

Dencső István

Különleges bogyós gyümölcsű növények (fanyarka, mézbogyó, fekete berkenye, som és homoktövis) mikroszaporítása

Dencső, István: Micropropagation of Berry Fruits (Cornus Mas, Hippophae Rhamnoides, Lonicera Caerulea, Amelanchier Alnifolia, And Aronia Melanocarpa)

We resolved the in vitro micro propagation of some berry fruits, especially those which contains more flavonoids, and antioxidants. Shoot tip cultures were established, and the rooting and acclimatization procedures were successfully.

Keywords: plant tissue culture, in vitro propagation, gene preservation, fruit rootstocks

ÖSSZEFOGLALÁS

A általunk vizsgált növények (mézbogyó, fanyarka, fekete berkenye, som és homoktövis) esetében sikerült a teljes mikroszaporítási technológiát kidolgozni, (indítás- felszaporítás-gyökereztetés) így megfelelő módszert tudunk a kutatók és termelők kezébe adni az újonnan nemesített fajták gyors felszaporítására és elterjesztésére.

Kulcsszavak: növényi szövettenyésztés, mikroszaporítás, génmegőrzés, gyümölcscsalányok

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

A flavonoidokban és vitaminokban gazdag különleges bogyós gyümölcsű fajok jelentősége az utóbbi időben megnőtt. Mivel jelentős fajtanemesítés folyik e fajok esetében, fontosnak találtuk az in vitro technikák kidolgozását, egy gyors felszaporítási módszert adva a nemesítők kezébe.

Célkitűzésünk az volt, hogy első lépésként oldjuk meg a fent említett fajok in vitro tenyésztését. Ezeknek a roboráló növényeknek nagyon fontos a szerepük, és mint természetbe vont növényeknél a mikroszaporításnak

gyakorlati jelentősége is van. A hazai, és a külföldi szakirodalomban nem találtunk ezekre a növényekre kidolgozott mikroszaporítási technológiát.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

A kiinduló szaporítóanyagot Kozák Antal rákóczi falvai kertész biztosította számunkra.

2.1. Tenyészetek létrehozása, a mikroszaporítás szakaszai

A 4-5 rügyet tartalmazó ágacskákat november közepén hoztuk be a faiskolából, majd fertőtlenítettük őket a leírt módon. A rügykultúrák fertőtlenítési menete: négyszeres hígítású hypo 5 percre, előtte 30 mp 70 %-os alkoholos oldat, majd 4x5 perces steril vizes kimosás. A fertőtlenítés után mikroszkóp alatt leszedtük a rügpikkelyeket és minden esetben merisztémát (0.1-0.3 mm) helyeztünk el az alaptáptalajra. Az alkalmazott alaptáptalajok MS, (Murashige-Skoog, 1962) és DCR (Gupta – Durzan, 1985) A tenyészeteket fényszobában tartottuk, 23 fokon, 16 órás megvilágítás, és 8 órás sötét periódus mellett. A fertőtlenített és kiperarált rügyek 30-50%-a maradt steril.

3. KISÉRLETI EREDMÉNYEK

1. táblázat: Hajtáscsúcsok eredési mutatói

3.1. Tenyészetek indítása

A kék mézbogyó, fanyarka és fekete berkenye hajtáscsúcsok eredési százaléka DCR+BA 1mg/l+ GA 1 mg/l táptalajon (4x15 hajtás átlaga).

3.2. Tenyészetek felszaporítása

A tenyésztés folyamán kitűnt, hogy egyes bogyós gyümölcsűek más és más táptalajon érzik jól magukat. Egyértelmű volt, hogy a fekete berkenye alacsony BAP-tartalmú táptalajon is nagyszámú oldalhajtást képez, a

2. táblázat: Szaporodási ráta

21 napos tenyésztés után a vizsgált növények tekintetében

Alkalmazott táptalaj DCR+BA 0.5mg/l+GA 1mg/l	Szaporodási ráta
Mézbogyó	3,2
Fanyarka	2,1
Fekete berkenye	6,2

fanyarka és a mézbogyó több növekedési hormont igényel. Az indító táptalaj 1 mg/l BAP tartalma egy kicsit soknak tűnt, (a növények alacsonyak és egy kicsit üvegesek voltak), ezért először kipróbáltuk a DCR+ BA0.5 mg/l+GA 1 mg/l sokszorosított táptalaj variációt, ezen a következő szaporodási rátákat kaptuk.

1. kép:

Fekete berkenye szaporodása



2. kép:

Fanyarka szaporodása



3. kép:

Mézbogyó szaporodása



Alkalmazott táptalaj DCR+BA+GA	Eredési százalék (%)
Mézbogyó	86
Fanyarka	71
Fekete berkenye	92

A kék mézbogyó, fanyarka és fekete berkenye hajtások szaporodási rátája 21 napos tenyésztés után alacsony BA tartalmú táptalajon /0.5 mg/l/ (4x15 hajtás átlaga)

A szaporodó növényeket az 1-3. képen látjuk.

3.3. Tenyészetek gyökereztetése

A gyökereztetést a fekete berkenyénél kezdtük, itt állt rendelkezésünkre a legnagyobb számú növényanyag. Mivel a DCR megfelelő táptalaj volt, az első kísérletünkben a DCR+ 0.5 mg/l IVS tartalmú táptalajt próbáltuk ki, amely már az első próbálkozásunkkor megfelelő gyökeresedési arányt eredményezett.

A fekete berkenye hajtások gyökeresedési aránya 21 napos tenyésztés után különböző táptalajokon (4x15 hajtás átlaga).

3. táblázat: A fekete berkenye hajtások gyökeresedési aránya különböző táptalajokon

Alkalmazott táptalaj	Gyökeresedési arány %-ban
DCR + IVS 0.5 mg/l	78
DCR+ IVS 0.2 mg/l	70
DCR +IVS 0.5 mg/l + IES 0.5 mg/l	62
DCR +IVS 0.5 g/l+IES 0.5mg/l+AC 0.5gr/l	90

Som (*Cornus mas*) steril kultúra létrehozása

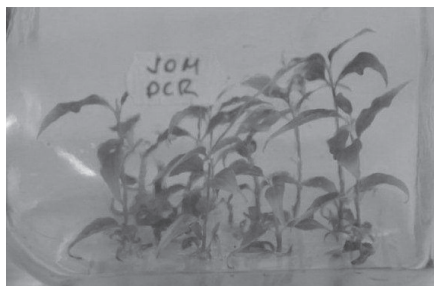
A somnál a rügypikkelyek eltávolítása után a csúcscrügyből és az oldalrügyekből vegyesen preparáltuk ki a merisztémát. Fontos volt, hogy a rügypikkelyek eltávolítása után a merisztémát körbevevő seprűszerű képleteket is eltávolítsuk, mert ezek hajtást gátló anyagot tartalmaznak. A vadsomnál és a fajtáknál is fontos volt ezt a műveletet elvégeznünk. A fertőtlenített rügyek 70%-a steril maradt. Az alaptáptalajokhoz különböző hormonokat adtunk, benzyladenint, illetve gibberellint a nyugalmi állapot megtörésére. Mint az eredményekből kiderült a somnál az alacsonyabb sótartalmú táptalaj vált be (DCR) és az alkalmazott hormonok közül egyedül a gibberellin volt hatásos, citokinin tartalmú táptalajon a merisztémák nem indultak meg, nem fejlődtek hajtássá.

Felszaporítási fázis

A szaporító táptalajt ennek megfelelően választottuk ki, az alaptáptalaj a DCR volt, az alkalmazott hormon a benzylaminopurin 0.2-0.6 mg/l cc.-ban. A kísérletek során kiderült, hogy az alacsonyabb cc. a jó, magasabb BA üvegesedést eredményezett, és ha MS volt az alaptáptalaj a növények kisebbek voltak, nem fejlődtek úgy, mint a DCR táptalajon (4. kép).

4. kép:

Szaporodó és meghosszabbodott som hajtások



Gyökereztetés

A gyökereztetési kísérletek sokáig folytak, a korábban alkalmazott táptalajokon a somot nem sikerült legyökereztetni, pedig a szakmában eddig használt összes gyökereztetési eljárást kipróbáltuk (macro és microelemek felére, háromnegyedére csökkentése, cukor csökkentése 1%-ra, auxinok alkalmazása IVS, IES, NES/0.01-0.5mg/l, aktív szén, pH levitele 4.8-ra), mind eredménytelen volt. (A som dugványról is nehezen gyökeresedik

2012 márciusában Marks, T és Simpson, S (2000) kísérletei alapján új módszert próbáltunk ki. Nevezetesen a gyökereztetésre letett növényeket 3 csoportba osztottuk, úgymint a gyökereztetésre letett osztódó növény főhajtásának felső 2-2.5 cm-es része, a levágott főhajtás alsó része, a

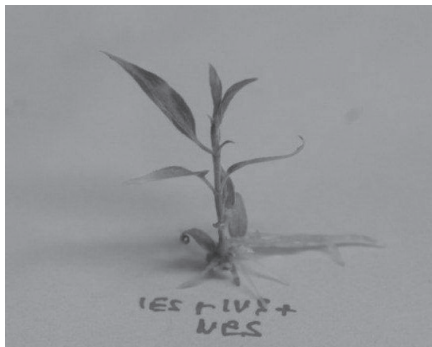
4. táblázat: Somhajtások gyökerezése
/letett növények százalékában az inkubáció 28.napján

Hormon típusa mg/l	Főhajtás felső része	Főhajtás alsó része	Oldalhajtás
10 mg/l NES	0	75	25
10 mg/l IVS	37	23	63
NES+IES+IVS3+3+3	20	30	60

harmadik csoportba az oldalhajtásokat tettük le gyökereztető táptalajra. Három különböző gyökereztető táptalajt használtunk, a 10mg/l NES, b.10mg/l IVS, ill. c. IVS+IES+NES 3+3+3 mg/l kombinációja. A hormontartalmú táptalajokon 1 héttig voltak a növények, majd hormonmentes DCR alaptáptalajra tettük őket. A gyökereztetést a 28. napon néztük (alaptáptalajra történő áttétel után, 4. számú táblázat, 5. kép). A legyökerezedett somot utána sikeresen akklimatizáltuk (6. kép).

A homoktövis felszaporítását a BTM+0.2mg/l BAP tartalmú táptalajon végeztük, ha növeltük az alkalmazott BAP szintet, vagy alacsonyabb cc.-ju auxinnal egészítettük ki (0.001mg/l NES vagy IVS), vagy alaptáptalajt változtattunk (MS, DCR) a szaporodási ráta lecsökkent, a növények nem fejlődtek.

5. kép: Gyökeres som hajtás



6. kép: Akklimatizált som növény

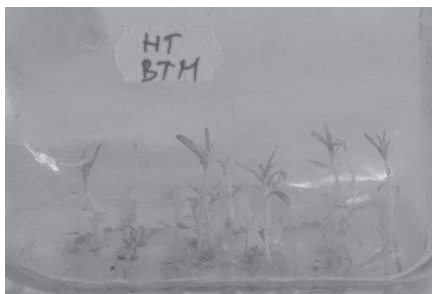


MS tartalmú táptalajon a növények kisebbek voltak, ha megemeltük a BAP szintjét, bármelyik táptalajnál erős kalluszosodás indult meg. A homoktövisnél BTM+0,2 mg/l táptalaj tökéletes a klónok felszaporítására (7. kép).

Gyökereztetés

A homoktövisnél még megoldásra váró probléma a gyökereztetés. A növények annyira érzékenyek hogy AC (aktív szén) illetve 0.5 mg/l IVS-t tartalmazó táptalajon el is haltak a növények, a táptalaj bármilyen megváltoztatására a növények deformálódtak, vagy nem gyökereztek le. A somhoz hasonlóan itt is kipróbáltuk az un. pulse kezelést, vagyis nagy koncentrációjú auxin tartalmú táptalajon tartottuk a növényeket egy hétig. Egy hét után hormonmentes alaptáptalajra tettük vissza őket, és a

7. kép: Szaporodó és meghosszabodott homoktövis hajtások



28. napon értékeltük a gyökerezését. A kezeléseket a következők voltak: a.) BTM+ 10mg/l NES, b.) 10 mg/l IES, c.) NES+IVS+IES 3+3+3 mg/l. Itt csak a fő és oldalhajtásokat tettük le gyökereztetni, a legjobb kezelésnél is csak alig 30%-os gyökerezést értünk el, a kísérleteket folytatni kell. (8. kép)

KÖVETKEZTETÉSEK JAVASLATOK

A gyökereztetés megoldása után lehetővé vált, hogy ezeknél a fontos adaptogén növényeknél a nemesítő által szelektált klónokat gyorsan, rövid idő alatt nagy mennyiségben átadjuk a termesztésnek, ill. a som esetében lehetővé tegyük (mivel dugványról és magról is nehezen szaporítható), hogy nagyobb arányban vonják be a termesztésbe.

8. kép: Gyökeres homoktövis hajtás

