

Morfológiai és fiziológiai eltérések mikroszaporított *Vriesea splendens* ‘Fire’ növényeken

ÖRDÖGH MÁTÉ

Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem, Tájépítészeti,
Településtervezési és Díszkertészeti Intézet, Dísznövénytermesztési
és Dendrológiai Tanszék, Budapest

E-mail: ordogh.mate@uni-mate.hu

Összefoglalás

A *Vriesea splendens* ‘Fire’ *in vitro* sokszorosításakor és gyökereztetésekor 0,1, 0,2, 0,4 és 0,8 mg l⁻¹ benziladenin (BA), benziladenin-ribozid (BAR), kinetin (KIN), meta-topolin (MT) citokinineket, valamint indol-vajsav (IVS), naftil-ecetsav (NES) auxinokat adtam Murashige és Skoog (MS, 1962) alaptáptalajhoz. Csaknem mindegyik citokininnel kiegészített táptalajon (a kinetint leszámítva) a növények szignifikánsan több sarjat hoztak létre a hormonmentes kontrollhoz képest, különösen BA használatakor. A citokinin koncentráció emelésével nőtt a sarjszám (és BA esetén a peroxidáz enzimaktivitás), de csökkentek a gyökerezési paraméterek. A gyökérképződésre mindkét auxin (főleg a NES) előnyös volt, a magasabb auxinkoncentrációk pedig hatékonyan serkentették a gyökérmegnyúlást is. A kinetin hasonló hatást fejtett ki. Három hónapos akklimatizációs idő elteltével a korábban bizonyos citokinint (kinetint minden koncentrációban, illetve 0,1 mg l⁻¹ MT esetén) vagy az auxinok valamelyikét tartalmazó táptalajokon tartott növények túlélése nagyobb volt, ám negatív utóhatásként a magasabb BA, BAR és MT citokinin dózisok csökkentették a túlélő egyedek arányát.

Kulcsszavak: auxinok, citokininek, *in vitro*, *Vriesea*

Morphological and physiological differences of micropropagated *Vriesea splendens* 'Fire' plants

MÁTÉ ÖRDÖGH

Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Institute of Landscape Architecture,
Urban Planning and Garden Art, Department of Floriculture and Dendrology

E-mail: ordogh.mate@uni-mate.hu

Summery

During in vitro propagation and rooting of *Vriesea splendens* 'Fire', 0.1, 0.2, 0.4 and 0.8 mg l⁻¹ benzyladenine (BA), benzyladenine-riboside (BAR), kinetin (KIN), meta-topoline (MT) cytokinins, indole-butyric acid (IBA) and naphthalene-acetic acid (NAA) auxins were added to Murashige and Skoog (MS, 1962) medium. As compared to the hormone-free control, plants produced significantly more shoots on medium with almost all cytokinins (except KIN), especially BA. Enhancement of cytokinin doses increased shoot number (and peroxidase activity when BA was added) but decreased plant height and rooting parameters. Both auxins (especially NAA) were efficient for root development, furthermore, their higher concentrations stimulated root elongation, however, KIN had similar effects. After a 3-month-long acclimatization, plants that were previously grown on medium with certain cytokinins (KIN in all doses and 0.1 mg l⁻¹ MT) or both auxins had greater survival ratio. In addition, as a negative after-effect, higher BA, BAR and MT cytokinin concentrations reduced the number of surviving specimens.

Keywords: auxins, cytokinins, in vitro, *Vriesea*

Irodalmi áttekintés

A *Vriesea* nemzetség a *Tillandsioideae* alcsaládba tartozik (Luther 2014); többségében trópusi, braziliai epifitonok viszonylag kis kiterjedésű gyökérzettel, hosszú, széles, sokszor színes (csíkos, foltos) levelekkel, melyek rozettába, középen tölcészerűen rendeződve hatékony vízgyűjtést és -tárolást tesznek lehetővé. A *Vriesea* taxonok (több mint 150 faj, több száz hibrid és fajta) népszerű dísznövények, nem csak tetszetős lombozatuk, hanem a különleges, kard alakú virágzatuk miatt. Utóbbiak tartósan díszítő piros fellevelei és változó (sárga, fehér, zöldes) színű, noha rövid ideig nyíló virágai egyaránt dekoratívak. Sarjleválasztással szaporíthatók, ám kevés hajtást hoznak (Makara 1982), magról vetve pedig csírázókéességük alacsony (Mercier és Kerbauy 1995), ezért a mikroszaporítás kedvezőbb eredményt adhat, különösen akkor, ha kórokozómentes, genetikailag stabil, környezettől függetlenül szabályozható sokszorosítás a cél (Da Silva et al. 2009).

Vrieseák esetén *in vitro* szaporítási kísérleteket főként veszélyeztetett, endemikus fajoknál végeztek, a fogyatkozó populációkra nehezedő teher (pl. növénygyűjtés) csökkentése érdekében (Tamaki et al. 2011). Ehhez *V. cacuminis* (Resende et al. 2016), *V. scalaris* (Da Silva et al. 2009), *V. gigantea* és *V. philippocoburgii* (Droste et al. 2005), *V. flammea* (Sasamori et al. 2020), *V. incurvata* (Sasamori et al. 2022), *V. friburgensis* (Corredor-Prado et al. 2023) magokat sterilizáltak, amiket teljes vagy fél makroelem-töménységű MS (Murashige és Skoog 1962) vagy K (Knudson 1946) táptalajra helyeztek. A magok helyett a termések fertőtlenítése kevésbé vált be (Sasamori et al. 2020). Bizonyos esetekben fiatal vagy alapi elhelyezkedésű levelek használata is sikert hozott a *V. reitzii* (Alves et al. 2006; Dal Vesco és Guerra 2010) és a *V. scalaris* (Da Silva et al. 2009) esetén.

A magokról vagy más alapanyagokból történő indítást követően különféle növekedésszabályozók, például BA, gibberellin sav (GA_3), NES, IVS (Resende et al. 2016; Hernández-Meneses et al. 2018), KIN (Da Silva et al. 2009), 2-iP, 2,4-D (Alves et al. 2006; Dal Vesco és Guerra 2010) vagy más kiegészítők, mint aktív szén (Droste et al. 2005), aszkorbinsav, hidrolizált kazein, B5-vitamin (Da Silva et al. 2009) alkalmazására került sor, hogy serkentsék a szaporodást és a gyökeresedést. A *V. inflata* (Freitas et al. 2015) és a *V. flammea* (Sasamori et al. 2020) fajok *in vitro* fejlődése, később akklimatizációja során nemcsak a hormonok, hanem a szacharóz különböző koncentrációinak utóhatását is vizsgálták. A *Vrieseák* azonban még így is lassan fejlődtek, akklimatizálásuk viszont nem volt nehéz, különösen akkor, ha az *in vitro* növényeket előzetesen GA_3 kiegészítésű táptalajon nevelték (Resende et al. 2016; Hernández-Meneses et al. 2018) vagy ha az MS-makroelemek (Sasamori et al. 2020), illetve a szacharóz (Freitas et al. 2015) koncentrációt csökkentették.

Jelen kutatás célja morfológiai és fiziológiai eltérések kimutatása volt a *Lutheria splendens* (syn. *Vriesea splendens*) 'Fire' *in vitro* csoportok között aszerint, hogy az egyes csoportok alapjául szolgáló citokinin és auxinok milyen hatást fejtettek ki a sarj- és gyökérképződésre.

Anyag és módszer

A kísérlet növényei, helyszínek

Az *in vitro* magvetésből származó állományból a kísérlet céljára kiválogatott, 1,5-1,8 cm méretű, gyökértelen növények a kisebb méretű, 20-25 cm-es levelekkel és 30-35 cm-es virágszárral (Tillyné és Honfi 2008)

rendelkező *V. splendens* 'Fire' fajtát képviselték. A mikroszaporítási munkálatokat, méréseket a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszékének laboratóriumában végeztem, majd az *in vitro* (sarj- és gyökérképződés serkentési) szakaszok után a lombikokból kikerült, 3-4 cm-es magyságot elérő példányokat tanszékünk egyik üvegházában akklimatizáltam.

A kísérlet fizikai körülményei

A növények 20 g l⁻¹ szacharózt (Reanal Finomvegyszergyár Zrt., Magyarország), 5 g l⁻¹ agart (Sigma-Aldrich, Merck, USA) tartalmazó MS alaptáptalajjal töltött Erlenmeyer lombikokba kerültek. A hormonmentes kontrollon kívül négy koncentrációban (0,1, 0,2, 0,4 és 0,8 mg l⁻¹, a grafikonokon „1, 2, 4 és 8” számozással) hatféle növekedésszabályozó anyagot adtam kiegészítésként: benziladenint (BA), benziladenin-ribozidot (BAR), kinetint (KIN), meta-topolint (MT), naftil-ecetsavat (NES) és indol-vajsavat (IVS). A kémhatást kálium-hidroxiddal pH 5,6-ra állítottam be, a kész táptalajokat 30 percig 10⁵ Pa nyomáson autoklávval sterilizáltam. A tenyészeteket 40 μmol m⁻¹ s⁻¹ erősségű hideg és meleg fehér T8-as fénycsövekkel (Polylux XL, Osram, München, Németország) világítottam meg 16/8 világos/sötét periódusban, az átlagos hőmérsékletet 20-25 °C volt a laboratóriumban. Az akklimatizálást fűtött (a téli időszakban is legalább 18-20 °C-os, nyáron pedig az árnyékolórendszer segítségével legfeljebb 25-27 °C-os beltéri hőmérsékletű) üvegházban, külön megvilágítás és tápanyagutánpótlás nélkül végeztem. Az első hónapban még ideiglenes fátyolfóliás takarást kaptak a 104-es sejtálcákba, fehér tőzeg (Novobalt, Rekyva, Litvánia) + perlit + vermikulit 1:1:1 arányú keverékébe ültetett, a későbbiekben heti rendszerességgel, csapvízzel öntözött növények.

Vizsgálatok, adatok kiértékelése

90 nappal később vizsgáltam az *in vitro* növények magasságát és friss tömegét, sarjszámát, a gyökerek számát és azok hosszát, a gyökerezési százalékot, valamint az alábbiakban részletezett fiziológiai paramétereket. Kétszeres ismételtsben, kezelésként 30 növény tulajdonságait rögzítettem.

A klorofill (a+ b) meghatározásához minden táptalajból 3 x 0,1 g levelet gyűjtöttem. A levélmintákat késhegynyi kvarchomok + 10 ml aceton (80%) felhasználásával dörzsmozsárban homogenizáltam, és 24 órán át 4 °C-on ülepttettem, ezután a szuszpenziók analizálását GeneSys VIS-10 (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) spektrofotométerrel 644 és 663 hullámhosszon végeztem. A pigmentkoncentráció (μg g⁻¹) kiszámítására az alábbi képlet szolgált:

$$(20,2 \times A_{644} + 8,02 \times A_{663}) \times V/w$$

V = a szövetkivonat térfogata (10 ml),

w = a szövet friss tömege (0,1 g),

A = abszorbancia (Arnon 1949)

A peroxidáz (POD) enzim aktivitás vizsgálatához csoportonként szintén 3 x 0,1 g levelet pépesítettem 1,5 ml KH₂PO₄-gyel (pH=6,5, 0,05 M) töltött, az enzimreakció lassítása végett mélyhűtőben lehűtött mozsárban. Hűtött centrifugálás után (4 °C, 20 perc, 13500 rpm) a szilárd részecskék nélküli kivonatokat használtam fel a spektrofotometriás méréshez (beállított hullámhossz: 460 nm). A reakcióhoz a növényi kivonatokat (csoportonként 3 x 0,01 ml-t) 1,7 ml

$C_2H_3NaO_2$ -vel (pH=4,5, 0,1 M), 0,03 ml H_2O_2 -vel és 0,02 ml ortodianizidinnel (3,3'-dimetoxibenzidin) kevertem össze. Az enzimaktivitást ($U\ mg^{-1}$) a következő képlettel határoztam meg:

$$(\Delta A1 \times \text{hígulás})/\epsilon$$

$\Delta A1$ = abszorbancia változás 1 perc alatt,

$\epsilon = 11,3$: az ortodianizidin extinkciós együtthatója (Shannon et al. 1966)

A méréseket követően kezdtem az akklimatizálást (ekkor került sor a növények sejtálcákba ültetésére az üvegházi neveléshez), 170 nappal később pedig kiszámítottam a túlélési arányokat

A sarj- és gyökérszám, növénymagasság és friss tömeg, illetve a klorofill és peroxidáz átlagokat az SPSS 23.00 (IBM Corp., USA) program segítségével vettem össze, varianciaanalízissel (ANOVA). Az egyes csoportok (kezelések) közötti szignifikáns különbségek kimutatására Tukey tesztet alkalmaztam $p < 0,05$ valószínűség mellett.

Eredmények és következtetések

A BA hatékonyan fokozta a sarjképződést, és a magasabb ($0,4$ és $0,8\ mg\ l^{-1}$) koncentrációk szignifikánsan a legnagyobb, 20 db/explantátum fölötti értékeket eredményezték. Emellett a magasabb BA, BAR és MT dózisok is növelték a sarjszámot, így a legsűrűbb sarjcsoporthoz a legmagasabb citokinin szinten jöttek létre, kivéve a KIN használatokor. Utóbbi citokinin a legalacsonyabb átlagokhoz vezetett, az ilyen kiegészítésű táptalajokon általában legfeljebb 6 sarj fejlődött. A *V. scalaris in vitro* felszaporítása során is a BA hatékonyabb volt, mint a KIN, mivel az utóbbi citokinin a közel 8 helyett csak 1-2 sarjat eredményezett (Da Silva et al. 2009). Kísérletemben szintén alacsony (6-8 sarj) értékeket kaptam IVS vagy NES tartalmú táptalajokon. Általánosságban elmondható, hogy az auxinok inkább a gyökérfejlődést serkentik, mint a sarjadzást, azonban a *V. gigantea* és a *V. philippocoburgii* esetében a NES mind a sarjak, mind a gyökerek kialakulását segítette (Droste et al. 2005). Más fajok, mint például a *V. caccuminis* vagy a *V. heliconioides* akkor produkáltak a legjobb szaporodást (7-9 sarjat), ha magas ($2,5$ vagy $3,4\ mg\ l^{-1}$) dózisú BA-t $0,2$ vagy $0,9\ mg\ l^{-1}$ NES auxinnal kombináltak (Resende et al. 2016; Hernández-Meneses et al. 2018). A *V. reitzii* esetében 2 hónap elteltével intenzívebb sarjfejlődést értek el, főként $0,4\ mg\ l^{-1}$ NES-sel és $0,4\ mg\ l^{-1}$ 2-iP-vel kiegészített táptalajon (Dal Vesco és Guerra 2010). Egy másik tanulmányban ugyanazon faj szaporodása akkor volt optimális, amikor a növényeket BA, KIN és 2,4-D citonikinkombinációban tartották (Alves et al. 2006).

Az összes citokinin minden koncentrációja alacsonyabb növényekhez vezetett a kontrollhoz ($30,56\ cm$) képest, főként $0,4$ és/vagy $0,8\ mg\ l^{-1}$ BA, BAR és MT szignifikánsan kisebb (többnyire $24-26,5\ mm$) átlagokat eredményezett. Ezzel szemben az auxin kiegészítésű táptalajokon, kiváltképp a $0,2-0,8\ mg\ l^{-1}$ NES-t tartalmazókon fejlődtek a legmagasabb (legalább $33\ mm$ -es) példányok; ez esetben a sarjszám és a növénymagasság fordított arányban állt egymással. Hernández-Meneses et al. (2018) azt tapasztalták, hogy a gibberellinsavas kezelés ($0,3\ mg\ l^{-1}\ GA_3$) $70\ mm$ -nél is magasabb egyedeket eredményezett a *V. heliconioides* állományban. A *V. reitzii* növények is különböző koncentrációjú GA_3 kiegészítést igényeltek a hasonló méret eléréséhez (Dal Vesco és Guerra 2010). Ezek alapján a GA_3 használata jobban elősegíthette volna jelen kísérletben is a *V. splendens* 'Fire' növények megnyúlását, mindenesetre Guerra és Dal Vesco (2010) szerint

ennek a növekedésszabályozónak az alkalmazása előnyös a magasabb termethez e faj olyan állományai esetén, amelyek előzőleg citokinin aktivitással rendelkező tidiazuront (TDZ) tartalmazó táptalajon fejlődtek.

A növények (pontosabban: hajtáscsomók) friss tömege a NES kiegészítésű táptalajon volt a legnagyobb, ennek az auxinnak a legmagasabb ($0,8 \text{ mg l}^{-1}$) koncentrációja legalább 1 g-os tömeget eredményezett. A legalacsonyabb értékeket ($0,4\text{--}0,5 \text{ g}$ körül) a KIN és az MT használatakor kaptam. E növekedésszabályozók csökkentették a sarjak számát és/vagy a növénymagasságot, melyek általában egyenes arányban álltak a növénytömeggel. Más kiegészítők (pl. B5-vitamin) alkalmazása a *V. scalaris* sarjadását és friss tömegét növelte, értelemszerűen a nagyobb hajtásszámú példányok nehezebbek is voltak (Da Silva et al. 2009). A *V. flammea* esetében a magasabb szacharóz koncentráció (60 g l^{-1} -ig) eredményezett nagyobb friss növénytömeget (Sasamori et al. 2020).

A sarjszám, növénymagasság, friss növénytömeg eredményeket részletesebben az 1. táblázat, illetve az eltérő típusú, de azonos koncentrációjú citokininnek esetén is látható eltéréseket az 1. ábra szemlélteti.

1. ábra. Különböző típusú, azonos koncentrációjú ($0,4 \text{ mg l}^{-1}$) citokininnek hatása a *Vriesea splendens* 'Fire' növények in vitro fejlődésére. A vízszintes vonal 10 mm-t jelöl

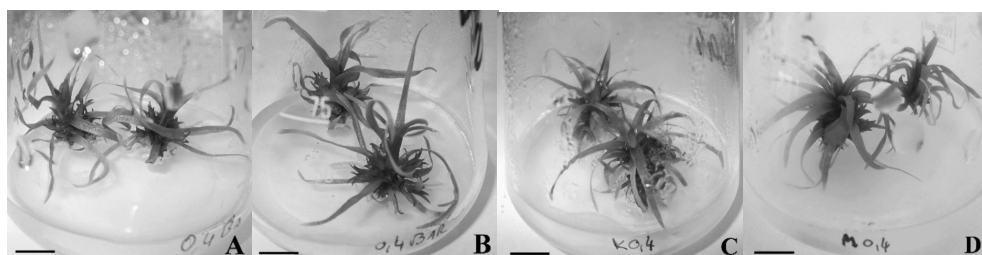


Figure 1. The effect of different cytokinins (in same concentration: 0.4 mg l^{-1}) on *Vriesea splendens* 'Fire' plants' in vitro development (A: BA, B: BAR, C: MT and D: MT). Scale bars represent 10 mm

A legmagasabb átlagértékeket (rendszerint több mint 6 db, legalább 20 mm hosszúságú gyökér) a NES-t tartalmazó táptalajon nevelt csoportoknál kaptam; a $0,2 \text{ mg l}^{-1}$ koncentráció eredményezte a legtöbbet (7,58 db-ot), $0,8 \text{ mg l}^{-1}$ dózis pedig a legnagyobb (közel 27 mm-es) hosszúságot. Továbbá, csak ez a növekedésszabályozó vezetett 100%-os gyökeresedési arányhoz. A többi hormon (beleértve az IVS-t is) gyengébb hatást fejtett ki, a legalacsonyabb értékeket főleg töményebb BA-, BAR- vagy minden MT-koncentráció eredményezte (2. táblázat). Resende et al. (2016) kísérletében a *V. cacinis* gyökereztetésekor is a NES a többi auxinhoz (IES, IVS) képest hatékonyabban serkentette a gyökérfejlődést, a legjobb eredményt (2,3 db gyökér, 14 mm-es hossz) $0,04 \text{ mg l}^{-1}$ NES esetén érték el. Azonban nem minden *Vriesea* taxonnál váltak be az auxinok; az IVS alkalmazása csökkentette a *V. scalaris* gyökerezését, és a legmagasabb gyökeresedési arányt (40%) e hormon mellőzésekor mutatták ki (Da Silva et al. 2009).

1. táblázat. In vitro *Vriesea splendens* 'Fire' növények sarjszáma, magassága és friss tömege különféle növekedésszabályozókat tartalmazó Murashige és Skoog (1962) táptalajokon, az átlagok és szórások (SD) feltüntetésével. Az eltérő betűjelzések szignifikáns különbségeket jeleznek a Tukey-teszt alapján, $p \leq 0,05$ valószínűségi értéken

		Sarjszám (db) ± SD	Növénymagasság (mm) ± SD	Friss növénytömeg (g) ± SD
Kontroll		3,84 ± 0,82 a	30,56 ± 2,56 fg	0,48 ± 0,1 ab
BA (ml l ⁻¹)	0,1	13,28 ± 1,24 ijk	30,17 ± 3,09 efghi	0,72 ± 0,16 cdefghi
	0,2	17,76 ± 3,47 l	26,78 ± 2,41 abcdef	0,86 ± 0,18 ghij
	0,4	21,78 ± 3,41 m	26,12 ± 2,76 abcde	0,89 ± 0,16 ij
	0,8	25,75 ± 3,63 n	25,65 ± 1,86 abc	0,88 ± 0,17 hij
BAR (ml l ⁻¹)	0,1	9,96 ± 1,67 fgh	27,33 ± 3,91 abcdefg	0,86 ± 0,24 ghij
	0,2	12,08 ± 2,05 hij	25,77 ± 2,97 abcd	0,61 ± 0,11 abcdef
	0,4	15,28 ± 2,47 kl	25,13 ± 2,42 ab	0,82 ± 0,17 fghij
	0,8	15,88 ± 2,37 kl	25,7 ± 2,96 abcd	0,85 ± 0,17 ghij
KIN (ml l ⁻¹)	0,1	4,51 ± 1 ab	30,06 ± 4,02 defghi	0,62 ± 0,18 abcdefg
	0,2	6,1 ± 1 abcd	24,12 ± 3,5 ab	0,41 ± 0,1 a
	0,4	5,95 ± 1,18 abc	24,85 ± 2,69 ab	0,43 ± 0,09 ab
	0,8	5,93 ± 1,19 abc	27,68 ± 3,41 bcdefgh	0,51 ± 0,1 abc
MT (ml l ⁻¹)	0,1	9,73 ± 1,79 efgh	25,56 ± 2,52 abc	0,49 ± 0,09 ab
	0,2	11,26 ± 1,95 ghi	27,7 ± 2,9 bcdefgh	0,56 ± 0,09 abcde
	0,4	13,4 ± 2,19 ijk	23,1 ± 1,95 a	0,53 ± 0,08 abcd
	0,8	14,11 ± 2,09 jk	24,2 ± 2,9 ab	0,47 ± 0,11 ab
IVS (ml l ⁻¹)	0,1	3,84 ± 0,82 a	30,56 ± 2,56 fg	0,48 ± 0,1 ab
	0,2	6,88 ± 1,51 bcd	31,33 ± 3,3 ghij	0,78 ± 0,23 efghi
	0,4	8,8 ± 2,94 defg	27,4 ± 3,13 abcdefg	0,65 ± 0,15 bcdefgh
	0,8	6,6 ± 2,06 abcd	32,05 ± 4,42 hij	0,78 ± 0,25 efghi
NES (ml l ⁻¹)	0,1	6,06 ± 1,29 abcd	29,63 ± 4,04 cdefghi	0,75 ± 0,13 defghi
	0,2	8,25 ± 2,07 cdef	35,56 ± 4,64 j	1,03 ± 0,29 jk
	0,4	7,95 ± 2 cdef	33,41 ± 4,1 ij	0,93 ± 0,29 ijk
	0,8	7,15 ± 1,81 bcde	33,85 ± 4,13 ij	1,13 ± 0,23 k

Table 1. Shoot number, plant height and fresh weight of in vitro *Vriesea splendens* 'Fire' plants grown on Murashige and Skoog (1962) medium supplemented with different growth regulators. Data represented by mean ± standard deviation (SD). Means with different letters are significantly different according to Tukey's test at $p < 0.05$

2. táblázat. *In vitro* *Vriesea splendens* 'Fire' növények gyökérparaméterei különféle növekedésszabályozókat tartalmazó Murashige és Skoog (1962) táptalajokon, az átlagok és szórások (SD) feltüntetésével. A gyökérszám és -hossz esetén az eltérő betűjelzések szignifikáns különbségeket jeleznek a Tukey-teszt alapján, $p \leq 0,05$ valószínűségi értéken

		Gyökérszám (db) ± SD	Gyökérhossz (mm) ± SD	Gyökeresedési arány (%)
	Kontroll	2,24 ± 0,63 ef	9,72 ± 2,31 cde	98,3
BA (ml l ⁻¹)	0,1	3,89 ± 0,95 g	12,01 ± 2,63 def	98,2
	0,2	2,41 ± 0,88 ef	7,78 ± 2,58 bc	84,8
	0,4	1,21 ± 0,58 abcde	3,91 ± 2,8 ab	45,6
	0,8	0,91 ± 6,06 abc	2,76 ± 1,8 a	46,7
BAR (ml l ⁻¹)	0,1	1,87 ± 0,91 cdef	5,1 ± 2,38 ab	66,7
	0,2	1,08 ± 0,54 abcd	5,1 ± 2,67 ab	62
	0,4	0,95 ± 0,56abc	3,65 ± 2,18 a	51,7
	0,8	0,91 ± 0,53 abc	4,01 ± 2,3 ab	53,3
KIN (ml l ⁻¹)	0,1	1,81 ± 0,59 bcdef	12,7 ± 4,33 def	83,3
	0,2	2,24 ± 0,57 ef	9,82 ± 3 cde	89,6
	0,4	1,93 ± 0,6 cdef	9,83 ± 3,51 cde	88,3
	0,8	2,06 ± 0,55 cdef	12,96 ± 3,41 def	90
MT (ml l ⁻¹)	0,1	0,58 ± 0,45 a	2,36 ± 1,79 a	36,7
	0,2	0,66 ± 0,46 ab	3,33 ± 2,3 a	41,7
	0,4	0,43 ± 0,38 a	1,98 ± 1,85 a	28,3
	0,8	0,41 ± 0,35 a	2,6 ± 2,24 a	30
IVS (ml l ⁻¹)	0,1	2,24 ± 0,63 ef	9,72 ± 2,31 cde	91,4
	0,2	2,17 ± 0,75 def	9,27 ± 3,37 cde	82,2
	0,4	2,72 ± 0,62 f	14,17 ± 2,92 fg	98,4
	0,8	2,58 ± 0,77 f	13,5 ± 4,7 ef	87,9
NES (ml l ⁻¹)	0,1	5 ± 1,21 g	18,21 ± 3,82 g	100
	0,2	7,58 ± 1,98 h	22,82 ± 3,05 h	100
	0,4	6,55 ± 1,71 h	23,21 ± 3,68 hi	100
	0,8	6,53 ± 1,01 h	26,88 ± 3,85 i	100

Table 2. Root parameters of *in vitro* *Vriesea splendens* 'Fire' plants cultured on Murashige and Skoog (1962) medium containing different growth regulators. Data represented by mean ±

A *V. heliconioides* esetén auxinok helyett $0,3 \text{ mg l}^{-1} \text{ GA}_3$ volt az optimális, ekkor átlagosan négy gyökér alakult ki növényenként (Hernández-Meneses et al. 2018). Más esetben a szacharóz mennyiségének módosítása befolyásolta a gyökérparamétereket; az alacsonyabb dózisok (átlagosan 17 g l^{-1} a $20\text{--}60 \text{ g l}^{-1}$ helyett) fokozták a *V. inflata* gyökérnövekedését (Freitas et al. 2015), míg a *V. flammea* esetében éppen ellenkezőleg, magasabb koncentrációra volt szükség (általában többre, mint 30 g l^{-1}) a jobb eredmények érdekében (Sasamori et al. 2020).

Jelen tanulmányhoz kapcsolódóan az auxinok típusától és koncentrációjától függő mértékű gyökeresedési különbségek a 2. ábrán láthatók.

2. ábra. Az IVS és NES auxinok hatása az *in vitro* *Vriesea splendens* 'Fire' növények gyökeresedési jellemzőire (A-B-C és D: $0,1\text{--}0,2\text{--}0,4$ és $0,8 \text{ mg l}^{-1}$ IVS, E-F-G és H: $0,1\text{--}0,2\text{--}0,4$ és $0,8 \text{ mg l}^{-1}$ NES). A vízszintes vonal 10 mm -t jelöl

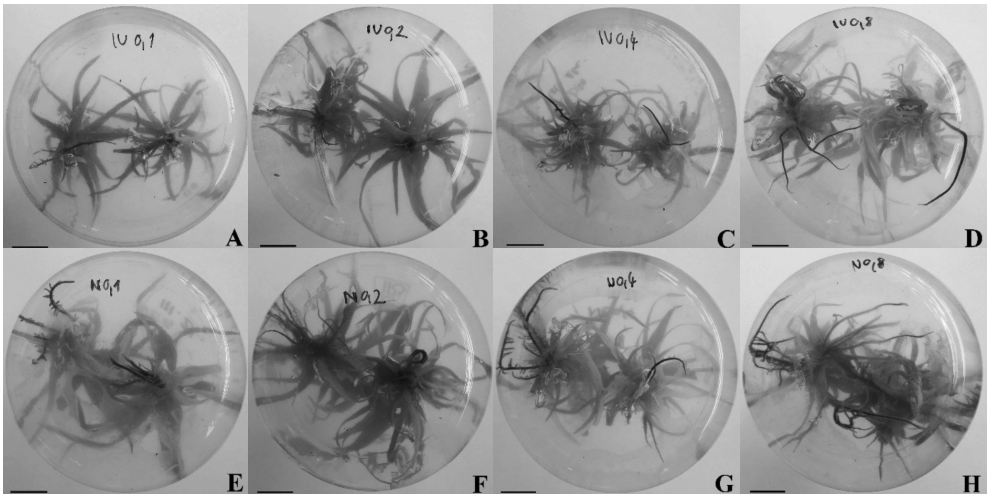


Figure 2. The effect of IBA and NAA on rooting characteristics of *in vitro* *Vriesea splendens* 'Fire' plants (A-B-C and D: $0,1\text{--}0,2\text{--}0,4$ and $0,8 \text{ mg l}^{-1}$ IBA, E-F-G and H: $0,1\text{--}0,2\text{--}0,4$ and $0,8 \text{ mg l}^{-1}$ NAA), Scale bars represents 10 mm

A kontrollhoz képest a legtöbb növekedésszabályozó alacsonyabb (általában $1500 \mu\text{g g}^{-1}$ átlagot nem meghaladó) klorofill értékekhez vezetett, csak $0,1$ és $0,2 \text{ mg l}^{-1}$ IVS, $0,2$ és $0,8 \text{ mg l}^{-1}$ NES eredményezett $1750 \mu\text{g g}^{-1}$ feletti pigmentmennyiségeket; összességében magasabb átlagokat kaptam az auxinokat tartalmazó táptalajokon (3. ábra). Érdeemes megemlíteni, hogy a több (és hosszabb) gyökerű, IVS vagy NES kiegészítésen nevelt növények levelében általában magasabb volt a klorofilltartalom is. Egy másik kísérletben a szacharóz mennyiségének emelése növelte ezt a paramétert a *V. flammea in vitro* szaporítása során (Sasamori et al. 2020).

3. ábra. Az *in vitro* *Vriesea splendens* 'Fire' növények leveleinek klorofill (a+b) tartalma különféle táptalajokon. Az eltérő betűjelzések szignifikáns különbségeket jeleznek a Tukey-teszt alapján, $p \leq 0,05$ valószínűségi értéken

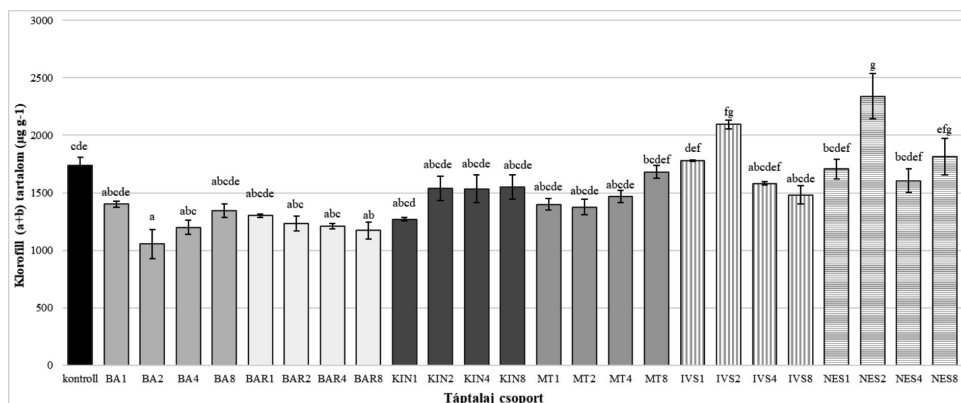


Figure 3. Chlorophyll (a+b) content of *in vitro* *Vriesea splendens* 'Fire' plants' leaves on different media. Bars with different letter are significantly different by Tukey's test at $p \leq 0.05$

Különösen a NES, IVS és magasabb BA koncentrációk eredményeztek szignifikánsan magasabb, $0,2 \text{ U mg}^{-1}$ körüli enzimaktivitást (4. ábra). A sarj/gyökérfejlődést segítő növekedésszabályozó anyagok egyben serkenthetik a fiziológiai folyamatokat is, fokozva az enzimekreakciókat. Kedvezőtlen körülmények, például szélsőséges hőmérséklet (Duarte et al. 2019) vagy magasabb szacharózkoncentráció (Martins et al. 2020) is stresszt indukálhatnak.

4. ábra. Az *in vitro* *Vriesea splendens* 'Fire' növények leveleinek peroxidáz enzimaktivitása különféle táptalajokon. Az eltérő betűjelzések szignifikáns különbségeket jeleznek a Tukey-teszt alapján, $p \leq 0,05$ valószínűségi értéken

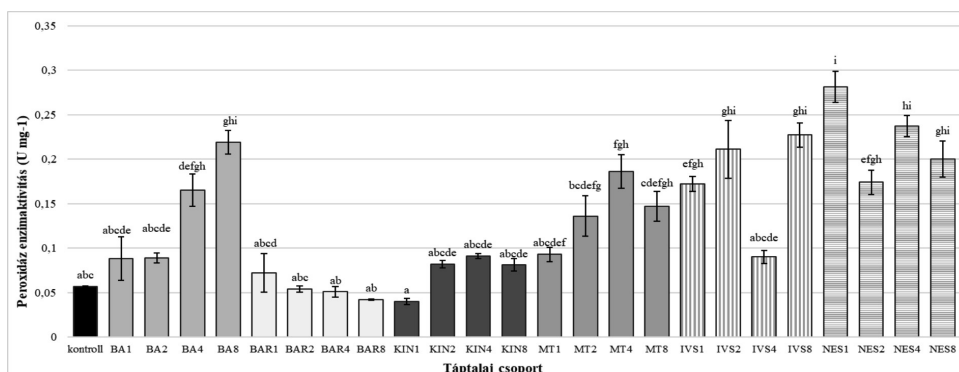


Figure 4. Peroxidase enzyme activity of *in vitro* *Vriesea splendens* 'Fire' plants' leaves on different media. Bars with different letter are significantly different by Tukey's test at $p \leq 0.05$

A legtöbb esetben azok az egyedek, amelyek korábban $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ MT, mindegyik koncentrációjú KIN, IVS vagy NES kiegészítésű táptalajon fejlődtek, magasabb, legalább 70%-os arányban maradtak meg a 170 napos akklimatizációs időszak végére; egyébként ezek a csoportok több és hosszabb gyökeret is fejlesztettek az *in vitro* szakaszban. A citokininek (különösen az MT) mennyiségének emelése az *in vitro* szaporítás során negatív utóhatással járt, ugyanis ez a dózisznövelés később a túlélést csökkentette az akklimatizáláskor (5. ábra). Az alacsonyabb MS makroelem vagy cukor (pl. szacharóz) koncentrációk is jobb akklimatizációs eredményeket adtak a *V. flammea* (Sasamori et al. 2020) és a *V. inflata* (Freitas et al. 2015) esetén.

5. ábra. Akklimatizált *Vriesea splendens* ‘Fire’ növények túlélési arányai különféle táptalajokon

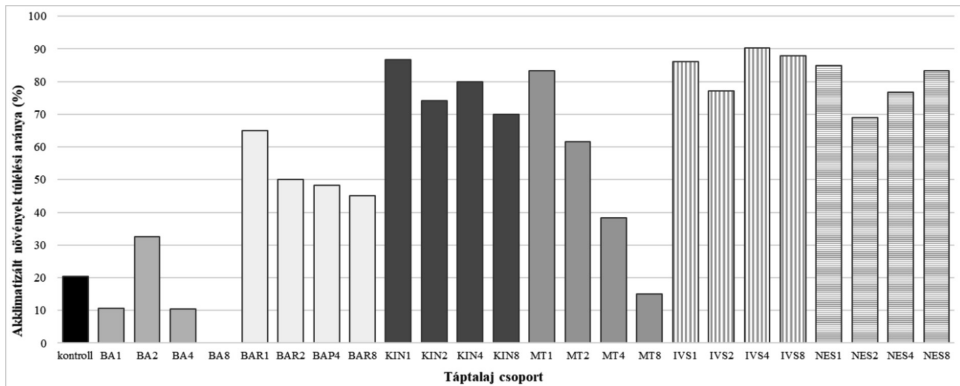


Figure 5. Survival ratios of acclimatized *Vriesea splendens* ‘Fire’ plants on different media

Felhasznált irodalom

- Alves, G. M., Dal Vesco, L. L., Guerra, M. P. 2006. Micropropagation of the Brazilian endemic bromeliad *Vriesea reitzii* through nodule clusters culture. Sci. Hort. 110(2): 204-207.
- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24(1): 1-15.
- Corredor-Prado, J. P., Santos-Amaya, O. F., Pescador, R. 2023. *In vitro* germination and reserve mobilization of *Vriesea friburgensis* Mez. Brazilian Journal of Biology 83, e273906 doi: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.273906>
- Da Silva A. L. L., Franco, E. T. H., Dornelles, E. B., Bortoli C. L. R., Quoirin, M. 2009. *In vitro* multiplication of *Vriesea scalaris* E. Morren (Bromeliaceae). Iheringia Série Botânica 64(2):151-156.
- Dal Vesco, L.L., and Guerra, M.P. (2010): *In vitro* morphogenesis and adventitious shoot mass regeneration of *Vriesea reitzii* from nodular cultures. Sci. Hort. 125: 748-755.
- Droste, A., Da Silva, A. M., Matos, A. V., De Almeida, J. W. 2005. *In vitro* culture of *Vriesea gigantea* and *Vriesea philippocoburgii*: two vulnerable bromeliads native to Southern Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology, 48(5): 717-722.

7. Duarte, A. A., da Silva, C. J., Marques, A. R., Modolo, L. V., Filho, J. P. L. 2019. Does oxidative stress determine the thermal limits of the regeneration niche of *Vriesea friburgensis* and *Alcantarea imperialis* (Bromeliaceae) seedlings? Journal of Thermal Biology, 80: 150-157.
8. Freitas C., Carvalho, V., Nievola, C. C. 2015. Effect of sucrose concentrations on *in vitro* growth and subsequent acclimatization of the native bromeliad *Vriesea inflata* (Wawra) Wawra. Revista Biotemas, 28(3): 37-42.
9. Guerra, M. P., and Dal Vesco, L. L. 2010. Strategies for the micropropagation of bromeliads. In: Jain, S. M., Ochatt, S. J. (Eds.), Protocols for *In Vitro* Propagation of Ornamental Plants. Humana Press-Springer, New York, 47-66.
10. Hernández-Meneses, E., Rangel-Estrada, S. E., López-Peralta, Ma. C. G., Guerrero-Hilario, A., Ortiz-Gil, G., Martínez-Bolanos, L. 2018. *In vitro* germination, viability and regeneration of *Vriesea heliconioides* (Kunth) Hook. ex Walp. plants. Rev. Fitotec. Mex. 41(2): 99-106.
11. Knudson, L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seeds. American Orchid Society Bulletin, 14: 214-217.
12. Luther, H. E. 2014. An alphabetical list of bromeliad binomials. 14th edition. Sarasota: Marie Selby Botanical Gardens & Bromeliad Society Internatinal, 45. <https://www.bsi.org/new/wp-content/uploads/2015/01/2014-Binomial-XIV.pdf>
13. Makara Gy. 1982. Orchideák és broméliák – Trópusi őserdők növénycsodái otthonunkban. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
14. Martins, J. P. R., Rodrigues, L. C. A., Conde, L. T., Gontijo, A. B. P. L., Falqueto, A. R. 2020. Anatomical and physiological changes of *in vitro* propagated *Vriesea imperialis* (Bromeliaceae) in the function of sucrose and ventilated containers. Plant Biosystems – An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, 154(1): 87-99.
15. Mercier, H., and Kerbauy, G. B. 1995. The importance of tissue culture technique for conservation of endangered Brazilian bromeliads from Atlantic rain forest canopy. Selbyana, 16(2):147-149.
16. Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15(3): 473-497.
17. Resende, C. F., Ribeiro, C., Mendes, G. C., Soares, C. Q. G., Braga, V. F., Cruz, B. P., Forzza, R. C., Peixoto, P. H. P. 2016. *In vitro* culture of *Vriesea cacuminis* L.B. Sm. (Bromeliaceae): an endemic species of Ibitipoca State Park, MG, Brazil. Iheringia Série Botânica, 71(1): 55-61.
18. Sasamori, M. H., Endres-Júnior, D., Droste, A. 2020. Conservation of *Vriesea flammea* L.B.Sm., and endemic Brazilian bromeliad: effects of nutrients and carbon source on plant development. Brazilian Journal of Biology, 80(2): 437-448.
19. Sasamori, M.H., Endres-Júnior, D., do Amaral, S.V., and Droste, A. 2022. Translocation of the epiphytic bromeliad *Vriesea incurvata*: an efficient tool for biodiversity restoration in the Atlantic Forest. Revista Brasileira De Ciências Ambientais, 57(4): 677-688.
20. Shanon, L.M.; Kay, E. and Lew, J.Y. 1966. Peroxidase isozymes from horseradish roots. The Journal of Biological Chemistry 241(9): 2166-2172.
21. Tamaki, V., Nievola, C. C., Paula, S. M., and Kanashiro, S. 2011. Alternative nutritional solutions for the culture of ornamental bromeliads. O mundo da Saúde, 35(1): 91-97.
22. Tillyné Mándy A. és Honfi P. 2008. Növényházi dísznövénytermesztés. Inkart Kft. Budapest

Szerző:

Ördögh Máté – PhD, egyetemi adjunktus, Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet, Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék, 1118 Budapest, Villányi út 29-43.