SZENT ISTVÁN EGYETEM

CITOKININEK SZEREPE AZ ALMA *IN VITRO* HAJTÁSREGENERÁCIÓBAN

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS

MAGYARNÉ TÁBORI KATALIN

Gödöllő

2011

A doktori iskola

Megnevezése: NÖVÉNYTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

Tudományága: NÖVÉNYTERMESZTÉSI ÉSKERTÉSZETI UDOMÁNYOK

Vezetője: Dr. Heszky László, az MTA rendes tagja

egyetemi tanár

SZIE, Genetika és Biotechnológiai Intézet

Témavezető: Dr. Kiss Erzsébet

Egyetemi tanár, intézetigazgató, a mezőgazdasági tudományok kandidátusa,

SZIE, Genetika és Biotechnológiai Intézet

……. …..……

Dr. Heszky László Dr. Kiss Erzsébet

Iskolavezető Témavezető

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE ... 4
1. BEVEZETÉS ... 6
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS ... 10
2.1. Az alma származása, rendszertani besorolása, morfológiai jellemzői ... 10
2.2. Biotechnológiai módszerek szerepe az alma nemesítésben ... 11
2.3. A járulékos hajtások regenerációja - organogenezis ... 14
2.4. A járulékos hajtások regenerációját befolyásoló tényezők ... 16
2.4.1. Az explantátum és a genotípus hatása a regenerációra ... 17
2.4.2. Környezeti tényezők szerepe a hajtásregenerációban ... 20
2.4.3. A táptalaj összetételének és konzisztenciájának szerepe a járulékos hajtások regenerációjában ... 22
2.5. A növényi hormonok és növekedés-szabályozók szerepe a hajtásregenerációban ... 24
2.5.1. Az auxinok szerepe a hajtásregenerációban ... 25
2.5.2. A citokininek szerepe a hajtásregenerációban ... 27
2.5.2.1. A citokininek általános jellemzése ... 27
2.5.2.2. Az előkezelésekben alkalmazott citokininek szerepe a járulékos hajtások regenerációjában ... 30
2.5.2.3. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokininek szerepe ... 29
2.5.3. Növényi hormonok szerepe az in vitro tenyészetek szövettani szerkezetében ... 36
2.6. A járulékos hajtások gyökeresítése és akklimatizációja ... 36
3. ANYAG ÉS MÓDSZER ... 42
3.1. Növényanyag, a kísérletben felhasznált fajták jellemzése ... 42
3.2. Kísérletek beállítása ... 40
3.2.1. Hajtástenyészetek in vitro felszaporítása ... 40
3.2.2. Előkezelések hatása az explantátum hajtásregenerációs képességére ... 44
3.2.3. Regenerációs táptalaj citokinin-tartalmának hatása a regenerációra ... 45
3.2.4. Szövettani vizsgálatok ... 45
3.2.5. Regenerált hajtások gyökeresítése és akklimatizációja ... 43
3.3. Az értékelés módszere ... 47
3.3.1. Megfigyelések ... 44
3.3.2. Statisztikai értékelés ... 47
4. EREDMÉNYEK ... 50
4.1. Az előkezelések hatása a hajtásregenerációra ... 50
4.1.1. Az előkezelések hatása az explantátumonként regenerált hajtások számára ... 50
4.1.2. Az előkezelések hatása a regenerációs százalékra ... 51
4.1.3. Az előkezelések hatása a hiperhidratált hajtások arányára ... 58
4.1.4. Az előkezelések hatása az organogén indexre (OI) ... 62
4.2. A regenerációs táptalaj citokinintartalmának hatása a hajtásregenerációra ... 61
4.2.1. A regenerációs táptalaj citokinintartalmának hatása az explantátumonként regenerált hajtások ... 61
4.2.2. A regenerációs táptalaj citokinintartalmának hatása a regenerációs százalékra ... 68
4.2.3. A regenerációs táptalaj citokinintartalmának hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára ... 72
4.2.4. Az organogén index alakulása a különböző citokinint tartalmazó regenerációs táptalajokon ... 75
4.3. Előkezelések hatása az *in vitro* alma levelek szövettani szerkezetére ... 80
4.4. A regenerált hajtások gyökeresedése és akklimatizációja ... 86
4.4.1. Gyökeresedési arány ... 83
4.4.2. Hajtásonkénti gyökérszám ... 85
4.4.3. A hajtásokon fejlődött gyökerek hossza ... 89
4.5. Az eddig nem vizsgált citokininekkel kapcsolatos tapasztalatok ... 90
4.6. Új és újszerű tudományos eredmények ... 90
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK ... 94
5.1. A genotípus szerepe a regeenrációs képességben ... 91
5.2. A citokininek szerepe az előkezelő táptalajban ... 92
5.3. A citokininek szerepe az indukált levelek szövettani változásaiban ... 93
5.4. A citokininek szerepe a regenerációs táptalajban ... 94
5.5. A regenerált hajtások gyökeresedése és akklimatizációja ... 97
6. ÖSSZEFOGLALÁS ... 104
7. SUMMARY ... 108
MELLÉKLETEK ... 112
M1. IRODALOMJEGYZÉK ... 112
M2. AZ IRODALOMBAN KÖZÖLT EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÓ TÁBLÁZATAI ... 133
M3. A STATISZTIKAI ÉRTÉKELÉSEK EREDMÉNYTÁBLÁZATAI ... 136
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS ... 170

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

BA- benziladenin

BAR - benziladenin-ribozid

BOA – benzoxazol ecetsav

CPPU – forchlorfenuron

DKW - Driver és Kuniyuki táptalaj (1984)

IES – indol-3-ecetsav

IVS - B-indol-vajsav

KIN – kinetin

KINR – kinetin-ribozid

LP - Quoirin és Lepoivre táptalaj (1977)

MS Murashige és Skoog táptalaj (1962)

NES – α-naftil-ecetsav

N6 - Chu *et al*., táptalaj (1975)

TDZ- thidiazuron

TOP – metatopolin

TOPR – metatopolin-ribozid

ZEA – zeatin

ZEAR – zeatin-ribozid

2iP – izopentenil adenin

1. BEVEZETÉS

Az alma a szőlő mellett a legjelentősebb mérsékeltövi gyümölcsünk, több évezred óta szerepel a termesztésben. A mérsékeltövi, szubtrópusi, trópusi gyümölcsök évente előállított mennyiségét figyelembe véve az almát (64,3 millió t/év) csak a szőlő (66,3 millió t/év) és a banán (81,3 millió t/év) előzi meg. Világviszonylatban az utóbbi években termőterülete növekedett, ami elsősorban a Kínában fellendülőben lévő termesztésre vezethető vissza (FAO, 2009). A kultúrfaj különböző típusainak, illetve fajtáinak termesztése nagyon régi keletű, valószínűleg a rómaiak közvetítésével került Európába. Magyarországon a gyümölcstermelési ágazaton belül az alma meghatározó jelentőségű, 2009-ben 42 146 ha területen termesztették, az összes betakarított termés 575 368 tonna volt, ami az 1990 évi 862 974 tonnához képest jelentős visszaesés (KSH, 2010). Hazánkban az egyik legfontosabb alma termőtáj a szabolcsi régió, ahol a dolgozat megírásának pillanatában – még – 15 772 ha-on termesztenek almát. Magyarország versenyben maradásához nélkülözhetetlen a termelési, tárolási és árukezelési színvonal emelése mellett a piacközpontú fajtaszerkezet kialakítása (Erdészné, 2008). Az alma a legfontosabb gyümölcsünk, melyre van belföldi kereslet, az ágazat mégis évek óta értékesítési nehézségekkel küzd, aminek elsődleges oka az elavult fajtaösszetétel, az ültetvények elöregedése, a minőség ingadozása, valamint a termésmennyiség kiszámíthatatlansága (Erdészné, 2008). Az alma nemesítésében elsődleges cél olyan új fajták előállítása, melynek minőségi, termőképességi és termeszthetőségi tulajdonságai megfelelőek és alkalmasak az integrált- és környezetbarát termesztéstechnológiával való termesztésre.

Az alma nemesítése hagyományos módszerekkel hosszú éveket vesz igénybe, az alma nagyfokú öninkompatabilitása, a genom erősen heterozigóta jellege, valamint a hosszú juvenilis periódus miatt. A biotechnológiai módszerek alkalmazása az alma nemesítésében lehetőséget nyújt a fent említett – szexuális hibridizációhoz kapcsolódó - problémák kiküszöbölésére. A nem-szexuális módszerekkel történő nemesítés (szomaklonális variánsok előállítása, *Agrobacterium*-közvetítette transzformáció, *in vitro* mutagenezis) azonban feltételezi a járulékos hajtások regenerációs módszerének meglétét.

A járulékos hajtások regenerációja számos faj és fajta esetében nehézségekbe ütközik. A különböző genotípusok igénye a regenerációs körülményekre nagyon eltérő lehet, így a módszereket minden egyes genotípusra optimalizálni kell. Alma esetében az eddig közölt legjobb regenerációs módszerek hatékonysága (melyek több fajtánál nem haladják meg az 50% regenerációs rátát), tovább javíthatók a módszerek fejlesztésével (Melléklet: M2/1 és M2/2 táblázatok).

A genotípus mellett számos tényező (pl. explantátum típus, környezeti tényezők a regeneráció előtt és alatt) befolyásolja a hajtásfejlődés sikerét, ezek között a kölcsönhatás gyakran

megfigyelhető (Korban *et al.*, 1992). Néhány közülük feltétlenül szükséges az organogenezishez, ilyenek a külsőleg alkalmazott növekedési regulátorok, ásványi sók és szénhidrátok jelenléte, vagy a sötétperiódus alkalmazása a regeneráció során. A hajtásregeneráció feltételeit azonban (hormonok, növekedés-szabályzók típusa és koncentrációja, sötét kezelés időtartama és időzítése stb.) mindig az adott genotípus igényeinek megfelelően kell beállítani ahhoz, hogy hatékony hajtásregenerációt tudjunk elérni.

A növényi hormonok és növekedési regulátorok közül a citokininek bizonyultak a járulékos hajtások regenerációjában a legfontosabb tényezőnek mind a hajtásregenerációt megelőző szakaszban, mind a regeneráció során, a két szakasz közötti kölcsönhatások is jelentősnek mutatkoztak. A citokininek típusa és koncentrációja iránti igény nagyban függ a genotípustól, de az optimális citokinin megválasztásában jelentős szerepe lehet az explantátum típusának is, illetve más tényezőnek.

A citokininek N^6 szubsztituált adeninek, melyek nagyon fontosak az alma szövettenyésztésben, mivel a sejtosztódás és az organogenezis indukálásán kívül egyéb fiziológiai és fejlődési folyamatokat is befolyásolnak. A citokininek hatékonysága különböző, a benziladenint használják leggyakrabban regenerációra. A citokininhatású TDZ alkalmazása szintén nagyon hatékony lehet, különösen a rekalcitráns genotípusok esetében, azonban káros mellékhatások pl. „vizesedés" (hiperhidratáció), törpésedés gyakran megfigyelhető. A citokininek jelentős szerepe valószínűleg az indukált szövetekben történő szövettani változásokkal is összefüggést mutat.

Kísérleteinket a DE AGTC KIT Nyíregyházi Kutató Intézet Növénybiotechnológiai Laboratóriumában végeztük. Munkánk célja az volt, hogy hatékony módszert dolgozzunk ki néhány alma genotípus esetében a járulékos hajtások levéllemezről történő regenerációjára. Számos citokinin hatását teszteltük a regenerációt megelőző előkezelésben, illetve a regenerációs táptalajban. Kísérleteinkbe olyan citokinineket is bevontunk, melyek alma regenerációs kísérletekben még nem szerepeltek, és kémiai szerkezetüknél fogva (hidroxilált, illetve konjugált benziladenin analógok) várhatóan kevésbé mutatnak kedvezőtlen utóhatást, mint a regeneráció során leggyakrabban használt citokininek (benziladenin, TDZ).

A citokininek széleskörű tesztelésével kiválasztható a leghatékonyabb regenerációs eljárás, valamint néhány összefüggés is kimutatható az alkalmazott kezelések, az indukált szövetekben történő változások és az explantátum regenerációs kapacitása között. Ezeknek a kapcsolatoknak a tisztázására a különböző citokinin-tartalmú előkezelő táptalajról származó levéllemezek szövettani vizsgálatait elvégeztük, és összevetettük az explantátumok regenerációs képességével.

Célkitűzéseink összefoglalva a következők voltak:

1. Különböző citokinin típusok és koncentrációk tesztelésével a leghatékonyabb *előkezelő táptalaj kiválasztása* az ’M26’alany, a ’Royal Gala’, a ’Freedom’ és a ’Húsvéti rozmaring’ nemes almafajták számára.

2. Különböző citokinin típusok és koncentrációk tesztelésével a leghatékonyabb *regenerációs táptalaj kiválasztása* a fent megnevezett genotípusok számára.

3. *Szövettani vizsgálatok* elvégzése a különböző előkezelő táptalajról származó ’Royal Gala’ hajtások levelein, valamint a különböző citokininek által indukált szövettani változások és a regenerációs képesség közötti kapcsolatok tisztázása.

4. *Intakt növények* felnevelése a ’Royal Gala’ fajtából.

Az eredmények várható hasznosulása:

(1) A hatékony regenerációs módszerek kidolgozásával elsősorban az almával végzett növénynemesítési munkát kívánjuk támogatni: az eredmények gyakorlati felhasználása jelentős segítség lehet a szomaklonális variánsok, valamint a szomatikus szöveteken indukált mutánsok előállításában, de az *Agrobacterium*-közvetítette transzformációs munkákban is közvetlenül hasznosíthatók. Az eredmények alkalmazhatók ezenfelül az alma mikroszaporítási technológiában, beleértve a szintetikus magok előállítását is. A hatékonyabb nemesítési és szaporítóanyag előállítási módszer alkalmazásával az eredmények közvetve hasznosulnak az almatermesztési ágazatban.

(2) Az új eredmények várható tudományos értéke is jelentős: a négy vizsgált fajtából kettő (’Húsvéti rozmaring’ és ’Freedom’) még nem szerepelt az irodalmi közlésekben, nincs kidolgozott hajtásregenerációs módszerük. Hatékonyságuk bizonyítása után az új - alma járulékos hajtások regenerációjában eddig nem tesztelt citokinineket - (benziladenin ribozid, metatopolin, metatopolin ribozid) várhatóan más fajok regenerációs kísérleteiben is tesztelni fogják. Így a tudományos eredmények is széleskörben hasznosulnak.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az alma származása, rendszertani besorolása, morfológiai jellemzői

A nemes alma (*Malus x domestica* Borkh.) a legrégebben termesztett, tövistelen gyümölcsfa (Terpó, 1987), amelynek hazájaként Simon (1979) a Kaukázust, Turkesztánt és Afganisztánt jelöli ki. Büttner *et al*. (2004) az alma géncentrumaként Kelet-Ázsiát jelöli meg. A *Malus* fajok jelenlegi elterjedését a különböző kontinenseken a mezőgazdasági termelés, a nemesítés és a különböző botanikai gyűjtemények létesítése eredményezte (Korban és Chen, 1992).

Az alma interspecifikus hibridfaj (Korban, 1986). A ma termesztett, nagy gyümölcsű fajták kialakításában a *Malus sylvestris* Mill., a *M. baccata* Borkh., a *M. prunifolia* Borkh., a *M. orientalis*, a *M. praecox*, a *M. dasyphylla* és a *M. sieversii* is részt vehetett (Simon, 1979; Terpó, 1987). Dunemann *et al*. (1994) RAPD markerekkel bizonyították a *M. pumila* és *M. sylvestris* részvételét a termesztett alma kialakulásában. Forte *et al*. (2002) morfológiai és RAPD markerekkel, valamint az rRNS gének ITS1, ITS2 szakaszainak teljes szekvenálásával, és a *matK* kloroplasztisz génnel végzett vizsgálatokkal kapott eredményeik alapján a közép-ázsiai *M. sieversii* az a faj, melyből az alma háziasítása kiindult. Coart *et al*. (2006) kloroplasztisz DNS vizsgálatai a *M. sylvestris* és a *M. domestica* közeli rokonságát erősítették meg.

A diploid alma 2n=34 kromoszómaszámú, a *Malus* nemzetségre jellemző haploid kromoszómaszám (x=17) kialakulásában valószínűleg a *Prunoideae* (x=8) és a *Spiraeoideae* (x=9) egy-egy ősi típusa között lezajlott hibridizáció játszott szerepet (Challice és Westwood, 1973). A zárvatermők (*Angiospermatophyta*) törzsébe tartozó alma rendszertani besorolása Terpó (1987) szerint a következő:

Osztály: *Dicotyledonopsida*
- Alosztály: *Rosidae*
  - Felrend: *Rosanae*
    - Rend: *Rosales*
      - Család: *Rosaceae*
        - Alcsalád: *Maloideae*
          - Nemzetség: *Malus*
            - Faj: *Malus domestica*

A *Maloidae* alcsaládba fás növények tartoznak, amelyekre a szórt levélállás jellemző (Terpó, 1987). Alsó vagy középállású termőik az elhúsosodó vacokkal és csészelevelekkel összenőve áltermést, ún. almatermést alkotnak. Az egyes magházakat pergamenszerű, illetve kősejtekből álló szövetek választják el egymástól (Simon, 1979). Az alcsalád fajai az északi mérsékelt övben és Dél-

Amerika hegyvidékein élnek. Az almaterméűek a kertészeti ágazat legfontosabb gyümölcstermő növényei közé tartoznak, nagy értéket képviselnek az alcsaládba tartozó díszfák és díszcserjék is (Terpó, 1987). Az utóbbi években végzett (sejtmagi és kloroplasztisz lókuszok analízisén alapuló) filogenetikai elemzések alapján Potter *et al.* (2007) javasolták az összes, előzőleg *Maloideae* alcsaládba tartozó taxon besorolását a *Spiraeoideae* alcsaládba.

A *Malus* nemzetség virágzata bogas, a termés rendesen nem tartalmaz kősejteket. A nemes almára apomixis nem jellemző, csészelevelei a termésen maradnak, a termőlevelek száma öt. A gyümölcs átmérője 2 cm-nél nagyobb, az érett gyümölcs lehullik (Dibuz, 1997).

Az alma gyümölcse nagy tápértékű, jelentős a C-vitamin tartalma, cukortartalma átlagosan 6-10% (Simon, 1979). A gyümölcs táplálkozás-biológiai értékét elsősorban a beltartalmi adottságok élvezeti szempontból kedvező aránya, nagy rosttartalma (1,3%), valamint a hazai klímán kialakuló, csaknem utolérhetetlen íze adja (G. Tóth, 1997). Az alma felhasználása sokoldalú, elsősorban friss fogyasztása jelentős, de az alma gyümölcsből kiváló üdítőital készíthető, a konzervipar, cukrászipar és a szeszipar is jelentős mennyiséget használ fel (Pethő, 2001), ezenkívül lekvár alapanyag, készítenek belőle aszalványt és bort is (Simon, 1979).

2.2. Biotechnológiai módszerek szerepe az alma nemesítésben

Az alma nemesítése a XVII. században, Franciaországban kezdődött, ahol magoncokból fajtákat szelektáltak (pl. ’Renet’, ’Kalvil’). Thomas Andrew Knight (1759-1835) már tudatos keresztezéssel állított elő új fajtákat (G. Tóth, 1997). Az alma nemesítése hagyományos (keresztezéses) módszerrel azonban nagyon lassú és sokáig tartó folyamat, mivel a fajra nagyfokú heterozigótaság és önmeddőség jellemző, a termőre fordulásig 5-10 év is eltelik. A kívánatos jellegek (pl. betegség rezisztencia) szexuális hibridizációval történő bevezetése során olyan hátrányos tulajdonságok is megjelenhetnek az utódokban, mint pl. a gyenge gyümölcsminőség. A rezisztenciaforrásként szolgáló kis gyümölcsű *Malus* fajokkal történő hibridizáció után minimum 3-5 generáción keresztül kell visszakeresztezéseket végezni ahhoz, hogy értékes agronómiai tulajdonsággal és a kívánt rezisztenciával rendelkező típusokat megkapjunk. A szexuális hibridzáció hátrányait kiküszöbölendő szükségessé vált a biotechnológiai módszerek bevezetése az alma nemesítésbe (Korban és Chen, 1992).

Annak ellenére, hogy a mikroszaporítással előállított fásszárú növényeknél jelentkezhet a juvenilitás problémája (erős vegetatív növekedés, késői termőre fordulás) (Bubán *et al.*, 1993) a fajtafenntartás, a gyors és kórokozómentes szaporítóanyag előállítása napjainkban számos lágy- és fásszárú növénynél a mikroszaporításra alapozott (Heszky, 2000a; Jámborné Benczúr és Fári 2005). A mikroszaporítás előnye, hogy a genotípusok értékes tulajdonságainak fenntartása mellett, nagy tömegű, egységes növényanyag állítható elő, kis felület igénnyel. A kereskedelmi méretű

mikroszaporítás az utóbbi években azonban megtorpant, melynek oka a magas termelési költség. Az önköltség csökkentésének egyik lehetősége a bioreaktorok alkalmazása (Mészáros, 2006). A fás növények hagyományos hajtástenyészettel történő mikroszaporítása során viszonylag alacsony szaporodási ráta érhető el, azonban a levéllemezekről történő járulékos hajtások regenerációjával a szaporodási ráta jelentősen növelhető, így az önköltség csökkenthető.

A biotechnológiai módszerek alkalmazásával a kertészeti növények nemesítésében is jelentős eredményeket értek el. Hazánkban már az 1970-es években folytak kísérletek az alma csíranövény különböző szerveiből izolált explantátumokon (sziklevél, lomblevél, gyökér stb.) a kalluszfejlődés indukálására (Lévi és Maróti, 1977).

A genetikai variabilitás növelésére, nemesítési alapanyagok előállítására lehetőségeket biztosít a protoplaszfúzió is (Dudits, 2000). Protoplaszt eredetű regeneránsokat állítottak elő a ’Royal Gala’ fajtából (Hanke *et al.*, 1998a). A körülményeket optimalizálva alma sejttenyészetéből és zöld növényi részből származó protoplasztok elektrofúziójából származó klónokat neveltek fel Pan és Deng (2000).

Egyre nagyobb teret hódít a molekuláris markerek alkalmazása a genotípusok megkülönböztetésében (Galli *et al.*, 2004; Király és Tóth, 2009) és a növénynemesítésben. Zhu *et al.* (2000) AFLP molekuláris markerekkel analizált egy 30 almafajtából álló gyűjteményt, a rokonsági fok és a genetikai távolság megállapítása céljából. A vad fajok értékes génjei (betegség rezisztencia, abiotikus stressz rezisztencia stb.) az azonosítás és az izolálás után beépíthetők a célfajta génállományába káros tulajdonságok nélkül (Dudits és Heszky, 2000), így a módszer gyors, alternatív lehetőséget nyújt az alma nemesítésében (James *et al.*, 1989; Yao *et al.*, 1995). A genetikai transzformáció alkalmazásával hatékonyan beépíthetünk géneket számos *Malus* fajból, vagy egyéb nemzetségekből (*Pyrus, Crataegus*), illetve teljesen más – nem rokon – szervezetekből (Heszky, 2005).

Számos gyümölcsfajból állítottak elő transzgénikus növényeket beleértve a kivit (Uematsu *et al.*, 1991; Janssen és Gardner, 1993), a szilvát (Mante *et al.*, 1991), és a citrusféléket (Moore *et al.*, 1992). Jelentős eredményeket értek el az almával végzett transzformációs kísérletekkel is.

Korkhovoy *et al.* (1998) a ’Florina’ fajtára optimalizálták az *Agrobacterium*-közvetítette transzformációs módszert. Előzetes kísérleteikben a ’Florina’ fajta levéllemezei nagy növényregenerációs képességet mutattak. A szupervirulens (A281pTiBo542/pGV730) *Agrobacterium* törzset alkalmazva, antibiotikum rezisztenciát kódoló gént (*nptII*) építettek be a fajtába. Az *in vitro* szaporított almahajtások levéllemezeit megsebezve történt az *Agrobacterium* fertőzés. A hajtásregenerációt szilárd regenerációs táptalajon indukálták (1/2 töménységű MS sók, 0,2 mg/l TDZ és 0,1 mg/l indolvajsav), majd az explantátumokat átoltották kanamicint és claforant tartalmazó táptalajra. A különböző kísérletekben a kalluszfejlődés gyakorisága 10-40% volt, de nem

minden kallusz mutatott növényregenerációs képességet. Azokat a klónokat választották ki továbbszaporításra, melyek kanamicin jelenlétében zöld hajtásokat és gyökereket fejlesztettek, illetve a transzformáns növények megsebzett levelei kanamicin jelenlétében képesek voltak kalluszosodni. Az idegen gén integrációját molekulárisan is bizonyították.

Genetikai transzformációval állítottak elő mannózt hasznosító almát a 'Holsteiner Cox' fajtából, a módszer előnye, hogy a transzformánsokat mannóz-tartalmú táptalajon lehet szelektálni, antibiotikum vagy herbicid alkalmazása helyett (Degenhardt és Szankowski, 2006).

Norelli *et al*. (1994) a 'Malling 26' alma alanyba építettek be *attacin E* gént *Erwinia amylovora* rezisztencia kialakítás céljára. Az üvegházi kísérletekben tesztelt transzformáns növények között találtak olyan egyedet, mely nagyobb rezisztenciát mutatott a betegséggel szemben, mint az eredeti genotípus.

A tűzelhalással (*Erwinia amylovora*) szembeni rezisztencia kialakítása – nagy gazdasági jelentősége miatt- számos transzformációs kísérlet célja volt: a rezisztencia indukálására különböző almafajtákba építettek be harpin (*hrpN*) (Abdul-Kader *et al*., 1998), T4-lysozyme (Hanke *et al*., 1998b) és cecropin (Liu *et al*., 2000) géneket. A többszörösen transzgénikus vonalak előállításával, amelyeket mind *attacin E*, mind a T4 lysozyme génekkel sikeresen transzformáltak, jelentősen megnövekedett rezisztenciát értek el (Ko *et al*., 1998a,b). Aldwinckle *et al*. (1998) varasodás és tűzelhalás rezisztens vonalakat állított elő kitinbontó enzimet, illetve litikus fehérjét kódoló gének beépítésével. Bolar *et al*. (1998a, 2000) varasodás (*Venturia inaequalis*) rezisztens vonalakat állított elő a 'McIntosh' és a 'Marshall McIntosh' fajtákból. Szintén a gombabetegségek elleni rezisztencia növelésére irányultak azok a kísérletek, melyekben az 'Elstar' és a 'Holsteiner Cox' fajtákba a szőlőből származó sztilbén szintáz gént (*Vst1*), valamint a kiviből származó poligalakturonáz gátló fehérje génjét (PGIP) építették be (Szankowski *et al*., 2003).

Dolgov *et al*. (2000) *Raphanus sativus*ból izolált antibakteriális hatású génnel transzformálták az almát és a körtét: ennek az az előnye, hogy a növényi eredetű gén átalakítás nélkül, optimálisan működik a növényben. Liu *et al*. (2000) cecropin MB_{39} (antibiotikum hatású) idegen gént tartalmazó 'Royal Gala' vonalakat állított elő etiolált internódiumokat használva explantátumként.

A fás növények hormonháztartásának módosítására is lehetőség van az *Agrobacterium tumefaciens* és *A. rhizogenes* fajokból származó T-DNS-el: Az *iaaM* és *iaaH* auxin bioszintézisért és az *ipt* citokinin szintézisért felelős gének az *A. tumefaciensből* izolálhatók, míg a *rolA, rolB* és *rolC* hormonanyagcserét módosító gének az *A. rhizogenes*-ből származnak (Peña és Séguin, 2001). Holefors *et al*. (1998) az 'M26' alanyba a *rolA* törpésítő gént vitte be, a transzformált vonalak redukált növekedést mutattak. Ugyanezzel a génnel transzformálta az 'Alnarp2' alanyt Zhu és Welander (2000).

Dolgov *et al*. (2000) a ’Melba’ almafajtába szuperédes fehérjét kódoló gént (*thaumatin II*) épített be, a fiatal még nem termő növények közül néhánynak édes volt a levele. Dolgov *et al*. (1998) a *bar* gén bejuttatásával gyomirtószer (Basta) rezisztens vonalakat állított elő az ’N545’ alma alanyból.

A gyökeresedési képesség növelésére a *rolB* génnel transzformálták az ’M26’ és ’M9/29’ alanyokat (Welander és Zhu, 2000; Zhu *et al*., 2001). A gyümölcsérés szabályozására Yao *et al*. (1998) a ’Royal Gala’ fajtába ACC szintáz és ACC oxidáz gének antiszensz konstrukcióját építették be. Galli *et al*. (2003) szintén az etiléntermelés gátlásával érte el az érés késleltetését a tárolt almában. Az alma esetében a transzformációs rendszer kifejlesztése nagymértékben függ az olyan szövettenyésztési technikák hozzáférhetőségétől, melyek lehetővé teszik a hatékony hajtásregenerációt, a transzformánsok szelekcióját és felszaporítását (Aldwinckle és Malnoy, 2009).

Az *Agrobacterium* közvetítette transzformáció és a többi nemesítésben használható *in vitro* technika alkalmazásának lehetőségei mind a mai napig nem aknázhatóak ki teljes mértékben, melynek oka a növényregeneráció nehézsége (James és Dandekar, 1991; Bhatti és Jha, 2010).

A regeneráció hatékonyságának növelése kulcsfontosságú az alma *Agrobacterium*-közvetítette transzformációjának kidolgozásában (Aldwinckle és Malnoy, 2009).

Hatékony regenerációs módszerrel előállított járulékos hajtások alapanyagot szolgáltathatnak a szintetikus magok előállításához is (Sicurani *et al*., 2001). A levéllemezről történő hajtás regenerációval hasznos tulajdonságokat mutató új típusok, ún. szomaklónok is nyerhetők. Az alma esetében Donovan *et al*. (1994a,b) olyan szomaklónokat állított elő, melyek különböztek az *Erwinia amylovora*-val szembeni rezisztenciában, vagy eltérő szaporodási rátát mutattak, illetve különbözött a gyökeresedési képességük. Rosati *et al.* (1990) az ’M26’, valamint az ’MM106’ alanyokkal végzett kísérleteiben olyan szomaklónokat talált, amelyek eltérő rezisztenciát mutattak a *Phytophtora cactorum* tenyészetének szűrletére.

2.3. A járulékos hajtások regenerációja - organogenezis

A járulékos hajtások regenerációja előfeltétele a nem-szexuális módon történő nemesítési módszerek alkalmazásának (szomaklonális variánsok szelekciója, idegen gének bejuttatása *Agrobacterium*-közvetítette transzformációval, *in vitro* mutagenezis indukciója).

A járulékos regeneráció során új szervek (hajtások, gyökerek) fejlődnek különböző növényi szöveteken, melyek levélből, szárból stb. származnak előzetesen meglévő merisztémák nélkül (Gahan és George, 2008). A dedifferenciálódott szomatikus sejtből történő növényregenerációs folyamat magában foglalja a tenyésztett sejtek determinációját (adott fejlődési útra való programozódás) és differenciálódásukat (az eltérő gének működése következtében különbségek

alakulnak ki a sejtek között), majd a sejtek szövetekbe és szervekbe tömörülését (morfogenezis) (Heszky, 2000b).

A folyamat számos külső és belső tényezőtől függ, mint pl. a külsőleg alkalmazott növényi hormonok/növekedési regulátorok, valamint a növényi szövetek képessége arra, hogy ezeket a hormonális jeleket érzékeljék. Az organogenezis három fázisa különíthető el aszerint, hogy milyen specifikus hormonális egyensúlyt igényel (Sugiyama, 1999):

1. *Kompetencia* (alkalmasság) kialakulása (dedifferenciáció): a sejtek képessé válnak arra, hogy válaszoljanak a szervindukció hormonális jeleire (Howell *et al.*, 2003). A dedifferenciáció azt jelenti, hogy a sejtek a szervképződéshez való képességet megszerzik. A sérülés általában kiváltja a dedifferenciációt a szövettenyészetekben (Sugiyama, 1999). Roberts *et al.* (1988) szerint a kompetencia kialakulásában a táptalaj kombinált hatása érvényesül, exogén növekedési regulátorok alkalmazásával vagy anélkül.

2. *Determináció*: a kompetens sejtek vagy sejtcsoportok az explantátumban visszafordíthatatlanul elköteleződnek egy bizonyos, genetikailag-programozott fejlődési irányba, vagyis specifikus szervek fejlődése irányába (De Klerk *et al.*, 1997). Ezt a folyamatot egy specifikus hormonális egyensúly váltja ki, az arra alkalmas sejtekből a járulékos hajtások fejlődését citokininek indukálhatják (Gyulai *et al.*, 1993; Gahan és George, 2008).

3. *Morfogenezis*: a külsőleg adagolt növényi hormonoktól függetlenül történik (Christianson, 1987; Sugiyama, 1999). Yancheva *et al.* (2003) azonban úgy találták, hogy az exogén auxin típusa és alkalmazásának időtartama kritikus mind a morfogenezis aktiválásában, mind a növény sejt fejlődési program folyamatában.

A kompetens sejteknek csak egy része vesz részt a szervképződésben. Valószínűleg az elsődlegesen kialakult merisztémák gátolják környezetükben az újabb merisztémák kifejlődését. Annak, hogy a merisztemoidok nem egyszerre alakulnak ki, az lehet az oka, hogy a különböző sejtek nem azonos időpontban vannak a sejtosztódás különböző fázisaiban. Valószínűleg a G0 - átmenetileg növekedés nélküli - fázisban lévő sejtek nem tudják érzékelni az indukciós jeleket, ahhoz vissza kell, hogy lépjenek a G1 fázisba (Gahan és George, 2008).

A járulékos merisztémák kialakulásának két eltérő útja lehetséges: közvetett (indirekt) és közvetlen (direkt) organogenezis. A közvetlen módon történő organogenezis folyamatában a merisztémák fejlődése során kimarad egy közbeeső fázis (a differenciálatlan szövet felszaporodása), tehát nincs kalluszfázis. A merisztémák azonban képződhetnek közvetett módon is kallusz vagy szuszpenziós tenyészetek nem specializálódott és dedifferenciálódott sejtjeiből (Yancheva *et al.*, 2003; Gahan és George, 2008).

Alma rendszerekben genotípustól függően mindkét típusú regeneráció előfordulhat (Korban *et al.*, 1992). Gercheva *et al.* (2000) a ’Granny Smith’, ’Morspur Golden’ és ’Stakrimson’ fajtáknál

főleg indirekt hajtásregenerációt figyeltek meg, Yepes és Aldwinckle (1994) kísérleteiben a morfogenezis útja szintén fajtafüggő volt.

A ’Jork 9’ alma alany regenerációs kísérleteiben Pawlicki és Welander (1994) direkt organogenezist írtak le. A 3. napon jelentős sejtosztódást figyeltek meg a mezofillumban és az epidermális sejtrétegben. A 6. nap után fokozódott sejtosztódást tapasztaltak, majd a 10. nap után járulékos hajtáskezdemények jelentek meg. Három hét múlva jól fejlett járulékos hajtások fejlődtek. Dufour (1990) indirekt organogenezist tapasztalt a ’Gala’ fajta levelein. Az 5. napon többé-kevésbé dedifferenciálódott levél parenchimát figyelt meg néhány aktívan osztódó sejttel. Az edénynyalábok körül a 10. napon merisztémaszerű sejtek, míg a 15. napon már az epidermikus réteg alatti merisztemoidok voltak megfigyelhetőek. A merisztémák a 20. nap környékére váltak láthatóvá. A ’Greensleaves’ fajtánál mindkét típusú regenerációs út előfordult: James *et al*. (1988) egy gyors (kalluszfázis nélküli) regenerációt, két héten belül és egy lassú, kalluszfázison keresztül történő regenerációt 12 héten belül írtak le.

Wang *et al*. (2000) szerint a járulékos rügyek eredete nagyon változatos, különböző szövetekből fejlődnek, szerveződhetnek akár egyetlen sejtből, illetve sejtcsoportból kiindulva. A regeneránsok eredete függ a fajtól és az explantátum típusától is. Welander és Maheswaran (1992) leírták az alma leveleken történő hajtásfejlődés lépéseit, és úgy találták, hogy a járulékos hajtások eredete főként az edénynyaláb szövetek környéki mezofillum parenchima sejtjei.

Trifonova *et al*. (1998) a ’Granny Smith’ és az ’M26’ alany hajtásregenerációját tanulmányozták. A morfogenezis szövettani vizsgálata során az első sejtosztódást a tenyésztés negyedik napján észlelték. Az osztódó sejtcsoportok az edénynyaláb környékén voltak, különösen a főér tájékán. 12-19 nap múlva intenzív sejtosztódást, kis sejtekből csoportok képződését figyelték meg. Az első hajtáskezdemény az ’M26’ alanynál a 19., míg a ’Granny Smith’ fajtánál a 29. napon jelent meg. Az első hajtások közvetlenül a levélszövetből szerveződtek, míg a később megjelenő hajtások kalluszokon fejlődtek.

Yancheva *et al*. (2003) tanulmányaiban az eredetük szerint két típusú regeneránst különítettek el: i) a korán fejlődő hajtások, melyek az explantátum felületén 14 napon belül megjelennek, az epidermális és szubepidermális sejtrétegekből származtak, ii) a később regenerálódott hajtások belső, *de novo* fejlődött merisztematikus centrumokból származtak.

2.4. A járulékos hajtások regenerációját befolyásoló tényezők

Az *in vitro* hajtásregeneráció sikerét számos endogén és exogén tényező befolyásolhatja, úgymint a genotípus és a regeneráció alatti, illetve az azt megelőző *in vitro* környezeti viszonyok, melyek szerepét az alábbi fejezetekben részletezem.

2.4.1. Az explantátum és a genotípus hatása a regenerációra

Elsőként Liu *et al*. (1983) számoltak be az alma esetében járulékos hajtások sikeres *in vitro* regenerációjáról magoncokat használva explantátumként. Korban és Skirvin (1985) kísérleteiben az intakt csíratengely tenyésztésekor a ’Delicious’ fajta összes explantátumán, valamint a ’Winesap’ fajtánál az explantátum 55%-ban csak kallusz fejlődött. Amennyiben elkülönítették a gyökeret, a plumulát és a hipokotilt, a két utóbbi explantátumon mindkét fajta esetében nagy mennyiségben kaptak járulékos hajtásokat. A ’Delicious’ fajta gyökerein egyáltalán nem, míg a Winesap’ fajtánál 11%-ban fejlődtek járulékos hajtások.

A *Malus* fajoknál a leggyakrabban használt explantátum a regenerációra az *in vitro* fejlődött, teljesen kiterült, de még fiatal levelek. Welander (1988) kísérleteiben csak a levél explantátumon talált hajtásfejlődést, és semmiféle organizációt nem tapasztalt a szárdarabkákon. A hajtásregeneráció nagyobb mértékű volt a levéllemezen (22%), mint a levélnyeleken (5%) (Rugini és Muganu, 1998). Számos regenerációs kísérletben a levelek alapi és a levélnyélhez közel eső középső részén több regeneráns fejlődött, mint a levél csúcsa felöli szegmensén (Yepes és Aldwinckle, 1994; Caboni *et al*., 1996). Sriskandarajah *et al*. (1990a) szintén úgy találták, hogy a levéllemez levélnyél felőli része, valamint a nagyobb méretű levelek produktívabbak, mint a kisebb levelek és a levéllemez másik vége a ’Royal Gala, ’Gala’ és ’Jonagold’ fajtáknál. Sarwar és Skirvin (1997) ezzel ellentétben azt figyelte meg, hogy csak a ’Wijcik’ fajta mutatott hatékonyabb regenerációt a nagyobb (15-18 mm széles) leveleken, míg a ’McIntosh’ és ’Macspur’ fajták a kisebb (5-8 mm széles) leveleken regeneráltak jobban. A leveleket három szegmensre darabolva úgy találták, hogy a középső szekció a legjobb regenerációra. A jelenség oka valószínűleg az lehet, hogy a középső szekció két vágott felülettel rendelkezett, míg a többi darabnak csak egy vágott felülete volt, és a hajtások többsége a vágott felületekről eredt, nem a levél felszínről (Sriskandarajah *et al*., 1990a). A regeneráció gyakran történik az explantátum vágott felületén, ezért a levél vagy szár darabolása (további sebek létrehozása) növelheti a regenerációs kapacitást. A jelenség oka egyrészt az lehet, hogy a vágott felületek biztosítják a tápanyagok és növényi hormonok/növekedés-szabályozók hatékonyabb felvételét a táptalajból (Sarwar és Skirvin, 1997). Az *Opuntia polycantha in vitro* tenyészeteiben a hónaljrügyek teljesen érzéketlenek voltak a táptalaj auxin és citokinin-tartalmára, ha csak nem történt valamilyen sebzés az explantátumon (Mauseth és Halperin, 1975). A sebzések ezen felül olyan stressz-kapcsolt válaszokat is indukálhatnak, melyek beindítják olyan komponensek termelését (pl. etilén), melyek szintén indukálhatják a kalluszfejlődést és talán még a differenciációt is (Gahan és George 2008). Norelli *et al*. (1996) úgy találták, hogy a levéllemez felületén okozott további sérülések (csipesszel összenyomták a leveleket) növelték a transzformáció hatékonyságát, és nem mutattak negatív hatást a regenerációra,

de a túlzott mértékű sebzés akár az explantátum elhalását is okozhatja (Kálai *et al.*, 2009). A levéllemez szegmentekre történő feldarabolása sem mindegy, hogy hogyan történik: Erig és Schuch (2005) azt tapasztalták, hogy amennyiben keresztirányban történik a vágás az explantátum morfogénikus potenciálja jóval nagyobb, mintha hosszirányban történik a vágás.

A levelek kora szintén befolyásolja a regenerációs képességet. Regenerációra legalkalmasabbak a fiatal, növekedésben lévő levelek (Fasolo *et al.*, 1989). Zhu és Welander (2000) kísérleteiben a 2 hetes *in vitro* növények fiatal növekvő levelei voltak a legalkalmasabbak a hajtásregenerációra. Famiani *et al.* (1994) szerint a fiatal levelek nagyobb regenerációs képessége valószínűleg annak tulajdonítható, hogy a még fejlődésben lévő levelek nagyobb mennyiségben tartalmaznak még kevésbé differenciálódott és metabolikusan aktív sejteket, melyek hormonális és tápanyagellátási állapota segítheti az organogenezist.

Annak ellenére, hogy a hajtásszámot nem befolyásolta a levél levágásának időpontja, nagyobb hajtások fejlődtek a tenyésztés 15. napján izolált explantátumokon, mint a 30. napon izoláltakon (Famiani *et al.*, 1994). A gyökeresített hajtásokról gyűjtött levelek alkalmasabbak voltak a regenerációra (James *et al.*, 1988; James és Dandekar, 1991). James és Dandekar (1991) szerint valószínű, hogy a mikroszaporított tenyészetekben a hajtások közötti fényért és tápanyagért történő versengés eredményeképpen az ezekről a növényekről izolált szövetek eltérő válaszreakciót mutathatnak.

A levél explantátum orientációja jelentősen befolyásolja a regeneráció hatékonyságát: abban az esetben, amikor az abaxiális felület volt felfelé, sokkal több hajtás regenerálódott, mintha az adaxiális felület nézett felfelé (Welander, 1988; Gamage és Nakanishi, 2000). Welander (1988) feltételezése szerint az egyik lehetséges magyarázat a jelenségre, hogy az adaxiális felület oszlopos parenchima sejtjei a táptalaj tápanyagtartalmára sokkal érzékenyebben reagálnak, mint a levél egyéb szövetei, mivel ez az utolsó szövet, mely abbahagyja a növekedést és osztódást. Bizonyos szövetpolaritást okozhat még a hormonok edénynyalábban történő szállítása is. Ez utóbbi jelentőségét alátámaszthatja az is, hogy a nagyon fiatal, fejletlen vaszkuláris rendszerrel rendelkező levelek morfogénikus válaszát az orientáció kevésbé befolyásolta (Welander, 1988). Yepes és Aldwinckle (1994) szerint szerepe lehet még a megnövekedett oxigéncsere lehetőségének is, mivel a légzőnyílások az abaxiális felületen helyezkednek el.

Hajtásregenerációra leggyakrabban levélexplantátumot használnak, számos kísérletben tanulmányozták azonban egyéb típusú explantátumok felhasználási lehetőségeit is. James *et al.* (1984) almaalanyok internodális szár explantátumain csak az ‘M25’ esetében kaptak megfelelő regenerációt, az ‘M27’ gyengén regenerált, míg az ‘M26’ és ‘M9’ esetében nem kaptak regenerált hajtásokat. Keulemans és Witte (1994) sikeresen regenerált növényeket a ’Gloster’ fajta szikleveleiből és csíratengelyéből, ez utóbbi bizonyult jobb explantátumnak. A ’Royal Gala’ etiolált

internodális szár explantátumain nagy regenerációs százalékot és hajtásszámot értek el Liu *et al.* (1998). Barbieri és Morini (1987) a ’Golden Delicious’ fajta sziklevelein kapott regenerált hajtásokat, míg Masuda *et al.* (1988, 1994) az intakt mikroszaporított növénykék gyökerein hajtott végre sikeres regenerációs kísérleteket a *Malus prunifolia* Borkh. var. *ringo* Asami, valamint a *Malus prunifolia* Borkh. MO-84 fajták esetében. Caboni *et al.* (2000) vegetatív hajtáscsúcsokat használtak explantátumként és nagy hajtásszámot értek el az általuk vizsgált fajták esetében (’Jork 9’, ’M26’, ’Gala’ és ’McIntosh’).

Pawlicki-Julian *et al.* (2002) a ’Jork 9’ alany transzformált és nem transzformált gyökereinek regenerációs képességét összehasonlítva úgy találták, hogy a transzformált gyökereken a regenerációt mutató explantátumok aránya sokkal kisebb volt (16,7%) mint a nem transzformált gyökereken (77,8%), azonban csak azok a gyökerek mutattak regenerációt, melyeket nem választották le a hajtásról. A ’Royal Gala’ fajtánál a levelek transzformációja nem befolyásolta a regenerált hajtások számát, amennyiben nem alkalmaztak szelekciót (Yao *et al.*, 1995). A regenerációs százalékra nem volt hatással az *Agrobacterium*-al történő fertőzés a ’Greensleeves’ esetében sem (James *et al.*, 1989). Ha az utolsó proliferációs táptalaj DKW (Driver és Kuniyuki, 1984) sókat tartalmazott a hajtásokról több – a regenerációhoz megfelelő minőségű – levelet tudtak izolálni, az MS táptalajhoz hasonlítva. Amennyiben az utolsó proliferációs táptalaj floroglucint is tartalmazott, akkor mindkét típusú táptalajról nagy mennyiségű és jó minőségű levelet tudtak leszedni (Wilson és James, 2003).

A hajtásregenerációs képességben nagy különbségek vannak a genotípusok között (James *et al.*, 1984; Barbieri és Morini, 1987; De Bondt *et al.*, 1994; Sarwar és Skirvin, 1997). Sriskandarajah *et al.* (1990a) kísérleteikben a ’Royal Gala’ mutatta a legnagyobb regenerációs képességet, azután a ’Gala’ fajta következett, míg a ’Jonagold’ nagyon gyenge regenerációt mutatott. A ’Jonagold’ fajta explantátumain fejlődött hajtások azonban lényegesen nagyobbak voltak, mint a többi fajta esetében. Hanke *et al.* (1991) számos genotípus regenerációs képességét tesztelve megállapították, hogy a nemes fajták regenerációs képessége általában nagyobb, mint az alanyoké.

Maximova *et al.* (1998) kísérleteikben a transzformáció korai eseményeinek tanulmányozására szintetikus zöld fluoreszcensz (SGFP) riporter gént használták, és csak azokat az explantátumokat rakták fényre, melyek fluoreszkáló levélkezdeményeket tartalmaztak. Megfigyelték, hogy az általuk vizsgált fajták (’Golden Delicious’, ’Delicious’, ’Royal Gala’ és ’Greenleeves’) nagyon jó hajtásregenerációt adtak a nem-szelektív táptalajon, azonban szelekciós nyomás alatt már különbségek voltak a genotípusok között. A ’Golden Delicious’ esetében, melynek explantátumai nagy transzformációs százalékot mutattak (95%), egyáltalán nem fejlesztettek transzgénikus hajtásokat, míg a ’Greenleeves’ fajta - mely alacsony (37%) transzformációs gyakorisággal volt jellemezhető – fejlesztette a legtöbb transzgénikus hajtást. Megfigyeléseik szerint a nem-

transzformált explantátumon, illetve a nem-szelektív táptalajon főleg direkt organogenezis (kalluszfázis nélküli, 30-40 napon belül) zajott le, míg a transzformált explantátumok szelektív táptalajon történő tenyésztésekor az ilyen jellegű organogenezis a nem transzgénikus, túlélő hajtásokra volt jellemző. Az *Agrobacterium*-mal történő fertőzés után az indirekt (kalluszfázison keresztüli, lassú: 60 nap-9 hónap) organogenezis volt inkább a jellemző. Mind a genotípusok eltérő érzékenysége az antibiotikumokkal szemben, mind a hajtásregeneráció eltérő mechanizmusa szerepet játszhat a fent leírt jelenség kialakulásában. Úgy vélték, hogy az a tény, miszerint bizonyos fajták transzgénikus sejtjei nem képesek legyőzni a szelekciós nyomást és nem regenerálnak hajtásokat, jelzi, hogy az eredeti regenerációs táptalaj, mely nagy számban indukál multicelluláris eredetű primordiumokat az explantátumon (szelekció nélkül), nem elég hatékony ahhoz, hogy morfogenezist indukáljon az egyedi sejtekből vagy a differenciálatlan kalluszsejtekből. Szerintük a regenerációs táptalajt a genotípusok igényeinek megfelelően kellene beállítani, úgy, hogy a transzformációs körülményeket is figyelembe kell venni. Ezt a feltételezést alátámaszthatják Sedira *et al*. (2001) tapasztalatai is, amennyiben a ’Jork 9’ alannyal végzett transzformációs kísérleteikben megfigyelték, hogy a nem-transzformált explantátumok a BA-tartalmú táptalajon mutattak legjobb regenerációt, míg a transzformált explantátumok TDZ-tartalmú táptalajon adták a legjobb hajtásregenerációt.

A különböző genotípusok leveleinek együtt-tenyésztése szintén befolyásolhatja az organogenezist: a ’Golden Delicious’ önmagában tenyésztve 43% regenerációs rátát produkált, míg a ’Gala’ levelekkel történő együtt-tenyésztés eredményeképpen 73%-ra nőtt a regenerációs ráta. Feltételezhetően a jól regeneráló ’Gala’ fajta valamilyen endogén, vízoldékony komponense(i) indukálhatta a kisebb regenerációs kapacitású ’Golden Delicious’ fajta regenerációját (Dufour, 1990).

2.4.2. Környezeti tényezők szerepe a hajtásregenerációban

Liu *et al*. (1983) a ’Golden Delicious’ fajta különböző explantátumain indukált hajtásregenerációs kísérleteiben megfigyelték, hogy a fény gátolta a járulékos hajtások fejlődését az almamagoncok levél és sziklevél explantátumain, míg a hipokotil explantátumon nem tapasztaltak gátlást. Későbbi kísérletekben is úgy találták, hogy a regenerációs folyamat első fázisában a sötét szakasz elengedhetetlennek bizonyult a hajtásregenerációhoz: Barbieri és Morini (1987) az ’M26’ és a ’Golden Delicious’ fajtáknál csak a sötétben tartott explantátumokon kaptak hajtásregenerációt. A megfelelő hajtásregeneráció eléréséhez a sötét periódus szükségességét számos szerző megerősítette (Welander, 1988; Fasolo *et al*., 1989; Korban *et al*., 1992; Sriskandarajah *et al*., 1994).

További kísérletek célja volt a sötét periódus időtartamának és időzítésének optimalizálása. Fasolo *et al.* (1989) két hetes sötét periódust találtak legmegfelelőbbnek, míg Korban *et al.* (1992) kísérleteiben az egy hétig tartó sötét inkubáció is elégnek bizonyult a hajtásregenerációhoz. Yao *et al.* (1995) tanulmányaikban a regeneráció kezdetén alkalmazott 2-3 hetes sötét periódus szintén nagyban növelte a regeneráció hatékonyságát a ’Royal Gala’ fajtánál. Sarwar és Skirvin (1997) azonban 3-4 hetes sötét periódust alkalmazott a hatékony hajtásregenerációhoz. Amennyiben a sötét szakasz 10 napnál rövidebb ideig tartott, akkor a regenerációs ráta jelentősen lecsökkent a ‘Gala’ és a ‘Golden Delicious’ fajtáknál, míg a regenerált hajtások számában akkor tapasztaltak jelentős csökkenést, ha a sötét szakasz 14 napnál rövidebb volt (Dufour, 1990).

Az ’M26’ alany esetében a legnagyobb regenerációs rátát akkor kapták, amikor a sötét kezelést az utolsó proliferációs szakasz elején, és/vagy az organogénikus fázis kezdetén alkalmazták. A regenerációs rátát és a hajtások számát is figyelembe véve a legjobb eredményeket akkor érték el, amikor mindkét fázisban alkalmazták a sötét kezelést (Famiani *et al.*, 1994; Ferradini *et al.*, 1996).

A nagy fényerő hajtásfejlődést gátló hatása még abban az esetben is tapasztalható, ha sötét periódus előzte meg (Korban *et al.*, 1992). Yepes és Aldwinckle (1994) kísérleteiben szintén megfigyelte a nagy fényerő (100-125 µmol m^{-2} s^{-1}) gátló hatását mind a regenerációs rátában, mind a hajtásszámban az ’Empire’ és ’McIntosh’ fajtáknál.

Predieri és Fasolo (1989) tesztelte a sötétség, a különböző fény hullámhossz (vörös, kék és fehér) hatását, valamint a fehér fényt különböző fényintenzitás mellett (13-98 µmol m^{-2} s^{-1}). Eredményei szerint a vörös fény (620-700 nm) és a sötétség a leghatékonyabb a hajtásregenerációban az ’M26’ alany fajtánál, azonban minden fénykezeléssel sikerült regenerációt indukálni. A sötét kezelés a regeneráció indukálásában volt hatékony, míg a nagy fényerő a hajtások fejlődésének kedvezett. A hajtások száma csaknem kétszeres volt a sötét-kezelt leveleken összehasonlítva a fehér fényen tartott levelekkel, azonban a hajtások, melyek 32 µmol m^{-2} s^{-1} vagy nagyobb fényerőn differenciálódtak, életképesebbek voltak.

Az alternáló hőmérséklet pozitív hatását is kimutatták a regenerációs gyakoriságra: az ’M26’ és a ’Golden Delicious’ fajtáknál a legjobb eredményeket akkor kapták, mikor az éjszakai és a nappali hőmérséklet között 8-12°C különbség volt. A 8°C hőmérsékleti különbség ezenfelül nagyobb explantátumonkénti hajtásszámot is eredményezett (Barbieri és Morini, 1987).

Sriskandarajah *et al.* (1994) kísérleteiben a túl alacsony hőmérséklet (4°C) káros hatású volt a kalluszokra, a friss táptalajra áthelyezett kalluszok nem nőttek tovább. 3-4 hétig tartó 28°C-os inkubáció az első két hétben stimulálta a növekedést, azonban később elhalt foltok jelentek meg és a kallusz kb. 6 hét múlva elpusztult. A hajtásregenerációhoz 23°C bizonyult optimálisnak a ’Delicious’ fajtánál.

Az anyahajtások hidegben és/vagy sötétben történő előkezelése elősegítette a regenerált hajtások fejlődését (Fasolo *et al.*, 1989; Pawlicki és Welander, 1994). A donor tenyészetek 16 hétig történő hűtése 4ºC-on növelte a ’P16’, ’P22’, ’P59’ valamint az ’M26’ alanyok regenerációs potenciálját (Orlikowska *et al.*, 2009). A hűtés kedvező hatása valószínűleg annak tulajdonítható, hogy megnövekszik az oldható cukor-tartalom aránya a keményítőhöz képest, aminek jelentős szerepe van a regenerációs képesség növelésében, különösen a rekalcitráns alma fajták esetében (Orlikowska *et al.*, 2009).

Adott genotípuson belül különbségeket figyeltek meg a regenerációs képességben attól függően, hogy a vonalak milyen hosszú ideig voltak a regenerációt megelőzően *in vitro* tenyészetében fenntartva (Standardi és Houshmand, 1992).

2.4.3. A táptalaj összetételének és konzisztenciájának szerepe a járulékos hajtások regenerációjában

A táptalaj ásványianyag összetétele szintén jelentős szerepet játszik a sikeres regenerációban. Annak ellenére, hogy nem minden ásványi anyag szükséges a merisztéma iniciációhoz, a növekedéshez minden tápelemre szükség van (Ramage és Williams, 2002). A leghatékonyabb regenerációhoz szükséges sók mennyisége és arányuk azonban nagyban függ a genotípustól (Yepes és Aldwinckle, 1994).

Fasolo *et al.* (1989) számos nemes fajtával (’McIntosh’, ’Paladino Spur McIntosh’, ’Triple Red Delicious’, ’Gala’) folytatott kísérleteiben az N6 táptalajt (Chu *et al.*, 1975) következetesen jobbnak találták a regenerációhoz, mint az LS táptalajt (Linsmaier és Skoog, 1965). Yepes és Aldwinckle (1994) tanulmányaiban szintén az N6 stimulálta jobban a morfogenezist mint az MS, ½ MS vagy LS az összes vizsgált fajtánál, kivéve a ’Golden Delicious’-t, melynél az MS volt a leghatékonyabb.

Más kísérletekeben egyéb genotípusokat vizsgálva az MS hatékonyabb volt, mint az N6. Gercheva *et al.* (2000) kísérleteikben a ’Granny Smith’, ’Morspur Golden’ és a ’Starkrimson’ fajtáknál a legjobb regenerációs eredményeket MS táptalajon kapták, míg Pawlicki és Welander (1994) a ’Jork 9’ alanynál mutatta ki az MS sók kedvező hatását. A ’Jork 9’ alanynál MS, LS és N6 táptalajokat összehasonlítva legjobb regenerációs eredményeket szintén az MS sókat tartalmazó táptalajon kaptak (Caboni *et al.*, 1996). Az MS sók használata nagyon erős pozitív hatást mutatott mind a regenerációs rátára mind a hajtások számára a ’Jork 9’ fajtánál összehasonlítva az LP (Quoirin és Lepoivre, 1977) táptalajjal is (D’Angeli *et al.*, 2001). Rodrigues és Barros (1998) szintén az MS-t találták jobbnak a ’Fuji’ fajta regenerációjában.

A ’Royal Gala’, ’Gala’ és ’Jonagold’ fajtáknál a teljes töménységű MS táptalaj Staba vitaminokkal (Staba, 1969) kiegészítve hatékonyabb volt a regenerációhoz, mint a feles töménységben használt MS, vagy az N6 (Sriskandarajah *et al.*, 1990a). Az ’M9’ alannyal végzett

kísérletekben az MS, N6 és WPM (McCown és Lloyd, 1981) táptalajokat összehasonlítva azonban csak a legutóbbi eredményezett alacsonyabb regenerációs rátát és hajtásszámot (Theiler-Hedtrich és Theiler-Hedtrich, 1990). A ’Queen Cox’ (*Malus pumila* Mill.) fajtával végzett kísérletekben a DKW (Driver és Kuniyuki, 1984) táptalajon végzett hajtásregeneráció esetében normális járulékos hajtások fejlődtek, míg az MS táptalajra helyezett explantátumon a hajtások hiperhidratáltak voltak (Wilson és James, 2003).

A regeneráció hatékonyságát a szénhidrát típusa is jelentősen meghatározza. A ’Jork 9’ alany esetében a szacharóz és a glükóz hatékonyságát egyformának találták, azonban ha a szacharóz helyett szorbitot használtak, jelentősen nagyobb regenerációs rátát és hajtásszámot kaptak. Túl magas szacharóz-tartalom, valamint a fruktóz jelenléte azonban gátolta a regenerációs folyamatokat (Pawlicki és Welander, 1994). Gercheva *et al*. (2000) legjobb regenerációs eredményeket olyan táptalajon kaptak, amely szacharózt és szorbitot egyaránt tartalmazott (29,2 mM szacharóz/ 164,7 mM szorbit) a ’Granny Smith’, ’Morspur Golden’ és a ’Starkrimson’ fajtáknál.

Zhu és Welander (2000) az ’Alnarp2’ alannyal végzett transzformációs kísérleteiben azonban úgy találták, hogy mind a regenerációs gyakoriság, mind a regenerált hajtások száma nagyobb volt abban az esetben, ha szacharózt használtak, összehasonlítva a szorbitot tartalmazó táptalajjal. Ugyanez a kutató csoport másik genotípussal (’M9/29’) végzett transzformációs kísérleteiben transzformált regenerált hajtásokat csak szorbit jelenlétében kapott, míg a szacharóz-tartalmú táptalajon egyetlen transzformánst sem (Zhu *et al*., 2001). Az eredmények részben talán magyarázhatóak azzal, hogy a *Rosaceae* családban – ahová az alma is tartozik –a szacharóz mellett a szorbit a legfőbb fotoszintézis termék és a levelekből származó szénexport több mint 60%-a szorbit formájában történik (Loescher és Everard, 1996; Noiraud *et al*., 2001).

A szilárdító közegnek szintén jelentős hatása van a regenerációra. A folyékony táptalajban tenyésztett explantátumokon sokkal szemcsésebb kalluszok fejlődtek, azonban hajtások nem regenerálódtak ezeken a kalluszokon (Sriskandarajah *et al*., 1990a). Maheswaran *et al*. (1992) az ’M26’ esetében elengedhetetlennek találták a Gelrite használatát, mivel az agarral szilárdított táptalajon történő együtt-tenyésztés során nem történt regeneráció. Pawlicki és Welander (1994) azonban akkor kapták a legjobb eredményt, amikor az agar-agart és a Gelrite-t kombinálva használták, míg a Gelrite önmagában használva hiperhidratált hajtásokat és abnormális fejlődést eredményezett. Bolar *et al*. (1999) szintén úgy találták, hogy az agar-agar és Gelrite együttes használata vezetett a ’Marshall McIntosh’ fajtánál az egészséges (nem hiperhidratált) hajtások legnagyobb arányban történő fejlődéséhez. Wilson és James (2003) a ’Queen Cox’ (*Malus pumila* Mill.) fajta esetében úgy találták, hogy az agargéllel szilárdított táptalajon több járulékos hajtás fejlődött, mint a Phytagéllel vagy Gelcarinnal szilárdított táptalajokon.

Egyéb táptalaj adalékok szerepe: Az acetosyringone (AS) feltételezhetően indukálja a virulencia gének átírását az *Agrobacterium*-ban (James *et al.*, 1993), ezért Seong és Song (2008) használta az AS-t a 'Fuji' fajta transzformációs kísérleteiben arra, hogy javítsa a transzformáció hatékonyságát. Eredményeik szerint a regenerációs táptalajban 100 és 200 µM töménységben alkalmazott AS nemcsak a transzformáció hatékonyságát javította, hanem növelte a regeneráció mértékét is (15,5-22,6%-ra a kontroll kezelésben tapasztalt 12,0%-hoz képest). Norelli és Aldwinckle (1993) kísérleteiben az antibiotikum jelenléte gátolta az 'M26' levélszöveteken a hajtások regenerációját. A szerves savak pl. az almasav jelenléte a táptalajban jelentősen stimulálta a 'Jonagold' hajtásregenerációját (De Bondt *et al.*, 1996).

Habár a kallusznövekedést segítette a táptalajhoz adagolt floroglucin, gátolta a hajtásregenerációt az 'M25' alany esetében (30%-ról 10%-ra csökkent a regenerációs gyakoriság). Az 'M9' és az 'M26' alanyok esetében kazein-hidrolizátum és glutation jelenlétében nem regenerálódtak hajtások (James *et al.*, 1984). Masuda *et al.* (1994) kísérleteiben a *Malus prunifolia* Borkh. MO-84 fajta esetében a kazaminosav 1000 mg/l koncentrációban segíti a járulékos hajtások regenerációját. A nátrium-nitroprusszid megfelelő koncentrációban (20-30 µM) alkalmazva jelentősen növelte a regenerációs gyakoriságot és a hajtások számát a *Malus hupehensis* Rehd. *var. pinyiensis* 'Jiang' fajta esetében mind a levéllemezről, mind a sziklevélről történő regeneráció esetén (Han *et al.*, 2009).

2.5. A növényi hormonok és növekedés-szabályozók szerepe a hajtásregenerációban

Azokat a növényi szövetekben természetesen előforduló (endogén) szerves vegyületeket, amelyek kis mennyiségben képesek a magasabb rendű növényi szervezetekben a környezeti hatások közvetítésére, a normális növekedés és fejlődés szabályozására, a sejtek, szövetek, szervek közötti korreláció fenntartására, növényi hormonoknak nevezzük (Pethő, 1993). A hasonló fiziológiai aktivitással rendelkező szintetikus vegyületeket, illetve egyéb olyan komponenseket, melyek képesek módosítani a növény növekedését, általában növényi növekedés-szabályozóknak hívják (Machakova *et al.*, 2008). A növényi hormonok 5 osztályba sorolhatók be, nevezetesen: auxinok, citokininek, gibberellinek, etilén, abszcizinsav. Az utóbbi évtizedekben számos újabb növényi hormoncsoportot fedeztek fel ilyenek pl. brasszinoszteroidok (Khripach *et al.*, 2000), jázmonsav (Koda *et al.*, 1994), oligoszaccharidok (Aldington és Fry, 1993) stb.

Az auxinok és a citokininek osztályába tartozik számos szintetikus regulátor is, melyek legalább akkora vagy nagyobb biológiai aktivitással rendelkeznek, mint a megfelelő természetes növekedési anyagok. A növényi hormonok és növekedés-szabályozók közül növényi szövet- és

szervtenyészetekben legjelentősebb szerepe az auxinoknak és a citokinineknek van (Machakova *et al*., 2008).

Az alma regenerációs folyamataiban a kalluszfejlődés mértéke és a kalluszok textúrája a különböző hormonok és növekedés-szabályozók koncentrációjától és kombinációjától függ. Az ’Orine’ fajtánál a magas auxin szint alacsony citokinin szinttel kombinálva morzsalékos kalluszt eredményezett, míg a magas citokininszint alacsony auxin szinttel kombinálva tömör és szemcsés kallusz fejlődését segítette elő, organizációt azonban csak 20,0 µM TDZ és 0,1 vagy 1,0 µM NES (α-naftil ecetsav) kombináció alkalmazásával értek el (Gamage és Nakanishi, 2000). A ’Jork 9’ alany esetében a viszonylag nagy BA (22,0 µM) és alacsony NES koncentráció (0,1 µM) kombinációja bizonyult a legjobb hormonális kezelésnek a normális hajtások regenerációjához Pawlicki és Welander (1994) kísérleteiben. Caboni *et al*. (1996) ugyanezzel a fajtával dolgozva 17,8 µM BA+2,7 µM NES kombináció mellett kapta a legjobb regenerációs eredményt. A regenerációs kapacitás függ a genotípustól (Barbieri és Morini, 1987; Sriskandarajah *et al*., 1990a; Sarwar és Skirvin, 1997; Gercheva *et al*., 2000), és a legjobb hormonális kombináció szintén genotípusfüggő: James *et al*. (1984) alma alanyokkal végzett kísérleteikben úgy találták, hogy az ‘M27’ a hatékony regenerációhoz nagyobb citokinin és kisebb auxin koncentrációt igényelt, mint a többi alany (‘M25’, ‘M26’ és ‘M9’). Hasonló következtetésre jutott Caboni és Tonelli (1999), kísérleteikben a ’Jork 9’ alany számára a legjobb hormonkombináció a BOA (43,0 µM) vagy NES (2,7 µM) + 17,8 µM BA volt, a ’Gala’ fajta a legjobb regenerációt a BOA (21,5 µM) + TDZ 1,0 µM vagy BA (22,0 µM) táptalajon adta, míg a ’McIntosh’ fajta számára az 1,3 µM NES + 22,0 µM BA hormonkombináció bizonyult a leghatékonyabbnak.

Mivel a legfontosabb hormonok a regenerációban a citokininek és az auxinok, ezeknek a komponenseknek a koncentrációját mindig az adott almafajtára kell optimalizálni, azonban a 4-10 µM BA és 0,5-2,7 µM NES a legtöbb fajta esetében megfelelőnek bizonyult (James és Dandekar, 1991).

2.5.1. Az auxinok szerepe a hajtásregenerációban

Néhány kutatócsoport tanulmányozta az auxinok szerepét a regenerációs folyamatban. Barbieri és Morini (1987) kísérleteiben az ’M26’ alanynál a 2,4-D és az IVS volt a leghatékonyabb a levéllemezről történő hajtásregenerációban, míg a ’Golden Delicious’ csak NES jelenlétében mutatott hajtásregenerációt. A ’Golden Delicious’ fajtával végzett további kísérleteikben a sziklevél explantátumon is a NES és az IVS volt hatékony, míg a 2,4-D nem (Barbieri és Morini, 1987). Indirekt hajtásregeneráció esetén a kalluszok konzisztenciáját és élettartamát az auxin típusa nagymértékben befolyásolta: a NES (2,7-5,4 µM) bizonyult legjobbnak összehasonlítva az IES, IVS és 2,4-D-vel a ’Delicious’ fajta transzformációs kísérleteiben (Sriskandarajah *et al*., 1994).

A ’Delicious’ és az ’M26’ fajtáknál szintén a NES bizonyult a leghatékonyabbnak (Predieri és Fasolo, 1989; Sriskandarajah *et al.*, 1994). Túl nagy NES koncentráció azonban erős kallusznövekedéshez és gyökérfejlődéshez vezetett a ’Jork 9’ alanynál (Pawlicki és Welander, 1994). A ’Fuji’ esetében szintén a kis koncentrációjú (1,0 µM) NES alkalmazása eredményezte a legtöbb hajtást (Rodrigues és Barros, 1998).

Fasolo *et al.* (1989) nem találtak különbségeket a regenerációban, amikor kisebb auxin koncentrációkat teszteltek (1,1-5,4 µM NES), azonban a nagyobb töménység (10,7 µM) csökkentette a regeneráció mértékét és a hajtások számát is a kísérletekben alkalmazott fajták mindegyikénél (’McIntosh’, ’Triple Red Delicious’, ’Paladino Spur McIntosh’). Sarwar és Skirvin (1997) hat féle NES töménységet (1,5-6,5 µM) vizsgálva szintén úgy találták, hogy a NES sem önmagában, sem BA-val vagy TDZ-vel kombinálva nem befolyásolta jelentősen a regenerációs arányt, illetve a regenerációs helyek számát a kísérletben tesztelt fajták esetében (’McIntosh’, ’Wijcik’, ’Macspur’). Dufour (1990) auxin jelenléte nélkül indukált járulékos regenerációt, sőt megfigyelte, hogy az IVS nagy töménységben gátolta a ’Gala’ fajta regenerációját. Kísérleteiben az IES hatékonyabb volt az alkalmazott koncentrációkban, mint az IVS, a NES kedvezőtlen hatású volt mind a ’Gala’ mind a ’Golden Delicious’ esetében.

Caboni és Tonelli (1999) egy szintetikus auxin, a BOA hatását vizsgálta és hatékonynak találta az alma levéllemezről történő hajtásregenerációjában, de az aktivitása genotípusfüggő volt. A legjobb regenerációs százalékot a ’Jork 9’ alanynál a BOA és BA kombináció alkalmazásával kapták, a ’Gala’ fajtánál a BOA alkalmazása szintén a legnagyobb regenerációs rátát eredményezte akár BA-val, akár TDZ-vel adagolták együtt. A ’McIntosh’ fajta esetében azonban a legjobb eredményeket a NES használatával kapták, sőt a BOA kombinációja TDZ-vel teljes mértékben gátolta a regenerációs aktivitást.

Yancheva *et al.* (2003) szerint az auxin típusa, alkalmazásának időzítése és időtartama döntő jelentőségű a fejlődési program aktiválásában és folyamatában. A ’Topred’ fajta esetében a legjobb regenerációs rátát akkor tapasztalták, amikor TDZ-t alkalmaztak 2,4-D-vel (2 napig) mielőtt az explantátumokat TDZ- és IVS-tartalmú táptalajra helyezték át (33 napig). Az utolsó szaporító táptalaj auxin tartalma szintén hatással volt a regenerációs kapacitásra: amennyiben az utolsó proliferációs táptalaj nagy koncentrációban IVS-t tartalmazott, nagy regenerációs arányt és hajtásszámot kaptak, anélkül, hogy sötét periódust alkalmaztak volna. Alacsony IVS szint alacsony regenerációs arányt eredményezett (sötét kezelés nélkül), azonban a regenerációs fázis alatt alkalmazott sötét kezeléssel e kedvezőtlen hatás kiküszöbölhető volt. A regenerációs táptalaj IVS tartalmát figyelembe véve ugyanez a jelenség volt megfigyelhető Ferradini *et al.* (1996) ’M26’ alannyal végzett kísérleteiben is.

2.5.2. A citokininek szerepe a hajtásregenerációban

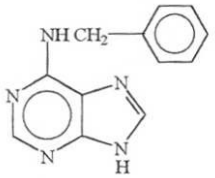
Számos alma alany és nemes regenerációs vizsgálatában több tényezőt (genotípus, táptalaj sótartalom és BA szintek) vizsgálva azok közt jelentős kölcsönhatásokat mutattak ki. Mind a regenerációs gyakoriságot, mind a hajtások számát figyelembe véve a legnagyobb F-értékeket a BA koncentrációkra kapták, így a hajtásregenerációban a legfontosabb tényezőnek a citokinin koncentráció bizonyult (Yepes és Aldwinckle, 1994).

2.5.2.1. A citokininek általános jellemzése

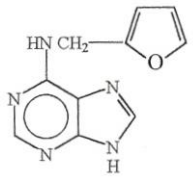
A növényi hormonok egy csoportja a citokininek (N^6 pozicióban szubsztituált adeninek), melyek növekedésszabályozó hatással rendelkeznek a növényekben: stimulálják a fehérje szintézist, segítik a sejtosztódást és szerepet játszhatnak a sejt differenciálódásban (McGaw és Burch, 1995; van Staden *et al.*, 2008). A citokininek ezenfelül elősegítik a kloroplasztiszok érését és késleltetik az öregedést. Alma ültetvényekben az exogén citokininek alkalmazásával befolyásolható a korona szerkezete valamint gyümölcsritkításra is használható (Bubán, 2000). Leglátványosabb hatásaik a szövettenyészetekben figyelhetők meg, ahol leggyakrabban auxinokkal együtt használják őket. Hajtástenyészetekben alkalmazva feloldják az apikális dominanciát és megszakítják az oldalrügyek nyugalmát (van Staden *et al.*, 2008). A táptalajhoz adott citokininek fontosak az alma szövettenyésztésben is (mikroszaporítás, regeneráció), mivel indukálják a sejtosztódást és az organogenezist (Howell *et al.*, 2003), és egyéb fiziológiai és fejlődési folyamatokat is befolyásolnak (Heyl és Schmülling, 2003; Ferreira és Kieber, 2005). A tenyésztés sikerét az alkalmazott citokinin típusa és koncentrációja is befolyásolja, mivel a táptalajból történő felvételük, szállításuk és anyagcseréjük a növényben különböző, és eltérően léphetnek kölcsönhatásba az explantátum endogén citokininjeivel (Werbrouck *et al.*, 1996, Strnad *et al.*, 1997).

Az első citokinint Skoog és Miller (1957) izolálta, dohány kallusztenyészetek növekedését megfigyelve úgy találták, hogy az explantátum sejtjei kezdetben gyorsan osztódtak, majd a növekedés hamarosan leállt. A sejtosztódás és kallusznövekedés csak abban az esetben folytatódott, ha kókuszdió tejet vagy élesztőkivonatot adtak a táptalajhoz. Kromatográfiai vizsgálatok egy purinvegyület jelenlétét mutatták, később ugyanezt a vegyületet hőkezelt heringspermából is kimutatták. Az új növekedésszabályozó anyagot 6-furfuril-aminopurinként azonosították, és sejtosztódást serkentő hatása miatt kinetinnek nevezték el. Később a citokinin név használatát javasolták az összes, hasonló aktivitású vegyület általános elnevezésére (van Staden *et al.*, 2008). Azóta számos, a kinetinhez hasonló szerkezetű, természetben előforduló citokinint azonosítottak, különböző kémiai formákban (szabad bázisok, glükozidok, ribozidok vagy nukleotidok), ilyenek pl. a transz-zeatin, cisz-zeatin, dihidrozeatin, zeatin ribosid, 2-iP, stb. (1. ábra). Annak ellenére, hogy

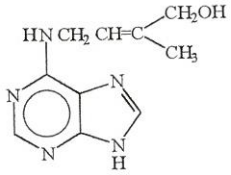
az endogén citokininek természetes körülmények között a teljes növényben jelen vannak, számos izolált szövet és a kisebb szervek - különösen a kétszikűek - *in vitro* körülmények között képtelenek a citokininek elegendő mennyiségű szintézisére (van Staden *et al.*, 2008). A citokinin bioszintézis legfőbb helye a gyökér, de kisebb mértékű szintézis történik egyéb, aktívan növekedő szövetekben is (Pethő, 1993). A citokinineknek két fő osztályát különböztetjük meg az oldalláncok kémiai szerkezete alapján: izoprenoid (zeatinok, izopentenil adeninek és származékaik) és aromás citokininek (kinetin, benziladenin, topolinok és származékaik), melyek különböznek egymástól biokémiájukban, mások a receptoraik, eltérő a biológiai aktivitásuk és anyagcseréjük a növényben (Werbrouck *et al.*, 1996; Strnad *et al.*, 1997, van Staden *et al.*, 2008).



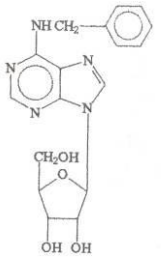
BA (MW 225,26)



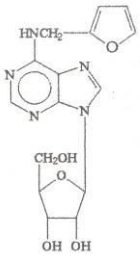
KIN (MW 215,22)



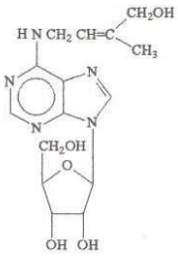
transz-ZEA (MW 219,25)



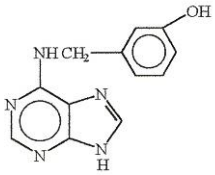
BAR (MW 357,37)



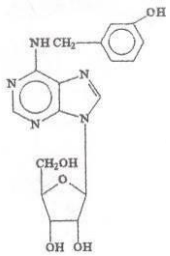
KINR (MW 347,33)



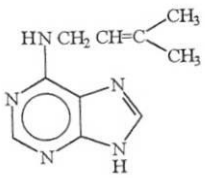
transz-ZEAR (MW 351,40)



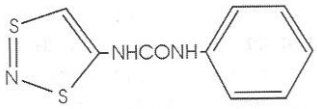
TOP (MW 241,4)



TOPR (MW 373,5)



2-iP (MW 203,26)



TDZ (MW 220,25)

1. ábra. Leggyakrabban előforduló természetes és szintetikus citokininek szerkezete

Annak ellenére, hogy a benziladenin (BA) volt az első szintetikus citokininhatású vegyület, később számos növényfajból izolálták, természetes citokininként (van Staden és Crouch, 1996). A természetes citokinineket figyelembe véve a benziladenin mellett a kinetin (6-furfuril-aminopurin, KIN) a leggyakrabban használt citokinin az alma szövettenyésztési rendszerekben (Barciszewski *et al.*, 1999). Az utóbbi években bebizonyosodott, hogy az aromás citokininek sokkal szélesebb körben elterjedtek, és nagyobb jelentőségűek, mint azt korábban feltételezték. Az izoprenoid citokininek, mint pl. a zeatin ([N6-((-4-hydroxi-3-metilbut-2-enil)adenin], ZEA) főleg az egyszikűekben találhatók meg. Az alma vegetatív hajtáscsúcsából történő hajtásfejlődésben a ZEA lokalizáció szerepet játszott az aktív sejtosztódás mindkét fázisában: először a kalluszfejlődésben, később a vegetatív rügyek differenciálódásában (D'Angeli *et al.*, 2001).

Habár a BA-t gyakran használják citokininként az alma mikroszaporítási és regenerációs rendszerekben, néhány kedvezőtlen mellékhatás felléphet, úgymint gyökeresítési nehézségek, toxicitás, hiperhidratáció, törpe hajtások, kalluszfejlődés stb. Ezek a káros hatások valószínűleg az N^7 és N^9 pozíció glükolizációjának vagy alanin konjugációjának tulajdoníthatóak, melynek következtében egy biológiailag inaktív, de kémiailag nagyon stabil származék keletkezik, amelyből lassú bomlással szabadul fel a BA (Jones *et al.*, 1977; Lane, 1978; Werner és Boe, 1980; Sriskandarajah és Mullins, 1981; Webster és Jones, 1991; Werbrouck *et al.*, 1995).

A BA káros mellékhatásait elkerülendő használhatunk benziladenin analógokat, melyek már konjugáltak az N^9 pozicióban, pl. a benziladenin-9-ribozidot (BAR), illetve az N^6 pozicióban hidroxilált benziladenin analógot, mint a metatopolin (N^6-meta-hydroxi-benzyladenin, TOP). A hidroxilált BA analógok nagyon aktív növekedési anyagok, melyek metabolizmusa eltérő a BA anyagcserétől (Strnad *et al.*, 1997). Néhány növényfaj szövettenyésztési kísérleteiben nagyon hatékony aromás citokininnek bizonyultak. Werbrouck *et al.* (1996) számos benziladenin analógot hasonlítottak össze a *Spathiphyllum floribundum* mikroszaporítási kísérleteiben. Legjobb eredményeket a metatopolin alkalmazásával kapták, mivel megfelelő hajtásprodukciót és jó gyökeresedést tudtak indukálni. Az akklimatizációban mutatott kedvező hatását valószínűleg az okozta, hogy a metatopolin fő származéka a /(OG)/9R/mT/ az akklimatizáció során gyorsabban metabolizálódik, mint a benziladenin fő származéka a /9G/BA. A cukorrépa *in vitro* mikroszaporításban a meta-populin (=metatopolin) több hajtást eredményezett, mint a BA, zeatin vagy az ortho-populin. A populinok (topolinok) még nagyobb koncentrációban sem mutattak gátló hatást. A hajtásregenerációban is eredményesen használták (Kubaláková és Strnad, 1992). A 'Jaerla' burgonya fajtánál jelentősen meg tudták növelni a túlélési arányt, amennyiben a táptalaj aromás citokinint (metatopolin ribozidot) tartalmazott (Baroja-Fernandez *et al.*, 2002). Petúnia és rózsa mikroszaporításában a TOP különböző származékait tesztelve mindkét fajnál jobb eredményeket kaptak, mint a BA alkalmazásával (Bogaert *et al.*, 2006). Az *Aloe polyphylla*

mikroszaporításában szintén jobb eredményeket kaptak a metatopolin használatával, mint a BA vagy ZEA alkalmazásával (Bairu *et al.*, 2007). A *Harphagophytum procumbens in vitro* hajtástenyészeteiben a metatopolin ribozidot tartalmazó táptalajon jelentősen kisebb volt a hajtáscsúcs elhalás mértéke, mint a benziladenint tartalmazó táptalajon (Bairu *et al.*, 2009).

A metatopolin kevésbé hatékonynak bizonyult a *Sorbus redliana* 'Burokvölgy' mikroszaporításában (Ördögh *et al.*, 2006), Az előkezelésben alkalmazott metatopolin kedvező hatását a járulékos hajtások fiziológiai állapotára az alma esetében is kimutatták már (Dobránszki *et al.*, 2002), azonban hatását a regenerációs táptalajban még nem tanulmányozták.

Nagy jelentőségű szintetikus citokinin a thidiazuron (TDZ). A többi szintetikus citokininhez hasonlóan ez is kevésbé érzékeny a növény lebontó enzimjeire, mint más aminopurin citokininek, ezért viszonylag kis koncentrációban is indukálhat nagyobb axilláris proliferációt, mint más citokinin. Számos nem kívánatos mellékhatást okozhat azonban, pl. gátolt hajtás és gyökér megnyúlás, szalagos hajtások képződése, hiperhidratáció stb. Lágyszárú növényeknél emiatt gyakran csak a morfogenezis indukciójára használják (Gémes-Juhász *et al.*, 2002). A fás növények körében főleg a rekalcitráns (ellenálló) fajok és genotípusok mikroszaporítására és regenerálására alkalmas (Huetteman és Preece, 1993; Ďurkovič és Mišalová, 2008).

Az alma esetében a járulékos hajtások fejlődéséhez a citokininek jelenléte nélkülözhetetlen (Yepes és Aldwinckle, 1994; Nabeela *et al.*, 2009). Sriskandarajah *et al.* (1994) szintén úgy találták, hogy a citokinin jelenléte feltétlenül szükséges a kemény és produktív kalluszok fejlődéséhez. A citokininek jelenléte azonban nemcsak a regenerációs táptalajban jelentős, számos szerző kimutatta a regenerációt megelőző táptalaj citokinin tartalmának, illetve az előkezelésekben alkalmazott citokininek szerepét a hajtásregeneráció sikerében. A járulékos hajtások további tenyésztésénél azok túléléséhez és az új hajtások fejlődéséhez a citokinin jelenlétére szintén feltétlenül szükség volt (Sriskandarajah *et al.*, 1990a).

2.5.2.2. Az előkezelésekben alkalmazott citokininek szerepe a járulékos hajtások regenerációjában

Az utolsó szaporító táptalaj citokinintartalma befolyásolhatja a rákövetkező regeneráció sikerét. Swartz *et al.* (1990) olyan 'Gala' leveleken indukált hajtásregenerációt, melyeket különböző citokinint tartalmazó táptalajokról gyűjtött be (citokininmentes, 0,05 µM vagy 0,5 µM TDZ, illetve 5,0 µM BA). Eredményei szerint a citokininmentes táptalajon nagyobb levelek fejlődtek vékony levélnyéllel és a regeneráció aránya ezeken az explantátumokon csak 28% volt. A TDZ- vagy BA-tartalmú táptalajokon fejlődött hajtásokon kisebb levelek fejlődtek vastagabb levélnyéllel és nagyobb mértékű volt az elágazódás. Az ilyen hajtásokról származó explantátumok nagyobb regenerációs százalékot mutattak (63%), és az explantátumonként hajtásszám is nagyobb volt, mint a citokininmentes előkezelésből származó explantátumokon. A hajtások kondicionálása olyan

folyékony táptalajon, melyet kiegészítettek Staba vitaminnal, TDZ-vel és naftilecetsavval jelentősen gyorsította a regenerációt és növelte a hajtások számát (Sriskandarajah és Goodwin, 1998).

Jun *et al.* (1996) kísérleteikben a ’Fuji’ és ’Gala’ hajtások előkezelése 4,4 µM BA-tartalmú táptalajon szintén segítette a hajtásregenerációt. Legjobb regenerációs eredményt (80% felett) a ’Chadel’ fajtánál akkor kaptak, ha az explantátum olyan tenyészetből származott, amelyet 2,5 µM BA-tartalmú táptalajon tenyésztettek olyan műanyag edényben, amelynek a tetején gázcsere nyílások voltak (Gercheva *et al.*, 2009).

Nemcsak a citokinin jelenléte, hanem annak típusa és koncentrációja is befolyásolja az alma explantátumok regenerációs kapacitását. Ezenfelül megfigyelhető az előkezelő és a regenerációs táptalaj citokinin tartalma közötti kölcsönhatás is, különösen a regenerált hajtások fiziológiai állapotát figyelembe véve. Dobránszki *et al.* (2002) kísérleteiben a ’Royal Gala’ anyahajtásokat 3 hétig különböző citokinin-tartalmú táptalajokon tenyésztették a regeneráció előtt (citokininmentes, 0,5 mg/l BA vagy 0,5; 1,0; 1,5 és 2,0 mg/l TOP). Az előkezelések után a hajtásregeneráció kétféle táptalajon történt: a regenerációs táptalaj 0,2 mg/l TDZ-t vagy 5,0 mg/l BA-t tartalmazott. Az előkezelésektől függetlenül mindkét regenerációs táptalajon nagy regenerációs százalékot kaptak (97-100%), a regenerált hajtások fiziológiai állapotában azonban különbségeket találtak. Amennyiben az előkezelő táptalaj 0,5-1,5 mg/l töménységben TOP-ot tartalmazott, jelentősen lecsökkent a hiperhidratált hajtások aránya (36,2-66,5%) a TDZ-tartalmú regenerációs táptalajon, összehasonlítva a BA-tartalmú és kontroll táptalajról származó explantátumokon talált 100 és 88%-kal. Amennyiben a regenerációs táptalaj BA-t tartalmazott a 0,5 mg/l TOP-előkezelés szintén csökkentette a hiperhidratált hajtások arányát 13,4%-ra összevetve a kontroll táptalajról származó explantátumok (56,8%), illetve a BA előkezelésből származó (26,8%) explantátumokon megfigyelt arányokkal. A legtöbb hajtás azokon az explantátumokon fejlődött, melyek a 0,5 mg/l TOP előkezelésből származtak, míg a citokininmentes és BA előkezelés kissé csökkentette az explantátumonkénti hajtásszámot.

Más szerzők közlései szerint a citokininmentes előkezelés is lehet előnyös. Famiani *et al.* (1994) kölcsönhatást mutatott ki az utolsó szaporító táptalaj BA-tartalma és az explantátum izolálás időpontja között a regenerációs rátában. A legnagyobb értékeket akkor kapták, amikor az explantátumok citokininmentes táptalajról származtak és a levelek izolációja az átrakástól számított 30. napon történt, azonban a hajtások számát a kezelések nem befolyásolták. Ferradini *et al.* (1996) kísérleteiben viszont az explantátumonkénti hajtásszám akkor volt nagyobb, mikor az anyahajtásokat a citokininmentes táptalajról gyűjtötték be. Mindkét esetben a citokininmentes előkezelést a BA-tartalmú előkezeléshez hasonlították, így az eredmények talán magyarázhatóak a BA előzőekben vázolt káros utóhatásaival, melyek valószínűleg a kémiailag nagyon stabil származékokból történő lassú felszabadulásának tulajdoníthatóak (Werbrouck *et al.*, 1995). Az

eredmények megerősítik azt a feltételezést, hogy a hidroxilált benziladenin analógok használata, melyek metabolizmusa eltérő a BA-tól, (pl. a metatopolin) alternatív lehetőséget kínál a BA káros hatásainak elkerüléséhez (Strnad *et al.,* 1997). A különböző almafajták előkezelésekre adott válaszait a melléklet M2/1. számú táblázatában foglaltam össze.

2.5.2.3. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokininek szerepe

Az alkalmazott citokininek hajtásregenerációhoz optimális szintje a genotípustól függően nagyon eltérő lehet (Fasolo *et al.,* 1989; Korban *et al.,* 1992; Yepes és Aldwinckle, 1994; Sarwar és Skirvin, 1997). A különböző alma fajták citokininekre adott válaszait a melléklet M2/2. táblázatában foglaltam össze. Az optimális koncentrációt meghatározhatja még az explantátum típusa (levél vagy szár) (Liu *et al.,* 1998), illetve az explantátum mérete. Yepes és Aldwinckle (1994) úgy találták, hogy a kisebb levelek nagyobb dózisú BA-t igényeltek a táptalajban, mint a nagyobb levelek. Az optimális TDZ koncentráció kisebb volt a transzformált gyökerek esetében (0,1 µM), mint a nem-transzformált gyökereknél (1,0 µM) (Pawlicki-Julien *et al.,* 2002).

Az alma regenerációjában leggyakrabban a BA-t és TDZ-t használják, hatásukat számos tanulmányban hasonlították össze. Sriskandarajah *et al.* (1994) ’Delicious’ fajtával végzett kísérleteiben a regenerációs helyek száma jelentősen nagyobb volt, amennyiben a regenerációs táptalaj TDZ-t tartalmazott, BA-tartalmú táptalajhoz hasonlítva, azonban 30,0 µM feletti TDZ koncentráció lágy, később degenerálódott kalluszok fejlődését eredményezte (Sriskandarajah *et al.,* 1994).

Az ’M9’, a ’Golden Delicious’ és ’Florina’ fajták TDZ-tartalmú táptalajon regeneráltak jobban, míg a ’Priscilla’, ’M26’ és ’M27’ a BA-tartalmú táptalajokon adták a legjobb eredményt (Theiler-Hedtrich és Theiler-Hedtrich, 1990). A ’Gala’ fajtánál hasonló eredményeket lehet elérni 1,0 µM TDZ és 22,0 µM BA alkalmazásával (58-54%), míg a ’Jork 9’, ’McIntosh’ és ’Bramley’ fajtáknál a BA bizonyult hatékonyabbnak (Caboni és Tonelli, 1999; McAdam-O’Connel *et al.,* 2004). A ’Fuji’ fajtánál mindkét citokinin hatékony volt: Rodrigues és Barros (1998) 28 féle táptalajt tesztelt a ’Fuji’ fajtával végzett hajtásregenerációs kísérletekben, legjobb kezeléseknek a 7,0 µM TDZ vagy a 11,0 µM BA kombinálva 1,0 µM NES-al bizonyult.

A TDZ számos kísérletben hatékonyabb volt a BA-nál a hajtásregenerációban (Fasolo *et al.,* 1989; Pawlicki és Welander, 1994; Sarwar és Skirvin, 1997). Az optimális TDZ koncentráció nagyban függ a genotípustól. Az ’Alkmene’, ’Greensleaves’, ’Idared’ és ’M9’ fajták számára egy nagyon kis (0,44 µM) koncentráció volt a legjobb. A TDZ-tartalom növekedésével egyre erősebb kalluszosodás volt megfigyelhető, és egyre kevesebb hajtás fejlődött. A hajtások hosszát azonban nem befolyásolta a TDZ koncentráció (Hanke *et al.,* 1991). A ’Royal Gala’ fajtánál 100%-os regenerációs arányt lehetett elérni széles TDZ koncentráció tartománnyal (5-20 µM), míg az ’M7’

alanynál a nagyon nagy töménység (20,0 µM) volt a leghatékonyabb. A ’Macspur’ és ’Gala’ fajták 15 µM TDZ alkalmazásánál adták a legjobb eredményt (Korban *et al.*, 1992).

Nagyobb TDZ koncentráció (22,7 µM) azonban erősen gátolta a ’Gala’ fajta regenerációját (Montecelli *et al.*, 2000). A ’Golden Delicious’ kis TDZ koncentrációt (5,0 µM) igényelt a hatékony regenerációhoz, míg a ’Dayton’ esetében a regeneráció mértékét alig befolyásolta a TDZ töménysége (Korban *et al.*, 1992).

A ’Jork 9’ alany regenerációját tanulmányozva úgy találták, hogy a TDZ elég széles koncentrációját (0,1-17,8 µM) tesztelve minden kezelésben erős morfogénikus gátlást tapasztaltak, ami a koncentráció növekedésével erősödött, és a regenerált hajtások nagy része hiperhidratált volt (Caboni *et al.*, 1996). Liu *et al.* (1998) kísérleteiben (’Royal Gala’) annak ellenére, hogy a regenerációs százalékot nem befolyásolták a tesztelt koncentrációk (1,0; 5,0 és 10,0 µM TDZ), a regenerált hajtások száma csökkent a TDZ koncentráció növekedésével. A legjobb regenerációs eredményeket a ’Macspur’ fajta 2,0 µM TDZ alkalmazásánál adta, míg a 3,0 µM TDZ bizonyult optimálisnak a ’Wijcik’ (Sarwar és Skirvin, 1997), a ’McIntosh’ (Elobeidy és Korban, 1988; Sarwar és Skirvin, 1997), valamint a ’Morspur Golden’ fajtáknál (Gercheva *et al.*, 2000). A ’McIntosh’ fajta szintén jó regenerációt mutatott mind az 1,0 mind a 10,0 µM TDZ alkalmazásával, míg a ’Paladino Spur McIntosh’ a nagyobb (10,0 µM) TDZ szint esetén regenerált jobban (Fasolo *et al.*, 1989). A ’Starkrimson’ fajtánál a 12,0 µM TDZ bizonyult optimális koncentrációnak, míg a ’Granny Smith’ 3,0-12,0 µM TDZ tartományban minden szinten nagy regenerációs arányt mutatott (Gercheva *et al.*, 2000). A ’Galaxy’ fajta szintén jó regenerációt produkált a TDZ széles koncentráció tartományában (6,8-13,6 µM) (Erig *et al.*, 2004). Virscek-Marn *et al.* (1999) kísérleteikben a ’Golden Delicious Bovey’ és a ’Goldspur’ fajták egy igen kis (0,91 µM) TDZ töménység alkalmazásával adták az explantátumonkénti legnagyobb hajtásszámot és a jól fejlett, egészséges hajtások legnagyobb arányát. Annak ellenére, hogy a regenerációs kapacitás növelhető a TDZ alkalmazásával, a hajtások többsége hiperhidratált és szalagosodott volt Pawlicki és Welander (1994) valamint Caboni *et al.* (1996) kísérleteikben. Dobránszki *et al.* (2002) szintén megfigyelték, hogy a TDZ-tartalmú regenerációs táptalajon fejlődött hajtások nagyobb arányban mutattak hiperhidratációt (36,2-100 % előkezelő táptalajtól függően), mint a BA-tartalmú táptalajon fejlődött hajtások (13,4-56,8% előkezelő táptalajtól függően). A ’McIntosh’ és a ’Paldino Spur McIntosh’ fajtáknál egyformán jó eredményt lehetett elérni a regenerációs gyakoriság és a hajtásszám tekintetében a 22 µM BA- és a 10 µM TDZ-tartalmú táptalajon. A ’Triple Red Delicious’ fajtánál azonban csak a TDZ bizonyult hatékonynak: legjobb regenerációs arányt a 10 µM TDZ-vel kapták, míg egyformán nagy hajtásszámot értek el az 1,0 és 10,0 µM TDZ-tartalmú regenerációs táptalajon. Összességében a TDZ-t találták hatékonyabbnak a regenerációban bár a fejlődött hajtások jóval

kompaktabbak, az internódiumok rövidebbek voltak és kisebb levelek fejlődtek, mint a BA-tartalmú táptalajon (Fasolo *et al.*, 1989).

Mivel a TDZ-t tartalmazó táptalajon regenerált hajtások nehezen nyúlnak meg, Dufour (1990) javasolta, hogy a TDZ-t csak azoknál az ún. „rekalcitráns" genotípusoknál alkalmazzuk, amelyeknél a klasszikus citokininekkel nem lehet eredményt elérni. Annak ellenére, hogy gibberellin (GA_3) alkalmazásával elősegítették a hajtások megnyúlását, az ilyen hajtások rügyeinek kicsi volt a proliferációs képessége az 'Orine' fajtánál (Gamage és Nakanishi, 2000).

Egy korai kísérletben Masuda *et al.* (1988) a *Malus prunifolia* Borkh. var. *ringo* 'Asami' genotípus gyökér explantátumain indukált regeneráció során tanulmányozta a különböző BA koncentrációk (1,0-10,0 mg/l) hatását. A BA-tartalom növelésével (1,0-től 5,0 mg/l-ig) növekedett a regenerációs százalék (30,0%-ról 69,0%-ig), de a BA-tartalom tovább növelése 10,0 mg/l-re már visszaesést eredményezett a regenerációs rátában (60,0%). A levél explantátumról történő hajtásregenerációban is hasonló töménységű BA (22,0 µM) bizonyult optimálisnak számos egyéb nemes és alany fajtánál is: 'Åkero', 'McIntosh', 'McIntosh Wijcik', 'Gravenstein', 'M26' (Welander, 1988), 'Jork 9' (Pawlicki és Welander, 1994), 'MM106' (Modgil *et al.*, 1999; 2005), 'Nezalehnist' és 'Idared' (Bartish és Korkhovoi, 1997), 'Gami Almasi' (Rustaee *et al.*, 2007). A 'Florina' fajta számára az optimális BA tartománynak a 22,2-44,4 µM találták (Bartish és Korkhovoi, 1997). Ezzel szemben a 'Toscan', az 'M9' és az 'M25' fajták csak 8,8 µM BA-t igényeltek a hatékony regenerációhoz (James *et al.*, 1988). A hajtásprodukció a 11,0 µM BA-t tartalmazó táptalajon volt a legjobb a 'Marubakaido' alany és a 'Hanfu' fajták esetén (Camargo *et al.*, 1998; Ou *et al.*, 2008).

Ongjanov (1988) tanulmányaiban a 'Malling Greensleaves' 8,8 µM BA-t igényelt a legjobb regenerációs eredményekhez (54% regenerációs arány és 1,8 explantátumonkénti hajtás), míg az 'M26' esetében hasonló paramétereket nagyobb (22,0 µM) BA koncentrációval tudtak elérni. Hasonló következtetésre jutottak Famiani *et al.* (1994) az 'M26' alannyal folytatott regenerációs kísérleteikben: annak ellenére, hogy a regenerált hajtások hosszát és számát nem befolyásolta a BA töménysége a táptalajban, a magasabb BA szint (22,2 µM) nagyobb regenerációs százalékot eredményezett, mint az alacsonyabb (11,1 µM). A BA töménység további növelése (33,3 és 44,4 µM-ig) jelentősen csökkentette a regenerációs tulajdonságokat az 'M26' alanynál (Ferradini *et al.*, 1996). Az optimális BA koncentráció 31,1 µM volt a 'Golden Delicious' és az 'Empire' fajták esetében. A BA koncentráció növekedésével nőtt a regenerációs gyakoriság és a hajtások száma is, azonban a túl magas BA szint (44,4 µM) jelentősen csökkentette a regeneráció mértékét (Yepes és Aldwinckle, 1994).

Amennyiben a ’Golden Delicious’ fajtánál a hajtások regenerációja internodális szárdarabkákon történt a regeneráció arányát a tesztelt BA koncentráció (4,44-22,0 µM) nem befolyásolta, bár a hajtások száma jelentősen csökkent a BA-tartalom növelésével (Belaizi *et al.*, 1991).

A ’Jork 9’ fajtánál a 0,1 és 17,8 µM közötti BA tartomány erősen stimulálta a morfogenezist (Caboni *et al.*,1996).

Sarwar és Skirvin (1997) kísérleteiben alkalmazott fajták esetében a BA nem volt olyan hatékony, mint a TDZ, azonban egyértelmű összefüggést figyeltek meg a genotípusok számára optimális BA koncentráció és növekedési habitusuk között. A törpe növekedésű ’Wijcik’ 20,0 µM BA kezelésnél mutatta a legjobb regenerációt, míg az erősebb növekedésű ’McIntosh’ 12,0 µM BA koncentrációnál teljesített legjobban. A közepes növekedésű ’Macspur’ pedig 16,0 µM BA-tartalmú regenerációs táptalajon adta a levelenkénti legnagyobb hajtásszámot. Hasonló BA koncentráció (17,6 µM) bizonyult optimálisnak a *Malus baccata* esetében is (Sun *et al.*, 2008).

A BA töménység hatása a járulékos hajtások regenerációjára egyéb tényezőkkel kölcsönhatásban érvényesül: amennyiben a BA mellett NES-t használtak auxinként, a BA koncentráció növelésével (8,9-ről 17,8 µM-ra) a ’Jork 9’ fajta regenerációs aránya megnőtt, míg abban az esetben, ha a BA mellett BOA-t használták semmilyen tendenciát nem tudtak kimutatni. Hasonló eredményeket kaptak a ’McIntosh’ fajtánál, míg a ’Gala’egy alacsonyabb BA töménységre (11,0 µM) reagált jobban, ha NES-el alkalmazták együtt (Caboni és Tonelly, 1999). Amennyiben IVS-t használtak auxinként a ’Gala’ fajta még alacsonyabb BA szintnél (4,4 µM) adta a legjobb regenerációs eredményeket (Fasolo és Predieri, 1990).

Néhány hajtásregenerációs kísérletben többféle citokinin hatását hasonlították össze. Hanke *et al.* (1991) tanulmányozták a BA (5,0 mg/l), a ZEA (0,25-0,4 mg/l), a TDZ (0,05-0,8 mg/l) valamint a kettős citokinin (BA 2,5 mg/l + TDZ 0,1-0,2 mg/l) hatását az ’Alkmene’, ’Greensleaves’, ’Idared’ és ’M9’ fajták regenerációjában. Úgy találták, hogy a TDZ önmagában alkalmazva a legjobb, és a leghatékonyabb koncentrációja a 0,1 mg/l, a többi citokinin - különösen a ZEA – csak kalluszfejlődést indukált az explantátumon.

Saito és Suzuki (1999) a ’Fuji’ és a ’Ringo Asami Mo84-A’ fajtákkal végzett kalluszról történő regenerációs kísérleteiben szintén többféle citokinint hasonlított össze, beleértve a BA-t, a 2iP-t (6-(3,3-dimethylallyl-amino)purine), a CPPU-t és a TDZ-t. Leghatékonyabb citokinin a TDZ volt 9,08-22,7 µM töménységben, majd ezt követte a CPPU 3,0-5,0 mg/l töménységben, míg a többi tesztelt citokinin nem volt hatékony. Liu *et al.* (1994) a ’Fuji’ fajta sziklevelein indukáltak kalluszfejlődést, majd a kalluszokat különböző töménységű és típusú citokinin-tartalmú táptalajokon tenyésztve vizsgálták a járulékos hajtások indukcióját. Legjobb eredményeket (60% regeneráció és 12 hajtás explantátumonként) a 4,0 mg/l CPPU alkalmazásával értek el, szintén jó

eredményt kaptak még a TDZ használatával, azonban kisebb volt a regenerációs % és a hajtásszám, míg a BA bizonyult a legkévésbé hatékonynak.

A TDZ és a természetes citokininek hatását tanulmányozták De Bondt *et al.* (1996) a 'Jonagold' fajta transzformált leveleinek regenerációs képességére. A TDZ használata eredményezte a legnagyobb transzformációs hatékonyságot, míg a BA alkalmazásával nagyon kis transzformációs hatékonyságot értek el. A ZEA- és 2iP-tartalmú táptalajokon nem fejlődtek hajtások. A kombinált citokininek hatását is tesztelték és úgy találták, hogy amennyiben a TDZ-t kiegészítették ZEA-val vagy 2iP-vel a transzformációs hatékonyság jelentősen növekedett (0,8-1,5%), míg a TDZ + BA kombináció 0-0,6%-ot eredményezett (De Bondt *et al.*, 1996). Az előzőekhez hasonlóan a KIN és ZEA önmagában alkalmazva nem indukált járulékos hajtásokat a 'Fuji' fajta esetében sem (Ling *et al.*, 2002).

Az eredményeket összefoglalva leszögezhetjük, hogy a regenerációban leghatékonyabb citokininnek a TDZ és a BA bizonyult, míg az egyéb citokininek (ZEA, 2iP és KIN) kevésbé alkalmasak az organogenezis indukciójára. A növényi hormonok és növekedés-szabályozók közül a citokininek bizonyultak a legfontosabb hajtásregenerációt befolyásoló tényezőnek, ezek jelentős hatásai valószínűleg az indukált szövetben végbemenő szövettani változásokkal kapcsolatosak.

2.5.3. Növényi hormonok és növekedés szabályozók szerepe az in vitro tenyészetek szövettani szerkezetében

A növények *in vitro* morfogenezisét a tenyésztési körülmények jelentősen befolyásolhatják: ilyenek pl. a fény, hőmérséklet, páratartalom és ozmotikus potenciál a tenyésztőüvegekben, tápanyagellátás, szénhidrátok, valamint a táptalaj növényi hormon és növekedési regulátor tartalma. Ezek a tényezők kölcsönhatásba lépnek az explantátumok belső tényezőivel (Hazarika, 2006; Ziv és Chen, 2008). A speciális körülmények miatt az *in vitro* növénykék jellemzői nem egyeznek meg az üvegházi, illetve szántóföldi növények fiziológiai, morfológiai és anatómiai jellegeivel. Néhány szerző leírta az anatómiai eltéréseket, amelyeket az *in vitro* körülmények között fejlődött levelek, szárak és gyökerek, valamint az üvegházban, illetve szántóföldi körülmények között fejlődött szervek összehasonlítása során tapasztalt (Cozza *et al.*, 1997; Hazarika, 2006; Ziv és Chen, 2008; Ganeva *et al.*, 2009).

Habár az anatómiai változások különböző növényi szervekben figyelhetők meg, az egyik legfontosabb szerv a levél, annak szerkezeti és/vagy funkcionális változásai jelentősen meghatározzák az akklimatizáció sikerét (Cozza *et al.*, 1997; Zobayed *et al.*, 2001; Hazarika, 2006), vagy módosíthatják a levelek morfogenetikus potenciálját és ezáltal a regeneráció hatékonyságát (Schmidt és Waldemaier, 1992; Kiss *et al.*, 1994; 1997).

Általában az *in vitro* fejlődött levelek szövetei kb. 50%-al vékonyabbak, így maga a teljes levéllemez is vékonyabb, mint az *in vivo* fejlődött növényekéi (Ganeva *et al.*, 2009), az epidermiszen kevésbé fejlett, vékonyabb a kutikula (Wetzstein és Sommer, 1982). A légcserenyílások sűrűsége fajtól függően kisebb, pl. az olajfánál (Cozza *et al.*, 1997) vagy nagyobb is lehet, pl. az óriásáfonyánál (Noé és Bonini, 1996), dohánynál, karfiolnál (Zobayed *et al.*, 2001). Az alma (*Malus pumila* Mill.) esetében szintén nagyobb sztóma sűrűséget írtak le az *in vitro* hajtások megfigyelésekor (Blanke és Belcher, 1989). A sztóma denzitását befolyásolhatja még az alkalmazott fotoperiódus is, Zacchini *et al.* (1997) kísérleteiben a legnagyobb sztómasűrűséget a folyamatosan fényen tartott tenyészetekben találták, míg a legkisebbet a folyamatosan sötétben tartott tenyészetekben, az 'M9' alma alany esetében. A sztómák sűrűségét azonban nemcsak környezeti tényezők, hanem a genetikai háttér is befolyásolhatja. Blanke *et al.* (1994) megfigyeléseik szerint az *in vitro* tenyésztett tetraploid alma levelein 60-70 sztóma fejlődött mm^2-ként, míg a diploid és triploid almák levelein 475-575. A sztómák az epidermiszből gyakran kiemelkedenek, nyitottak (Sutter *et al.*, 1992; Jámbor-Benczúr *et al.*, 2001). A sztómák funkcionálisan tökéletlenek, a dohány és karfiol levelein akkor sem záródtak, amikor a növényke sötét vagy alacsony relatív páratartalmú környezetbe került (Zobayed *et al.*, 2001), vagy részben voltak csak funkcióképesek az almánál (Shackel *et al.*, 1990). Az alma, cseresznye és édesgumi kiültetett *in vitro* hajtásain késleltetett sztóma reakciót írt le Sutter (1988). Brainerd és Fuchigami (1992) kísérleteiben az almánál ('Mark' fajta) is megfigyelte, hogy az *in vitro* hajtások levelein a sztómáknak kevesebb, mint 5%-a záródott be, amikor sötétre kerültek a növények, illetve mannit, ABA vagy CO_2 kezelést alkalmaztak.

Az *in vitro* tenyésztett növények leveleit gyengébb mezofillum differenciáció jellemzi: hiányzik vagy gyengén fejlett az oszlopos parenchima, egysoros sejtréteggel (Cozza *et al.*, 1997; Hazarika, 2006; Yokota *et al.*, 2007) a szivacsos parenchima nagy sejtközötti járatokkal tarkított (Wetzstein és Sommer, 1982). A sejtek kicsik és inkább kerekdedek (Noé és Bonini, 1996), mint megnyúltak a paliszád parenchimában, és a szivacsos parenchima sejtek vakuolumokat tartalmaznak viszonylag vékony citoplazmával a nagy központi vakuolum körül. A mezofillumban nagy sejtközötti járatok vannak és gyenge szállítónyalábrendszer jellemző (Cozza *et al.*, 1997).

A kloroplasztiszok gyakran abnormálisak, szervezetlen, vagy rosszul fejlődött gránumokkal, sok sztrómával és keményítőszemcsével. A fény minősége és intenzitása módosíthatja a kloroplasztiszok funkcionális területeit a paliszád sejtekben (Saebo *et al.*, 1995; Hazarika, 2006; Ziv és Chen, 2008).

Az *in vitro* hajtások kloroplasztiszaira jellemző az alacsony klorofill-tartalom. Tantos *et al.* (2001) kísérleteikben azt tapasztalták, hogy a 'JTE-E4' alma alanynál a gyökeresítés fázisában alkalmazott triakontanol jelentősen megnövelte a klorofilltartalmat, bár a citromfű esetében az ily

módon megnövekedett klorofill-tartalom nem eredményezte a fotoszintétikus aktivitás növekedését (Tantos *et al.*, 1999).

Az *in vitro* levelekben megfigyelt anatómiai, morfológiai és fiziológiai eltérések többsége kapcsolható az *in vitro* megfigyelt változásokhoz és rendellenességekhez, melyek befolyásolhatják az *in vitro* növények akklimatizációjának sikerét (Hazarika, 2006; Yokota *et al.*, 2007; Ziv és Chen, 2008).

Jelenleg kevés ismerettel rendelkezünk azokról a szerkezeti és funkcionális változásokról, amelyeket a táptalajhoz adagolt növényi hormonok és növekedés-szabályozók indukálnak az *in vitro* levelekben, és amelyek befolyásolhatják a levelek organogénikus képességét. Ennek ellenére az előkezelések jelentős hatását a hajtásregenerációra már bizonyították: a *Malus* nemzetségben mind a TDZ mind a BA alkalmazása az előkezelő táptalajban stimulálta a levelekről történő hajtások organizációját (Fasolo *et al.*, 1989; Swartz *et al.*, 1990; Jun *et al.*, 1996; Sriskanadarajah és Goodwin, 1998). Annak ellenére, hogy a citokininek központi szerepet játszanak a növények fejlődésében, jelként történő érzékelésük, átadásuk és eloszlásuk kevésbé ismert (Mok és Mok, 2001). Benková *et al.* (1999) leírták, hogy a levél citokininek jelentős része a kloroplasztiszban lokalizálódik. Kulaeva *et al.* (2002) elsőként bizonyították a kloroplasztisz fejlődésnek és/vagy a kloroplasztisz gének expressziójának szerepét a levél sejtek citokininekre adott válaszában. Tanulmányaikban leszögezték, hogy a normális kloroplasztisz fejlődés és kloroplasztisz gének expresziója elengedhetetlen a levelek normális citokinin reakciójához.

Az *in vitro* növénykék egyik tipikus jelensége a hiperhidratáció vagy régebbi nevén vitrifikáció, magyarul „vizesedés”, illetve „üvegesedés”. Ez az *in vitro* vegetativ szaporítású növények morfológiai és fiziológiai rendellenessége. Az elnevezés abból adódik, hogy a növénykék megjelenése kissé áttetsző, „üveges”. Az ilyen növények szára és levele gyakran vastag, merev és törékeny (Hazarika, 2006), esetleg csavarodott (Fauguel *et al.*, 2008) (2. ábra). A levél parenchima sejtek megnagyobbodtak, az edénynyaláb rendszer fejletlen, a fa és háncstestek kevésbé fásodnak (Fauguel *et al.*, 2008).

Hiperhidratált tenyészetek fejlődését okozhatja pl. a táptalaj kedvezőtlen pH értéke, nem megfelelő sók (Toldi *et al.*, 2002) és hormonok/növekedés-szabályzók (Neves *et al.*, 2001) használata, valamint az elégtelen gázcsere a tenyészedényekben (Fal *et al.*, 2002), de egy fajon belül jelentős szerepe van a genotípus érzékenységének is (Budiarto, 2009).

A hiperhidratáció gyakori jelenség a folyadéktenyészetekben (Zhu *et al.*, 2005) valamint a járulékos hajtásregeneráció során (Bolar *et al.*, 1999; Fauguel *et al.*, 2008). Zhu *et al.* (2005) az ’M26’ alany RITA tenyészedényben történő tenyésztése során megfigyelték, hogy a növekvő citokinin koncentráció növeli a hiperhidratált hajtások számát.

2. ábra. A hiperhidratáció jelensége ’M26’ hajtástenyészeten

Számos márkajeggyel védjegyzett, kereskedelmi forgalomban kapható agar tesztelésekor megfigyelték, hogy a táptalaj szilárdítására használt agar minősége jelentős szerepet játszott a hajtások hiperhidratációjában a *Malus prunifolia* (Willd.) ’Marubakaido’ alany mikroszaporítási kísérleteiben (Pereira-Netto *et al*., 2007). Az agar hidrolizációja után azonban találtak olyan komponenst, amellyel a folyadéktenyészetekben nevelt alma hajtások (’M26’) hiperhidratációját kiküszöbölték. A kedvező hatást mutató agarfrakció egy galaktóz származéknak bizonyult (Marga *et al*., 1997).

2.6. A járulékos hajtások gyökeresítése és akklimatizációja

Az intakt növények előállításának feltétele a járulékos hajtások gyökeresítése és sikeres akklimatizációja. Az *in vitro* alma hajtások gyökeresedési képességét számos tényező befolyásolhatja, ilyen pl. a genotípus (Harbage és Stimart, 1996; Zhou *et al*., 1992), a hajtások kora (Karhu és Ulvinen, 1995). Az *in vitro* tenyésztési körülmények, pl. a sötét környezet, a gyökérindukciós fázisban szintén jelentős szerepet játszanak (Karhu és Zimmermann, 1993; Welander, 1985), éppenúgy mint a táptalaj összetétele a gyökérindukciós és elongációs fázis alatt, és előtte. A gyökeresedési folymatokban legfontosabb tényezőnek az auxinok bizonyultak (James, 1983), de a szaporító táptalaj citokinin tartalma szintén befolyásolhatja az *in vitro* alma hajtások gyökeresedési kapacitását (Marin *et al*., 1993; Magyar-Tábori *et al*., 2001a). Legtöbb esetben a benziladenin és a TDZ gátló hatását közölték (van Nieuwkerk *et al.*, 1986; Webster és Jones, 1991). Sriskandarajah *et al.* (1990b) az utolsó szaporító táptalajban a benziladenin mellett kinetint használt, hogy a hajtások gyökeresedését elősegítse. Annak ellenére, hogy a ‘Húsvéti rozmaring’ fajtánál a gyökeresedési százalékot nem befolyásolta a szaporító táptalajban használt citokinin típusa, a metatopolin jelentősen hosszabb gyökereket eredményezett, míg a benziladenin jelentősen megnövelte a gyökerek számát (Dobránszki *et al*., 2000). A szaporító táptalajban nagy töménységben alkalmazott TDZ még akkor is gátolta a gyökeresedést, ha néhány citokinin-mentes

táptalajon való tenyésztést is közbeiktattak (van Nieuwkerk *et al*., 1986). A helyesen megválasztott citokinin kombináció hozzájárulhat az alma hajtások sikeres akklimtaizációjához (Sriskandarajah *et al.*, 1990b).

A járulékos hajtások regenerációja legtöbbször citokinint nagy töménységben tartalmazó táptalajon történik, ami jelentősen befolyásolhatja (gátolhatja) a hajtások gyökeresedési képességét (van Nieuwkerk *et al*., 1986). Ennek ellenére nagyon kevés információ van a regenerációs táptalajban alkalmazott citokininek utóhatásáról. Mivel a regeneránsok a kontrollhoz ("szülő vonalhoz") képest csökkent gyökeresedési képességet mutathatnak (James és Dandekar, 1991), a regenerált hajtások sikeres gyökeresítése és akklimatizációja legtöbbször szaporító táptalajon történő utántenyésztés után valósítható meg (Dufour, 1990; James *et al*., 1989; Maximova *et al*., 1998; Modgil *et al*., 1999; Nabeela *et al*., 2009; Pawlicki ésWelander, 1994; Sedira *et al* 2001; Yao *et al*., 1995, Zhu *et al*., 2001). Néhány *Malus pumila* regenerált hajtás azonban nem volt képes még növekedni sem a szaporító táptalajon (James *et al.* (1989). Számos kísérletben sikeres volt a járulékos hajtások közvetlen gyökeresítése is (Korban *et al*., 1992; Sriskandarajah *et al*., 1994; Szankowski *et al*., 2003). A járulékos hajtások sikeres gyökeresítése és akklimatizációja után nem tapasztaltak vizuálisan elkülöníthető morfológiai eltérést, illetve abnormalitást (Welander, 1988; James *et al.*, 1989; Maximova *et al*., 1998; Rugini és Muganu, 1998). A 'Gala' fajta regenerált hajtásai szintén normális növekedést mutattak és genetikailag stabilnak bizonyultak (Montecelli *et al*., 2000). A kiültetett növények az első két hétben 10-15 cm-t nőttek és 5-9 új levél fejlődött, 10 hónap múlva 150 cm magas növények fejlődtek (Maximova *et al*., 1998).

Alma regenerációs kísérletekben leggyakrabban a benziladenint és a thidiazuront használják, habár a TDZ káros mellékhatásait gyakran megfigyelték: ilyen pl. a hiperhidratáció (Dobránszki *et al*., 2004), valamint a hajtások megnyúlásának gátlása (Dufour, 1990; Theiler-Hedtrich és Theiler-Hedtrich, 1990). A metatopolint és származékait lágyszárú fajok mikroszaporításában és regenerálásában sikeresen használták anélkül, hogy a gyökeresedésben negatív hatást tapasztaltak volna (Bairu *et al*. 2007; Kubaláková és Strnad, 1992).

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Növényanyag, a kísérletben felhasznált fajták jellemzése

’Royal Gala’ (1973): A ’Gala’ fajtakör első elismerést kapott rügymutációja. A ’Gala’ alapfajtát a ’Kidd’s Orange Red’ x ’Golden Delicious’ keresztezésével állították elő Új-Zélandon. Nagy termesztési és piaci értékű fajta. Koronája nagy; középérésű fajta és korán termőre fordul. Kiváló termőképességű. Gyümölcse középnagy, gömbölyded, kemény, roppanó húsú, édeskés ízű, aromás. A gyümölcs alapszíne sárgás, narancsvörös csíkozott fedőszínnel (3. ábra).

3. ábra. A ’Royal Gala’ gyümölcse

Meglehetősen fogékony a ventúriás varasodásra, míg az almafa-lisztharmat és a baktériumos ágelhalás kevésbé károsítja. A téli és tavaszi hidegtűrése viszonylag jó (G. Tóth, 1997).

’Freedom’: Az Amerikai Egyesült Államok fajtája. Fája erős növekedésű, koronája szétterülő, lehajló. Korán termőre fordul, bőtermő fajta. Elágazódási hajlama jó. Gyümölcse nagy, vagy igen nagy, lapított gömb alakú. A gyümölcs alapszíne sárga, piros fedőszínnel. Húsa krémszínű, íze kellemes, friss fogyasztásra, ipari feldolgozásra egyaránt alkalmas (4. ábra).

4. ábra. A ’Freedom’ fajta gyümölcse

Étkezési célra több menetben, szeptember második felében szüretelhető. Varasodással, baktériumos ágelhalással, ágrákosodással szemben ellenálló (Szabó, 2001).

’Húsvéti rozmaring’: Választékbővítő fajta, gyümölcse fedőszín nélküli, a fogyasztási érettségben is zöld marad (5. ábra).

Intenzív koronás művelésmódra nem alkalmas, későn fordul termőre és rendszertelenül terem, varasodásra nagyon érzékeny (G. Tóth, 1997).

5. ábra. A ’Húsvéti rozmaring’ gyümölcse

’M26’: Az ’M16’ x ’M9’ alanyok keresztezésével állította elő Tydeman 1926-ban (Probocskai, 1984). Féltörpe növekedési erélyű alma alany. Korai termőre fordulás, kiváló termőképesség jellemzi, azonban a talajban való rögzülése elégtelen. Télállósága közepes, *Erwiniára* érzékeny, lisztharmat rezisztenciája jó, varasodásra közepesen érzékeny (Hrotkó, 1997).

3.2. Kísérletek beállítása

3.2.1. Hajtástenyészetek in vitro felszaporítása

A kísérletsorozatok kiindulási anyagaként a ’Royal Gala’, ’Freedom’, ’Húsvéti rozmaring’ nemes fajták és az ’M26’ alany *in vitro* hajtástenyészeteit használtuk fel. A hajtástenyészeteket Murashige-Skoog (1962) táptalajon szaporítottuk fel, mely az MS-sók és MS-vitaminok mellett 3% szacharózt és 0,7% agar-agart tartalmazott, a táptalaj pH-t 5,8-re állítottuk be az autoklávozás előtt. A hajtástenyészetek felszaporítására az előzetes kísérletek adatai szerint a genotípusoknak legmegfelelőbb citokinin-auxin kombinációkat alkalmaztuk (1. táblázat).

1. táblázat. A hajtásszaporító MS táptalaj fajta-specifikus hormon-kombinációi

Fajta	**Hormonok**			
	BA	**BAR**	**IVS**	**GA_3**
’Royal Gala’	-	1,0 mg/l	0,3 mg/l	0,2 mg/l
’Freedom’	-	0,5 mg/l	0,1 mg/l	0,2 mg/l
’Húsvéti rozmaring’	1,0 mg/l	-	0,3 mg/l	0,2 mg/l
’M26’	0,5 mg/l	-	0,1 mg/l	0,2 mg/l

Hajtássokszorozásra 400 ml-es tenyészedényeket használtunk (6. ábra), a hajtásokat horizontálisan helyeztük el és a növényeket nevelőhelyiségben neveltük napi 16 órás, 8000 lux (105 $\mu Mm^{-2}s^{-1}$) megvilágítás és 22ºC $\pm$ 2 ºC hőmérséklet mellett. A hajtásokat 4 hetente friss táptalajra helyeztük és a felszaporítást addig végeztük, míg a kísérletekhez szükséges hajtásszámot elértük.

6. ábra. Mikroszaporítással előállított alma hajtástenyészet

Két kísérletsorozatot állítottunk be, amelyekben vizsgáltuk az előkezelő és a regenerációs táptalajok citokinin-tartalmának hatását a levéllemezről történő hajtásregenerációra.

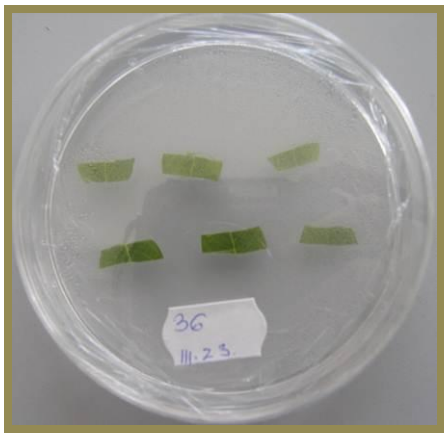
3.2.2. Előkezelések hatása az explantátum hajtásregenerációs képességére

Az előkezelések során tenyészedényenként 5-5, 5-7 leveles, megközelítőleg egyforma hosszúságú *in vitro* alma hajtást állítottunk különböző citokinin-tartalmú táptalajokra (2. táblázat), 3 hétig. Az előkezelő táptalajok többi összetevője a szaporító táptalajjal megegyező volt.

2. táblázat. Az előkezelő táptalajban alkalmazott citokininek típusa és koncentrációja

Citokinin típusa	**Citokinin koncentrációja mg/l (µM)**				
TOP	0	0,5 (2,07)	1,0 (4,14)	1,5 (6,21)	2,0 (8,28)
BAR	0	0,5 (0,40)	1,0 (2,8)	1,5 (4,2)	2,0 (5,60)
BA	0	0,5 (2,22)	1,0 (4,44)	1,5 (6,66)	2,0 (8,88)
KIN	0	0,5 (2,32)	1,0 (4,64)	1,5 (6,96)	2,0 (9,28)
BA+TOP	0	0,5+0,5	0,5+1,0	0,5+1,5	0,5+2,0
BA+KIN	0	0,5+0,5	0,5+1,0	0,5+1,5	0,5+2,0

A különböző citokinin-tartalmú táptalajokon előnevelt hajtások újonnan fejlődött leveleit tesztregenerációs táptalajra helyeztük. A hajtásokról a felső két, teljesen szétterült levelet használtuk fel regenerációra. A levelek levélnyél felőli és csúcsi részét eltávolítottuk, és a leveleket keresztben két, kb. 5 mm széles csíkra vágtuk (7. ábra). A vágásokat citromsavat (0,15 g/l) és aszkorbinsavat (0,1 g/l) tartalmazó steril oldatban végeztük.



7. ábra. Levélexplantátumok a regenerációs táptalajon

A levél explantátumokat ezután adaxiális oldalukkal lefelé a regenerációs táptalajra helyeztük, kezeléskombinációnként 36-ot, petri csészénként 6-6 db-ot. A regenerációs táptalaj MS sókat, B5 vitaminokat, 100 mg/l myo-inozitot, 0,2 mg/l naftil-ecetsavat), 0,25% gelritet, 3% szacharózt és citokininként benzil-adenint tartalmazott 5,0 mg/l töménységben.

Az explantátumokat sötétben 24,5 ºC-on inkubáltuk 3 hétig, majd fényre helyezve (16 h megvilágításon, 22$\pm$2 ºC-on) neveltük a tenyészeteket további 4 hétig. A fényintenzitást hetente növeltük: 35 µmols^{-1} m^{-2} volt az 1. héten, 70 µmols^{-1} m^{-2} a 2. héten és 105 µmols^{-1} m^{-2} a 3. héttől.

3.2.3. Regenerációs táptalaj citokinin-tartalmának hatása a regenerációra

A genotípusoknak megfelelő előkezelések kiválasztása után a tesztregeneráció során leírt módszertannal megegyezően teszteltük az explantátumok regenerációs képességét különböző citokinin-tartalmú táptalajokon (3. táblázat).

3.2.4. Szövettani vizsgálatok

A szövettani vizsgálatokat a ’Royal Gala’ fajta esetében végeztük el. A hajtásokat 3 hétig neveltük az 2. táblázatban bemutatott előkezelő táptalajokon, 22$\pm$2 ºC-on, 16 órás 105 µmols^{-1} m^{-2} megvilágítás mellett. Kontrollként citokininmentes táptalajt alkalmaztunk. Az alma növénykék 3 hét alatt legalább egy, de általában két új levelet fejlesztettek kezeléstől függően. A szövettani vizsgálatokat ezután végeztük el a felső két, újonnan fejlődött levélből. A levélmintákat 5% glutaraldehidben fixáltuk 2 órán keresztül, majd 1,5 óráig kezeltük ozmium-tetroxiddal, majd aceton grádiensben dehidratáltuk. A dehidratálás után Spurr gyantába ágyaztuk, majd toulidin

kékkel festettük meg. A levél keresztmetszeteket ultramicrotome (Reichert) eszközzel készítettük, majd fénymikroszkóppal vizsgáltuk. A metszetek és a fényképek a Budapesti Corvinus Egyetem Budai Campusának Központi Laboratóriumában készültek.

3. táblázat. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokininek típusa és koncentrációja

Citokinin típusa	Citokinin koncentrációja mg/l (µM)					
TDZ	0,5 (2,27)	2,0 (9,08)	3,5 (15,89)	5,0 (22,70)	6,5 (29,51)	-
BA	0,5 (2,22)	2,0 (8,88)	3,5 (15,54)	5,0 (22,20)	6,5 (28,86)	-
BAR	0,5 (1,40)	2,0 (5,60)	3,5 (9,80)	5,0 (14,0)	6,5 (18,20)	8,0 (22,40)
TOP	0,5 (2,07)	2,0 (8,28)	3,5 (14,49	5,0 (20,70)	6,5 (26,91)	-
TOPR	0,5 (1,34)	2,0 (5,36)	3,5 (9,38)	5,0 (13,40)	6,5 (17,42)	8,0 (21,44)
ZEA	0,5 (2,28)	2,0 (9,12)	3,5 (15,96)	5,0 (22,80)	6,5 (29,64)	-
ZEAR	0,5 (1,42)	2,0 (5,68)	3,5 (9,94)	5,0 (14,20)	6,5 (18,46)	8,0 (22,82)
KIN	0,5 (2,32)	2,0 (9,28)	3,5 (16,24)	5,0 (23,20)	6,5 (30,16)	-
KINR	0,5 (1,44)	2,0 (5,76)	3,5 (10,08)	5,0 (14,40)	6,5 (18,72)	8,0 (23,04)

3.2.5. Regenerált hajtások gyökeresítése

A gyökeresítési kísérleteket a 'Royal Gala' fajtával végeztük el. A regenerációs módszer megegyezett a 3.4.2. fejezetben leírtakkal, a következő citokinin kezeléseket használtuk a regenerációs táptalajokban: 0,5 mg/l TDZ; 5,0 mg/l BAR; 5,0 mg/l BA, illetve 6,5 mg/l TOPR.

Az *1. kísérletben* az explantátumról leszedett hajtásokat gyökérindukciós táptalajra tettük (1/2 MS sók, kiegészítve 100 mg/l myo-inozittal, 0,5 mg/l B_1 vitaminnal, 2% cukorral, 0,7% agar-agarral, 2,0 mg/l IVS-el). A hajtásokat 5 nap múlva gyökérelongációs táptalajra helyeztük, amely MS sókat tartalmazott feles töménységben, valamint 50 mg/l myo-inozitot, 3% cukrot, 2,0 ml/l Wuxal®-t és 0,7% agar-agart (Magyar-Tábori *et al*., 2001b). Két hét múlva a gyökeres hajtások kiültetése és aklimatizációja Bolar *et al*. (1998b) módszere szerint történt.

A *2. kísérletben* a regenerált hajtásokat leszedtük és különböző táptalajokon tenyésztettük 7 napig: **A**: hormon-mentes; **B**: 0,5 mg/l BAR+0,3 mg/l IVS+ 0,2 mg/l GA_3; **C**: 0,5 mg/l BAR+0,3 mg/l IVS+ 0,5 mg/l GA_3). A hajtásokat ezután a fent leírt módszer szerint gyökereztettük.

A *3. kísérletben* a regenerált hajtásokat szaporító táptalajon (1,0 mg/l BAR+0,3 mg/l IVS+ 0,2 mg/l GA_3) tenyésztettük 4 hétig, majd az újonnan fejlődött hajtásokat gyökereztettük a fent leírt

módszerrel. Az utántenyésztő és szaporító táptalajok egyéb összetevői megegyeztek az előkezelő táptalajjal.

3.3. Az értékelés módszere

3.3.1. Megfigyelések

Az első kísérletsorozatban az előkezelések hatását vizsgáltuk a különböző fajták levél explantátumainak a regenerációs képességre.

A hét hetes regenerációt követően a regenerált hajtásokat tartalmazó explantátumok aránya (regenerációs %), az explantátumonkénti hajtásszám és a hiperhidratált tenyészetek aránya (hiperhidratációs %) került felvételezésre. Ezután a paraméterekből a regeneráció hatékonyságára utaló organogén indexet (OI) számoltunk az alábbi képlettel:

OI= (Regenerációs %- hiperhidratációs %) x hajtásszám/100.

Ez a számítás Famiani *et al.* (1994) által kidolgozott organogén indexen alapul, azzal a különbséggel, hogy a hajtáshosszt mi kizártuk, mert abban nem találtunk szignifikáns különbséget, azonban a hiperhidratációs %-ot beépítettük az indexbe, mivel ennek a minőségi hajtások regenerációjában szerepe van.

A második kísérletsorozatban a különböző citokinineket tartalmazó táptalajokon történő regenerációt értékeltük, a regenerációs képesség vizsgálata az előző kísérletsorozatban ismertetett szerint történt.

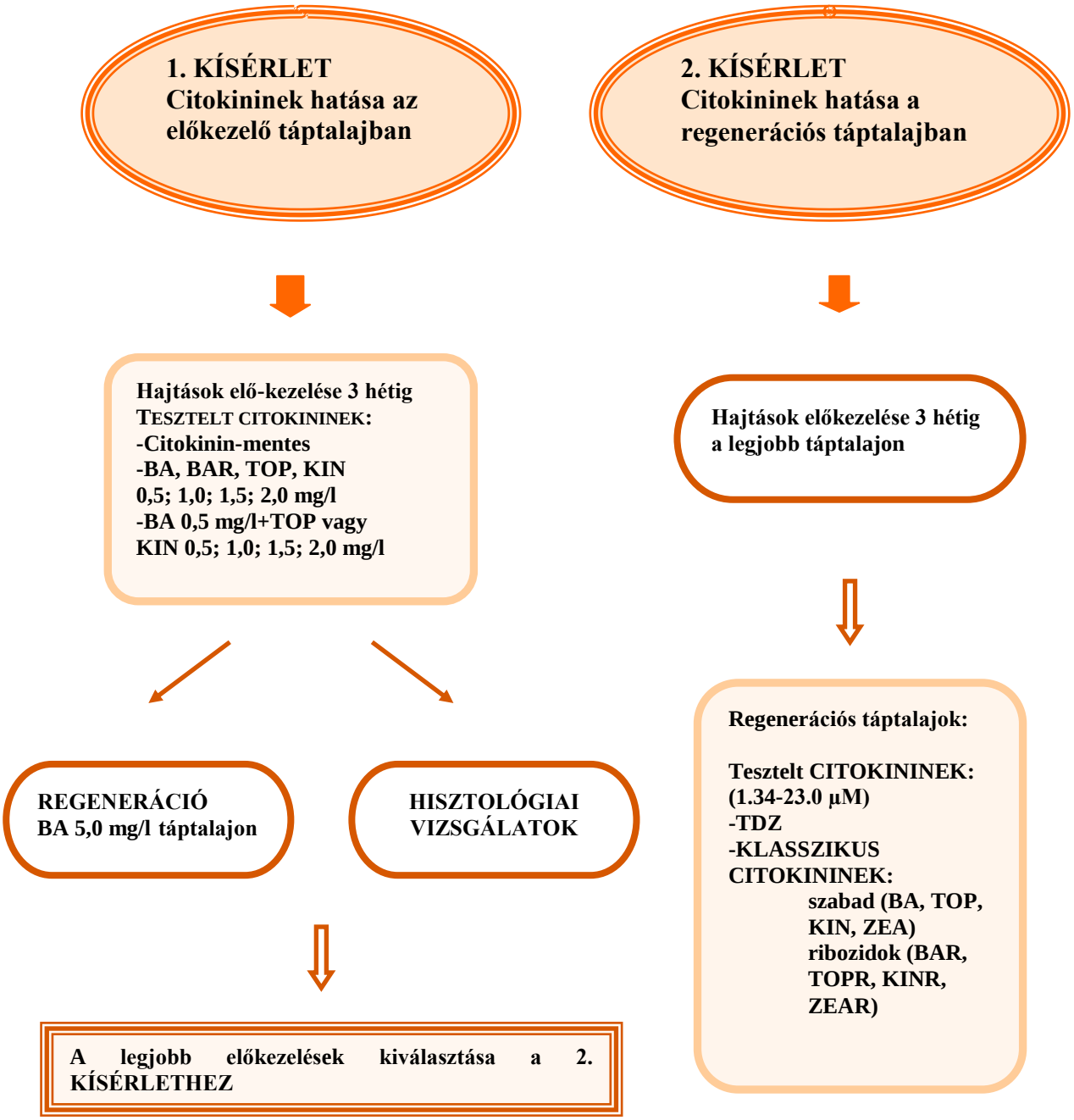
A gyökeresítési kísérletekben kezelésenként 30 hajtást figyeltünk meg, a hajtásonkénti gyökerek számát és a gyökerek hosszát (mm), a gyökeresedési százalékot, az akklimatizáció során pedig a túlélési arányt felvételeztük.

3.3.2. Statisztikai értékelés

Az adatokat egytényezős varianciaanalízissel értékeltük SPSS 9.0 for Windows programcsomag segítségével. Ezt követően egy adott citokinin típuson belül a különböző koncentrációk hatásának kimutatására (a középértékek összehasonlítására) a homogén csoportok képzése Tukey-teszttel történt. Abban az esetben, amikor az összes kezelést együtt értékeltük és egy adott kontrollhoz hasonlítottuk a kezeléskombinációkat, a legkisebb szignifikáns különbség (LSD) alapján többszörös összehasonlítással mutattuk ki a kontrolltól szignifikánsan eltérő középértékeket. Mindkét esetben a statisztikailag jelentős különbségeket 95%-os valószínűségi szinten mutattuk ki (a hiba valószínűsége $p<0,05$). A százalékos értékek a statisztikai összehasonlítás előtt átestek egy ’Arcsin’ transzformáción, a táblázatokban az eredeti értékek vannak közölve.

A gyökeresedési kísérletek adatait egytényezős varianciaanalízissel értékeltük SPSS 9.0 for Windows programcsomag segítségével. Ezt követően a homogén csoportok képzése Tukey-teszttel történt.

A statisztikai értékelések ANOVA táblázatai, valamint a Post-Hoc tesztek eredménytáblázatai a mellékletben találhatók (M3/1/1-M3/23/3 táblázatok). A kísérlet-sorozat sematikus ábrázolása az 8. ábrán látható.



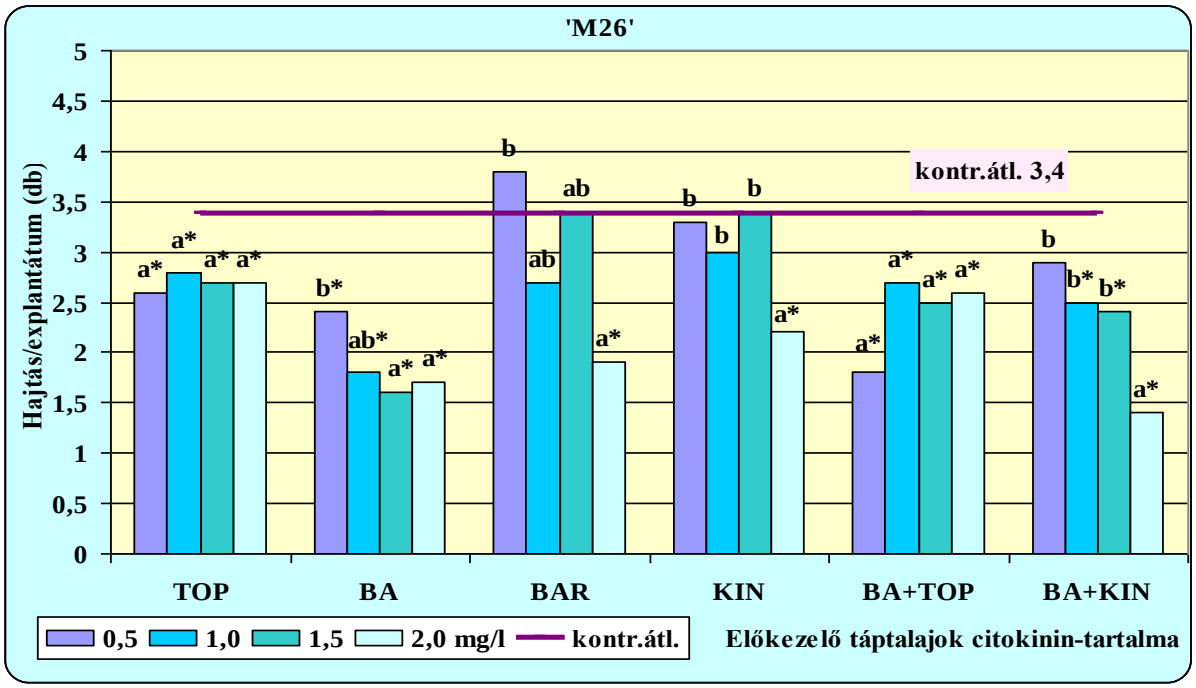
8. ábra. A két kísérletsorozat sematikus ábrázolása

4. EREDMÉNYEK

4.1. Az előkezelések hatása a hajtásregenerációra

4.1.1. Az előkezelések hatása az explantátumonként regenerált hajtások számára

Az ’M26’ alanynál a legnagyobb hajtásszámot (explantátumonként 3,83) a 0,5 mg/l BAR-t tartalmazó előkezelő táptalaj után kaptunk, a 2,0 mg/l töménységű BAR azonban már jelentős csökkenést okozott (9. ábra). A citokininmentes (kontroll) kezelés átlagánál (3,4) jelentősen kisebb hajtásszámot kaptunk a TOP, a BA valamint a BA+TOP összes koncentrációjával. A BAR és KIN csak a legnagyobb töménység (2,0 mg/l) alkalmazásával okozott jelentős csökkenést a hajtások számában.

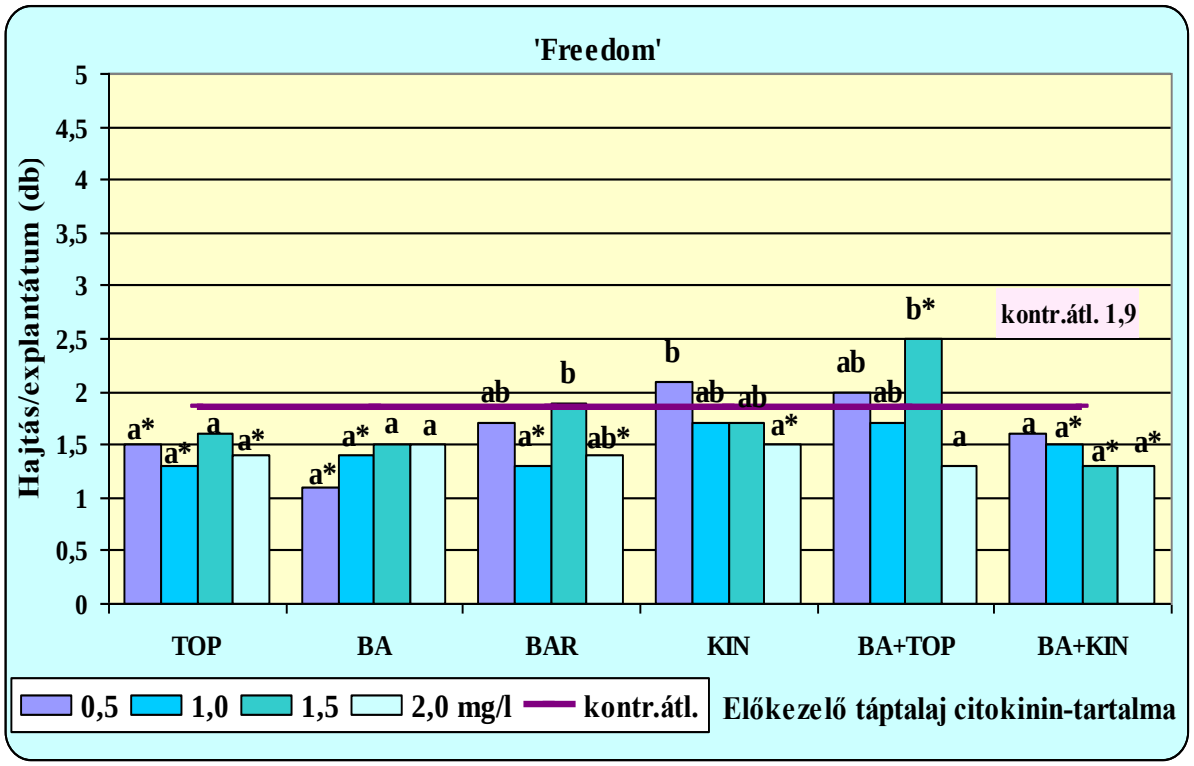


9. ábra. Az előkezelések hatása a regenerált hajtások számára ’M26’ alanynál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelések átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 1,81 db)

Egy adott citokinin típuson belül a különböző koncentrációk nem eredményeztek jelentős különbségeket a TOP és a BA+TOP kezelések esetében, míg a KIN és a BA+KIN esetében 2,0 mg/l töménység jelentősen csökkentette a regenerált hajtások számát a kisebb koncentrációkhoz képest. A BA és a BAR előkezelések esetén a koncentráció növelése szintén a hajtások számának csökkenését okozta, a legkisebb (0,5 mg/l) és a legnagyobb (2,0 mg/l) koncentráció közötti különbségek szignifikánsak.

A ’Freedom’ fajtára kisebb hajtásszám volt jellemző, mint az ’M26’-ra (10. ábra). A legtöbb regenerált hajtást (explantátumonként 2,5) akkor kaptuk, amikor az előkezelő táptalaj a BA mellett 1,5 mg/l TOP-ot tartalmazott. Ez az előkezelés a kontroll átlaghoz (1,85) hasonlítva jelentős növekedést okozott a hajtásszámban.

A TOP, a BA valamint a BA+KIN jelenléte azonban csökkentette a regenerált hajtások számát, bár nem minden esetben szignifikánsan. 0,5 és 1,5 mg/l BAR alkalmazásával a kontrollhoz hasonló eredményt kaptunk, míg az 1,0 és 2,0 mg/l jelentősen csökkentette a hajtásszámot.



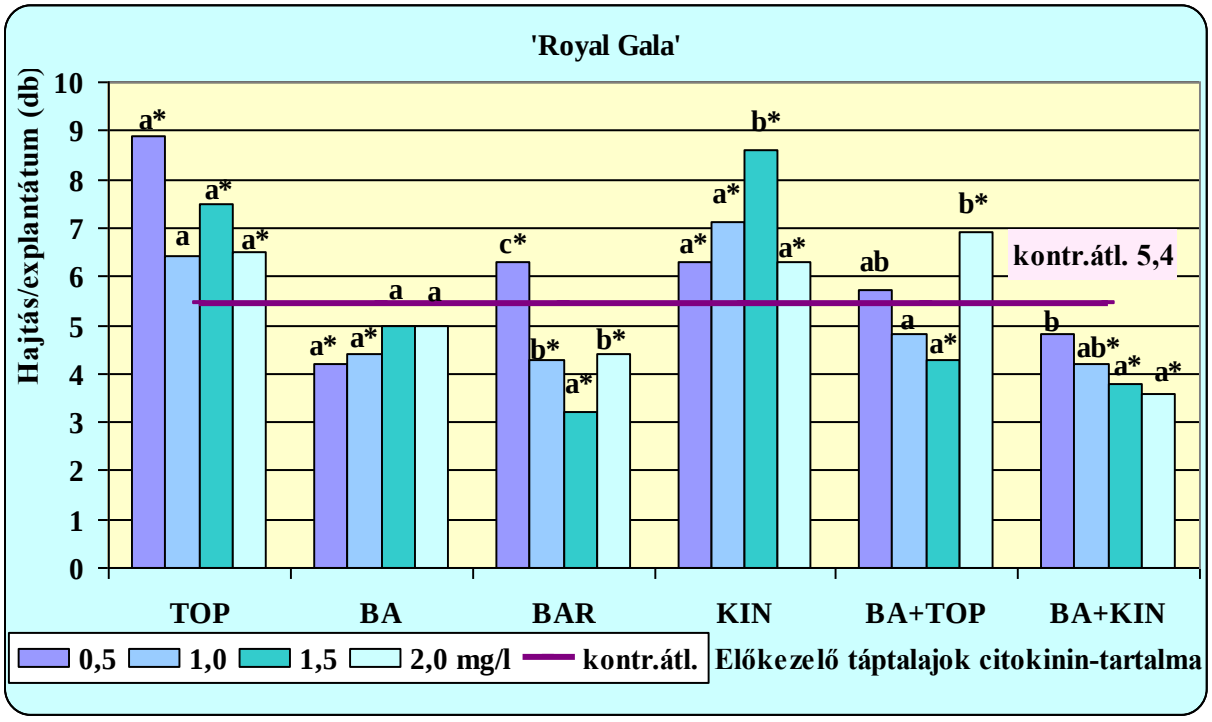
10. ábra. Az előkezelések hatása a regenerált hajtások számára ’Freedom’ fajta esetében. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelések átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 0,902 db)

Egy citokinin típuson belül a koncentrációk nem okoztak jelentős különbségeket a TOP, a BA valamint a BA+KIN előkezelések esetén. A KIN alkalmazásakor a 2,0 mg/l töménység jelentősen csökkentette a regenerált hajtások számát a 0,5 mg/l töménységhez képest.

A ’Royal Gala’ fajtával legnagyobb explantátumonkénti hajtásszámot (8,9) a 0,5 mg/l TOP-tartalmú táptalajon történő előkezelés után kaptunk, az 1,0 mg/l koncentráció kivételével minden

TOP előkezelés szignifikánsan nagyobb hajtásszámot eredményezett, mint a kontroll kezelés átlaga (5,42) (11. ábra). Jelentősen növelte a hajtások számát az előkezelésben alkalmazott 0,5 mg/l BAR, valamint a BA+2,0 mg/l TOP kezelés.

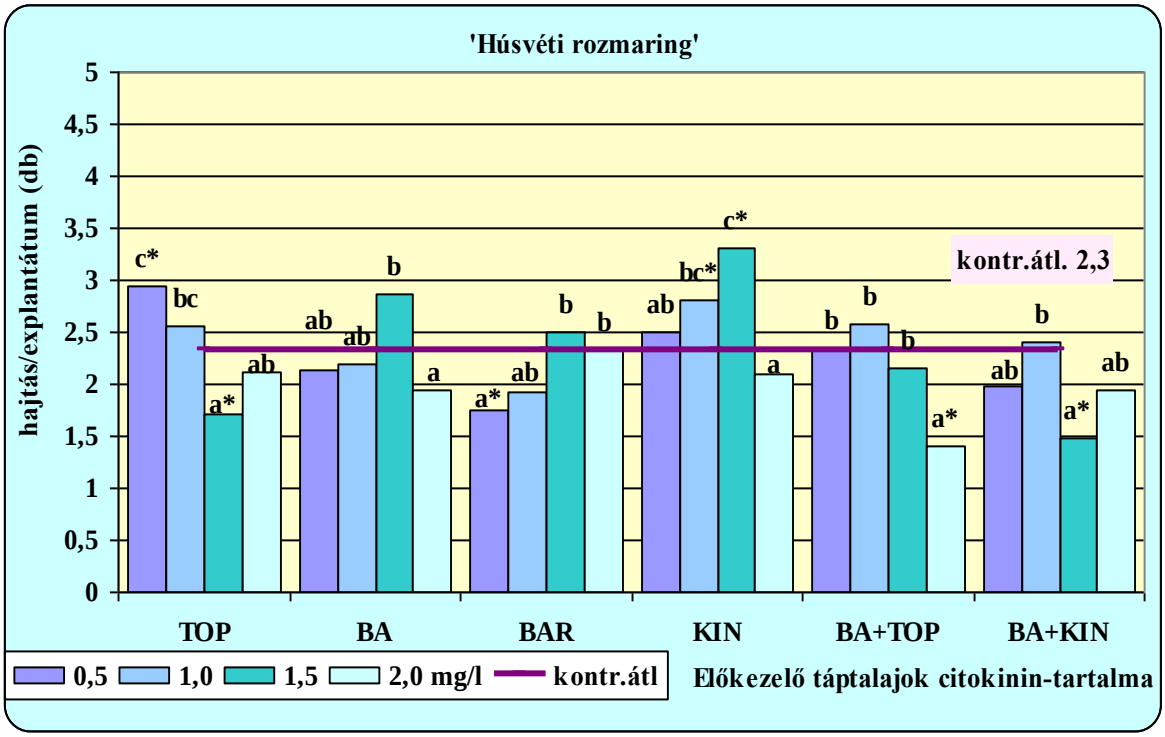
A KIN jelenléte az előkezelő táptalajban kedvezőnek bizonyult: minden töménység jelentősen megnövelte a regenerálódott hajtások számát. A KIN kedvező hatása a BA-val történő kombinációban nem fejeződött ki, amennyiben a BA-t 0,5 mg/l-nél nagyobb KIN töménységgel kombináltuk, a hajtások száma jelentősen csökkent. A 0,5 mg/l-nél nagyobb BAR és a 1,5 mg/l-nél kisebb BA koncentráció jelentős csökkenést okozott a regenerált hajtások számában.



11. ábra. Az előkezelések hatása a regenerált hajtások számára ’Royal Gala’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelések átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 3,157 db)

A TOP és a BA esetében a különböző koncentrációk nem okoztak jelentős eltéréseket a hajtások számában. A BAR előkezelések közül a 0,5 mg/l alkalmazása adta a legjobb eredményt, míg a KIN előkezelések közül a 1,5 mg/l bizonyult optimálisnak. A kettős citokinin előkezelések közül a BA+2,0 mg/l TOP, illetve a BA+0,5 mg/l KIN eredményezték a legtöbb regenerált hajtást.

A ’Húsvéti rozmaring’ fajta esetében a legtöbb hajtás (explantátumonként 3,3) abban az esetben regenerálódott, amikor az előkezelő táptalaj KIN-t tartalmazott 1,5 mg/l töménységben, ez az érték szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontroll kezelés átlaga (2,33) (12. ábra). Az 1,0 mg/l KIN előkezelés szintén jelentős hajtásszám növekedést okozott. A BA jelenléte az előkezelő táptalajban nem befolyásolta a hajtások számát, míg a TOP 0,5 mg/l koncentrációban növelte, 1,5 mg/l koncentrációban csökkentette a hajtások számát. Az előkezelő táptalajban alkalmazott 0,5 mg/l BAR jelentősen csökkentette a regenerált hajtások számát, míg a többi BAR kezeléssel a kontrollhoz hasonló eredményt értünk el. A BA kombinációja 2,0 mg/l TOP-al, illetve 1,5 mg/l KIN-el a hajtások számának jelentős csökkenését eredményezte.

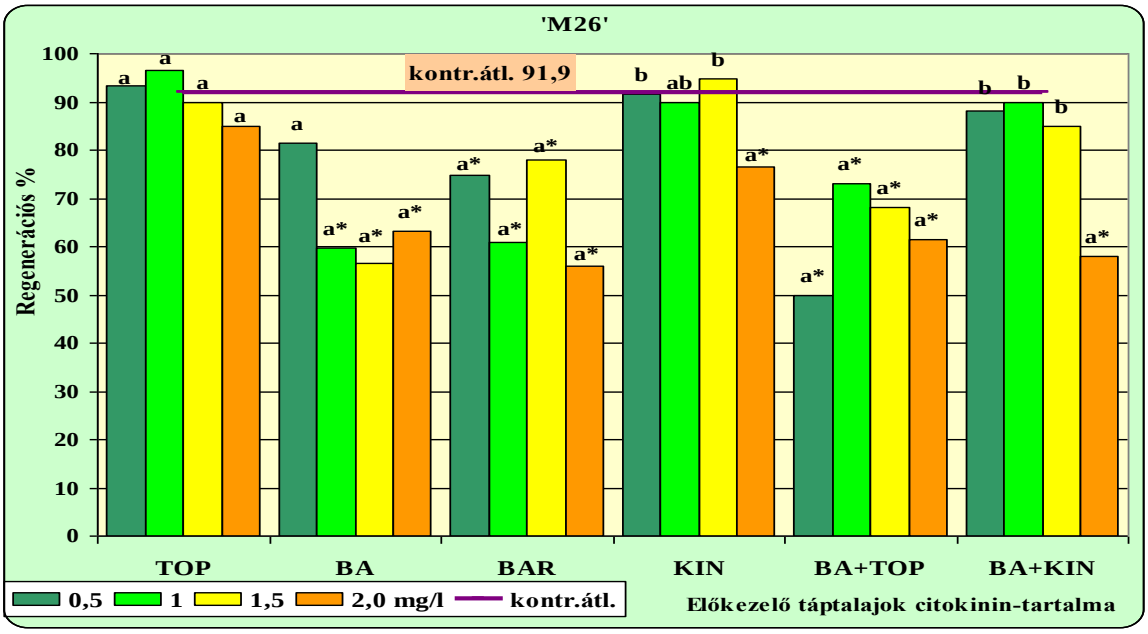


12. ábra. Az előkezelések hatása a regenerált hajtások számára ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelések átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 1,248 db)

Ennél a fajtánál a citokinin koncentrációk minden csoportban jelentős különbségeket okoztak. A BA, a BAR és KIN koncentráció növelése 1,5 mg/l koncentrációig a hajtások számának növekedését okozta, míg a töménység további növelése (2,0 mg/l-re) már csökkenést eredményezett, a KIN és a BA esetében szignifikánsan. A TOP esetében a legalacsonyabb (0,5 mg/l) koncentráció bizonyult optimálisnak, a 1,5-2,0 mg/l töménység már jelentősen csökkenést okozott a hajtások számában. A BA kiegészítése 0,5-1,5 mg/l TOP-al nem befolyásolta a hajtások számát, azonban a TOP töménység növelése 2,0 mg/l-re már jelentősen csökkentette a hajtások számát.

4.1.2. Az előkezelések hatása a regenerációs százalékra

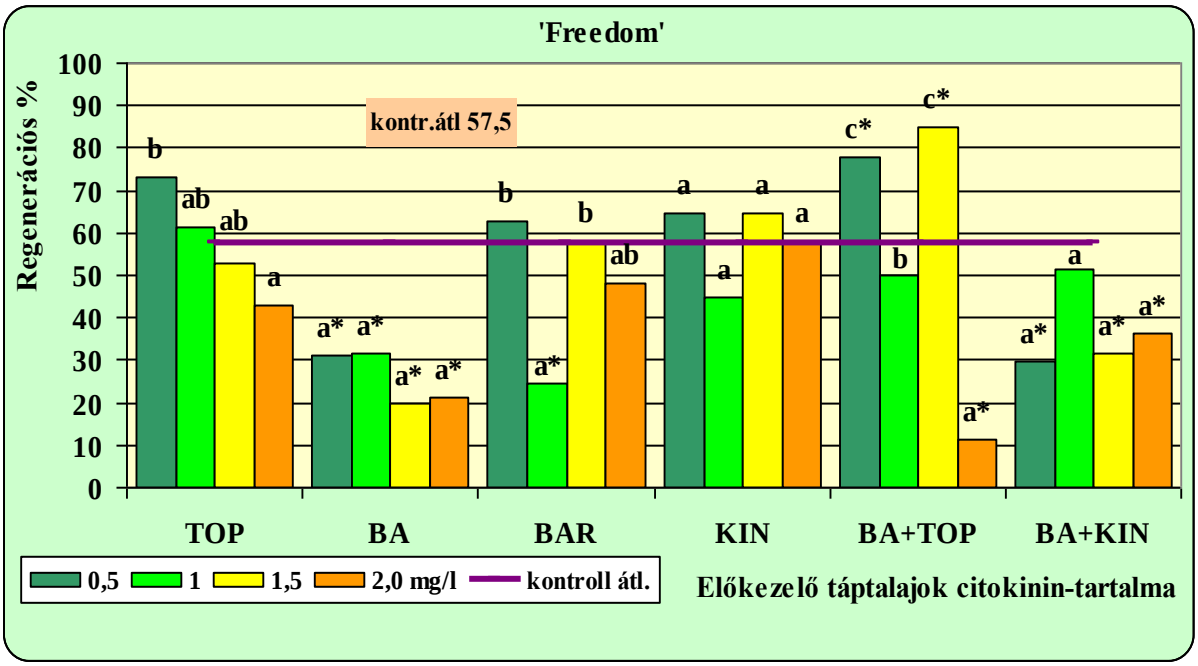
Az ’M26’ alany jó regenerációs képességet mutatott, az 1,0 mg/l TOP előkezelés után az explantátumok 96,6%-án organogenezis történt (13. ábra). Az ’M26’ alanynál a TOP önmagában alkalmazva nem okozott eltérést a regeneráció mértékében a kontrollhoz hasonlítva, míg BA-val kombinálva a regenerációs ráta jelentős csökkenését idézte elő. Az előkezelő táptalajban 0,5 mg/l-nél nagyobb koncentrációban alkalmazott BA jelentősen csökkentette a regenerációs százalékot. A BAR jelenléte koncentrációtól függetlenül jelentős mértékben csökkentette a regenerációs rátát. A KIN esetében csak a 2,0 mg/l töménység mutatott jelentős gátló hatást a regenerációra, a kisebb dózisokkal a kontrollhoz hasonló eredményeket kaptunk, ugyanez a tendencia érvényesült abban az esetben, mikor a BA-t kombináltuk a KIN-el. A citokininmentes előkezelés az ’M26’ esetében nagy regenerációs százalékot eredményezett (kontroll átlag 91,93) ettől a legjobb citokinines kezelések nem tértek el szignifikánsan.



13. ábra. Regenerációs százalék alakulása a különböző előkezelések után ’M26’ alanynál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelések átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 23,65%)

A különböző citokinin koncentrációk nem okoztak jelentős eltérést a regeneráció mértékében a TOP, a BA, a BAR, valamint a BA+TOP előkezelések esetében, de mindegyik eredmény alacsonyabb volt, mint a kontroll átlag (a TOP kivételével). A KIN-tartalmú előkezelésekben a legnagyobb koncentráció (2,0 mg/l) jelentős gátló hatása volt kimutatható, mind önmagában, mind a BA-val kombinálva.

A ’Freedom’ fajta már jóval kisebb mértékű regenerációs kapacitással rendelkezik (14. ábra), mint az ’M26’. A legnagyobb regenerációs százalékot (84,7%) abban az esetben kaptuk, amikor az előkezelő táptalaj a BA mellett 1,5 mg/l TOP-ot tartalmazott, ettől nem tért el jelentősen a regeneráció mértéke a BA+0,5 mg/l TOP előkezelés esetén. A BA kombinációja 2,0 mg/l TOP-al azonban már jelentősen csökkentette a regeneráció gyakoriságát. Az előkezelő táptalajban alkalmazott BA jelentősen csökkentette a regenerációs százalékot, töménységtől függetlenül. A KIN-es előkezelésekkel a kontrollhoz hasonló eredményeket tudtunk elérni, a BA-val történő kombinációja már csökkentette a regenerációs rátát, ha nem is minden esetben jelentősen. A BAR-tartalmú előkezelő táptalajokkal szintén a kontrollhoz hasonló regenerációs százalékokat kaptunk, kivéve az 1,0 mg/l koncentrációt, mely a regenerációs ráta jelentős csökkenését okozta. A TOP-tartalmú előkezelő táptalajok után a regenerációs százalékok nem mutattak jelentős eltérést a kontrollhoz képest.



14. ábra. Regenerációs százalék alakulása a különböző előkezelések után ’Freedom’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelések átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 31,95%)

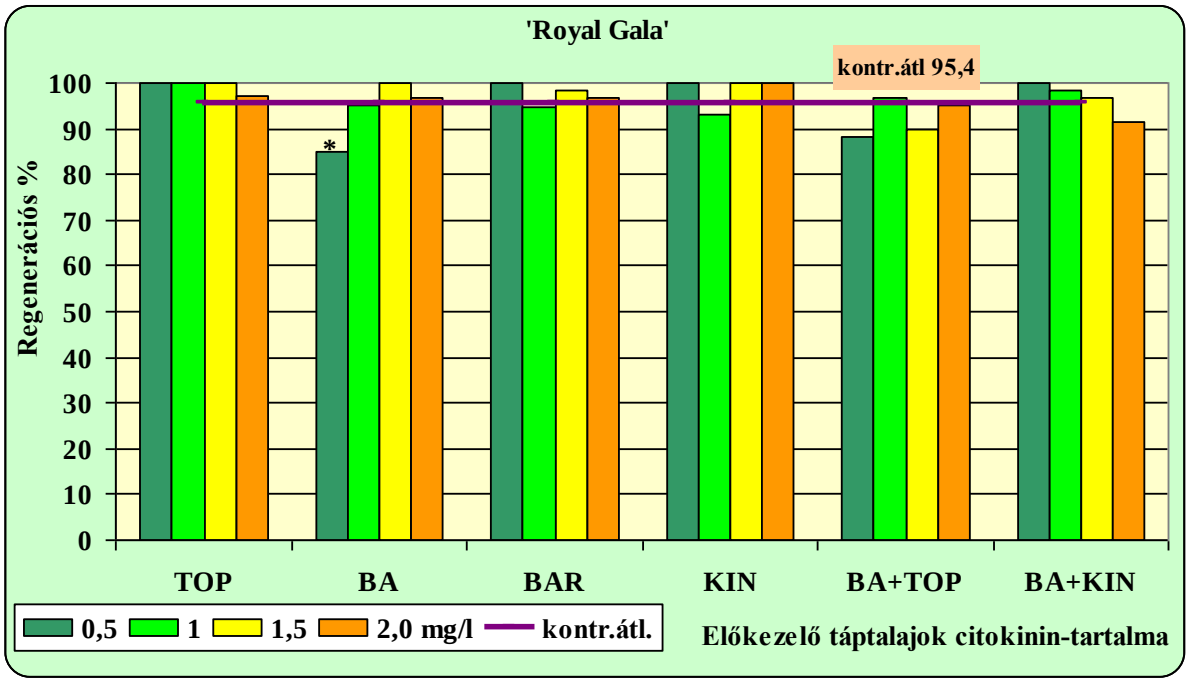
A különböző koncentrációk nem okoztak jelentős különbségeket a regenerációs százalékban a BA, a KIN és a BA+KIN előkezelések után. A TOP-t tartalmazó előkezeléseknél megfigyeltük, hogy a koncentráció növelésével a regenerációs ráta csökkent, jelentős eltérés azonban csak a legkisebb (0,5 mg/l) és a legnagyobb (2,0 mg/l) koncentráció között volt kimutatható.

A BA+2,0 mg/l TOP előkezelés esetén jelentősen csökkent a regenerációs ráta a kisebb töménységekhez képest.

A vizsgálatba bevont fajták közül a legjobb regenerációs képességet a ’Royal Gala’ fajtánál találtuk, számos kezelésben az explantátumok 100%-án történt organizáció (15. ábra).

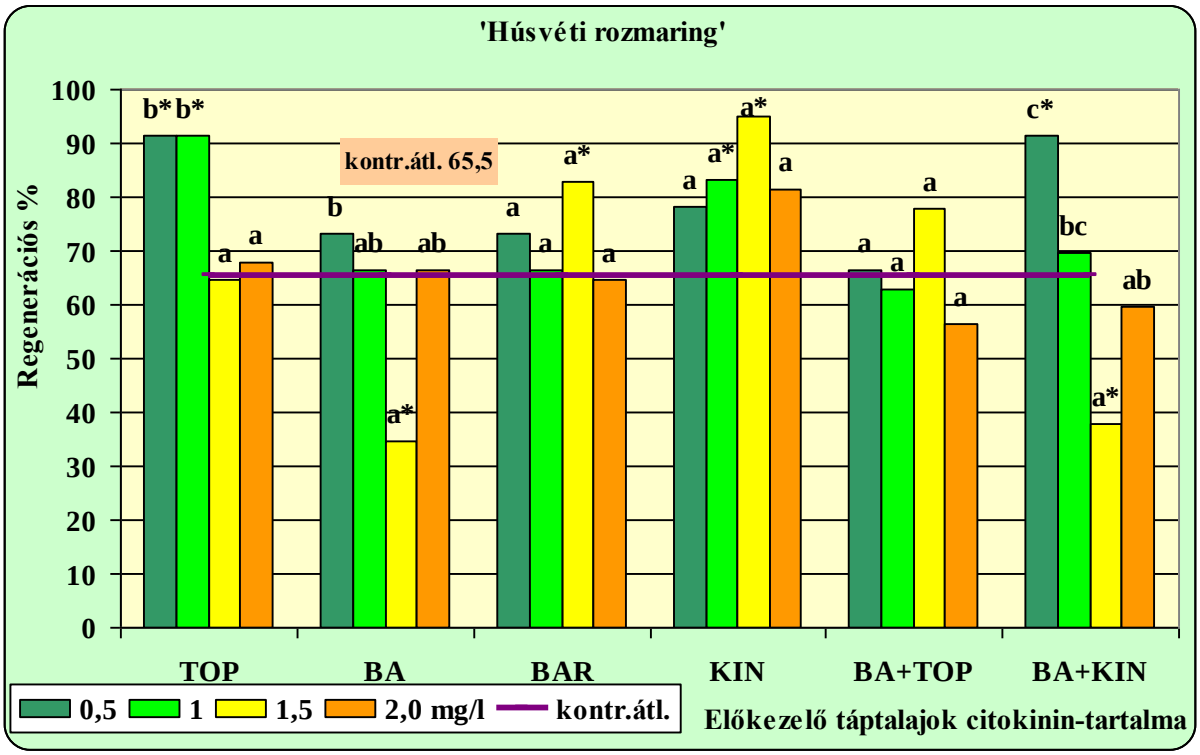
15. ábra. ’Royal Gala’ regenerált hajtások 1,5 mg/l BA előkezelés után

A ’Royal Gala’ fajta esetében a legkisebb érték 85% volt, amit a 0,5 mg/l BA-t tartalmazó előkezelés után kaptunk, ez a kontrollhoz képest jelentős csökkenésnek bizonyult. A többi citokinines kezelés a kontrollhoz hasonló regenerációs rátát eredményezett, statisztikailag jelentős eltéréseket nem mutattunk ki (16. ábra).



16. ábra Regenerációs százalék alakulása a különböző előkezelések után ’Royal Gala’ fajtánál. A csillaggal jelölt érték a citokininmentes (kontroll) előkezelések átlagától mutat statisztikailag ($p<0,05$) jelentős eltérést ($s = 11,496$).

A ’Húsvéti rozmaring’ fajta abban az esetben érte el a legnagyobb regenerációs rátát (94,9%) amikor az előkezelő táptalaj KIN-t tartalmazott 1,5 mg/l töménységben (17. ábra), ez a különbség a kontrollhoz (65,5%) viszonyítva szignifikánsnak bizonyult. Az előkezelések közül a 0,5 és 1,0 mg/l TOP, a 1,5 mg/l BAR, az 1,0 mg/l KIN valamint a BA+0,5 mg/l KIN szintén jelentős növekedést okoztak a regeneráció mértékében. Legkisebb volt a regenerációs gyakoriság (40% alatti) amikor az előkezelő táptalaj 1,5 mg/l BA-t, illetve a BA mellett 1,5 mg/l KIN-t tartalmazott, ezek a kezelések a kontrollhoz képest jelentős mértékű gátlást okoztak. A többi BA koncentrációval, az összes BAR kezeléssel, illetve az 1,0 mg/l-nél nagyobb TOP koncentrációkkal a kontrollhoz hasonló eredményeket kaptunk. A BA+TOP kezelések szintén nem befolyásolták a regenerációs százalékot.

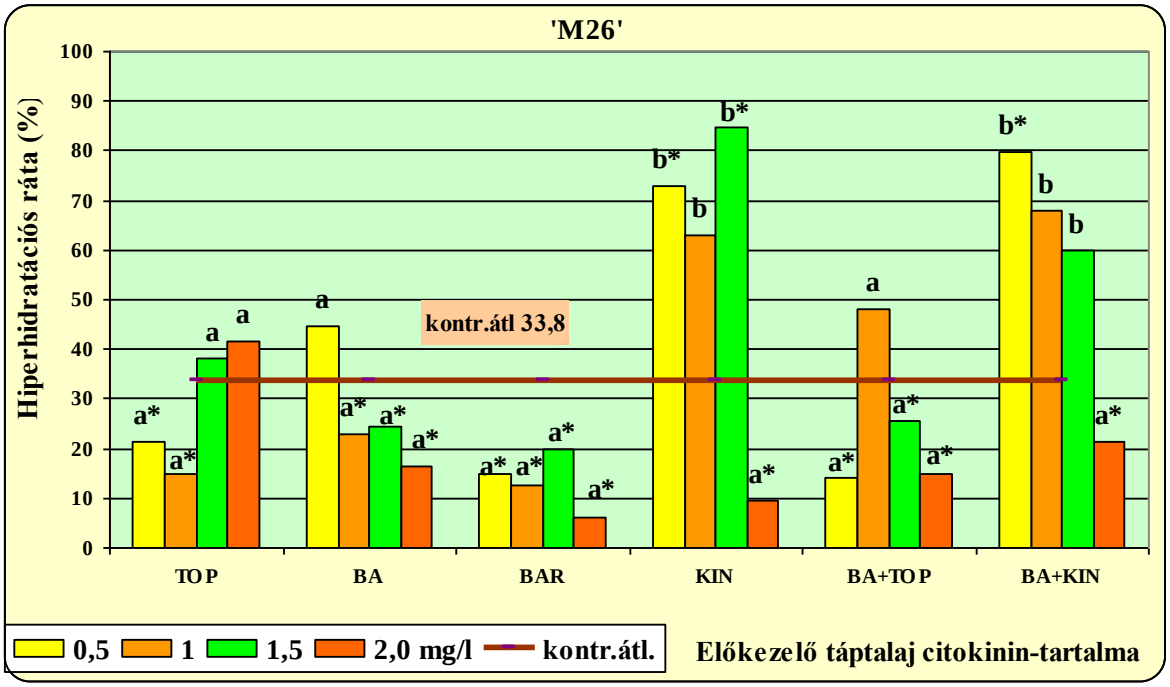


17. ábra. Regenerációs százalék alakulása a különböző előkezelések után ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelések átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 26,7%)

A KIN- koncentráció növelése az előkezelő táptalajban 1,5 mg/l-ig növelte a regenerációt mutató explantátumok arányát, a 2,0 mg/l töménység már csökkentette, a különbségek azonban nem voltak szignifikánsak. A 1,5 mg/l feletti TOP koncentráció jelentősen csökkentette a regenerációs százalékot. A növekvő KIN koncentráció a BA mellett alkalmazva (1,5 mg/l-ig) csökkentette a regenerációs rátát, a további emelés (2,0 mg/l-re) már nem okozott jelentős változást.

4.1.3. Az előkezelések hatása a hiperhidratált hajtások arányára

Habár az ’M26’ alany jó regenerációs képességet mutatott, a regenerált hajtások között gyakran előfordult a hiperhidratáció jelensége (18. ábra). Ennél a genotípusnál a TOP 1,5 mg/l-nél kisebb koncentrációban, a BA 0,5 mg/l-nél nagyobb koncentrációban, illetve a BAR minden töménységben jelentősen csökkentette a hiperhidratált tenyészetek számát. Az előkezelő táptalajban lévő 2,0 mg/l alatti KIN-tartalom jelentősen növelte a hiperhidratált tenyészetek arányát, míg a 2,0 mg/l jelentős mértékű csökkenést okozott. Ugyanez a tendencia látható abban az esetben, amikor a BA-val kombináltan alkalmaztuk a KIN-t. A BA+TOP kombinációk jelentős csökkenést erdményeztek a hiperhidratált tenyészetek arányában (kivéve a BA+1,0 mg/l TOP).



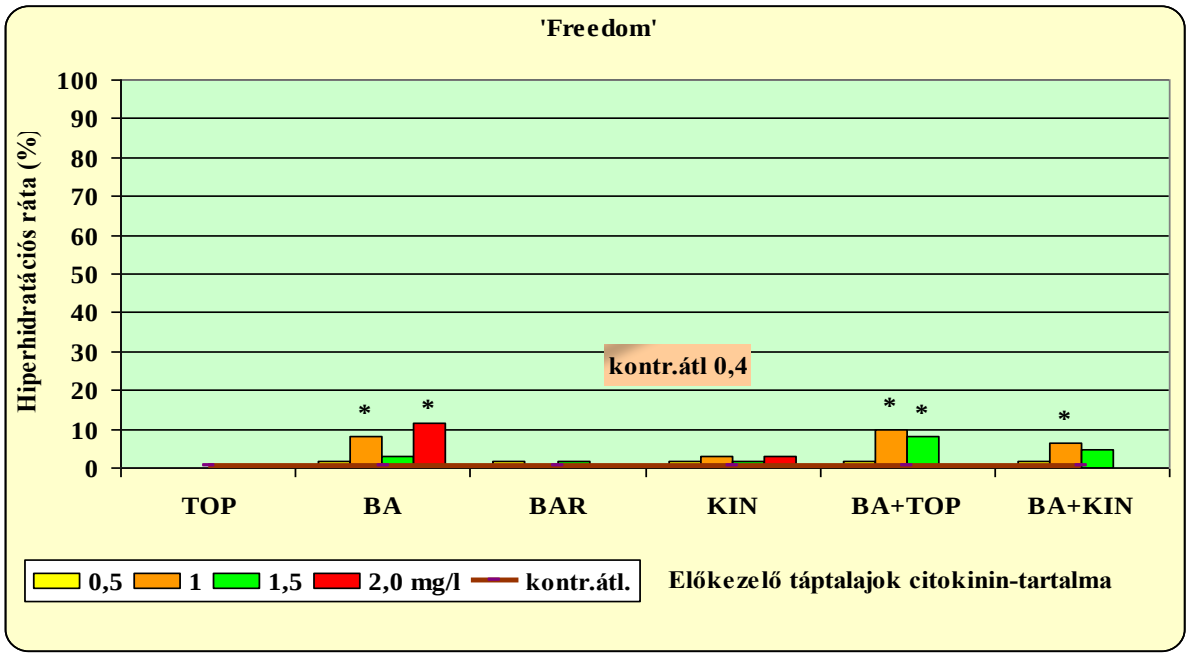
18. ábra. Hiperhidratált tenyészetek aránya a különböző előkezelések után, ’M26’ alanynál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelések átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 33,75%)

Az egyes citokininek különböző koncentrációi nem okoztak különbségeket a TOP, a BA, a BAR és a BA+TOP kezelésekben. Legalacsonyabb értéket (9,7%) abban az esetben kaptunk, mikor az előkezelő táptalaj KIN-t tartalmazott 2,0 mg/l töménységben. Legnagyobb volt a hiperhidratált hajtások aránya (85%) akkor, mikor az előkezelő táptalaj KIN-t tartalmazott 1,5 mg/l koncentrációban.

A ’Freedom’ fajta kevésbé volt hajlamos a hiperhidratációra, ennél a genotípusnál minden előkezelés után viszonylag kismértékben figyeltük meg a jelenséget (19. ábra).

19. ábra. ’Freedom’ regenerált hajtáskezdemény TOP 0,5 mg/l előkezelés után (x 120)

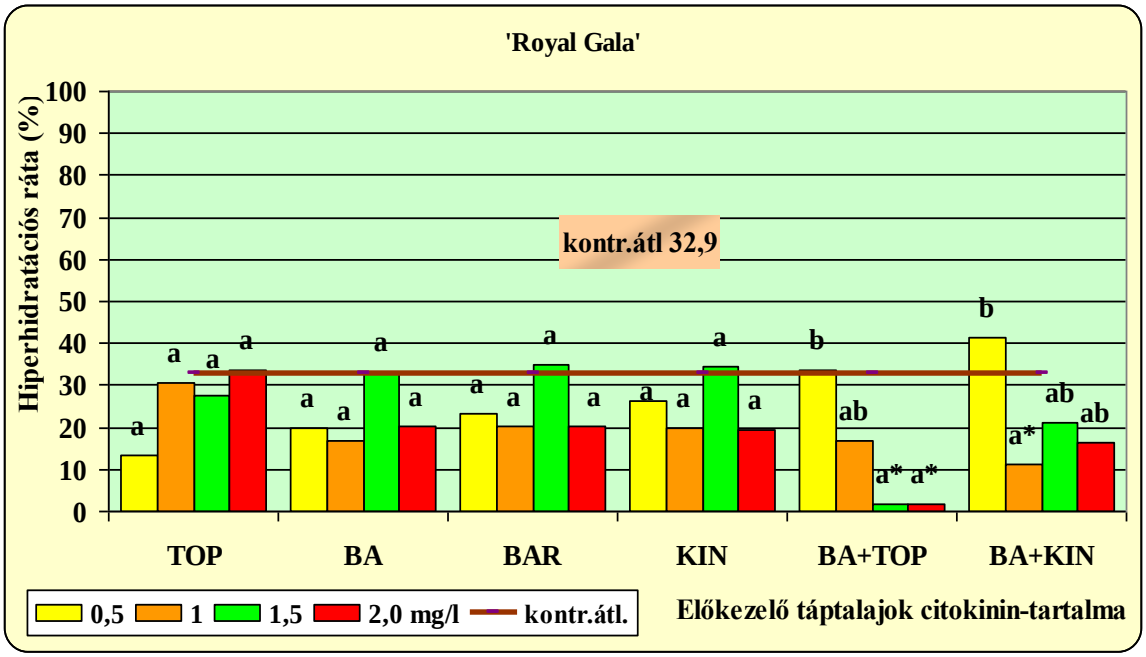
A citokinines előkezelések közül az 1,0 és 1,5 mg/l BA, a BA+1,0 és 1,5 mg/l TOP, valamint a BA+ 1,0 mg/ KIN jelentősen növelték a hiperhidratáció mértékét a kontroll átlaghoz (1%) képest (20. ábra). A TOP-os előkezelések után gyakorlatilag nulla volt a hiperhidratált tenyészetek száma, de igen alacsony (5% alatti) volt a citokininmentes, valamint a BAR és KIN előkezelések után is.



20. ábra. Hiperhidratált tenyészetek aránya a különböző előkezelések után, ’Freedom’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelések átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 8,33%)

A legnagyobb érték a ’Freedom’ fajtánál csak 11,5% volt, abban az esetben, amikor az előkezelő táptalaj BA-t tartalmazott 2,0 mg/l töménységben. A különböző citokinin koncentrációk nem eredményeztek jelentős különbségeket.

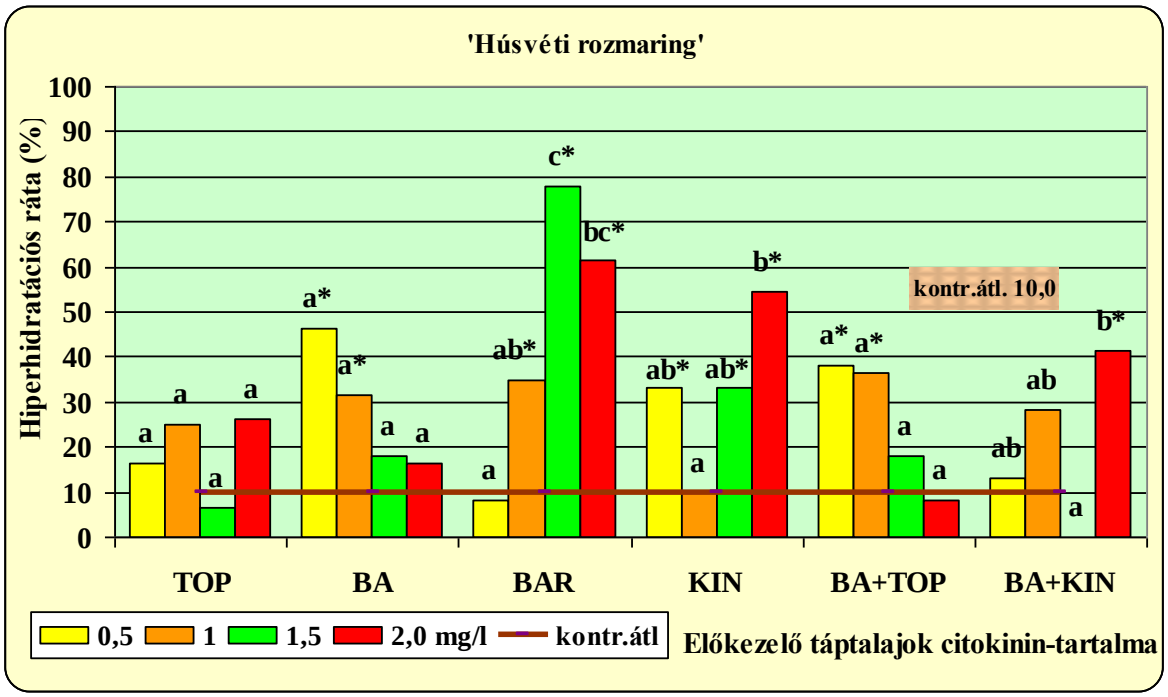
A ’Royal Gala’ fajtánál a BA + 1,5 és 2,0 mg/l TOP, valamint a BA+ 1,0 mg/l KIN jelenléte az előkezelő táptalajban jelentősen csökkentette a hiperhidratált tenyészetek arányát, egyébként az összes citokinines előkezelés a kontroll átlaghoz (32,8%) hasonló mértékű hiperhidratációt mutatott (21. ábra).



21. ábra. Hiperhidratált tenyészetek aránya a különböző előkezelések után, ’Royal Gala’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelések átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 31,72 %)

Az önmagukban alkalmazott citokininek esetében a különböző koncentrációk nem okoztak jelentős eltéréseket. A BA mellett alkalmazott TOP és KIN növekvő koncentrációja a hiperhidratáció csökkenését eredményezte. Ennél a fajtánál minden előkezelés után találtunk hiperhidratált tenyészetet, legkisebb arányban (1,7%) a BA+TOP (1,5 és 2,0 mg/l) kezelés után, legnagyobb arányban pedig a BA+0,5 mg/l KIN kezelés után (41,2%).

A ’Húsvéti rozmaring’ fajta esetében az előkezelő táptalaj citokinin tartalma legtöbbször növelte a hiperhidratált tenyészetek arányát (22. ábra), számos esetben statisztikailag jelentősen (BA 1,5 mg/l alatt, BAR 0,5 mg/l felett).



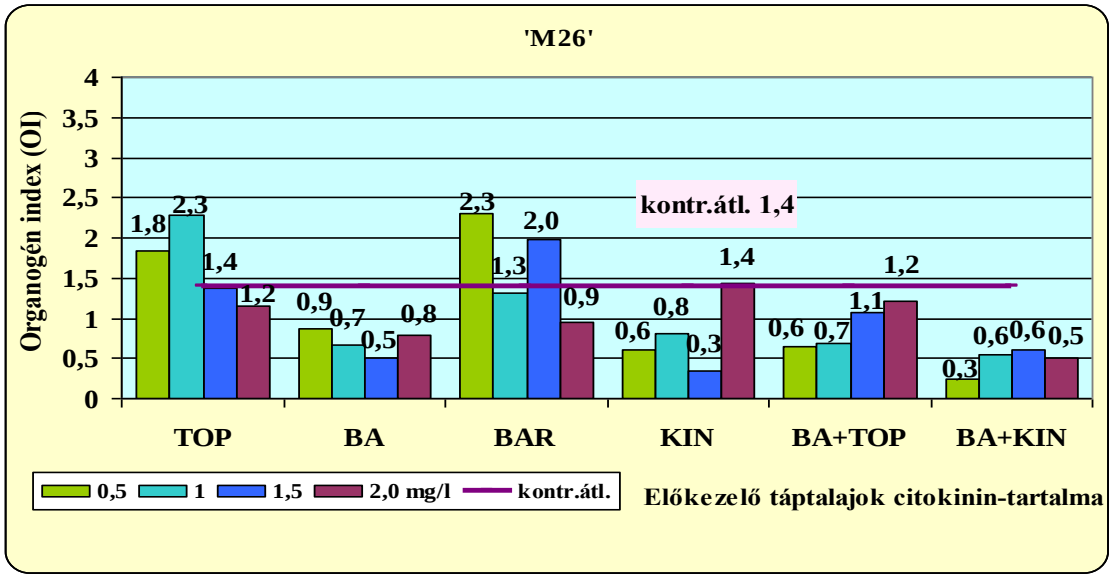
22. ábra. Hiperhidratált tenyészetek aránya a különböző előkezelések után, ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelések átlagától mutatnak jelentős eltérést (szórás: 31,36)

A KIN-tartalmú előkezelések (kivéve az 1,0 mg/l), a BA+0,5-1,0 mg/l TOP, valamint a BA+2,0 mg/l TOP szintén jelentősen növelték a hiperhidratáció mértékét. A TOP-tartalmú előkezelések nem befolyásolták a hiperhidratált tenyészetek arányát a kontrollhoz (10,03%) képest (23. ábra).

23. ábra. ’Húsvéti rozmaring’ regenerált hajtáskezdemény TOP 0,5 mg/l előkezelő táptalaj után

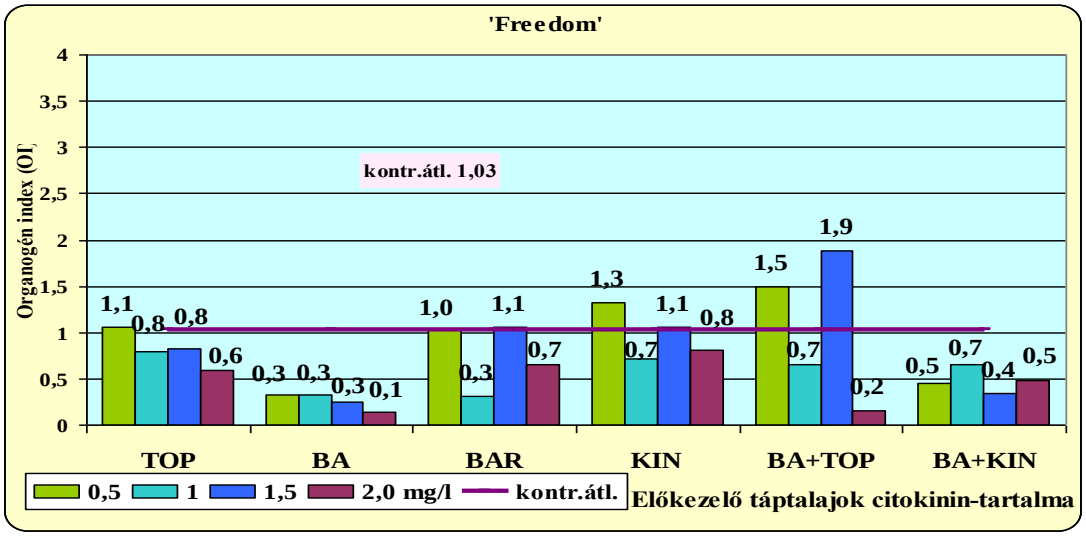
4.1.4. Az előkezelések hatása az organogén indexre (OI)

Az ’M26’ alany esetében legnagyobb index értéket (2,3) a TOP 1,0 és a BAR 0,5 mg/l előkezelés után kaptunk, míg a legkisebbet (0,25) a BA+0,5 mg/l KIN előkezelés után. A BA minden töménységben, a KIN a 2,0 mg/l-nél alacsonyabb koncentrációkban, valamint a kettős citokininek alkalmazása csökkentették az OI-t. A 0,5 és 1,0 mg/l TOP, valamint a 0,5 és 1,5 mg/l BAR jelenléte az előkezelő táptalajban kedvező hatást mutatott (24. ábra).



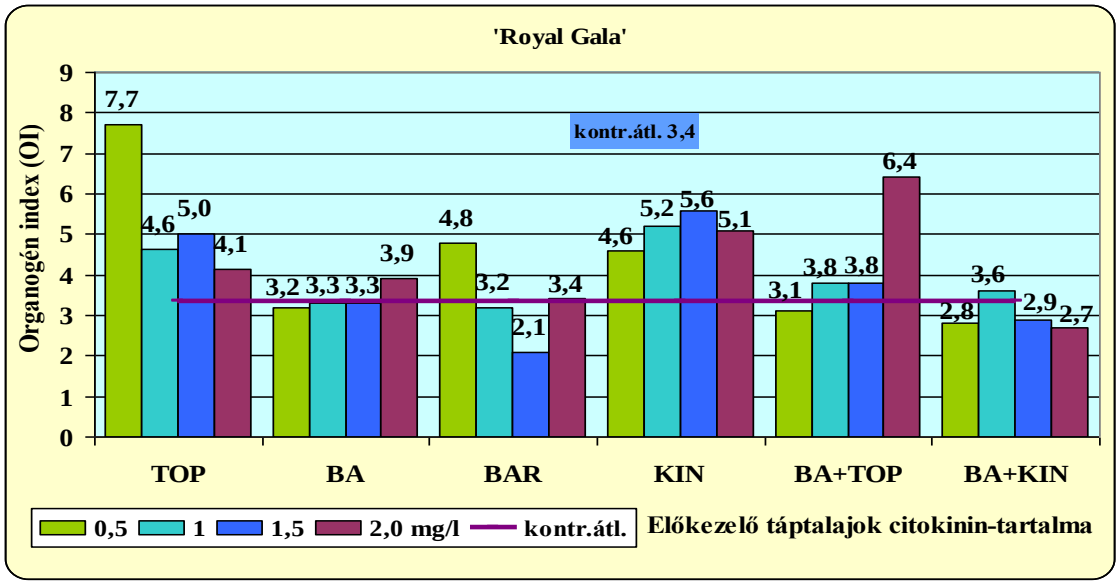
24. ábra. Az OI értékei a különböző előkezelések után, ’M26’ alanynál

A ’Freedom’ fajtánál legnagyobb OI értéket (1,88) abban az esetben kaptunk, mikor az előkezelő táptalaj a BA mellett 1,5 mg/l TOP-ot tartalmazott. A TOP és BA koncentrációk növelésével csökkent az OI. A KIN 0,5 mg/l-nél nagyobb koncentrációi szintén csökkentették az OI-t (25. ábra).



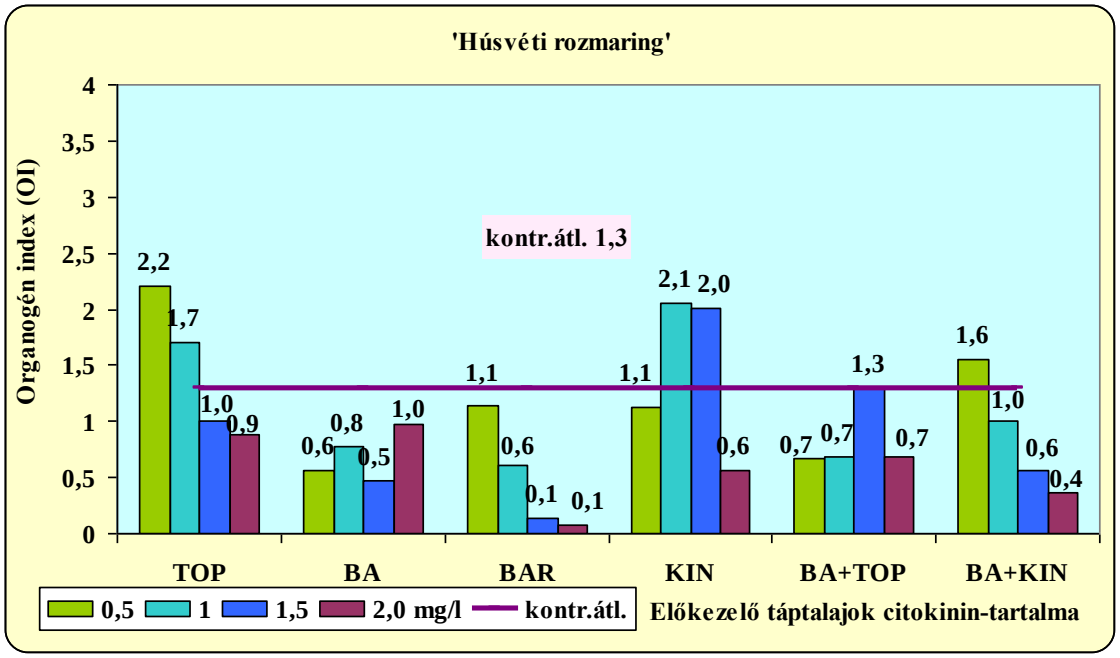
25. ábra. Az OI értékei a különböző előkezelések után, ’Freedom’ fajtánál

A ’Royal Gala’ fajtánál a legnagyobb OI-t (7,71) a TOP 0,5 mg/l előkezelés után kaptunk. A TOP és a BAR koncentráció emelése csökkenti az OI-t. A TOP és a KIN minden koncentrációban nagyobb OI-t eredményezett, mint a kontroll (26. ábra).



26. ábra. Az OI értékei a különböző előkezelések után, ’Royal Gala’ fajtánál

A ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál az alacsony TOP koncentráció növelte az OI-t, a koncentráció növelésével csökkent az érték. A BA és a BAR minden töménységben csökkentette az index értékét. A BA mellett alkalmazott TOP szintén csökkentette az indexet, kivéve, amikor 1,5 mg/l TOP-t használtunk a BA-val együtt. A KIN jelenléte 1,0 és 1,5 mg/l koncentrációban, valamint a BA-val együtt 0,5 mg/l koncentrációban növelte az OI-t (27. ábra).

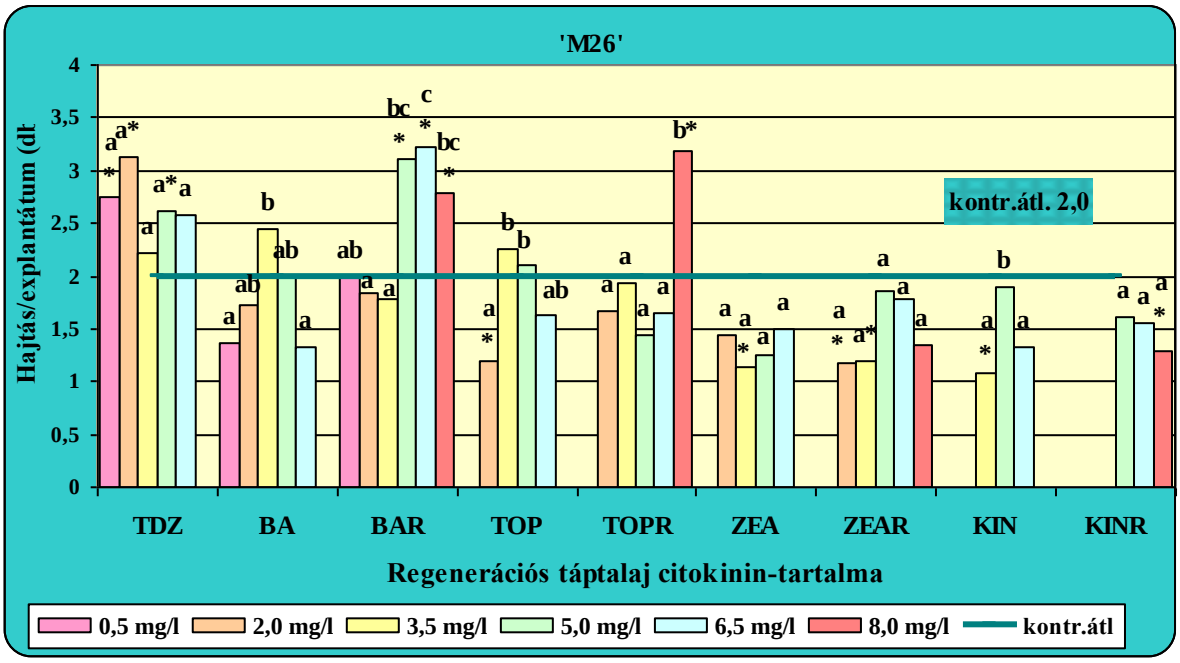


27. ábra. Az OI értékei a különböző előkezelések után, ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál

4.2. A regenerációs táptalaj citokinintartalmának hatása a hajtásregenerációra

4.2.1. A regenerációs táptalaj citokinintartalmának hatása az explantátumonként regenerált hajtások számára

Az ’M26’ alanynál legtöbb regenerált hajtás (3,2 hajtás/explantátum) abban az esetben fejlődött, amikor az explantátumokat 6,5 mg/l BAR-t, illetve 8,0 mg/l TOPR-t tartalmazó táptalajon tenyésztettük (28. ábra). A kontroll kezeléshez (5,0 mg/l BA) hasonlítva a 3,5 mg/l-nél nagyobb BAR koncentráció, valamint a 8,0 mg/l TOPR és a TDZ 0,5; 2,0 és 5,0 mg/l töménységben jelentős növekedést okozott a hajtások számában.



28. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása a regenerált hajtások számára ’M26’ alanynál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelés (5,0 mg/l BA) átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 1,327 db)

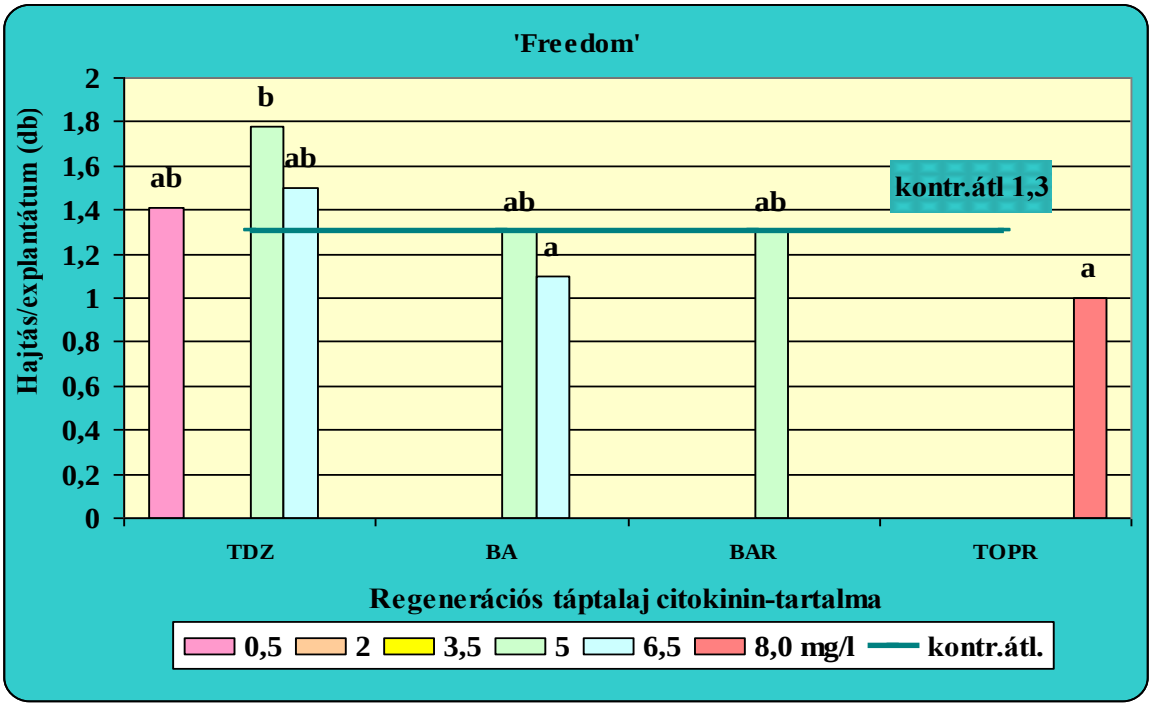
A ZEA-, a ZEAR-, valamint a KIN- és a KINR-tartalmú táptalajokon a regenerált hajtások száma nem érte el a kontroll átlagát (explantátumonként 2,0 hajtás). A TDZ-, ZEA-, ZEAR- és KINR- tartalmú regenerációs táptalajok esetében a koncentrációk között szignifikáns különbségek nem voltak. A BA és a TOP esetében a 3,5 mg/l; a KIN esetében az 5,0 mg/l töménység bizonyult optimálisnak. A KINR csak 3,5 mg/l-nél nagyobb koncentrációban indukált hajtásfejlődést.

A ’Freedom’ fajta az 5,0 mg/l TDZ-tartalmú regenerációs táptalajon adta a legnagyobb hajtásszámot (1,78 hajtás explantátumonként).

29. ábra. ’Freedom’ regenerált hajtás 8,0 mg/l TOPR-t tartalmazó táptalajon (x 120)

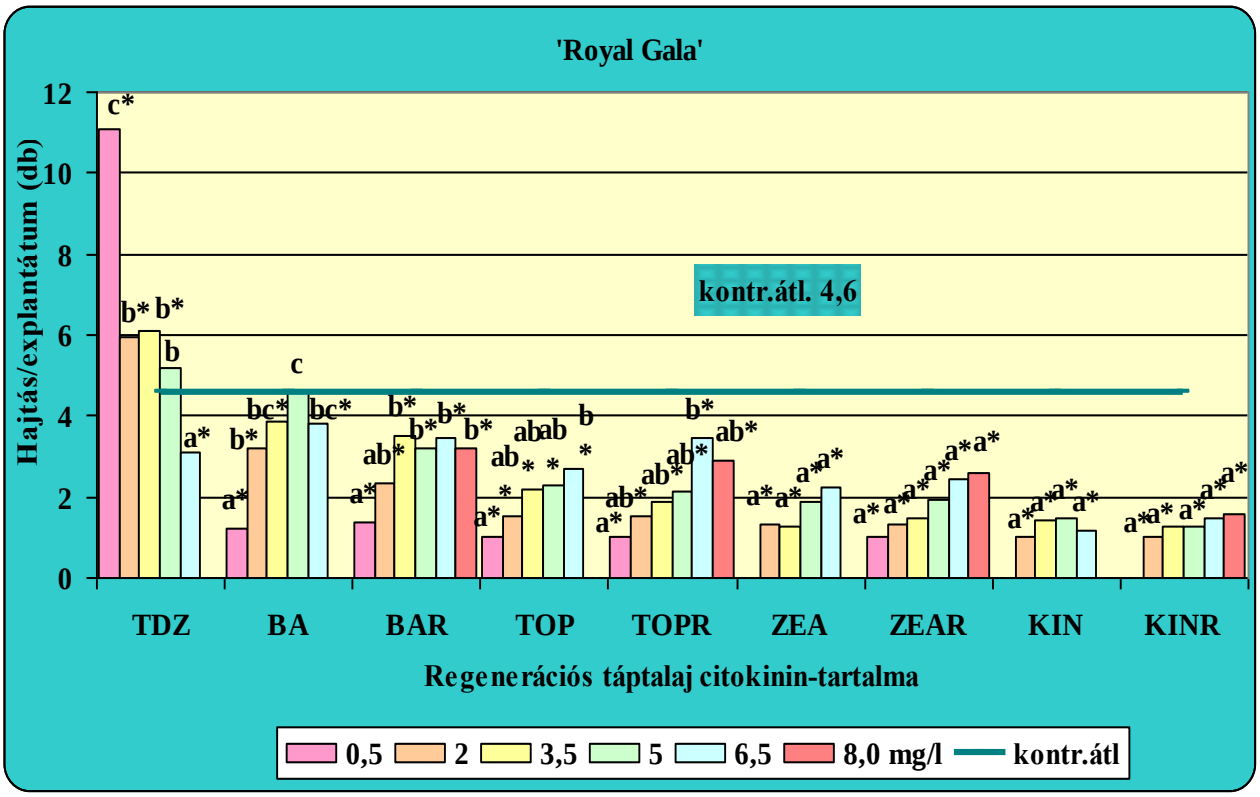
A ZEA, KIN, valamint ezek ribozidjai nem indukáltak hajtásfejlődést ennél a fajtánál. A TOPR is csak a legnagyobb (8,0 mg/l) koncentrációban eredményezett hajtásfejlődést (29. ábra).

A többi kezelés esetében a nagyon alacsony regenerációs ráta nem tette lehetővé a hajtások számának statisztikai értékelését. A citokininek különböző töménységei nem okoztak jelentős különbségeket a hajtások számában (30. ábra).



30. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása a regenerált hajtások számára ’Freedom’ fajtánál. Az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik az összes kezelésen belül ($s = 0,901$)

A ’Royal Gala’ a legkisebb (0,5 mg/l) TDZ kezelésre válaszolt a legnagyobb (11,1 hajtás/explantátum) hajtásszámmal, ez jelentősen meghaladta a kontroll átlagot (4,58) (31. ábra). Az ennél nagyobb TDZ koncentrációk már jelentősen csökkentették a hajtások számát, sőt a 6,5 mg/l TDZ töménység már kontrollnál is szignifikánsan kisebb hajtásszámot eredményezett.

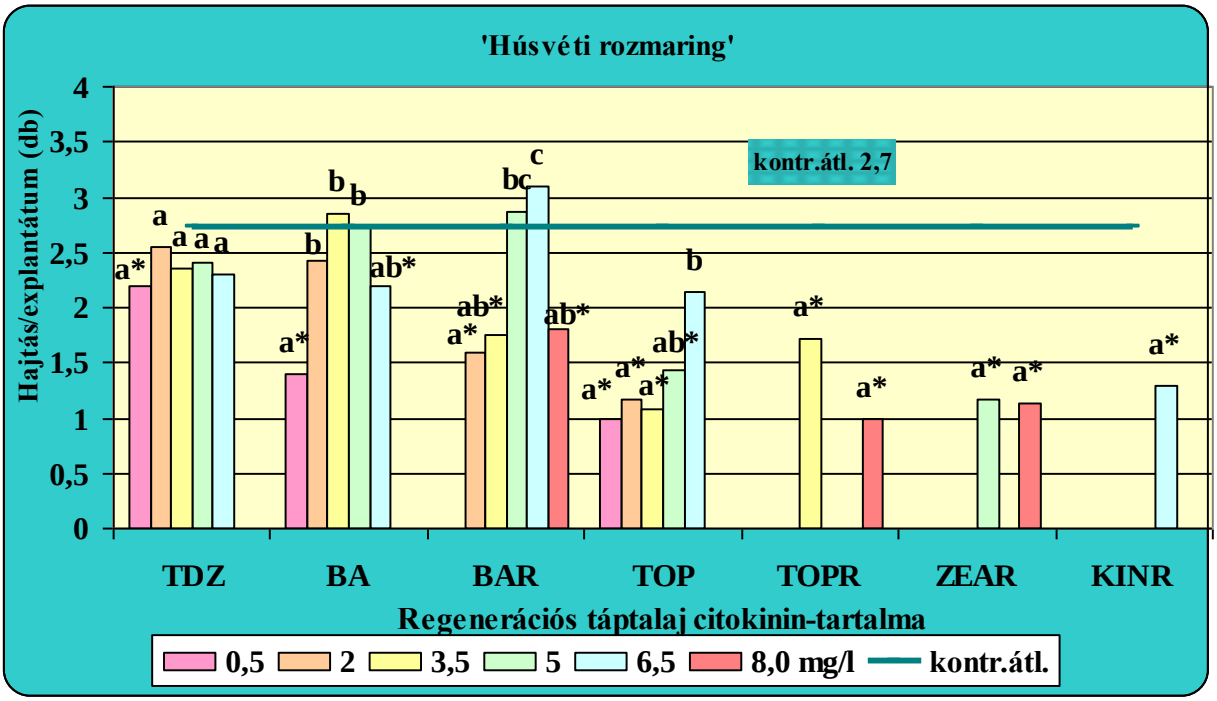


31. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása a regenerált hajtások számára ’Royal Gala’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelés (5,0 mg/l BA) átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 2,842 db)

Az összes többi citokinin jelentősen gátolta a hajtásképződést a kontrollhoz képest. Legkevésbé hatékony citokinin a fajta számára a KIN és ribozidja, valamint a ZEA és ribozidja. A TOP, ZEA valamint a ribozidjaik esetében a töménység emelésével a hajtásszám növekedése volt megfigyelhető, bár a ZEAR és KINR esetében nem voltak jelentősek a különbségek.

BA alkalmazásakor az 5,0 mg/l töménység (tulajdonképpen a kontroll kezelés) bizonyult optimális dózisnak, a kisebb (0,5 és 2,0 mg/l) BA koncentrációk jelentős csökkenést okoztak a hajtásszámban.

A ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál legnagyobb hajtásszámot (3,1 hajtás/explantátum) a BAR 6,5 mg/l alkalmazásával értük el, de hasonló hajtásszámot (2,9/explantátum) kaptunk a BA 3,5 mg/l és a BAR 5,0 mg/l esetében is (32. ábra). A TDZ használatával maximum 2,5 hajtást nyertünk explantátumonként, a különböző TDZ koncentrációk között nem voltak különbségek, azonban a 0,5 mg/l TDZ-t tartalmazó táptalajon a kontroll átlagánál jelentősen kevesebb hajtás fejlődött az explantátumokon.

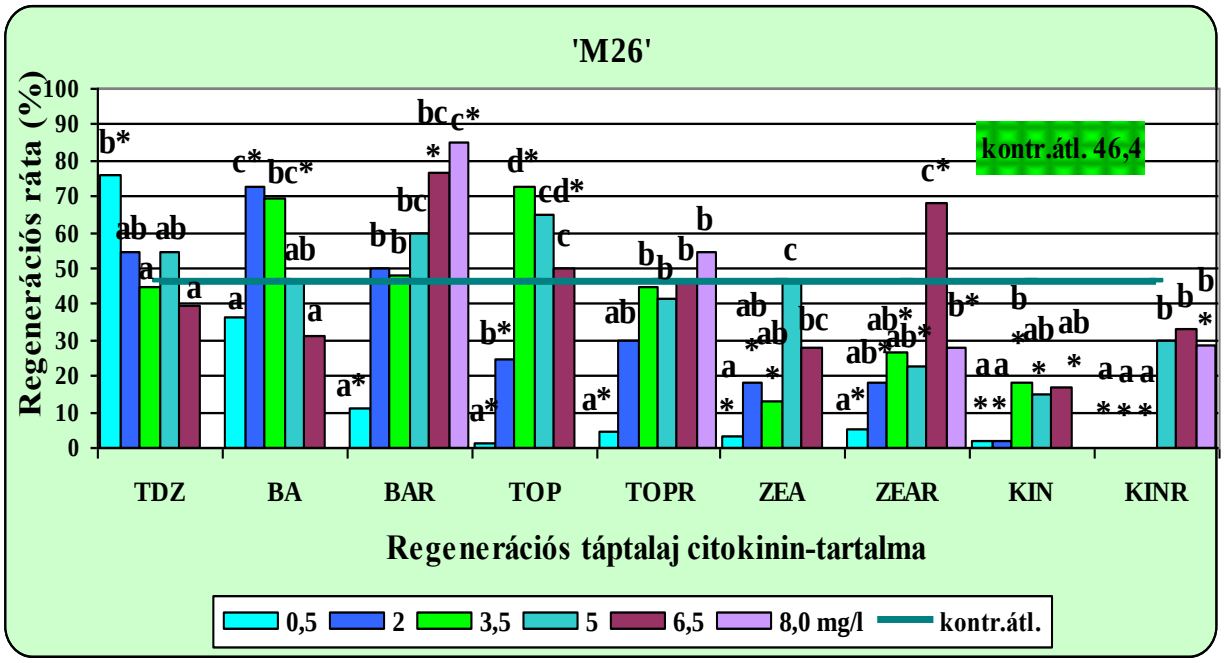


32. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása a regenerált hajtások számára ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelés (5,0 mg/l BA) átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 1,285 db)

A BA kezelések közül a 3,5 mg/l töménység adta a legjobb eredményt, a kontroll átlaghoz képest azonban csak a 0,5 és a 6,5 mg/l töménység okozott jelentős csökkenést a hajtások számában. A BAR koncentráció növelése 6,5 mg/l-ig a hajtások számának szignifikáns növekedését eredményezte, a további növelés 8,0 mg/l-re már jelentős csökkenést okozott. A TOP szint növekedésével kissé növekedett a hajtásszám, a 6,5 mg/l már jelentős növekedést eredményezett a 3,5 mg/l koncentrációhoz hasonlítva. A kezelések többségében a kontroll átlaga alatti hajtásszámot kaptunk, bár nem minden esetben volt szignifikáns a különbség. Legkevésbé hatékonyak a KIN és ZEA valamint a ribozidjaik és a TOPR voltak.

4.2.2. A regenerációs táptalaj citokinintartalmának hatása a regenerációs százalékra

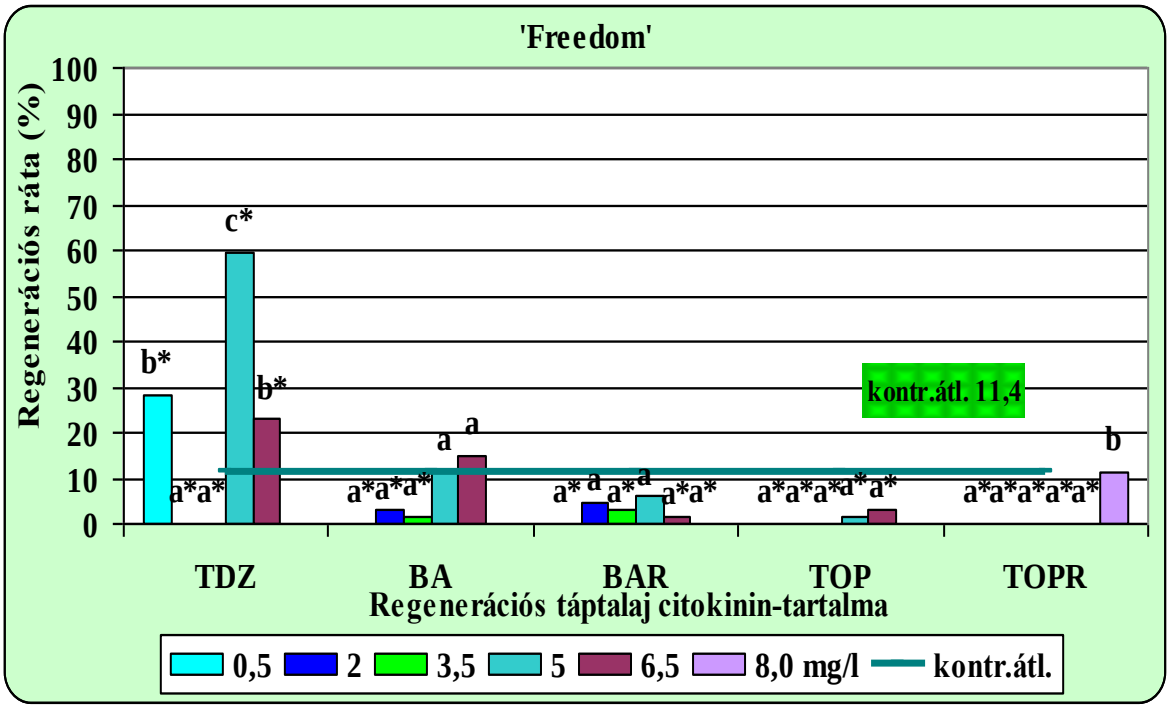
Az ’M26’ alany a legnagyobb regenerációs arányt (84,9%) a BAR 8,0 mg/l regenerációs táptalajon mutatta (33. ábra). Ennél a genotípusnál számos vizsgált citokinin kezelés a kontrollnál lényegesen jobbnak bizonyult: a TDZ 0,5 mg/l, a BA 2,0-3,5 mg/l, a BAR 5,0 mg/l felett, TOP 3,5-5,0 mg/l, sőt még a ZEAR is 6,5 mg/l töménységben a regenerációs százalék jelentős növekedését eredményezte. A ZEAR többi koncentrációja, a ZEA 5,0 mg/l alatti töménységben, a 0,5 mg/l BAR, a TOP 3,5 mg/l alatt, valamint a KIN minden töménységben a regenerációs ráta jelentős mértékű csökkenését okozta.



33. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása a regenerációs rátára ’M26’ alanynál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelés (5,0 mg/l BA) átlagától mutatnak jelentős eltérést ($s = 30,613\%$)

A BAR és TOPR koncentráció csökkenésével csökkent a regenerációs százalék, míg a TDZ esetében a koncentráció növekedésével csökkent a regenerációs ráta. A különböző BA, TOP, ZEA és ZEAR töménységek szintén jelentős különbségeket eredményeztek a regeneráció mértékében: optimális szinteknek a BA 2,0 mg/l, a TOP 3,5 mg/l, ZEA 5,0 mg/l, valamint ZEAR 6,5 mg/l bizonyultak. A KIN és KINR esetében alacsony regenerációs százalékokat kaptunk, ez utóbbi az alacsonyabb (0,5-3,5 mg/l) koncentrációkban nem indukált hajtásregenerációt.

A ’Freedom’ fajtánál az 5,0 mg/l TDZ kezeléssel értük el a legnagyobb regenerációs százalékot (59,7%), míg a ZEA, KIN és ezek ribozidjai, valamint a TOPR 8,0 mg/l-nél kisebb koncentrációban nem indukáltak organogenezist (34. ábra). Alacsony volt a regenerációs ráta a BA- és BAR-tartalmú regenerációs táptalajokon is.

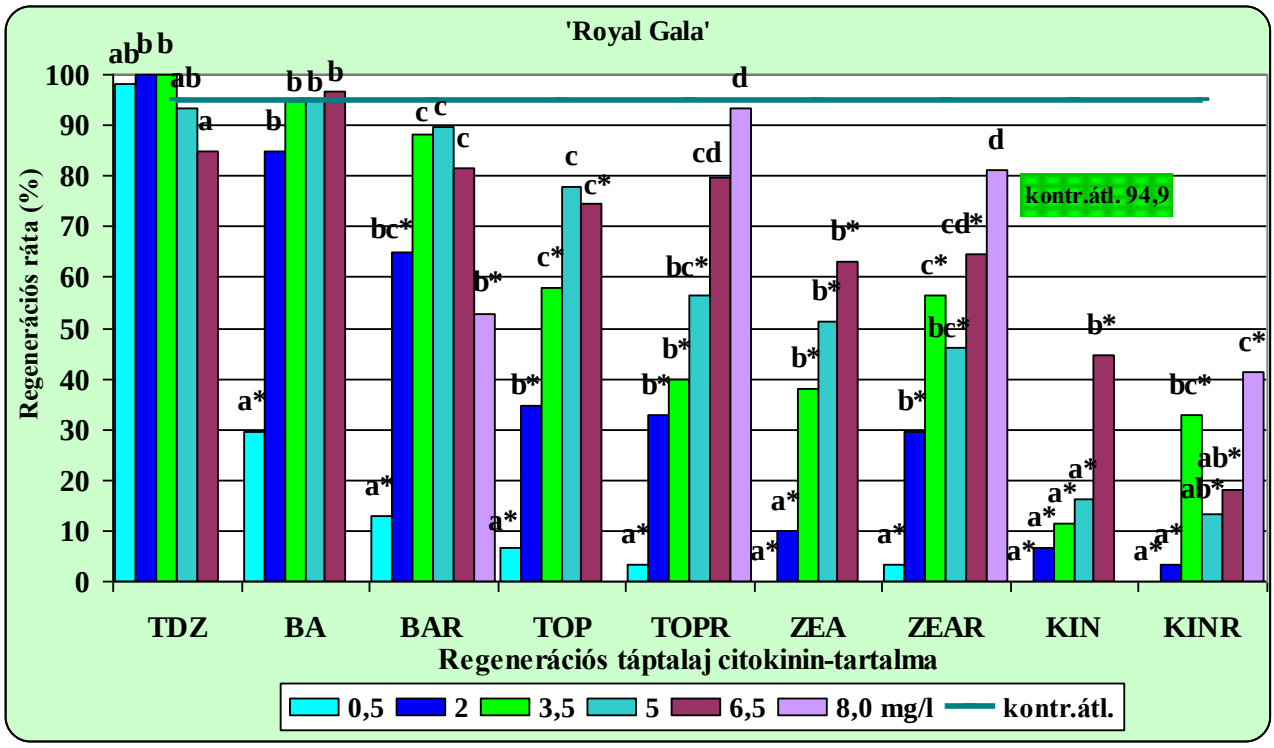


34. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása a regenerációs rátára ’Freedom’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelés (5,0 mg/l BA) átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 12,526%)

A ’Freedom’ fajtánál a TDZ 0,5; 3,5 és 6,5 mg/l koncentráció jelentősen megnövelte a regenerációs százalékot a kontrollhoz (11,4%) képest, míg a BA 5,0 mg/l alatti koncentrációk, valamint a BAR, TOP és TOPR kezelések jelentős csökkenést okoztak a regenerációs rátában.

A ’Royal Gala’ fajta 100% regenerációs rátát ért el a 2,0 és 3,5 mg/l TDZ-t tartalmazó regenerációs táptalajon, azonban ez az eredmény nem tért el jelentősen a kontroll kezeléstől (94,9%). A kezelések többsége kisebb hatékonyságú volt, mint a kontroll: a 0,5 mg/l BA, a BAR 3,5 mg/l alatt és 6,5 mg/l felett, a TOP szinte minden töménységben, a TOPR 6,5 mg/l alatt, a ZEA,

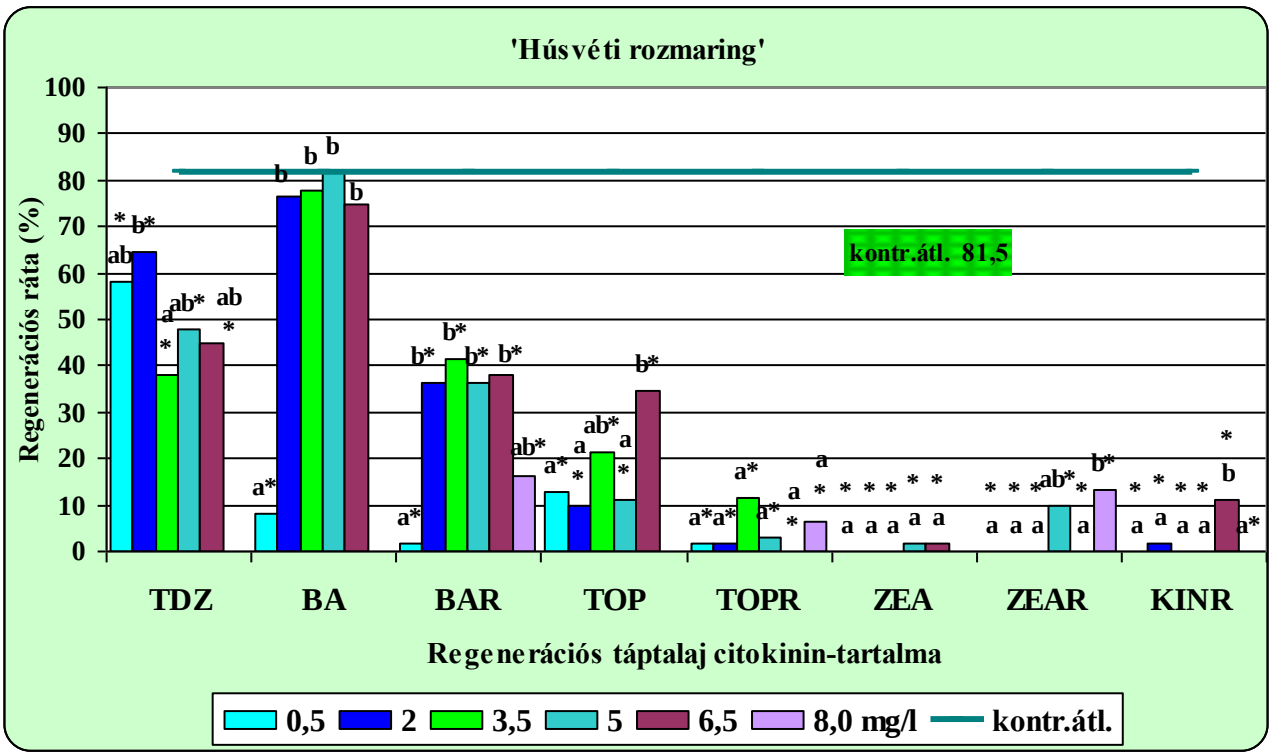
KIN és KINR minden koncentrációban, valamint 8,0 mg/l alatti ZEAR kezelések a regenerációs ráta jelentős csökkenését okozták (35. ábra).



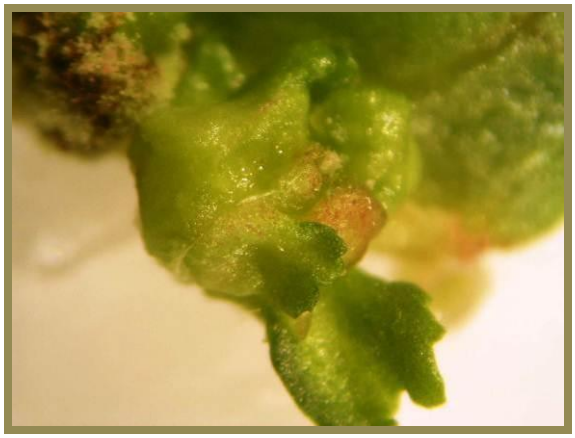
35. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása a regenerációs rátára ’Royal Gala’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelés (5,0 mg/l BA) átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 38,433%)

A különböző TDZ szinteket összehasonlítva csak a legnagyobb (6,5 mg/l) koncentráció csökkentette a regenerációt mutató explantátumok arányát jelentősen. A BA, TOP, ZEA, KIN, TOPR, ZEAR koncentrációk növekedésével nővekedett a regenerációs százalék. A BAR alkalmazása során a 3,5-6,5 mg/l koncentráció tartomány eredményezte a legnagyobb regenerációs százalékot. A ZEA, KIN és KINR 0,5 mg/l töménységben nem indukált organogenezist.

A ’Húsvéti rozmaring’ fajta számára leghatékonyabb regenerációs táptalajnak a kontroll kezelés bizonyult: a BA 5,0 mg/l koncentrációval értük el a legnagyobb regenerációs százalékot (81,5%), a többi citokinin ennél jelentősen kisebb regenerációs rátát adott. Alacsony regenerációs rátát figyeltünk meg a TOP- és TOPR-tartalmú táptalajokon, a ZEA, ZEAR és KINR csak elvétve indukáltak organogenezist (36. ábra). A KIN-tartalmú táptalajokon nem történt organogenezis.



36. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása a regenerációs rátára ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelés (5,0 mg/l BA) átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 27,664%)

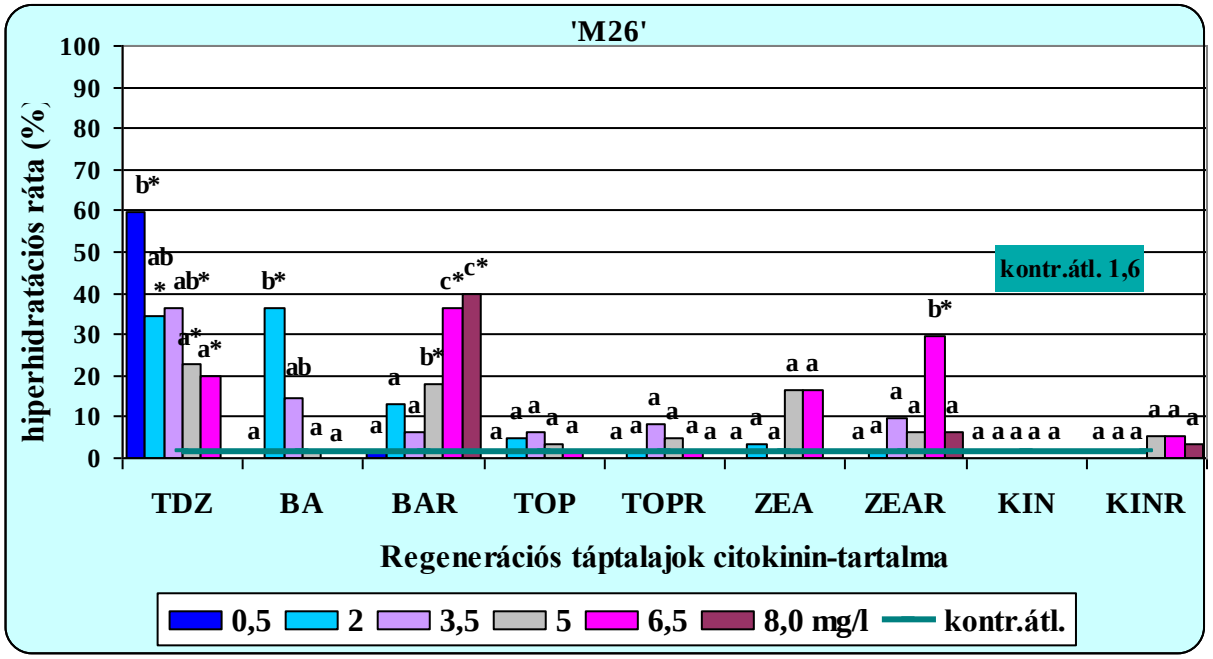


37. ábra. ’Húsvéti rozmaring’ hajtásregeneráció 3,5 mg/l BAR-tartalmú táptalajon (x120)

A BA és a BAR (37. ábra) koncentráció emelése 0,5 mg/l-ről 2,0 mg/l-re jelentősen növelte a regenerációs rátát. A TOP esetében a 6,5 mg/l töménység növelte jelentősen a regenerációs százalékot a kisebb koncentrációkhoz képest.

4.2.3. A regenerációs táptalaj citokinintartalmának hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára

Az ’M26’ alanynál a hiperhidratált tenyészetek aránya a 0,5 mg/l TDZ-tartalmú táptalajon volt a legnagyobb (59,8%). A 3,5 mg/l-nél nagyobb TDZ koncentrációk alkalmazásánál jelentősen lecsökkent ez az arány. Amennyiben a regenerációs táptalaj BAR-t tartalmazott a koncentráció növekedésével nőtt a hiperhidratáció mértéke. A KIN-t tartalmazó táptalajon egyáltalán nem fordult elő hiperhidratált tenyészet, és nagyon alacsony volt ezek aránya a TOP, TOPR, ZEA és KINR-t tartalmazó regenerációs táptalajokon (38. ábra).

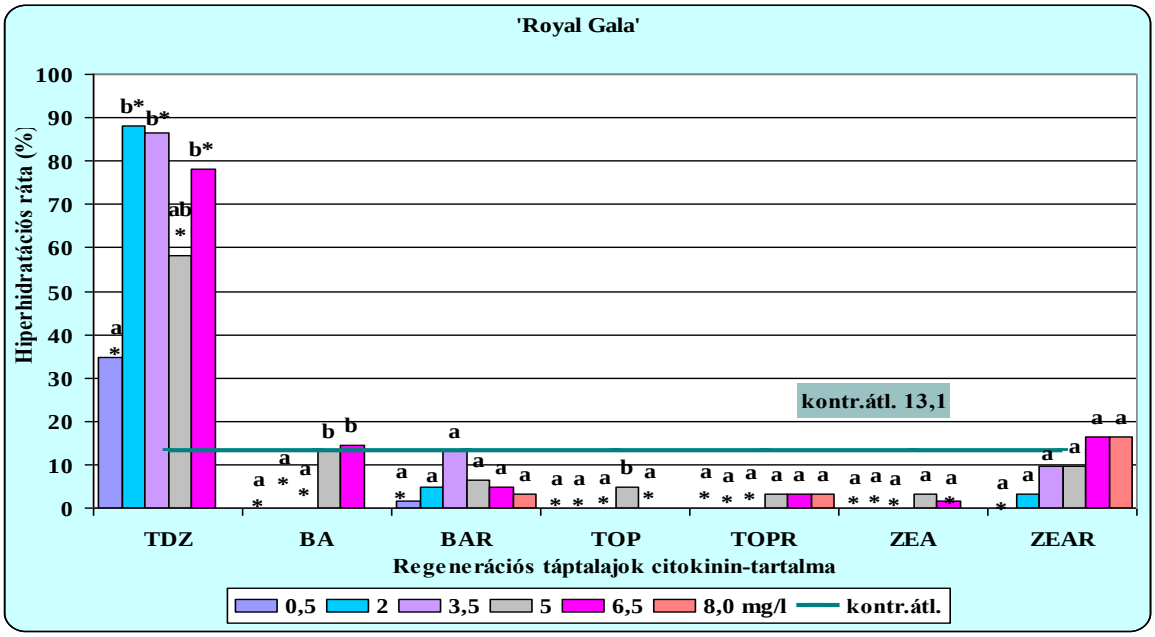


38. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára ’M26’ alanynál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelés (5,0 mg/l BA) átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 21,295%)

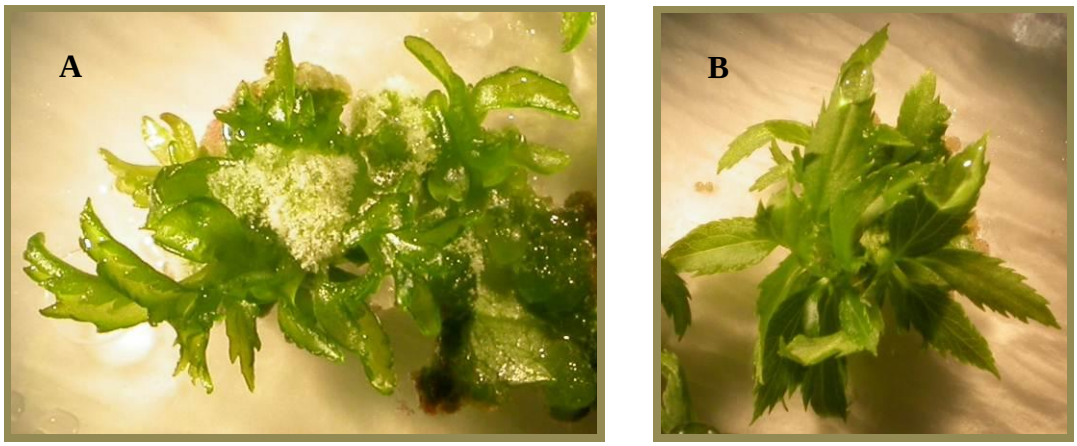
A TDZ összes töménységben, a BA 2,0 mg/l, a ZEAR 6,5 mg/l koncentrációban, valamint a 3,5 mg/l feletti BAR dózisok jelentősen növelték a hiperhidratáció mértékét. Nem volt különbség a koncentrációk között a hiperhidratált tenyészetek arányában a TOP, a TOPR, a ZEA és a KINR-t tartalmazó regenerációs táptalajokon.

A ’Freedom’ fajtánál a legtöbb hiperhidratált tenyészetet (23,1%) az 5,0 mg/l TDZ-t tartalmazó táptalajon kaptuk, csekély mértékben (1,6%) előfordult még hiperhidratáció a 6,5 mg/l TDZ- és a 2,0 mg/l BA-tartalmú táptalajon. Az összes többi kezelésben nem fordult elő hiperhidratált tenyészet.

A ’Royal Gala’ fajtánál a regenerációs táptalaj TDZ tartalma minden koncentrációban jelentősen megnövelte a hiperhidratált tenyészetek arányát a kontrollhoz (13,1%) képest. Legnagyobb volt a hiperhidratáció mértéke (88,2%) a 2,0 mg/l TDZ-t tartalmazó táptalajon (39. ábra). Jóval kisebb volt a hiperhidratáció mértéke az egyéb citokinint tartalmazó regenerációs táptalajokon. Az 5,0 mg/l alatti BA és TOPR töménységek esetén, valamint a KIN-t és KINR-t tartalmazó regenerációs táptalajokon nem találtunk hiperhidratált tenyészetet (40. ábra).

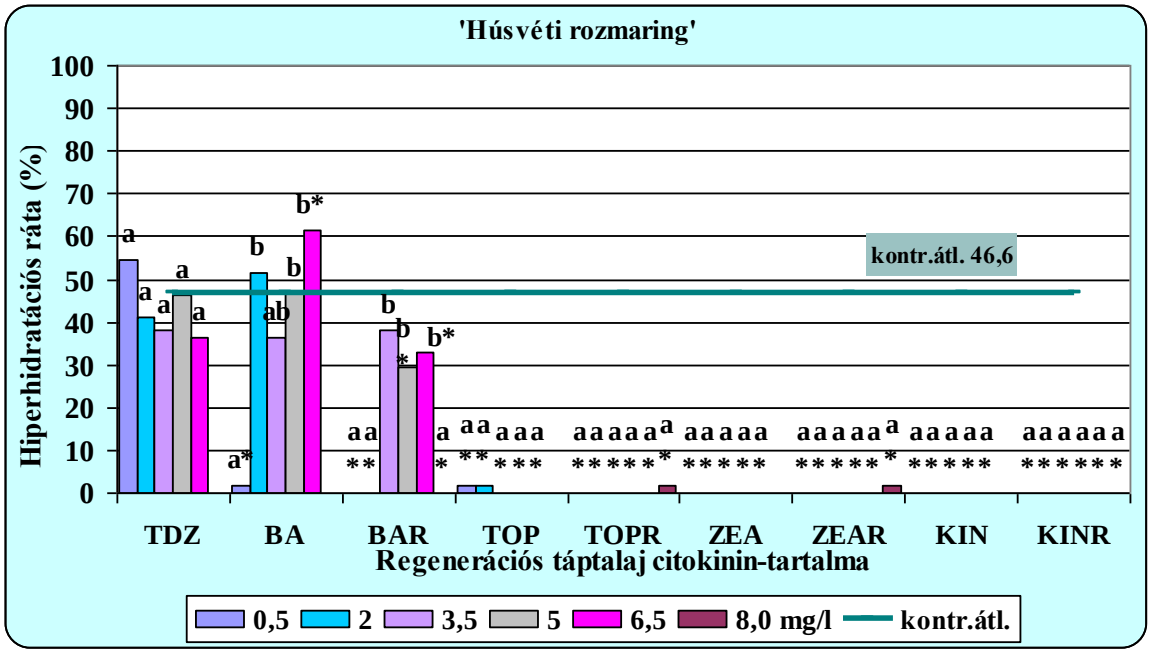


39. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára ’Royal Gala’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelés (5,0 mg/l BA) átlagától mutatnak jelentős eltérést ($s = 24,572\%$)

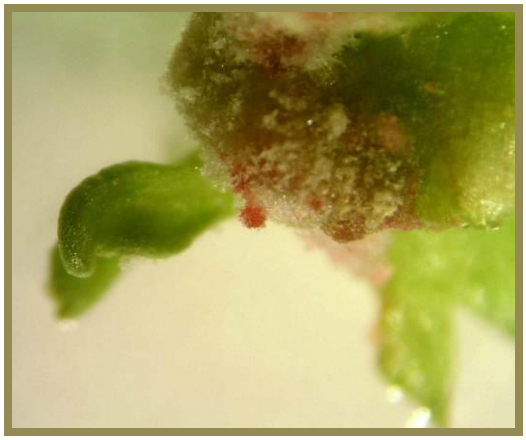


40. ábra. ’Royal Gala’ regenerált hajtások. A: Hiperhidratált hajtások, melyek 0,5 mg/l TDZ-t tartalmazó táptalajon fejlődtek. B: Normális, 6,5 mg/l TOPR-t tartalmazó táptalajon fejlődött hajtások

A ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál a 6,5 mg/l BA-t tartalmazó regenerációs táptalajon volt legnagyobb a hiperhidratált tenyészetek aránya (61,5%) ez jelentősen nagyobb volt, mint a kontroll kezelésben tapasztalt arány (46,6%) (41. ábra). A TDZ-t tartalmazó táptalajokon a kontrollhoz hasonló hiperhidratációs arányt találtunk, a koncentrációk között nem volt jelentős különbség. A TOP-, TOPR- és ZEAR-tartalmú táptalajokon csekély mértékű hiperhidratációt figyeltünk meg, míg a ZEA, KIN és KINR táptalajokon egyáltalán nem volt ilyen tenyészet.



41. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál. Egy adott citokinin típuson belül az egymástól szignifikánsan ($p<0,05$) különböző értékeket eltérő betűk jelölik, míg a csillaggal jelölt értékek a kontroll kezelés (5,0 mg/l BA) átlagától mutatnak jelentős eltérést (s = 23,03%)

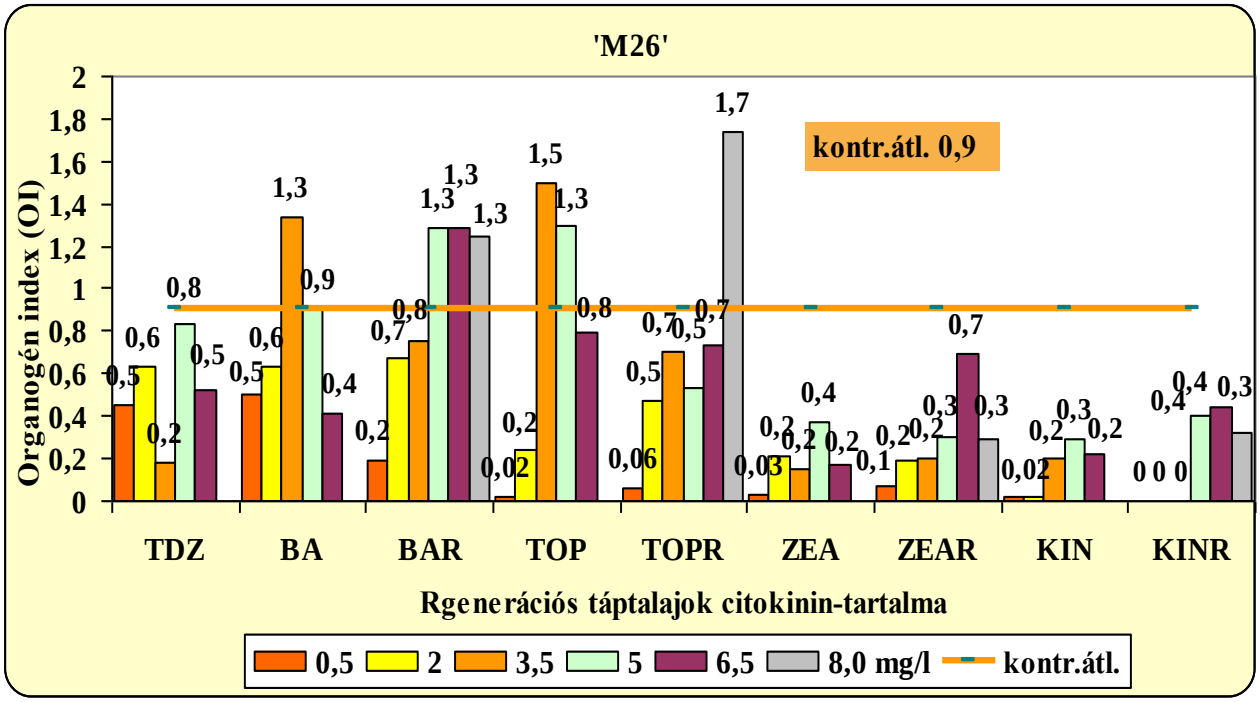


42. ábra. ’Húsvéti rozmaring’ hajtásregeneráció 2,0 mg/l BAR-t tartalmazó táptalajon (x120)

Megközelítőleg a tenyészetek 1/3-a volt hiperhidratált a BAR 3,5-6,5 mg/l koncentráció tartományban, míg a BAR-t ennél kisebb és nagyobb mennyiségben tartalmazó táptalajokon nem jelentkezett hiperhidratáció (42. ábra).

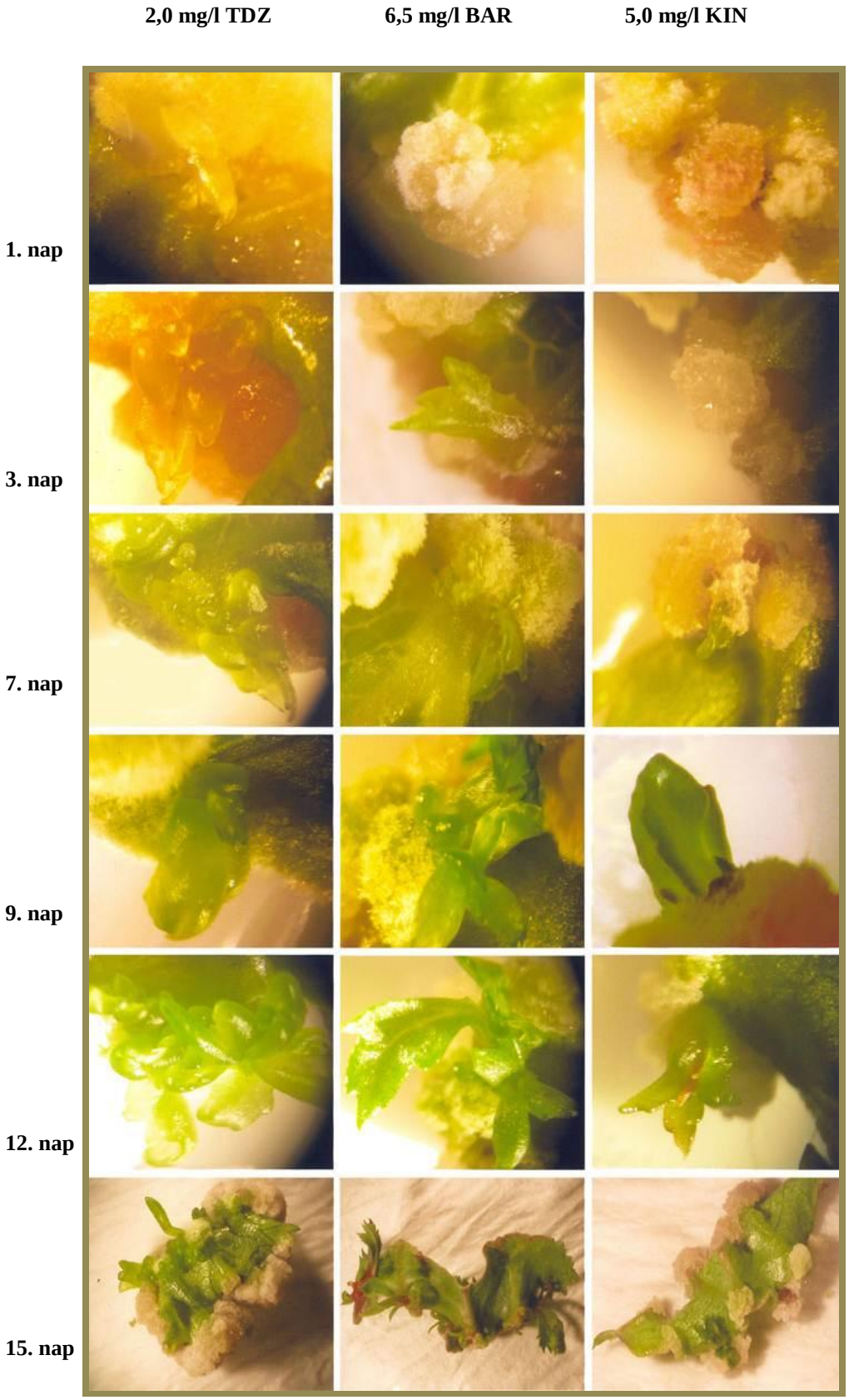
4.2.4. Az organogén index alakulása a különböző citokinint tartalmazó regenerációs táptalajokon

Az ’M26’ alanynál a legnagyobb indexértéket (1,74) a 8,0 mg/l TOPR-t tartalmazó regenerációs táptalajon értük el, ezenkívül a kontroll átlag (0,9) feletti értékeket kaptunk még a 3,5 mg/l BA-t, 3,5 mg/l feletti BAR-t, valamint a 3,5 és 5,0 mg/l TOP-t tartalmazó regenerációs táptalajokon. A KIN és ZEA, valamint ezek ribozidjai alacsony OI-t eredményeztek (43. ábra).



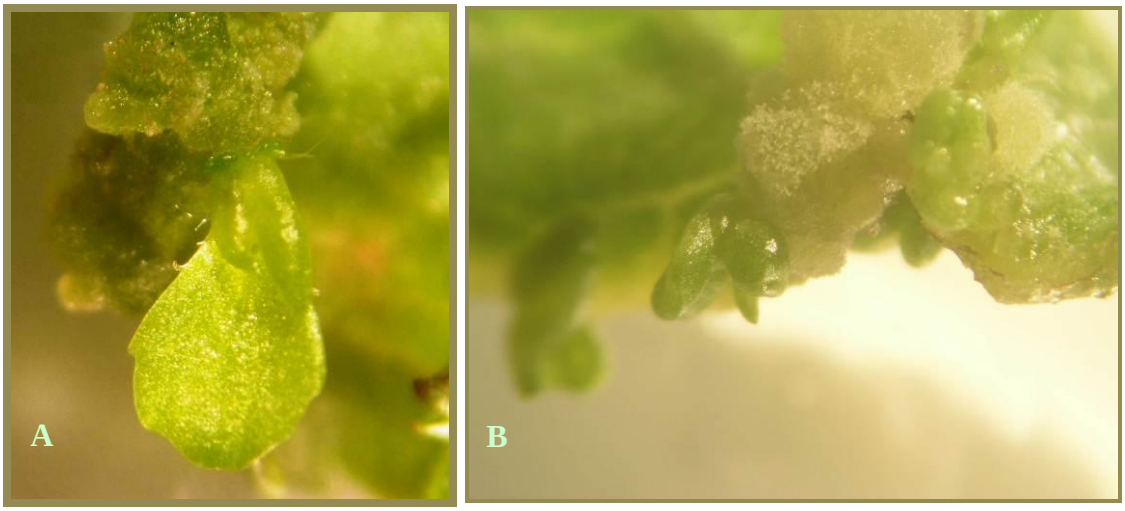
43. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása az organogén index (OI) értékeire ’M26’ alanynál

A 44. ábrán az ’M26’ alany hajtásregenerációjának különböző fejlődési fázisait szemlélhetjük meg, különböző táptalajokon. A feltüntetett napok száma azt az időtartamot jelenti, amely a 3 hetes sötét időszakot követő fényre helyezéstől eltelik. Az ábrán is látható a kapott eredmények egy része: a TDZ-t tartalmazó táptalajon, kissé hiperhidratált hajtások láthatók, míg a BAR- és KIN-tartalmú táptalajon egészségesek a hajtások. A BAR-t és TDZ-t tartalmazó táptalajon az explantátumon számos hajtás fejlődött, míg a KIN-t tartalmazó regenerációs táptalajon csak egy hajtás látható az explantátumon, ez utóbbi táptalaj esetében látható, hogy a regenerációs folyamatok is lassabban történtek, mint a másik két regenerációs táptalajon.

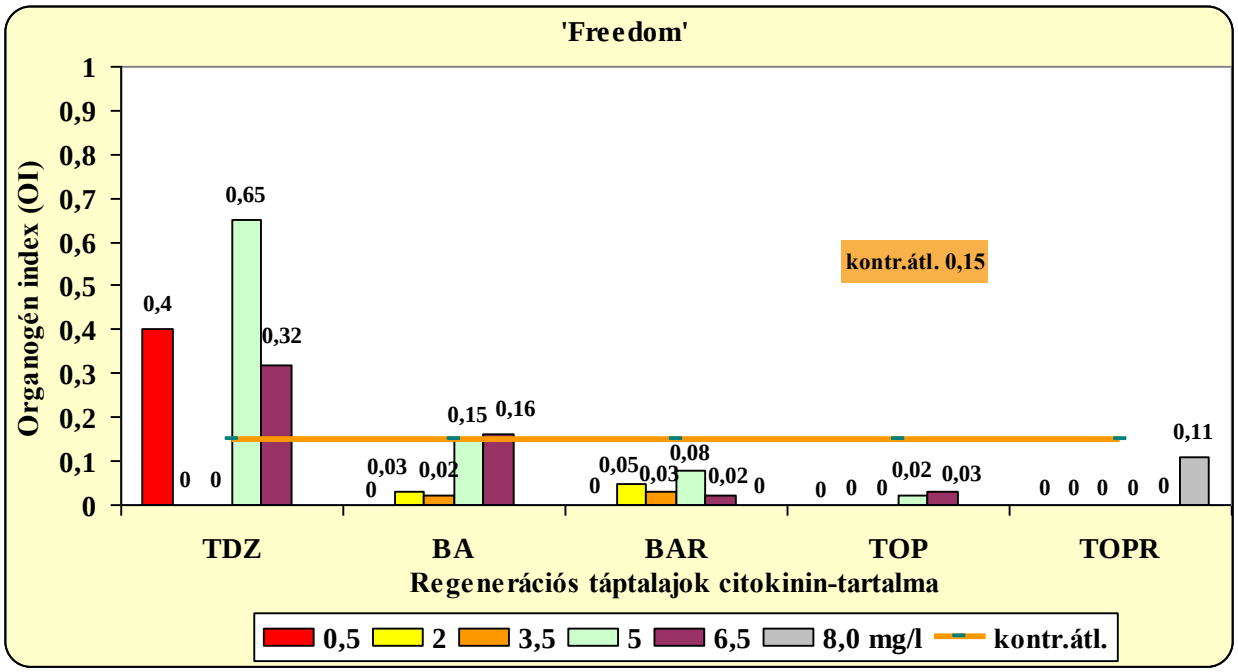


44. ábra. Az ’M26’ alany hajtásregenerációjának folyamata a különböző táptalajokon (x120, x 60)

A ’Freedom’ fajtánál legnagyobb OI-t (0,65) az 5,0 mg/l TDZ kezeléssel értük el, ennél a fajtánál egyetlen esetben sem kaptunk 1,0 feletti értéket (45. ábra). Alacsony OI értékeket kaptunk a BA, BAR, TOP és TOPR-t tartalmazó táptalajokon, míg a ZEA-, ZEAR-, KIN- és KINR-tartalmú regenerációs táptalajokon egyáltalán nem történt organogenezis (46. ábra).

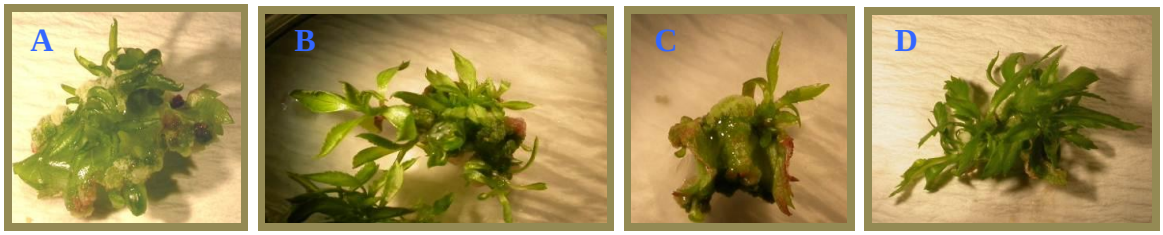


45. ábra. ’Freedom’ hajtásregeneráció A: 5,0 mg/l BAR, B: 5,0 mg/l TDZ táptalajon (x 60)

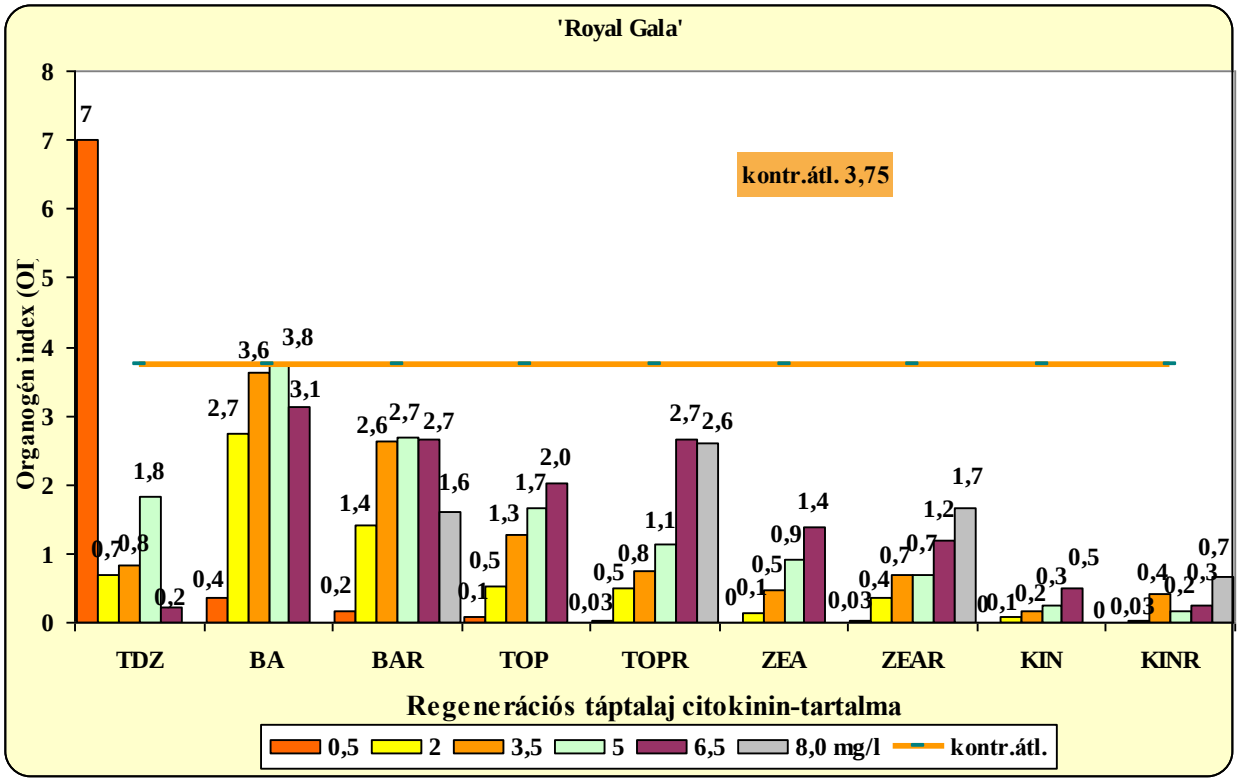


46. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása az organogén index (OI) értékeire ’Freedom’ fajtánál

A ’Royal Gala’ fajta a legkisebb (0,5 mg/l) TDZ koncentrációt tartalmazó regenerációs táptalajon kiugróan nagy (7,0) OI értéket mutatott, míg a TDZ-t nagyobb töménységben tartalmazó táptalajokon jóval alacsonyabb értékeket kaptunk. Az összes többi citokinin kezelés azonban a kontroll átlag (3,75) alatti OI értéket ért el (47. ábra).



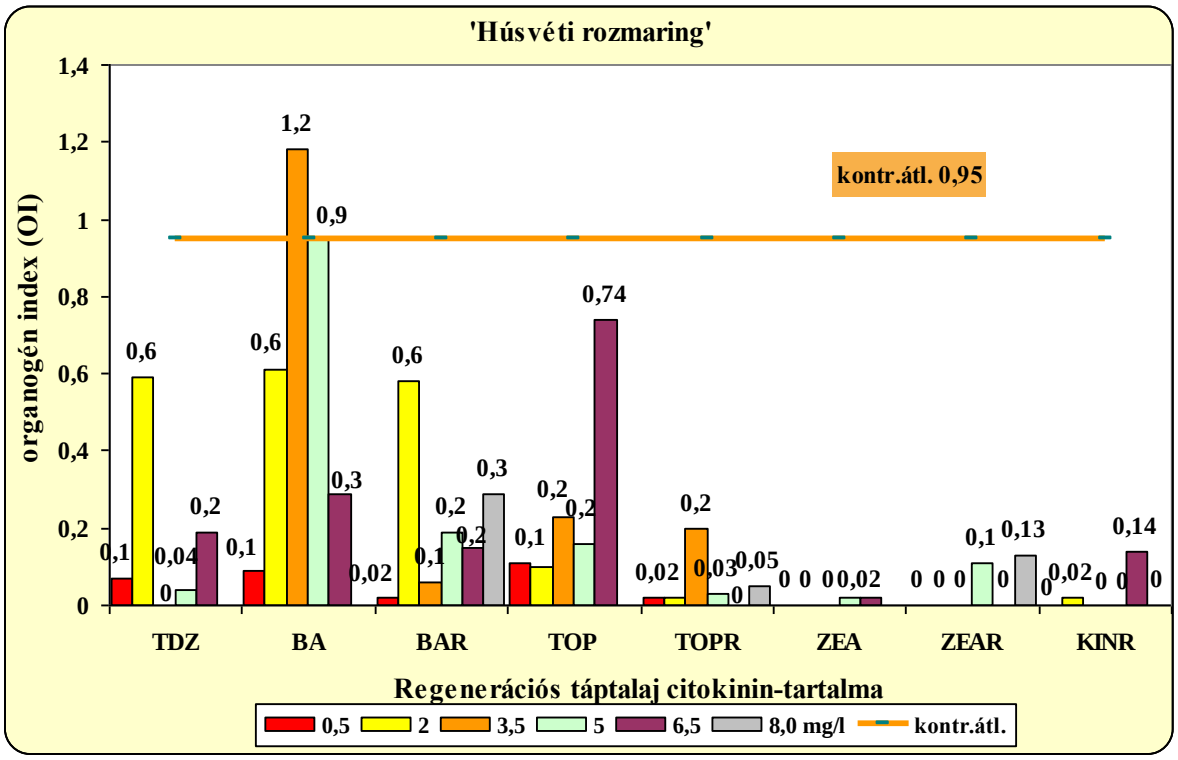
47. ábra. ’Royal Gala’ hajtásregeneráció A: 0,5 mg/l TDZ, B: 3,5 mg/l BA, C: 6,5 mg/l KIN, D:6,5 mg/l TOPR táptalajokon



48. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása az organogén index (OI) értékeire ’Royal Gala’ fajtánál

A BA és a BAR alkalmazásánál a 3,5-6,5 mg/l koncentráció tartománnyal lehetett a legjobb OI értékeket elérni, a TOP, TOPR, ZEA és a ZEAR, valamint a KINR esetében a koncentráció növekedésével nőtt az OI értéke (48. ábra).

A ’Húsvéti rozmaring’ fajtával alacsony OI értékeket kaptunk, a legnagyobb (1,18) OI érték a 3,5 mg/l BA-t tartalmazó regenerációs táptalajra volt jellemző. Az összes többi kezelésnél a kontroll átlaga (0,95) alatt volt az OI értéke, legtöbb kezelésnél még a 0,5-t sem érte el. A ribozidok, valamint a ZEA nagyon alacsony OI-t eredményeztek (49. ábra).



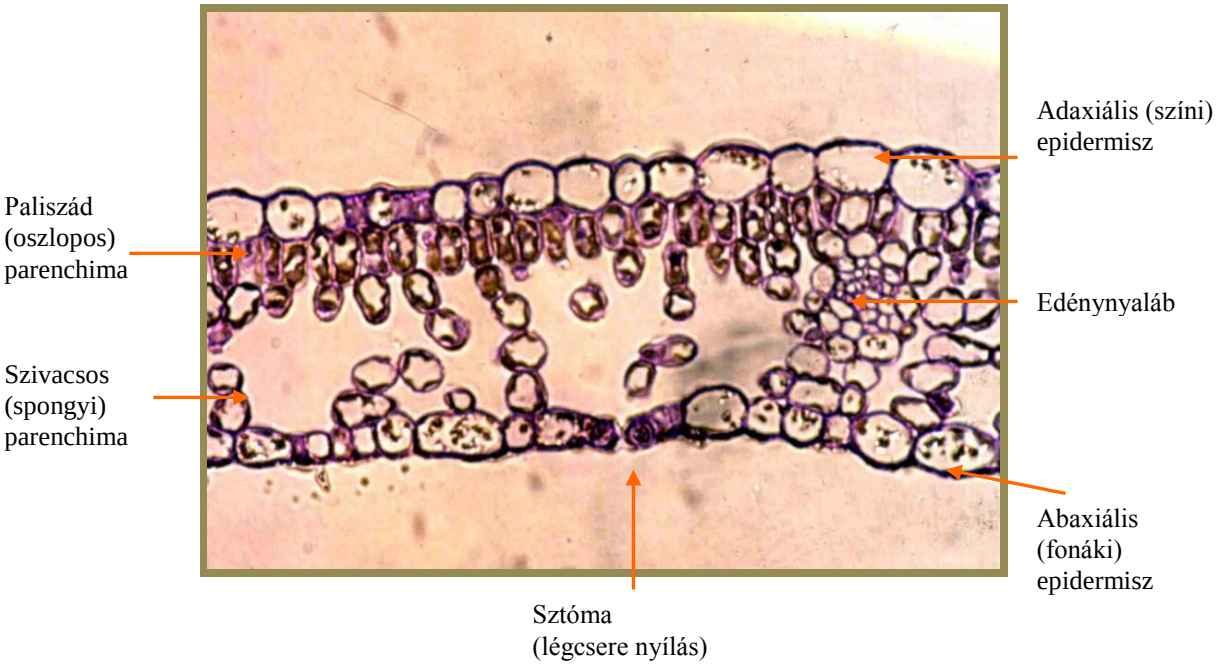
49. ábra. Regenerációs táptalaj citokinin tartalmának hatása az organogén index (OI) értékeire ’Húsvéti Rozmaring’ fajtánál

4.3. Előkezelések hatása az *in vitro* alma levelek szövettani szerkezetére

Citokininmentes előkezelő táptalajon fejlődött alma levél szerkezetére jellemző volt, hogy az epidermisz egyrétegű, sejtjei szorosan egymáshoz záródnak, színtesteket tartalmaznak. Főleg a felső epidermisz sejtjeiben figyelhetők meg nagy vakuolumok és a sejtfalak mentén vékony plazmabélés.

A sejtfalak vastagsága minden oldalon nagyjából azonos, az abaxiális epidermiszen nagyszámban találhatók sztómák, melyek az epidermisz szintjében állnak és nagyrészt zártak. A mezofillum paliszád és szivacsos parenchimára különül.

A paliszád parenchima egy sejtrétegű, sejtjei szorosan állnak, megnyúlt alakúak és sok színtestet tartalmaznak. A szivacsos parenchimát a nagy intercelluláris járatok uralják, a mezofillum két szövettája érintkezésében jól fejlett szállítószövet rendszer figyelhető meg (50. ábra).

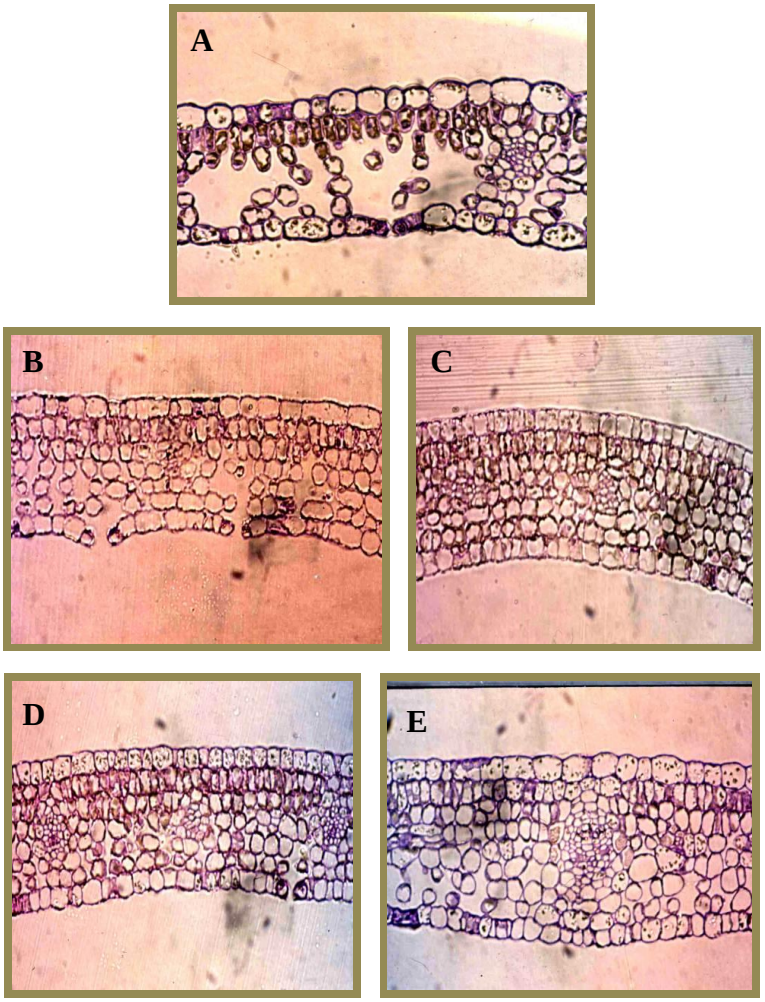


50. ábra. Citokinin-mentes táptalajon fejlődött levél keresztmetszeti képe (x400)

Amennyiben az előkezelő táptalaj metatopolint tartalmazott az abaxiális és adaxiális epidermisz között alig volt különbség, az abaxiális epidermiszen nagyon kevés és fejletlen, nagyrészt nyitott sztóma található. A mezofillum nagyon kompakt szerkezetű, a mezofillum sejtek egymáshoz

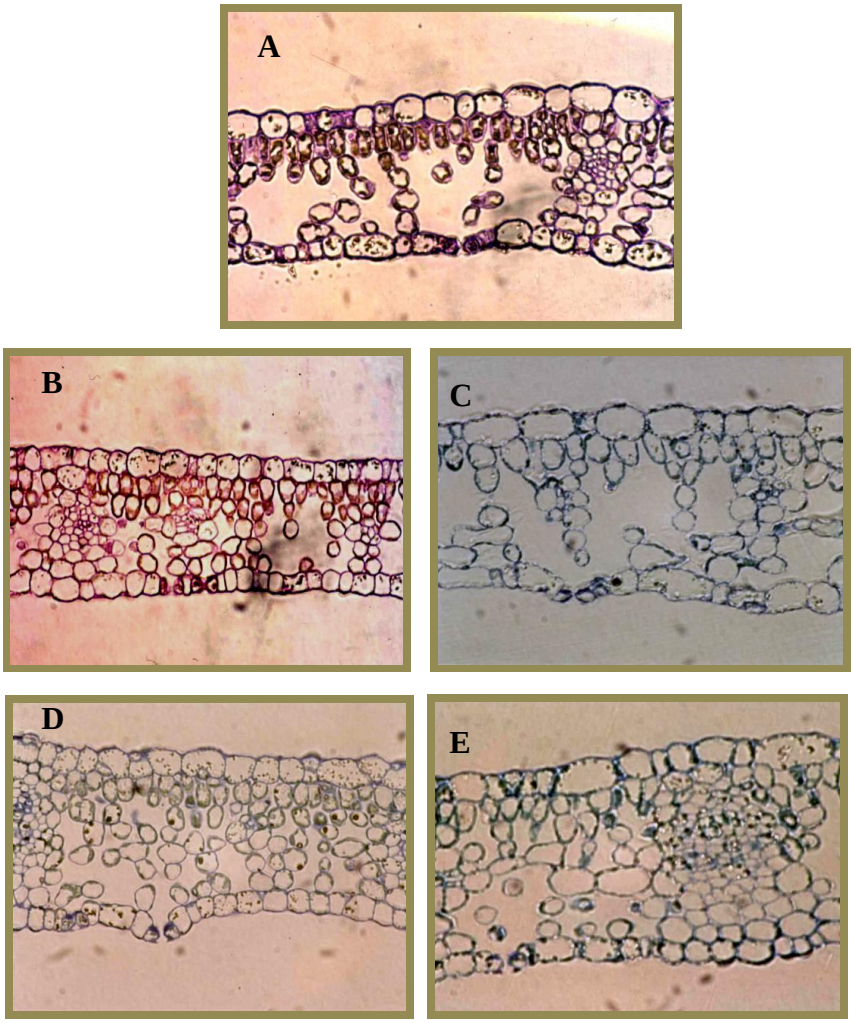
szorosan záródnak, intercelluláris járatok nem figyelhetők meg. A parenchima sejtjeiben sűrű citoplazma látható, a szállítónyalábok is kevésbé fejlettek. 0,5 mg/l TOP alkalmazásakor még két soros paliszád parenchima fejlődik, a TOP koncentráció emelkedésével azonban a mezofillum egyre homogénebbé válik, a paliszád és a szivacsos parenchima alig különíthető el.

A legnagyobb vizsgált TOP koncentráció (2,0 mg/l) esetében azonban a levél már differenciáltabb struktúrát mutatott: a két sejtsoros paliszád és a szivacsos parenchima jól elkülöníthető, a szivacsos parenchimában intercelluláris járatok láthatóak, és a szállítónyalábok is fejlettebbek (51. ábra).



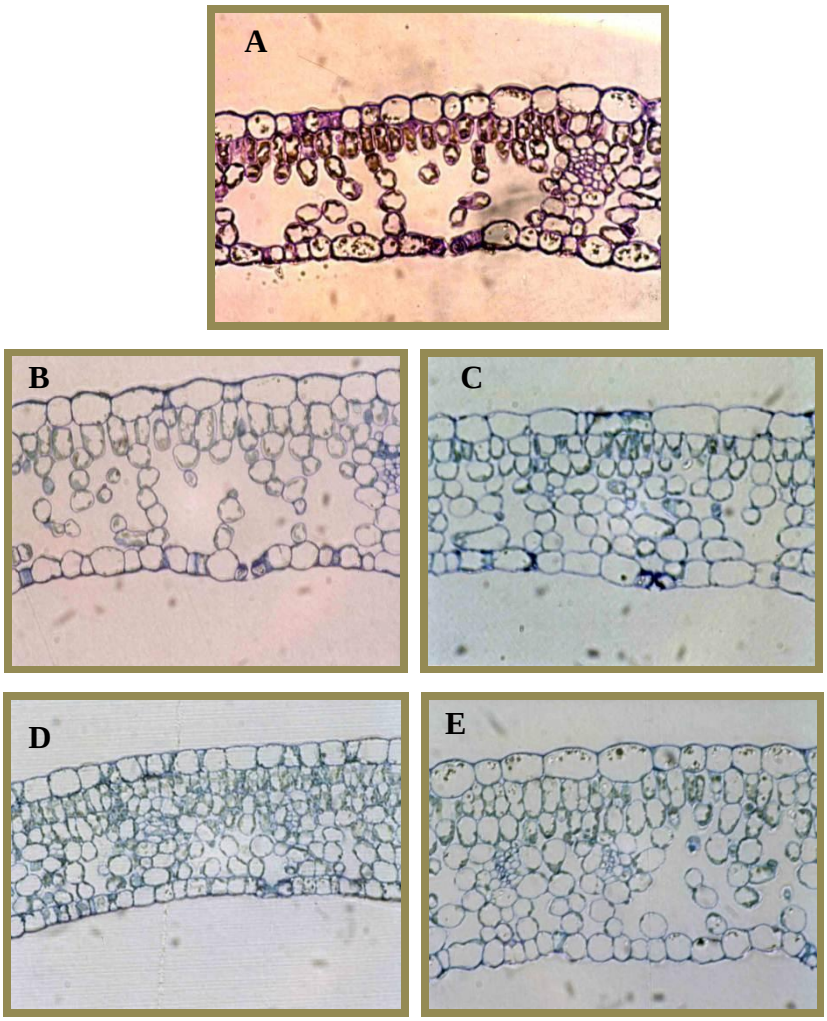
51. ábra. A TOP hatása az *in vitro* alma levelek szöveti szerkezetére. **A:** kontroll (citokininmentes), **B**: 0,5 mg l^{-1}, **C**: 1,0 mg l^{-1}, **D**: 1,5 mg l^{-1}, **E**: 2,0 mg l^{-1} TOP-tartalmú táptalajon fejlődött levelek keresztmetszeti képe (x400)

Benziladenint tartalmazó előkezelő táptalajon fejlődött levelek esetében az adaxiális és abaxiális epidermisz egy-egy sejtrétegű, egymástól megkülönböztethető. Az abaxiális epidermisz sejtjei színtesteket tartalmaznak, sztómái főként nyitottak és a BA koncentráció emelkedésével egyre nagyobb arányban emelkednek az epidermisz szintje fölé. A paliszád parenchima két sejtsora kisebb BA koncentrációnál (0,5 és 1,0 mg/l) jól látható, nagyobb BA koncentrációknál már csak egy sejtsor figyelhető meg. A szivacsos parenchima intercelluláris járatai sokkal kisebbek, mint a citokinin-mentes táptalaj esetén. A táptalaj BA-tartalmának emelkedésével az epidermisz sejtek vakuolizáltsága nő, a parenchima sejtek egyre jobban legömbölyödnek (52. ábra).



52. ábra. A BA hatása az *in vitro* alma levelek szöveti szerkezetére. **A:** kontroll (citokininmentes), **B**: 0,5 mg l^{-1}, **C**: 1,0 mg l^{-1}, **D**: 1,5 mg l^{-1}, **E**: 2,0 mg l^{-1} BA-tartalmú táptalajon fejlődött levelek keresztmetszeti képe (x400)

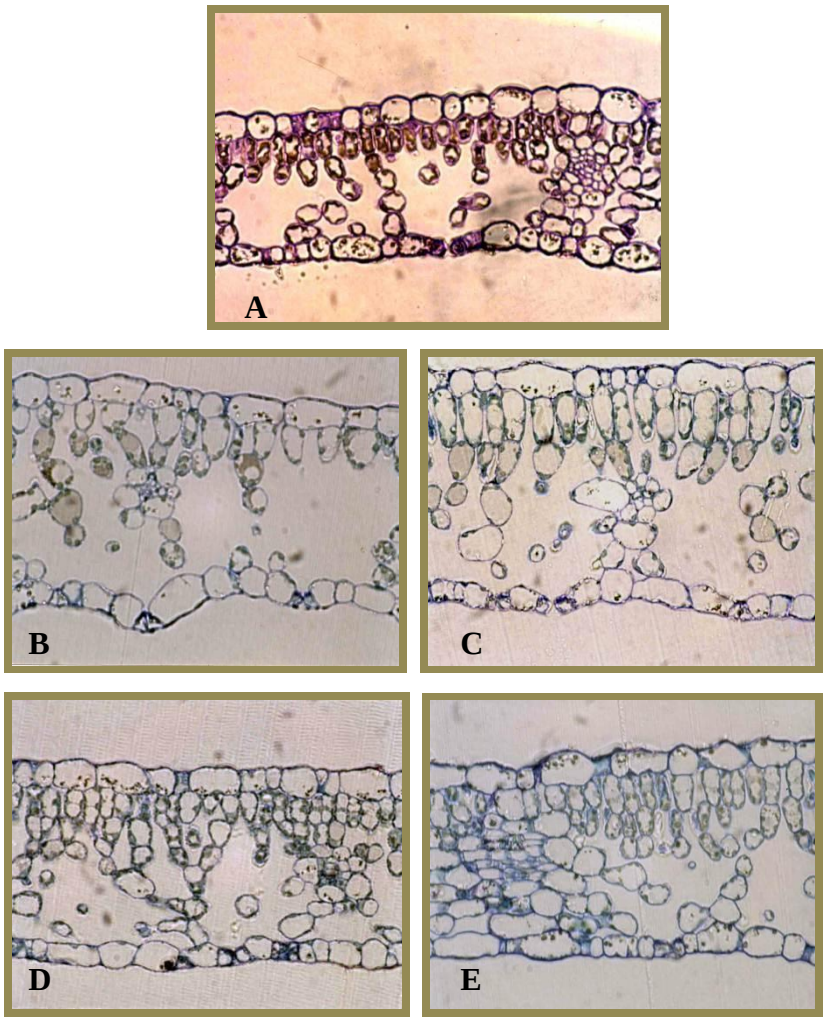
A benziladenint kiegészítve 0,5 mg/l metatopolinnal megfigyelhető, hogy a levelek vastagabbak, mint a TOP egyedüli alkalmazásakor, az epidermisz és a mezofillum sejtek gömbölydedek, a sejttérfogat nagyobb, a sejtek vakuolizáltsága nagymértékű, csak vékony plazmabélés látható, a sztómák általában nyitottak. A szivacsos parenchimában nagy intercelluláris járatok vannak. 1,0 mg/l TOP alkalmazásakor a sejttérfogat csökken és az intercelluláris járatok is kisebbek. A legjuvenilisebb szerkezet 0,5 mg/l BA és 1,5 mg/l TOP együttes alkalmazásakor figyelhető meg: a sejtek térfogata még kisebb lesz, a vakuolizáltság mértéke is csökken, az intercelluláris járatok kicsik vagy hiányoznak (53. ábra).



53. ábra. BA és TOP együttes hatása az *in vitro* alma levelek szöveti szerkezetére. **A:** kontroll (citokininmentes), a többi képen: 0,5 mg l^{-1} BA mellett alkalmazott **B**: 0,5 mg l^{-1}, **C**: 1,0 mg l^{-1}, **D**: 1,5 mg l^{-1}, **E**: 2,0 mg l^{-1} TOP-tartalmú táptalajon fejlődött levelek keresztmetszeti képe (x400)

Sztóma alig látható az alsó epidermiszen, és azok is zártak. A legnagyobb TOP koncentrációnál már kétsoros a paliszád parenchima, a mezofillum sejtek gömbölydedek, vakuolizáltabbak, az intercelluláris járatok nagyobbak.

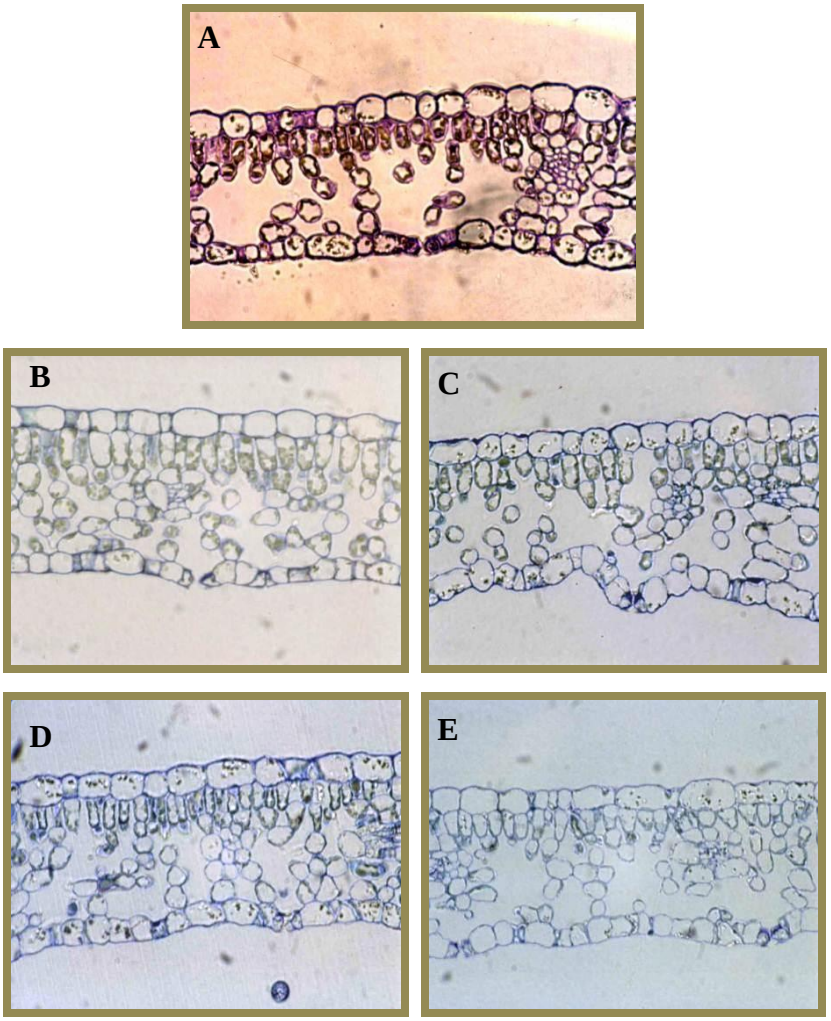
Abban az esetben, ha az előkezelő táptalaj kinetint tartalmazott, mind az epidermisz, mind a mezofillum sejtek térfogata nagy, a sejtek vakuolizáltak, vékony citoplazmabéléssel. A legkisebb alkalmazott KIN koncentrációnál (0,5 mg/l) a legkifejezettebb a mezofillum dezorganizáltsága. A mezofillum sejtjei gömbölydedek, az egy sejtsoros paliszád parenchima elkülöníthető, de sejtjei között nagy intercelluláris rések figyelhetők meg, a szivacsos parenchima alig tartalmaz sejteket, köztük hatalmas intercelluláris üregek találhatók. Az abaxiális epidermiszen sűrűn helyezkednek el az epidermisz szintjéből kiemelkedő sztómák (54. ábra).



54. ábra. KIN hatása az *in vitro* alma levelek szöveti szerkezetére. **A:** kontroll (citokininmentes), **B**: 0,5 mg l^{-1}, **C**: 1,0 mg l^{-1}, **D**: 1,5 mg l^{-1}, **E**: 2,0 mg l^{-1} KIN-tartalmú táptalajon fejlődött levelek keresztmetszeti képe (x400)

A KIN koncentrációjának növekedésével párhuzamosan csökkent a mezofillum sejtek térfogata, de a nagymértékű vakuolizáltság továbbra is jellemző maradt. A sejtek kevésbé legömbölyítettek, csökkent az intercelluláris járatok mérete és elkülöníthetővé vált a paliszád parenchima második sejtsora is, az abaxiális epidermiszen lévő sztómák az epidermisz szintjében állnak, kicsik és gyakoriak a sztóma anyasejtek.

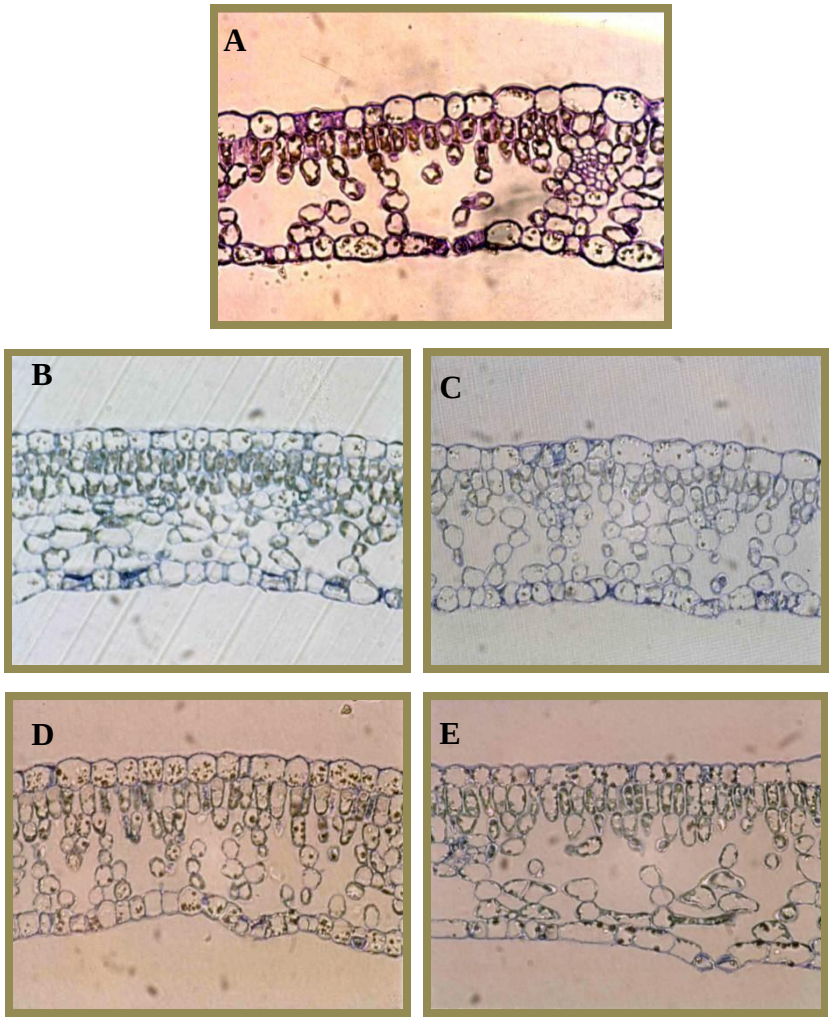
A benziladenin és kinetin együttes alkalmazásakor a levelek mezofilluma keskenyebb volt és a sejtek mérete a KIN kezeléshez képest csökkent. Jellemző a sejtek vakuolizáltsága és a szivacsos parenchima sejtjei gömbölydedek sok sejtközötti járattal. A legkisebb KIN koncentrációnál a paliszád parenchima egy, nagyobb KIN koncentrációnál két sejtsoros, sejtjei nem érintkeznek szorosan, köztük intercellulárisok láthatóak. A szivacsos parenchima kevés, gömbölyded sejtből áll, nagy intercellulárisok jellemzőek. Az abaxiális epidermisz sztómái 0,5 és 1,0 mg/l KIN koncentrációnál kicsi, és túlnyomórészt zárt sztómákat figyelhetünk meg, hasonlóan ahhoz, amikor a táptalaj egyedüli citokinin forrása a KIN volt (55. ábra).



55. ábra. BA és KIN együttes hatása az *in vitro* alma levelek szöveti szerkezetére. **A**: kontroll (citokininmentes), a többi képen a 0,5 mg l^{-1} BA mellett alkalmazott **B**: 0,5 mg l^{-1}, **C**: 1,0 mg l^{-1}, **D**: 1,5 mg l^{-1}, **E**: 2,0 mg l^{-1} KIN-tartalmú táptalajon fejlődött levelek keresztmetszeti képe (x400)

Abban az esetben, ha az előkezelő táptalaj benziladenin-ribozidot tartalmazott, akkor jól differenciált *in vitro* levélszerkezetet figyeltünk meg, különösen a legkisebb (0,5 mg/l)

koncentrációnál. Jellemző volt a két sejtsoros paliszád parenchima, 3-4 sejtsoros szivacsos sejtközötti járatokkal. Az abaxiális epidermiszen sok, kialakulóban lévő sztóma található. A mezofillum sejtek sok színtestet tartalmaznak. A BAR koncentrációjának növekedésével párhuzamosan megfigyelhető, hogy a szivacsos parenchima intercelluláris területei megnőnek és az abaxiális epidermiszen az epidermisz szintjéből kiemelkedő – és a koncentráció növekedésével egyre több- nyitott sztóma található (56. ábra).



56. ábra. A BAR hatása az *in vitro* alma levelek szöveti szerkezetére. **A:** kontroll (citokininmentes), **B**: 0,5 mg l^{-1}, **C**: 1,0 mg l^{-1}, **D**: 1,5 mg l^{-1}, **E**: 2,0 mg l^{-1} BAR-tartalmú táptalajon fejlődött levelek keresztmetszeti képe (x400)

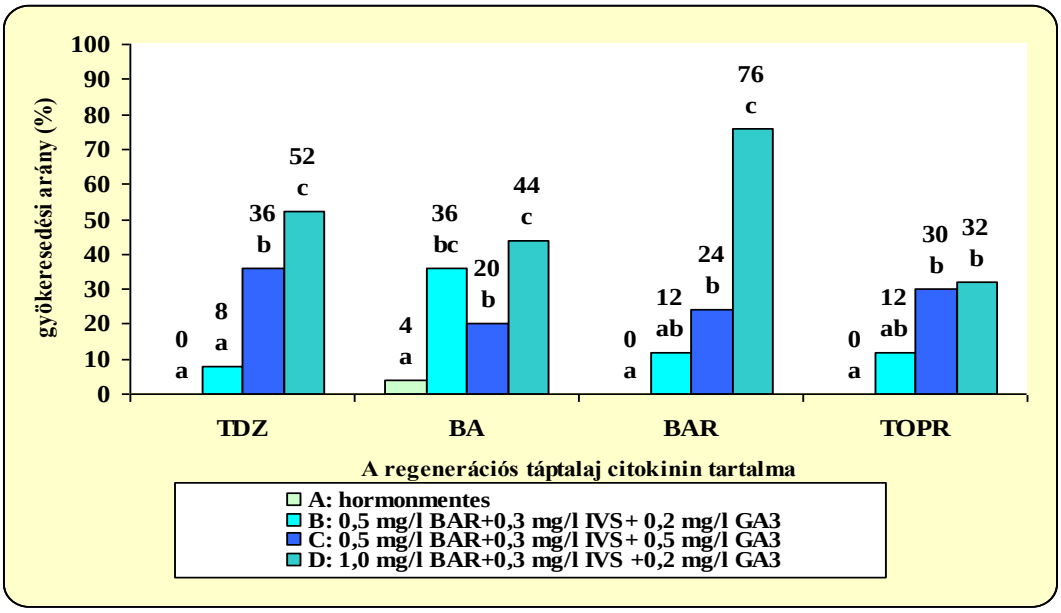
4. 4. A regenerált hajtások gyökeresedése és akklimatizációja

4.4.1. Gyökeresedési arány

Az első kísérletben a hajtások közvetlen gyökeresítése során nagyon kicsi gyökeresedési arányt kaptunk: a TDZ-t és a TOPR-t tartalmazó regenerációs táptalajról származó hajtások egyáltalán

nem gyökeresedtek, míg a BA-t tartalmazó regenerációs táptalajon fejlődött hajtások 10% gyökeresedett. Legjobb eredményt (25%) azok a regeneránsok mutatták, melyek BAR-t tartalmazó regenerációs táptalajon fejlődtek. Az alacsony gyökeresedési arány miatt a gyökeresedési paraméterek nem voltak statisztikailag értékelhetők. A gyökeres hajtások akklimatizációja nem sikerült, a hajtások elpusztultak.

A második kísérletben a hajtások hormonmentes táptalajon történő tenyésztése ('A' kezelés) nem eredményezett javulást a hajtások gyökeresedésében, sőt a BA-t és BAR-t tartalmazó regenerációs táptalajon fejlődött hajtások esetében a közvetlen gyökereztetésnél is rosszabb eredményeket kaptunk (57. ábra). A hajtások egy hétig történő tenyésztése alacsony citokinin-tartalmú ('B' kezelés), illetve emelt GA_3-tartalmú ('C' kezelés) táptalajon jelentősen növelte a gyökeresedési százalékot abban az esetben, ha a hajtások TDZ-t, BA-t, illetve TOPR-t tartalmazó regenerációs táptalajról származtak. A gyökeresedési arány még mindig elég alacsony volt, a legjobb eredményt (36%) akkor kaptuk, ha a TDZ-tartalmú táptalajon fejlődött regeneránsokat a 'C' táptalajon tenyésztettük, illetve ha a BA-tartalmú táptalajon fejlődött hajtásokat 'B' táptalajon tenyésztettük. Az utántenyésztő táptalaj GA_3-tartalmának növelése ('C') jelentősen növelte a hajtások gyökeresedési képességét az alacsony citokinin-tartalmú táptalajhoz ('B') képest, kivéve a BA-tartalmú regenerációs táptalajról származókét.



57. ábra. A gyökeresedést mutató 'Royal Gala' hajtások aránya (%) különböző tenyésztések után

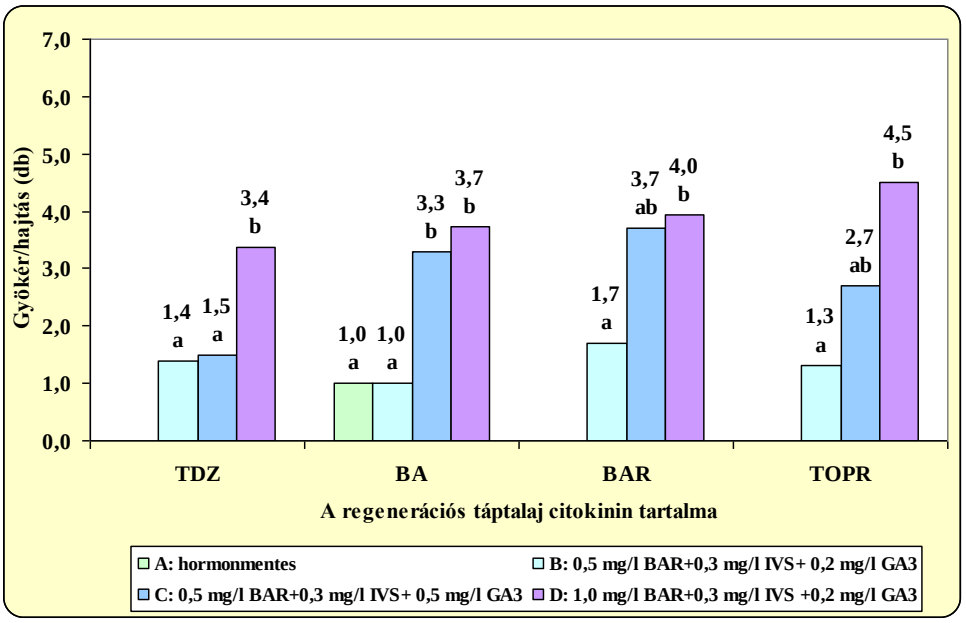
A legjobb eredményeket a harmadik kísérletben kaptuk, amikor a regenerált hajtásokat szaporító táptalajon tenyésztettük 4 hétig és az új hajtásokat gyökereztettük. A legnagyobb gyökeresedési arányt (76%) abban az esetben kaptuk, amikor a hajtások BAR-tartalmú regenerációs

táptalajról származtak (57. ábra). A legrosszabb gyökeresedési képességet azok a hajtások mutatták, melyek TOPR-t tartalmazó táptalajon regenerálódtak.

4.4.2. Hajtásonkénti gyökérszám

A legtöbb gyökér akkor fejlődött a hajtásokon, amikor a regenerált hajtásokat szaporító táptalajon tenyésztettük 4 hétig (‘D’ kezelés) és azután gyökeresítettük az új hajtásokat. A TDZ-t tartalmazó táptalajon regenerálódott hajtások esetében a szaporító táptalajon történő tenyésztés után jelentősen több gyökér fejlődött, mint az egy hetes utántenyésztés után. Azoknál a hajtásoknál, melyek BA-t tartalmazó táptalajon regenerálódtak a GA_3 szint emelése eredményezett jelentős növekedést a gyökerek számában (58. ábra). A legkevesebb gyökér a ’B’ táptalajon történő egy hetes utántenyésztés után fejlődött (59. ábra).

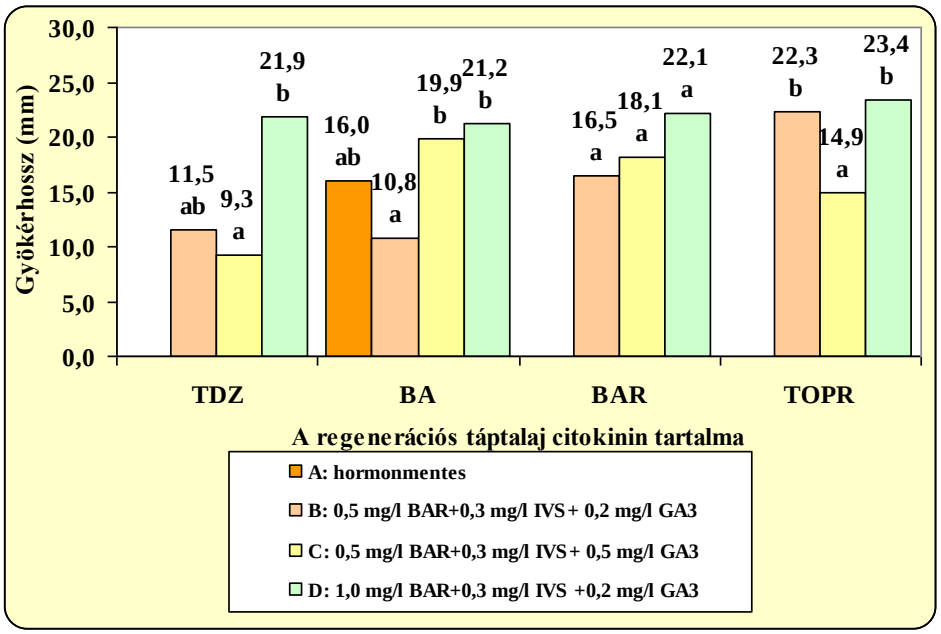
58. ábra. Különböző regenerációs táptalajról származó gyökeres ’Royal Gala’ hajtások ’C’ táptalajon történő tenyésztés után



59. ábra. A ’Royal Gala’ regenerált hajtásokon fejlődött gyökerek mennyisége (db/hajtás)

4.4.3. A hajtásokon fejlődött gyökerek hossza

Általában a leghosszabb (20 mm <) gyökerek a szaporító táptalajon történő 4 hetes tenyésztés után gyökeresített hajtásokon fejlődtek (60. ábra). Jelentősen rövidebb gyökerek fejlődtek azokon a hajtásokon, melyek BA-tartalmú táptalajon regenerálódtak és ’B’ táptalajon történt a tenyésztésük, illetve a TDZ és TOPR táptalajról származó hajtásokon, amennyiben ’C’ táptalajon történt a tenyésztésük.



60. ábra. A ’Royal Gala’ regenerált hajtásokon fejlődött gyökerek hossza

A különböző tenyésztések után gyökeresített hajtások az akklimatizáció során 100% túlélést mutattak (61. ábra).

61. ábra. Akklimatizált ’Royal Gala’ növények

4. 5. Az eddig nem vizsgált citokininekkel kapcsolatos tapasztalatok

Kísérleteink során elsőként vizsgáltuk néhány, az alma levéllemezről történő hajtásregenerációban eddig nem tesztelt citokinin (BAR, TOP és TOPR) hatását és használatukkal a következő eredményeket értük el:

4.5.1. Az előkezelésekkel kapott legjobb eredmények

- A citokininmentes (kontroll) kezeléshez képest *növelhető az explantátumonként regenerált hajtások száma* a következő előkezelésekkel (4. táblázat):

4. táblázat. Az előkezelésekkel elérhető, az explantátumonkénti hajtásszám szempontjából legjobb eredmények összefoglalása

Fajta (kontroll átlag)	Előkezelés	Explantátumonkénti hajtásszám
'Royal Gala' (5,4)	0,5 mg/l BAR 0,5; 1,5 és 2,0 mg/l TOP BA+2,0 mg/l TOP	6,3 8,9; 7,5 és 6,5 6,9
'Húsvéti rozmaring' (2,3)	0,5 mg/l TOP	3,0
'Freedom' (1,9)	BA+1,5 mg/l TOP	2,5

Az 'M26' alany esetében csak a 0,5 mg/l BAR eredményezett minimális növekedést a kontrollhoz képest.

- A citokininmentes (kontroll) kezeléshez képest *növelhető a regenerációs százalék* (hajtásregenerációt mutató explantátumok aránya) a következő előkezelésekkel (5. táblázat):

5. táblázat. Az előkezelésekkel elérhető, a regenerációs % szempontjából legjobb eredmények összefoglalása

Fajta (kontroll átlag)	Előkezelés	Regenerációs ráta (%)
'Freedom' (57,5%)	BA 0,5 mg/l + 1,5 mg/l TOP	84,7 %
'Húsvéti rozmaring' (65,5%)	0,5 és 1,0 mg/l TOP	91,5%

Az 'M26' alany és a 'Royal Gala' fajtáknál az előkezelés nem növelte tovább a regenerációs arányt.

- A citokininmentes (kontroll) kezeléshez képest *csökkenthető a hiperhidratációt mutató tenyészetek aránya* a következő előkezelésekkel (6. táblázat):

6. táblázat. Az előkezelésekkel elérhető, a hiperhidratációs % szempontjából legjobb eredmények összefoglalása

Fajta (kontroll átlag)	Előkezelés	Hiperhidratációs %
'M26' (52,3%)	0,5 és 1,0 mg/l TOP	21,4 és 14,7%
	0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l BAR	14,9; 12,6; 19,7; 6,1%
	BA+0,5; 1,5; 2,0 mg/l TOP	14,3; 25,7, 14,7%
'Royal Gala' (32,9%)	BA+1,5 és 2,0 mg/l TOP	1,7%

A 'Freedom' fajta kevésbé hajlamos a hiperhidratációra, a különböző citokininek nem eredményeztek jelentős különbségeket. A 'Húsvéti rozmaring' esetében szinte minden kezelés növelte a hiperhidratáció mértékét.

4.5.2. A regenerációs táptalajokkal kapott legjobb eredmények

- Az 'M26' alany esetében a kontroll kezeléshez (5,0 mg/l BA) képest *növelhető az explantátumonként regenerált hajtások száma* a regenerációs táptalajban alkalmazott ribozidokkal (7. táblázat):

7. táblázat. Az explantátumonkénti hajtásszám szempontjából legjobb eredmények összefoglalása

Fajta (kontroll átlag)	Regenerációs táptalaj citokinin tartalma	Explantátumonkénti hajtásszám
'M26' (2,0)	5,0; 6,5; 8,0 mg/l BAR	3,1; 3,2; 2,8
	8,0 mg/l TOPR	3,2

- Az 'M26' alany esetében a kontroll kezeléshez (5,0 mg/l BA) képest *növelhető a regenerációs százalék* a regenerációs táptalajban alkalmazott BAR és TOP citokininek 8. táblázatban feltüntetett koncentrációival:

8. táblázat. A regenerációs % szempontjából legjobb eredmények összefoglalása

Fajta (kontroll átlag)	Regenerációs táptalaj citokinin tartalma	Regenerációs ráta (%)
'M26' (46,4%)	6,5; 8,0 mg/l BAR	76,5 és 84,9%
	3,5; 5,0 mg/l TOP	72,9 és 64,7%

- A ’Húsvéti rozmaring’ fajta esetében a kontroll kezeléshez (5,0 mg/l BA) képest *csökkenthető a hiperhidratált tenyészetek aránya* a regenerációs táptalajban alkalmazott BAR és TOP citokininek 9. táblázatban feltüntetett koncentrációival:

9. táblázat. A hiperhidratációs % szempontjából legjobb eredmények összefoglalása

Fajta (kontroll átlag)	Regenerációs táptalaj citokinin tartalma	Hiperhidratációs ráta (%)
’Húsvéti rozmaring’ (46,6%)	0,5; 2,0; 5,0; 6,5; 8,0 mg/l BAR	0-33%
	0,5-6,5 mg/l TOP	0-1,6%

4.5.3. Hisztológiai eredmények

Az előkezelő táptalajban alkalmazott citokininek típusa és koncentrációja jelentősen megváltoztatták az újonnan fejlődött ’Royal Gala’ *levelek szöveti szerkezetét*. A kis koncentrációban alkalmazott metatopolin esetében a fiatal *in vitro* levélre jellemző szerkezetet figyeltük meg, az ebből az előkezelésből származó levéllemezek regenerációs képessége kiemelkedően jó: nagy az explantátumonként fejlődött hajtások száma, a regenerációs ráta, és alacsony a hiperhidratált tenyészetek aránya. A legnagyobb TOP koncentrációnál már differenciáltabb volt a levélszerkezet, ez egy kicsit alacsonyabb regenerációs százalékot és hajtásszámot, valamint kissé megnövekedett hiperhidratációs rátát okoz a kisebb koncentrációkhoz képest. A feltételezést, miszerint kapcsolat van a juvenilis szerkezet és a jó regenerációs képesség között, megerősíti a BA+TOP előkezelésekkel kapott eredmény: a legjuvenilisebb szerkezetet a BA+2,0 mg/l TOP előkezelésnél találtuk, és ezek a levélexplantátumok szintén az egyik legjobb regenerációs képességet mutatták.

A levél vastagsága a kinetin alkalmazásakor volt a legnagyobb, erre az előkezelésre a levél mezofillum dezorganizáltsága jellemző, ami úgy tűnik, szintén kapcsolatban van a jó regenerációs képességgel. Ezt a feltételezést erősítheti az a tapasztalat, amit a BA előkezelések esetén figyeltünk meg: a legkisebb BA koncentráció eredményezi a legdifferenciáltabb szerekezetet és ez az előkezelés eredményezi a leggyengébb regenerációs képességet. Ezzel ellentétes a BAR előkezelés eredményei: ebben az esetben szintén a legkisebb koncentráció eredményezi a legdifferenciáltabb szerkezetet, azonban a BAR-tartalmú előkezelésből származó explantátumok közül ezek mutatták a legjobb regenerációs képességet. A 0,5 mg/l BAR előkezelésből származó levelek felülete azonban jelentősen nagyobb volt, mint a nagyobb koncentrációjú előkezelésekből származó levelek felülete, ebben az esetben az explantátum mérete befolyásolhatta a regenerációs eredményeket.

4.6. Új és újszerű tudományos eredmények

1) Elsőként vizsgáltuk az alma levéllemezről történő hajtásregeneráció folyamatában eddig nem tesztelt citokininek (benziladenin ribozid, metatopolin és metatopolin ribozid) hatását az előkezelő táptalajban és bizonyítottuk ezek gyakorlati alkalmazhatóságát.
2) Elsőként vizsgáltuk az összefüggést az előkezelő táptalajban lévő citokininek típusa és koncentrációja által az almánál indukált szövettani változások, valamint az explantátum regenerációs kapacitása között.
3) Elsőként vizsgáltuk az alma levéllemezről történő hajtásregeneráció folyamatában eddig nem tesztelt citokininek (benziladenin ribozid, metatopolin és metatopolin ribozid) hatását a regenerációs táptalajban és bizonyítottuk ezek gyakorlati alkalmazhatóságát.
4) Jelentős csökkenést értünk el a regenerált hajtások hiperhidratáltságának mértékében benziladenin ribozid és metatopolin alkalmazásával, ami a regeneráció hatékonyságát lényegesen növelte.
5) A ’Royal Gala’ fajta esetében jelentős növekedést értünk el az explantátumonként fejlődött hajtások számában.
6) Az ’M26’ alany esetében jelentős növekedést értünk el a regenerációs rátában.
7) A gyakorlatban is alkalmazható, hatékony regenerációs módszert dolgoztunk ki két olyan almafajtára (’Freedom’ és ’Húsvéti rozmaring’), melyek regenerációs módszerét még nem fejlesztették ki.
8) Új organogén indexet dolgoztunk ki, a Famiani *et al.* (1994) által közölt index módosításával, melynek alkalmazásával a különböző regenerációs módszerek hatékonysága jobban összevethető.
9) Elsőként vizsgáltuk a regenerációs táptalajban lévő citokininek utóhatását a járulékos hajtások gyökeresedésében és kimutattuk, hogy a BAR-tartalmú táptalajon regenerálódott hajtások jobb gyökeresedési képességgel rendelkeznek, mint a TDZ, BA, illetve TOPR táptalajon regenerálódott hajtások.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A levéllemezről történő organizáció során a hajtásfejlődés sikerét számos tényező befolyásolja (Korban *et al.*, 1992), azonban a regenerációt megelőző fázisban, valamint a regeneráció során - az eddig publikált eredmények jelentős részében - a citokininek bizonyultak a legfontosabb tényezőnek; a két fázis közötti kölcsönhatást is gyakran megfigyelték (Fasolo és Predieri, 1990; Dufour, 1990, Yepes és Aldwinckle, 1994). A hajtásregeneráció feltételeit (hormonok és növekedési regulátorok típusa és koncentrációja, sötét kezelés időtartama és időzítése stb.) mindig az adott genotípus igényeinek megfelelően kell beállítani ahhoz, hogy hatékony hajtásregenerációt tudjunk elérni (Malavasi és Predieri, 1990).

Kísérletsorozatunkban négyféle genotípus (egy alma alany és három nemes fajta) hajtásregenerációs válaszait teszteltük különböző citokininekre, melyeket előkezelésben és a regenerációs táptalajban alkalmaztunk.

5.1. A genotípus szerepe a regenerációs képességben

Eredményeink szerint a genotípusok között jelentős különbség van a regenerációs kapacitásban. A ’Royal Gala’ fajta regenerációs képessége kiemelkedően jó, gyakori a 100% regenerációs ráta, ami hasonló a szakirodalomban eddig közölt eredményekhez (Sriskandarajah *et al.*, 1990a; Korban *et al.*, 1992; Yao *et al.*, 1995). Kísérleteinkben a 0,5 mg/l TOP előkezelés után kapott explantátumonkénti hajtásszám (8,9) jóval nagyobb, mint az eddig publikált legjobb eredmény (explantátumonként 4-6 [Yao *et al.*, 1995]).

Az ’M26’ alannyal szintén elérhető, hogy szinte minden explantátumon legyen hajtásfejlődés (96,6%), ez jóval kedvezőbb eredmény az eddig publikált eredményekhez hasonlítva: Famiani *et al.* (1994 és 1996) citokinin-mentes előkezelés után kapott 60%, vagy azt kissé meghaladó regenerációs rátát. Szintén kis (<50%) regenerációs százalékot közölt az ’M26’ alannyal végzett kísérleteiről Caboni *et al.* (2000). Az explantátumonként fejlődött hajtások száma kisebb volt kísérleteinkben (maximum 3,8 /explantátum), mint a szakirodalomban közölt esetek többségében, azonban a regeneráció hatékonysága nem összevethető, mivel ezekben a közleményekben a regenerációs százalékot nem publikálták (lásd melléklet M2/1 és M2/2 táblázatok).

Jó regenerációs képességgel rendelkezik a ’Húsvéti rozmaring’ (94,9%), míg legkisebb regenerációs százalékokat a ’Freedom’ fajtával kaptunk (maximum 84,7%). Ez utóbbi fajtákról nem találtunk közleményeket, melyekkel összehasonlíthatnánk eredményeinket.

Hanke *et al.* (1991) osztályozása szerint a 70% feletti regenerációs rátát elért genotípusok jó regenerációs képességűek, a 30% alatti regenerációs százalékot mutató genotípusok a gyenge regenerációs képességgel rendelkező fajták. A fenti osztályozás szerint a kísérleteinkben kapott

eredmények alapján a ’Royal Gala’, ’M26’ és a ’Húsvéti rozmaring’ fajták jó regenerációs képességűek, míg a ’Freedom’ fajta közepes regenerációs képességet mutat.

5.2. A citokininek szerepe az előkezelő táptalajban

Az előkezelő táptalaj citokinin-tartalma befolyásolta az explantátumok regenerációs kapacitását, ami látható mind a regenerációs százalék, mind az explantátumonként fejlődött hajtások számának változásában, bár a különbségek gyakran nem voltak szignifikánsak.

A citokinines előkezelések közül a 0,5 mg/l BA mellett alkalmazott 0,5 és 1,5 mg/l TOP jelentősen nagyobb regenerációs százalékokat eredményezett a ’Freedom’ fajtánál (78 és 84,7%) a kontroll (hormonmentes) előkezeléshez képest (57,5%). A ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál a 0,5-1,0 mg/l TOP, a 1,5 mg/l BAR, az 1,0-1,5 mg/l KIN és a 0,5 mg/l BA+0,5 mg/l KIN kombináció szintén jelentősen megnövelte a regenerációs rátát (83,1-91,6%) a kontrollhoz képest (65,5%). Gercheva *et al*. (2009) a ’Chadel’ fajtával végzett regenerációs kísérleteiben szintén tapasztalta az előkezelő táptalajban lévő citokinin hatását a regenerációra: amennyiben az ’anyahajtásokat’ benziladenint tartalmazó táptalajon tenyésztették a regeneráció előtt, lényegesen nagyobb regenerációs százalékot (80-90%) értek el, mint a hormonmentes táptalajon történő tenyésztés után (35-39%).

A hiperhidratált tenyészetek aránya is jelentősen változik a különböző előkezelésekkel, a genotípusok erre való hajlamában alapvető különbségek vannak: A ’Freedom’ fajta esetében alig találtunk hiperhidratált tenyészetet, míg az ’M26’ alanynál gyakran előfordult. Megfelelő citokinin előkezeléssel azonban minden genotípusnál jelentős csökkenést lehetett elérni.

A megfigyelt paraméterekből számított OI index (amely magában foglalja a regenerációs százalékot, hajtások számát, hiperhidratáció mértékét) alapján a ’Freedom’ fajtánál a kettős citokinin-tartalmú előkezelést találtuk legjobbnak, amely 0,5 mg/l BA+1,5 mg/l TOP kombinációját jelenti, a második kísérletsorozathoz ezt az előkezelést választottuk. A ’Royal Gala’ fajta esetében legnagyobb OI- értéket a 0,5 mg/l TOP előkezelés után kaptunk, így ezt az előkezelést választottuk a további kísérletekhez. A ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál a 0,5 mg/l TOP, illetve 1,0-1,5 mg/l KIN előkezelésekkel megközelítőleg egyforma OI-t lehetett elérni, azonban a második kísérletsorozathoz az 1,5 mg/l KIN-t tartalmazó előkezelő táptalajt választottuk, az elérhető nagyobb regenerációs százalék és explantátumonkénti hajtásszám miatt. Az ’M26’ alany esetében az 1,0 mg/l TOP és az 0,5 mg/l BAR előkezelések után egyforma OI- értékeket kaptunk, azonban az 1,0 mg/l TOP előkezelés után jóval nagyobb regenerációs rátát kaptunk, így a további kísérletekhez ezt az előkezelést alkalmaztuk.

Összefoglalva az első kísérletsorozat eredményeit leszögezhetjük, hogy az előkezelésben alkalmazott metatopolin kedvező hatása az *in vitro* alma levelek morfogénikus aktivitásában több genotípus esetén kimutatható (10. táblázat).

10. táblázat. A legjobb előkezelésekkel elérhető eredmények

Fajta	Citokinin (mg/l)	Regenerációs ráta %	Hajtásszám /explantátum	Hiperhidratált tenyészetek aránya (%)	OI
'M26'	TOP (1,0)	96,6	2,8	14,7	2,3
'Freedom'	BA+TOP (0,5+1,5)	84,7	2,5	8,1	1,9
'Royal Gala'	TOP (0,5)	100	8,9	13,4	7,7
'Húsvéti rozmaring'	KIN (1,5)	94,9	3,3	33,1	2,0

A TOP kedvező hatását eddig lágyszárú növények esetében publikálták, mind a mikroszaporításban, mind a hajtásregenerációban, illetve az akklimatizált növények túlélésében (Werbrouck *et al.*, 1996; Kubaláková és Strnad, 1992; Baroja-Fernandez *et al.*, 2002, Bogaert *et al.*, 2006; Bairu *et al.*, 2007). A metatopolin és különböző származékainak alkalmazásával jó eredményeket értek el fás növények mikroszaporításában is (Bairu *et al.*, 2009; Malá *et al.*, 2009; Amoo *et al.*, 2010), fás növények járulékos hajtásregenerációjában azonban eddig csak a citromnál (Niedz és Evens, 2010) vizsgálták, alma esetében még nem tesztelték.

Annak ellenére, hogy a legjobb előkezelések között nem szerepelt a BAR, kedvező hatása kimutatható volt az explantátumonként regenerált hajtások számának növelésében 'Royal Gala' fajtánál (6,3 az explantátumonkénti hajtásszáma a 0,5 mg/l BAR előkezelés után, míg a kontroll kezelés után 5,4). Az előkezelő táptalajban lévő BAR növelte továbbá a regenerációs rátát a 'Húsvéti rozmaring' fajtánál (a 1,5 mg/l BAR előkezelés után 83%, a kontroll kezelés után 65,5%), illetve jelentősen (20% alá) csökkentette a hiperhidratált tenyészetek arányát az 'M26' alany esetében a kontroll 33,7%-val szemben. Kálai *et al.*, (2009) kísérleteiben a BAR (1,5 mg/l+0,1 mg/l TDZ) szintén pozitív hatásúnak bizonyult *Rubus* fajok esetében regeneráció előtti előkezelésnek.

5.3. A citokininek szerepe az indukált levelek szövettani változásaiban

A különböző előkezelésekből származó levelek anatómiai szerkezetében jelentős különbségeket találtunk. A citokinin-mentes előkezelésről származó levelek anatómiája hasonló az egyéb fás

növényeknél publikált *in vivo* levélszerkezethez (Kiss *et al*., 1999), azzal a különbséggel, hogy a sejtfalak vékonyabbak.

A BA-t tartalmazó előkezésből származó levelek szerkezete az eddig közölt érett *in vitro* levelek szerkezetéhez hasonlítható (Kiss *et al*., 1999; Jámbor-Benczúr *et al*., 2001). Ezzel szemben a TOP-t tartalmazó előkezelés éretlen *in vitro* levélre jellemző levélszerkezetet indukált, a TOP koncentráció növelésével azonban egyre differenciáltabb a levélszerkezet. Jól differenciált *in vitro* levélszerkezetet lehet megfigyelni a BAR alkalmazásakor, míg a KIN-t tartalmazó előkezelő táptalajon fejlődtek a legvastagabb levelek, a mezofillumra nagymértékű struktúrálatlanság jellemző. Amenyiben az előkezelő táptalaj a BA mellett TOP-t, illetve KIN-t tartalmazott, ez utóbbi két citokinin koncentrációjának emelkedésével a levélszerkezetet egyre jobban hasonlított ahhoz a szerkezethez, melyet ugyanezen citokininek önmagukban eredményeztek.

Mivel a ’Royal Gala’ fajtánál a legjobb regenerációs paramétereket a metatopolint és a kinetint tartalmazó előkezelő táptalajok alkalmazása után kaptuk, így a korábbi feltételezések, miszerint a jó regenerációs képesség összefüggésben van a juvenilis (Fasolo *et al*., 1989; Yao *et al*., 1995; Zhu és Welander, 2000), illetve a nagymértékben differenciálatlan mezofillum szerkezettel (Welander és Maheswaran, 1992) megerősítést nyertek. A fiatal levelek nagyobb regenerációs képessége valószínűleg annak is tulajdonítható, hogy a még fejlődésben lévő levelek nagyobb mennyiségben tartalmaznak kevésbé differenciálódott és metabolikusan aktív sejteket, melyek hormonális és tápanyagellátási állapota segítheti az organogenezist (Famiani *et al*., 1994).

További kísérletek szükségesek a feltételezett összefügések hátterének tisztázására, a funkcionális, hisztológiai és molekuláris változások között, melyeket az alma regeneráció előtt és/vagy alatta figyeltek meg.

5.4. A citokininek szerepe a regenerációs táptalajban

Kísérleteinkben a regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin típusa és koncentrációja egyaránt jelentős szerepet játszott az explantátum regenerációs kapacitásának kifejeződésében.

In vivo körülmények között a citokininek stimulálják a fotoszintézist, a tápanyagok felvételét és szállítását (Halmann, 1990). Toldi *et al*. (2005) *in vitro* körülmények körülmények között is kimutatták, hogy a regenerációs táptalajban optimális dózisban alkalmazott citokinin növeli a dohány levéllemezek fotoszintézis-aktivitását, és feltételezik, hogy ennek szerepe lehet a morfogenezis irányának meghatározásában, ugyanis a hajtások fejlődése jóval intenzívebb asszimilációt igényel, mint a kallusznövekedés.

Mivel a citokininek stimulálják a sejtosztódást és a mitotikus sejtek érzékenyebbek az *Agrobacterium* fertőzésre, a citokinin-tartalom feltételezhetően nemcsak a hajtásregenerációban játszik szerepet, hanem az *Agrobacterium*-közvetítette transzformáció sikerében is (Bulley *et al*.,

2007). A citokininek jelentős szerepét alátámasztják De Bondt *et al.* (1994) megfigyelései is, miszerint nagy citokinin-tartalmú táptalajon történő együtt-tenyésztése a levél explantátumoknak jobban elősegítette a transzformációt, mint a nagy auxin-tartalmú táptalajon történő együtt-tenyésztés.

A genotípusok között a citokininekre adott válaszokban különbségeket találtunk, azonban legtöbb esetben igaz, hogy a KIN és ribozidja, valamint a ZEA és ribozidja kis hatékonyságúak a járulékos hajtások indukciójában. Annak ellenére, hogy az endogén zeatin elsődleges szerepét a sejt differenciálódásban az alma és a körte *in vitro* organogezisben bizonyították (D'Angeli *et al.*, 2001, Caboni *et al.*, 2002), a külsőleg alkalmazott ZEA önmagában nem segítette a hajtásregenerációt más kutatócsoportok kísérleteiben sem (Hanke *et al.*, 1991; De Bondt *et al.*, 1996, Ling *et al.*, 2002). A zeatin kis hatásfoka talán magyarázható azzal, hogy a természetesen előforduló citokinineket, mint pl. a zeatin és 2iP, a citokinin oxidáz gyorsan lebontja és hatástalanítja az oldallánc lehasításával. Az olyan citokininek, melyek oldalláncai telítettek (dihidrozeatin), és/vagy terjedelmesek (aromás citokininek, glükozidok) nem szubsztrátjai ennek az enzimnek (van Staden *et al.*, 2008).

A TDZ-t gyakran használják a hajtásregeneráció indukciójára, de káros mellékhatásait sokszor megfigyelték (hiperhidratáció, szalagosodás stb.). A hiperhidratált hajtások problémája az, hogy még az explantátumról történő levágás és utántenyésztés után sem lehet egészséges hajtásokat nyerni (Kirilla *et al.*, 2009). Kísérleteinkben a TDZ nagyon hatékonynak bizonyult a hajtások számának növelésében az 'M26' alanynál (2,6-3,1 hajtás/explantátum, a kontroll hajtásszám 2,0), valamint a 'Royal Gala' fajtánál (11,1 hajtás/explantátum, míg a kontroll táptalajon 4,6). A 'Freedom' fajtánál a legnagyobb hajtásszámot (1,8) szintén a TDZ-tartalmú táptalajon figyeltük meg, bár a kontrollhoz (1,3) képest ez nem bizonyult szignifikáns növekedésnek.

A regenerációs táptalaj TDZ tartalma növelte a regenerációs rátát is 76,2%-ra az 'M26' alany esetében (a kontroll 46,4%), valamint 59,7%-ra a 'Freedom' fajtánál (kontroll 11,4%). Bár a 'Royal Gala' fajtánál a kontrollhoz (95%) képest nem jelentős a regenerációs ráta növekedése, a TDZ-tartalmú táptalajon kaptuk a legnagyobb regenerációs százalékot (100%).

Ugyanakkor a TDZ-t tartalmazó regenerációs táptalajon volt a legnagyobb a hiperhidratáció mértéke is az 'M26' (20-60%), 'Royal Gala' (35-88%) és 'Freedom' (23%) fajtáknál, a kontroll (benziladenint tartalmazó) táptalajon megfigyelt arányok ugyanilyen sorrendben a következők: 1,6; 13,1 és 0%. Höhnle és Weber (2009) regenerációs kísérleteiben az 'M26' és 'M9' alanyok a TDZ-tartalmazó regenerációs táptalajon 100% hiperhidratációt mutattak, míg a hiperhidratáció mértékének jelentős csökkenését érték el (6 és 4%), azáltal, hogy TDZ helyett BA-t használt a regenerációs táptalajban.

A regenerációs százalék valamint a regenerált hajtások számát figyelembe véve a TDZ más fajták számára is a leghatékonyabbnak bizonyult, azonban csaknem 100%-os volt a hiperhidratált

hajtások aránya a ’Jork 9’ és az ’M 9’ alanyok esetében (Pawlicki és Welander, 1994; Caboni *et al.*, 1996; Höhnle és Weber, 2010). A ’Marshall McIntosh’ fajtánál azonban a TDZ-t tartalmazó táptalajon is csak 0,1-0,7% hiperhidratációt tapasztaltak, ezt az alacsony hiperhidratációs arányt a szerzők annak tulajdonították, hogy N6 sókat használtak MS helyett (Bolar *et al.*, 1999).

A ’Royal Gala’ fajtánál más szerzők is a TDZ-t találták a leghatékonyabbnak, etiolált szár szegmentek esetében igen kis (0,22 mg/l) koncentrációban is elegendő volt a hatékony hajtásregenerációhoz, míg a levéllemezről történő regeneráció során Korban *et al.* (1992) kísérleteiben egy nagyobb és szélesebb (1,1-4,4 mg/l) koncentráció tartomány bizonyult hatékonynak. Amennyiben csak a regenerált hajtások számát, valamint a regenerációs százalékot vesszük figyelembe, akkor eredményeink hasonlóak, ugyanis kísérleteinkben szintén nagy regenerációs rátát és sok hajtást indukált a TDZ minden tesztelt töménységben (0,5-6,5 mg/l), azonban a 0,5 mg/l-nél nagyobb TDZ-szint esetén igen nagy a hiperhidratált tenyészetek aránya. Eredményeink szerint a ’Royal Gala’ fajtánál tehát a leghatékonyabb a 0,5 mg/l TDZ koncentráció, ami a Sriskandarajah *et al.* (1990a) által közölt eredményt igazolja (0,66 mg/l TDZ).

Az ’M26’ alany esetében a legtöbb kísérletben a BA alkalmazásával értek el legjobb eredményt, általában az 5,0 mg/l töménységgel (Welander, 1988; Yepes és Aldwinckle, 1994; Famiani *et al.*, 1994, Ferradini *et al.*, 1996), de az 1,0 mg/l koncentráció is hatékonynak bizonyult (Predieri és Fasolo, 1989). Az OI értékeket figyelembe véve kísérleteinkben a BA szintén hatékonyabb volt, mint a TDZ, azonban legjobb eredményt akkor kaptunk, amikor a regenerációs táptalaj TOPR-t tartalmazott.

A regenerációs táptalajban alkalmazott BAR indukálta a legnagyobb regenerációs rátát (84,9%), emellett a hajtások száma is elég nagy volt (3,2/explantátum), azonban a leghatékonyabb regenerációt abban az esetben értük el, amikor a táptalaj 8,0 mg/l TOPR-t tartalmazott (nagy OI érték a nagy hajtásszám és az igen alacsony hiperhidratációs arány miatt).

A ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál a BA eredményezte a legnagyobb regenerációs arányt (82%), azonban a hiperhidratált tenyészetek aránya is itt volt a legnagyobb (61,5%). A BAR-tartalmú táptalajon tenyésztett explantátumokon fejlődött a legtöbb hajtás (3,2).

A regenerációs táptalajban alkalmazott TOP, TOPR, ZEA jelentősen csökkentik a hiperhidratált tenyészetek arányát a ’Royal Gala’ fajtánál, a ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál pedig az összes TOP, KIN, ZEA koncentrációk és ezek ribozidjai minden koncentrációban jelentősen csökkentik a hiperhidratált tenyészetek arányát.

Annak ellenére, hogy a TOP-ot sikeresen használták cukorrépa (Kubalákova és Strnad, 1992) és egy citrom alany (Niedz és Evens, 2010) esetében hajtásregenerációra, az almával végzett kísérleteinkben a regenerációs táptalajban alkalmazott TOP nem bizonyult hatékonynak a

hajtásindukcióhoz. Az ’M26’ alany esetében azonban a ribozidja (TOPR) eredményezte a legnagyobb OI értéket.

Az eredmények ismeretében a vizsgált fajták esetében a következő citokinin alkalmazásokat javasoljuk a regenerációs táptalajban (11. táblázat):

11. táblázat. A legjobb regenerációs táptalajokkal elérhető eredmények

Fajta	Citokinin (mg/l)	Regenerációs ráta %	Hajtásszám /explantátum	Hiperhidratált tenyészetek aránya (%)	OI
’M26’	TOPR (8,0)	54,6	3,2	0	1,7
’Freedom’	TDZ (5,0)	59,7	1,8	23,1	0,7
’Royal Gala’	TDZ (0,5)	98,3	11,1	34,7	7,0
’Húsvéti rozmaring’	BA (3,5)	77,9	2,9	36,4	1,2

A két kísérletsorozat eredményeit összevetve megfigyelhetjük, hogy a második sorozatban a vizsgált fajták gyengébb regenerációs képességet mutattak, azonos tenyésztési körülmények között is. Mivel a kísérletek hosszú éveken keresztül folytak a regenerációs képesség csökkenésének oka valószínűleg a tenyésztés időtartamának jelentős növekedése lehet. A fás növények a lágyszárúakhoz hasonlítva jóval érzékenyebbek mind az utántenyésztés időtartamára (ami a két passzálás között eltelt időt jelenti) mind a tenyésztés időtartamára, ami azt jelenti, hogy az indítástól számítva hány évig tartható *in vitro* körülmények között a tenyészet. Ez utóbbi elméletig tetszőleges hosszúságú, azonban ahogy növekszik a passzálások száma úgy változhat a növénykék teljesítménye a hagyományos hajtáskúltúrával történő szaporítás során, illetve változhat az *in vitro* hajtásokról származó explantátumok regenerációs képessége is. Az érzékenység fajtól és ezen belül genotípustól is függ. Standardi és Houshmand (1992) az ’M27’ alany esetében csak a 10 hónapig tartó *in vitro* tenyésztés után kapott hajtásregenerációt, míg a 32 hónapig tartó tenyésztés után egyáltalán nem fejlődtek járulékos hajtások a levél explantátumokon. A ’Starkspur Red’ fajta esetében azonban az utántenyésztések számának növekedésével a regenerációs képesség növekedését tapasztalták.

5.5. A regenerált hajtások gyökeresedése és akklimatizációja

Korábbi kísérleteinkben megfigyeltük, hogy a mikroszaporított ’Royal Gala’ hajtások gyökeresedési képességét befolyásolta a szaporító táptalaj citokinin tartalma (Magyar-Tábori *et al.*,

2001b), ennek ellenére nagyon jó, akár 100% gyökeresedési arányt is kaptunk megfelelő gyökérindukciós kezeléssel. A ’Royal Gala’ regenerált hajtások azonban közvetlenül a regeneráció után nagyon gyenge regenerációs képességet mutattak (0-25%) és a gyökeres hajtások akklimatizációja sikertelen volt. Annak ellenére, hogy James *et al*. (1989) *Malus pumila*-val végzett kísérleteiben a regenerált hajtások közvetlen gyökeresítése sikeres volt (100% gyökeresedett), ugyanennél a *Malus* fajnál később már megfigyelték, hogy a regenerált hajtások gyökeresedési képessége jóval kisebb lehet, mint az ún. „szülő-vonal” (kontroll) teljesítménye (James és Dandekar, 1991). Transzformációs kísérletekben a ‘Royal Gala’ hajtások szintén gyenge gyökeresedést mutattak (30-69%) mind a transzformált, mind a nem-transzformált hajtások esetében (Yao *et al*., 1995; Maximova *et al.,* 1998).

Kísérleteinkben a regeneránsokat egy hétig különböző táptalajokon utántenyésztettük azért, hogy a gyökeresedést javítsuk. Kísérleteinkben a hormonmentes táptalaj kivételével az utántenyésztés növelte a regenerált hajtások gyökeresedési képességét, de még mindig elég kicsi (maximum 36%) gyökeresedési arányt kaptunk. Annak ellenére, hogy Gamage és Nakanishi (2000) az ’Orine’ fajta regenerált hajtásainak hormonmentes táptalajon történő tenyésztése után sikeres gyökeresítésről számoltak be, kísérleteinkben a hormonmentes táptalaj után csak azok a regeneránsok mutattak gyökeresedést, melyek BA-tartalmú regenerációs táptalajon fejlődtek. Kíséreleteinkben a hajtások gyökeresedési képessége – főleg a BA-tartalmú regenerációs táptalajról származó hajtásoké - növekedett, amikor csökkent citokinin-tartalmú táptalajon (’B’ kezelés) utántenyésztettük a hajtásokat. A regenerált hajtások gyökeresítés előtti megnyújtásához más kutatócsoportok is csökkentették a táptalaj citokinintartalmát (Barbieri és Morini, 1987; De Bondt *et al*., 1996). Szankowski *et al*. (2003) pedig nem a regenerált hajtásokat utántenyésztette, hanem a TDZ-tartalmú táptalajon indukált explantátumot BA-tartalmú táptalajra helyezte át, hogy a fejlődött hajtások minőségét javítsa. Kísérleteinkben az utántenyésztő táptalaj GA_3-tartalmának növelése (’C’ kezelés) legkevesebb duplájára növelte a regenerált hajtások gyökeresedési képességét, ha a regeneránsok előzőleg TDZ-, BAR- vagy TOPR-tartalmú táptalajon fejlődtek.

A legjobb eredményt (76%) akkor kaptuk, amikor a BAR-t tartalmazó regenerációs táptalajon fejlődött hajtásokat négy hétig szaporító táptalajon tenyésztettük és az új hajtásokat gyökereztettük.

Ugyanilyen módszerrel hasonló eredményeket értek el a ’Royal Gala’ fajtával (69%) Maximova *et al*. (1998), illetve más fajtákkal is: 80-85% gyökeresedés kaptak a ’Golden Delicious’, és a ’Jork 9’ esetében (Belaizi *et al*., 1991; Pawlicki és Welander, 1994).

Kísérleteinkben a többi regenerációs táptalajról származó hajtás is ezzel a módszerrel (szaporítási fázis utáni gyökeresítés) adta a legjobb eredményt. Meglepő módon, a legkisebb gyökeresedési képességet azok a hajtások mutatták, melyek a TOPR-tartalmú táptalajon regenerálódtak (maximum 32%). Korábbi, mikroszaporítási kísérleteinkben a szaporító táptalajban

alkalmazott TOP növelte a ’Red Fuji’ hajtások gyökeresedési képességét összehasonlítva a BA-t és BAR-t tartalmazó szaporító táptalajokkal (Magyar-Tábori *et al.*, 2001a). A metatopolin ribozidjával (TOPR) ilyen jellegű kísérleteket mi még nem végeztünk, a jelen kísérletben tapasztalt gátló hatás talán az alkalmazott nagy koncentrációnak (6,5 mg/l) tulajdonítható. Bairu *et al.* (2008) kísérleteiben a metatopolin és ribozidja szintén gátló hatást mutatott a banán gyökeresedésére.

Eredményeinkből kitűnik, hogy a regenerációs táptalaj citokinin tartalma jelentősen befolyásolta a regenerált hajtások gyökeresedési képességét, még akkor is, ha a hajtásokat gyökeresítés előtt utántenyésztjük. A ’Royal Gala’ fajtánál a leszedett regeneránsokat szaporító táptalajra téve, 4 hét elteltével még mindig észrevehető különbségek voltak a különböző citokinin-tartalmú regenerációs táptalajokról származó hajtások között (62. ábra).

62. ábra. ’Royal Gala’ regenerációból származó hajtások 4 hetes szaporító táptalajon történő tenyésztés után: A: 0,5 mg/l TDZ, B: 5,0 mg/l BA, C: 5,0 mg/l BAR, D: 6,5 mg/l TOPR regenerációs táptalajokról

Fasolo *et al.* (1989) szintén leírta, hogy a TDZ-tartalmú táptalajon regenerálódott hajtások kompakt megjelenésűek voltak, rövid internódiumokkal, és ezt a növekedési habitust számos tenyésztési ciklus után is megőrizték, még akkor is, ha az benziladenint tartalmazó táptalajon történt.

A regeneránsok gyökeresedési képessége jelentősen növelhető a szaporító fázis közbeiktatásával, bár az egy hetes utántenyésztés csökkentett citokinin vagy emelt GA_3-tartalmú táptalajon szintén javíthatja a gyökeresítés eredményességét. A különböző utántenyésztések után gyökeresedett hajtások túlélése 100%-os volt.

5.6. Az eredmények hasznosíthatósága

A járulékos hajtások regenerációja előfeltétele a nem-szexuális módon történő nemesítési módszerek alkalmazásának. Az *in vitro* technikák alkalmazásának lehetőségei mind a mai napig

nem aknázhatóak ki teljes mértékben, melynek oka a növényregeneráció nehézsége (James és Dandekar, 1991; Aldwinckle és Malnoy, 2009; Bhatti és Jha, 2010). Seong *et al.* (2005) transzformációs és regenerációs kísérleteikben megfigyelték, hogy azok a kezelések, melyek növelték a regeneráció hatékonyságát, növelték a transzformáció hatékonyságát is.

A hatékony regenerációs módszerek kidolgozásával tehát elsősorban az almával végzett növénynemesítési munkát kívánjuk támogatni: az eredmények gyakorlati felhasználása jelentős segítség lehet a szomaklonális variánsok, valamint a szomatikus szöveteken indukált mutánsok előállításában, de az *Agrobacterium*-közvetítette transzformációs munkákban is közvetlenül hasznosíthatók.

A hatékony hajtásregenerációs módszer alkalmazható a mikroszaporításban is, a levéllemezről történő hajtásregenerációval jelentősen megnövelhető a szaporodási ráta, így csökkenthető az egy növényre jutó előállítás önköltsége, valamint lerövidíthető a felszaporításhoz szükséges idő. McMeans *et al.* (1998) a 'Royal Gala' és a 'Gala' fajtákból különböző szövettenyésztési módszerekkel állítottak elő szaporítóanyagot (hónaljrügyről történő szaporítás, illetve levéllemezről történő járulékos hajtásregeneráció). Az utódok morfológiai tulajdonságait több éven keresztül vizsgálva és azt a kontrollhoz hasnolítva nem találtak olyan jelentős eltéréseket, melyek miatt a fent említett két módszer ne lenne alkalmas a szaporítóanyag előállításra.

Az új eredmények várható tudományos értéke is jelentős: a négy vizsgált fajtából kettő ('Húsvéti rozmaring' és 'Freedom') még nem szerepelt az irodalmi közlésekben, nincs kidolgozott hajtásregenerációs módszerük. Hatékonyságuk bizonyítása után az új, eddig a járulékos hajtások regenerációs kísérletben nem tesztelt citokinineket (benziladenin ribozid, metatopolin, metatopolin ribozid) várhatóan más fajok regenerációs kísérleteiben is tesztelni fogják. Így a tudományos eredmények is széleskörben hasznosulnak.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Magyarországon a gyümölcstermelési ágazaton belül az alma meghatározó jelentőségű, az ágazat mégis évek óta értékesítési nehézségekkel küzd, aminek többek között az egyik oka az elavult fajtaösszetétel. Az alma nemesítésében elsődleges cél olyan új fajták előállítása, melynek minőségi, termőképességi és termeszthetőségi tulajdonságai megfelelőek, és alkalmasak az integrált- és környezetbarát termesztéstechnológiával való termesztésre.

Az alma nemesítése hagyományos módszerekkel hosszú éveket vesz igénybe, a nem-szexuális módszerekkel történő nemesítés (*in vitro* technikák alkalmazása) azonban feltételezi a járulékos hajtások regenerációs módszerének meglétét.

A növényi hormonok és növekedési regulátorok közül a citokininek bizonyultak a járulékos hajtások regenerációjában a legfontosabb tényezőnek mind a hajtásregenerációt megelőző szakaszban, mind a regeneráció során, a két szakasz közötti kölcsönhatások is jelentősnek mutatkoztak.

A citokininek típusa és koncentrációja iránti igény nagyban függ a genotípustól, de az optimális citokinin megválasztásában jelentős szerepe lehet más tényezőnek is.

Hajtásregenerációs kísérleteinket a DE AGTC KIT Nyíregyházi Kutató Intézet Növénybiotechnológiai Laboratóriumában végeztük. Munkánk célja az volt, hogy hatékony módszert dolgozzunk ki néhány alma genotípus (’M26’ alany, ’Royal Gala’, Freedom’ és ’Húsvéti rozmaring’ nemesek) esetében a járulékos hajtások levéllemezről történő regenerációjára.

Az előkezelések során 5-7 leveles, *in vitro* alma hajtásokat állítottunk különböző citokinineket (TOP, BAR, BA, KIN, BA+TOP és BA+KIN) különböző koncentrációkban (0-2,0 mg/l) tartalmazó táptalajokra, 3 hétre. A különböző citokinin-tartalmú táptalajon előnevelt hajtások újonnan fejlődött leveleit regenerációs táptalajra helyeztük (5,0 mg/l BA) majd értékeltük a legfontosabb regenerációs tulajdonságokat.

A genotípusoknak megfelelő legjobb előkezelések kiválasztása után vizsgáltuk a citokininek szerepét a regenerációs táptalajban (TDZ, BA, BAR, TOP, TOPR, KIN, KINR, ZEA, ZEAR) 0,5-6,5, illetve 8,0 mg/l (ribozidok) koncentráció tartományban. Mindkét kísérletsorozatban értékeltük a regenerációt mutató explantátumok arányát, az explantátumonként fejlődött hajtások számát, valamint a hiperhidratáció mértékét. A megfigyelt paraméterekből ún. organogén indexet számoltunk, OI= (Regenerációs %- Hiperhidratációs %) x Hajtásszám/100, melyből a regeneráció hatékonyságára lehet következtetni

A ’Royal Gala’ fajta esetében szövettani vizsgálatokat is végeztünk. A hajtásokat 3 hétig neveltük a különböző citokinineket tartalmazó előkezelő táptalajokon, valamint kontroll (citokininmentes) táptalajon. Ezen időszak alatt az alma növénykék legalább egy, de általában két új

levelet fejlesztettek kezeléstől függően. A szövettani vizsgálatokat ezután végeztük el a felső két, újonnan fejlődött levélből. A levél keresztmetszeteket fénymikroszkóppal vizsgáltuk.

Eredményeink szerint a genotípusok között különbség van a regenerációs kapacitásban. A ’Royal Gala’ fajta regenerációs képessége kiemelkedően jó (100% regenerációs ráta), azonban az ’M26’alannyal és a ’Húsvéti rozmaring’ fajtával szintén nagy (96,6% és 94.9%) regenerációs gyakoriság érhető el. Gyengébb regenerációs képességgel rendelkezik a ’Freedom’ fajta (84.7%). A második kísérletsorozatban alacsonyabb regenerációs százalékokat kaptunk az ’M26’, ’Húsvéti rozmaring’ és a ’Freedom’ fajtákkal (84.9%; 81.5% és 59.7%).

Az előkezelő táptalaj citokinin-tartalma befolyásolta az explantátumok regenerációs kapacitását, ami látható mind a regenerációs százalék, mind az explantátumonként fejlődött hajtások számának változásában, valamint a hiperhidratált tenyészetek arányában is, amit megfelelő citokinin előkezeléssel minden genotípussal jelentősen csökkenteni lehetett.

Az eredmények alapján a ’Freedom’ fajtánál a kettős citokinin-tartalmú előkezelést találtuk legjobbnak, amely 0,5 mg/l BA+1,5 mg/l TOP kombinációját jelenti, a ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál pedig a 1,5 mg/l KIN-t tartalmazó előkezelő táptalajt. A ’Royal Gala’ fajtánál a 0,5 mg/l, az ’M26’ alany esetében az 1,0 mg/l TOP töménységet ajánljuk.

Összefoglalva az előkezelésben alkalmazott citokininek hatásáról szerzett tapasztalatainkat megállapíthatjuk, hogy a metatopolin kedvező hatása az *in vitro* alma levelek morfogénikus aktivitásában több genotípus esetén kimutatható.

A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin típusa és koncentrációja egyaránt jelentős szerepet játszott az explantátum regenerációs kapacitásának kifejeződésében. A genotípusok között a citokininekre adott válaszokban különbségeket találtunk, azonban legtöbb esetben igaz, hogy a KIN és ribozidja, valamint a ZEA és ribozidja alacsony hatékonyságú a járulékos hajtások indukciójában. Kísérleteinkben a TDZ nagyon hatékonynak bizonyult a hajtások számának növelésében (’M26’, ’Royal Gala’), valamint a regenerációs százalék növelésében (’M26’, ’Freedom’), azonban az ’M26’, ’Royal Gala’ és ’Freedom’ fajtáknál a TDZ-t tartalmazó regenerációs táptalajon volt legnagyobb a hiperhidratáció mértéke.

Az eredmények ismeretében a következő citokinin alkalmazásokat javasoljuk a regenerációs táptalajban: ’M26’alany: 8,0 mg/l TOPR vagy 5,0-8,0 mg/l BAR; a ’Freedom’ fajtánál 5,0 mg/l TDZ; a ’Royal Gala’ esetében 0,5 mg/l TDZ; míg a ’Húsvéti rozmaring’ fajtánál 3,5 mg/l BA-t.

A ’Royal Gala’ fajtánál elvégzett hisztológiai vizsgálatok (különböző előkezelésekből származó levelek anatómiai szerkezete) eredményét vizsgálva jelentős különbségeket találtunk, melyeket az explantátumok regenerációs képességével összevetve a korábi feltételezések megerősítést nyernek, miszerint a jó regenerációs képesség összefüggésben van a juvenilis, illetve nagymértékben differenciálatlan levélszerkezettel. További kísérletek szükségesek azonban a feltételezett

összefügések hátterének tisztázására, a funkcionális, hisztológiai és molekuláris változások között, melyeket az alma regeneráció előtt és/vagy alatta figyeltek meg.

A ’Royal Gala’ fajta regenerált hajtásaival gyökeresítési kísérleteket is végeztünk. Eredményeink szerint a regeneránsok gyökeresedési képességét befolyásolta a regenerációs táptalaj citokinin-tartalma, valamint az utántenyésztő táptalaj összetétele. Négyhetes szaporító-táptalajon történő tenyésztés után 76% gyökeresedést kaptunk, a gyökeres hajtások 100%-ban túlélték az akklimatizációt.

A hatékony regenerációs módszerek kidolgozásával, az almával végzett növénynemesítési munkát (*Agrobacterium*-közvetítette transzformációs munkák, szomaklónok és indukált mutánsok előállítása, stb.) kívánjuk támogatni, illetve az eredmények közvetlenül felhasználhatók az alma mikroszaporítási technológiában is.

7. SUMMARY

Apple is one of the major fruit crops in Hungary however the apple grower section has been facing difficulties for years due to - among others - the out-of-date cultivar composition of plantations.

The primary aim of apple breeding is to develop new varieties with proper quality and good yield. Moreover, the new varieties should be suited for integrated and environmentally sound cultural technology.

Breeding apple by traditional methods takes a long time, however the use of biotechnological methods offers a way to eliminate the disadvantages of sexual hybridization. Therefore *in vitro* regeneration of adventitious shoots is necessary for breeding plants via nonsexual methods.

Among phytohormones (or plant growth regulators, PGRs), cytokinins have proven to be the most important factors affecting shoot regeneration both before and during regeneration process, and interactions between these two stages often observed.

The type and concentration of cytokinin required for efficient regeneration depends on genotype but other factors can also play a role.

Shoot regeneration experiments presented in this study were performed in the Plant Biotechnology Laboratory of Research Institute of Nyíregyháza (belongs to the Debrecen University CAAES RISF). The aim of the present study was to develop efficient adventitious shoot regeneration methods from leaf segments for some apple cultivars (’M26’ rootstock, ’Royal Gala’, Freedom’ and ’Húsvéti rozmaring’ scions).

During first experiments *in vitro* apple shoots with 5-7 leaves were placed vertically onto pre-treating media differed in their cytokinin content (TOP, BAR, BA, KIN, BA+TOP and BA+KIN) and their concentration (0-2.0 mg l^{-1}) for three weeks. After pre-treatment the newly developed leaves of shoots were used for shoot regeneration (on medium contained 5.0 BA mg l^{-1}) then the most important regeneration parameters were evaluated. The best pre-treatments for each genotype were then chosen for further experiments.

In the second experiments cytokinins (TDZ, BA, BAR, TOP, TOPR, KIN, KINR, ZEA, ZEAR) were tested in the regeneration media in different concentrations (from 0.5 to 6.5, or to 8.0 mg l^{-1} in the cases of ribosids).

The regeneration percent (the rate of explants showing shoot regeneration), the number of regenerated shoots per explant, and the rate of hyperhydricity were evaluated in both experiments. From the observed data an organogenesis index was calculated as follows: (regeneration rate - hyperhydicity rate) x shoot number/100.

Histological studies were also performed in the case of ‘Royal Gala’. Shoot were pre-treated for 3 weeks on media differed in their cytokinin-content, while control medium was cytokinin-free.

During this period at least one but in general two new leaves developed on shoots depending on treatments. Histological studies were then performed in the two bottom newly developed leaves. The cross sections of leaves were examined by light- microscope.

Genotypes tested showed differences in their regeneration ability: ‘Royal Gala’, ‘M26’ and ‘Húsvéti rozmaring’ showed a very high regeneration capacity (up to 100%; 96.6% and 94.9%, respectively), while regeneration ability of ‘Freedom’ was lower (84.7%). In the second experiment the maximum regeneration percents were lower in ‘M26’, ‘Húsvéti rozmaring’ and ‘Freedom’ (84.9%; 81.5% and 59.7%, respectively).

Regeneration capacity of leaf explants was affected by the cytokinin-content of the pre-treating media and their effects were expressed in the changes of regeneration rates, shoot number and especially in the rate of hyperhydricity. It became evident, that using proper pre-treating medium the hyperhydricity of the regenerated shoots can be decreased.

Based on these results we recommend following pre-treating media: 0.5 mg l^{-1} BA+1.5 mg l^{-1} TOP for ’Freedom’; 1.5 mg l^{-1} KIN for ’Húsvéti rozmaring’; 0.5 mg l^{-1}l TOP for ’Royal Gala’ and 1.0 mg l^{-1} TOP for ’M26’.

It can be concluded that a stimulatory effect of TOP applied in the pre-treating media could be detected on morphogenic ability of leaves in the majority of genotypes.

Type and concentrations of cytokinins used in the regeneration media also played important role in the expression of the regeneration capacity of leaf explants.

Although responses of genotypes for cytokinins were different; we observed that KIN, ZEA and their ribosids showed a very low efficiency in the induction of adventitious shoots.

TDZ has proven to be very efficient to increase the number of regenerated shoots (’M26’, ’Royal Gala’) and the regeneration rate (’M26’, ’Royal Gala’) but the rate of hyperhydricity was also the highest on media supplemented with TDZ (’M26’, ’Royal Gala’, ’Freedom’).

Based on the results we suggest to apply the following regeneration media: 8.0 mg l^{-1}TOPR vagy 5.0-8.0 mg l^{-1}BAR for ’M26’; 5.0 mg l^{-1} TDZ for Freedom’, 0.5 mg l^{-1} TDZ for’Royal Gala’ and 3.5 mg l^{-1} BA for ’Húsvéti rozmaring’.

Results of histological studies showed also differences in the anatomical structure of leaves originated from different pre-treatments, and relationship revealed between leaf structure and their regeneration ability confirming the presumption that regeneration ability of leaves is related to their juvenile or highly desorganised structure.

Rooting experiments were also conducted with regenerated shoots of ‘Royal Gala’. The rooting ability of regenerants was affected both by cytokinin-content of regeneration media and compounds of sub-culture media. After sub-culture of adventitious shoots on proliferation medium, the rooting

rate of newly developed shoots was 76% and all rooted shoots were acclimatised and survived with maximum efficiency.

The newly developed regeneration methods presented here can support the breeding work with apple (*Agrobacterium*-mediated transformation, production of induced mutants and somaclones). Moreover, results could be utilised directly in the micropropagation technology of apple.

MELLÉKLETEK

M1. IRODALOMJEGYZÉK

ABDUL-KADER A. M., NORELLI J. L., BAUER D W., BEER S. V., ALDWINCKLE H. S. (1998): Evaluation of the *hrpN* gene for resistance to fire blight in apple. *Abstracts of IWFB 98*, 8th International Workshop on Fire Blight, 12-15 October, 1998, Kuşadasi, Turkey, 47 p.

ALDINGTON S., FRY S. C. (1993): Oligosaccharins. *Advances in Botanical Research* 19: 1-101 p.

ALDWINCKLE H. S., NORELLI J. L., HARMAN G. E., BROWN S. K. (1998): Genetic engineering of disease resistance in apple fruit cultivars and rootstocks. *Abstract Book of IX International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*. 1998. június 14-19., Jerusalem 14 p.

ALDWINCKLE H., MALNOY M. (2009): Plant regeneration and transformation in the Rosaceae. 1-39 p. In: NAGESWARA-RAO M., SONEJI J. R. (szerk.) *Transgenic Plant Journal* 3 (Special Issue 1), Global Science Books, 122 p.

AMOO S. O., FINNIE J. F., VAN STADEN J. (2010): The role of meta-topolins in allevating micropropagation problems. *Plant Growth Regulation*, 63(2): 197-206 p.

BAIRU M. W., STIRK W. A., DOLEZAL K., VAN STADEN J. (2007): Optimizing the micropropagation protocol for the endangered *Aloe polyphylla*: can *meta*-topolin and its derivates serve as replacement for benzyladenine and zeatin? *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 90(1) 15-23 p.

BAIRU M. W., STIRK W. A., DOLEZAL K., VAN STADEN J. (2008): The role of topolins in micropropagation and somaclonal variation of banana cultivars ’Williams’ and ’Grand Naine’ (*Musa* spp. AAA). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95: 373-379 p.

BAIRU M. W., STIRK W. A., VAN STADEN J. (2009): Factors contributing to *in vitro* shoot-tip necrosis and their physiological interactions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 98: 239-248.

BARBIERI C., MORINI S. (1987): *In vitro* regeneration from somatic tissues and seed explants of apple. *Advances in Horticular Science*, 1: 8-10 p.

BARCISZEWSKI J., RATTAN S. I. S., SIBOSKA G., CLARK B. F. C. (1999): Kinetin – 45 years on. *Plant Science* 148: 37-45 p.

BAROJA-FERNANDEZ E., AGUIRREOLEA J., MARTÍNKOVA H., HANUŠ J., STRNAD M. (2002): Aromatic cytokinins in micropropagated potato plants. *Plant Physiology Biochemistry*, 40: 217-224 p.

BARTISH I. V, KORKHOVOI V. I. (1997): The composition of nutrient medium and the efficiency of shoot induction *in vitro* from apple leaf explants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 44(3) 381-385 p.

BELAIZI M., PAUL H., SANGWAN R. S., SANGWAN-NORREEL B. S. (1991): Direct organogenesis from internodal segments of *in vitro* grown shoots of apple *cv*. Golden delicious. *Plant Cell Reports*, 9: 471-474 p.

BENKOVÁ E., WITTERS E., VAN DONGEN W., KOLÁŘ J., MOTYKA V., BRZOBOHATÝ B., VAN ONCKELEN H. A., MACHÁČKOVÁ I. (1999): Cytokinins in tobacco and wheat chloroplasts. Occurrence and changes due to light/dark treatment. *Plant Physiology*, 121: 245-252 p.

BHATTI S., JHA G. (2010): Current trends and future prospects of biotecnnological interventions through tissue culture in apple. *Plant Cell Reports*, 29:1215-1225 p., DOI: 10.1007/s00299-010-0907-8.

BLANKE M. M., BELCHER A. R. (1989): Stomata of apple leaves cultured *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 19(1), DOI: 10.1007/BF00037780.

BLANKE M. M., HÖFER M., PRING R. J. (1994): Stomata and structure of tetraploid apple leaves cultured *in vitro*. *Annals of Botany*, 73: 651-654 p.

BOGAERT I., VAN CAUTER S., WERBROUCK S. P. S, KOLEŽAL K. (2006): New aromatic cytokinins can make the difference. *Acta Horticulturae*, 725, Proceedings of the Fifth International Symposum on In Vitro Culture and Horticultural Breeding, 1: 265-270 p.

BOLAR J. P., ALDWINCKLE H. S., HARMAN G. E., NORELLI J. L., BROWN S. K. (1998a): Transgenic McIntosh apple lines expressing a chitinase gene have increased resistance to scab (*Venturia inaequalis*). *Abstract Book of IX International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*, 1998. június 14-19., Jerusalem 127 p.

BOLAR J. P., NORELLI J. L., ALDWINCKLE H. S., HANKE V. (1998b): An efficient method for rooting and acclimation of micropropagated apple cultivars. *HortScience*, 33(7): 1251-1252 p.

BOLAR J. P., BROWN S. K., NORELLI J. L., ALDWINCKLE H. S. (1999): Factors affecting the transformation of ’Marshall McIntosh’ apple by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 55: 31-38 p.

BOLAR J. P., NORELLI J. L., WONG K. W., HAYES K., HARMAN G. E., ALDWINCKLE H. S. (2000): Expression of endochitinase from *Trichoderma harzianum* in transgenic apple increases resistance to apple scab and reduces vigor. *Phytopathology*, 90(1) 72-77 p.

BRAINERD K. E., FUCHIGAMI L. H. (1992): Stomatal functioning of *in vitro* and greenhouse apple leaves in darkness, mannitol, ABA and CO_2. *Journal of Experimental Botany*, 33(3) 388-392 p.

BUBÁN T., CSUBÁK E., BALLA I., TŐKÉS G. (1993): Some doubts about using micropropagated trees in apple production. *Acta Horticulturae*, 349: 277-281 p.

BUBÁN T. (2000): The use of benzyladenine in orchard fruit growing: a mini review. *Plant Growth Regulation*, 32: 381-390 p.

BUDIARTO, K. (2009): The occurence of hyperhydricity on several carnations (*Dianthus carryophyllus* L.) cultivars during low temperature storage. *Biodiversitas*, 10(3) 104-107 p.

BULLEY S. M., MALNOY M., ATKINSON R. G., ALDWINCKLE H. S. (2007): Transformed apples: Traits of significance to growers and consumers. *Transgenetic Plant Journal*, 1: 267-279 p.

BÜTTNER R., FISCHER M., FORSLINE P. L., GEIBEL M., PONOMARENKO V. V. (2004): Gene banks for the preservation of wild apple genetic resources. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 12 (special ed.) 99-105 p.

CABONI E., TONELLI M., FALASCA G., DAMIANO C. (1996): Factors affecting adventitious shoot regeneration *in vitro* in the apple rootstock 'Jork 9'. *Advances in Horticultural Science*, 3 (10) 146-150 p.

CABONI E., TONELLI M. G. (1999): Effect of 1,2-benzisoxazole-3-acetic acid on adventitious shoot regeneration and *in vitro* rooting in apple. *Plant Cell Reports*, 18: 985-988 p.

CABONI E., LAURI P., D'ANGELI S. (2000): *In vitro* plant regeneration from callus of shoot apices in apple shoot culture. *Plant Cell Reports*, 19: 755-760 p.

CABONI E., D'ANGELI S., CHIAPETTA A., INNOCENTI A. M., VAN ONCKELEN H., DAMIANO C. (2002): Adventitous shoot regeneration from vegetative shoot apices in pear and putative role of cytokinin accumulation in the morphogenetic process. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*,70: 199-206 p.

CAMARGO J. T., FORTES G. R., SILVA J. B., CENTELLAS A. Q., OLIVEIRA M. DE. F. (1998): Evaluation of BAP concentrations for callogenesis/organogenesis in apical and basal internodes of the apple rootstock cv. Marubakaido (*Malus prunifolia*). *Agropecu Clima Temperado*, 1(2): 129-136 p.

CHALLICE J. S., WESTWOOD M. N. (1973): Numerical taxonomic studies of the genus *Pyrus* using both chemical and botanical characters. *Botanical Journal of the Linnaen Society*, 67: 121-148 p.

CHRISTIANSON M. L. (1987): Causal effects in morphogenesis. In: GREEN C. E., SOMMERS D. A., HACKETT W. P., BIESBOER D. D. (eds.) *Plant Tissue and Cell Culture*. Alan R. Liss, Inc., New York, 45-55 p.

CHU C. C., WANG C. C., SUN C. S., HSU C., YIN K. C., CHU C. Y., PI F. Y. (1975): Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources. *Sci Sinica* 18: 659-688 p.

COART E., VAN GLABEKE S., DE LOOSE M., LARSEN A. S., ROLDAN-RUIZ I. (2006): Chloroplast diversity in the genus *Malus*: new insights into the relationship between the European

wild apple (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) and the domesticated apple (*Malus domestica* Borkh.). *Molecular Ecology* 15(8): 2175-2182 p.

COZZA R., TURCO D., BATI B. C., BITONTI M. B. (1997): Influence of growth medium on mineral composition and leaf histology in micropropagated plantlets of *Olea europaea*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 51: 215-223 p.

D'ANGELI S., LAURI P., DEWITTE W., VAN ONCKELEN H., CABONI E. (2001): Factors affecting *in vitro* shoot formation from vegetative shoot apices of apple and relationship between organogenic response and cytokinin localisation. *Plant Biosystems*, 135(1) 95-100 p.

DE BONDT A., EGGERMONT K., DRUART P., DE VIL M., GODERIS I., VAN DER LEYDEN J., BROEKAERT W. F. (1994): *Agrobacterium*-mediated transformation of apple (*Malus x domestica* Borkh.): an assesment of factors affecting gene transfer efficiency during early transformation steps. *Plant Cell Reports*, 13: 587-593 p.

DE BONDT A., EGGERMONT K., PENNINCKX I., GODERIS I., BROEKAERT W. (1996): *Agrobacterium*-mediated transformation of apple (*Malus x domestica* Borkh.): an asssesment of factors affecting regeneration of transgenic plants. *Plant Cell Reports*, 15: 549-554 p.

DEGENHARDT J., SZANKOWSKI I. (2006): Transformation of apple (*Malus domestica* Borkh) using phosphomannose isomerase gene as selectable marker. *Acta Horticulturae*, Nr. 725, Proceedings of the Fifth International Symposum on In Vitro Culture and Horticultural Breeding, 2: 811-814 p.

DE KLERK G. J., ARNHOLDT-SCHMITT B., LIEBEREI R., NEUMANN K. H. (1997): Regeneration of roots, shoots and embryos: physilogical, biochemical and molecular aspects. *Biologia Plantarum*, (39 81): 53-66 p.

DIBUZ E. (1997): A nemesítésben és a termesztésben szerepet játszó gyümölcsfajok. 34-45 p. In: SOLTÉSZ, M. (szerk.): *Integrált gyümölcstermesztés*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 843 p.

DOBRÁNSZKI J., MAGYAR-TÁBORI K., JÁMBOR-BENCZÚR E., LAZÁNYI J., BUBÁN T., SZALAI J. (2000): Influence of aromatic cytokinins on shoot multiplication and their after-effects on rooting of apple cv. Húsvéti rozmaring. *International Journal of Horticultural Science*, 6(4): 84-87 p.

DOBRÁNSZKI J., MAGYAR-TÁBORI K., JÁMBOR-BENCZÚR E., KISS E., LAZÁNYI J., BUBÁN T. (2002): Effect of conditioning apple shoots with meta-topolin on the morphogenic activity of *in vitro* leaves. *Acta Agronomica Hungarica*, 50: 117-126 p.

DOBRÁNSZKI J., HUDÁK I., MAGYAR-TÁBORI K., JÁMBOR-BENCZÚR E., GALLI ZS., KISS E. (2004): Effects of different cytokinins on the shoot regeneration from apple leaves of 'Royal Gala' and 'M.26'. *International Journal of Horticultural Science*, 10: 69-75 p.

DOLGOV S. V., LEBEDEV V. G., SKRYABIN K. G. (1998): Transgenic apple and pear clonal rootstocks resistant to herbicide „Basta”. *Abstract Book of IX International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*, 1998. június 14-19., Jerusalem, 138 p.

DOLGOV S. V., LEBEDEV V. G., TARAN S. A., LUNIN V. G. (2000): Molecular breeding of fruit crops. *International Symposium on Biotechnology Application in Horticultural Crops*. Beijing, China, September 4-8, 39 p.

DONOVAN A. M., RIDOUT M. S., JAMES D. J. (1994a): Assessment of somaclonal variation in apple. II. Rooting ability and shoot proliferatiobn *in vitro*. *Journal of Horticultural Science*, 69(1): 115-122 p.

DONOVAN A. M., MORGAN R., VALOBRA-PIAGNANI C., RIDOUT M. S., JAMES D. J., GARRET C. M. E. (1994b): Assessment of somaclonal variation in apple. I. Resistance to the fire blight pathogen, *Erwinia amylovora*. *Journal of Horticultural Science*, 69(1): 105-113 p.

DRIVER J. A., KUNIYUKI A. H. (1984): *In vitro* propagation of Paradox walnut rootstock. *Horticultural Science*, 19: 507-509 p.

DUDITS D. (2000): Szomatikus hibridizáció protoplasztfúzióval. 144-162. p. In: DUDITS D., HESZKY L. (szerk.): *Növényi biotechnológia és géntechnológia*. Budapest: Agroinform Kiadó, 312. p.

DUDITS D., HESZKY L. (2000): Biotikus stresszrezisztens transzgénikus növények. 214-232 p. In: DUDITS D., HESZKY L. (szerk.): *Növényi biotechnológia és géntechnológia*. Budapest: Agroinform Kiadó, 312. p.

DUFOUR M. (1990): Improving yield of adventitious shoots in apple. *Acta Horticulturae*, 280, *In Vitro Culture and Horticultural Breeding*, 51-60 p.

DUNEMANN F., KAHNAU R., SCHMIDT H. (1994): Genetic-relationships in *Malus* evaluated by RAPD fingerprinting of cultivars and wild-species. *Plant Breeding*, 113 (2): 150-159 p.

ĎURKOVIČ J., MIŠALOVÁ A. (2008): Micropropagation of temperate noble hardwoods: An overview. *Functional Plant Science Biotechnology*, 2: 1-19 p.

ELOBEIDY A., KORBAN S. S. (1988): The effect of thidiazuron on shoot regeneration from apple leaf discs. *Horticultural Science*, 23: 755 p.

ERDÉSZ F.-NÉ (2008): A hazai zöldség- és gyümölcságazat fejlődési kilátásai. *Gazdálkodás, Agrárökonómiai Tudományos Folyóirat*, 52 (2) 144-151 p.

ERIG A. C., SCHUCH M. W., SILVA L. C. (2004): Effect of cytokinins and of the origin of the explant in the *in vitro* organogenesis of shoots of apple tree (*Malus domestica* Borkh.) cv. Galaxy. *Revista Cientifica Rural*., INTEC, Bage, Brazil, 9(2) 113-120 p.

ERIG A.C., SCHUCH M. W. (2005): Morfogênese *in vitro* de brotos de macieira (*Malus domestica* Borkh.) a partir de fragmentos delgados de folhas. *In vitro* morphogenesis of shoots of apple tree

(*Malus domestica* Borkh.) starting from thin fragments of leaves. *Ciencia e Agrotecnologia*, 29(3), doi: 10.1590/S1413-70542005000300010.

FAL M. A., MAJADA J. P., SÁNCHEZ TAMÉS R. (2002): Physical environment in non-ventilated culture vessels affects *in vitro* growth and morphogenesis of several cultivars of *Dianthus caryophyllus* L. *In Vitro cellular & Developmental Biology–Plant*, 38(6): 589-594 p., DOI: 10.1079/IVP2002328.

FAMIANI F., FERRADINI N., STAFFOLANI P., STANDARDI A. (1994): Effect of leaf excision time and age, BA concentration and dark treatments on *in vitro* shoot regeneration of M.26 apple rootstock. *Journal of Horticultural Science*, **69** (4) 679-685 p.

FAO (2009) http://faostat.fao.org/site/567/Desktopdefault.aspx?PageID=567#ancor

FASOLO F, ZIMMERMAN R. H., FORDHAM I. (1989): Adventitious shoot formation on excised leaves of *in vitro* grown shoots of apple cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **16**: 75-87 p.

FASOLO F. M. F., PREDIERI S. (1990): Cultivar dependent responses to regeneration from leaves in apple. *Acta Horticulturae*, 280: 61-68 p.

FAUGUEL C. M., VEGA T. A., NESTARES G., ZORZOLLI R., PICARDI L. A. (2008): Anatomy of normal and hyperhydric sunflower shoots regenerated *in vitro*. *Helia*, 31(48), 17-26 p., DOI: 10.2298/HEL0848017F

FERRADINI N., FAMIANI F., PROIETTI P., STANICA F. (1996): Influence of growth regulators and light on *in vitro* shoot regeneration in M.26 apple rootstock. *Journal of Horticultural Science*, **71** (6) 859-865 p.

FERREIRA F. J., KIEBER J. J. (2005): Cytokinin signalling. *Current Opin Plant Biology*, 8: 518-525 p.

FORTE A. V., IGNATOV A. N., PONOMARENKO V. V., DOROKHOV D. B., SAVELYEV N. I. (2002): Phylogeny of the *Malus* (apple tree) species, inferred from the morphological traits and molecular DNA analysis. *Russian Journal of Genetics*, 38 (10) 1150-1161 p.

GAHAN P. B, GEORGE E. F. (2008): Adventitious regeneration 355-402 p. In:GEORGE E.F., HALL M.A., DE KLERK G.J.: *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3rd Edition, Vol. 1. The Background. Springer, The Netherlands 501 p.

GALLI ZS., KISS E., HRAZDINA G., HESZKY L. E. (2003): Post-harvest érés késleltetése az etiléntermelés gátlásával almában. IX. Növénynemesítési Tudományos Napok MTA, Budapest, március 5-6., összefoglalók, 53 p.

GALLI ZS., HALÁSZ G., KISS E., DOBRÁNSZKI J., KUTYIK T., AGÓCS E., HESZKY L. E. (2004): Using SSR markers to distinguish apple cultivars. *5th International Symposium on In vitro Culture and Horticultural Breeding*, szeptember 12-17, Debrecen, 199 p.

GAMAGE N., NAKANISHI T. (2000): *In vitro* shoot regeneration from leaf tissue of apple (cultivar "Orine"): high shoot proliferation using carry over effect of TDZ. *Acta Horticulturae*, 520: 291-300 p.

GANEVA T., STEFANOVA M., ČELLÁROVÁ E., UZUNOVA K., KOLEVA D. (2009): Structural responses of the photosynthetic apparatus of *Orthosiphon stamineus* Benth. to temperature stress after cryopreservation. *Botanica Serbica*, 33(2): 163-167 p.

GÉMES-JUHÁSZ A., BALOGH P., FERENCZY A., KRISTÓF Z. (2002): Effect of optimal stage of female gametophyte and heat treatment on *in vitro* gynogenesis induction in cucamber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Cell Reports*, 21:105-111 p., DOI: 10.1007/s00299-002-0482-8.

GERCHEVA P., ANDINOVA T., IVANOVA K. (2000): Plant regeneration from leaf tissues of apple cultivars Granny Smith, Morspur Golden and Starkrimson. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 6:637-643 p. National Centre for Agrarian Sciences.

GERCHEVA P., NACHEVA L., DINEVA V. (2009): The rate of shoot regeneration from apple (*Malus domestica*) leaves depending on the *in vitro* culture condititions. Proceeding of 1st Balkan *Symposium on Fruit Growing*, In: ZHIVONDOV A. *et al.* (szerk): *Acta Horticulturae* 825, ISHS, 71-75 p.

G. TÓTH M. (1997): Almagyümölcsűek. 31-99 p. In: G. TÓTH M. (szerk.): *Gyümölcsészet.* Primom Kiadó, Nyíregyháza, 289 p.

GYULAI G., KISS E., KISS J., HESZKY L. E. (1993): Hormone-selective bioassay for auxins and cytokinins *in vitro*. *Hungarian Agricultural Research*, 2:13-17 p.

HALMANN M. (1990): Synthetic plant growth regulators. *Advances in Agronomy*, 43: 47-105 p.

HAN X., YANG H., DUAN K., ZHANG X., ZHAO H., YOU S., JIANG Q. (2009): Sodium nitroprusside promotes multiplication and regeneration of *Malus hupehensis in vitro* plantlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 96:29-34 p.

HANKE V., NORELLI J. L., ALDWINCKLE H. S., HUANCARUNA-PERALES E., SCHIEDER O. (1998a): Protoplast technology used for study of chimeras in transgenic 'Royal Gala' apple plants. *Abstract Book of IX International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*, 1998. június 14-19., Jerusalem, 149 p.

HANKE V., NORELLI J. L., ALDWINCKLE H. S., DÜRING K. (1998b): Transformation of apple cultivars with T4-lysozyme gene to increase fire blight resistance. *Abstracts of IWFB 98, 8th International Workshop on Fire Blight*, 12-15 October, 1998, Kuşadasi, Turkey, 49 p.

HANKE V., ROHDE A., GRAFE C. (1991): Untersuchungen zur Regeneration an somatischen Gewebe *in vitro*. I. Zur Adventivsprossbildung an Blattexplantaten bei Apfel (*Malus domestica* Borkh). Studies on regeneration from somatic tissue *in vitro*. I. Adventitious shoot formation on leaf explants in apple (*Malus domestica* Borkh). *Gartenbauwissenschaft*, 56(5) 214-220 p.

HARBAGE J. F., STIMART D. P. (1996): Ethylene does not promote adventitious root initiation on apple microcuttings. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121(5): 880-885 p.

HAZARIKA B. N. (2006): Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. *Scientia Horticulturae*, 108: 105-120 p.

HESZKY L. (2000a): Az ivartalan szaporodás biotechnológiája. 97-126 p. In: DUDITS D., HESZKY L. (szerk.): *Növényi biotechnológia és géntechnológia*. Budapest, Agroinform Kiadó, 312 p.

HESZKY L. (2000b): Növény-sejt-növény rendszer *in vitro*. 41-54. In: DUDITS D., HESZKY L. (szerk.): *Növényi biotechnológia és géntechnológia*. Budapest: Agroinform Kiadó, 312 p.

HESZKY L. (2005): A növényi géntechnológia alapjai. 156-162. p. In: HESZKY L., FÉSÜS L., HORNOK L. (szerk.): *Mezőgazdasági Biotechnológia*. Budapest: Agroinform Kiadó, 366 p.

HEYL A., SCHMÜLLING T. (2003): Cytokinin signal perception and transduction. *Current Opinion Plant Biology*, 6: 480-488 p.

HÖHNLE M. K., WEBER G. (2009): Development of a Suitable Protocol to Overcome Hyperhydricity in Apple (*Malus* sp.) during *In Vitro* Regeneration. *Acta Horticulturae*, 839: 287-291 p.

HÖHNLE M. K., WEBER G. (2010): Efficient adventitious shoot formation of leaf segments of *in vitro* propagated shoots of the apple rootstock M.9/T337. *European Journal of Horticultural Science*, 75(3): 128-131 p.

HOLEFORS A., XUE Z. T., WELANDER M. (1998): Transformation of the apple rootstock M 26 with the *rolA* gene and its influence on growth. *Plant Science*, 136 (1) 69-78 p.

HOWELL S. H, LALL S., CHE P. (2003): Cytokinins and shoot development. *TRENDS Plant Science*, 8(9): 453-459 p.

HROTKÓ K. (1997): Szaporítás és faiskolai termesztés. p. 107-159. In: SOLTÉSZ M. (szerk.): *Integrált gyümölcstermesztés*, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 843 p.

HUETTEMAN C. A, PREECE J. E. (1993): Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue Organ Culture*, 33: 105-119 p.

IBRAHIM R., DEBERGH P. C. (2001): Factors controlling high efficiency adventitious bud formation and plant regeneration from *in vitro* leaf explants of roses (*Rosa hybrida* L.). *Scientia Horticulturae*, 88(1): 41-57 p.

JAMES D. J. (1983): Adventitious root formation '*in vitro*' in apple rootstocks (*Malus pumila*). II. Uptake and distribution of indol-3yl-acetic acid during the auxin-sensitive phase in M. 9 and M. 26. *Physiologia Plantarum*, 57: 154-158 p.

JAMES D. J., PASSEY A. J., MALHOTRA S. B. (1984): Organogenesis in callus derived from stem and leaf tissues of apple and cherry rootstocks. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 3: 333-341 p.

JAMES D. J, PASSEY A. J, RUGINI E. (1988): Factors affecting high frequency plant regeneration from apple leaf tissues cultured *in vitro. Journal of Plant Physiology*, 132: 148-154 p.

JAMES D. J., PASSEY A. J., BARBARA D. J., BEVAN M. (1989): Genetic transformation of apple (*Malus pumila* Mill.) using a disarmed Ti-binary vector. *Plant Cell Reports*, 7: 658-661p.

JAMES D. J., DANDEKAR A. M. (1991): Regeneration and transformation of apple (*Malus pumila* Mill.). *Plant Cell Tissue Culture Manual*, B8: 1-18 p.

JAMES D. J., URATSU S., CHENG J., NEGRI P., VISS P., DANDEKAR A. M., L. (1993): Acetosyringone and osmoprotectants like betaine or proline synergistically enhance *Agrobacterium*-mediated transformation of apple. *Plant Cell Reports*, 12(10): 559-563 p.

JÁMBOR-BENCZÚR E., KISSIMON J., FÁBIÁN M., MÉSZÁROS A., SINKÓ Z., GAZDAG GY., NAGY T. (2001): *In vitro* rooting and anatomical study of leaves and roots of *in vitro* and *ex vitro* plants of *Prunus x davidopersica* 'Piroska'. *International Journal of Horticultural Science*, 7 (1) 42-46 p.

JÁMBORNÉ BENCZÚR E., FÁRI M. (2005): A mikroszaporítás nemzetközi helyzete. p. 25-31. In: JÁMBORNÉ BENCZÚR E., DOBRÁNSZKI J. (szerk.) *Kertészeti növények mikroszaporítása. In vitro növényklónozás*. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 324 p.

JANSSEN B. J., GARDNER R. C. (1993): The use of transient GUS expression to develop an *Agrobacterium*-mediated gene transfer system for kiwifruit. *Plant Cell Reports*, 12:28-31 p.

JONES O. P., HOPGOOD M. E., O'FARREL D. (1977): Propagation *in vitro* of M.26 apple rootstocks. *Journal of Horticultural Science*, 52: 235-238 p.

JUN J. H., YAE B. W., YANG M. H., HWANG J. H., SHIN Y. U., PARK J. B. (1996): Influence of cultivar, light condition and pretreatment on adventitious shoot regeneration from leaves, internodes and petioles of *Malus domestica* Borkh. *in vitro*. *Journal of Korean Society Horticultural Science*, 37(5) 700-703 p.

KÁLAI K., CSÁNYI M., MÉSZÁROS A., BALÁZS E. (2009): Investigation of factors influencing the regeneration efficiency of *Rubus* species. *Acta Agronomica Hungarica*, 57(2) 149-154 p.

KARHU S. T., ZIMMERMAN R. H. (1993): Effect of light and coumarin during root initiation on rooting apple cultivars *in vitro*. *Advances in Horticultural Science*, 1: 33-38 p.

KARHU S. T., ULVINEN S. (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 p.

KEULEMANS J., DE WITTE K. (1994): Plant regeneration from cotyledons and embryonic axes in apple: Sites of reaction and effect of pre-culture in the light. 371-375 p. In: SCHMIDT H., KELLERHALS, M. (szerk.): *Progress in Temperate Fruit Breeding*, Kluwer Academic Publishers. Netherlands. 472 p.

KHRIPACH V., ZHABINSKII V., GROOT DE A. (2000): Twenty Years of Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones Warrant Better Crops for the XXI Century. *Annals of Botany*, 86: 441-447 p., doi: 10.1006/anbo.2000.1227.

KIRÁLY I., TÓTH M. (2009): Kárpát-medencei régi almafajták azonosítása hagyományos és molekuláris biológiai módszerekkel. *Lippay János-Ormos Imre-Vas Károly Tudományos Ülésszak, Gyümölcstudományi Szekció*, (összefoglalók), 2009. október 28-30., 187 p.

KIRILLA Z., MÉSZÁROS A., BALLA I., PEDRYC A. (2009): Magyar kajszi típusok éretlen szikleveleiből történő *in vitro* hajtásregenerációt befolyásoló tényezők. *XV. Növénynemesítési Tudományos Napok, Hagyomány és haladás a növénynemesítésben*, (összefoglalók), 2009. március 17.) 243-247 p.

KISS I., JÁMBOR-BENCZÚR E., FEHÉR T., CSILLAG F. (1994): Anatomical characteristics of leaf surface and stomata of *Hydrangea* plant grown *in vitro, in vivo* and transplanted. *Horticultural Science*, 26(2) 98-100 p.

KISS I., FEHÉR T., JÁMBOR-BENCZÚR E. (1997): Comparative anatomy of stems of *Hydrangea macrophylla* cv. Messalina *in vitro* and *in vivo*. *Horticultural Science*, 29:74-78 p.

KISS I., FÁBIÁN M., GAZDAG GY., JÁMBOR-BENCZÚR E., HORVÁTH G. (1999): The *in vitro* and *in vivo* anatomical structure of leaves of *Prunus x davidopersica* 'Piroska' and *Sorbus rotundifolia* L. 'Bükk Szépe'. *International Journal of Horticultural Science*, 5 (1-2) 92-95 p.

KO K., GRETHEL A., MOMOL M. T., NORELLI J. L., ALDWINCKLE H. S. (1998a): Enchanced resistance to fire blight (*Erwinia amylovora*) of Gala apple lines transgenic for lytic protein genes. *Abstract Book of IX International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*, 1998. június 14-19., Jerusalem, 127 p.

KO K., NORELLI J. L., BROWN S. K., BORESZJA-WYSOCKAL E. E., DÜRING K., ALDWINCKLE H. S. (1998b): Effect of multiple transgenes on resistance to fire blight of Galaxy apple. *Abstracts of IWFB 98, 8th International Workshop on Fire Blight*, 12-15 October, 1998, Kuşadasi, Turkey, 50 p.

KODA Y., TAKAHASHI K., KIKUTA Y. (1994): Involvement of jasmonic acid and related compounds in the tuberization of Jerusalem artichoke plants (*Helianthus tuberosus* L.). *Japanese Journal of Crop Science*, 63(2): 333-338.

KORBAN S. S., SKIRVIN R. M. (1985): *In vitro* shoot regeneration from an intact and a sectioned embryo-axis of apple seeds. *Plant Science*, 39, 61-66 p.

KORBAN S. S. (1986): Interspecific hybridization in *Malus*. *HortScience*, 21: 41-48 p.

KORBAN S. S., CHEN H. (1992): Apple. 203-227 p. In: HAMMERSCHLAG, F. A., LITZ, R. E. (eds): *Biotechnology of Perennial Fruit Crops*, C.A.B. International, 550 p.

KORBAN S. S., O'CONNOR P. A., ELOBEIDY A. (1992): Effects of thidiazuron, naphthaleneacetic acid, dark incubation and genotype on shoot organogenesis from *Malus* leaves. *Journal of Horticultural Science*, 67:341-349 p.

KORKHOVOY V. I., RADCHUK V. V., BARTISH I. V., LEVENKO B. A. (1998): Genetic transformation of apple cv. 'Florina'. *Abstract Book of IX International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*, 1998. június 14-19., Jeruzsálem, 170 p.

KSH (2010) (Központi Statisztikai Hivatal honlapja)
http://portal.ksh.hu/pls/ksh/docs/hun/xstadat/xstadat_eves/table4_01_13if.html

KUBALÁKOVÁ M., STRNAD M. (1992): The effects of aromatic cytokinins (populins) on micropropagation and regeneration of sugar beet *in vitro*. *Biology Plantarum*, 34 (Suppl.) 578-579 p.

KULAEVA O. N, BURKHANOVA E. A., KARAVAIKO N. N., SELIVANKINA S. Y., PORFIROVA S. A., MASLOVA G. G., ZEMLYACHENKO Y. V., BÖRNER T. (2002): Chloroplasts affect the leaf response to cytokinin. *Journal of Plant Physiology*, 159: 1309-1316 p.

LANE W. D. (1978): Regeneration of apple plants from shoot meristem-tips. *Plant Scientific Letters*, 13: 281-285 p.

LÉVI É., MARÓTI M. (1977): Almaembrió-kultúra és szövettenyészet. *Botanikai Közlemények*, 64. kötet, 2. füzet, 1977. június (megjelent 1978. február), 75-85 p.

LING Q., MING L., YONGXI W., ZHENGUANG H., GAIRONG Z. (2002): Effects of different cytokinins on leaves *in vitro* regeneration of Fuji 2001 apple variety. *Journal of Fruit Science*, 19(4): 215-218 p.

LINSMAIER E. M., SKOOG F. (1965): Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, 18: 100-127 p.

LIU J. R., SINK K. C., DENNIS F. G. (1983): Plant regeneration from apple seedling explants of apple and callus cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2: 293-304 p.

LIU M. G., OGIWARA I., HAKODA N., SHIMURA I. (1994): Effects of BA, TDZ, and CPPU on formation of aventitious shoots from callus derived from apple cotyledon. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 63(3) 505-514 p.

LIU Q., SALIH S., HAMMERSCHLAG F. (1998): Etiolation of 'Royal Gala' apple (*Malus* x *domestica* Borkh.) shoots promotes high-frequency shoot organogenezis and enhanced β–glucuronidase expression from stem internodes. *Plant Cell Reports*, 18: 32-36 p.

LIU Q. Z., ZHAO H. J., ZHANG C. G., AMMERSCHLAG F., MONG R. G. (2000): Study on genetic engineering of 'Royal Gala' apple by gene transformation and genome mutation. *Proceedings of International Symposium on Biotechnology Application in Horticultural Crops*. Beijing, China, September 4-8, 68-75 p.

LOESCHER W. H., EVERARD J. D. (1996): Sugar alcohol metabolism in sinks and sources. 185-207 p. In: ZAMSKI E. AND SCHAFFER AA. (szerk.): *Photoassimilate Distribution in Plants and Crops: Source-Sink Relationships*. Marcel Dekker, New York, 905 p.

MACHAKOVA I., ZAZIMALOVA E., GEORGE E. F. (2008): Plant Growth Regulators I: Introduction; Auxins, their Analogues and Inhibitors. 175-204 p. In: GEORGE E. F., HALL M. A., DE KLERK G. J. (szerk): *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3rd Edition, vol:1. The Background. Springer-Dordrecht, The Netherlands., 501 p.

MAGYAR-TÁBORI K., DOBRÁNSZKI J., JÁMBOR-BENCZÚR E., BUBÁN T., LAZÁNYI J., SZALAI J., FERENCZY A. (2001a): Post-effects of cytokinins and auxin levels of proliferation media on rooting ability of *in vitro* apple shoots (*Malus domestica* Borkh.) 'Red Fuji'. *International Journal of Horticultural Science*, 7(3-4): 26-29 p.

MAGYAR-TÁBORI K., DOBRÁNSZKI J., JÁMBOR-BENCZÚR E., LAZÁNYI J., SZALAI J. (2001b): Effects of activated charcoal on rooting of *in vitro* apple (*Malus domestica* Borkh.) shoots. *International Journal of Horticultural Science*, 7(1): 98-101 p.

MAHESWARAN G., WELANDER M., HUTCHINSON J. F., GRAHAM M. W., RICHARDS D. (1992): Transformation of apple rootsock M26 with *Agrobacterium tumefaciens*. *Journal of Plant Physiology*, 139: 560-568 p.

MALÁ J., MÁCHOVÁ P., CVRČKOVÁ H., KARADY M., NOVÁK O., MIKULÍK J., HAUSEROVÁ E., GREPLOVÁ J., STRNAD M., DOLEŽAL K. (2009): Micropropagation of wild service tree (*Sorbus torminális* [L]. Crantz): The regulative role of different aromatic cytokinins during organogenesis. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28: 341-348.

MALAVASI F. F. F., PREDIERI S. (1990): Cultivar dependent responses to regeneration from leaves in apple. *Acta Horticulturae*, 280: 61-68 p.

MANTE S., MORGENS P. H., SCORZA R., CORDTS J. M., CALLAHAN A. M. (1991): *Agrobacterium*-mediated transformation of plum (*Prunus domestica* L.) hypocotyls slices and regeneration of transgenic plants. *Biotechnology*, 9: 853-857 p.

MARGA F., VEBRET L., MORVAN H. (1997): Agar fractions could protect apple shoots cultured in liquid media against hypehydricity. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 49: 1-5 p.

MARIN J. A., JONES O. P., HADLOW W. C. C. (1993): Micropropagation of columnar apple trees. *Journal of Horticultural Science*, 68: 289-297 p.

MASUDA T., BESSHO H., KOMORI S., TSUCHIYA S. (1988): Studies on cell culture and plant regeneration in apple. II. Adventitious shoot formation from the roots of intact micropropagated plantlets. *Bulletin of the Fruit Research Station*, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. Series C (Morioka). No. 15: 13-19 p.

MASUDA T., BESSHO H., KOMORI S., TSUCHIYA S. (1994): Effect of thidiazuron and casamino acid on adventitious shoot formation from roots of apple (*Malus prunifolia* Borkh MO-84) plantlets cultured *in vitro*. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 63(1): 39-43 p.

MAUSETH J. D., HALPERIN W. (1975): Hormonal control of organogenesis in *Opuntia polyacantha* (*Cactaceae*). *American Journal of Botany*, 62: 869-877 p.

MAXIMOVA S. N., DANDEKAR A. M., GUILTINAN M. J. (1998): Investigation of *Agrobacterium*-mediated transformation of apple using green flourescent protein: high transient expression and low stable transformation suggest that factors other than T-DNA transfer are rate-limiting. *Plant Molecular Biology*, 37: 549-559 p.

MCADAM-O CONNELL D, MAC AN TSAOIR S., COPELAND R. (2004): Development of a leaf disk regeneration system for 'Bramley's' seedling apple (*Malus x domestica* Borkh.). In: LAURENS F., EVANS K. (szerk.): *Acta Horticulturae* 663, *XIth Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics*, ISHS, 483-486 p.

MCCOWN B. H., LLOYD G. (1981): Woody Plant Medium (WPM) – a mineral nutrient formulation for microculture for woody plant species. *Horticultural Science*, 16: 453 p.

MCGAW B. A., BURCH L. R. (1995): Cytokinin biosynthesis and metabolism. 98-117 p. In: DAVIES P.J. (szerk.): *Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 833 p.

MCMEANS O., SKIRVIN R. M., OTTERBACHER A., MITIKU G. (1998): Assessment of tissue culture-derived 'Gala' and 'Royal Gala' apples (*Malus x domestica* Borkh.) for somaclonal variation. *Euphytica*, 103: 251-257 p.

MÉSZÁROS A. (2006): Az *in vitro* szaporítás hatékonyságának fokozását célzó eljárások alkalmazása kertészeti növényeken. *PhD értekezés*, Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Doktori Iskola, 91 p.

MODGIL M., HANDA R., SHARMA D. R. (1999): Direct shoot regeneration from excised leaves of *in vitro* raised shoots of clonal apple rootstock, MM106. *Current Science*, 76(3) 278-279 p.

MODGIL M., HANDA R., SHARMA D. R., THAKUR M. (2005): High efficiency shoot regeneration from leaf explants of *in vitro* grown shoots of apple. *Acta Horticulturae*, 696: 123-128 p.

MOK D. W, MOK M. C. (2001): Cytokinin metabolism and action. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52: 89-118 p.

MONTECELLI S., GENTILE A., DAMIANO C. (2000): *In vitro* shoot regeneration of apple cultivar Gala. *Acta Horticulturae*, 530: 219-223 p.

MOORE G. A., JACONO C. C., NEIDIGH J. L., LAWRENCE S. D., CLINE K. (1992): *Agrobacterium*-mediated transformation of Citrus stem segments and regeneration of transgenic plants. *Plant Cell Reports*, 11: 238-242 p.

MURASHIGE, T. S., SKOOG, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, 15: 473-497 p.

NABEELA A. B., DARKAZANLI K., ABDUL-KADER A. M. (2009): Direct organogenesis and plantlet multiplication from leaf explants of *in vitro*-grown shoots of apple (*Malus domestica* Borkh.) cv. 'Golden Delicious' and MM 111 rootstock. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 3(1): 28-34 p.

NEVES L. O., TOMAZ L., FEVEREIRO M. P. S. (2001): Micropropagation of *Medicago truncatula* Gaertn. cv. Jemalong and *Medicago truncatula* ssp. Narbonensis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 67:81-84 p.

NIEDZ R. P., EVENS T. J. (2010): The effects of benzyladenine and meta-topolin on *in vitro* shoot regeneration of a citrus citrandrin rootstock. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(1): 45-53.

NOÉ N., BONINI L. (1996): Leaf anatomy of highbush blueberry grown *in vitro* and during acclimatization to *ex vitro* conditions. *Bilogia Plantarum*, 38(1): 19-25 p., DOI: 10.1007/BF02879626

NOIRAUD N., MAUROUSSET L., LEMOINE R. (2001): Transport of polyols in higher plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39, 717-728 p.

NORELLI J. L:, ALDWINCKLE H. S. (1993): The Role of Aminoglycoside Antibiotics in the Regeneration and Selection of Neomycin Phosphotransferase-transgenic Apple Tissue. *Journal of American. Society of Horticultural Science*, 118(2) 311-316 p.

NORELLI J. L:, ALDWINCKLE H. S., DESTÉFANO-BELTRÁN L., JAYNES J. M. (1994): Transgenic 'Malling 26' apple expressing the attacin E gene has increased resistance to *Erwinia amylovora*. 333-338 p. In: H. SCHMIDT AND M. KELLERHALS (szerk.): *Progress in Temperate Fruit Breeding*, 1994, Kluwer Academic Publishers. Printed in Netherlands, 472 p.

NORELLI J., MILLS J., ALDWINCKLE H. S. (1996): Leaf wounding increases efficiency of *Agrobacterium*-mediated transformation of apple. *HortScience*, 31 (6): 1026-1027 p.

ONGJANOV V. (1988): Regeneracija biljaka jabuke kulturom lista *in vitro*. Regeneration of apple plants by *in vitro* leaf culture. *Jugoslovensko Vocarstvo*, 22(4) 423-426 p.

ORLIKOWSKA T., ZAWADZKA M., KUCHARSKA D., LAHUTA L. B. (2009): The influence of the cooling of donor cultures on the *in vitro* adventitious regeneration and carbohydrate metabolism of four dwarfing apple rootstocks. *Acta Physiologiae Plantarum*, DOI 10.1007/s11738-009-0411-3.

OU C. Q, LI L. G, HE P., ZHANG Z. H. (2008): *In vitro* adventitious shoot regeneration and induction of tetraploid from leaves of Hanfu apple. *Journal of Fruit Science*, 25(3) 293-297 p.

ÖRDÖGH M., JÁMBOR-BENCZÚR E., TILLY-MÁNDY A., LELIK L. (2006): The effects of growth regulators in proliferation of *Sorbus redliana* 'Burokvölgy'. *International Journal of Horticultural Science*, 12(1): 77-83 p.

PAN Z. G., DENG X. X. (2000): Electro-fusion of protoplast and variation of regenerated cell line sin apple. *International Symposium on Biotechnology Application in Horticultural Crops*. Beijing, China, September 4-8, 35 p.

PAWLICKI-JULIAN N., SEDIRA M., WELANDER M. (2002): The use of *Agrobacterium rhizogenes* transformed roots to obtain transgenic shoots of the apple rootstock Jork 9. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 70: 163-171 p.

PAWLICKI N., WELANDER M. (1994): Adventitious shoot regeneration from leaf segments of *in vitro* cultured shoots of the apple rootstock Jork 9. *Journal of Horticultural Science*, 69(4): 687-696 p.

PEÑA L., SÉGUIN A. (2001): Recent advances in the genetic transformation of trees. *TRENDS in Biotechnology*, 19 (12) 500-506 p.

PEREIRA-NETTO A. B., PETKOWICZ C. L. O., CRUZ-SILVA C. T. A., GAZZONI M. T., MELLO A. F. P., SILVEIRA J. L. M. (2007): Differential performance of marubakaido apple rootsock shoots grown in culture media containing different agar brands: dynamic rheological analysis. *In vitro Cellular Dev. Biol.- Plant*, 43: 356-363 p., DOI: 10.1007/s11627-007-9063-4.

PETHŐ F. (2001): Bevezetés. p. 13-16. In: INÁNTSY F. (szerk.): *Almatermesztés integrált módszerekkel*. Kiadó: Almatermesztők Szövetsége, Nyíregyháza, 374 p.

PETHŐ M. (1993): Bioregulátorok. 268-329. In: PETHŐ M.: *Mezőgazdasági növények élettana*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 508 p.

POTTER D., ERIKSSON T., EVANS R. C., OH S., SMEDMARK J. E. E., MORGAN D. R., KERR M., ROBERTSON K. R., ARSENAULT M., DICKINSON T. A., CAMPBELL C. S. (2007): Phylogeny and classification of *Rosaceae*. *Plant Systematics and Evolution*, 266 (1-2) 5-43 p.

PREDIERI S., FASOLO F. F. M. (1989): High-frequency shoot regeneration from leaves of the apple rootstock M26 (*Malus pumila* Mill.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 17:133-142 p.

PROBOCSKAI E. (1984): Az alma alanyai. p. 49-64. In: PETHŐ F. (szerk.): *Alma.* Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 677 p.

QUOIRIN M., LEPOIVRE P. (1977): Improved media for *in vitro* culture of *Prunus* sp. *Acta Horticulturae,* 78: 437-442 p.

RAMAGE C. M., WILLIAMS R. R. (2002): Mineral nutrition and plant morphogenesis. *In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant,* 38:116-124 p., DOI: 10.1079/IVP2002269

ROBERTS L. W., GAHAN P. B., ALONI R. (1988): Vascular Differentation and Plant Growth Regulators. 361 p. In: GAHAN P. B, GEORGE E. F. (2008): Adventitious regeneration. 355-402 p. In: GEORGE E. F., HALL M. A., DE KLERK G. J. (szerk.): *Plant Propagation by Tissue Culture,* 3rd Edition, Vol. 1. The Background. Springer, The Netherlands, 501 p.

RODRIGUES A. L., BARROS M. T. F. (1998): Shoot regeneration from leaves of *in vitro* cultured shoots of apple cv. 'Fuji'. *Abstract Book of IX International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*, 1998. június 14-19., Jerusalem, 65 p.

ROSATI P., MEZZETI B., ANCHERANI M., FOSCOLO S., PREDIERI S., FASOLO F. (1990): *In vitro* selection of apple rootstock somaclones with *Phytophtora cactorum* culture filtrate. *Acta Horticulturae*, 280: 409-416 p.

RUGINI E., MUGANU M. (1998): A novel strategy for the induction and maintenance of shoot regeneration from callus derived from established shoots of apple (*Malus x Domestica* Borkh.) cv. Golden Delicious. *Plant Cell Reports*, 17: 581-585 p.

RUSTAEE M., NAZERI S., GHADIMZADEH M., MALBOOBI M. A. (2007): Optmizing *in vitro* regeneration from iranian native dwarf rootstock of apple (*Malus dometsica* Borkh). *International Journal of Agriculture & Biology*, 9(5): 776-778 p.

SAEBO A., KREKLING T., APPELGREN M. (1995): Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 41: 177-185 p.

SAITO A., SUZUKI M. (1999): Efficient shoot regeneration from calli of apple rootstock (*Malus prunifolia* var. ringo Asami Mo84-A) and cultivar (*Malus x domestica* cv. Fuji). *Journal of Plant Physiology*, 155(4/5) 620-624 p.

SARWAR M., SKIRVIN R. M.(1997): Effect of thidiazuron and 6-bnzylaminopurine on adventitious shoot regeneration from leaves of three strains of 'McIntosh' apple (*Malus x domestica* Borkh.) *in vitro*. *Scientia Horticulturae*, 68: 95-100 p.

SCHMIDT G., WALDEMAIER S. (1992): Histological studies on *in vitro* and *ex vitro* leaves during the adaptation phase of *Rhododendron* 'Pink Pearl'. *Acta Agronomica Hungarica*, 42: 11-21 p.

SEDIRA M., HOLEFORS A., WELANDER M. (2001): Protocol for tarnsformation of the apple rootstock Jork 9 with the rolB gene and its influence on rooting. *Plant Cell Reports*, 20:517-524 p.

SEONG E. S., SONG K. J., JEGAL C. Y. Y., CHUNG I. M. (2005): Silver nitrate and aminoethoxyvinylglycine affect *Agrobacterium-mediated* apple transformation. *Plant Growth Regulation*, 45: 75–82 p.

SEONG E. S., SONG K. J. (2008): Factors affecting the early gene transfer step in the development of transgenic 'Fuji' apple plants. *Plant Growth Regulation*, 54: 89-95 p.

SHACKEL K. A, NOVELLO V., SUTTER E. G. (1990): Stomatal function and cuticular conductance in whole tissue-cultured apple shoots. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 115 (3): 468-472 p.

SICURANI M., PICCIONI E., STANDARDI A. (2001): Micropropagation and preparation of synthetic seed in M.26 apple rootstock I: Attempts towards saving labor in the production of adventitious shoot tips suitable for encapsulation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 66: 207-216 p.

SIMON T. (1979): Rózsavirágúak-*Rosales*. 455-464 p. In: HORTOBÁGYI T. (szerk.): *Növényrendszertan*. Budapest: Tankönyvkiadó, 754 p.

SKOOG F., MILLER C. O. (1957): Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. Symp. Soc. Exp. Biol. 11, 118-131 p. In: VAN STADEN J., ZAZIMALOVA E., GEORGE E. F. (2008): Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonists. 205-226 p. In: GEORGE EF, HALL M. A., DE KLERK G. J. (szerk.) *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3rd edn. Springer, Dordrecht, Netherlands, 501 p.

SOLTÉSZ M. (1997): Alma. 426-504 p. In: SOLTÉSZ M. (szerk.) *Integrált gyümölcstermesztés*, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 843 p.

SRISKANDARAJAH S., MULLINS M. G. (1981): Micropropagation of Granny Smith apple: factors affecting root formation *in vitro*. *Journal of Horticultural Science*, 56: 71-76 p.

SRISKANDARAJAH S., SKIRVIN R. M., ABU-QUAD H., KORBAN S. S. (1990a): Factors involved in shoot elongation and growth of adventitious and axillary shoots of three apple scion cultivars *in vitro*. *Journal of Horticultural Science* 65 (2): 113-121 p.

SRISKANDARAJAH S., SKIRVIN R.M., ABU-QAUD H. (1990b): The effect of some macronutrients on adventitious root development on scion apple cultivars *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 21: 185-189 p.

SRISKANDARAJAH S., GOODWIN P. B., SPEIRS J. (1994): Genetic transformation of the apple scion cultivar 'Delicious' via *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 36: 317-329 p.

SRISKANDARAJAH S., GOODWIN P. B. (1998): Conditioning promotes regeneration and transformation in apple leaf explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 53: 1-11 p.

STABA E. J. (1969): Plant tissue culture as a technique for the phytochemist. 75-102 p. In: SEIKEL M.K., RUNECKLES V.C. (szerk.) *Recent Advances in Phytochemistry*, Appleton-Century Crofts, New York, 2, 175 p.

STANDARDI A., HOUSHMAND D. (1992): Effects of culture age and time of explant excision on *in vitro* shoot regeneration in an apple cultivar and apple rootstocks. *Agric Mediterr*, 122(1): 85-89 p.

STRNAD M., HANUŠ J., VANĚK T., KAMINEK M., BALLANTINE J. A., FUSSEL B., HANKE D. E. (1997): Meta-topolin, a highly active aromatic cytokinin from poplar leaves (*Populus x Canadensis* Moench., cv. Robusta). *Phytochemistry*, 45(2) 213-218 p.

SUGIYAMA M. (1999): Organogenesis *in vitro*. *Current Opinion Plant Biology*, 2: 61-64 p.

SUN C. Y., WANG Y., XU X. F., SUN Y., ZHU L. H., HAN Z. H. (2008): Regeneration from leaf segments of *in vitro* grown shoots of *Malus baccata*. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 36(4) 233-238 p.

SUTTER E. G. (1988): Stomatal and cuticular water loss from apple, cherry, and sweetgum plants after removal from *in vitro* culture. *J. Am. Soc. Hortic. Sci*, 113 (2): 234-238 p.

SUTTER E. G., SHACKEL K., DIAZ J. C. (1992): Acclimatization of tissue cultured plants. *Acta Horticulturae*, 314: 115-118 p.

SWARTZ H. J, BORS R., MOHAMED F., NAESS S. K. (1990): The effect of *in vitro* pretreatments on subsequent shoot organogenesis from excised *Rubus* and *Malus* leaves. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 21: 179-184 p.

SZABÓ T. (2001): Fontosabb almafajták. p. 35-77. In: INÁNTSY F.(ed.) *Almatermesztés integrált módszerekkel*. Almatermesztők Szövetsége, Újfehértó, 364 p.

SZABÓ T. (2005): Főbb almafajták növekedési jellemzői. 94-103 . In: PETHŐ F., TAKÁCS F. (szerk.): *Metszés. Almafák metszése a gyakorlatban*, Újfehértó, 2005, 149 p.

SZANKOWSKI I., BRIVIBA K., FLESCHHUT J., SCHÖNHERR J., JACOBSEN H. J., KIESECKER H. (2003): Transformation of apple (*Malus domestica* Borkh.) with the stilbene synthase gene from grapevine (*Vitis vinifera* L.) and a PGIP gene from kiwi (*Actinidia deliciosa*). *Plant Cell Reports*, 22:141-149 p.

TANTOS Á., MÉSZÁROS A., KISSIMON J., HORVÁTH G., FARKAS T. (1999): The effect of triacontanol on micropropagation of balm, *Melissa officinalis* L. *Plant Cell Reports*, 19:88-91 p.

TANTOS Á., MÉSZÁROS A., FARKAS T., SZALAI J., HORVÁTH G. (2001): Triacontanol-supported micropropagation of woody plants. *Plant Cell Reports*, 20:16-21 p.

TERPÓ A. (1987): Növényrendszertan az ökonómbotanika alapjaival (II.) 567-572. p. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 886 p.

THEILER-HEDTRICH C., THEILER-HEDTRICH R. (1990): Influence of TDZ and BA on adventitious shoot regeneration from apple leaves. *Acta Horticulturae*, 280: 195-199 p.

TOLDI O., TÓTH S., PÓNYI T., SCOTT P. (2002): An effective and reproducible transformation protocol for the model resurrection plant *Craterostigma plantagineum* Hochst. *Plant Cell Reports*, 21:63-69 p., DOI: 10.1007/s00299-002-0479-3.

TOLDI O., AHANEN K., KOVÁCS G., SORVARI S., TÓTH S., DULAI S., SCOTT P. (2005): Integrated application of physiological and molecular methods to forecast determinative morphogenetic events in tissue cultured tobacco (*Nicotiana tabacum* L., cv Samsun) leaf disc. *Plant Growth Regulation*, 47:59-64 p., DOI: 10.1007/s10725-005-1714-z.

TRIFONOVA A., ABUMHADI N. M., ATANASSOV A. (1998): *In vitro* plant regeneration from leaf sections in apple cultivars granny Smith and rootstock M 26. *Abstract Book of IX International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*, 1998. június 14-19., Jerusalem, 116 p.

UEMATSU C., MURASE M., ICHIKAWA H., IMAMURA J. (1991): *Agrobacterium*-mediated transformation and regeneration of kiwifriut. *Plant Cell Reports*, 10: 286-290 p.

VAN NIEUWKERK J. P., ZIMMERMAN R. H., FORDHAM I. (1986): Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. *HortScience*, 21(3): 516-518 p.

VAN STADEN J., CROUCH N. R. (1996): Benzyladenine and derivatives – their significance in plants. *Plant Growth Regulation*, 19: 153-175 p.

VAN STADEN J., ZAZIMALOVA E., GEORGE E. F. (2008): Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonists. 205-226 p In: GEORGE E.F., HALL M.A., DE KLERK G.J. (szerk.) *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3rd edn. Springer-Dordrecht, Netherlands, 501 p.

VIRSCEK-MARN M., BOHANEC B., JAVORNIK B. (1999): Adventitious shoot regeneration from apple leaves: Optimisation of the protocol and assessment of genetic variation among regenerants. *Phyton* (Horn) 39(1) 61-70 p.

WANG Q. S., SUN Q. R., SHI Y. P. (2000): Cytohistology of origin of adventitious bud from leaves of apple and from cotiledons of pear. *International Symposium on Biotechnology Application in Horticultural Crops*, Beijing, China, September 4-8, 50 p.

WEBSTER C. A., JONES O. P. (1991): Micropropagation of some cold-hardy dwarfing rootstocks for apple. *Journal of Horticultural Science*, 66: 1-6 p.

WELANDER M. (1985): *In vitro* shoot and root formation in the apple cultivar Akerö. *Annals of Botany*, 55: 249-261 p.

WELANDER M. (1988): Plant regeneration from leaf and stem segments of shoots raised *in vitro* from mature apple trees. *Journal of Plant Physiology*, 132: 738-744 p.

WELANDER M., MAHESWARAN G. (1992): Shoot regeneration from leaf explants of dwarfing apple rootstocks. *Journal of Plant Physiology*, 140: 223-22 p.

WELANDER M., ZHU L. H. (2000): Introduction of the RolB gene into apple rootstock M 26 and its influence on rooting and growth. *International Symposium on Biotechnology Application in Horticultural Crops*. Beijing, China, September 4-8, 29 p.

WERBROUCK S. P. O., VAN DER JEUGT B., DEWITTE W., PRINSEN E., VAN ONCKELEN H. A., DEBERGH P. C. (1995): The metabolism of benzyladenine in *S. floribundum* Schott 'Petite'in relation to acclimatisation problems. *Plant Cell Reports*, 14, 662-665 p.

WERBROUCK P. O., STRNAD M., VAN ONCKELEN H. A., DEBERGH P. C. (1996): Meta-topolin, an alternative to benzyladenine in tissue culture? *Physiologia Plantarum*, 98: 291-297 p.

WERNER E. M., BOE A. A. (1980): *In vitro* propagation of Malling 7 apple rootstock. *HortScience*, 15: 509-510 p.

WETZSTEIN H. Y., SOMMER H. E. (1982): Leaf anatomy of tissue-cultured *Liquidambar styraciflua* (Hamamelidacea) during acclimatization. *American Journal of Botany*, 69(10) 1579-1586 p.

WILSON F. M., JAMES D. J. (2003): Regeneration and transformation of the premier UK apple (*Malus pumila* Mill.) cultivar Queen Cox. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 78(5): 656-662 p.

YANCHEVA S. D., GOLUBOWICZ S., FISHER E., LEV-YADUN S., FLAISHMAN M. A. (2003): Auxin type and timing of application determine the activation of the developmental program during *in vitro* organogenesis in apple. *Plant Science*, 165 (2): 299-309 p.

YAO J. L., COHEN D., ATKINSON R., RICHARDSON K., MORRIS B. (1995): Regeneration of tansgenic plants from the commercial apple cultivar Royal Gala. *Plant Cell Reports*, 14: 407-412 p.

YAO J. L., COHEN D., ROSS G., LAY-YEE M., MORRIS B. (1998): Towards manipulating apple fruit development through genetic engineering. *Abstract Book of IX International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*, 1998. június 14-19., Jerusalem, 186 p.

YEPES L. M., ALDWINCKLE H. S. (1994): Factors that affect leaf regeneration efficiency in apple, and effect of antibiotics in morphogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 37: 257-269 p.

YOKOTA S., KARIM M. Z., AZAD M. A .K., RAHMAN M. M., EIZAWA J., SAITO Y., ISHIGURI F., IIZUKA K., YAHARA S., YOSHIZAWA N. (2007): Histological observation of changes in leaf structure during succesive micropropagation stages in *Aralia elata* and *Phellodendron amurense*. *Plant Biotechnology*, 24: 221-226 p.

ZACCHINI M., MORINI S., VITAGLIANO C. (1997): Effect of photoperiod on some stomatal characteristics of *in vitro* cultured fruit tree shoots. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 49: 195-200 p.

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 p.

ZHU J., ZHOU A., LI. G. C., WANG. T., ZHAO Y. J. (2000): AFLP analyis on relationships in apple varieties. *International Symposium on Biotechnology Application in Horticultural Crops*. Beijing, China, September 4-8, 60 p.

ZHU L. H., WELANDER M. (2000): Regeneration and transformation of the apple rootstock A2 with the *rolA* gene. *International Symposium on Biotechnology Application in Horticultural Crops*. Beijing, China, September 4-8, 203-209 p.

ZHU L. H., HOLEFORS A., AHLMAN A., XUE Z. T., WELANDER M. (2001): Transformation of the apple rootstock M.9/29 with the *rolB* gene and its influence on rooting and growth. *Plant Science*, 160(3): 433-439 p.

ZHU L. H., LI X. Y., WELANDER M. (2005): Optimisation of growing conditions for the apple rootstock M26 grown in RITA containers using temporary immersion principle. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 81: 313-318 p. DOI: 10.1007/s11240-004-6659-9.

ZIV M., CHEN J. (2008): The Anatomy and Morphology of Tissue Cultured Plants. 465-477 p. In: GEORGE E. F., HALL M. A., DE KLERK G. J. (szerk.) *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3rd edn. Springer-Dordrecht, Netherlands, 501 p.

ZOBAYED S. M. A., ARMSTRONG J., ARMSTRONG W. (2001): Leaf anatomy of *in vitro* tobacco and cauliflower plantlets as affected by different types of ventilation. *Plant Science*, 8161), 537-548 p.

M2. AZ IRODALOMBAN KÖZÖLT EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÓ TÁBLÁZATAI

M2/1. táblázat: Almafajták válasza a különböző citokinin előkezelésekre

Fajta	**Tesztelt citokininek**	**Egyéb tényezők**	**Legjobb előkezelés**	**Hajtás db/ explantátum és/vagy regenerációs %**	**Hivatkozás**
Gala	Citokinin-mentes, 0.05 vagy 0.5 µM TDZ, 5.0 µM BA, 5.0 vagy 50.0 µM ZEA	Az előkezelés időtartama 3 hét	0.05 µM TDZ 5.0 µM BA	7.6; (75%) 6.0; (75%)	Swartz *et al.* 1990
M26[1]	Citokinin-mentes, 2.22 vagy 4.44 µM BA	Level izolálás időpontja: 15. vagy 30. nap	Citokinin-mentes, 30. nap	60%<	Famiani *et al.* 1994
M26[1]	Citokinin-mentes 0.89 µM BA	Level izolálás időpontja a 30. napon	Citokinin-mentes	8.5<; (60%)	Ferradini *et al.* 1996
Pink Lady	Nem közölt	folyékony MS, Staba vitaminok[2], 2.5 µM NAA, 4 napig	15.0 µM TDZ	17.2	Sriskandarajah és Goodwin 1998
Royal Gala	Citokinin-mentes 0.5 mg l^{-1} BA, 0.5; 1.0; 1.5 vagy 2.0 mg l^{-1} TOP	Az előkezelés időtartama 3 hét	0.5 mg l^{-1} TOP	15.1 (97%<)	Dobránszki *et al.* 2002

[1]a citokinineket az utolsó proliferációs táptalajban tesztelték
[2] Staba (1969)

M2/2. táblázat. Különböző almafajták citokinin válaszai összefoglalva

Alma fajták	Explantátum típusa	A legjobb citokinin kezelés	Hajtás darab/explantátum és/vagy regenerációs %	Hivatkozás
Tuscan	Levél lemez	2.0 mg l^{-1} BA	3.69 ± 0.68	James *et al.* 1988
M9		2.0 mg l^{-1} BA	1.0	
M25		2.0 mg l^{-1} BA	1.7 ± 0.32	
Malling Greensleaves	Levél lemez	2 mg l^{-1} BA	1.8 (54 %)	Ognjanov 1988
Åkerö	Levél szegment	22.0 µM BA	6.4 ± 2.9	Welander 1988
McIntosh		22.0 µM BA	8.2 ± 4.6	
McIntosh Wijcik		22.0 µM BA	11.4 ± 5.1	
Gravenstein		22.0 µM BA	7.3 ± 3.1	
M26		22.0 µM BA	16.3 ± 7.2	
McIntosh	Levél	10 µM TDZ	9.3	Fasolo *et al.* 1989
Triple Red Delicious		10 µM TDZ	6.1	
Paladino Spur McIntosh		10 µM TDZ	6.3	
M26	Levél	4.4 µM BA	> 14.0	Predieri és Fasolo 1989
Gala	Levél	22.2 µM BA	14.2	Dufour 1990
	Levél kallusz	22.2 µM BA	9.8	
Gala	Levél	3 µM TDZ	90.6%	Sriskandarajah *et al.* 1990a
Royal Gala		3 µM TDZ	92.8%	
Jonagold		3 µM TDZ	73.3%	
M9	Levél	0.2 mg l^{-1} TDZ	7.0 ± 4.2	Theiler-Hedtrich és Theiler-Hedtrich 1990
M26		0.2 mg l^{-1} TDZ	6.1	
M27		5.0 mg l^{-1} BA	4.0 ± 3.0	
Golden Delicious		5.0 mg l^{-1} BA	3.0 ± 1.6 (33%)	
Golden Delicious		0.2 mg l^{-1} TDZ	2.6 ± 2.5 (73 %)	
Priscilla		5 mg l^{-1} BA	1.7 ± 1.0	
Florina		0.2 mg l^{-1} TDZ	17.7 ± 4.9	
Golden Delicious [1]	internodális szegment	4.4 µM BA	2.5 ± 1.2 (22.9 %)	Belaizi *et al.* 1991
McIntosh	Levél	4.0 µM TDZ	3.5 (67 %)	Korban *et al.* 1992
Royal Gala		5.0-20 µM TDZ	100 %	
Gala		15.0 µM TDZ	50 %	
Dayton		15.0 µM TDZ	55.5 %	
Golden Delicious		4.0 µM TDZ	28 %	
M7		20.0 µM TDZ	19.8 %	
Macspur		15.0 µM TDZ	24 %	
M26	Levél	22.2 µM BA	6.5	Famiani *et al.* 1994
Gloster	Érett embrió	8.0 mg l^{-1} 2iP	6.6	Keulemans és de Witte 1994
Jork 9	Levél szegment	22.0 µM BA	1.95 ± 0.493	Pawlicki and Welander 1994

M2/2. táblázat. Különböző almafajták citokinin válaszai összefoglalva (folytatás)

Empire	Levél szegment	31.1 µM BA	6.5 ± 0.6	Yepes és Aldwinckle 1994
Golden Delicious		31.1 µM BA	7.3 ± 1.0	
Liberty		22.2 µM BA	5.9 ± 0.9	
McIntosh		22.2 µM BA	7.6 ± 1.2	
M26		22.2 µM BA	15.6 ± 2.5	
Jork 9	Levél szegment	17.8 µM BA	3.4	Caboni *et al.* 1996
M26	Levél	22.2 µM BA	8.6	Ferradini *et al.* 1996
Nezalezhnist	Levél	5 mg l^{-1} BA	67 %	Bartish és Korkhovoi 1997
Idared		5 mg l^{-1} BA	72 %	
Florina		5-10 mg l^{-1} BA	80 %	
McIntosh [2]	Levél szegment	3 µM TDZ	5.9	Sarwar and Skirvin 1997
Macspur [2]		2 µM TDZ	6.0	
Wijcik [2]		3 µM TDZ	10.0	
Royal Gala	Szár internodális szegment, etiolált hajtásokról	1.0 µM TDZ	68.8	Liu *et al.* 1998
Jork 9	Levél szegment	17.8 µM BA	4.5 ± 0.2	Caboni és Tonelli 1999
McIntosh		22.0 µM BA	76 %	
Gala		22 µM BA 1.0 µM TDZ	54 % 58 %	
Jork 9 [3]	Hajtáscsúcs	17.8 µM BA	50.0 ± 2.3	Caboni *et al.* 2000
M26 [3]		17.8 µM BA	48.3 ± 3.2	
Gala [3]		17.8 µM BA	46.1 ± 4.2	
McIntosh [3]		17.8 µM BA	44.2 ± 4.6	
Granny Smith	Levél szegment	7.5 µM TDZ	87 %	Gercheva *et al.* 2000
Morspur		7.5 µM TDZ	53 %	
Golden Starkrimson		7.5 µM TDZ	100 %	
Gala	Csúcsi levelek	22.2 µM BA	4.1 ± 0.2 (95.3 %)	Montecelli *et al.* 2000
Jork 9 [4]	hajtáscsúcs	17.8 µM BA	28 (100 %)	D'Angeli *et al.* 2001
Royal Gala	Levél szegment	0.2 mg l^{-1} TDZ	15.1 (100 %)	Dobránszki *et al.* 2002
Fuji 2001	levél	1.0-2.0 mg l^{-1} TDZ	100%	Qin *et al.* 2002
Bramley	Levél lemez	5.0 mg l^{-1} BA	1.0	McAdam-OConnell *et al.* 2004
MM 106	Levél	8.8 µM BA	10.8	Modgil *et al.* 2005
Hanfu	Levél	1.0 mg l^{-1} TDZ	19.47	Ou *et al.* 2008

[1] : Háromszor ismételt tenyésztési és regenerálási ciklus után
[2] : Különböző szegmenseken a teljes mennyiség
[3] : 10 hónapon keresztül az összes leszedett hajtás
[4] : Auxin-mentes táptalajra történő átrakás után

M3. A STATISZTIKAI ÉRTÉKELÉSEK EREDMÉNYTÁBLÁZATAI

M3/1. Előkezelések hatása a regenerált hajtások számára, ’M26’ alany esetén

M3/1/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	465,831	24	19,410	6,550	,000
Within Groups	3751,759	1266	2,963		
Total	4217,589	1290			

M3/1/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05	
BAR	N	1	2
24	27	1,89	
22	29	2,72	2,72
23	46	3,39	3,39
21	48		3,83

		Subset for alpha = .05	
BA	N	1	2
33	32	1,56	
34	38	1,66	
32	36	1,83	1,83
31	49		2,35

		Subset for alpha = .05	
KIN	N	1	2
54	46	2,15	
52	54		2,98
51	54		3,30
53	58		3,36

		Subset for alpha = .05	
BA+KIN	N	1	2
64	35	1,40	
63	50		2,42
62	54		2,54
61	52		2,92

M3/1/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	11	,797(*)	,258	,002	,29	1,30
		12	,592(*)	,254	,020	,09	1,09
		13	,720(*)	,261	,006	,21	1,23
		14	,721(*)	,268	,007	,20	1,25
		21	-,465	,274	,090	-1,00	,07
		22	,644	,340	,058	-,02	1,31
		23	-,023	,279	,934	-,57	,52
		24	1,479(*)	,351	,000	,79	2,17
		31	1,021(*)	,272	,000	,49	1,55
		32	1,535(*)	,309	,000	,93	2,14
		33	1,806(*)	,326	,000	1,17	2,44
		34	1,710(*)	,302	,000	1,12	2,30
		41	1,577(*)	,370	,000	,85	2,30
		42	,629(*)	,279	,024	,08	1,18
		43	,828(*)	,306	,007	,23	1,43
		44	,774(*)	,306	,012	,17	1,37
		51	,072	,261	,783	-,44	,58
		52	,387	,261	,139	-,13	,90
		53	,006	,254	,981	-,49	,50
		54	1,216(*)	,279	,000	,67	1,76
		61	,445	,265	,094	-,08	,97
		62	,831(*)	,261	,002	,32	1,34
		63	,948(*)	,270	,000	,42	1,48
		64	1,968(*)	,313	,000	1,35	2,58

M3/2. Előkezelések hatása a regenerált hajtások számára, ’Freedom’ fajta esetén

M3/2/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	79,919	24	3,330	4,517	,000
Within Groups	583,824	792	,737		
Total	663,743	816			

M3/2/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05	
BAR	N	1	2
22	15	1,27	
24	29	1,38	1,38
21	38	1,66	1,66
23	35		1,89

		Subset for alpha = .05	
BA+TOP	N	1	2
44	7	1,29	
42	30	1,67	1,67
41	47	1,96	1,96
43	51		2,45

		Subset for alpha = .05	
KIN	N	1	2
54	35	1,49	
53	39	1,67	1,67
52	27	1,74	1,74
51	39		2,10

M3/2/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	11	,395(*)	,149	,008	,10	,69
		12	,552(*)	,160	,001	,24	,87
		13	,287	,169	,090	-,04	,62
		14	,465(*)	,184	,012	,10	,83
		21	,192	,158	,225	-,12	,50
		22	,583(*)	,234	,013	,12	1,04
		23	-,036	,163	,825	-,36	,28
		24	,470(*)	,176	,008	,12	,82
		31	,744(*)	,211	,000	,33	1,16
		32	,429(*)	,211	,042	,02	,84
		33	,350	,259	,177	-,16	,86
		34	,388	,249	,120	-,10	,88
		41	-,108	,146	,459	-,39	,18
		42	,183	,174	,292	-,16	,52
		43	-,601(*)	,141	,000	-,88	-,32
		44	,564	,333	,091	-,09	1,22
		51	-,252	,156	,106	-,56	,05
		52	,109	,181	,548	-,25	,46
		53	,183	,156	,242	-,12	,49
		54	,364(*)	,163	,026	,04	,68
		61	,239	,216	,269	-,18	,66
		62	,398(*)	,171	,020	,06	,73
		63	,534(*)	,211	,011	,12	,95
		64	,531(*)	,198	,007	,14	,92

M3/3. Előkezelések hatása a regenerált hajtások számára, ’Royal Gala’ fajta esetén

M3/3/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2696,102	24	112,338	13,509	,000
Within Groups	12373,572	1488	8,316		
Total	15069,675	1512			

M3/3/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

BAR	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
23	59	3,24		
22	57		4,28	
24	57		4,40	
21	60			6,27

BA+TOP	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
43	51	4,33	
42	58	4,79	
41	53	5,70	5,70
44	57		6,88

KIN	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
51	60	6,27	
54	60	6,33	
52	56	7,07	
53	60		8,60

BA+KIN	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
64	53	3,55	
63	58	3,81	
62	59	4,19	4,19
61	60		4,82

M3/3/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	11	-3,475(*)	,568	,000	-4,59	-2,36
		12	-,995	,516	,054	-2,01	,02
		13	-2,051(*)	,516	,000	-3,06	-1,04
		14	-1,064(*)	,522	,042	-2,09	-,04
		21	-,845(*)	,417	,043	-1,66	-,03
		22	1,141(*)	,426	,007	,31	1,98
		23	2,184(*)	,420	,000	1,36	3,01
		24	1,018(*)	,426	,017	,18	1,85
		31	1,186(*)	,445	,008	,31	2,06
		32	1,046(*)	,429	,015	,21	1,89
		33	,455	,417	,276	-,36	1,27
		34	,386	,426	,365	-,45	1,22
		41	-,277	,439	,528	-1,14	,58
		42	,628	,423	,138	-,20	1,46
		43	1,088(*)	,445	,015	,21	1,96
		44	-1,456(*)	,426	,001	-2,29	-,62
		51	-,845(*)	,417	,043	-1,66	-,03
		52	-1,650(*)	,429	,000	-2,49	-,81
		53	-3,179(*)	,417	,000	-4,00	-2,36
		54	-,912(*)	,417	,029	-1,73	-,09
		61	,605	,417	,147	-,21	1,42
		62	1,235(*)	,420	,003	,41	2,06
		63	1,611(*)	,423	,000	,78	2,44
		64	1,874(*)	,439	,000	1,01	2,73

M3/4. Előkezelések hatása a regenerált hajtások számára, 'Húsvéti rozmaring' fajta esetén

M3/4/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	202,073	24	8,420	5,958	,000
Within Groups	1616,699	1144	1,413		
Total	1818,772	1168			

M3/4/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

TOP	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
13	39	1,72		
14	41	2,12	2,12	
12	55		2,56	2,56
11	55			2,95

BAR	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
21	44	1,75	
22	40	1,93	1,93
24	39		2,33
23	50		2,50

BA	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
34	40	1,95	
31	44	2,14	2,14
32	40	2,20	2,20
33	21		2,86

BA+TOP	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
44	34	1,41	
43	46		2,15
41	40		2,35
42	38		2,58

KIN	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
54	49	2,08		
51	47	2,51	2,51	
52	50		2,80	2,80
53	57			3,26

BA+KIN	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
63	23	1,48	
64	36	1,94	1,94
61	54	1,98	1,98
62	44		2,41

M3/4/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable	(I) tre	(J) tre	Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
reghajtdb	0	11	-,617(*)	,189	,001	-,99	-,25
		12	-,235	,189	,213	-,61	,14
		13	,611(*)	,215	,005	,19	1,03
		14	,207	,211	,327	-,21	,62
		21	,579(*)	,205	,005	,18	,98
		22	,404	,213	,058	-,01	,82
		23	-,171	,195	,381	-,55	,21
		24	-,005	,215	,983	-,43	,42
		31	,192	,205	,348	-,21	,59
		32	,129	,213	,545	-,29	,55
		33	-,528	,278	,057	-1,07	,02
		34	,379	,213	,075	-,04	,80
		41	-,021	,213	,920	-,44	,40
		42	-,250	,217	,249	-,68	,18
		43	,176	,202	,381	-,22	,57
		44	,917(*)	,227	,000	,47	1,36
		51	-,182	,200	,363	-,57	,21
		52	-,471(*)	,195	,016	-,85	-,09
		53	-,934(*)	,186	,000	-1,30	-,57
		54	,247	,197	,210	-,14	,63
		61	,347	,190	,068	-,03	,72
		62	-,080	,205	,695	-,48	,32
		63	,850(*)	,267	,001	,33	1,37
		64	,384	,222	,083	-,05	,82

M3/5. Előkezelések hatása a regenerációs rátára (%) ’M26’ alany esetén

M3/5/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55486,564	24	2311,940	5,922	,000
Within Groups	97211,961	249	390,409		
Total	152698,52	273			

M3/5/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05	
KIN	N	1	2
54	10	76,40	
52	10	89,80	89,80
51	10		91,50
53	10		94,90

		Subset for alpha = .05	
BA+KIN	N	1	2
64	10	58,00	
63	10		84,80
61	10		88,10
62	10		89,80

M3/5/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable	(I) tre	(J) tre	Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
regen%	0	11	-1,275	6,986	,855	-15,03	12,48
		12	-4,675	6,986	,504	-18,43	9,08
		13	2,125	6,986	,761	-11,63	15,88
		14	7,125	6,986	,309	-6,63	20,88
		21	17,025(*)	6,986	,016	3,27	30,78
		22	31,147(*)	7,290	,000	16,79	45,50
		23	13,825(*)	6,986	,049	,07	27,58
		24	36,050(*)	7,653	,000	20,98	51,12
		31	10,525	6,986	,133	-3,23	24,28
		32	32,225(*)	6,986	,000	18,47	45,98
		33	35,525(*)	6,986	,000	21,77	49,28
		34	28,825(*)	6,986	,000	15,07	42,58
		41	42,175(*)	7,653	,000	27,10	57,25
		42	18,825(*)	6,986	,008	5,07	32,58
		43	23,703(*)	7,290	,001	9,35	38,06
		44	30,425(*)	6,986	,000	16,67	44,18
		51	,425	6,986	,952	-13,33	14,18
		52	2,125	6,986	,761	-11,63	15,88
		53	-2,975	6,986	,671	-16,73	10,78
		54	15,525(*)	6,986	,027	1,77	29,28
		61	3,825	6,986	,584	-9,93	17,58
		62	2,125	6,986	,761	-11,63	15,88
		63	7,125	6,986	,309	-6,63	20,88
		64	33,925(*)	6,986	,000	20,17	47,68

M3/6. Előkezelések hatása a regenerációs rátára (%) ’Freedom’ fajta esetén

M3/6/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	91112,381	24	3796,349	5,024	,000
Within Groups	189673,572	251	755,672		
Total	280785,953	275			

M3/6/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

TOP	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
14	10	43,00	
13	10	53,00	53,00
12	10	61,40	61,40
11	10		73,20

BAR	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
22	10	24,70	
24	10	48,10	48,10
23	10		57,90
21	10		62,90

BA+TOP	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
44	10	11,50		
42	10		49,80	
41	10			78,00
43	10			84,70

M3/6/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable	(I) tre	(J) tre	Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
reg%	0	11	-15,672	9,826	,112	-35,02	3,68
		12	-3,872	9,826	,694	-23,22	15,48
		13	4,528	9,826	,645	-14,82	23,88
		14	14,528	9,826	,141	-4,82	33,88
		21	-5,372	9,826	,585	-24,72	13,98
		22	32,828(*)	9,826	,001	13,48	52,18
		23	-,372	9,826	,970	-19,72	18,98
		24	9,428	9,826	,338	-9,92	28,78
		31	26,328(*)	9,826	,008	6,98	45,68
		32	26,028(*)	9,826	,009	6,68	45,38
		33	37,728(*)	9,826	,000	18,38	57,08
		34	36,128(*)	9,826	,000	16,78	55,48
		41	-20,472(*)	9,826	,038	-39,82	-1,12
		42	7,728	9,826	,432	-11,62	27,08
		43	-27,172(*)	9,826	,006	-46,52	-7,82
		44	46,028(*)	9,826	,000	26,68	65,38
		51	-7,172	9,826	,466	-26,52	12,18
		52	12,728	9,826	,196	-6,62	32,08
		53	-7,272	9,826	,460	-26,62	12,08
		54	-,372	9,826	,970	-19,72	18,98
		61	27,828(*)	9,826	,005	8,48	47,18
		62	6,128	9,826	,533	-13,22	25,48
		63	26,128(*)	9,826	,008	6,78	45,48
		64	21,128(*)	9,826	,033	1,78	40,48

M3/7. Előkezelések hatása a regenerációs rátára (%) ’Royal Gala’ fajta esetén

M3/7/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3852,923	24	160,538	1,242	0,207
Within Groups	30774,833	238	129,306		
Total	34627,757	262			

M3/7/2: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable	(I) tre	(J) tre	Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
regsz	0	11	-4,650	5,394	,390	-15,28	5,98
		12	-4,650	4,978	,351	-14,46	5,16
		13	-4,650	4,978	,351	-14,46	5,16
		14	-1,817	4,978	,715	-11,62	7,99
		21	-4,650	4,020	,249	-12,57	3,27
		22	,450	4,020	,911	-7,47	8,37
		23	-2,950	4,020	,464	-10,87	4,97
		24	-1,250	4,020	,756	-9,17	6,67
		31	10,350(*)	4,020	,011	2,43	18,27
		32	,350	4,020	,931	-7,57	8,27
		33	-4,650	4,020	,249	-12,57	3,27
		34	-1,250	4,020	,756	-9,17	6,67
		41	7,050	4,020	,081	-,87	14,97
		42	-1,250	4,020	,756	-9,17	6,67
		43	5,350	4,020	,185	-2,57	13,27
		44	,350	4,020	,931	-7,57	8,27
		51	-4,650	4,020	,249	-12,57	3,27
		52	2,150	4,020	,593	-5,77	10,97
		53	-4,650	4,020	,249	-12,57	3,27
		54	-4,650	4,020	,249	-12,57	3,27
		61	-4,650	4,020	,249	-12,57	3,27
		62	-2,950	4,020	,464	-10,87	4,97
		63	-1,250	4,020	,756	-9,17	6,67
		64	3,850	4,020	,339	-4,07	11,77

M3/8. Előkezelések hatása a regenerációs rátára (%) 'Húsvéti rozmaring' fajta esetén

M3/8/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54257,139	24	2260,714	3,977	,000
Within Groups	142697,672	251	568,517		
Total	196954,812	271			

M3/8/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

OP	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
13	10	64,70	
14	10	68,00	
11	10		91,50
12	10		91,50

BA	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
33	10	34,70	
32	10	66,30	66,30
34	10	66,50	66,50
31	10		73,10

BA+KIN	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
63	10	38,00		
64	10	59,80	59,80	
62	10		69,60	69,60
61	10			91,60

M3/8/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable	(I) tre	(J) tre	Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
reg%	0	11	-26,028(*)	8,523	,003	-42,81	-9,24
		12	-26,028(*)	8,523	,003	-42,81	-9,24
		13	,772	8,523	,928	-16,01	17,56
		14	-2,528	8,523	,767	-19,31	14,26
		21	-7,728	8,523	,365	-24,51	9,06
		22	-,928	8,523	,913	-17,71	15,86
		23	-17,528(*)	8,523	,041	-34,31	-,74
		24	,672	8,523	,937	-16,11	17,46
		31	-7,628	8,523	,372	-24,41	9,16
		32	-,828	8,523	,923	-17,61	15,96
		33	30,772(*)	8,523	,000	13,99	47,56
		34	-1,028	8,523	,904	-17,81	15,76
		41	-1,028	8,523	,904	-17,81	15,76
		42	2,472	8,523	,772	-14,31	19,26
		43	-12,528	8,523	,143	-29,31	4,26
		44	9,072	8,523	,288	-7,71	25,86
		51	-12,628	8,523	,140	-29,41	4,16
		52	-17,628(*)	8,523	,040	-34,41	-,84
		53	-29,428(*)	8,523	,001	-46,21	-12,64
		54	-16,128	8,523	,060	-32,91	0,66
		61	-26,128(*)	8,523	,002	-42,91	-9,34
		62	-4,128	8,523	,629	-20,91	12,66
		63	27,472(*)	8,523	,001	10,69	44,26
		64	5,672	8,523	,506	-11,11	22,46

M3/9. Előkezelések hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára (%) ’M26’ alany esetén

M3/9/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55486,564	24	2311,940	5,922	,000
Within Groups	97211,961	249	390,409		
Total	152698,526	273			

M3/9/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

KIN	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
54	10	9,70	
52	10		63,10
51	10		73,00
53	10		84,90

BA+KIN	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
64	10	21,30	
63	10		59,80
62	10		68,10
61	10		79,60

M3/9/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable	**(I) tre**	**(J) tre**	**Mean Diffrence (I-J)**	**Std. Error**	**Sig.**	**95% Confidence Interval**	
						Lower Bound	**Upper Bound**
vitri%	0	11	30,900(*)	9,981	,002	11,24	50,56
		12	37,600(*)	9,981	,000	17,94	57,26
		13	14,200	9,981	,156	-5,46	33,86
		14	10,800	9,981	,280	-8,86	30,46
		21	37,400(*)	9,981	,000	17,74	57,06
		22	39,744(*)	10,416	,000	19,23	60,26
		23	32,600(*)	9,981	,001	12,94	52,26
		24	46,175(*)	10,934	,000	24,64	67,71
		31	7,600	9,981	,447	-12,06	27,26
		32	29,300(*)	9,981	,004	9,64	48,96
		33	27,700(*)	9,981	,006	8,04	47,36
		34	36,000(*)	9,981	,000	16,34	55,66
		41	38,050(*)	10,934	,001	16,51	59,59
		42	4,200	9,981	,674	-15,46	23,86
		43	26,633(*)	10,416	,011	6,12	47,15
		44	37,600(*)	9,981	,000	17,94	57,26
		51	-20,700(*)	9,981	,039	-40,36	-1,04
		52	-10,800	9,981	,280	-30,46	8,86
		53	-32,600(*)	9,981	,001	-52,26	-12,94
		54	42,600(*)	9,981	,000	22,94	62,26
		61	-27,300(*)	9,981	,007	-46,96	-7,64
		62	-15,800	9,981	,115	-35,46	3,86
		63	-7,500	9,981	,453	-27,16	12,16
		64	31,000(*)	9,981	,002	11,34	50,66

M3/10. Előkezelések hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára (%) 'Freedom' fajta esetén

M3/10/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2945,147	24	122,714	1,907	,008
Within Groups	16147,589	251	64,333		
Total	19092,736	275			

M3/10/2: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable	(I) tre	(J) tre	Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
vit%	0	11	,444	2,867	,877	-5,20	6,09
		12	,444	2,867	,877	-5,20	6,09
		13	,444	2,867	,877	-5,20	6,09
		14	,444	2,867	,877	-5,20	6,09
		21	-1,156	2,867	,687	-6,80	4,49
		22	,444	2,867	,877	-5,20	6,09
		23	-1,156	2,867	,687	-6,80	4,49
		24	,444	2,867	,877	-5,20	6,09
		31	-1,156	2,867	,687	-6,80	4,49
		32	-7,756(*)	2,867	,007	-13,40	-2,11
		33	-2,756	2,867	,337	-8,40	2,89
		34	-11,056(*)	2,867	,000	-16,70	-5,41
		41	-1,156	2,867	,687	-6,80	4,49
		42	-9,556(*)	2,867	,001	-15,20	-3,91
		43	-7,656(*)	2,867	,008	-13,30	-2,01
		44	,444	2,867	,877	-5,20	6,09
		51	-1,156	2,867	,687	-6,80	4,49
		52	-2,756	2,867	,337	-8,40	2,89
		53	-1,156	2,867	,687	-6,80	4,49
		54	-2,756	2,867	,337	-8,40	2,89
		61	-1,156	2,867	,687	-6,80	4,49
		62	-6,056(*)	2,867	,036	-11,70	-,41
		63	-4,356	2,867	,130	-10,00	1,29
		64	,444	2,867	,877	-5,20	6,09

M3/11. Előkezelések hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára (%) ’Royal Gala’ fajta esetén

M3/11/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6886,800	3	2295,600	5,739	,003
Within Groups	14398,800	36	399,965		
Total	21285,600	39			
Between Groups	5127,700	3	1709,233	3,053	,041
Within Groups	20152,200	36	559,783		
Total	25279,900	39			

M3/11/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05	
BA+TOP	N	1	2
43	10	1,70	
44	10	1,70	
42	10	16,70	16,70
41	10		33,50

		Subset for alpha = .05	
BA+KIN	N	1	2
62	10	11,40	
64	10	16,30	16,30
63	10	21,30	21,30
61	10		41,20

M3/11/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			**Mean Diffrence (I-J)**	**Std. Error**	**Sig.**	**95% Confidence Interval**	
	(I) tre	**(J) tre**				**Lower Bound**	**Upper Bound**
vitrsz	0	11	19,450	12,673	,126	-5,52	44,42
		12	2,350	11,697	,841	-20,69	25,39
		13	5,183	11,697	,658	-17,86	28,23
		14	-,650	11,697	,956	-23,69	22,39
		21	9,450	9,446	,318	-9,16	28,06
		22	12,750	9,446	,178	-5,86	31,36
		23	-2,150	9,446	,820	-20,76	16,46
		24	12,650	9,446	,182	-5,96	31,26
		31	12,850	9,446	,175	-5,76	31,46
		32	16,250	9,446	,087	-2,36	34,86
		33	-,550	9,446	,954	-19,16	18,06
		34	12,750	9,446	,178	-5,86	31,36
		41	-,650	9,446	,945	-19,26	17,96
		42	16,150	9,446	,089	-2,46	34,76
		43	31,150(*)	9,446	,001	12,54	49,76
		44	31,150(*)	9,446	,001	12,54	49,76
		51	6,550	9,446	,489	-12,06	25,16
		52	13,150	9,446	,165	-5,46	31,76
		53	-1,750	9,446	,853	-20,36	16,86
		54	13,250	9,446	,162	-5,36	31,86
		61	-8,350	9,446	,378	-26,96	10,26
		62	21,450(*)	9,446	,024	2,84	40,06
		63	11,550	9,446	,223	-7,06	30,16
		64	16,550	9,446	,081	-2,06	35,16

M3/12. Előkezelések hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára (%) ’Húsvéti rozmaring’ fajta esetén

M3/12/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	92609,606	24	3858,734	5,444	,000
Within Groups	177913,872	251	708,820		
Total	270523,478	275			

M3/12/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05		
treorig	N	1	2	3
21	10	8,10		
22	10	34,80	34,80	
24	10		61,50	61,50
23	10			78,00

		Subset for alpha = .05	
treorig	N	1	2
52	10	9,80	
51	10	33,10	33,10
53	10	33,10	33,10
54	10		54,70

		Subset for alpha = .05	
treorig	N	1	2
63	10	,00	
61	10	13,10	13,10
62	10	28,20	28,20
64	10		41,40

M3/12/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable	(I) tre	(J) tre	Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
vitr%	0	11	-6,472	9,517	,497	-25,22	12,27
		12	-14,772	9,517	,122	-33,52	3,97
		13	3,628	9,517	,703	-15,12	22,37
		14	-16,272	9,517	,089	-35,02	2,47
		21	1,928	9,517	,840	-16,82	20,67
		22	-24,772(*)	9,517	,010	-43,52	-6,03
		23	-67,972(*)	9,517	,000	-86,72	-49,23
		24	-51,472(*)	9,517	,000	-70,22	-32,73
		31	-36,272(*)	9,517	,000	-55,02	-17,53
		32	-21,372(*)	9,517	,026	-40,12	-2,63
		33	-8,072	9,517	,397	-26,82	10,67
		34	-6,372	9,517	,504	-25,12	12,37
		41	-28,072(*)	9,517	,003	-46,82	-9,33
		42	-26,372(*)	9,517	,006	-45,12	-7,63
		43	-8,072	9,517	,397	-26,82	10,67
		44	1,928	9,517	,840	-16,82	20,67
		51	-23,072(*)	9,517	,016	-41,82	-4,33
		52	,228	9,517	,981	-18,52	18,97
		53	-23,072(*)	9,517	,016	-41,82	-4,33
		54	-44,672(*)	9,517	,000	-63,42	-25,93
		61	-3,072	9,517	,747	-21,82	15,67
		62	-18,172	9,517	,057	-36,92	,57
		63	10,028	9,517	,293	-8,72	28,77
		64	-31,372(*)	9,517	,001	-50,12	-12,63

M3/13. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a regenerált hajtások számára, 'M26' alany esetén

M3/13/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	421,249	39	10,801	7,699	,000
Within Groups	1381,867	985	1,403		
Total	1803,116	1024			

M3/13/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05	
BA	N	1	2
24	19	1,32	
20	22	1,36	
21	44	1,73	1,73
23	28	2,00	2,00
22	42		2,45

		Subset for alpha = .05		
BAR	N	1	2	3
32	29	1,79		
31	29	1,83		
30	7	2,00	2,00	
35	51	2,78	2,78	2,78
33	36		3,11	3,11
34	46			3,22

		Subset for alpha = .05	
TOP	N	1	2
41	15	1,20	
44	30	1,63	1,63
43	37		2,11
42	46		2,26

		Subset for alpha = .05	
KIN	N	1	2
82	11	1,09	
84	9	1,33	
83	9		1,89

		Subset for alpha = .05	
TOPR	N	1	2
53	25	1,44	
54	28	1,64	
51	18	1,67	
52	27	1,93	
55	34		3,18

M3/13/3. Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable	(I) tre	(J) tre	Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
	0	10	-,739(*)	,284	,009	-1,30	-,18
		11	-1,121(*)	,304	,000	-1,72	-,52
		12	-,222	,319	,487	-,85	,40
		13	-,606(*)	,304	,047	-1,20	-,01
		14	-,583	,329	,077	-1,23	,06
		20	,636	,337	,060	-,03	1,30
		21	,273	,286	,341	-,29	,83
		22	-,452	,289	,118	-1,02	,11
		24	,684	,352	,052	-,01	1,38
		30	,000	,501	1,000	-,98	,98
		31	,172	,314	,583	-,44	,79
		32	,207	,314	,510	-,41	,82
		33	-1,111(*)	,298	,000	-1,70	-,53
		34	-1,217(*)	,284	,000	-1,77	-,66
		35	-,784(*)	,279	,005	-1,33	-,24
		41	,800(*)	,379	,035	,06	1,54
		42	-,261	,284	,358	-,82	,30
		43	-,108	,297	,716	-,69	,47
		44	,367	,311	,239	-,24	,98
		51	,333	,358	,352	-,37	1,04
		52	,074	,319	,817	-,55	,70
		53	,560	,326	,086	-,08	1,20
		54	,357	,317	,260	-,26	,98
		55	-1,176(*)	,302	,000	-1,77	-,58
		61	,545	,421	,196	-,28	1,37
		62	,875	,475	,066	-,06	1,81
		63	,750(*)	,317	,018	,13	1,37
		64	,500	,358	,163	-,20	1,20
		71	,818	,421	,053	-,01	1,65
		72	,813(*)	,371	,029	,08	1,54
		73	,143	,388	,713	-,62	,90
		74	,220	,290	,450	-,35	,79
		75	,647	,364	,076	-,07	1,36
		82	,909(*)	,421	,031	,08	1,74
		83	,111	,454	,807	-,78	1,00
		84	,667	,454	,142	-,22	1,56
		93	,389	,358	,277	-,31	1,09
		94	,450	,347	,195	-,23	1,13
		95	,722(*)	,358	,044	,02	1,42

M3/14. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a regenerált hajtások számára, 'Freedom' fajta esetén

M3/14/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6,582	6	1,097	1,385	,230
Within Groups	68,907	87	,792		
Total	75,489	93			

M3/14/2: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	10	-,126	,400	,753	-,92	,67
		13	-,492	,368	,184	-1,22	,24
		14	-,214	,412	,604	-1,03	,60
		24	,175	,449	,698	-,72	1,07
		33	,036	,558	,949	-1,07	1,14
		55	,286	,476	,550	-,66	1,23
	10	0	,126	,400	,753	-,67	,92
		13	-,366	,262	,166	-,89	,15
		14	-,088	,321	,784	-,73	,55
		24	,301	,367	,415	-,43	1,03
		33	,162	,495	,744	-,82	1,14
		55	,412	,400	,306	-,38	1,21
	13	0	,492	,368	,184	-,24	1,22
		10	,366	,262	,166	-,15	,89
		14	,278	,280	,324	-,28	,83
		24	,667(*)	,332	,048	,01	1,33
		33	,528	,469	,264	-,40	1,46
		55	,778(*)	,368	,037	,05	1,51
	14	0	,214	,412	,604	-,60	1,03
		10	,088	,321	,784	-,55	,73
		13	-,278	,280	,324	-,83	,28
		24	,389	,380	,309	-,37	1,14
		33	,250	,505	,622	-,75	1,25
		55	,500	,412	,228	-,32	1,32
	24	0	-,175	,449	,698	-1,07	,72
		10	-,301	,367	,415	-1,03	,43
		13	-,667(*)	,332	,048	-1,33	-,01
		14	-,389	,380	,309	-1,14	,37
		33	-,139	,535	,796	-1,20	,92
		55	,111	,449	,805	-,78	1,00
	33	0	-,036	,558	,949	-1,14	1,07
		10	-,162	,495	,744	-1,14	,82
		13	-,528	,469	,264	-1,46	,40
		14	-,250	,505	,622	-1,25	,75
		24	,139	,535	,796	-,92	1,20
		55	,250	,558	,655	-,86	1,36
	55	0	-,286	,476	,550	-1,23	,66
		10	-,412	,400	,306	-1,21	,38
		13	-,778(*)	,368	,037	-1,51	-,05
		14	-,500	,412	,228	-1,32	,32
		24	-,111	,449	,805	-1,00	,78
		33	-,250	,558	,655	-1,36	,86

M3/15. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a regenerált hajtások számára, 'Royal Gala' fajta esetén

M3/15/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6276,333	45	139,474	35,308	,000
Within Groups	5660,730	1433	3,950		
Total	11937,063	1478			

M3/15/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05		
TDZ	N	1	2	3
14	51	3,12		
13	55		5,20	
11	60		5,93	
12	60		6,12	
10	59			11,08

		Subset for alpha = .05	
BAR	N	1	2
30	8	1,38	
31	39	2,33	2,33
35	32		3,22
33	54		3,22
34	49		3,47
32	53		3,51

		Subset for alpha = .05		
BA	N	1	2	3
20	18	1,22		
21	51		3,22	
24	57		3,82	3,82
22	57		3,84	3,84
23	57			4,58

		Subset for alpha = .05	
TOP	N	1	2
40	4	1,00	
41	21	1,52	1,52
42	35	2,17	2,17
43	47	2,28	2,28
44	46		2,70

		Subset for alpha = .05	
TOPR	N	1	2
50	2	1,00	
51	20	1,55	1,55
52	24	1,88	1,88
53	34	2,15	2,15
55	56	2,89	2,89
54	48		3,48

M3/15/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	10	-6,506(*)	,369	,000	-7,23	-5,78
		11	-1,354(*)	,368	,000	-2,08	-,63
		12	-1,538(*)	,368	,000	-2,26	-,82
		13	-,621	,376	,099	-1,36	,12
		14	1,461(*)	,383	,000	,71	2,21
		20	3,357(*)	,537	,000	2,30	4,41
		21	1,363(*)	,383	,000	,61	2,11
		22	,737(*)	,372	,048	,01	1,47
		24	,754(*)	,372	,043	,02	1,48
		30	3,204(*)	,750	,000	1,73	4,68
		31	2,246(*)	,413	,000	1,44	3,06
		32	1,070(*)	,379	,005	,33	1,81
		33	1,357(*)	,377	,000	,62	2,10
		34	1,110(*)	,387	,004	,35	1,87
		35	1,360(*)	,439	,002	,50	2,22
		40	3,579(*)	1,028	,001	1,56	5,60
		41	3,055(*)	,507	,000	2,06	4,05
		42	2,408(*)	,427	,000	1,57	3,24
		43	2,302(*)	,392	,000	1,53	3,07
		44	1,883(*)	,394	,000	1,11	2,66
		50	3,579(*)	1,430	,012	,77	6,38
		51	3,029(*)	,517	,000	2,02	4,04
		52	2,704(*)	,484	,000	1,76	3,65
		53	2,432(*)	,431	,000	1,59	3,28
		54	1,100(*)	,389	,005	,34	1,86
		55	1,686(*)	,374	,000	,95	2,42
		61	3,246(*)	,853	,000	1,57	4,92
		62	3,318(*)	,491	,000	2,35	4,28
		63	2,676(*)	,444	,000	1,81	3,55
		64	2,316(*)	,416	,000	1,50	3,13
		70	3,579(*)	1,430	,012	,77	6,38
		71	3,246(*)	,537	,000	2,19	4,30
		72	3,108(*)	,431	,000	2,26	3,95
		73	2,650(*)	,459	,000	1,75	3,55
		74	2,143(*)	,413	,000	1,33	2,95
		75	2,008(*)	,387	,000	1,25	2,77
		81	3,579(*)	1,028	,001	1,56	5,60
		82	3,150(*)	,796	,000	1,59	4,71
		83	3,079(*)	,681	,000	1,74	4,42
		84	3,431(*)	,464	,000	2,52	4,34
		91	3,579(*)	1,430	,012	,77	6,38
		92	3,329(*)	,517	,000	2,32	4,34
		93	3,329(*)	,750	,000	1,86	4,80
		94	3,124(*)	,655	,000	1,84	4,41
		95	2,979(*)	,477	,000	2,04	3,91

M3/16. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a regenerált hajtások számára, 'Húsvéti rozmaring' fajta esetén

M3/16/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	155,011	24	6,459	4,531	,000
Within Groups	726,907	510	1,425		
Total	881,918	534			

M3/16/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

BA	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
20	5	1,40	
24	45	2,20	2,20
21	46		2,43
23	49		2,73
22	47		2,85

BAR	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
31	22	1,59		
32	25	1,76	1,76	
35	10	1,80	1,80	
33	23		2,87	2,87
34	23			3,09

TOP	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
40	8	1,00	
42	13	1,08	
41	6	1,17	
43	7	1,43	1,43
44	21		2,14

M3/16/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	10	,535(*)	,264	,044	,02	1,05
		11	,196	,256	,444	-,31	,70
		12	,387	,302	,200	-,21	,98
		13	,321	,280	,252	-,23	,87
		14	,438	,286	,126	-,12	1,00
		20	1,335(*)	,560	,018	,23	2,44
		21	,300	,245	,222	-,18	,78
		22	-,116	,244	,633	-,60	,36
		24	,535(*)	,246	,031	,05	1,02
		31	1,144(*)	,306	,000	,54	1,75
		32	,975(*)	,293	,001	,40	1,55
		33	-,135	,302	,655	-,73	,46
		34	-,352	,302	,244	-,95	,24
		35	,935(*)	,414	,024	,12	1,75
		40	1,735(*)	,455	,000	,84	2,63
		41	1,568(*)	,516	,003	,55	2,58
		42	1,658(*)	,372	,000	,93	2,39
		43	1,306(*)	,482	,007	,36	2,25
		44	,592	,311	,058	-,02	1,20
		52	1,020(*)	,482	,035	,07	1,97
		55	1,735(*)	,621	,005	,52	2,95
		73	1,568(*)	,516	,003	,55	2,58
		75	1,610(*)	,455	,000	,72	2,50
		94	1,449(*)	,482	,003	,50	2,40

M3/17. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a regenerációs rátára (%) ’M26’ alany esetén

M3/17/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	288141,725	48	6002,953	15,222	,000
Within Groups	176678,500	448	394,372		
Total	464820,225	496			

M3/17/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

TDZ	N	Subset for alpha = .05 1	2
14	10	39,80	
12	10	44,70	
13	10	54,60	54,60
11	10	54,80	54,80
10	10		76,20

BA	N	Subset for alpha = .05 1	2	3
24	10	31,20		
20	10	36,40		
23	10	46,40	46,40	
22	10		69,50	69,50
21	10			73,00

BAR	N	Subset for alpha = .05 1	2	3
30	10	11,30		
32	10		48,00	
31	10		49,70	
33	10		59,70	59,70
34	10		76,50	76,50
35	10			84,90

TOPR	N	Subset for alpha = .05 1	2
50	10	4,80	
51	10	29,70	29,70
53	10		41,30
52	10		44,60
54	10		46,40
55	10		54,60

TOP	N	Subset for alpha = .05 1	2	3	4
40	10	1,60			
41	10		24,80		
44	10			49,80	
43	10			64,70	64,70
42	10				72,90

ZEA	N	Subset for alpha = .05 1	2	3
60	10	3,20		
62	10	13,20	13,20	
61	10	18,00	18,00	
64	10		28,00	28,00
63	10			46,40

ZEAR	N	Subset for alpha = .05 1	2	3
70	10	5,00		
71	10	17,90	17,90	
73	10	22,90	22,90	
72	10	26,30	26,30	
75	10		27,90	
74	10			68,20

KIN	N	Subset for alpha = .05 1	2
80	10	1,70	
81	10	1,70	
83	10	15,20	15,20
84	10	16,70	16,70
82	10		18,50

KINR	N	Subset for alpha = .05 1	2
90	11	,00	
91	13	,00	
92	13	,00	
95	10		28,30
93	10		30,10
94	10		33,20

M3/17/3: Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	10	-29,800(*)	8,881	,001	-47,25	-12,35
		11	-8,400	8,881	,345	-25,85	9,05
		12	1,700	8,881	,848	-15,75	19,15
		13	-8,200	8,881	,356	-25,65	9,25
		14	6,600	8,881	,458	-10,85	24,05
		20	10,000	8,881	,261	-7,45	27,45
		21	-26,600(*)	8,881	,003	-44,05	-9,15
		22	-23,100(*)	8,881	,010	-40,55	-5,65
		24	15,200	8,881	,088	-2,25	32,65
		30	35,100(*)	8,881	,000	17,65	52,55
		31	-3,300	8,881	,710	-20,75	14,15
		32	-1,600	8,881	,857	-19,05	15,85
		33	-13,300	8,881	,135	-30,75	4,15
		34	-30,100(*)	8,881	,001	-47,55	-12,65
		35	-38,500(*)	8,881	,000	-55,95	-21,05
		40	44,800(*)	8,881	,000	27,35	62,25
		41	21,600(*)	8,881	,015	4,15	39,05
		42	-26,500(*)	8,881	,003	-43,95	-9,05
		43	-18,300(*)	8,881	,040	-35,75	-,85
		44	-3,400	8,881	,702	-20,85	14,05
		50	41,600(*)	8,881	,000	24,15	59,05
		51	16,700	8,881	,061	-,75	34,15
		52	1,800	8,881	,839	-15,65	19,25
		53	5,100	8,881	,566	-12,35	22,55
		54	,000	8,881	1,000	-17,45	17,45
		55	-8,200	8,881	,356	-25,65	9,25
		60	43,200(*)	8,881	,000	25,75	60,65
		61	28,400(*)	8,881	,001	10,95	45,85
		62	33,200(*)	8,881	,000	15,75	50,65
		63	,000	8,881	1,000	-17,45	17,45
		64	18,400(*)	8,881	,039	,95	35,85
		70	41,400(*)	8,881	,000	23,95	58,85
		71	28,500(*)	8,881	,001	11,05	45,95
		72	20,100(*)	8,881	,024	2,65	37,55
		73	23,500(*)	8,881	,008	6,05	40,95
		74	-21,800(*)	8,881	,014	-39,25	-4,35
		75	18,500(*)	8,881	,038	1,05	35,95
		80	44,700(*)	8,881	,000	27,25	62,15
		81	44,700(*)	8,881	,000	27,25	62,15
		82	27,900(*)	8,881	,002	10,45	45,35
		83	31,200(*)	8,881	,000	13,75	48,65
		84	29,700(*)	8,881	,001	12,25	47,15
		90	46,400(*)	8,677	,000	29,35	63,45
		91	46,400(*)	8,353	,000	29,98	62,82
		92	46,400(*)	8,353	,000	29,98	62,82
		93	16,300	8,881	,067	-1,15	33,75
		94	13,200	8,881	,138	-4,25	30,65
		95	18,100(*)	8,881	,042	,65	35,55

M3/18. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a regenerációs rátára (%) ’Freedom’ fajta esetén

M3/18/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	48355,748	47	1028,846	16,584	,000
Within Groups	26800,500	432	62,038		
Total	75156,248	479			

M3/18/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05		
TDZ	N	1	2	3
11	10	,00		
12	10	,00		
14	10		23,10	
10	10		28,10	
13	10			59,70

		Subset for alpha = .05	
TOPR	N	1	2
50	10	,00	
51	10	,00	
52	10	,00	
53	10	,00	
54	10	,00	
55	10		11,30

M3/18/3. Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	10	-16,700(*)	3,522	,000	-23,62	-9,78
		11	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		12	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		13	-48,300(*)	3,522	,000	-55,22	-41,38
		14	-11,700(*)	3,522	,001	-18,62	-4,78
		20	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		21	8,100(*)	3,522	,022	1,18	15,02
		22	9,800(*)	3,522	,006	2,88	16,72
		24	-3,400	3,522	,335	-10,32	3,52
		30	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		31	6,600	3,522	,062	-,32	13,52
		32	8,200(*)	3,522	,020	1,28	15,12
		33	5,000	3,522	,156	-1,92	11,92
		34	9,800(*)	3,522	,006	2,88	16,72
		35	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		40	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		41	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		42	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		43	9,800(*)	3,522	,006	2,88	16,72
		44	8,200(*)	3,522	,020	1,28	15,12
		50	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		51	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		52	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		53	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		54	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		55	,100	3,522	,977	-6,82	7,02
		60	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		61	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		62	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		63	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		64	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		70	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		71	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		72	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		73	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		74	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		80	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		81	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		82	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		83	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		84	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		90	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		91	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		92	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		93	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		94	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32
		95	11,400(*)	3,522	,001	4,48	18,32

M3/19. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a regenerációs rátára (%) ’Royal Gala’ fajta esetén

M3/19/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	556148,706	48	11586,431	30,756	,000
Within Groups	166134,700	441	376,723		
Total	722283,406	489			

M3/19/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

TDZ	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
14	10	84,90	
13	10	93,20	93,20
10	10	98,30	98,30
11	10		100,00
12	10		100,00

BA	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
20	10	29,70	
21	10		84,90
22	10		94,90
23	10		94,90
24	10		96,60

BAR	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
30	10	13,00		
35	10		52,90	
31	10		64,80	64,80
34	10			81,60
32	10			88,20
33	10			89,80

TOP	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
40	10	6,60		
41	10		34,70	
42	10			58,10
44	10			74,70
43	10			78,00

TOPR	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
50	10	3,20			
51	10		32,90		
52	10		39,80		
53	10		56,30	56,30	
54	10			79,70	79,70
55	10				93,30

ZEA	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
60	10	,00	
61	10	9,80	
62	10		37,90
63	10		51,30
64	10		63,10

ZEAR	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
70	10	3,20			
71	10		29,70		
73	10		46,30	46,30	
72	10			56,30	
74	10			64,70	64,70
75	10				81,30

KIN	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
80	10	,00	
81	10	6,50	
82	10	11,40	
83	10	16,40	
84	10		44,70

KINR	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
90	10	,00		
91	10	3,20		
93	10	13,10	13,10	
94	10	18,10	18,10	
92	10		32,90	32,90
95	10			41,20

M3/19/3. Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	10	-3,400	8,680	,695	-20,46	13,66
		11	-5,100	8,680	,557	-22,16	11,96
		12	-5,100	8,680	,557	-22,16	11,96
		13	1,700	8,680	,845	-15,36	18,76
		14	10,000	8,680	,250	-7,06	27,06
		20	65,200(*)	8,680	,000	48,14	82,26
		21	10,000	8,680	,250	-7,06	27,06
		22	,000	8,680	1,000	-17,06	17,06
		24	-1,700	8,680	,845	-18,76	15,36
		30	81,900(*)	8,680	,000	64,84	98,96
		31	30,100(*)	8,680	,001	13,04	47,16
		32	6,700	8,680	,441	-10,36	23,76
		33	5,100	8,680	,557	-11,96	22,16
		34	13,300	8,680	,126	-3,76	30,36
		35	42,000(*)	8,680	,000	24,94	59,06
		40	88,300(*)	8,680	,000	71,24	105,36
		41	60,200(*)	8,680	,000	43,14	77,26
		42	36,800(*)	8,680	,000	19,74	53,86
		43	16,900	8,680	,052	-,16	33,96
		44	20,200(*)	8,680	,020	3,14	37,26
		50	91,700(*)	8,680	,000	74,64	108,76
		51	62,000(*)	8,680	,000	44,94	79,06
		52	55,100(*)	8,680	,000	38,04	72,16
		53	38,600(*)	8,680	,000	21,54	55,66
		54	15,200	8,680	,081	-1,86	32,26
		55	1,600	8,680	,854	-15,46	18,66
		60	94,900(*)	8,680	,000	77,84	111,96
		61	85,100(*)	8,680	,000	68,04	102,16
		62	57,000(*)	8,680	,000	39,94	74,06
		63	43,600(*)	8,680	,000	26,54	60,66
		64	31,800(*)	8,680	,000	14,74	48,86
		70	91,700(*)	8,680	,000	74,64	108,76
		71	65,200(*)	8,680	,000	48,14	82,26
		72	38,600(*)	8,680	,000	21,54	55,66
		73	48,600(*)	8,680	,000	31,54	65,66
		74	30,200(*)	8,680	,001	13,14	47,26
		75	13,600	8,680	,118	-3,46	30,66
		80	94,900(*)	8,680	,000	77,84	111,96
		81	88,400(*)	8,680	,000	71,34	105,46
		82	83,500(*)	8,680	,000	66,44	100,56
		83	78,500(*)	8,680	,000	61,44	95,56
		84	50,200(*)	8,680	,000	33,14	67,26
		90	94,900(*)	8,680	,000	77,84	111,96
		91	91,700(*)	8,680	,000	74,64	108,76
		92	62,000(*)	8,680	,000	44,94	79,06
		93	81,800(*)	8,680	,000	64,74	98,86
		94	76,800(*)	8,680	,000	59,74	93,86
		95	53,700(*)	8,680	,000	36,64	70,76

M3/20. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a regenerációs rátára (%) ’Húsvéti rozmaring’ fajta esetén

M3/20/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	297940,339	48	6207,090	35,884	,000
Within Groups	76282,700	441	172,977		
Total	374223,039	489			

M3/20/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05	
TDZ	N	1	2
12	10	38,10	
14	10	44,70	44,70
13	10	48,00	48,00
10	10	58,00	58,00
11	10		64,50

		Subset for alpha = .05	
BA	N	1	2
20	10	8,10	
24	10		74,60
21	10		76,30
22	10		77,90
23	10		81,50

		Subset for alpha = .05	
BAR	N	1	2
30	10	1,60	
35	10	16,40	16,40
33	10		36,20
31	10		36,40
34	10		38,00
32	10		41,30

		Subset for alpha = .05	
TOP	N	1	2
41	10	9,80	
43	10	11,30	
40	10	13,00	
42	10	21,30	21,30
44	10		34,70

		Subset for alpha = .05	
ZEAR	N	1	2
70	10	,00	
71	10	,00	
72	10	,00	
74	10	,00	
73	10	9,70	9,70
75	10		13,10

		Subset for alpha = .05	
KINR	N	1	2
90	10	,00	
92	10	,00	
93	10	,00	
95	10	,00	
91	10	1,60	
94	10		11,30

M3/20/3. Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	10	23,500(*)	5,882	,000	11,94	35,06
		11	17,000(*)	5,882	,004	5,44	28,56
		12	43,400(*)	5,882	,000	31,84	54,96
		13	33,500(*)	5,882	,000	21,94	45,06
		14	36,800(*)	5,882	,000	25,24	48,36
		20	73,400(*)	5,882	,000	61,84	84,96
		21	5,200	5,882	,377	-6,36	16,76
		22	3,600	5,882	,541	-7,96	15,16
		24	6,900	5,882	,241	-4,66	18,46
		30	79,900(*)	5,882	,000	68,34	91,46
		31	45,100(*)	5,882	,000	33,54	56,66
		32	40,200(*)	5,882	,000	28,64	51,76
		33	45,300(*)	5,882	,000	33,74	56,86
		34	43,500(*)	5,882	,000	31,94	55,06
		35	65,100(*)	5,882	,000	53,54	76,66
		40	68,500(*)	5,882	,000	56,94	80,06
		41	71,700(*)	5,882	,000	60,14	83,26
		42	60,200(*)	5,882	,000	48,64	71,76
		43	70,200(*)	5,882	,000	58,64	81,76
		44	46,800(*)	5,882	,000	35,24	58,36
		50	79,900(*)	5,882	,000	68,34	91,46
		51	79,900(*)	5,882	,000	68,34	91,46
		52	70,000(*)	5,882	,000	58,44	81,56
		53	78,300(*)	5,882	,000	66,74	89,86
		54	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		55	75,100(*)	5,882	,000	63,54	86,66
		60	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		61	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		62	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		63	79,900(*)	5,882	,000	68,34	91,46
		64	79,900(*)	5,882	,000	68,34	91,46
		70	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		71	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		72	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		73	71,800(*)	5,882	,000	60,24	83,36
		74	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		75	68,400(*)	5,882	,000	56,84	79,96
		80	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		81	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		82	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		83	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		84	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		90	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		91	79,900(*)	5,882	,000	68,34	91,46
		92	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		93	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06
		94	70,200(*)	5,882	,000	58,64	81,76
		95	81,500(*)	5,882	,000	69,94	93,06

M3/21. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára (%) 'M26' alany esetén

M3/21/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	93047,190	48	1938,483	6,585	,000
Within Groups	131879,200	448	294,373		
Total	224926,390	496			

M3/21/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05	
TDZ	N	1	2
14	10	19,80	
13	10	23,00	
11	10	34,70	34,70
12	10	36,50	36,50
10	10		59,80

		Subset for alpha = .05	
BA	N	1	2
20	10	,00	
24	10	,00	
23	10	1,60	
22	10	14,70	14,70
21	10		36,50

BAR	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
30	10	1,60		
32	10	6,40		
31	10	13,20		
33	10		18,10	
34	10			36,50
35	10			39,90

		Subset for alpha = .05	
ZEAR	N	1	2
70	10	,00	
71	10	1,60	
75	10	6,40	
73	10	6,50	
72	10	9,90	
74	10		29,70

M3/21/3. Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	10	-58,200(*)	7,673	,000	-73,28	-43,12
		11	-33,100(*)	7,673	,000	-48,18	-18,02
		12	-34,900(*)	7,673	,000	-49,98	-19,82
		13	-21,400(*)	7,673	,006	-36,48	-6,32
		14	-18,200(*)	7,673	,018	-33,28	-3,12
		20	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		21	-34,900(*)	7,673	,000	-49,98	-19,82
		22	-13,100	7,673	,088	-28,18	1,98
		24	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		30	,000	7,673	1,000	-15,08	15,08
		31	-11,600	7,673	,131	-26,68	3,48
		32	-4,800	7,673	,532	-19,88	10,28
		33	-16,500(*)	7,673	,032	-31,58	-1,42
		34	-34,900(*)	7,673	,000	-49,98	-19,82
		35	-38,300(*)	7,673	,000	-53,38	-23,22
		40	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		41	-3,300	7,673	,667	-18,38	11,78
		42	-4,800	7,673	,532	-19,88	10,28
		43	-1,600	7,673	,835	-16,68	13,48
		44	,000	7,673	1,000	-15,08	15,08
		50	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		51	,000	7,673	1,000	-15,08	15,08
		52	-6,500	7,673	,397	-21,58	8,58
		53	-3,200	7,673	,677	-18,28	11,88
		54	,000	7,673	1,000	-15,08	15,08
		55	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		60	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		61	-1,600	7,673	,835	-16,68	13,48
		62	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		63	-14,900	7,673	,053	-29,98	,18
		64	-14,900	7,673	,053	-29,98	,18
		70	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		71	,000	7,673	1,000	-15,08	15,08
		72	-8,300	7,673	,280	-23,38	6,78
		73	-4,900	7,673	,523	-19,98	10,18
		74	-28,100(*)	7,673	,000	-43,18	-13,02
		75	-4,800	7,673	,532	-19,88	10,28
		80	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		81	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		82	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		83	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		84	1,600	7,673	,835	-13,48	16,68
		90	1,600	7,497	,831	-13,13	16,33
		91	1,600	7,217	,825	-12,58	15,78
		92	1,600	7,217	,825	-12,58	15,78
		93	-3,500	7,673	,649	-18,58	11,58
		94	-3,500	7,673	,649	-18,58	11,58
		95	-1,800	7,673	,815	-16,88	13,28

M3/22. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára (%) 'Freedom' fajta esetén

M3/22/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5243,198	47	111,557	5,474	,000
Within Groups	8803,700	432	20,379		
Total	14046,898	479			

M3/22/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05	
treorig	N	1	2
10	10	,00	
11	10	,00	
12	10	,00	
14	10	1,60	
13	10		23,10

M3/22/3. Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	10	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		11	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		12	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		13	-23,100(*)	2,019	,000	-27,07	-19,13
		14	-1,600	2,019	,428	-5,57	2,37
		20	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		21	-1,600	2,019	,428	-5,57	2,37
		22	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		24	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		30	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		31	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		32	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		33	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		34	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		35	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		40	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		41	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		42	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		43	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		44	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		50	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		51	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		52	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		53	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		54	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		55	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		60	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		61	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		62	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		63	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		64	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		70	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		71	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		72	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		73	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		74	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		80	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		81	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		82	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		83	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		84	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		90	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		91	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		92	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		93	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		94	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97
		95	,000	2,019	1,000	-3,97	3,97

M3/23. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára (%) 'Royal Gala' fajta esetén

M3/23/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	226978,984	48	4728,729	30,549	,000
Within Groups	68262,600	441	154,790		
Total	295241,584	489			

M3/23/2. Post-Hoc tesztek, (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05	
TDZ	N	1	2
10	10	34,70	
13	10	58,20	58,20
14	10		78,20
12	10		86,60
11	10		88,20

		Subset for alpha = .05	
BA	N	1	2
20	10	,00	
21	10	,00	
22	10	,00	
23	10		13,10
24	10		14,60

		Subset for alpha = .05	
TOP	N	1	2
40	10	,00	
41	10	,00	
42	10	,00	
44	10	,00	
43	10		4,80

M3/23/3. Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	10	-21,600(*)	5,564	,000	-32,54	-10,66
		11	-75,100(*)	5,564	,000	-86,04	-64,16
		12	-73,500(*)	5,564	,000	-84,44	-62,56
		13	-45,100(*)	5,564	,000	-56,04	-34,16
		14	-65,100(*)	5,564	,000	-76,04	-54,16
		20	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		21	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		22	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		24	-1,500	5,564	,788	-12,44	9,44
		30	11,500(*)	5,564	,039	,56	22,44
		31	8,300	5,564	,136	-2,64	19,24
		32	,000	5,564	1,000	-10,94	10,94
		33	6,600	5,564	,236	-4,34	17,54
		34	8,300	5,564	,136	-2,64	19,24
		35	9,900	5,564	,076	-1,04	20,84
		40	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		41	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		42	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		43	8,300	5,564	,136	-2,64	19,24
		44	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		50	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		51	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		52	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		53	9,900	5,564	,076	-1,04	20,84
		54	9,900	5,564	,076	-1,04	20,84
		55	9,900	5,564	,076	-1,04	20,84
		60	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		61	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		62	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		63	9,900	5,564	,076	-1,04	20,84
		64	11,500(*)	5,564	,039	,56	22,44
		70	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		71	9,900	5,564	,076	-1,04	20,84
		72	3,300	5,564	,553	-7,64	14,24
		73	3,300	5,564	,553	-7,64	14,24
		74	-3,200	5,564	,565	-14,14	7,74
		75	-3,200	5,564	,565	-14,14	7,74
		80	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		81	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		82	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		83	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		84	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		90	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		91	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		92	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		93	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		94	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04
		95	13,100(*)	5,564	,019	2,16	24,04

M3/24. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a hiperhidratált tenyészetek arányára (%) 'Húsvéti rozmaring' fajta esetén

M3/24/1. ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	173855,441	48	3621,988	18,681	,000
Within Groups	85504,700	441	193,888		
Total	259360,141	489			

M3/24/2. Post-Hoc tesztek (Tukey B) eredmény-táblázatai

		Subset for alpha = .05	
BA	N	1	2
20	10	1,60	
22	10	36,40	36,40
23	10		46,60
21	10		51,30
24	10		61,50

		Subset for alpha = .05	
BAR	N	1	2
30	10	,00	
31	10	,00	
35	10	,00	
33	10		29,60
34	10		33,10
32	10		37,90

M3/23/3. Páronkénti összehasonlítás (LSD) eredménytáblázata

Dependent Variable			Mean Diffrence (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) tre	(J) tre				Lower Bound	Upper Bound
	0	10	-8,000	6,227	,200	-20,24	4,24
		11	5,400	6,227	,386	-6,84	17,64
		12	8,500	6,227	,173	-3,74	20,74
		13	,300	6,227	,962	-11,94	12,54
		14	10,300	6,227	,099	-1,94	22,54
		20	45,000(*)	6,227	,000	32,76	57,24
		21	-4,700	6,227	,451	-16,94	7,54
		22	10,200	6,227	,102	-2,04	22,44
		24	-14,900(*)	6,227	,017	-27,14	-2,66
		30	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		31	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		32	8,700	6,227	,163	-3,54	20,94
		33	17,000(*)	6,227	,007	4,76	29,24
		34	13,500(*)	6,227	,031	1,26	25,74
		35	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		40	45,000(*)	6,227	,000	32,76	57,24
		41	45,000(*)	6,227	,000	32,76	57,24
		42	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		43	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		44	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		50	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		51	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		52	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		53	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		54	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		55	45,000(*)	6,227	,000	32,76	57,24
		60	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		61	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		62	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		63	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		64	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		70	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		71	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		72	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		73	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		74	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		75	45,000(*)	6,227	,000	32,76	57,24
		80	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		81	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		82	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		83	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		84	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		90	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		91	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		92	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		93	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		94	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84
		95	46,600(*)	6,227	,000	34,36	58,84

M3/25. A regenerációs táptalajban alkalmazott citokinin hatása a járulékos hajtások gyökeresedésére ’Royal Gala’ fajtánál

M3/25/1. GYÖKERESEDÉSI ARÁNY, ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26383,750	3	8794,583	20,160	,000
Within Groups	33155,000	76	436,250		
Total	59538,750	79			

M3/25/2. Post-Hoc tesztek (Tukey B) eredmény-táblázatai

TDZ	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
A	20	,00		
B	20	8,00		
C	20		36,00	
D	20			52,00

BA	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
A	20	4,00		
C	20		20,00	
B	20		36,00	36,00
D	20			44,00

BAR	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
A	20	,00		
B	20	12,00	12,00	
C	20		24,00	
D	20			76,00

BAR	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
A	20	,00	
B	20	12,00	12,00
C	20		30,00
D	20		32,00

M3/25/2. Hajtásonkénti gyökerek száma (db) ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	115,120	3	38,373	70,118	,000
Within Groups	45,971	84	,547		
Total	161,091	87			

TDZ	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
B	18	1,44	
C	4	1,50	
D	26		3,38

BA	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
A	4	1,00	
B	10	1,00	
C	18		3,33
D	22		3,73

BAR	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
B	12	1,67	
C	6	3,67	3,67
D	38		3,95

TOPR	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
B	6	1,33	
C	6	2,67	2,67
D	16		4,50

M3/25/3. Gyökerek hossza (mm) ANOVA táblázat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	490,121	3	163,374	2,94	,049
Within Groups	1607,758	29	55,440		
Total	2097,879	32			

TDZ	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
C	6	9,33	
B	26	11,46	11,46
D	44		21,93

BA	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
B	10	10,80	
A	10	16,00	16,00
C	38		19,95
D	80		21,23

TOPR	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
C	16	14,88	
B	8		22,57
D	72		23,44

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném hálás köszönetemet kifejezni témavezetőmnek, Dr. Kiss Erzsébet Professzor Asszonynak a munkám során nyújtott értékes szakmai segítségért, emberi támogatásért és végtelen türelméért.

Köszönöm a Szent István Egyetem Növénytudományi Doktori Iskola korábbi és jelenlegi vezetésének, Prof. Dr. Kiss Józsefnek és Prof. Dr. Heszky Lászlónak, hogy a doktori iskola programjához csatlakozhattam és hátteret nyújtottak tanulmányaimhoz. Dr. Heszky László Professzor Úrnak köszönöm továbbá az értékes szakmai tanácsokat, támogatását és mindenkori feltétlen segítségét.

Köszönöm a Budapesti Corvinus Egyetem munkatársának, Nagy Barbara laboránsnak a szövettani vizsgálatok kivitelézéséhez és a fényképek elkészítéséhez nyújtott segítségét. Hálás köszönettel tartozom Jámborné Dr. Benczúr Erzsébet Professzor Asszonynak az értékes szakmai segítségért, a szövettani vizsgálatok eredményének feldolgozásért.

A dolgozat nem jöhetett volna létre a Debreceni Egyetem AGTC KIT Nyíregyházi Kutató Intézet Növénybiotechnológiai Laboratóriumának munkatársai nélkül: Bohács Jánosné, Gyurján Zsuzsanna, Takácsné Hudák Ágnes, Mátyás Jánosné, Bán Andrásné. Köszönöm, hogy együtt dolgozhattunk!

Külön köszönet illeti meg közvetlen vezetőmet, Dr. Dobránszki Juditot szakmai és emberi támogatásáért és azért, hogy lehetővé tette a dolgozat elkészültét.

Köszönöm mindazon barátaimnak és ismerőseimnek, akik elolvasták a dolgozatomat, hogy véleményükkel segítették a munkámat.

Végül, de nem utolsó sorban, köszönet gyermekeimnek, akik türelmükkel lehetővé tették a tanulmányaimat és a dolgozat elkészültét.