

## KÍSÉRLET MAMMUTFENYŐNEK IN VITRO MIKROSZAPORÍTÁSÁRA

DR. DENCSŐ ISTVÁN

A mammutfenyőnek (*Sequoia sempervirens*) bár Magyarországon kisebb a jelentősége, egyike a három, legmagasabbra növő fának (*Eucalyptus*, *Sequoia*, *Pseudotsuga*). In vitro mikroszaporítását 1979-ben dolgozták ki a franciaországi AFOCEL intézetben. Bár a Rákóczi Mgtsz szövettenyésztési laboratóriuma dísznövényekkel foglalkozik — gerbera, szegfű —, az utóbbi időben lehetőség nyílt egyes fenyőfélék szövettenyésztésével foglalkozni. Mivel a *Sequoia* mikroszaporítása már félipari-ipari szintű, megpróbáltuk reprodukálni a külföldi eredményeket.

Mammutfenyő (*Sequoia sempervirens*) 10—20 mm-es fiatal hajtáscsúcsait sterilizáltuk 0,1%-os  $HgCl_2$ -ben 8 percig. Tween—80 hozzáadásával, majd  $3 \times 5$  perces steril deszt. vizes lemosás következett. A lefertőtlenített hajtáscsúcsokat a Boulay által leírt, ún. 1. sz. táptalajra tettük le. Ennek összetétele: MS makro, MS mikro, inozit 100 mg/l, adenin 80 mg/l, kinetin 2 mg/l, IES 2 mg/l, szaharóz 30 g, Difco—Bacto agar 6 g/l.

A klímazobában a hőmérséklet 22—25 °C között ingadozott, a megvilágítás 3000 lux volt, 8<sup>h</sup>-s sötét periódussal. A növényeket zsugorfóliával lefedett, 100 ml-es Erlenmayer-lombikokban tenyésztettük. Mivel kevés kiinduló explanttal rendelkezünk, előbb ezen az 1. sz. táptalajon szaporítottuk fel a növényeket, mintegy 4—5 passzási perióduson keresztül, majd miután kb. 100 növényrel rendelkezünk, kezdtük el a táptalajkísérleteket. A mikroszaporítás teljes folyamatát a Boulay által alkalmazott módszer szerint folytattuk (újraszaporítás, majd a kapott oldalhajtások közül a főhajtás, ill. az 1—1,5 cm-es hajtások szaporítóra, az ennél kisebbek aktív szövetet tartalmazó táptalajra kerültek, hogy meghosszabbodjanak). A kísérlet 1984 júliusától 1985 márciusáig tartott.

### A kultúra indítása

Mivel a fenyőfélék in vitro szaporításánál a sterilizáláshoz általánosan használt  $CaOCl$  nem állt rendelkezésünkre, kénytelenek voltunk a jóval nehezebben kimosható higanyt használni. Ez bevált, így később nemcsak a *Sequoiá*-nál, hanem a *Picea abies* és *pungens* rügyeinek fertőtlenítésénél is ezt használtuk, 0,1—0,2%-os cc-ben. Fenyőféléknél megfigyeltük, hogy minél idősebb az anyanövény, melyről a kiinduló explantot szedjük, ill. minél rejtettebb helyen van, pl. dormans rügy kipreparálása, annál sikeresebben használhatjuk a higanyt a  $NaOCl$ -lel szemben. Esetünkben a lefertőtlenített 12 db hajtáscsúcsból hét nem fertőződött be, és a hétből négy már az első letétellel reagált, vagyis oldalhajtást hozott. Mivel csak egyféle származású kiinduló anyagból dolgoztunk, a kiinduló anyanövény kora, ill. a megindulás aránya és a szaporodási ráta közötti összefüggést nem tudtuk vizsgálni.

### Felszaporítási folyamat

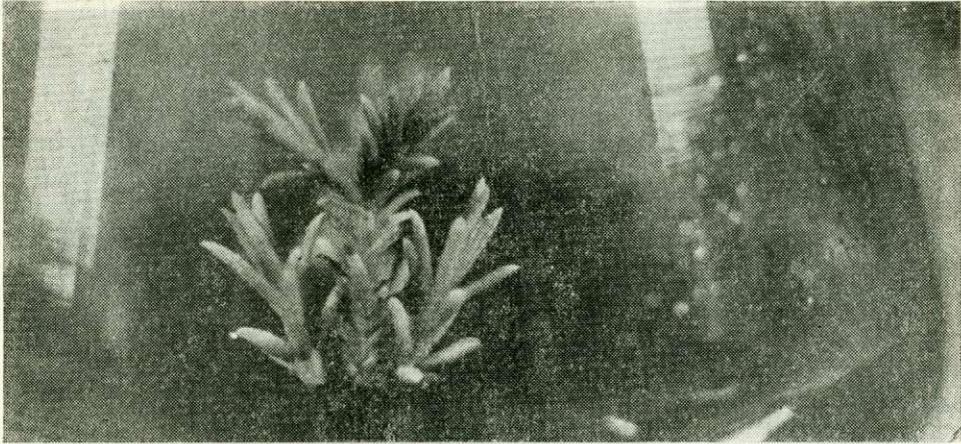
A felszaporítási fázisban először Boulay által javasolt KIN 2 mg/l + IES 2 mg/l hormontartalmú táptalajjal dolgoztunk. Az első négy passzálási periódusban a növénytörzsek száma a következőképpen alakult: 4—10—27—64. Az átlagos szaporodási ráta tehát 2,5—2,8 között mozgott. Ekkor még minden egyes képződött oldalhajtást szaporítórára tettünk. Az oldalhajtás képzés hajtásonként jelentősen különbözött, volt olyan növény, amely kilenc oldalhajtást képzett, volt amelyik egyet sem. Megfigyeléseink szerint 2 mg/l *kinetin* és IES-t tartalmazó táptalajon sok apró, enyhén torz oldalhajtás képződött, ezért a hormonmennyiséget lecsökkentettük 1 mg/l *kinetinre* és 1 mg/l IES-re. Ez azt eredményezte, hogy az alapnál, ill. a főhajtás egész tengelyén képződött hajtások hosszabbak, életképesebbek lettek. Az 1. fényképen az oldalhajtás-képződés módjait, ill. helyeit mutatom be. Boulayhez hasonlóan mi is két típust tudtunk elkülöníteni, de ezek egy növényen egyszerre is jelentkezhetnek, mint ahogyan a fényképen is látjuk. Az egyik, amikor az alapnál lévő járulékos rügyből indul ki az oldalhajtás, ortotróp növekedésű, a másik, amikor a főhajtáson lévő axilláris rügyből indul ki egy kis „ágacska”, a főhajtás elágazását eredményezve, plagiotróp növekedésű. Az optimális passzálási periódus 21—24 nap volt, ezután a növények kalluszosodni kezdtek, ill. nekrotikussá váltak. 1984 novemberében megnéztük mindkét szaporító táptalajon a szaporodási rátát, ill. az oldalhajtást hozó növények számát, 1985 márciusában pedig a folyamatosan 1 mg/l hormontartalmú táptalajon vizsgáltuk meg ugyanezt. Az eredményeket a táblázat tartalmazza:

Alkalmazott hormonszint	Letett növény (db)	Oldalhajtást hozott	Összes növény	Átlag szap. ráta
KIN 2 mg/l + + IES 2 mg/l	50	28	123	2,46
KIN 1 mg/l + + IES 1 mg/l (a)	50	30	128	2,56
KIN 1 mg/l + + IES 1 mg/l (b)	50	23	106	2,01

a — 1984. nov.; b — 1985. márc.

A táblázatból látható, hogy a téli és tavaszi átlag szaporodási ráta között nincs jelentős különbség, és az oldalhajtást hozó növények aránya is 40—60% között ingadozik. Bár eredményeink hasonlóak Boulay eredményeihez, mivel azonban csak egy kísérlet volt és egyfajta anyag, ebből messzemenő következtetéseket nem vontunk le. Ezenkívül jelentős szóródás is volt, pl. a tavaszi vizsgálatnál az értékelt 50 növény oldalhajtásképzése a következőképpen alakult: 10—25, 10—18, 10—29, 10—19, 10—15.

Az átlag szaporodási ráta tehát 2—2,5 között mozgott, de ha az oldalhajtást hozó növények számához viszonyítjuk az összes növénytörzset, akkor a szaporodási ráták már négy felett vannak. A növényeket későbbiekben már végig a csökkentett hormontartalmú táptalajon tenyésztettük, mert a képződött oldalhajtások vigora jobb volt, átlaghosszúságuk 0,8—1,2 cm között mozgott, így nagyobb arányban lehetett mind szaporítórára, mind a meghosszabbító táp-



1. kép. Az oldalhajtás képződés

talajra tenni őket. Régebbi szakirodalmak, *Ball* (1978), *Boulay* (1978) alapján kipróbáltunk más hormontartalmú táptalajokat is. A következő kezeléseket alkalmaztuk: *BAP* (*benzylaminopurin*) 1 mg/l + *IES* 1 mg/l, ill. *BAP* 2 mg/l + *IES* 1 mg/l. Ezt mintegy három passzási perióduson keresztül folytattuk, hogy pontosabb eredményt kapjunk. Azt, hogy az előző táptalajból felvett hormonok még 1—2 inkubációs perióduson keresztül hatnak, tapasztalhatuk az aktív-szenes kísérleteknél. Az 1 mg/l *BAP*-t tartalmazó táptalajon 50 növényből 27 hozott oldalhajtást, összesen 65 növényt (alig 1,3 a szaporodási arány), a 2 mg/l *BAP*-t tartalmazó táptalajon az 50 növényből négy hozott oldalhajtást, összesen 55 növényt. Itt tehát teljesen leállt az oldalhajtásképződés, ezenkívül a képződött oldalhajtások zöme alig 1—3 mm-es megduzzadt rügy volt. Oldalhajtásnak a kísérletek folyamán egyébként a 0,5 cm-nél nagyobb hajtásokat vettük. A *BAP* alkalmazásakor az alap rendkívül megduzzadt, a főhajtás erősen megnyúlt. A *BAP* a kísérleteinkben nem volt alkalmas a *Sequoia* mikroszaporítására.

#### Meghosszabbítás

*Boulay* módszerének megfelelően, a képződött 1 cm-nél kisebb oldalhajtásokat az ún. 2. sz. táptalajra tettük. Ez annyiban különbözik az 1. számútól, hogy félerős *MS*-t tartalmaz, nincsenek benne hormonok és *adenin*, ehelyett 2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> aktív szénen tartalmaz. Később ez utóbbit lecsökkenttük 0,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-ra, így lágyabb gél kaptunk.

Az első inkubációs periódusban az aktív szenes táptalajra tett 30 növény közül 13 hozott újabb oldalhajtásokat, mindösszesen 45 növényt eredményezve, ugyanezt a 45 növényt újból aktív szenes táptalajra tettük le, még ekkor is folyt kisebb mértékű oldalhajtásképzés — három növény képzett oldalhajtást — és majd csak a harmadik áttételnél állt le teljesen a szaporodás. A harmadik passzáls után megmértük 10 növény átlagmagasságát, ez 3,5 cm volt.

Kipróbáltunk más táptalajokat is a növények meghosszabbítására, de sem a félerős *MS* aktív szén nélkül, sem a teljes *MS-ammóniumnitrát* + aktív szén nem volt alkalmas a növények meghosszabbítására. Nem volt eredményes, ha *MS* helyett *SH* (*Schenk-Hildebrand*) közeget használtunk. A *Boulay*



2. kép Fenyők a szaporítóanyagban

által alkalmazott félerős MS + 0,5 aktív szén tartalmú táptalajon nemcsak megnyugszik a növény a hormonok után, hanem spontán módon gyökeresedés is megfigyelhető. Kedvezőbb hatást értünk el mind a szaporító, mind a meghosszabítási fázisban, ha a táptalajba beletettük az MS-vitaminokat is, bár ezek alkalmazása nem szükségszerű. A 2. fényképen szaporító táptalajon látjuk a fenyőket, de már 100 ml-es befőttes üvegben, ezekben lehetséges már a nagymértékű felszaporítás is. Gyökeresedés spontán módon is bekövetkezik — ezt a duglásznál is tapasztaltam — de eredményesebb, ha a hagyományos kertészeti gyökereztetési módszert használjuk. (24<sup>h</sup>-ás áztatás 0,001—0,004 ezrelékes indolvajsavban, majd kiültetés tőzeg:perlit = 3:1 arányú keverékébe.)

### Összefoglalás

A Boulay által leírt táptalaj kisebb módosításokkal megfelelőnek bizonyult a *Sequoia sempervirens* mikroszaporítására. A felszaporítási fázisban előnyösebb a hormonokat 1 mg/l koncentrációban alkalmazni, a meghosszabítási szakaszban félerős MS 0,5% aktív szén hozzáadásával életképes, egészséges hajtásokat kapunk, melyeket vagy gyökereztetünk vagy visszatehetjük szaporító táptalajra.

Felhasznált irodalom: Bail, E. et al. (1978): In vitro multiplication of woody species. Round table conference Gembloux jun. 6—8. 1978. Boulay, M. (1978): In vitro multiplication of woody species Round table conference Gembloux. Boulay, M. (1979): Multiplication et clonage rapide de *Sequoia sempervirens* par la culture in vitro AFOCEL 1979. p. 49—56.

---

**A nemesítésben rejlő lehetőségekre** adott meglepő példát a brazil Leopoldo García Brandao az Aracruz Celulosa igazgatója, aki az M. Wallenberg-alapítvány díjának átvétele alkalmával számolt be az eucalyptus genetikai szelekciója és a szaporítás fejlesztése terén elért eredményekről. Az intenzív kutatás a 70-es évek elején kezdődött, s nem egészen egy évtizedes munka révén a tudósok által létesített erdők növekedése kétszerese lett a szokványos brazil fajtáknak. Emellett nőtt a fa rosttartalma és a rost minősége is. A legkiválóbb állomány egyedei egész éven át, naponta 2 cm magassági növekedéssel, 1000 nap alatt elérték a 20 m magasságot.

(World Wood, 1986. január; Ref.: Varga B.)