

Dobránszki Judit

## Citokininek, a növényi *in vitro* fejlődés kulcsregulátorai<sup>1</sup>

### *Citokininek az intakt növényekben és az in vitro kultúrákban*

A növényi hormonok, vagy növekedésszabályozó anyagok kis mennyiségben termelődnek a növényekben és kémiai hírvivőkként a növények életfolyamatait, növekedését és fejlődését szabályozzák.

A növényi hormonok egyik típusát a citokininek alkotják. A citokininek neve a cytokinesis <sejtosztódás><sup>2</sup> szóból ered, mivel elsőként, a heringspermából izolált citokinin, a kinetin a sejtosztódást serkentő hatását mutatták ki (Miller et al., 1955). A citokininek növényekben általában a többi növényi hormonnal kölcsönhatásban fejtik ki hatásukat. Az intakt növényekben a citokininek szintje térben és időben is szabályozott. Adott szerv, szövet citokinin szintje függ a növény fejlettségi állapotától, az adott fejlődési folyamattól és mennyiségét befolyásolják, szabályozzák a környezeti tényezők (pl. megvilágítás) is. Aktuális szintjét tulajdonképpen a bioszintézis, átalakulás és degradáció folyamatai határozzák meg. A citokinin bioszintézis egyik fő helye a gyökércsúcs, de a bioszintézis más szövetekben is általános, így például a kambialis szövetekben, hajtáscsúcsban, fiatal levelekben, érő embrióban. A citokininek egyik forrása a bioszintézisük, de származhatnak a tRNS-ekből is. Lebontásukat (degradáció) enzimikus rendszerek végzik, egyik legismertebb lebontó enzim a citokinin-oxidáz. A növényekben a citokininek különböző szerkezeti formákban fordulnak elő, s a különböző szerkezeti formáknak (szabad bázisok, glükozidok, ribozidok, ribotidok) különböző az aktivitása a fejlődési és növekedési folyamatokban, eltérő a metabolizmusuk és a növényben való transzportjuk. A különböző konjugátumokból való felszabadulás mértéke, az átmenetileg, vagy véglegesen inaktív formák képződése szintén jelentős citokinin szintet szabályozó mechanizmusok (Kakimoto, 2003; Schülling, 2004; Sakikabara, 2006).

*In vitro*<sup>3</sup> növényi kultúrákban a növényi sejtek, szövetek, szervek tenyésztését végezzük steril, kontrollált feltételek között, s a kiindulási explantátumokból (=izolált növényi részek) új szövetek, szervek, vagy növény fejlődését indukál-

---

<sup>1</sup> Az MTA DAB 2017. évi *DAB Plakett díjat* elnyerő kutató előadása.

<sup>2</sup> Citokinezis: A sejtek fizikai kettéválása, amikor a mitózisban a két utódsejt citoplazmái is szétválnak.

<sup>3</sup> *In vitro*: szó szerint: üvegben (latin), azaz mesterséges, kontrollált feltételek mellett, laboratóriumban.

juk. *In vitro* tenyészetekben a növekedési és fejlődési folyamatok szabályozása tehát mesterséges körülmények között történik, a növényi hormonokat és növekedésszabályozó anyagokat a tenyészetek táptalajához adjuk (exogén alkalmazás). Növényi *in vitro* rendszerekben ezért a ható növekedésszabályozó anyagok mennyisége minden esetben az endogén (a tenyésztett növényi részben) jelenlévő és a táptalajba adott (exogén) növekedésszabályozó anyagok eredője. A táptalajba adott növekedésszabályozó anyagok táptalajból való felvétele, és a növényben való transzportja függ a kémiai szerkezetüktől, s így ezek jelentős tényezők a végső soron hatást gyakorolni képes növekedésszabályozó anyag mennyiségének kialakulásában.

A növényi explantátumból kiinduló *in vitro* növekedés és morfogenezis irányát elsősorban a citokininek és az auxinok aránya határozza meg. Nagy auxin:citokinin arány a dugványokon, illetve *in vitro* hajtásokon való gyökérvégképződést, egyszikűekben a kallusziniciációt, illetve a szomatikus embriogenezis 1. fázisát serkenti. A citokinin arány növekedésével a kalluszokból való járulékos gyökérvégképződés, illetve a kétszikűekben való kallusziniciáció folyamatai támogatottak. Magas citokinin:auxin arány a hajtásfejlődést támogatja. Hajtástenyészetek fő regulátorai tehát a citokininek (kombinációban az auxinokkal). *In vitro* tenyészetben a citokininek stimulálják a sejtek osztódását, szükségesek a mitózisban szerepet játszó fehérjék szintéziséhez. Magas citokinin szint mind a szomatikus embriogenezist, mind a gyökérvégképződést és növekedést gátolja, az apikális dominancia csökkentése révén azonban serkenti az axilláris hajtások növekedését és sokszorozódását a hajtástenyészetekben, valamint elősegíti a járulékos hajtások és hajtásrügyek iniciációját (Van Staden et al., 2008).

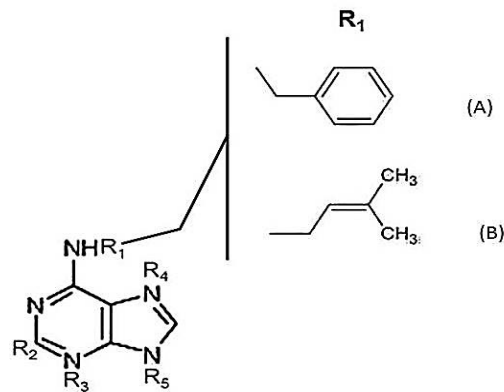
#### ***A citokininek különböző szerkezeti formái, interkonverziójuk, konjugációjuk és hatékonyságuk***

A természetben előforduló citokininek N<sup>6</sup>-pozícióban oldalláncot tartalmazó adenin származékok. Két fő csoportját különböztetjük meg az oldallánc alapszerkezete alapján: az izoprén citokinineket, ha az oldallánc izoprén, vagy izoprenoid szerkezetű (pl. zeatin), és az aromás citokinineket, amikor az oldallánc aromás gyűrűt tartalmaz (pl. kinetin, vagy benzil-adenin) (1. ábra). Szintetikus fenil-urea típusú citokininek, mint például a thidiazuron, vagy a difenil-urea növényi szövettenyészetekben nagyon aktívak, de a természetben nem fordulnak elő.

A bioszintézis, átalakulás és konjugáció, valamint degradáció lépései az izoprenoid citokinineknél jól ismert, részletesen feltárt folyamatok, azonban az aromás citokinineknél kevésbé ismertek. Ez annak ellenére igaz, hogy a növényi növekedésben és fejlődésben az aromás oldalláncú citokininek legalább olyan fontos szerepet töltenek be, mint az izoprenoid oldalláncú citokininek. A növényi szövettenyészetekben elterjedten alkalmazzák az aromás oldalláncú

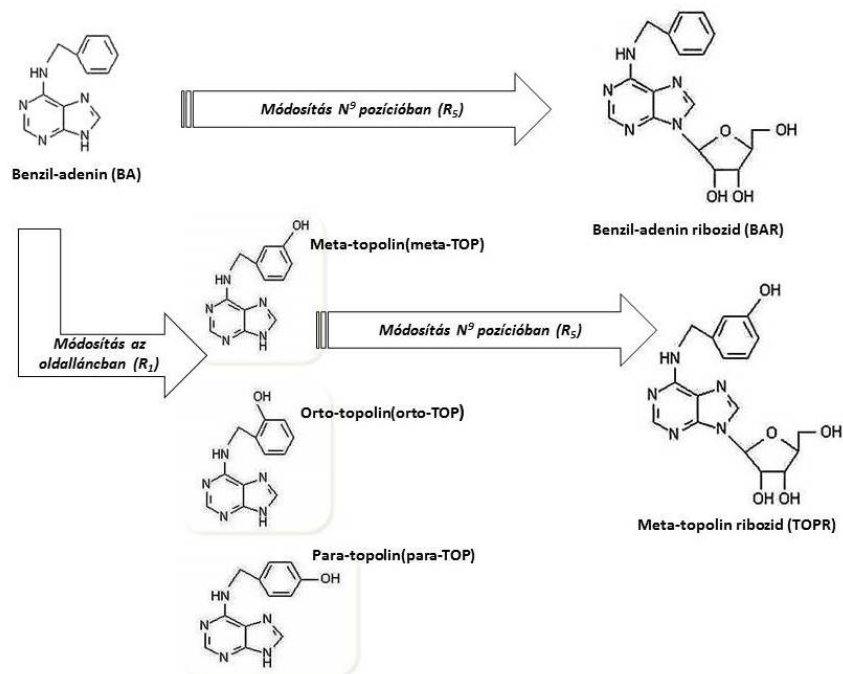
citokinineket nagy hatékonyságuk és stabilitásuk miatt (Strnad et al., 1997). Hatékonyságuk és metabolizmusuk azonban nemcsak az izoprenoid oldalláncú citokininekétől eltérő, hanem a különböző szerkezetű aromás oldalláncú citokininek is különböznek egymástól biokémiájukban, transzportjukban, aktivitásukban és anyagcseréjükben (Strnad et al., 1997, Hwang és Sakakibara, 2006, Aremu et al., 2012, Dobránszki, 2014). Biológiaiilag legaktívabb formájuk a szabad bázis, vagy nukleobázis.

Az aromás oldalláncú citokininek átalakulása (interkonverzió) és konjugációja alapvetően két úton valósulhat meg: módosítás történhet az adenin gyűrűn ( $R_{2-4}$ , 1. ábra), vagy az oldalláncon ( $R_1$ , 1. ábra).



1. ábra. A citokininek alapszerkezete. (A): aromás oldalláncú citokininek, (B): izoprén oldalláncú citokininek.  $R_{1-5}$ : szerkezeti módosítás lehetséges helyei (részletek a szövegben) (Dobránszki, 2014 alapján)

Az adenin gyűrű több pozícióban is módosítható ( $R_{2-4}$ , 1. ábra). Különböző cukrok (pl.: glükóz, ribóz), cukorfoszfátok (pl.: ribóz-foszfát), vagy aminosavak (elsősorban alanin) konjugálódhat az adenin gyűrűhöz. Ezek a módosítások többnyire az aktivitás csökkenésével járnak. Az  $N^1$  pozíció a citokinin reaktív helye, a biológiai aktivitáshoz szabadon kell maradnia. Inaktíválja a citokinint az  $N^2$  ( $R_2$ ) és  $N^3$  ( $R_3$ ) pozíciókban való konjugáció.  $N^2$  pozíció leggyakoribb szubsztituense metil-tiol csoport.  $N^3$  pozícióban való konjugációval létrejövő vegyületek könnyen hidrolizálódnak, ezért ezeket átmeneti tároló formáknak tartják (Matsubara, 1980; Schmölling, 2004). Ha az  $N^9$  pozícióba ( $R_5$ ) ha ribóz, vagy ribóz-foszfát kapcsolódik, aktív formák jönnek létre (2. ábra).



2. ábra. Példák a benzil-adenin (BA) módosítására az oldalláncban és a purin gyűrűn.

Ezek gyakran kisebb aktivitásúak a nukleobázisoknál, de a ribozidok az aromás oldalláncú citokininnek fő transzport formái, könnyen visszaalakulnak bázisokká (Sakakibara, 2006). Ha ebben a pozícióban ribóz, vagy ribóz-foszfát kapcsolódott, az védelmet nyújt egyéb konjugáció, illetve glikolizáció ellen ebben a pozícióban. Ha az  $N^3$ -,  $N^7$ - és  $N^9$ -pozíciók valamelyikénél N-glikolizáció, vagy alanin-konjugáció történik, az a citokinin irreverzibilis, vagy átmeneti inaktivációjához vezet. Mivel az  $N^7$ - és  $N^9$ -konjugátumok nagyon stabilak, ezért ezek a formák biológiailag inaktívak. Azonban, mivel a konjugáció nem teljesen irreverzibilis folyamat, ezek a szerkezeti formák a növényi szövetenyészetekben nem kívánatos mellékhatásokat okozhatnak, amikor a citokinin a konjugátumokból lassan felszabadul (Werbrouck et al., 1996; Schmülling, 2004; Sakakibara, 2006).

Az oldallánc szerkezeti módosulásai szintén szoros kapcsolatban vannak az aromás citokininnek aktivitásával. Az oldalláncban kapcsolódhat hidroxil-, metil-, vagy amino-csoport, vagy kettős kötés jöhet létre a láncban. O-glikolizációval az oldalláncban kapcsolódhat  $\beta$ -D-glükóz, vagy  $\beta$ -D-xilóz, melyek az  $N^3$ -konjugátumok mellett a citokininnek reverzibilis tároló formái (Sakakibara, 2006). Jelentőségüket és aktivitásukat tekintve kiemelkednek az oldalláncban módosult

citokininek közül a benzil-adenin hidroxilált származékai, a topolinok, illetve ezek metoxi-származékai (Werbrouck et al., 1996; Dobránszki et al., 2002, 2005; Sakakibara, 2006, Aremu et al., 2012; Dobránszki, 2014) (2. ábra). A hidroxil csoport pozíciója befolyásolja az aktivitást: legaktívabb a meta-topolin, legkevésbé aktív a para-topolin.

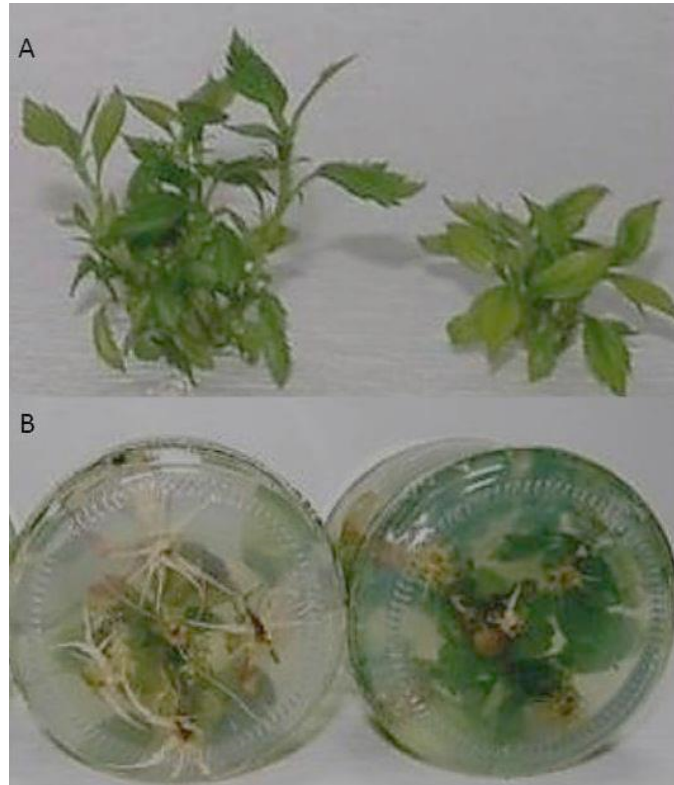
A kinetin (6-furfuril-aminopurin) szintén az aromás oldalláncú citokininek csoportjába sorolható, növényi szövettenyészetekben használt aktív citokinin, de nincs bizonyíték növényekben való természetes előfordulására (Schmülling, 2004; Sakakibara, 2006).

### ***Aromás oldalláncú citokininek szerepe az *in vitro* axilláris és adventív hajtásfejlődésében***

Az *in vitro* szaporítás célja, hogy a lehető legrövidebb idő alatt megfelelő mennyiségű és minőségű *in vitro* növényt állítsunk elő. A megfelelő mennyiség elérése az *in vitro* szaporítás során a hajtássokszorozó szakasz hatékonyságának növelésével, azaz az axilláris, vagy adventív hajtások fejlődésének stimulálásával érhető el. A fejlődő hajtások fiziológiai állapota, azaz minősége meghatározza a következő szakaszok, a gyökeresítés, majd akklimatizálás, s ezáltal az *in vitro* szaporítás sikerét (Dobránszki, 2014).

Alma hajtástenyészetek táptalajában a leggyakrabban benzil-adenint (BA), kinetint (KIN), vagy – főleg a járulékos hajtásregeneráció indukálására – thidiazuront (TDZ) alkalmaztak, mert ezeknek a citokinineknek nagy a stabilitása és hatékonyan képesek a hajtások regenerációját, növekedését és proliferációját indukálni. Azonban a BA, és a TDZ alkalmazásakor – főként, ha nagy koncentrációban alkalmazták a hajtások indukációjára, és a hajtássokszorozódás hatékonyságának növelésére – káros mellékhatásukat, és utóhatásukat is kimutatta több kutatócsoport is. Így például jellemző volt a hajtások hiperhidratációja, a rozetta-típusú hajtásnövekedés, a hajtásécúcsok elhalása, a hajtások korai előregeedése, illetve a hajtások törpenövekedése (3/A ábra). káros utóhatások megfigyelhetők voltak a következő szaporítási ciklusban, illetve a járulékos hajtás-, vagy gyökérregeneráció során is. Jellemző volt a gyökeresedés gátlása (3/B ábra) és az akklimatizáció során a túlélési arány csökkenése (áttekintő tanulmányok: Dobránszki és Teixeira da Silva, 2010; Magyar-Tábori et al., 2010).

Kísérleteinkben a különböző szerkezetű aromás oldalláncú citokininek hatását vizsgáltuk *in vitro* tenyészetben, alma modellnövény több fajtájánál. A vizsgálatokba mind axilláris hajtástenyészeteket, mind járulékos (adventív) hajtástenyészeteket bevontunk. Axilláris tenyészetekben a hajtásfejlődés már meglévő merisztémák indukálásán alapul, míg az adventív hajtástenyészetek esetében a hajtások indukciója szomatikus szövetekből, illetve sejtekből (jelen kísérletekben *in vitro* levélszövetekből) történik.

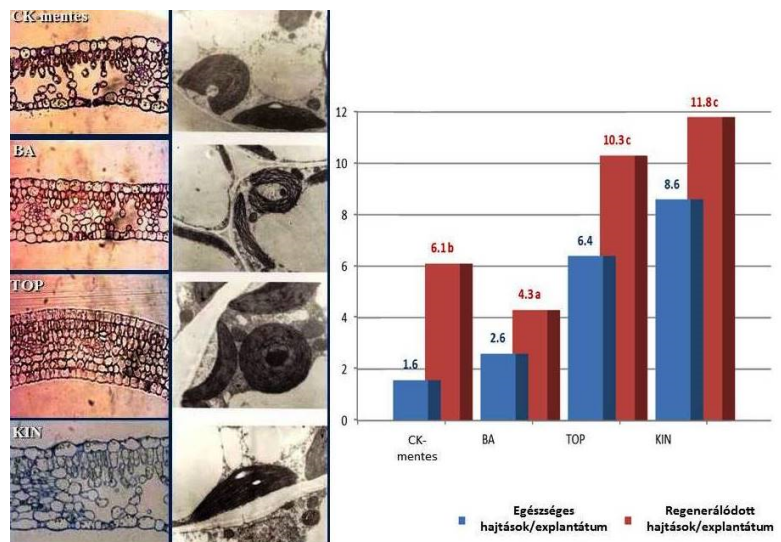


3. ábra. Normál és törpe *in vitro* hajtásfejlődés (A), normál és gátolt *in vitro* gyökeresedés (B) almánál.

Vizsgáltuk a citokininek hatását az axilláris hajtások növekedésére és sokszorozódására, a fejlődő hajtások leveleinek szöveti és ultrastrukturális szerkezetére, valamint a hajtások fotoszintetikus apparátusának funkcionális fejlettségére. A kísérletek másik felében az axilláris hajtások tenyésztésére alkalmazott táptalaj citokinin tartalmának utóhatását tanulmányoztuk a levéllemezekből történő járulékos (adventív) hajtásregenerációra, valamint vizsgáltuk a regenerációs táptalajban alkalmazott különböző szerkezetű aromás oldalláncú citokininek hajtásregenerációra kifejtett közvetlen hatását is. A benzil-adenin (BA) mellett vizsgáltuk a kinetin (KIN) és ribozidja (KINR), illetve a BA származékok, mint benzil-adenin ribozid (BAR), meta-topolin (TOP) és ribozidja (TOPR), valamint néhány kombinált citokinin kezelés (BA+TOP, BA+KIN) hatását széles koncentráció tartományban (Dobránszki et al., 2002, 2005, 2006; Dobránszki, Mender-Drienyovszki, 2014a, 2014b, 2015).

Axilláris hajtástenyészetekben mind a szaporodási ráta, mind a hajtáshossz, valamint a levélfelület is függött az alkalmazott aromás oldalláncú citokinin szerkezetétől, illetve a táptalajban alkalmazott koncentrációjától. A citokininek hatásukat genotípus-függő módon fejtették ki. Royal Gala almafajta esetében a BA alkalmazása a szaporodási rátát 2-3-szorosára emelte a BAR, vagy a TOP alkalmazásához képest, azonban túl rövid (2 cm, vagy rövidebb) hajtások fejlődését eredményezte. Megfelelő hosszúságú hajtások a TOP tartalmú táptalajon fejlődtek. A TOP alkalmazása továbbá elősegítette a levelek fejlődését, a levélfelületet szignifikánsan növelte a BA alkalmazáshoz képest. Húsvéti rozmaring fajtánál a BA+KIN kombinált alkalmazása eredményezte a legmagasabb szaporodási rátát amellet, hogy a hajtások hosszát jelentősen nem csökkentette (Dobránszki et al., 2000; 2002, Magyar-Tábori et al., 2014).

A hajtásokon fejlődő *in vitro* levelek szöveti szerkezete és ultrastruktúrája is jelentősen módosult a táptalaj citokinin tartalmának függvényében (4. ábra).



4. ábra. Citokinin mentes (CK-mentes), benzil-adenint (BA), meta-topolint (TOP), illetve kinitint (KIN) tartalmazó táptalajon fejlődött *in vitro* axilláris hajtások leveleinek szöveti és ultrastruktúrális szerkezete, valamint utóhatása a levéllemezből történő hajtásregeneráció mennyiségére (regenerálódott hajtások száma explantátumonként) és minőségére (regenerálódott egészséges hajtások száma explantátumonként) (Magyar-Tábori et al., 2010 nyomán)

Ez utóhatást gyakorolt a levelekből történő *in vitro* hajtásregenerációra (adventív hajtásfejlődés) (Dobránszki et al., 2005), illetve a hajtások gyökeresedésére. Az adventív hajtásfejlődésre kifejett hatások közül kiemelkedett – fajtától

függően – a TOP, vagy a KIN adventív hajtásregenerációt serkentő, illetve a fejlődő hajtások minőségét javító utóhatása, ha az axilláris tenyészletben egyedül vagy BA-val kombináltan (BA+TOP; BA+KIN) alkalmaztuk azokat. Ezen előkezeléseket követően nemcsak az az összes hajtás száma nőtt szignifikánsan az adventív hajtásregenerációs szakaszban, hanem az egészséges, nem hiperhidratált hajtások aránya is növekedett (kondicionáló hatás). Általában azok a citokinin kezelések voltak eredményesek, melyek fiatal, kevésbé differenciált levélszerkezetet eredményeztek (4. ábra) (Dobránszki et al., 2005; Magyar-Tábori et al., 2010)

Az *in vitro* alma hajtások fontos minőségi paramétere a fotoszintetikus rendszerük fejlettsége, illetve a levelek sztómáinak állapota, hiszen a laboratóriumból kikerülő növények megfelelő fiziológiai fejlettség hiányában elpusztulnak, növelve az akklimatizációs veszteséget, és csökkentve az *in vitro* szaporítás hatékonyságát. A II. fotokémiai rendszer (PSII) maximális kvantumhatékonyság ( $F_v/F_m$ ) értékei 0,683–0,861 között változtak a különböző citokinin kezelésektől függően. Ezek a klorofill fluoreszcencia értékek nagyságrendileg megegyeznek más növényfajoknál szabadföldön mért optimális fluoreszcencia értékekkel (0,79–0,84). Az eredmények jelzik, hogy a 3 hetes *in vitro* alma hajtások fotoszintetikus apparátusa működőképes, de a PSII maximális potenciális hatékonysága ( $F_v/F_m$ ) és fotokémiai folyamatainak maximális hatékonysága ( $F_v/F_0$ ) függ az *in vitro* tenyésztés során a táptalajhoz adott citokininnek típusától és mennyiségétől és az almafajától is. A Royal Gala fajta esetén,  $F_v/F_m$  és az  $F_v/F_0$  is a 0,5  $\mu\text{M}$  BA tartalom esetén volt a legnagyobb. A TOP tartalmú táptalajon fejlődött növények  $F_v/F_m$ , és  $F_v/F_0$  értékei nem tértek el szignifikánsan a BA tartalmú táptalajon fejlődött növények esetén mért értékektől. Az aktuális kvantumhatékonyság ( $Y(II)$ ) változása hasonló volt, mint az  $F_v/F_m$  esetében. Freedom almafajta esetében  $F_v/F_m$  értékei 0,709–0,790 között változtak, ennél a fajtánál is bizonyítva a 3 hetes *in vitro* alma hajtások fotoszintetikus apparátusának működőképességét. Mind az  $F_v/F_m$ , mind a  $F_v/F_0$  értékei a kombinált BA+TOP kezeléseknél voltak szignifikánsan a legnagyobbak. A PSII rendszer aktuális kvantumhatékonysága ( $Y(II)$ ) a BA+TOP, illetve a KIN kezelések esetén volt a legmagasabb, 0,5  $\mu\text{M}$  citokinin koncentráció felett. A különböző típusú citokininek befolyásolták az *in vitro* hajtások leveleinek összklorofill tartalmát, és különösen a klorofill-b tartalmát. A klorofill tartalom és a klorofill fluoreszcencia paraméterek közötti korreláció analízise azonban azt igazolta, hogy sem a klorofill-a és a klorofill-b pigmentek mennyisége, sem azok aránya nem befolyásolta sem a PSII maximális kvantumhatékonyságát ( $F_v/F_m$ ), sem a PSII fotokémiai folyamatainak maximális hatékonyságát ( $F_v/F_0$ ) egyik vizsgált almafajta esetén sem. Ezért az *in vitro* alma hajtások klorofill tartalma alapján a fotoszintetikus rendszer általános állapotára, és maximális teljesítőképességére nem következtethetünk. (Dobránszki és Mender-Drienyovszki, 2014a, 2015).



A gázcsere-paraméterek vizsgálatok kimutattuk, hogy a táptalaj citokinin tartalma szignifikánsan befolyásolta – fajtától függően – az intercelluláris CO<sub>2</sub> koncentrációt ( $c_i$ ), a transpirációs rátát (E) és a sztómák vízgőz-konduktanciáját ( $g_s$ ). A CO<sub>2</sub> kicserélődés mértéke (A) nem mutatott szignifikáns változást. A transpirációs ráta (E) és a sztómák vízgőz konduktanciájának ( $g_s$ ) mérése azonban jó információt adhatnak az alma levelek sztómáinak viselkedéséről, mely az akklimatizáció során a fotoszintézis aktivitása mellett, a vízháztartás szabályozása révén a másik kulcsszerepű élettani jellemző (Dobránszki és Mendler-Drienyovszki, 2014b).

A különböző aromás oldalláncú citokinineket a regenerációs táptalajban tesztelve hatásuk függött a citokinin kémiai szerkezetétől, illetve a vizsgált alma-genotípustól. Royal Gala fajtánál BA, vagy TOP alkalmazásával lehetett szignifikánsan a legnagyobb adventív hajtásszámot indukálni a levélexplantátumokon. A tesztelt citokininek közül a nem-ribozidok (BA, TOP, KIN) 22-30  $\mu$ M koncentráció tartományban voltak a leghatékonyabbak, míg a N<sup>9</sup>-ribozidok (BAR, TOPR, KINR) 17–23  $\mu$ M koncentráció tartományban. Az izoprenoid citokininek (ZEA, ZEAR) a KIN és KINR-hoz hasonlóan nagyon alacsony hatékonyságot mutattak. M.26 alma alany esetében a leghatékonyabb a BAR, illetve a TOPR volt, 18  $\mu$ M, illetve 21  $\mu$ M koncentrációban alkalmazva, ezen aromás oldalláncú N<sup>9</sup>-ribozidok hatékonysága megegyezett a TDZ hatékonyságával az explantátumonkénti összes hajtásszám tekintetében, az egészséges hajtások száma tekintetében pedig annál 2-3-szor hatékonyabbnak bizonyult (Dobránszki et al., 2006).

A hajtásfejlődésre kifejtett hatások mellett mind az axilláris, mind az adventív hajtástenyészetek táptalajának citokinin tartalma jelentős utóhatást gyakorolt az *in vitro* hajtások gyökeresedésére (járulékos gyökérfejlődés). Hatásuk erősen fajtafüggő volt, itt csak két példát emelek ki. N<sup>9</sup>-ribozid alkalmazása az adventív hajtásképződés indukálására előnyös volt a hajtások gyökereztetése szempontjából Royal Gala fajtánál (Magyar-Tábori et al., 2011). Ha az axilláris hajtáskultúra táptalajában TOP, vagy BA+KIN volt a citokinin forrás, az axilláris hajtások nagyobb arányú gyökeresedését figyelhettük meg (95%) Red Fuji fajtánál, mint BA, vagy BAR alkalmazását követően (63, illetve 75%) (Magyar-Tábori et al., 2014).

A kísérleti eredményeket összefoglalva megállapítható, hogy a táptalajban alkalmazott citokininek döntően befolyásolják a hajtásfejlődést és jelentős utóhatásuk van az *in vitro* hajtások gyökeresedésére is. A megfelelő típusú aromás oldalláncú citokinin alkalmazása az *in vitro* szaporítás során nemcsak az előállított *in vitro* növények mennyiségét befolyásolja, hanem az *in vitro* növények minőségét és fiziológiai állapotát is, ami az *in vitro* szaporítás hatékonyságának további növelését teszi lehetővé.

### Köszönetnyilvánítás

A citokininek organogenezisre kifejtett hatásainak vizsgálatát az OTKA T030103 és T037251 projektek támogatták. A citokininek *in vitro* hajtástenyészetek fotoszintetikus aktivitására kifejtett hatásait vizsgáló kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program” című kiemelt projekt keretei között valósult meg.

### Irodalomjegyzék

- Aremu AE, Bairu MW, Doležal K, Finnie JF, Van Staden J. Topolins, *A panacea to plant tissue culture challenges*. Plant Cell Tissue and Organ Culture; 2012. 108: 1–16.
- Dobránszki J. *Cytokinins – importance, structure, effects in vitro*. In: Dobránszki J (Ed). Aromatic cytokinins applied exogenously in plant tissue culture. University of Debrecen, Centre for Agricultural Sciences, Research Institute of Nyíregyháza, Hungary, 2014. ISBN 978-963-473-704-9. pp. 5–22.
- Dobránszki J, Hudák I, Magyar-Tábori K, Jámbor-Benczúr E, Galli Z, Kiss E. *How can different cytokinins influence the process of shoot regeneration from apple leaves in 'Royal Gala' and 'M.26'*. Acta Horticulturae; 2006. 725: 191–196.
- Dobránszki J, Jámbor-Benczúr E, Reményi ML, Magyar-Tábori K, Hudák I, Kiss E, Galli Z. *Effects of aromatic cytokinins on structural characteristics of leaves and their post-effects on subsequent shoot regeneration from in vitro apple leaves of 'Royal Gala'*. International Journal of Horticultural Science; 2005. 11(1): 41–46.
- Dobránszki J, Magyar-Tábori K, Jámbor-Benczúr E, Kiss E, Lazányi J, Bubán T. *Effect of conditioning apple shoots with meta-topolin on the morphogenic activity of in vitro leaves*. Acta Agronomica Hungarica; 2002. 50: 117–126.
- Dobránszki J, Magyar-Tábori K, Jámbor-Benczúr E, Lazányi J, Bubán T, Szalai J. *Influence of aromatic cytokinins on shoot multiplication and their post-effects on rooting of apple cv. Húsvéti rozmaring*. International Journal of Horticultural Science; 2000. 6(4): 84–87.
- Dobránszki J, Mendler-Drienyovszki N. *Cytokinin-induced changes in the chlorophyll content and fluorescence of in vitro apple leaves*. Journal of Plant Physiology; 2014a. 171: 1472–1478.
- Dobránszki J, Mendler-Drienyovszki N. *Cytokinins affect the stomatal conductance and CO<sub>2</sub> exchange of in vitro apple leaves*. International Journal of Horticultural Science; 2014b. 20:(1-2): 25–28.

- Dobránszki J, Mendlér-Drienyovszki N. *Cytokinins and photosynthetic apparatus of leaves on in vitro axillary shoots of apple cv. Freedom*. Hungarian Agricultural Research; 2015. 24:(1): 20–24.
- Dobránszki J, Teixeira da Silva JA. *Micropropagation of apple – a review*. Biotechnology Advances; 2010. 28(4): 462–488.
- Hwang I, Sakakibara H. *Cytokinin biosynthesis and perception*. Physiologia Plantarum; 2006. 126: 528–538.
- Kakimoto, 2003; Kakimoto T. *Biosynthesis of cytokinins*. Journal of Plant Research; 2003. 116: 233–239.
- Magyar-Tábori K, Dobránszki J, Hudák I. *Effect of cytokinin content of the regeneration media on in vitro rooting ability of adventitious apple shoots*. Scientia Horticulturae 2011. 129(4): 910–913.
- Magyar-Tábori K, Hudák I, Clapa D, Fira A. *Effects of cytokinins on the growth and development in plant tissue culture and on in vitro propagation*. In: Dobránszki J (Ed). Aromatic cytokinins applied exogenously in plant tissue culture. University of Debrecen, Centre for Agricultural Sciences, Research Institute of Nyíregyháza, Hungary, 2014. ISBN 978-963-473-704-9. p.23–49.
- Magyar-Tábori K, Dobránszki J, Teixeira da Silva JA, Bulley SM, Hudák I. *In Vitro Shoot Regeneration in Apple – Role of Cytokinins*. Plant Cell Tissue and Organ Culture; 2010. 101(3): 251–267.
- Matsubara S. *Structure-activity relationships of cytokinins*. Phytochemistry; 1980. 19: 2239–2253.
- Miller CO, Skoog F, von Saltza MH, Strong FM. *Kinetin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid*. J. Am. Chem. Soc; 1955. 77:1392.
- Sakakibara H. *Cytokinins: Activity, Biosynthesis, and Translocation*. Annual Review of Plant Biology; 2006. 57: 431–449.
- Schmülling T. *Cytokinin*. In: Encyclopedia of Biological Chemistry (Eds. Lennarz, W and Lane MD). Academic Press/Elsevier Science. 2004. p. 1–7.
- Strnad M, Hanuš J, Vaňek T, Kamínek M, Ballantine JA, Fussell B, Hanke DE. *Meta-topolin, a highly active aromatic cytokinin from poplar leaves (Populus x canadensis Moench., cv. Robusta)* Phytochemistry; 1997. 45(2): 213–218.
- Van Staden J, Zazimalova E, George EF. *Plant Growth Regulators II. Cytokinins, their analogues and antagonists*. In: George EF, Hall MA, de Klerk G-J. (eds): Plant Propagation by Tissue Culture. 3<sup>rd</sup> Edition, Vol 1. The Background. Springer-Dordrecht, The Netherlands. 2008. 205–226.
- Werbrouck SPO, Strnad M, Van Onckelen HA, Debergh PC. *Meta-topolin, an alternative to benzyladenine in tissue culture?* Physiologia Plantarum; 1996. 98: 291–297.