

***In vitro* tenyésztéstartítási tapasztalatok magyar *Prunus mahaleb* klónalanyoknál**

MOSONYI ISTVÁN DÁNIEL¹, TILLYNÉ MÁNDY ANDREA¹, HROTKÓ KÁROLY¹

¹Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék

E-mail: mosonyi.istvan.daniel@kertk.szie.hu

Összefoglalás

A magyar cseresznye- és meggytermesztésben a legnagyobb arányban használt alany a sajmeggy (*Prunus mahaleb* L.). A magas mésztartalmú és kémhatású talajokon, száraz és nagy nyári hőséggel jellemezhető termőhelyeken a sajmeggy alanyok a legalkalmasabbak intenzív ültetvények létesítésére. A hazai sajmeggy klónok hajtásdugványozással történő szaporításának kidolgozása már megtörtént, viszont az új korszerű *in vitro* eljárások jelentősen megkönnyítik az alanyok elterjedését és faiskolai használatát. A sajmeggyek *in vitro* szaporításáról kevés forrás áll rendelkezésre, steril kultúrába vite-
lük és a tenyészetek fenntartása nem könnyű feladat, ez főként a kultúraindításkor történő felületi fertőtlenítésre és a speciális táptalajigényükre vezethető vissza. Munkánk során többféle kiindulási anyagból és többféle módszerrel fertőtlenítettünk növényi anyagokat, és a legjobb hatékonyságot biztosító eljárásnak a növényházban meghajtatott tövekről történő zöld hajtások szedése bizonyult, melyeket aztán 1 percig 70%-os etanolban, 10 percig 6000 ppm-es nátrium-dikloroizocianurát oldatban és 10 percig 1/3-adra hígított háztartási fertőtlenítő-fehérítő szer oldatában sterilizáltunk.

Kulcsszavak: sajmeggy, cseresznyetermesztés, cseresznyealany, mikroszaporítás, *in vitro* szaporítás

Bevezetés és irodalmi áttekintés

A magyar cseresznye- és meggytermesztésben a legnagyobb arányban használt alany a sajmeggy (*Prunus mahaleb* L.) (Hrotkó et al. 2006). Ennek a fajnak a hazája Dél- és Közép-Európa, Kis- és Közép-Ázsia, Marokkó. Magyarországon főként mészkő- és dolomittalajokon, napos, száraz hegyoldalokon, déli lejtőkön, mészkedvelő tölgyesekben, karsztbokorerdőkben gyakori. Kedveli a meleg, száraz, meszes laza talajt (Tóth 2012). A hazai sajmeggy klónok hajtásdugványozással történő szaporításának kidolgozása (Hrotkó 1982) után kezdődött meg gyümölcsstermesztési értéküknek a vizsgálata. Az intenzív ültetvények koronaalakításával kapcsolatos újabb felismerések (Hrotkó et al. 2009a; Hrotkó 2010) alapján magas mésztartalom és pH mellett, száraz és nagy nyári hőséggel jellemezhető termőhelyeken

a sajmeggy alanyok a legalkalmasabbak intenzív ültetvények létesítésére. A 'Bogdány' fajtát egy 50 éves, igen jó termőképességű cseresznyefa alanyának sarjaiból klónoztuk, intenzív orsókoronákhoz előnyös, a nemes fajták elágazódását javítja (Hrotkó et al. 2009a, 2009b; Bujdosó et al. 2019). Az 'Egervár' anyafájának csaknem spur jellegű a hajtásrendszere, alanyként soroksári és érdi kísérleti ültetvényeinkben igen jól szerepelt. A 'Magyar' sajmeggy klónalany a nemes hajtásainak elágazási szögét jelentősen megnöveli, közel derékszögűek, sőt csüngők lesznek leköötözés nélkül (Hrotkó et al. 2009b; Bujdosó et al. 2019). Mindhárom klón szaporítása hajtásdugványozással lehetséges (Hrotkó 1982; Szabó et al. 2014, 2016), viszont az új korszerű in vitro eljárások jelentősen megkönnyítenek az alanyok elterjedését és faiskolai használatát.

A sajmeggy *in vitro* szaporításáról elérhető források száma alacsony. Hedtrich (1977) kallusz indukálással foglalkozott Murashige & Skoog (MS) táptalajon (Murashige és Skoog 1962), nátriumhipoklorittal sterilizált levélkorongokat használva kiindulási anyagként, majd különböző fényforrások mellett nevelte azokat. Gyökérregenerációt igen, de hajtásregenerációt nem sikerült elérnie. Dradi et al. (1996) 11 féle *P. mahaleb* ökotípus *in vitro* szaporításának lehetőségeit vizsgálták. Eredményeik szerint télen szedett vesszők rügyeiből 30-50 nap alatt lehet steril tenyészetet létrehozni, viszonylag egyszerű, 5 perces 70%-os etanolos fertőtlenítés után, 15 naponként történő táptalajcserével, majd Schenk & Hildebrandt (SH) makroelemösszetételű táptalajon (Schenk és Hildebrandt 1972) 0,5 mg/l benzil-adenin, 0,5 mg/l gibberellinsav, 0,01 mg/l naftilecetsav kiegészítéssel 21 napos passzálási ciklusokkal 3 ciklus után 1,5-4,5 közötti szaporodási rátát értek el. Gyökeresítést 0-88%-os hatékonysággal értek el 0,8-3 mg/l tartományú indolvajsav koncentrációkkal, megállapításaik szerint mind a szaporodási, mind a gyökeresedési ráta erősen függött az ökotípustól. Saponari et al. (1999) célja a *P. mahaleb* mikroszaporítási technológiájának optimalizálása volt, ők zöld hajtásokból indítottak tenyészetet Driver & Kuniyuki (DKW) makroelemösszetételű táptalajon (Driver és Kuniyuki 1984), 1 mg/l benzil-adenin kiegészítéssel. A szaporodás szintén ezen a táptalajon volt a legjobb adataik szerint. Hosseinpour et al. (2016) M×M60 (*P. mahaleb* felmenővel rendelkező) alany szaporítottak *in vitro* körülmények között MS, DKW, Quoirin & Lepoivre (QL) (Quoirin és Lepoivre 1977) és egy mandulabarack hibridhez fejlesztett táptalajt vizsgáltak a felszaporítás során, különböző benzil-adenin koncentrációk mellett. Az MS táptalaj hatását kifejezetten rossznak találták a sarjadzás szempontjából, a másik 3 makroelemösszetétel között nem volt akkora különbség. Balla és Mansvelt (2013), Pruski (2007) részletes mikroszaporítási technológiát közölnek barackalanyokhoz és *P. fruticosa* ill. *P. tomentosa* fajokhoz. Bár ezek a taxonok a *P. mahaleb* fajhoz képest eltérő környezeti illetve tápanyagigénnyel rendelkeznek, így a publikált technológiákból a szaporításuk kevésbé releváns, de a fertőtlenítési eljárások ismertetése kiindulási és összehasonlítási alapként szolgáltak számunkra.

Anyag és módszer

2014 és 2019 közötti időszakban 15 alkalommal végeztünk *in vitro* tenyészetindítást *Prunus mahaleb* 'Bogdány', 'Magyar', 'Egervár' fajtáknál és az SM11/4 fajtajelölnél. A steril kultúrábavitelt a fellelhető, viszonylag kisszámú és egymástól jelentősen eltérő módszereket leíró irodalmi adatokra építve kezdtük el, és fokozatosan optimalizáltuk a tényezőit, melyek az indítótáptalaj összetételére (1. táblázat) és az explantátum típusára, valamint a fertőtlenítési eljárás lépéseire (2. táblázat) terjedtek ki.

Eredmények

Az első kultúraindítás (2. táblázat, 1-es indítás) során Dradi et al. (1996) javaslatai alapján SH makroelemösszetételű SH1, SH2, SH3, SH4 elnevezésű táptalajokon (1. táblázat) április végén szabadföldről szedett, zöld hajtásokból vágott 1 nóduszos szegmensekkel dolgoztunk. A táptalajok 2 féle benziladenin koncentrációt tartalmaztak, illetve az antioxidáns hatású kiegészítők jelenlétében is eltértek. A fertőtlenítés etanolos lemosásból és klórtartalmú oldatban történő áztatásból állt, azonban eredménytelen volt, egy explantátum sem lett steril, és a vágásfelületen barnultak is. A következő 3 indítás során (2. táblázat, 2/1, 2/2, 2/3-as számú indítások) ezért a fertőtlenítésben megnövelt expozícióval, koncentrációval és higany(II)-klorid, valamint hidrogén-peroxid oldatok felhasználásával próbáltunk jobb hatékonyságot elérni, de mindössze csak 5-10%-ra sikerült emelni a steril explantátumok számát. A táptalajba adagolt antioxidáns anyagok felhasználása helyett az explantátumokon a metszlapokat steril aszkorbinsav oldatba merítve vágtuk meg. A táptalajösszetétel sem bizonyult megfelelőnek: a sikeresen fertőtlenített növények mindegyike 2 hét után sárgult, 3 hét elteltével pedig elhalt. A következő 3 indítás esetén (2. táblázat, 3/1, 3/2, 3/3-as számú indítások) egyrészt a táptalajok makroelem-összetételét is megváltoztattuk, módosított QL receptúrát használva. A felhasznált QL alapú QM, QMM és Q1 táptalajok (1. táblázat) a hormontartalomban, és antibakteriális hatású malachitzöld jelenlétében tértek még el egymástól. A másik módosítás az explantátumok állapotára vonatkozott: becserepezett és növényházban tavasszal meghajtatott tövekről szedtünk hajtásokat. Az így végzett indításoknál már 93-100% körül alakult a sikeresen fertőtlenített növényi részek aránya higany(II)-klorid felhasználása nélkül is. A metszlapokon a barnulás elvértve volt jelen, annak ellenére, hogy a táptalaj nem tartalmazott antioxidáns anyagokat, és a hajtásdarabok megvágása is levegőn történt. Az explantátumok a hormonmentes QM és QMM táptalajokon 3 hét után pusztulásnak indultak, a hormonokat is tartalmazó, de azonos makroelemösszetételű Q1 táptalajokon viszont 4 hét után csak klorózis jeleit mutatták, de friss táptalajra helyezve életben maradtak. Az így sikeresen elindított steril kultúráknál a táptalaj további optimalizálását végeztük, mert a növények 4 hét után rendre sárgulást, klorotikus tüneteket mutattak, a folyamat pedig a hajtáscsúcs majd a teljes hajtás elhalásához vezet, amennyiben nem helyezzük friss táptalajra a növényt. A QL alapú táptalajok esetében először a citokininek és gibberellinek típusának és mennyiségének megváltoztatásával kísérleteztünk, majd a táptalaj vastartalmát többszöröztük, később pedig a pH-t emeltük. A gibberellinsav (GA₃) 2 mg/l koncentrációra való emelése a hajtások nagyarányú (90%) pusztulását okozta benzil-adenin mellett, viszont kinetin mellett csak 60%-ban (Q5-ös és Q6-os táptalaj, 1. táblázat). A benzil-adenin helyett még thidiazuront alkalmaztunk citokininként 0,1 és 0,2 mg/l koncentrációban, illetve 2-izopentenil-adenint 1 mg/l-es töménységben (Q8, Q9, Q12-es táptalajok, 1. táblázat), de ezek sem segítettek a hajtások 4 hétnél további egészséges, zöld állapotban való megtartásában. A vastartalom megkétszerezése és megnégyszerezése, valamint az 5,6-ról 6,9-re emelt táptalaj pH hatására sem javult a helyzet (Q9, Q10, Q13-as táptalajok, 1. táblázat). Végül a makroelemösszetétel változtatása mellett döntöttünk, a QL helyett a DKW receptúra alapján dolgoztunk. Ezzel a makro- és mikroelemösszetétellel a hajtások már közel kétszer annyi ideig, többnyire 6-8 hétig megtartják zöld állapotukat és csak ezután kezdenek el jelentősebb mértékű klorotikus tüneteket mutatni. A későbbi indítások során ezért a QL makroelemkombináció helyett már a DKW alapú táptalajokat használtuk. A következő 2 indítás során (4/1 és 4/2-es számú, 2. táblázat) az 'Egervár' fajtánál februárban, szabadföldről szedett vesszőket használtunk fel, ezeket 3 napig 24 °C-on vízben tartottuk, majd a megpattant rügyeket leválasztottuk, a rügypikkelyek eltávolítása után pedig kétféle fertőtlenítési

eljárást alkalmaztunk, higany(II)-kloriddal és hidrogén-peroxiddal kiegészítve a klóroldatos és etanolos áztatást. Rendre 95% és 90%-os sterilítási rátát értünk el. A következő két indításnál (5/1 és 5/2, 2. táblázat) a 'Bogdány' fajta szintén vesszőkről származó rügyeit használtunk, és csak egyféle fertőtlenítési eljárásnak vetettük alá a rügyeket, amely megegyezett az előző indításnál alkalmazott hidrogén-peroxidos módszerrel, a két csoport között a különbséget azonban az adta, hogy az egyik esetben eltávolítottuk a rügyikkelyeket, a másik esetben azokkal együtt fertőtlenítettük a rügyeket és helyeztük táptalajra azokat. A rügyikkelyekkel együtt fertőtlenített rügyeknél 0% lett a sterilítási ráta, míg eltávolított rügyikkelyek esetében 84%-os. A rügyekről történő kultúraindítást a 'Magyar' fajta esetében is vizsgáltuk (6-os számú indítás, 2. táblázat), a fentiek alapján a rügyikkelyeket eltávolítva és 10%-os koncentrációjú hidrogén-peroxiddal kiegészítve a fertőtlenítést 74%-os hatékonyságot értünk el. Az utolsó három kultúraindítási kísérlet során zöld hajtásokból egyrügyes darabokat vágunk és helyeztük táptalajra őket, június közepi szedésű (7/1 és 7/2-es indítás) és augusztus végi szedésű növényanyagból. Az augusztus végén szedett beérett hajtásoknál erősebb fertőtlenítési eljárást alkalmaztunk, így megközelítőleg elértük ugyanazt a sterilizálási hatékonyságot, mint a júniusi anyagnál (júniusi: 68 és 74%, augusztusi: 70%), viszont a sikeresen fertőtlenített növényi részeknél a túlélési arány jóval kisebbnek bizonyult: a júniusi explantumoknál 59% volt a 'Magyar' fajtánál, 68% pedig a 'Bogdány' fajtánál, az augusztusi explantumoknál viszont csak 17%-os, és a növekedésnek indult hajtásoknál később endogén bakteriális fertőzöttség jelei mutatkoztak.

Megvitatás

Az alanyként és dísznövényként alkalmazott *Prunus* fajok steril kultúrába vitele során a felületi fertőtlenítést a fellelhető irodalmi forrásokban különböző eljárásokkal oldják meg. Rügyek esetében elegendőnek tartja Pruski (2007) a 0,5%-os hipokloritos áztatást, de jelzi, hogy szárdarabok esetén viszont néhány hónap után bakteriális fertőzés jeleit lehetett felfedezni. Ez a mi munkánk során is előfordult még erőteljesebb fertőtlenítési módszerek esetén is. Muna et al. (1999) mind rügyek, mind hajtások esetében a csapvizet mosás után 8 perces 0,01%-os higany(II)-klorid oldatos fertőtlenítést javasol, majd steril desztillált vizes öblítést. Hosseinpour et al. (2016) hajtások esetén 3 perces 0,1%-os higany(II)-klorid oldatos áztatást ír le. Dradi et al. (1996) a zöld hajtásokat 5 percig áztatta 70%-os etanolban, más kezelést nem alkalmazott. Balla és Mansvelt (2013) 70%-os etanolban 1 percig, majd 0,7%-os hipoklorit oldatban 30 percig tartja a zöld hajtásokat, míg Druart (2013) komplex eljárást javasol, melyben rügyeket tartalmazó vesszőrészeket széles spektrumú fungiciddel kezel hűtőszekrényben, majd 5 percig tömény etanolban áztatja őket, ezután 9%-os klórmész oldatban helyezi azokat 15 percre, majd ezután fejt le a rügyekről a rügyikkelyeket steril fülkében. Hajtások esetében 500 ml-es edényekbe 1 ml tömény formaldehid oldatot cseppent, és a lezárt edényben tartja a növényeket 15 percig a formaldehid gőzben.

A mi fertőtlenítési eljárásunknál zöld hajtások esetén nem szükséges a higany(II)-klorid felhasználása, amennyiben a töveket növényházban hajtjuk meg, és 1 perces 70%-os etanolos lemosás után a klórtartalmú oldatokban történő áztatást kétszer ismétljük (10 perc 6000 ppm nátrium-dikloroizocianurát és 10 perc 1/3-adra hígított Clorox oldat), ekkor 93-100%-os a fertőtlenítés hatékonysága. A kipróbált fertőtlenítési eljárások közül a vizsgált *P. mahaleb* alanyoknál ezt a módszert javasoljuk steril tenyésztés indításához. Saponari et al. (1999) akkor érte el a leghatékonyabb fertőtlenítést, ha növényházban hajtattott tövekről január végén vágott zöld hajtásokat explantátumként való felhasználáshoz. Mi továbbá jó eredményeket értünk el akkor is, ha közvetlenül szabadföldről származó júniusban szedett

hajtásoknál 10 perces 10%-os hidrogén-peroxidos áztatást alkalmaztunk az etanolos lemosás után, de még a klórtartalmú oldatban történő áztatás előtt (68-74%-os hatékonyság). Az augusztusi végi, beérett hajtásokról nem javasolható a kultúraindítás, 70% körüli fertőtlenítési hatékonyságot csak erőteljesebb fertőtlenítési eljárásokkal lehet elérni, de ez ötödére csökkenti az explantátumok túlélési arányát is.

Rügyek felhasználása esetén pedig szintén mellőzhető a higany(II)-klorid használata, 10%-os hidrogén-peroxidral helyettesíthető, a dikloro-izocianurát oldatos és etanolos áztatás mellett. A rügypikkelyek eltávolítását mindenképp el kell végezni tapasztalataink szerint a fertőtlenítés megkezdése előtt, ekkor a fertőtlenítési hatékonyság 74-95% között alakul. Druart (2013) a fertőtlenítés után fejt le a rügypikkelyeket a rügyekről, de ő nyugalmi állapotban lévő rügyeket használ, melyeken a rügypikkelyek még nem pattantak meg. A rügypikkelyek eltávolítása nagy mennyiségű növényanyagnál meglehetősen munkáigényes folyamat, így steril tenyészet indításához akkor javasolt, ha nincs lehetőség aktív növekedésben lévő zöld hajtásokat felhasználni erre a célra.

Jelentős különbségeket tapasztaltunk a növények növekedésében a táptalajok makro- és mikroelemösszetételének függvényében is. Az első kultúraindítások Dradi et al. (1996) javaslatai alapján SH makroelemösszetételű táptalajon történtek, ahol a sikeresen fertőtlenített növények mindegyike elsárgult 2 hét után és aztán elpusztultak. Dradi et al. (1996) 11 féle *Prunus mahaleb* ökotípust vizsgált, és az SH alapú táptalajt 3 hetente cserélte a növények alatt. Eredményei alapján kielégítőnek találta a táptalajok hatását, ezt az általunk vizsgált genotípusok esetében nem mondhatjuk el. A SH táptalajon tapasztalt kedvezőtlen hatás miatt a QL makroelem összetételű táptalajra váltottunk, melyet Quoirin és Lepoivre (1977) kifejezetten *Prunus* fajok regenerációjához fejlesztett. A SH táptalajhoz képest az összesótartalom nem tér el jelentősen a QL táptalajban (QL: 3,28 g/l és SH: 3,18 g/l) de a kalciumionok mennyisége 2,5-szeres a QL-ben, kloridionokat pedig gyakorlatilag nem tartalmaz. Kalciumforrásként a SH táptalaj kalcium-kloridot, míg a QL táptalaj kalcium-nitrátot alkalmaz, a QL-ben a nitrát/ammónium arány 5:1, míg az SH esetén ez 9,5:1, nitrátból közel azonos mennyiséget tartalmaz mindkét formula, ammóniumból a QL-ben kétszeres mennyiség található (Quoirin és Lepoivre 1977, Schenk és Hildebrandt 1972). Hosseinpour et al. (2016) a QL táptalajt is felhasználta M×M60 (*P. mahaleb* hibrid) alany felszaporítása során, a DKW formulához képest nem talált jelentős különbséget 0,7 mg/l benziladenin használata esetén a sarjszám, náduszszám, hajtásmagasság paramétereket tekintve 6 hét elteltével. Klorotikus tünetek megjelenéséről nem számol be, ami nálunk a QL táptalajon az általunk szaporított genotípusoknál rendre megjelent. A DKW táptalajon azonban a növényeink 4 hét után még nem mutattak klorotikus tüneteket. Saponari et al. (1999) szintén a DKW táptalajon ért el jó eredményeket *P. mahaleb* esetén. A DKW táptalajnak jelentősen magas a sótartalma (5479,5 mg/l), a kalcium ionok mennyisége a QL táptalajhoz képest közel háromszoros, a magnézium kétszeres, az ammóniumion több mint háromszoros (Driver és Kuniyuki 1984; Quoirin és Lepoivre 1977). A DKW formula egyaránt tartalmazza a kalciumot klorid és nitrát formában is, a nitrát formából nyolcszor többet. Kalciumhiány okozta *in vitro* hajtáscsúcselhalást *Castanea dentata*, *C. mollissima*, és *C. sativa* fajok esetében is megfigyeltek már, a táptalaj kalciumtartalmának növelésével a probléma kiküszöbölhető (Piagnani et al. 1996; Qiguang et al. 1985), *Lavandula angustifolia* esetében továbbá a hajtáscsúcselhalás mellett a megemelt kalcium koncentráció az *in vitro* hajtások hiperhidratációját is visszazorította (Machado et al. 2014). *Harpagophytum procumbens in vitro* szaporítása során szintén a megemelt kalcium koncentráció segítette elő a hajtáscsúcsnekrozis visszazorítását (Bairu et al. 2009). Nezami et al. (2015) MS alapú táptalajban az eredeti formulához képest háromszoros kalciumkoncentráció mellett tudták minimálisra csökkenteni

a hajtáscúcselhalást *Pistacia* alanyok esetében. A fentiek alapján valószínűsíthető, hogy a DKW táptalaj magasabb kalcium tartalma járul hozzá a hajtáscúcs-elhalás megelőzéséhez, valamint a klorotikus tünetek csökkentéséhez az általunk szaporított *P. mahaleb* genotípusok esetében.

1. táblázat. A kipróbált indító és fenntartó táptalajok összetételei

	Név name	makro macro	mikro micro	vas (mg/l) iron (mg/l)	vitamin
1	SH1	SH	MS	36,7 EDTA	MS
2	SH2	SH	MS	36,7 EDTA	MS
3	SH3	SH	MS	36,7 EDTA	MS
4	SH4	SH	MS	36,7 EDTA	MS
5	QM	QL	MS	96 EDDHA	MS
6	QMM	QL	MS	96 EDDHA	MS
7	Q1/QMH	QL	MS	96 EDDHA	MS
8	Q2	QL	MS	96 EDDHA	MS
9	Q3	QL	MS	96 EDDHA	MS
10	Q4	QL	MS	96 EDDHA	MS
11	Q5	QL	MS	96 EDDHA	MS
12	Q6	QL	MS	96 EDDHA	MS
13	Q7	QL	MS	96 EDDHA	MS
14	Q8	QL	MS	96 EDDHA	MS
15	Q9	QL	MS	96 EDDHA	MS
16	Q10	QL	MS	192 EDDHA	MS
17	Q11	QL	MS	384 EDDHA	MS
18	Q12	QL	MS	96 EDDHA	MS
19	Q13	QL	MS	96 EDDHA	MS
20	D1	DKW	DKW	96 EDDHA	MS
21	D2	DKW	DKW	96 EDDHA	MS
22	D2M	DKW	DKW	96 EDDHA	MS
23	D3	DKW	DKW	96 EDDHA	MS
24	D4	DKW	DKW	96 EDDHA	MS
25	D5	DKW	DKW	96 EDDHA	MS
26	D6	DKW	DKW	96 EDDHA	MS
27	D7	DKW	DKW	96 EDDHA	MS
28	D8	DKW	DKW	96 EDDHA	MS
29	D9	DKW	DKW	96 EDDHA	MS
30	D10	DKW	DKW	96 EDDHA	MS
31	D11	DKW	DKW	96 EDDHA	MS

Jelmagyarázat: SH – Schenk & Hildebrandt, QL – Quoirin & Lepoivre, DKW – Driver & Kuniyuki Walnut, MS – Murashige & Skoog, NES – nafilecetsav (naphthalene acetic acid), IVS – indolvajsav (indole butyric acid), BA – benziladenin, KIN – kinetin, TDZ – thidiazuron, MTOP – metatopolin, BAR – benziladeninribozid, 2-iP – izopenteniladenin, GA3 – gibberellinsav 3, AS – aszkorbinsav (ascorbic acid), CS – citromsav (citric acid), MZ – malachitzöld (malachite green)

Table 1. The composition of the starting and maintenance media

szacharóz (g/l)	agar (g/l)	pH	auxin (mg/l)	citokinin (mg/l)	gibberellin (mg/l)	egyéb others (mg/l)
20	4,5	5,6	0,01 NES	0,5 BA	-	-
20	4,5	5,6	0,01 NES	1 BA	-	-
20	4,5	5,6	0,01 NES	0,5 BA	0,5 GA3	10 AS, 10 CS
20	4,5	5,6	0,01 NES	1 BA	0,5 GA3	10 AS, 10 CS
20	6,5	5,6	-	-	-	-
20	6,5	5,6	-	-	-	1 MZ
20	6,5	5,6	0,005 NES	0,5 BA	0,25 GA3	1 MZ
20	6,5	5,6	0,005 NES	0,5 BA	2 GA3	1 MZ
20	6,5	5,6	0,1 NES	1 BA	0,25 GA3	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	0,75 BA	0,25 GA3	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	0,75 BA	2 GA3	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	1 KIN	2 GA3	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	0,75 BA	-	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	0,1 TDZ	-	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	0,2 TDZ	-	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	0,75 BA	-	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	0,75 BA	-	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	1 2-iP	-	-
20	6,5	6,9	0,1 NES	0,75 BA	-	-
20	6,5	5,6	-	-	-	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	0,75 BA	-	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	0,75 BA	-	1 MZ
20	6,5	5,6	2 IVS	0,25 BA	-	-
20	6,5	5,6	2 IVS	0,25 BA	-	-
20	6,5	5,6	2 IVS	0,5 BA	-	-
20	6,5	5,6	2 IVS	0,75 BA	-	-
20	6,5	5,6	2 IVS	1 BA	-	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	1 KIN	-	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	1 MTOP	-	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	1 BAR	-	-
20	6,5	5,6	0,1 NES	1 BA	-	-

2. táblázat. A kultúraindításnál felhasznált explantátumok és fertőtlenítési eljárások

Sorszám number	Időpont date	fajta cultivar	explantátum explant	darabszám number of pcs	táptalaj media	vegyszeres fertőtlenítés 1 disinfection
1	14.04.28.	Bogdány, Magyar, Egervár, SM11/4	10 cm-es zöld hajtások, 1 nóduszos szegmensekre darabolva	fajtánként és táptalajonként 15 db, összesen 240 db	SH1, SH2, SH3, SH4	1 min 70% EtOH
2/1		Bogdány				1 min 70% EtOH
2/2	14.05.07.	Magyar	szabadföldről 10 cm- es zöld hajtások, 1 nóduszos szegmensekre darabolva 200 mg/l aszorbinsav oldatban	fajtánként és táptalajonként 15 db, összesen 240 db	SH1, SH2, SH3, SH4	1 min 70% EtOH
2/3		Egervár, SM11/4				1 min 70% EtOH
3/1	15.03.25	Bogdány	növényházban	60 db	QM	
3/2	15.04.15	Egervár	hajtatra 10 cm-es zöld hajtások, 1 nóduszos szegmensekre darabolva 200 mg/l aszorbinsav oldatban	36 db	QM és QMM	1 min 70% EtOH
3/3	15.04.30	Magyar		36 db	QMH	
4/1			szabadföldről szedett vesszők 24°C-on vízben tartva 3 napig, a rügyek leszedve, rügypikkelyek eltávolítva	88 db (39 korábbi rügy + 49 fejlettebb rügy) 87 db (39 korábbi rügy + 48 db fejlettebb)	D2M	0,5 min 70% EtOH
4/2	18.02.14.	Egervár				

vegyszeres fertőtlenítés 2 disinfection	vegyszeres fertőtlenítés 3 disinfection	öblítés rinsing	fertőtlenítés eredménye, result of disinfection	regeneráció eredménye, result of regeneration
20 min 5000 ppm NaDCC + Tween 80	-	3x steril DV	az explantátumok vágásfelülete erőteljesen barnult, az összes explantátum mellett fertőzés jelent meg	-
60 min 6000 ppm NaDCC + Tween 80	-	1 min 10% klórmész	5% steril, 95% bakteriális fertőzés	
20 min 6000 ppm NaDCC + Tween 80	20 min 0,1% HgCl ₂	1 min 10% klórmész	10% steril, 90% bakteriális fertőzés	a steril explantátumok mindegyike 2 hét után elsárgult, és 3 hét után elpusztult
20 min 6000 ppm NaDCC + Tween 80	20 min 0,1% HgCl ₂	1 min 3% H ₂ O ₂	10% steril, 90% bakteriális fertőzés	
			93% steril	3 hét után pusztulnak
10 min 6000 ppm NaDCC + Tween 80	10 min 1/3-adra hígított Clorox + Tween 80	3x steril DV	100% steril	3 hét után pusztulnak
			94% steril	4 hét után sárgulás/klorózis, de friss táptalajon életben maradnak
10 min 0,1% HgCl ₂	10 min 5000 ppm NaDCC + Tween 20	3x steril DV	95%-os sterilitás	92%-os túlélés a steril explantumoknál
10 min 10% H ₂ O ₂			90%-os sterilitás	97%-os túlélés a steril explantumoknál

Sorszám number	Időpont date	fajta cultivar	explantátum explant	darabszám number of pcs	táptalaj media	vegyszeres fertőtlenítés 1 disinfection
5/1	18.04.06.	Bogdány	szabadföldről szedett vesszők rügyei leszedve, rügypikkelyek eltávolítva	25 db	D2M	0,5 min 70% EtOH
5/2			szabadföldről szedett vesszők rügyei leszedve, rügypikkelyek meghagyva	25 db		
6	18.04.13	Magyar	szabadföldről szedett vesszők rügyei leszedve, rügypikkelyek eltávolítva	38 db	D2M	0,5 min 70% EtOH
7/1	18.06.19.	Magyar	szabadföldről 10 cm- es zöld hajtások, 1 nóduszos szegmensekre darabolva	50 db	D2M	0,5 min 70% EtOH
7/2		Bogdány		50 db	D2M	0,5 min 70% EtOH
8	18.08.29.	Bogdány	szabadföldről szedett bérett hajtások 1 nóduszos szegmensekre darabolva	50 db	D2M	0,5 min 70% EtOH

Table 2. Explant types and methods of sterilization used during culture initiation

A sajmegyek *in vitro* szaporításáról kevés forrás áll rendelkezésre, steril kultúrába vitelük és a tenyészetek fenntartása nem könnyű feladat, ez főként a kultúraindításkor történő felületi fertőtlenítésre és a speciális táptalajigényükre vezethető vissza. Munkánk során többféle kiindulási anyagból és többféle módszerrel fertőtlenítettünk növényi anyagokat, és sikerült megfelelő hatékonyságot biztosító

vegyszeres fertőtlenítés 2 disinfection	vegyszeres fertőtlenítés 3 disinfection	öblítés rinsing	fertőtlenítés eredménye, result of disinfection	regeneráció eredménye, result of regeneration
10 min 10% H ₂ O ₂	10 min 5000 ppm NaDCC + Tween 20	3x steril DV	84%-os sterilitás	72%-os túlélés a steril explantumoknál
			0 % sterilitás, mindegyik bepenészesedett	-
10 min 10% H ₂ O ₂	10 min 5000 ppm NaDCC + Tween 20	3x steril DV	74%-os sterilitás	89%-os túlélés a steril explantumoknál
10 min 10% H ₂ O ₂	10 min 5000 ppm NaDCC + Tween 20	3x steril DV	68%-os sterilitás	59%-os túlélés a steril explantumoknál
10 min 10% H ₂ O ₂	10 min 5000 ppm NaDCC + Tween 20	3x steril DV	74%-os sterilitás	68%-os túlélés a steril explantumoknál, de 0% regeneráció
20 min 10% H ₂ O ₂	30 min 5000 ppm NaDCC + Tween 20	3x steril DV	70%-os sterilitás	17%-os túlélés a steril explantumoknál, 11%-ban regeneráltak hajtást, de baktériumos fertőzés jeleit mutatják 2 hónappal később

eljárást találunk a kultúrábavitelhez. A sikeresen elindított tenyészeteknél a fenntartáshoz és *in vitro* szaporításhoz elkezdjük a táptalajösszetétel optimalizálását, melynél egyrészt a makroelemkompozíció változtatása javított a helyzeten, másrészt a citokininek típusának és mennyiségének vizsgálatával folynak jelenleg is kísérleteink.

Irodalomjegyzék

1. Bairu, M.W., Jain, N., Stirk, W.A., Doležal, K. and Van Staden, J. 2009. Solving the problem of shoot-tip necrosis in *Harpagophytum procumbens* by changing the cytokinin types, calcium and boron concentrations in the medium. *South African Journal of Botany*, 75(1): 122-127.
2. Balla, I. and Mansvelt, L. 2013. Micropropagation of peach rootstocks and cultivars. In: Lambardi M. and Ozudogru, E.A., Jain, M.S. 2013. Protocols for micropropagation of selected economically-important horticultural plants. *Methods in Molecular Biology*, 994: 137-148.
3. Dradi, G., Vito, G. and Standardi, A. 1996. *In vitro* mass propagation of eleven *Prunus mahaleb* ecotypes. *Acta Hort.* 410: 477-484.
4. Driver, J.A. and Kuniyuki, A.H. 1984. *In vitro* propagation of paradox walnut rootstock. *Hort. Science*, 19(4): 507-509.
5. Druart, P. 2013. Micropropagation of *Prunus* species relevant to cherry fruit production. In: Lambardi, M., Ozudogru, E.A. and Jain, M.S. 2013. Protocols for micropropagation of selected economically-important horticultural plants, *Methods in Molecular Biology*, 994: 119-136.
6. Hedtrich, C.M. 1977. Differentiation of cultivated leaf discs of *Prunus mahaleb*. *Acta Hort.* 78: 177-184.
7. Hosseinpour, B., Bouzari, N., Didar, Z., Masoumian, M., Ghaemmaghami, S.A., Ebrahimi, A., Mirabbasi, S.M. and Farvardin, A. 2016. High frequency *in vitro* propagation of M×M60, a cherry rootstock: the effects of culture media and growth regulators. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 4(2):28-36.
8. Hrotkó K. 1982. Sajmeggy alanyklónok szaporítása zölldugványozással. *Kertgazdaság*, 4:45-50.
9. Hrotkó, K. 2010. Intensive Cherry Orchard Systems and Rootstocks from Hungary. *Compact Fruit Tree*, 43(1): 5-10.
10. Hrotkó, K., Magyar, L., Hoffmann, S. and Gyeviki, M. 2009a. Rootstock evaluation in intensive sweet cherry (*Prunus avium* L.) orchard. *International Journal of Horticultural Science*, 15(3): 7-12.
11. Hrotkó K., Nagy Á. és Csigai K. 2006. A gyümölcsfajták és alanyok szaporítása a magyar faiskolákban. II. Cseresznye, meggy és szilva. *Kertgazdaság*, 38(3): 16-24.
12. Hrotkó K., Sebők I., Magyar L. és Gyeviki M. 2009b. Sajmeggy klónalanyok szelekciója és értékelése. *Kertgazdaság*, 41(4): 57-65.
13. Machado, M.P., da Silva, A.L.L., Biasi, L.A., Deschamps, C., Filho, J.C.B. and Zanette, F. 2014. Influence of calcium content of tissue on hyperhydricity and shoot-tip necrosis of *in vitro* regenerated shoots of *Lavandula angustifolia* Mill.. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57(5): 636-643.
14. Muna, A., Ahmad, A.K., Mahmoud, K. and Abdul-Rahman, K. 1999. *In vitro* propagation of a semi-dwarfing cherry rootstock. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 59(3): 203-208.
15. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3): 473-497.
16. Nezami, S.R., Yadollahi, A., Hokmabadi, H. and Eftekhari, M. 2015. Control of shoot tip necrosis and plant death during *in vitro* multiplication of pistachio rootstock UCB1 (*Pistacia integrima* × *P. atlantica*). *Journal of Nuts*, 6(1): 27-35.
17. Piagnani, C., Zocchi, G. and Mignani, I. 1996. Influence of Ca²⁺ and 6-benzyladenine on chestnut (*Castanea sativa* Mill.) *in vitro* shoot-tip necrosis. *Plant Sci.* 118: 89-95.
18. Pruski, K. 2007. Tissue culture propagation of mongolian cherry (*Prunus fruticosa* L.) and Nanking cherry (*Prunus tomentosa* L.). In: Jain, S.M. és Häggman, H. 2007. Protocols for micropropagation of woody trees and fruits, 391-407. Springer, Netherlands, Dordrecht.
19. Qiguang, Q., Read, P.E., Fellman, C.D. and Hosier, M.A. 1985. Effect of medium constituents and rooting regime on *in vitro* culture of *Castanea mollissima* and *C. dentata*. *HortSci.* 20: 593.
20. Quoirin, M. and Lepoivre, P. 1977. Improved media for *in vitro* culture of *Prunus* sp.. *Acta Hort.* 78: 437-442.

21. Saponari, M., Bottalico, G. and Savino, G. 1999. *In vitro* propagation of *Prunus mahaleb* and its sanitation from Prune dwarf virus. *Advances in Horticultural Science*, 13: 56-60.
22. Schenk, R.U. and Hildebrandt, A.C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can. J. Bot.* 50: 199-204.
23. Szabó, V., Németh, Zs., Sárvári, A., Végvári, Gy. and Hrotkó, K. 2014. Effects of Biostimulator and Leaf Fertilizers on *Prunus mahaleb* L. Stockplants and their Cuttings. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 13(6): 113-125.
24. Szabó, V., Magyar, L. and Hrotkó, K. 2016. Effect of Leaf Spray Treatments on Rooting and Quality of *Prunus mahaleb* L. Cuttings. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 15(1): 77-87.
25. Tóth I. 2012. Lomblevelű díszfák, díszcserjék kézikönyve. Tarkavirág Kereskedelmi és Szolgáltató Kft., Dunaharaszti.

***In vitro* culture starting with Hungarian *Prunus mahaleb* rootstock clones**

MOSONYI, I.D.¹, TILLY-MÁNDY, A.¹, HROTKÓ, K.¹

¹Szent István University, Faculty of Horticultural Science,
Department of Floriculture and Dendrology

E-mail: mosonyi.istvan.daniel@kert.szie.hu

Summary

The most widely used rootstock in Hungarian cherry cultivation is the mahaleb cherry (*Prunus mahaleb* L.). In areas with high lime content and soil pH, dry and high summer heat, mahaleb cherry rootstocks are the best suited for intensive plantations. Hungarian selection of mahaleb cherry clones can be propagated with shoot cuttings, however, new state-of-the-art *in vitro* methods would greatly facilitate the spread and nursery use of these rootstocks. There are very limited sources available of the *in vitro* propagation of mahaleb cherry, their introduction into sterile culture and the maintenance of these cultures is not an easy task, mainly due to surface disinfection at the start of culture and their specific media requirements. During our work we disinfected plant materials from various starting materials and by various methods and succeeded in finding a method for the efficient introduction of the mahaleb cherry into sterile culture. According to our results, it is recommended to force the plants in greenhouse to earn green shoots suitable for explants which should be sterilized with 70% ethanol for 1 minute, 6000 ppm sodium-dichloroisocyanurate for 10 minutes and 1/3 diluted household bleach for 10 minutes.

Keywords: mahaleb cherry, cherry production, cherry rootstock, micropropagation, *in vitro* propagation

Szerzők:

Mosonyi István Dániel (kapcsolattartó szerző) – PhD, egyetemi adjunktus, Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Dísnövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék, Budapest, 1118 Villányi út 29-43.

Tillyné Mándy Andrea – CSc, egyetemi docens, Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Dísnövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék, Budapest, 1118 Villányi út 29-43.

Hrotkó Károly – DSc, egyetemi tanár, Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Dísnövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék, Budapest, 1118 Villányi út 29-43.