹

¹Debreceni Egyetem Kutató Központ, Nyíregyháza

²Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Matematika és Informatika Tanszék, Budapest

³Szent István Egyetem Kertészettudományi Kar,
Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék, Budapest

ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérleteinkben vizsgáltuk a táptalaj hormonösszetételének hatását a Red Fuji és a McIntosh nemeselek hajtássokszorozódására és gyökeresedésére *in vitro* körülmények között. A hajtássokszorozási kísérletekben két citokinin (benzil-adenin és benzil-adenin-ribozid) két-két koncentrációjának hatását vizsgáltuk a táptalaj két indol-3-ecetsav koncentrációjával kombinációban a hajtásproliferációra. A Red Fuji fajta esetén az 1,0 mg/l benzil-adenint és 0,1 mg/l indol-3-ecetsavat, a McIntosh fajta esetén pedig az 1,0 mg/l benzil-adenint és 0,3 mg/l indol-3-ecetsavat tartalmazó táptalaj alkalmazásával a megfelelő szaporodási ráta (Red Fuji: 5,3, McIntosh: 10,3) mellett a gyökeresítés szempontjából is megfelelő hosszúságú (38,4 és 39,3 mm) új hajtások fejlődését indukáltuk. A legjobbnak bizonyult hajtásproliferációs táptalajokról gyűjtött hajtásokat használtuk gyökeresítésre. Vizsgáltuk a gyökérindukációs táptalaj auxin koncentrációjának és a gyökérelongációs táptalaj aktív szén tartalmának hatását a gyökeresedésre. A magas gyökeresedési százalék eléréséhez mindkét fajta esetében a legalacsonyabb (1,0 mg/l) auxin koncentráció bizonyult a leghatékonyabbnak (McIntosh: 100%, Red Fuji: 83%). A gyökérelongációs táptalajhoz adagolt aktív szén a Red Fuji fajtánál gátolta az *in vitro* hajtások gyökeresedését. A táptalaj megfelelő citokinin és auxin összetételének megválasztásával elértük mindkét fajta hatékony *in vitro* hajtássokszorozódását és gyökeresedését, valamint a gyökeres hajtások nagyarányú túlélését az akklimatizáció során.

SUMMARY

Effects of media hormone content on *in vitro* shoot multiplication and rooting were examined in cv. Red Fuji and McIntosh apple scions. Multiplication responses of shoots to different concentrations (0.5 and 1.0 mg/l) of 6-benzylaminopurine and 6-benzylaminopurine riboside were tested at two levels (0.1 and 0.3 mg/l) of indole-3-butyric acid. The best proliferation rate was achieved on medium containing 1.0 mg/l 6-benzylaminopurine and 0.1 mg/l indole-3-butyric acid in cv. Red Fuji (5.3) and on medium containing 1.0 mg/l 6-benzylaminopurine and 0.3 mg/l indole-3-butyric acid in cv. McIntosh (10.3). The length of shoots on these media was enough for rooting (38.4 mm in cv. Red Fuji and 39.3 mm in cv. McIntosh). Shoots developed on the best proliferation medium were used for rooting. Effects of different concentrations of auxin in the root induction media and presence of activated charcoal in the root elongation media were examined on rooting capacity. The best rooting rate (100% in cv. McIntosh and 83% in cv. Red Fuji) was achieved when the root induction medium contained 1.0 mg/l indole-3-butyric acid. In general, rooting was inhibited in the presence of activated charcoal.

Because of high in vitro multiplication and rooting rate and high percent of survival during acclimatisation, the methods described here make effective micropropagation processes possible for cv. Red Fuji and McIntosh.

Rövidítések: 6-benzylaminopurine – BA, 6-benzylaminopurine ribozid – BAR, 4-(3-Indolil)ecetsav – IVS

BEVEZETÉS

A gyors és kórokozómentes szaporítóanyag előállítás az alma esetén is csak az üzemi méretű mikroszaporítással érhető el (Dudits és Heszky, 1990; Dudits és Heszky, 2000). A különböző alma genotípusok az *in vitro* tenyésztési körülményekre igen eltérően reagálnak, ezért egy-egy módszer általában nem adaptálható a fajták széles körére, az *in vitro* körülményeket mindig az adott genotípusra kell optimalizálni (Huth, 1978; James és Thurbon, 1979; Karhu, 1995; Karhu és Zimmerman, 1993).

Az almánál a mikroszaporítás két lépésben történik. A hajtássokszorozási, vagy proliferációs fázist, mely során 3-4 hetente az *in vitro* fejlődött hajtásokat friss táptalajra helyezzük, hogy a kívánt mennyiségű szaporítóanyagot előállítsuk, követi a gyökeresítési fázis. Az *in vitro* tenyésztés során a járulékos hajtások proliferációját, a fejlődő hajtások hosszát számos *in vitro* faktor befolyásolja, melyek közül kiemelkedő jelentősége van az alkalmazott citokinin típusának és koncentrációjának. A táptalajhoz adott citokinin hatását befolyásolja az *in vitro* hajtások endogén citokinin tartalma (Elliott, 1972; Jones, 1967; Lane, 1979), valamint az apikális dominancia kialakításában szerepet játszó egyéb, nem citokinin típusú hormonok endogén szintje is (Sachs és Thimann, 1967). A különböző fajták esetén eltérő lehet az exogén citokininek táptalajból való felvétele, transzportjuk hatékonysága és metabolizmusuk is (Lane és McDougald, 1982).

A hajtássokszorozási fázisban megvizsgáltuk két, citokinin típusú növekedésszabályozó anyag (benzil-adenin – BA, benzil-adenin-ribozid – BAR) hajtássokszorozódásra kifejtett hatását Red Fuji és McIntosh almafajták esetén. Hagyományosan alma esetén is a BA az általánosan használt a mikroszaporítás során (Sriskandarajah és Mullins, 1981; Werner és Boe, 1980; Lane és McDougald, 1982; Zimmerman és Fordham, 1985; Webster és Jones, 1991; Marin és mtsai, 1993), mivel az egyik

leghatékonyabb citokinin szövetkultúrákban. Emellett azonban számos nemkívánatos mellékhatást is kiválthat (pl.: túl rövid hajtások fejlődése, kalluszképződés stb.). A mellékhatások egy részét az okozza, hogy a BA-t a növényi enzimek – a szabad és kötött citokinin-szint szabályozása során – biológiailag inaktívvá alakítják elsősorban N⁹-glükolizáció vagy alanin-konjugáció révén. Ezek a vegyületek kémiaiag nagyon stabilak, a vegyületből a BA felszabadulás elhúzódó, ami a mellékhatások egyik oka lehet (Drewes és van Staden, 1989). Kísérleteinkben ezért a BA mellett megvizsgáltuk a BAR hatását. Ebben a vegyületben a ribóz jelenléte az N⁹-pozícióban védelmet biztosíthat az N⁹-glükolizáció, s így a nemkívánatos mellékhatások egy része ellen is (Werbrouck és mtsai, 1996). A BAR kedvező hatását szilva és bálványfa *in vitro* kultúrába vétele során (Jámbor-Benczúr és mtsai, 1995; Jámbor-Benczúr és mtsai, 1997), MM.106 és JTE-H alma alanyok, valamint Jonagold és Royal Gala nemesek (Dobránszki és mtsai, 2000a, b, Magyar-Tábori és mtsai, 2000) *in vitro* hajtássokszorozódásában is kimutatták.

A járulékos gyökerek indukciója az *in vitro* hajtásokon és a gyökeres hajtások sikeres akklimatizációja fontos lépése az alma mikroszaporításának és a transzgénikus vonalak előállításának. Számos nemes- és alanyfajta esetén sikeres gyökeresítésről és nagy arányú túlélésről számoltak be (Bolar et al., 1998), azonban az almafajták nagy része, különösen a nemesek mind *in vivo*, mind *in vitro* körülmények között nehezen gyökeresednek (Zimmerman és Fordham, 1985).

A gyökeresítés eredményességét számos tényező befolyásolja. Az *in vitro* alma hajtások gyökeresedési képességét jelentősen meghatározza a genotípus (Harbage és Stimart, 1996; Zhou és mtsai, 1992; DePaoli és Battistini, 1999; Harbage és mtsai, 1998). A nehezen gyökeresedő fajták gyökeresedési képességét javíthatja a szubkultúrálás számának növelése (Noiton és mtsai, 1992). Kiemelkedő szerepe van a gyökérindukciós fázisban a sötét környezetnek (Karhu és Zimmerman, 1993) és a szacharóz jelenlétének (Karhu és Ulvinen, 1995). Gátolhatja a gyökeresedést a gyökérindukciós táptalaj ammónium-nitrát tartalma (Sriskandarajah és mtsai, 1990; Druart, 1997). A sikeres gyökeresedésben jelentős szerepet játszik a gyökérindukciós táptalaj auxin tartalma (Harbage és mtsai, 1993). A gyökérelongációs táptalajhoz adagolt aktív szén több esetben javította az *in vitro* alma hajtások gyökeresedését (Modgil és mtsai, 1999; Snir és Erez, 1980). Az aktív szén számos más tényezőtől függően segítheti vagy gátolhatja a különböző típusú explantátumok *in vitro* növekedését (Pan és Staden, 1998). Nem tisztázott még, hogy az aktív szén milyen módon segíti az *in vitro* hajtások gyökeresedését. Kísérleteinkben a Red Fuji és McIntosh gyökeresedési válaszát vizsgáltuk a gyökérindukciós táptalaj különböző indol-vajsav (IVS) szintjeire, valamint a gyökérelongációs táptalaj aktív szén tartalmára.

A dolgozatban bemutatott kísérleteink célja az

volt, hogy a Red Fuji és a McIntosh fajtákra hatékony mikroszaporítási módszert dolgozzunk ki.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Kísérleteinkhez növényanyagként a Red Fuji és a McIntosh fajták *in vitro* fejlődött hajtásait használtuk fel. A hajtássokszorozódás vizsgálatához tenyészedényként 400 ml-es, 75 mm átmérőjű és 85 mm magas befőttes üvegeket használtunk, melyeket műanyagtetővel zártunk le. Az üvegekbe 40 ml táptalajt töltöttünk, erre helyeztük horizontálisan az explantátumokat. Minden tenyészedényben négy darab, 35-40 mm-es hajtásdarabot fektettünk a táptalaj felszínére. A növényeket nevelőhelyiségben neveltük napi 16 óras, 105 $\mu\text{Mm}^{-2}\text{s}^{-1}$ (8.000 lux) megvilágítás és 22°C \pm 2 °C hőmérséklet mellett. Egy-egy kezelést fajtánként legalább 20 explantátum képviselt. A kísérleteket háromszor megismételtük. A kísérletekben Murashige-Skoog (1962) táptalajt használtunk, mely az MS-sók és MS-vitaminok mellett minden esetben tartalmazott 0,2 mg/l gibberellinsavat, 3% szacharózt, 0,7% agar-agart, a táptalaj pH-ját 5,8-ra állítottuk be az autoklavozás előtt. A kísérletekben különböző típusú citokinin és az indol-vajsav (IVS) különböző koncentrációinak hatását vizsgáltuk a hajtássokszorozódásra és négy hét múlva megállapítottuk a fejlődött új hajtások számát, hosszát. Nyolcféle hormonösszetétel hatását vizsgáltuk, a kombinációkat az 1. táblázat mutatja.

1. táblázat

A hajtássokszorozási kísérletekben használt táptalajok citokinin és auxin összetétele

Táptalaj száma(1)	Táptalaj citokinin és auxin tartalma (mg/l)(2)		
	BA(3)	BAR(4)	IVS(5)
T-1	0,5	-	0,1
T-2	0,5	-	0,3
T-3	1,0	-	0,1
T-4	1,0	-	0,3
T-5	-	0,5	0,1
T-6	-	0,5	0,3
T-7	-	1,0	0,1
T-8	-	1,0	0,3

Table 1: Concentrations of cytokinines and auxin in the culture media used in the shoot multiplication experiments number of media(1), Cytokinin and auxin content of media (mg/l)(2), BA(3), BAR(4), IBA(5)

A szaporítási kísérletek értékelése az indítást követő negyedik hét végén történt. Felvételeztük a szaporodási rátát, azaz az explantátumoként fejlődött új hajtások számát, valamint a hajtások hosszát (mm). Az adatok statisztikai értékelésénél csak az egészséges (nem vitrifikálódott) hajtásokat vettük figyelembe. Az értékelés fajtánként varianciaanalízissel történt. Ezt követően a kezelések hatását egy-egy fajtán belül Tukey-féle eljárással hasonlítottuk össze. Az eljárás lényege, hogy a mintaközéppértékekből – a standardizált terjedelem alapján – homogén csoportok képezhetők. Az azonos

csoportba tartozó középértékek egymástól nem térnek el szignifikánsan. A statisztikai értékelések elvégzéséhez SPSS 7.5 for Windows programcsomagot használtunk.

A gyökeresítendő hajtások felszaporítása a hajtássokszorozódási eredmények alapján kiválasztott táptalajon történt. Mindkét fajtánál benziladenint alkalmaztunk citokininként (1,0 mg/l), valamint Red Fuji fajtánál 0,1 mg/l IVS-t (T-3), McIntosh fajtánál 0,3 mg/l IVS-t (T-4) auxinként.

A növényeket nevelőhelyiségben a hajtássokszorozási kísérletnél leírt körülmények között neveltük négy hétig. A negyedik hét végén a gyökeresedési kísérletekhez a 15-25 mm-es hajtásokat használtuk explantátumként. Az alsó levelek eltávolítása után tenyészedenyenként (bébiételes üveg) 5 db hajtást helyeztünk függőlegesen 30 ml gyökérindukciós táptalajra.

A gyökérindukciós táptalaj felére csökkentett mennyiségű MS-sókat, 100 mg/l inozitot, 0,5 mg/l B₁ vitamint, 2% szacharózt, 0,7% agar-agar tartalmazott, valamint 1,0; 2,0 vagy 3 mg/l IVS-t. A táptalaj pH-ját 5,5-re állítottuk be az autoklavozás előtt. A növényeket 26 °C-on inkubáltuk egy hétig, teljes sötétben. A gyökérindukciós kezelés után a hajtásokat áttettük hormonmentes ún. gyökérelongációs táptalajra, amely MS-sókat tartalmazott feles mennyiségben, valamint 50 mg/l inozitot, 3% szacharózt, 2 ml/l Wuxalt, 0,7% agar-agar. A hajtások felét aktív szén nélküli táptalajra ('E1'), míg a többi hajtást 2,5 g/l aktív szénnel kiegészített gyökérelongációs táptalajra ('E2') helyeztük. A gyökérelongációs táptalajon a kultúrák nevelésének körülményei megegyeznek a szaporításnál leírtakkal.

Az átrakástól számított 2. hét végén értékeltük a gyökeresedési arányt, a gyökeres hajtásokon a gyökerek számát és hosszát, majd a gyökeres hajtásokat 'Jiffy-7' tözeghengerbe ültettük ki, amelyet előzetesen MS-sókat 0,1 töménységben és Pevicurt (0,15%) tartalmazó steril oldattal itattunk át. A kiültetett növényeket légmentesen lezárt műanyag dobozokban (Vegbox) neveltük tovább 22±2 °C hőmérsékleten, 105 μMm⁻²s⁻¹ PPF (photosynthetic photon flux) fényintenzitással, hosszúnappal (16 h) megvilágításon. Amikor a gyökerek megjelentek a 'Jiffy-7' henger felületén a növényeket átültettük a fenti oldattal átítatott tözegbe, 80 mm átmérőjű cserépbe. A cserepeket légmentesen lezártuk nylon zacskóval, és a növényeket újra visszahelyeztük a nevelőhelyiségbe. Négy nap elteltével a zacskón kis nyílást vágtunk, majd három nap múlva eltávolítottuk a tasak felső harmadát és áttettük üvegházba a növényeket (Bolar et al., 1998). Minden kezelés minimum 30 ismétlésből állt, az adatok statisztikai analízise varianciaanalízissel, a középértékek többszörös összehasonlítása Tukey-féle teszttel történt, SPSS 7.5 for Windows program segítségével.

EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

A hajtássokszorozási kísérletekben az

explantátumokon fejlődő hajtások számát (szaporodási ráta) és hosszúságát a genotípus mellett a táptalajban lévő citokinin koncentrációja és a típusa is szignifikánsan befolyásolta.

Red Fuji fajtánál a szaporodási rátát a magasabb citokinin koncentráció növelte (1. ábra). Ez a hatás csak akkor volt szignifikáns, ha a táptalajban lévő citokinin BA volt. A BA mellett az IVS koncentrációja nem befolyásolta szignifikánsan a fejlődő új hajtások számát. Ha a táptalaj citokinin forrása BAR volt, az IVS tartalom növelése szignifikánsan növelte a szaporodási rátát mindkét alkalmazott BAR koncentráció esetében: 2,5-ről 4,1-re, illetve 3,5-ről 4,8-ra. A szaporodási ráta szempontjából tehát a T-3 (1,0 mg/l BA + 0,1 mg/l IVS) táptalaj bizonyult a legalkalmasabbnak a Red Fuji hajtássokszorozódására. Ettől azonban a T-4 (1,0 mg/l BA + 0,3 mg/l IVS) és a T-8 (1,0 mg/l BAR + 0,3 mg/l IVS) táptalajokon fejlődő hajtások száma sem tért el szignifikánsan.

1. ábra: A hormonok különböző kombinációjának és koncentrációinak hatása a Red Fuji hajtássokszorozódására (A kis betűk a Tukey-féle homogén csoportokat jelölik. IBA=indolvájsav)

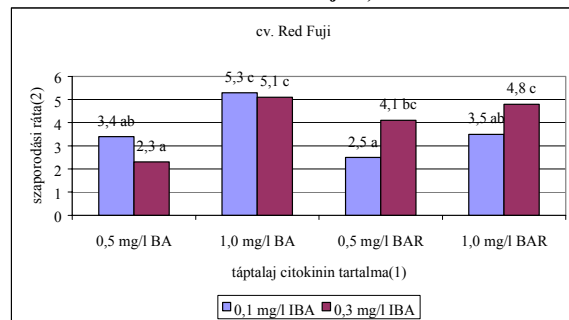


Figure 1. Effect of different combinations and concentrations of hormones on the rate of shoot multiplication in cv. Red Fuji (The small letters mean the homogeneous groups according to Tukey's test.)

Cytokinin content of media(1), multiplication rate(2)

McIntosh fajtánál – a Red Fuji fajtaéhoz hasonlóan – kimutattuk, hogy a citokinin tartalom emelésével a szaporodási ráta növekedett, s ez a hatás a BA alkalmazása esetében volt szignifikáns (2. ábra). A táptalaj IVS tartalma önmagában nem, de a citokininnel kombinációban befolyásolta a fejlődő új hajtások számát. Ha a táptalajban alacsonyabb (0,1 mg/l) volt az IVS koncentrációja, akkor az alacsonyabb citokinin koncentráció (0,5 mg/l) alkalmazásakor a BA hatásához képest a BAR szignifikánsan növelte a szaporodási rátát 4,8-ról 7,2-re a. A táptalaj magasabb IVS koncentrációja (0,3 mg/l) mellett, a citokinineket magasabb koncentrációban alkalmazva (1,0 mg/l) azonban a BA alkalmazásával értünk el magasabb szaporodási rátát: 7,9-ről 10,3-ra nőtt a hajtásszám. A hajtásszám szempontjából a következő három táptalajon fejlődött e legtöbb új hajtás: T-4 (1,0 mg/l BA + 0,3 mg/l IVS), T-7 (1,0 mg/l BAR + 0,1 mg/l IVS) és T-3 (1,0 mg/l BA + 0,1 mg/l IVS) táptalajok.

2. ábra: A hormonok különböző kombinációjának és koncentrációinak hatása a McIntosh hajtássokszorozódására (A kis betűk a Tukey-féle homogén csoportokat jelölik. IBA=indolvajsav)

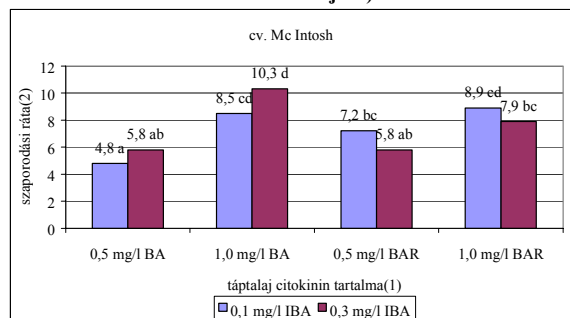


Figure 2. Effect of different combinations and concentrations of hormones on the rate of shoot multiplication in cv. McIntosh (The small letters mean the homogeneous groups according to Tukey's test.)

Cytokinin content of media(1), multiplication rate(2)

Ideális körülmények között egy szaporító táptalajnak nemcsak a képződő hajtások számát kell optimalizálni, hanem a hajtások hosszát is. Ha a sokszorosító szakaszban fejlődött új hajtások túl rövidek, akkor a mikroszaporítás folyamán, a gyökeresítés előtt még egy ún. elongációs szakasz beiktatása is szükségessé válik. Az elongációs szakasz beiktatása azonban munka- és költségnövelő tényező, így minden esetben arra kell törekedni, hogy a hajtássokszorozó szakaszban fejlődő hajtások számának növelése mellett a hajtások hossza is a gyökeresítés szempontjából megfelelő legyen. Alma esetében ez azt jelenti, hogy az átlagos hajtáshosszúság érje el legalább a 30 mm-t. Jones (1967), valamint Skirvin és mtsai (1986) alma hajtástenyészeteknél erős negatív korrelációt mutattak ki a hajtások száma és hossza között benziladenin alkalmazása esetén. A hajtáshossz és a hajtásszám közötti negatív korreláció kísérleteinkben nem minden esetben volt szoros, függött a fajtától és az alkalmazott citokinin típusától.

Red Fuji fajtánál a fejlődő új hajtások hosszát a 0,5 mg/l BAR + 0,3 mg/l IVS hormonkombináció kivételével az alkalmazott táptalajok hormonkombinációi nem befolyásolták szignifikánsan (2. táblázat). Az átlagos hajtáshossz minden esetben meghaladta a 30 mm-t. Egyik táptalajon sem tapasztaltunk erős kalluszképződést, vagy vitrifikációt.

McIntosh fajta fejlődő új hajtásainak hosszúságát a táptalajban lévő hormonok jelentős mértékben befolyásolták (2. táblázat). Megfigyelhetjük, hogy a minél nagyobb hajtáshossz kialakítása szempontjából kedvezőbb, ha a citokinin forrás BAR. Jelentősen befolyásolta a hajtáshosszat a táptalaj IVS tartalma is. Alacsony BAR tartalom (0,5 mg/l) mellett az alacsony (0,1 mg/l) IVS tartalom esetén fejlődtek jelentősen hosszabb hajtások. Magas citokinin tartalom esetén azonban függetlenül a citokinin típusától a táptalaj magasabb (0,3 mg/l) IVS tartalma növelte szignifikánsan a hajtások hosszát. A legjobb

szaporodási rátát adó három táptalaj (T-3, T-4 és T-7) közül a T-3 és T-7 táptalajokon fejlődött hajtások átlagos hossza éppen hogy elérte a kritikus 30 mm-t. A T-4 táptalajon fejlődött hajtások átlagos hosszúsága azonban megfelelő volt: 39,3 mm. Ennél a fajtánál sem figyeltünk meg egyik táptalajon sem erős kalluszképződést, vagy vitrifikációt.

2. táblázat

A különböző táptalajon fejlődő hajtások hosszúsága (mm)*

Táptalaj(1)	Hajtáshosszúság (mm)(2)	
	Red Fuji	McIntosh
T-1	38,3 a	31,8 ab
T-2	34,7 a	36,3 bc
T-3	38,4 a	30,4 a
T-4	36,2 a	39,3 c
T-5	34,6 a	46,3 d
T-6	48,7 b	39,3 c
T-7	33,1 a	30,1 a
T-8	37,8 a	41,7 cd

*: Az értékeket követő kisbetűk a Tukey-féle homogén csoportokat jelölik egy-egy fajtán belül. Az azonos betűvel jelölt értékek egymástól nem térnek el szignifikánsan ($p=0,01$)(3)

Table 2: Length of shoots (mm) developed on the different culture media

media(1), length of shoots (mm)(2)

*: The small letters represent the homogeneous groups within a cultivar. The data marked with the same letter are not significantly different ($p=0,01$)(3)

A hajtássokszorozási eredményeket értékelve megállapíthatjuk, hogy Red Fuji fajta esetén a T-3 (1,0 mg/l BA + 0,1 mg/l IVS), a McIntosh fajta esetén pedig a T-4 (1,0 mg/l BA + 0,3 mg/l IVS) táptalaj bizonyult a legalkalmasabbnak arra, hogy megfelelő szaporodási ráta mellett a gyökeresítés szempontjából is megfelelő hosszúságú új hajtások fejlődését indukálja. Az eredmények – az irodalmi adatokkal összhangban (Huth, 1978; James és Thurbon, 1979; Karhu, 1995; Karhu és Zimmerman, 1993) – azt mutatják, hogy a táptalaj hormonösszetétele mellett a genotípus is jelentősen befolyásolja a szaporodási rátát. A Red Fuji fajta esetén elérhető maximális szaporodási ráta kísérleteinkben 5,3 volt, míg a McIntosh fajta esetében ennek a hajtásszámnak majdnem a kétszeresét (10,3) lehetett elérni a legjobb táptalajon, anélkül, hogy a hajtások túlzottan megrövidültek volna. Red Fuji hajtássokszorozódására irodalmi adatot nem találtunk. McIntosh fajta esetén Karhu (1995) – 63 mm-es átlagos hajtáshossz mellett – 4,8-as szaporodási rátát, Yepes és Aldwinckle (1994) pedig – 22 mm-es átlagos hajtáshossz mellett – 6,6-os szaporodási rátát értek el. Kísérleteinkben a legjobb sokszorozó táptalajon a McIntosh fajta szaporodási rátája 10,3 volt, 39,3 mm-es átlagos hajtáshossz mellett.

A hajtássokszorozási kísérletben legjobbnak bizonyult hajtásproliferációs táptalajokról gyűjtött hajtásokat használtuk a hatékony gyökeresítési eljárás kidolgozásához (Yepes és Aldwinckle, 1994).

Alma esetében általában a kétfázisú gyökeresítést használják: az első az ún. gyökerindukciós szakasz, melyben exogén auxin és sötét környezet biztosításával indukáljuk a gyökerkezdemények kialakulását. A második az ún. gyökérelongációs szakasz, melyben hormonmentes táptalajon a szaporítási fázisban alkalmazott környezeti feltételek mellett történik a gyökérfejlődés. A gyökeresítés sikerét mindkét fázis tényezői befolyásolják.

Eredményeink szerint a gyökerindukciós táptalaj IVS tartalmának jelentős szerepe van a gyökeresedési százalék kialakításában. Mindkét fajta a növekvő auxin koncentrációra csökkenő gyökeresedési arányt mutatott (3-4. ábra). A magas auxin koncentráció a Red Fuji fajtánál igen erős gátló hatást mutatott a gyökeresedésre, míg a McIntosh fajtánál a legmagasabb (3,0 mg/l) koncentráció mellett is magas gyökeresedési arányt értünk el (89%). A magas auxin tartalom gyökeresedést gátló hatását a McIntosh fajtánál Yepes és Aldwinckle (1994) szintén kimutatta, habár az általuk elért legjobb gyökeresedési arányt (80%) jóval alacsonyabb (0,3 mg/l) IVS koncentrációval kapták.

3. ábra: A gyökerindukciós táptalaj IVS tartalmának és a gyökérelongációs táptalaj aktív szén tartalmának hatása a McIntosh fajta gyökeresedési képességére (%). E1: szén nélküli, E2: aktív szénrel kiegészített gyökérelongációs táptalaj

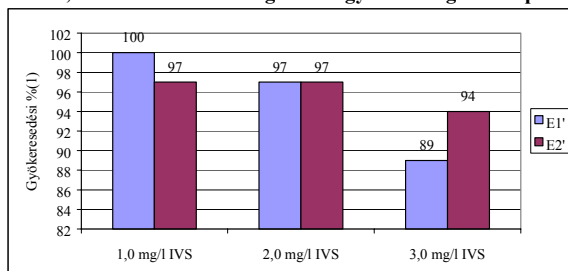


Figure 3: Effects of the IBA-concentrations in the root induction media and that of the activated charcoal-content in the root elongation media on the percent of rooting in cv. McIntosh. Root elongation media without activated charcoal (E1) or with activated charcoal (E2) rooting percentage(1)

4. ábra: A gyökerindukciós táptalaj indolvajsav tartalmának és a gyökérelongációs táptalaj aktív szén tartalmának hatása a Red Fuji fajta gyökeresedési képességére (%). E1: szén nélküli, E2: aktív szénrel kiegészített gyökérelongációs táptalaj

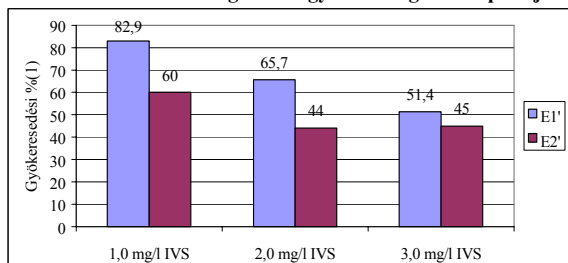


Figure 4: Effects of the IBA-concentrations in the root induction media and that of the activated charcoal-content in the root elongation media on the percent of rooting in cv. Red Fuji. Root elongation media without activated charcoal (E1) or with activated charcoal (E2) rooting percentage(1)

A gyökerkezdemények számát a gyökerindukciós fázis első néhány napja határozza meg (Harbage és mtsai, 1993). Kísérletünkben a gyökeresedési arányt a gyökérelongációs táptalajhoz adagolt aktív szén is befolyásolta. Az aktív szén jelenléte a gyökérelongációs táptalajban jelentősen lecsökkentette a gyökeresedési százalékot a Red Fuji esetében. A szakirodalmi közlésekkel ellentétben az általunk alkalmazott gyökeresítési módszerrel a Red Fuji esetében tehát az aktív szén negatív hatást mutatott az *in vitro* hajtások gyökeresedésére.

McIntosh fajtánál a legmagasabb auxin koncentrációval (3,0 mg/l IVS) végzett gyökerindukciós fázis után az aktív szenet tartalmazó elongációs táptalajon magasabb gyökeresedési százalékot értünk el.

A gyökeres hajtásokon a fejlődött gyökerek számát sem az indol-vajsav koncentrációk, sem a gyökérelongációs táptalajhoz adagolt aktív szén nem befolyásolta (3. táblázat). A különböző kezeléskombinációkban fajtára jellemzően alakultak az értékek: a Red Fuji lényegesen kevesebb gyökeret fejlesztett (2,0-3,5 db/hajtás), mint a McIntosh (8,4-9,7 db/hajtás).

3. táblázat

A gyökerindukciós táptalaj IVS tartalmának és a gyökérelongációs táptalaj aktív szén tartalmának hatása a gyökeresedési válaszra

Kezelések(1)	Gyökerindukciós táptalaj IVS tartalma (mg/l)(2)					
	1,0		2,0		3,0	
	Gyökérelongációs táptalaj(3)					
Vizsgált jellegek(4)	'E1'	'E2'	'E1'	'E2'	'E1'	'E2'
	cv. McIntosh					
Gyökér db/hajtás(5)	9,7 a	9,2 a	9,6 a	8,7 a	8,9 a	8,4 a
Gyökérhossz (mm)(6)	15 a	28 c	16 ab	19 ab	16 ab	21 b
Túlélés (%) (7)	100	100	100	100	80	60
cv. Red Fuji						
Gyökér db/hajtás(5)	2,5 a	2,5 a	3,5 a	2,2 a	2,5 a	2,0 a
Gyökérhossz (mm)(6)	11 ab	13 ab	9,0 a	12 ab	11 ab	17 b
Túlélés (%) (7)	100	100	100	100	100	100

Table 3: Effects of the IVS-concentrations in the root induction media and those of the activated charcoal-content in the root elongation media on the rooting response treatments(1), IBA content of root induction media (mg/l)(2), root elongation media(3), observed characteristics(4), root number per shoot(5), length of roots(6), survival (%) (7)

A gyökerindukciós táptalaj auxin tartalma nem gyakorolt hatást az átlagos gyökérhosszúságra (3. táblázat). Ha a gyökérelongációs táptalaj nem tartalmazott aktív szenet, akkor a gyökérhosszúság minden auxin szint mellett azonos volt (9-11 mm a Red Fuji esetében és 15-16 mm a McIntosh fajtánál).

Az aktív szén tartalmazó gyökérelongációs táptalajon mindkét fajta esetében hosszabb gyökerek fejlődtek, azonban a különbség csak a McIntosh fajtánál, és csak a legalacsonyabb auxin szint mellett bizonyult szignifikánsnak.

A gyökeres hajtások akklimatizációja során nagy arányú túlélést értünk el: a 'Jiffy-7' tőzeghengerben a Red Fuji minden esetben 100%-os túlélést mutatott (3. táblázat). A McIntosh fajta gyökeres hajtásainak túlélésében már különbségek találhatók: habár a hajtások pusztulása minden esetben kórokozók jelenlétének volt tulajdonítható, nem hagyható figyelmen kívül az a tény, hogy csak a legmagasabb (3,0 mg/l) IVS koncentrációval végzett gyökérindukciós kezelés után fordult elő hajtáselhalás az akklimatizáció során. Az aktív szén jelenléte nem mutatott utóhatást a hajtások túlélésére. Amikor a gyökerek megjelentek a 'Jiffy-7' tőzeghenger felületén, kezelésenként 10 db növényt átültettünk cserépbe. A kritikus fázisnak csak az akklimatizáció első szakasza bizonyult, a már cserépbe kerülő növények mindegyike túlélte és vigoros növekedést mutatott. A továbbültetésre nem kerülő növények táphengerét szétszedve azt találtuk, hogy minden esetben az eredeti (táptalajon fejlődött) gyökér elpusztult és újak fejlődtek helyette. A jelenség oka nem ismert, valószínűleg az *in vitro* fejlődött gyökerek pusztulásában azok elégtelen

szöveti szerkezete játszott szerepet.

A gyökeresítési eredményeket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a magas gyökeresedési százalék eléréséhez mindkét fajta esetében a legalacsonyabb (1,0 mg/l) IVS koncentráció bizonyult a leghatékonyabbnak. A McIntosh fajtánál 100%-os gyökeresedést értünk el, míg a Red Fuji esetében a maximális gyökeresedési arány 83%. Az eredmények alapján feltételezhető, hogy a Red Fuji gyökeresedése alacsonyabb indol-vajsav szinttel hatékonyabban indukálható. Kísérleteinkben a gyökérelongációs táptalajhoz adagolt aktív szén – az irodalmi adatokkal ellentétben (Modgil és mtsai, 1999; Snir és Erez, 1980) – egyetlen eset kivételével mérsékelte az *in vitro* hajtások gyökeresedését.

Kísérleti eredményeinket összegezve megállapíthatjuk, hogy a táptalaj megfelelő citokinin és auxin összetételének megválasztásával elértük a Red Fuji és a McIntosh fajta hatékony *in vitro* hajtáskioszorzódását és gyökeresedését, valamint a gyökeres hajtások nagyarányú túlélését az akklimatizáció során.

Köszönetnyilvánítás:

Az almával kapcsolatos *in vitro* kutatásaink OTKA támogatással folynak (No. T-030103).

IRODALOM

- Bolar, J. P.-Norelli, J. L.-Aldwinckle, H. S.-Hanke, V. (1998): An efficient method for rooting and acclimation of micropropagated apple cultivars. HortScience, 33. 7. 1251-1252.
- De Paoli, G.-Battistini, A. (1999): In vitro rooting of bacterially contaminated apple (M 9 and M 26) rootstock. Abstracts of the ISHS Conference 'Methods and Markers for Quality Assurance in Micropropagation', Ireland, Cork, 112-113.
- Dobránszki, J.-Abdul-Kader, A.-Magyar-Tábori, K.-Jámbor-Benczúr, E.-Bubán, T.-Szalai, J.-Lazányi, J. (2000a): In vitro shoot multiplication of apple: comparative response of three rootstocks to cytokinines and auxin. International Journal of Horticultural Science, 6. 1. 36-39.
- Dobránszki, J.-Abdul-Kader, A.-Magyar-Tábori, K.-Jámbor-Benczúr, E.-Bubán, T.-Szalai, J.-Lazányi, J. (2000b): Single and dual effects of different cytokinins on shoot multiplication of different apple scions. International Journal of Horticultural Science, 6. 4 in press.
- Drewes, F. E.-van Staden, J. (1989): The effect of 6-benzyladenine derivatives on the rooting of Phaseolus vulgaris L. primary leaf cuttings. Plant Growth Regul., 8. 289-296.
- Druart, P. (1997): Optimization of culture media for in vitro rooting of Malus domestica Borkh. cv. Compact Spartan. Biologia Plantarum, 39. 1. 67-77.
- Dudits D.-Heszky L. (1990): Növénybiotechnológia. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Dudits D.-Heszky L. (2000): Növényi biotechnológia és géntechnológia. Agroinform Kiadó, Budapest
- Elliott, R. R. (1972): Axenic culture of shoot apices of apple. N. Z. J. Bot., 10. 254-258.
- Harbage, J. F.-Stimart, D. P. (1996): Effect of pH and 1H-indole-3-butyric acid (IBA) on rooting of apple microcuttings. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 121. 6. 1049-1053.
- Harbage, J. F.-Stimart, D. P.-Auer, C. (1998): PH affects 1H-indole-3-butyric acid uptake but not metabolism during the initiation phase of adventitious root induction in apple microcuttings. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 123. 1. 6-10.
- Harbage, J. F.-Stimart, D. P.-Evert, R. F. (1993): Anatomy of adventitious root formation in microcuttings of Malus domestica Borkh. 'Gala'. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 118. 5. 680-688.
- Huth, W. (1978): Kultur von Apfelpflanzen aus apikalen Meristemen. Gartenbauwissenschaft, 43. 163-166.
- Jámbor-Benczúr, E.-Neményi, A.-Szendrák, E.-Szafián, Zs. (1997): In vitro propagation of Ailanthus altissima (Swingle) 'Purple Dragon'. Horticult. Science, 29. 22-25.
- Jámbor-Benczúr, E.-Tilly-Mándy, A.-Szafián, Zs. (1995): Effect of growth regulators on in vitro propagation of Prunus X davidopersica cv. Pirooska. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent., 60/4a. 1665-1668.
- James, D. J.-Thurbon, I. J. (1979): Rapid in vitro rooting of apple rootstock M9. J. Hort. Sci. 54. 309-311.
- Jones, O. P. (1967): Effect of benzyladenin on isolated apple shoots. Nature, 215. 1514-1515.
- Karhu, S. T. (1995): The quality of carbohydrates affects the axillary branching of apple microshoots. Bull. Rech. Agron. Gembloux. 30. 21-27.
- Karhu, S. T.-Ulvinen, S. K. (1995): The effect of different carbohydrates on the rooting of micropropagated apple shoots and their adaptation after transplantation. Bull. Rech. Agron. Gembloux., 30. 1-2. 87-101.
- Karhu, S. T.-Zimmerman, R. H. (1993): Effect of light and coumarin during root initiation on rooting apple cultivars in vitro. Adv. Hort. Sci. 7. 33-36.

- Lane, W. D. (1979): Influence of growth regulators on root and shoot initiation from flax meristem-tips and hypocotyls in vitro. *Physiol. Plant.* 45. 260-264.
- Lane, W. D.-McDougald, J. M. (1982): Shoot tissue culture of apple: comparative response of five cultivars to cytokinin and auxin. *Can. J. Plant Sci.* 62. 689-694.
- Magyar-Tábori, K.-Abdul-Kader, A.-Dobránszki, J.-Jámbor-Benczúr, E.-Lazányi, J. (2000): Effect of benzylaminopurine riboside on shoot multiplication rate of apple cultured in vitro. *International Symposium on Biotechnology Application in Horticultural Crops. Peking, Kína*, 17.
- Marin, J. A.-Jones, O. P.-Hadlow, W. C. C. (1993): Micropropagation of columnar apple trees. *J. Hortic. Sci.* 68. 289-297.
- Modgil, M.-Sharma, D. R.-Bhardwaj, S. V. (1999): Micropropagation of apple cv. Tydemans' Early Worcester. *Scientia Horticulture*, 81. 179-188.
- Murashige, T.-Skoog, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Phys. Plant.* 15. 473-497.
- Noiton, D.-Vine, J. H.-Mullins, M. G. (1992): Effects of serial subculture in vitro on the endogenous levels of indole-3-acetic acid and abscisic acid and rootability in microcuttings of 'Jonathan' apple. *Plant Growth Regulation*, 11. 377-383.
- Pan, M. J.-van Staden, J. (1998): The use of charcoal in in vitro culture – A review. *Plant Growth Regulation*, 26. 155-163.
- Sachs, T.-Thimann, K. V. (1967): The role of auxins and cytokinins in the release of buds from dominance. *Am. J. Bot.* 54. 136-144.
- Skirvin, R. M.-Koudir, M.-Joung, H.-Korban, S. S. (1986): The tissue culture of apple (*Malus x domestica* Borkh.). In: Bajaj Y. P. S. (ed) *Biotechnology in agriculture and forestry. V.1. (Trees I.)*. 183-189., Berlin, Heidelberg. Springer Verlag
- Snir, I.-Erez, A. (1980): In vitro propagation of Malling Merton apple rootstocks. *HortScience*, 15. 5. 597-598.
- Sriskandarajah, S.-Mullins, M. G. (1981): Micropropagation of Granny Smith apple: factors affecting root formation in vitro. *J. Hortic. Sci.* 56. 71-76.
- Sriskandarajah, S.-Skirvin, R. M.-Abu-Qaoud, H. (1990): The effect of some macronutrients on adventitious root development on scion apple cultivars in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 21. 185-189.
- Webster, C. A.-Jones, O. P. (1991): Micropropagation of some cold-hardy dwarfing rootstocks for apple. *J. Hortic. Sci.* 66. 1-6.
- Werbrouck, S. P. O.-Strand, M.-Van Onckelen, H. A.-Debergh, P. C. (1996): Meta-topolin, an alternative to benzyladenine in tissue culture? *Physiol. Plant.* 98. 291-297.
- Werner, E. M.-Boe, A. A. (1980): In vitro propagation of Malling 7 apple rootstock. *HortScience*, 15. 509-510.
- Yepes, L. M.-Aldwinckle, H. S. (1994): Micropropagation of thirteen *Malus* cultivars and rootstocks, and effect of antibiotics on proliferation. *Plant Growth Regulation*, 15. 55-67.
- Zhou, J.-Wu, H.-Collet, G. F. (1992): Histological study of initiation and development in vitro of adventitious roots in minicuttings of apple rootstock of M 26 and Emla 9. *Physiologia Plantarum*, 84. 433-440.
- Zimmerman, R. H.-Fordham, I. (1985): Simplified method for rooting apple cultivars in vitro. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 110. 34-38.