

A SZŐLŐ SZÖVETTENYÉSZTÉSES SZAPORÍTÁSÁNAK MÓDSZERE, LEHETŐSÉGEI

FÖGLEIN FERENC
tudományos főmunkatárs
MTA Szegedi Biológiai Központ

A növényi szövettenyésztés az utóbbi években az egész világon igen jelentős fejlődésen ment keresztül. Harberland még e század elején, amikor az első próbálkozásait hajtotta végre növényi sejtek *in vitro* körülmények közötti fenntartására, még nem gondolta, hogy mintegy 50—60 év múlva igen intenzív üzleti tevékenység fog kifejlődni a növényi szövettenyésztés tudományos alapjaira.

Hazánkban Maróti professzor úttörő munkáját követően az MTA Szegedi Biológiai Központjában alakult ki nemzetközi mércével értékelve is jelentős növényi szövettenyésztő központ. A Szegedi Biológiai Központ Genetikai Intézetében Dr. Dudits Dénes vezetésével, a Növényélettani Intézetben Dr. Maliga Pál irányításával a növényi sejtgenetika területén érték el jelentős tudományos eredményeket. A mi kutatócsoportunkban elsősorban a növényeket fertőző vírusok életfolyamatait tanulmányozzuk, és erre a célra széles körben alkalmazzuk a különböző szövettenyésztési technikákat.

Az ötvenes években Marell munkáiból — aki elsősorban az orchideák vírusmentesítésével foglalkozott — vált nyilvánvalóvá, és ezt később tudományos alapossággal be is bizonyították, hogy a növények intenzíven osztódó merisztématikus szövetei nem tartalmazzák a fertőző víruspartikulumokat. Amennyiben ezeket a szöveteket megfelelő aszeptikus körülmények között felneveljük, így vírusmentes növényegedek állíthatók elő még akkor is, ha az anyanövény erősen fertőzött volt.

Időközben az egyes növényi hormonok felfedezésével, ill. elsősorban Murashige és Skoog munkáira alapozva, akik kimutatták, hogy a növényi hormonok citokininnek és auxinok megfelelő arányú adagolásával az *in vitro* nevelt merisztémák morfogenezise irányítható, elsősorban az orchideákra vonatkozóan jelentős „szövettenyésztő ipar” alakult ki. Így került arra sor, hogy pl. a Szombathelyi Kertészeti Termelőszövetkezetben már évek óta nevelnek orchidea palántákat saját felhasználásra, ill. értékesítésre.

Az orchideával elért sikereken felbuzdulva az egész világon igen intenzív kutatás indult meg hasonló technikák más, gazdaságilag fontosabb növények szövettenyésztésére. Bátran állíthatjuk, hogy igen jelentős eredményeket értek el.

A növényi szövettenyésztes előnyeit röviden úgy foglalnám össze, hogy ennek segítségével mindenféle kórokozótól mentes növények állíthatók elő, és a korábban már említett irányítottság miatt járulékos hajtásképzéssel, az oldalrügyek kihajtásának serkentésével, szomatikus embriogenezissel az eredeti, az adott növényre jellemző szaporodási sebességet több nagyságrenddel meghaladóan lehet megnövelni.

Intézetünkben a MÉM NAK megbízásából néhány szőlőalanyfajta szövettenyésztes szaporításának kidolgozására kaptunk megbízást. A munka megkezdésekor még nagyon kevés nemzetközi irodalomra támaszkodhattunk, mivel az ilyen jellegű technológiákat ahol kidolgozzák és alkalmazzák, általában nem közlik. Üzemi, gyártási titokként kezelik. A közölt adatok általában elméleti jellegűek. Célunk azonban üzemiileg alkalmazható technológia kidolgozása volt.

Milyen feltételeket kell kielégíteni egy üzemi technológiával?

1. Egyszerűnek kell lenni, hogy szövettenyésztesben még járatlan dolgozók betanítás után elvégezhesék.

2. Olyan szaporodási sebességet kell elérni *in vitro*, hogy az versenyképes legyen a hagyományos szaporodási rátával.

3. A szaporodás sebességének növekedésével olyan egyedre számított önköltségsökkentést kell elérni, amely elbírja a magasabb színvonalú technológia költségeit. Így az árban is versenyképesnek kell lenni a hagyományos szaporítással szemben.

4. Olyan üzemi technológiát és szervezettséget kell elérni, ahol a laboratóriumi szakaszban biztosítható, hogy a nagy értékű klónok megőrzik kórokozómentességüket.

5. Az *in vitro* szaporított anyagnak meg kell őrizni, ill. fokozni kell eredeti előnyös fajtatulajdonságait és üzemi értékeit.

Az előbb elhangzottak figyelembevételével a szőlő szövettenyésztes szaporítását három elkülönítő fázis közbeiktatásával oldottuk meg. Kísérleti növényként előbb az 5BB és SO4 alanyokat használtuk. Az alapeljárás azonban kis módosításokkal nemes fajták szaporítására is alkalmas.

Első fázis: Ebben a szakaszban történik tulajdonképpen a steril tenyészet beállítása. Nagyon fontos a megfelelő kiindulási anyag megválasztása. A szőlő esetében alvó rügyekből indultunk ki. A rügyek nyugalmi állapotának megtörésére hidegkezelést alkalmaztunk, ill. a táptalajba gibberelin savat adagoltunk. A táptalajjal kapcsolatban egyetlen kritérium az első fázisban az, hogy a rügyek kifakadjanak és intenzív növekedést kezdjenek.

Sok laboratóriumban az ún. vírusmentesítést még a steril-kultúrába vitel előtt végzik. Tapasztalataink szerint viszont ebben az esetben a sterilitást nagyon nehéz biztosítani. Ez azt jelenti, hogy szabadföldről begyűjtött növényről szinte lehetetlen steril merisztémát izolálni, üvegházban neveltről pedig csak nagyon kis százalékban lehetséges. Amennyiben azonban alvó rügyből indu-

lunk ki, úgy steril hajtások nyerhetők, amelyről steril merisztémák minden nehézség nélkül izolálhatók. Mi a vírusmentesítést, a merisztémaizolálási eljárást az első fázisban végeztük.

Második fázis: Ez a szakasz a tulajdonképpeni szaporító szakasz. Az izolált merisztémákat olyan táptalajra helyezük, ahol a növényi hormonok olyan arányban elegyítettek, amely elősegíti a hajtásnövekedést is, járulékos hajtásképződést indukálnak, ill. az újonnan keletkezett oldalrügyek kifakadását serkentik. A második fázis ugyanolyan táptalajon történő szubkultúrák sorozata, amelynek során a hajtásokat egyrügyes darabokra feldarabolják és minden egyes rüggyel új szubkultúrát indukálnak. Ezeknek a szubkultúráknak a száma elvileg végtelen lehet, de a gyakorlatban 18—20 passzálás után a szaporodási sebesség lelassul, és ilyenkor célszerűbb ismét a kiinduló anyagból folytatni a szaporítást. A mi rendszerünkben ebben a fázisban teszteltünk, ill. teszteljük le a vírusmentességét a különböző merisztematikus vonalaknak. Csak azok a vonalak szaporíthatók tovább, amelyek a nagyon szigorú teszt alapján vírusmentesnek mutatkoznak. Erre a célra igen nagy érzékenységgű szerológiai eljárást, az ún. ELISA tesztet használtuk. Az intézetünkben elért szaporodási ráta ebben a szakaszban általában 6—8 rügy/hónap, ami éves viszonylatban elméletileg mintegy 2 milliárd egyedszámot tesz ki, amit összehasonlítva a hagyományos (maximum 70 rügy/év) szaporítással, a különbség igen jelentős. Természetesen a gyakorlatban ilyen nagyszámú növényt nem lehet előállítani, és nincs is rá szükség, de néhány 10 millió nem irreális. Mint ebből látható, a szaporodási sebesség *in vitro* körülmények között versenyképes a hagyományossal szemben.

Harmadik fázis: Ebben a fázisban készítjük elő az *in vitro* nevelt szőlődugványokat a talajba történő kiültetésre. A táptalaj nem tartalmaz citokinint, csupán ausint igen alacsony koncentrációban, és a táptalaj sókoncentrációját is csökkenteni kell. A klímaszobában ebben a fázisban növelni kell a fényintenzitást. Ebben a szakaszban az *in vitro* növénykékek gyökereket fejlesztenek, és a fotoszintetikus aktivitásuk megnő, alkalmassá válnak a kiültetésre.

A növények lombikból történő kiültetése igen kritikus, sokan negyedik fázisnak nevezik. Hatékony veszteségmentes elvégzése nagyfokú gyakorlatot tételez fel a lágyszárú növények vegetatív szaporításában.

Bizonyára Önök közül sokan tapasztalták, hogy egy új technikát bevezetni nagyon nehéz a mi körülményeink között, azonban a mi esetünkben szerencsénk volt, mert a Rozmaring MgTsz vezetősége igen hamar felismerte a módszerben rejlő lehetőségeket, és mivel kertészetében igen magas technológiai színvonalon tudják a lágyszárú dísnövényeket vegetatív úton szaporítani, megvolt az a technikai bázis, ahol az általunk kidolgozott eljárásokat üzemi szinten alkalmazni tudták.