

DIPLOMADOLGOZAT

Nádházy Evelin

2024



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Budai Campus

Kertészettudományi Intézet

Kertészmérnök mesterképzési szak

***Adenopdora liliifolia* mikroszaporítása és akklimatizációs vizsgálata**

Belső konzulens: Tillyné dr. Mándy Andrea
ny. egyetemi docens,
a mezőgazdasági
tudományok kandidátusa

Tanszék: Dísznövénytermesztési és
Dendrológiai Tanszék

Külső konzulens: Kovács Zsófia

Készítette: Nádházy Evelin

Budapest

2024

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék.....	1
1.Bevezetés, célkitűzés.....	3
2.Irodalmi áttekintés.....	4
2.1.A természetvédelem helyzete Magyarországon – a védett és veszélyeztetett fajok védelme	4
2.1.1. Hazai természetvédelmi törvények	4
2.1.2.Nemzetközi természetvédelmi törvények és egyezmények.....	5
2.2.Az <i>ex situ</i> állomány létesítés alapelvei, megvalósítása, a Biológiai Sokféleség Egyezmény	6
2.3.Az <i>Adenophora liliifolia</i> előfordulása Magyarországon és Európában, a magyarországi élőhelyek jellemzése.....	7
2.4.Az <i>Adenophora liliifolia</i> rendszertani besorolása, morfológiai és biológiai jellemzése	9
2.5.A <i>Campanulaceae</i> család jellemzői	10
2.6.A <i>Campanulaceae</i> család szaporítási lehetőségei	14
2.6.1.Generatív szaporítás	14
2.6.2.Vegetatív szaporítás, <i>in vitro</i> mikroszaporítás	14
3.Anyag és módszer.....	17
3.1. A tanulmányban elvégzett kísérletekben használt növények eredete.....	17
3.2. Az <i>in vitro</i> mikroszaporítási kísérlet bemutatása	18
3.2.1. Az <i>in vitro</i> szaporításhoz használt anyagok, a táptalaj-készítés módszere.....	19
3.2.2. Az <i>in vitro</i> szaporításos kísérlet beállításának menete	20
3.2.3. A kísérlet értékelésének menete	22
3.3. Az <i>in vitro</i> leszaporított állomány akklimatizálása	24
3.3.1. Az első akklimatizációs kísérlet bemutatása.....	24
3.3.2. A második akklimatizációs kísérlet bemutatása	27
4.Eredmények.....	30
4.1. Az <i>in vitro</i> szaporításos kísérlet eredményei.....	30
4.2.Az akklimatizációs kísérletek eredményei	34
4.2.1.Az első akklimatizációs kísérlet eredményei.....	34
4.2.2 A második akklimatizálás során kapott eredmények	34
5.Összefoglalás.....	36
6.Köszönetnyilvánítás.....	37
7.Irodalomjegyzék.....	38
Szakirodalmi források	38
Internetes források:.....	40

Nádházy Evelin

1.Bevezetés, célkitűzés

Alapképzésemet Természetvédelmi mérnök szakon végeztem el, az akkori nevén Szent István Egyetem, mai MATE, gödöllői campusán. Akkori tanulmányaimat is a jelenlegihez hasonló témaválasztással zártam, szakdolgozatomat két, hazánkban szintén fokozottan védett növényfajról, s azok különböző közegekben való fejlődéséről, in situ visszatelepítéséről készítettem.

Jelenlegi dolgozatomban a 2008 óta fokozottan védett *Adenophora liifolia*, vagyis magyar nevén illatos csengettyűvirággal foglalkoztunk. Dolgozatomat a Magyar Agrár –és Élettudományi Egyetem budai campusán, a Kertészettudományi karon, azon belül is legfőképpen a Budai arborétum belső üvegházában, illetve külső helyszíneken végzett kísérletek alapján állítottam össze. Konzulensem, Tillyné dr. Mándy Andrea és Kovács Zsófia PhD hallgató segítségével. Előzetes akklimatizációs kísérletekből kiindulva végeztük a faj in vitro szaporítását, majd az így létrejött állomány különböző közegekben való fejlődését, üvegházi körülmények között.

Célként a faj hazai természetes élőhelyére való *ex situ* telepítésének lehetőségeit, körülményeit tűztem ki, annak laboratóriumban, majd üvegházban történő in vitro szaporítását követően. A Fűvészkertben található már meglévő állományhoz csatlakozva, az általunk üvegházban felszaporított növényeket kiültetve, azok morfológiai tulajdonságok (magasság, levélszélesség, -hossz, -átmérő), illetve talajösszetétellel kapcsolatos preferenciájának vizsgálatát végeztük a vizsgált növények fejlődése során.

2.Irodalmi áttekintés

2.1.A természetvédelem helyzete Magyarországon – a védett és veszélyeztetett fajok védelme

Hazánkban a természetvédelem már a történelem előtti időkre visszanyúlik, igaz, a kezdetek kezdetén nem közvetlenül, de közvetve voltak védve egyes természeti területek illetve növény-és, állatfajok, felszínalaktani képződmények. Mivel Magyarország kivételes földrajzi tulajdonságokkal rendelkezik, érthető módon az idők során kialakulhattak a rendkívül változatos és egyedi területek, életközösségek, társulások. A Kárpát-medence területe a Pannon biogeográfiai régiót majdhogynem önmagában teszi ki, Európában egyedülálló természeti kincsekkel rendelkezik. Ennek eredményeképpen mára számos oltalom alatt álló területtel járul hozzá több egyezmény védett területeihez (Kocsis, 2018).

2.1.1. Hazai természetvédelmi törvények

Az első ilyenfajta megmozdulások között szerepel az 1879-es erdőtörvény, amely elsősorban ugyan a természeti javak használatát korlátozta és határozta meg, de ezzel közvetetten hozzájárult a jogszabályok általi magyar természetvédelem megalakulásához. Ezt követte több hasonló irányultságú rendelet, úgy, mint a vadon élő énekesmadarak vadászatáról és kereskedelméről, csak úgy, mint a talajok szennyezésének korlátozásáról szóló rendelkezések. 1935-ben Kaán Károly által összeállított, előkészített természetvédelmi törvényben már meg is határozták a védelem alá vont növény-és állatfajok listáját, a természeti területekkel együtt. Így nem véletlen, hogy három évvel később Magyarország Országos Természetvédelmi Tanácsának elnökeként választották meg (Keszthelyi, 1987).

Amerikában létrehozták a világ első Nemzeti Parját, a Yellowstone Nemzeti Parkot 1872-ben, ami arra buzdította a magyar természetvédőket, hogy hasonlóan cselekedjenek a természeti kincsek ilyenemű megőrzéséért. Ennek eredményeképpen itthon elsőként, 1939-ben a Debreceni Nagyerdő Természetvédelmi Területet, majd 1952-ben a Tihanyi Tájvédelmi Körzetet nyilvánították védetté. Végül országunkban elsőként hozták létre a Hortobágyi Nemzeti Parkot. Ezt követte még számos TT, TK és nemzeti park, amelyek napjainkra nézve 323 országos jelentőségű, egyedi jogszabállyal védett természeti területet jelent (Internet 1).

1961-ben mindez országos szinten, egy önálló szerv irányítása alá került, kihirdették az *ex lege*, vagyis törvény által védett értékeket, ebbe tartozott minden barlang, láp, forrás, víznyelő, szikes tó, kunhalom és földvár, ezeket az értékeket egy listában közölték. 1996-ban jelent meg a természet védelméről szóló LIII. rendelet, amely magába foglalja a táj, a vadon élő élővilág, élőhelyek, földtani értékek általános védelmét, a természeti területek körének meghatározását, ezek megóvására vonatkozó eljárási szabályokat. Ez a rendelet a mai napig, kisebb változtatásokkal ugyan, de továbbra is érvényes hazánkban (Internet 2).

2.1.2. Nemzetközi természetvédelmi törvények és egyezmények

Nemzetközi szinten is történtek rendelkezések, amik az Európai Unióhoz való csatlakozásunk miatt Magyarországra is vonatkoztak, és vonatkoznak napjainkban is. Ezeknek jelentősége miatt mindenképpen indokolt összefoglalni ezen intézkedések lényegét. Az egyik ilyen az Élőhelyvédelmi Irányelvből, illetve a Madárvédelmi Irányelvből összetevődő, európai jelentőségű területek megőrzésére szolgáló Natura2000 program is. (Demeter (szerk.), 2002) Meg kell említeni továbbá a Ramsari egyezményt, amely a nemzetközi jelentőségű vadvizekre, vízimadarakra és azok élő-és fészkelőhelyére irányuló védelmet írt elő 1971. február másodikán az iráni Ramsar városában, amelyhez Magyarország 1979-ben csatlakozik. Az egyezmény nem csak a vízimadarak és azon élőhelyeiként szolgáló vizes területek, más néven wetlands védelmét írja elő, de a magába foglalt területek természetvédelmét és azok helyes használatát (elsődlegesen a vízimadarak élőhelyeként) később az ökoszisztémák elengedhetetlen szereplőjeként és a biológiai sokféleség kulcsfontosságú pontjaként (Internet 3).

Megkötését tekintve 1973, hazai viszonylatban 1985-től lépett hatályba a veszélyeztetett vadon élő növény-, és állatfajok nemzetközi kereskedelméről szóló Washingtoni Egyezmény, más nevén CITES (Internet 5) (Internet 4). A következő fontos esemény a Bonni Egyezmény volt 1979-ben (Magyarországon 1986.), amely a vándorló vadon élő állatok védelmében kötött. Még ugyan ebben az évben írták alá a Berni Egyezményt (hazánkban 1989-ben), ami pedig az európai vadon élő élővilág és a természetes élőhelyek védelmében született (Internet 6).

2.2. Az *ex situ* állomány létesítés alapelvei, megvalósítása, a Biológiai Sokféleség Egyezmény

A Biológiai Sokféleség Egyezmény 1992-ben a Környezet és Fejlődés Világkonferencián Rióban jött létre, ezen a konferencián jött létre az Éghajlat változási Egyezmény is. A Biológiai Sokféleség Egyezmény kimondja, hogy a teljes élővilág fajszerkezetének változatossága megőrzendő, illetve a természeti források használatát korlátozása szükséges, hogy a természeti értékek használata fenntartható módon történjen. Ez az intézkedés a természetben fellelhető genetikai erőforrások, azok hasznainak megosztását szabályozza. Ezeket a törekvéseket az egyezmény átfogóan leírja, e célok elérése érdekében programok létrehozására ösztönzik a tagországokat. A világon szinte minden ország csatlakozott a programhoz annak megalkotásakor (Faragó et al, 2013).

Az *ex situ* állománylétesítése rendkívül fontos természetvédelmi feladat, ami nagyon összetett és tapasztalatot igényel. A védett növényfajok természetvédelmi helyzete jelentősen javul ez által, sokkal kedvezőbb körülményeket teremthetünk ahhoz, hogy később alkalmazzuk az úgynevezett *in situ* visszatelepítést. Ez a fajok természetes előfordulási helyére való visszatelepítéséből áll, ennek eredménye a kikerült állomány felszaporodása lehet, ezen egyedek fenntartása és monitorozása szükséges a szélesebb körű információgyűjtés érdekében. Az *ex situ* állományok telepítésének feltétele, hogy a választott fajt mesterséges körülmények között (laboratóriumban mikroszaporítással, illetve üvegházban) végzett szaporítása után, annak természetes előfordulási helyével közel megegyező feltételekkel rendelkezzen a telepítésre szánt terület. Szerencsére Magyarországon az *ex situ* megőrzés program sikeresnek bizonyult, nem csak az érdeklődésnek, de a szakmai tapasztalatoknak és a rendelkezésre álló lehetőségeknek, támogatásoknak köszönhetően. Egy, a hazai Nemzeti Parkok által összeállított lista megtalálható a Magyar Természetvédelem honlapján, amelyben az *Adenofora liliifolia* is helyet kapott a Duna-Ipoly Nemzeti Park jelölése alapján. Ez a lista először 2006-ban jött létre, amelynek elemei az Aktuális Flóra-és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében VII. konferencia keretein belül került megválasztásra és kihirdetésre, majd ezt 2014-ben megújították és azóta is érvényben van (Internet 1).

2.3. Az *Adenophora liliifolia* előfordulása Magyarországon és Európában, a magyarországi élőhelyek jellemzése

Ez az eurázsiai flóraelem hazánkban több területen is megjelenik, azonban igen alacsony egyedszámú állományokat képez, ami indokolja annak felszaporítását, illetve a hasonló feltételekkel rendelkező területeken való elterjesztését. Emellett a botanikus kertekben, arborétumokban való megőrzés is ajánlott. Ennek legfőbb oka, hogy a hazai állomány 6 területre koncentrálódik, összes tőszáma hozzávetőlegesen 200-250 tőre tehető (1. ábra). Legkorábbi leírását Kitaibel Pál naplójában találjuk 1803-ból, aki a Zempléni-hegység területén jegyezte fel a faj előfordulását, pontosabban a Gyertyán-kúti-réteken. Hazai legnagyobb populációját 2010-ben mérték fel, a Szücsi erdőben (Farkas, 2020).

Ritkaságát bizonyítja, hogy 2006-os bejelentés alapján, az Őrségi Nemzeti Park Igazgatóság illetékességi területén már ki is pusztult. Rekonstrukciójára lett volna mód, a Kőszegi TK területén található egykori élőhelyén, ami az Őrségi Nemzeti Park Igazgatóság kezelésében van, itt ekkor már 2004 óta tartott a terület rekonstrukciója (Házi, Lesku, 2006).

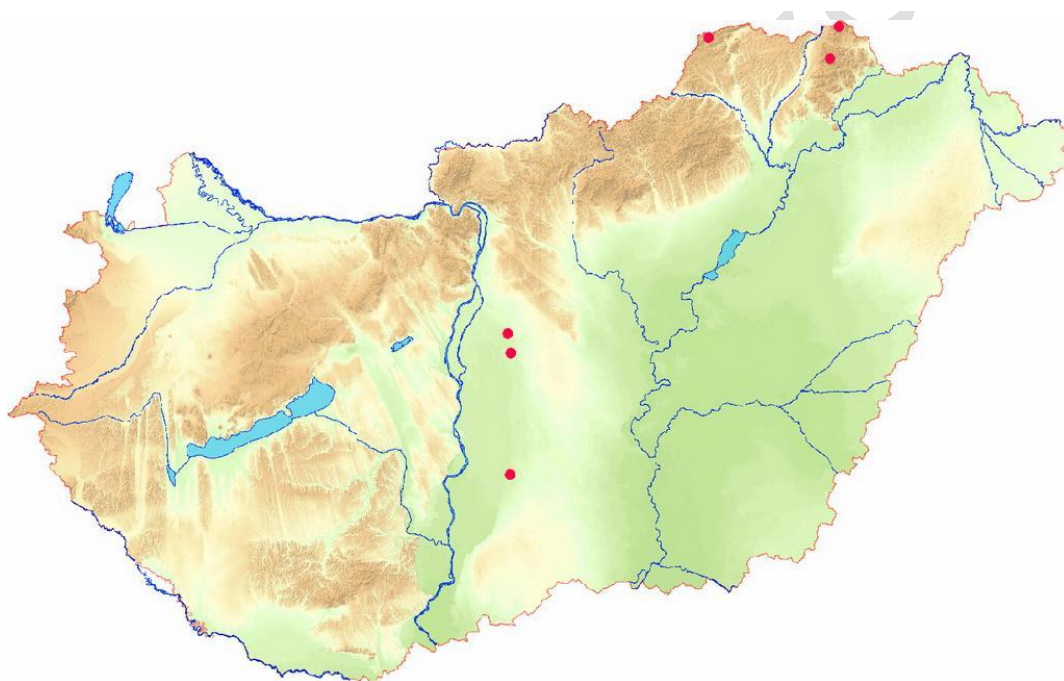
Európa szinten a faj egyedszáma drasztikusan csökkent az elmúlt években, majdnem minden országban ahol megtalálható, Vörös Könyves listán szerepel. Az Európai Unió csatlakozásoknak köszönhetően a kutatási, feltérképezési területek jelentősen megnöttek, újabb előfordulási helyeket fedeztek fel. Ellenben sok olyan területről is készültek beszámolók, ahonnan a korábbi állományok teljesen eltűntek. Ez nemcsak a klímaváltozásnak, de a jelentős antropogén hatásoknak is tulajdonítható, amely a természetes élőhely degradációjával, károsodásával és a szükséges környezeti feltételek megváltozásával jár, így ellehetetlenítve az illatos csengettyűvirág további meglétét. Európában talán a két legnagyobb fajszámmal bíró ország Lengyelország, Szlovákia és Csehország (Vaculná, 2022).

Lucie Vaculná 2022-es vizsgálatában beszámolt, hogy Csehországi területeken is hasonló veszélyek fenyegetik a fajt, ezért az adott területen szelektív fa és cserje kivágást alkalmaztak, a jobb fényáteresztés érdekében. Ez azt eredményezte, hogy a faj egyedei gyorsabban, jobban növekedtek, viszont a kompetitív fajok is arányosan gyarapodtak a környezetükben, ugyancsak visszaszorítva az *A. liliifoliát*. Az így szabadabbá vált terület a helyi vadállománynak is csalogatónak bizonyult, s annak ellenére, hogy az állomány nőtt, és termőképes magot, hajtást hozott, az őzek, szarvasok rágásukkal károsították az új növényeket. A vadkárok ellen körbekerítés lenne a megoldás, de ennek is fizikai korlátai vannak, mivel az állatok könnyedén áthidalják az akadályt (Vaculná, 2022).

A faj szerepel a Magyar Arborétumok és Botanikus Kertek Szövetsége által 2020-ban kiadott, II-es számú mellékletében megjelenített listán. Ez a Nemzeti Park Igazgatóságok által *ex situ* védelemre javasolt növényfajok listája, ahol az *Adenophora liliifolia*-t, a fajok védeltségi besorolásánál fokozottan védett. A veszélyeztetettség fokozatánál pedig kipusztulással veszélyeztetett kategóriába sorolják. Ugyan ebben a kiadványban összeállítottak egy másik listát, amelyben a MABOSZ (azaz Magyar Arborétumok és Botanikus Kertek Szövetsége) tagkertjeiben előforduló, törvény által védett fajok szerepelnek. E lista szerint az ország két tagkertjében élő növény egyedek becsült száma összesen 111, amely igen csekélynek mondható (Zsigmond (szerk.), 2020).

1. ábra Választott faj hazai elterjedése

(Forrás: <http://termeszettvedelmikezeles.hu/adatlap-novenyek?showAll=0&id=1292>)



Adenophora liliifolia egyesek szerint társulás közömbös fajként van számon tartva, mások inkább a mezofil rétek kaszálórétek fajaihoz sorolják. Nagy nedvességigényű, előnyben részesíti a párás, kiegyenlített éghajlatot. Kedveli a félárnyékos élőhelyeket, erdőszegélyeket, ligetes erdőket preferálja, de elviseli akár a teljes napfényt is. Magyarországon a keményfa ligeterdőkben, keményfás ártéri erdőkben, illetve ezeknek a szegélyén fordulhat elő, emellett mezofil, kékperjésedő hegyi irtásréteken, veres csenkeszes hegyi réteken (Farkas, 2022).

2.4. Az *Adenophora liliifolia* rendszertani besorolása, morfológiai és biológiai jellemzése

Az illatos csengettyűvirág a harangvirágfélék (*Campanulaceae*) családjába sorolt csengettyűvirág (*Adenophora* Fisch.) nemzetség egyetlen hazai képviselője. Rendszertani besorolása Vojtkó (2021) alapján az alábbi:

Pan-Spermatophyta: magvas növények

Pan-Angiospermae: zárvatermők

Eudicotyledonae: valódi kétszikűek

Pentapetalae: ötszirmúak

Superasteridae: szuperaszterid klád

Campanulidae: campanulid klád

Asterales: fészkesek

Campanulaceae: harangvirágfélék családja

Adenophora nemzetség

Adenophora liliifolia

Az illatos csengettyűvirág latin nevén *Adenophora liliifolia*, mint ahogy a fenti besorolásból láthatjuk, a harangvirágfélék családjába (*Campanulaceae*) tartozik, ezen belül is a csengettyűvirág nemzetséghez (*Adenophora*), hazánkban az egyetlen fajként található meg. A választott faj egy évelő lágyszárú, a hemikriptofita életformájúak csoportjába tartozik, áttelelő hajtásai a talaj fölött helyezkednek el. Hozzávetőlegesen 80-100cm magasságig nőhet meg, melynek akár két harmadát is kiteheti a bugavirágzat, amely július második felétől augusztus második feléig virágzik fehér (2. ábra), illetve halványkék (3. ábra) színben. Rovarmegporzású, termése késő augusztustól szeptemberig érik és szóródik. Tő- és szár levelei egyaránt fűrészes szélűek, hosszúkásak, szára hengeres, csupasz. Tőlevelekre jellemző, hogy kerekdedek, szíves vállúak, 3-5cm-es nyéllel rendelkeznek. Ezek a levelek virágzáskor már nem láthatók a növényen, ez is a megkülönböztetésben segítségünkre válik. A szárlevelek viszonylag változatos formát mutatnak, különböző formákban jelennek meg, úgy, mint keskeny, vagy széles lándzsás, illetve ék-, vagy lekerekített vállú, valamint nyeles és nyél nélküli alak is előfordulhat (Farkas, Vojtkó, 2012).

Sziromlevelei összenőve, a családnévre utalva harang vagy tölcsér alakot képeznek, amely általában 1-2cm hosszúságú, illatos. Öt porzószála szőrözött, bibeszála enyhén, inkább pillásnak mondható, szabadon álló, a pártából hosszan kinyúlik, ez is megkülönböztető bélyeg a meghatározásnál. A bibeszál vége kissé megvastagodott, tövénél mirigyes vacokgyűrű található. A csészék lándzsásak, 3-4cm hosszúak, általában ép szélűek. Termése 8-12 cm hosszú lehajló toktermés (Király (szerk.), 2009).

2. ábra Fehér virágú egyed (Kép forrása: Farkas Tünde)



3. ábra Halványkék virágú egyed (Kép forrása: Farkas Sándor)



2.5.A *Campanulaceae* család jellemzői

A *Campanula* nemzetség (*Campanulaceae* család) körülbelül 300 fajt foglal magában, amelyek az északi féltekén elterjedtek, ezek közül sok a hegyvidéki területeken (Farkas, Vojtkó, 2013). A nemzetség általában réti és szubalpin régiókban él, sok fajnak teljes napsütésre van szüksége az optimális fejlődéshez. Minden faj lágyszárú, és a név a fajok többségének harang alakú, kék virágaira utal (Turcsányi, Turcsányiné, 2005). A fajok évelők, kétévesek vagy egynyáriak (Brandt, Ishimard, 1998).

A növekedési mintát külön vegetatív és generatív fázis jellemzi, a vegetatív gyakran rozetták kialakulásával jár, a generatív szakaszt, pedig hosszú fotoperiódusok, vernalizáció

esetenként mindkettő indukálhatja. Ilyenkor a rozetták több- vagy egyágú virágzattá fejlődnek. Általában a kinyíló hajtás a magérés után elpusztul. A kétéves és egynyári fajokban minden palánta általában egy rozettát alkot. Az évelő fajok oldalhajtásokat vagy többé-kevésbé föld alatt futó hajtásokat fejlesztenek, amelyek mindegyike levélcsokorra válik a rákövetkező növekedési időszakban. Sok fajt használnak az alpesi kertészek, cserepesnővényként árusítják is (olasz Alpokban például a *Campanula isophylla*) (Berry, 2009). Más fajt nagyobb méretben is termesztnek kereskedelmi forgalomban, ezeket inkább vágott virágként alkalmazzák (*Campanula medium* és a *C. pyramidalis*). Az utóbbi években más, a család különlegesebb, termesztett képviselői egyre nagyobb jelentőséget kaptak. Ilyenek például köztük a nagyobb virágzatú *C. carpatica* vagy a *C. portenschlagiana*, vagy a *C. cochlearifolia* törpenövésű egyedei. A *Campanula* cserepes növények dán termelése 1994-ben elérte a 6 millió egyedszámot. A legtöbb fajtát a *C. carpatica* vagy más szívós fajból nemesítettek, amelyeket úgynevezett kombinált termesztési rendszerekben hoztak létre. A mikroszaporított növények üvegházban, cserépben vagy dugványként szabadban fejlődnek tovább, majd karácsony után az üvegházban nevelték készáruvá (Brandt, 1997).

A 4-7 ábrákon látható *Campanulaceae* növénycsalád tagjai szerepelnek Kitaibel Pál *Icones* című művében, amelyben részletes, színes rézmetszetekkel ábrázolták az addig alig ismert pannóniai, kárpátiai és balkán növényfajokat, azok részletezett leírásával. Elsősorban flórakutatóként és taxonómusként vált ismertté, aki közel 4000 magasabb rendű növényfajt, mely az addig ismert növényflóra 6,5%-át tette ki, mindezt Franz Adam Waldstein segítségével. A könyv később címe a klasszikussá vált „*Descriptiones et Icones plantarum rariorum Hungariae*” lett, amely magyarul „Magyarország ritkább növényeinek leírásai és képei”. A harangvirágfélék családjába tartozó fajok, amelyeket ebben a kiadványban fellelhetünk, a *Campanula lingulata* (nyelvescsészéjű harangvirág) és *Campanula multiflora*, mai latin nevén *Campanula macrostachya* (hosszúfüzérű harangvirág), amelyek rézkarcait az 4. ábra szemlélteti. Az 5. ábrán továbbá látható a *Campanula spathulata*, vagyis terpedt harangvirág, mai hivatalos nevén *Campanula divergens*; illetve tőle jobbra a *Campanula flexuosa*, vagy ismertebb nevén *Campanula waldsteiniana*, a Waldstein-harangvirág, melyet Kitaibel társa, Franz Adam Waldstein írt le. A harmadik, 6. ábrán a *Campanula tenuifolia*, azaz vékonylevelű nyalábcsegőke (mai hivatalos elnevezése *Edraianthus tenuifolius*); és a *Campanula graminifolia* kapott helyet, melyet ma úgy nevezünk, *Edraianthus graminifolius* subsp. *graminifolius*, vagy pázsitlevelű nyalábcsegőke. Ez a hat faj az *Icones* készítésekor hazánk növényvilágához tartozott, viszont mára csupán kettő közülük, a *Campanula multiflora* és a

Campanula liliifolia (7. ábra) maradt, melyet *Adenophora liliifolia* néven tartunk számon. Ez utóbbi szerepel az új Növényhatározóban is (Simon, 1992.), (Molnár, 2015).

4. ábra *Campanula spathulata* és *C. flexuosa* (Forrás: Waldstein és Kitaibel, 1850.)



5. ábra *Campanula lingulata* és *C. multiflora* (Forrás: Waldstein és Kitaibel, 1850.)



6. ábra 2. ábra *Campanula tenuifolia* és *C. graminifolia* (Forrás: Waldstein és Kitaibel, 1850.)



7. ábra *Campanula liliifolia* (Forrás: Waldstein és Kitaibel, 1850.)



2.6.A *Campanulaceae* család szaporítási lehetőségei

2.6.1. Generatív szaporítás

A faj termésérlelése a természetes élőhelyen nagyon kritikus, gondot okoz többek között a megporzók hiánya, a rovarok illetve azok hernyóinak kártétele, vagy gombafertőzések. Mesterséges szaporítási kísérletek szerint a beérlelt magok kelési rátája alacsony, a mégis kihajtott növények életben maradási esélye igen kicsi. A fiatal növények érzékenyek a palántadőlésre, a talaj vízháztartására és az erős napfényre is (Farkas, 1999).

Ez a szaporítási forma minden esetben maggal történik, a fajmegőrzésnél igen fontos módszer, nem utolsósorban azért, mert ez biztosítja a genetikai variabilitást. A természetes közegében egyre nagyobb problémát és ezáltal a faj fennmaradására nézve veszélyt jelent az, hogy a növények léha magokat fejlesztenek, ezáltal csökken az esélye a természetes szaporulat terjedésének, az állomány hosszú távú fennmaradását sodorhatja veszélybe (Farkas, 2014).

Farkas (2020) korábbi szaporítási kísérleti tapasztalatai alapján az érett magok kelési aránya alacsony, és a populációk kondíciója is kihatással van a végső csírázási százaléokra. A jobb kondícióban lévő, nagyobb egyedszámú populációkból származó magok jobb csírázási tulajdonságokkal jellemezhetők.

2.6.2. Vegetatív szaporítás, *in vitro* mikroszaporítás

2.6.2.1. Hagyományos vegetatív szaporítási módszerek (tőosztás, rizóma feldarabolása, dugványozás)

A generatív szaporítás mellett, a növény a gyöktörzséből is több helyen fejleszthet természetes élőhelyén vegetatív hajtásokat. Két csoportba tudjuk sorolni a vegetatív szaporítási módszereket. Gyökérről vagy oldalrügyről való szaporítás, az organogenezis, azaz a levél, hagyma buroklevél, szár és/vagy egyéb növényi szervvel történő szaporítás.

2.6.2.2. *In vitro* mikroszaporítás

Egy 2000-ben, Taiwanon végzett tanulmányban vizsgálták a Campanulaceae család egyik tagjánál jelentkező populációcsökkenést és annak megelőzését. *Adenophora triphylla* kihalással veszélyeztetett, Ázsiában fontos gyógynövény, melynek szaponinokat tartalmazó gyökereit szárítva hasznosítják a tradicionális gyógyászatban. A természetes előfordulási helyéről, Taiwan hegyvidékéről importált húsos gyökerek forrása amiatt került veszélybe, mert a túlhasználat és növekvő keresletnek az állomány már nem tud eleget tenni. A természetes populáció megmentését *in vitro* szaporítással kísérelték meg, miután a múltban több fontos gyógynövényt sikeresen szaporítottak *in vitro* gyökér morfogenezissel, illetve szomatikus embriogenezissel. A kísérlet eredménye 100%-osnak volt mondható. Az akklimatizálás mind virágföld:vermikulit:tőzegmoha 2:1:1 arányban, mind pedig virágföld:tőzegmoha 2:1 arányban használt kombinációjánál sikeres volt. (Chen et al., 2000).

Egy másik, a MATE laborjában végzett kísérletben, különböző táptalaj adalékokat teszteltek. A vizsgált paraméterek között szerepelt a hajtáshossz (mm), a hajtások száma és a gyökerek száma. Az eredmények azt mutatták, hogy a leginkább érintett paraméter a hajtáshossz volt, amely a különböző táptalaj összetevők hatására a legérzékenyebben reagált. Az ezüst-nitrátot növényi szövettenyésztésben használják a gyökérképződés és a hajtások fejlődésének fokozására az etilén, a növekedést gátló növényi hormon hatásainak mérséklésével. A vizsgálat alapján az ezüst-nitrát tápközeghez javasolt adagolása AgNO_3 5 mg/l. Míg ez a kezelés rengeteg gyökeret és meghosszabbított hajtáshosszt eredményezett, az üvegesedést is csökkentette. A pH optimalizálása 6,8-7-ről 7,8-8,0-ra jobb növénymagasságot és gyökérfejlődést eredményezett. Az *A. liliifolia* élőhelyéről származó talajminták pH-értéke 6,65 volt. A kókuszvíz dózisa befolyásolta a gyökér- és hajtásszámot (Kovács, 2024.).

A *Campanula phitosiana*, egy kritikusan veszélyeztetett besorolású, nyugat-Antóliai endemikus hegyvidéki faj. Vizsgálatok során annak *in vitro* regenerációs protokolljának kialakításán dolgoztak. A kísérletnél levéllyélt és leveleket használtak explantátumként, azokat MS táptalajon tenyésztették 1-naftil-ecetsav (NAA), Thidiazuron, 6-benzilaminopurin és gibberelinsav (GA3) hozzáadásával, mind külön kísérletként. Véletlenszerű elrendezést alkalmaztak, öt ismétlésszámmal, minden ismétlésnél öt explantátummal. A kezelések hatásaként a kallusz iniciációját és hajtás burjánzását vizsgálták. Eredményükben a levéllyélnél 100%-os arányú kalluszkezdemény képrődését írták le, a 0,3 mg/l NAA + 2,0 mg/l GA3-at tartalmazó MS táptalajon (Pirham et al., 2022).

A *Campanula rotundifolia* L. faj *in vitro* szaporítását vizsgálták, mely ez idő alatt a veszélyeztetett csoportba tartozott a Kárpát-medencében. A szaporításhoz explantátumként a fiatal virágbimbót használták, melyet sterilizálás után hormonmentes MS táptalajon tenyésztettek, eltérő dózisú auxinnal és citokininnel. 15-20 nappal a kísérlet kezdete után 2-12 csíranövényt kaptak, de azoknak gyökere nem alakult ki. Az 50. napon, állománynövekedés és gyökeresedést követően született eredmény. A legmagasabb regenerációs adatot benzil-adenopurin (BA) jelenlétében mérték, csakúgy, mint a többi paramétert is. Az így kapott állomány akklimatizációs képessége magas abban az esetben, ha az eredeti élőhely ökológiai körülményeit megfelelően rekonstruálják. A sikeres kísérletet követően *ex situ* visszatelepítést javasoltak Románia területére, az ország különböző hegyvidéki városaiban a tájépítészeti felhasználására, esetlegesen nemzeti parkokba, illetve botanikus kertekbe való telepítését fajmegőrzési céllal (Maria, 2014).

Seglie és társai egy másik *in vitro* szaporítási kísérletben, Észak-Olaszországi *Campanulaceae* család tagjainak különböző területeken előforduló populációit figyelték meg. Ezek a fajok a *Campanula barbata* L., *Campanula latifolia* L., *Campanula rapunculoides* L., *Campanula spicata* L. és *Campanula trachelium* L. voltak, melyeknél *in vitro* magcsírázási, illetve palánta szaporítási módszereket vizsgáltak, honosítási, megőrzési, illetve virágpiaci értékesítési céllal. Feles erősségű MS táptalajon tenyésztették az egyedeket, amihez 1-naftali-ecetsavat (NAA), 6-benziladenint (BAP) és kinetint adtak különböző dózisokban, így vizsgálva a csírázási százalékot, valamint csírázási időt. A legmagasabb csírázási százalékot a *C. rapunculoides* produkálta, mind növekedésserkentők jelenlétében, mind azok hiányában. Ugyan ez a paraméter a *C. barbata* esetében közel 0% volt, a többi fajnál szignifikáns eltérés nem volt tapasztalható. A növekedési hormonok hiányában a *C. spicata* csírázási százaléka statisztikailag magasabb volt (34%), mint a *C. barbata* (0%), valamint a *C. latifolia* és a *C. trachelium* (körülbelül 19%) esetében. Négy hónap várakozás után a növényeket normál MS táptalajra helyezték úgy, hogy NAA és BAP, illetve azok nélküli kombinációkon nézték a növekedést. Eredményként az összes fajnál, mind a hajtásnövekedés, mind a gyökeresedés magasabb intenzitását a hormontartalmú talajokon való kezelés esetében tapasztalták (Seglie et al., 2011).

3. Anyag és módszer

A következő kísérleteket nem időrendi, hanem a jobb átláthatóság érdekében, logikai sorrendben fogom bemutatni a következő oldalakon. Először az *in vitro* mikroszaporítás kísérlettel kezdem, s a továbbiakban, az időben korábban elvégzett akklimatizációs kísérletet mutatom be. Ezen kísérleteket mindkét esetben a korábban Szent István Egyetem, majd Magyar Agrár-és Élettudományi Egyetem (továbbiakban MATE) Kertészettudományi Intézetében végeztük el, Tillyné dr. Mándy Andrea konzulensem segítségével.

Az *ex situ* visszaültetéssel kapcsolatban, esetünkben a Fűvészkert került először szóba, mivel rendelkeznek az ehhez szükséges területtel és engedélyekkel, illetve általuk már egy korábban beállított állomány is megtalálható a területen. A tervezett kiültetés az akklimatizálási nehézségek miatt sajnos nem valósult meg.

3.1. A tanulmányban elvégzett kísérletekben használt növények eredete

Mind az *in vitro* mikroszaporítás, mind az akklimatizálás során használt növények ugyanazon forrásból származtak, melyet gyűjtött magállomány formájában a Duna-Ipoly Nemzeti Park Igazgatóság (továbbiakban DINPI) bocsátott rendelkezésünkre. Eredeti élőhelyén a faj, ugyanis jelentős károsodást szenvedett, az állomány terjedését visszafogó tényezők zavarták, ezek környezeti illetve klimatikus változások voltak. Emellett fellépett az a probléma, hogy a növény nem, vagy csak nagyon kis arányban volt képes fertilis magokat hozni, ezek legnagyobb részben léha magok voltak. További gondokat okoztak az eredeti elterjedési területen jelen levő vadak, legfőképpen szarvasok, őzek, melyek rágásukkal és taposásukkal jelentős károkat okoztak a virágos és hajtásos növényekben egyaránt.

Az eredeti cél a genetikai variabilitás minél szélesebb körben való megőrzése volt, az *ex situ* megőrzés alapjaként, s az így kapott magokat, szám szerint 360 darabot, Kovács Zsófia és Tillyné dr. Mándy Andrea, először laboratóriumi körülmények közt próbálták szaporítani 2019-ben. Az általuk használt hormonmentes táptalaj összetétele a következő volt: literenként MS makroelemek fél töménységben, MS mikroelemek (Murashige és Skoog 1962), MS vitamin 100 mg m-Inozit, 25 mg Fe-EDTA, 20 g cukor, 7 g agar, pH: 5,8. A kísérlet során szűrőpapírral bélelt lombikokra helyezett magokkal (10 mag/lombik, összesen 360 darab mag),

fény és hőmérsékleti változatokkal próbálkoztak, de csírázás egyik variánsnál sem következett be.

Ezt követően egy második kísérletre is sor került, további 300 maggal végezték ezt a szakaszt. Mivel a természetes dormancia állapotát mesterségesen gibberellin hormon segítségével meg lehet törni, illetve a csírázást indukálni, az általuk lefőzött táptalajban ennek arányának változtatásával próbálkoztak a steril magvetésnél, s egy hormonmentes kontrollcsoport mellett vizsgálták ennek hatását. Ebben a részben a kontrollként használt táptalaj összetétele megegyezett az első kísérletben használtéval. A hozzáadott gibberellinsav koncentrációkat pedig a következő módon állították be: kontroll 0 mg/l, 10 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 250 mg/l, 500 mg/l GA3. Ezt öt ismételtsben, 10 mag/ lombikkal alkalmazták, összesen 300 maggal. Ennek a résznek a sikereként összesen 3 csírázott mag került ki, egy az 50mg/l, két növény pedig a 100mg/l gibberellinsavat tartalmazó táptalajról. A kisebb hormonkoncentrációjú táptalaj egyede sajnos később elpusztult, de a másik két növényt sikeresen felszaporították különböző hormontartalmú táptalajokon, több sarjjal csírázó egyedeket kapva, amiket többszörösen átoltottak.

Az így keletkezett, illetve azóta továbbszaporított állomány genetikailag nagyon alacsony szinten diverz, mivel összesen két magból, magoncból származik. A kísérlet kiindulási anyaga tehát *in vitro* szaporított, steril hajtásokból állt.

3.2. Az *in vitro* mikroszaporítási kísérlet bemutatása

Az időben másodikként elvégzett, ám logikai sorrend miatt elsőként leírt kísérletet, a MATE Budai Campus, Kertészettudományi Karának Dendrológiai Tanszékén található laboratóriumban végeztük el, 2023. október 30. és 2024. áprilisa között.

3.2.1. Az in vitro szaporításhoz használt anyagok, a táptalaj-készítés módszere

A táptalajok elkészítéséhez a Murashige és Skoog (1962, továbbiakban MS) táptalaj receptet vettük alapul, némi módosítással (1. táblázat) A makroelemek mennyiségét feleztük, a többi összetevőt teljes töménységben mértük a táptalajba.

1. táblázat Általunk használt Murashige-Skoog recept (Forrás: Murashige és Skoog, 1962 alapján, átalakított recept)

Murashige-Skoog		
KH ₂ PO ₄		170 mg
MgSO ₄ -7H ₂ O		370 mg
CaCl ₂ -2H ₂ O		440 mg
KNO ₃		1900 mg
NH ₄ NO ₃		1650 mg
Na-Fe EDTA		74,6 mg
H ₃ BO ₃	1000x	6,2 mg
MnSO ₄ -4H ₂ O		22,3 mg
ZnCl ₂		3,93 mg
KJ		0,83 mg
Na ₂ MoO ₄		0,25 mg
CuSO ₄		0,025 mg
CoCl ₂		0,025 mg
Glycin		2 mg
Tiamin(B1)		0,4 mg
Szacharóz		30 g
Agar		5,5 g

Az összetevőket 1 literes hőálló edényekben mértük össze. Mind az ásványi anyagokat, mind a növényi hormonokat törzsoldatokból mértük a desztillált vízhez, félautomata pipetták segítségével. A makroelemekből 10x töménységűt, a mikroelemekből 1000x töménységűt használtunk. A többi összetevő törzsoldatunk koncentrációját úgy állítottuk be, hogy lehetőleg 1 ml vagy ennek törtrésze tartalmazza a kívánt mennyiséget az adott összetevőből. A szacharóznak közönséges háztartási cukrot használtunk, az agar a Duchefa Plant agar márkájú terméke volt.

A szacharózt a pH beállítás előtt, az agart pedig a pH beállítás után adtuk a táptalajhoz. A pH-t 1 N KOH oldattal állítottuk be, amit digitális pH-mérővel ellenőriztünk. A táptalajokat, összeállításukat követően mikrohullámú sütőben melegítettük fel, majd az agarszemcsék tökéletes elolvadásáig forraltuk, amit üvegbottal ellenőriztünk.

A forró táptalajokat 100 ml térfogatú befőttes üvegekbe osztottuk szét, nagyjából 30-35 ml táptalaj került egy-egy edénybe. Ezek a befőttes üvegek (Erős Pistás, ecetes reszelt tormás)

széles szájuak, ami viszonylag nagy levegőcserét biztosít a növényeknek, még lezárt állapotukban is. A táptalajjal megtöltött üvegeket egy rétegű alufólia lappal szorosan lezártuk, majd autoklávban, 1,3 atm túlnyomáson, 30 percig sterilizáltuk.

3.2.2. Az *in vitro* szaporításos kísérlet beállításának menete

A 3.2.1 pontban ismertetett alap táptalajt tekintettük kontrollnak. Ehhez adtunk különböző koncentrációban meta-Topolint (m-Top). A meta-Topolin citokinin-hatású növényi hormon. Előzetes kísérletekben bebizonyosodott, hogy az *Adenophora liliifolia* nagyon érzékeny a növényi növekedésserkentőkre. A Kinetinnek nem volt pozitív hatása a szövettenyészetekre, a benzil-adenin alkalmazásakor pedig tenyésztési problémák (vitifikáció) léptek fel (Portocarrero, 2024). Ezért esett választásunk a meta-Topolinra. Az egyes kezeléseket a 2. táblázat szemlélteti.

2. táblázat A különböző kezelések során alkalmazott m-Top koncentrációk

kezelés jele	m-Top koncentráció (mg/l)
(kontroll) A0	0
A1	0,25
A2	0,5
A3	1

Az 8. ábrán látható, 2023 október 30.-án mikroszaporított állományt a lombikokból kiemelve, egyesével mértük több szempontból is.

8. ábra Négyféle táptalajon mikroszaporított növények lombikban (Forrás: saját fotó)

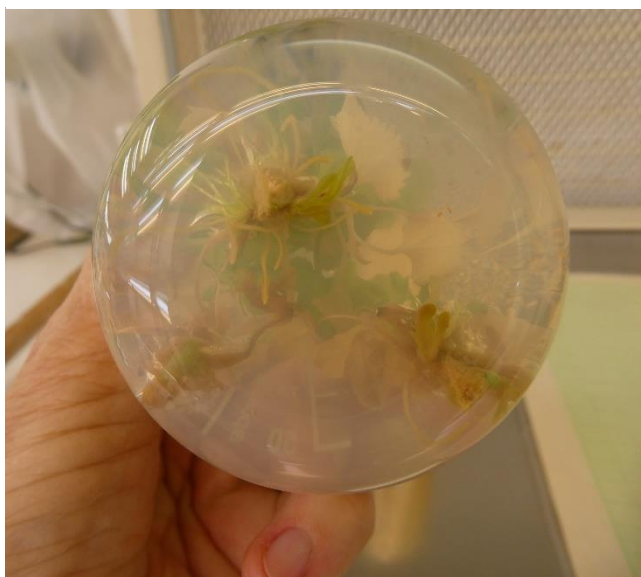


Egy hét inkubációs idő letelte után steril körülmények között, lamináris boxban tettük a növényeket az egyes táptalajokra. (9. ábra) A növény az in vitro szaporítás során tőlevél rózsákat képez, csokrokban. Igyekeztünk a sarjakat úgy szétválasztani, hogy egyetlen tőlevélrózsa legyen minden inokulum. Ahogy a 10. ábrán látható, tenyészedenyenként 3-3 növényt tettünk a táptalajra, kezelésenként 15 edénnyel indítottuk a kísérletet. A tenyészedenyeket 3 rétegben zártuk Folpack műanyag fóliával, majd fényszobában, 16/8 órás megvilágítás mellett, 20 ± 2 °C hőmérsékleten neveltük, amit a 11. ábra szemléltet. A kísérletet 8 hét elteltével értékeltük ki.

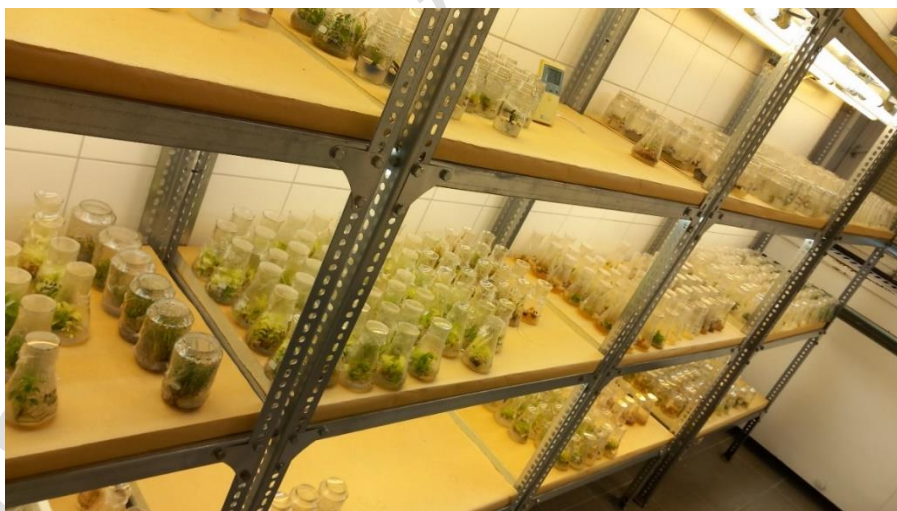
9. ábra Lamináris boxban helyeztük át a növényeket a lombikokba (Forrás: saját fotó)



10. ábra Gyökerekedés megállapítás lombik alján keresztül, 3 törzsa lombikonként (Forrás: saját fotó)



11. ábra Fényszobában, 16/8 órás megvilágítás mellett, 20 ± 2 °C hőmérsékleten neveltük a növényeket 8 héten át (forrás: saját fotó)



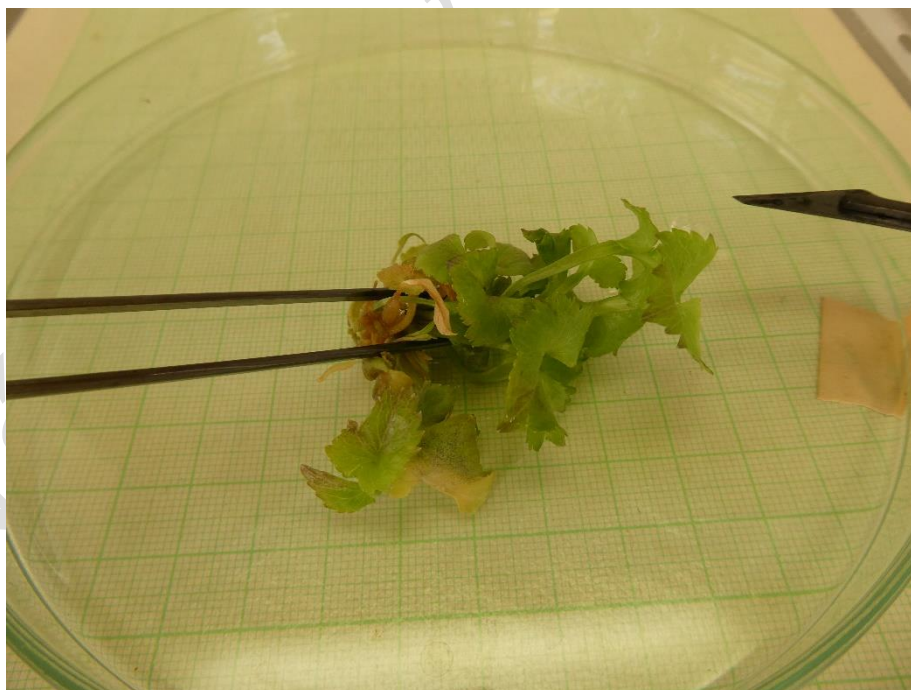
3.2.3. A kísérlet értékelésének menete

Az értékelés során a keletkezett sarjcsomókat steril körülmények között, lamináris boxban egyenként kiemeltük a tenyészedényekből. Egy Adam Highland HCB602H típusú gyorsmérlegen lemertük a tömegüket (12. ábra), meghatároztuk a keletkezett sarjak számát, milliméterpapíron lemertük a magasságukat (13. ábra), a legnagyobb levél hosszát és átmérőjét, valamint megszámláltuk a keletkezett gyökereket.

12. ábra Adam Highland HCB602H típusú gyorsmérlegen lemertük növények tömegét (Forrás: saját fotó)



13. ábra Petri csészén, alatta miliméterpapírral a levél hosszát, átmérőjét (Forrás: saját fotó)



A kapott adatokat IBM SPSS statisztikai programcsomag segítségével elemeztük. Egytényezős variancia-analízist (One-Way ANOVA) végeztünk, ezen belül a Duncan tesztet alkalmaztuk. 95% valószínűségi szinten vizsgáltuk az adatok közötti szignifikáns eltéréseket.

3.3. Az in vitro leszaporított állomány akklimatizálása

3.3.1. Az első akklimatizációs kísérlet bemutatása

2022. március másodikán, az előzetesen in vitro leszaporított állományunk egy részét osztottuk fel, úgy, hogy többféle közegben figyelhessük meg a további fejlődésüket. Ehhez először is arra volt szükség, hogy a laboratóriumban, lombikokban, táptalajon fejlődött növényeket egyesével, egy hosszú csipesz segítségével óvatosan kiemeljük, lemosuk tiszta vízzel, majd külön tálcára egymástól egy-két centiméter távolságra helyezzük őket, ahogy az 14. ábrán is látható. Ezeket fóliával letakartuk, hogy szállításnál ne sérüljenek, ne kerüljön közéjük szennyeződés, illetve ne sérthessék meg egymást. Amikor ezzel készen lettünk, a szintén tisztára mosott, 6 cm átmérőjű egyforma műanyag cserepeket és a szükséges közegeket az egyetem K épülethez csatolt üvegházába vittük, hogy a fejlődésük következő szakaszához használt helyiségben készíthessük elő a kísérletet.

14. ábra Növények kiemelése lombikokból, tisztítás (Forrás: saját fotó)



A cserepek száma mind a négy féle közegösszetételnél 15 darab volt, így összesen 60 db. Az első féle keveréknél 1,7 liter Klassmann-tőzeget használtunk, ennek a pH-ja 6 és 6,5 között van. Ehhez kevertünk hozzá 1g finom mészlisztet, Futort, amely egy állati takarmány kiegészítőként használt finom szemcsés szénsavas mész. Erre azért volt szükséges, hogy a pH értéket 1-gyel emelje, így kaptunk 7-7,5-es pH-t. Ezt a másik három kezelésnél is alkalmaztuk,

ugyanebben a mennyiségben. Ezt az összekevert közeget egyesével a cserepekbe töltöttük, majd egy magasabb falú tálcára helyeztük, külön jelölve minden cserepet 1-es számozással.

A következő kezelésnél 1360 ml tőzeget és ennek a 20%-nak megfelelő mennyiségű, azaz 340 ml perlitet kevertünk össze 1g Futorral. Mivel a perlitnek körülbelül 7-es a pH-ja, így itt valamivel lúgosabb közeggel számolhatunk a kísérlet kimenetelénél. Itt is 15 ugyan olyan cserépbe helyeztük a közeget, majd 2-es számmal ellátva, az előzőnél használt tálcába helyeztük őket.

15. ábra Cserepek megtöltése közeggel, folyamatban (Forrás: saját fotó)



A harmadik kezelésnél az arányok megegyeztek, azzal a különbséggel, hogy perlit helyett kókuszrostot alkalmaztunk a tőzeggel. Így az 1,7 l-es keveréket 1360 ml tőzegből és annak 20%-nyi 340 ml kókuszrostból, illetve 1 g Futorból kevertük ki. A Kókuszrost pH-ja nagyjából megegyezik a perlitével, azaz 7-es, így ennél a keveréknél is magasabb lett a végleges pH. Ugyan úgy, mint az előző két résznél, itt is 15 különálló cserépbe helyeztük a közeget, majd tálcára helyeztük, ezúttal 3-as számmal megjelölve azokat (15. ábra).

Az utolsó kezelésnél az 1,7 l tőzeghez nem kevertünk mást, csak 1 g Futort, majd újabb 15 cserépbe töltöttük ezt a keveréket és tálcára helyeztük őket is, 4-es számmal jelölve. A magasított falú tálcában immár mind a 60 cserép helyet foglalt, így vizet öntöttünk alájuk, körülbelül 2 ujjnyi magasságban, hogy megszívja magát a közeg, ezáltal elegendő nedvességet nyújtva a behelyezendő növényeknek. Amint szemmel láthatóan elég nedves lett a közeg, kicsit

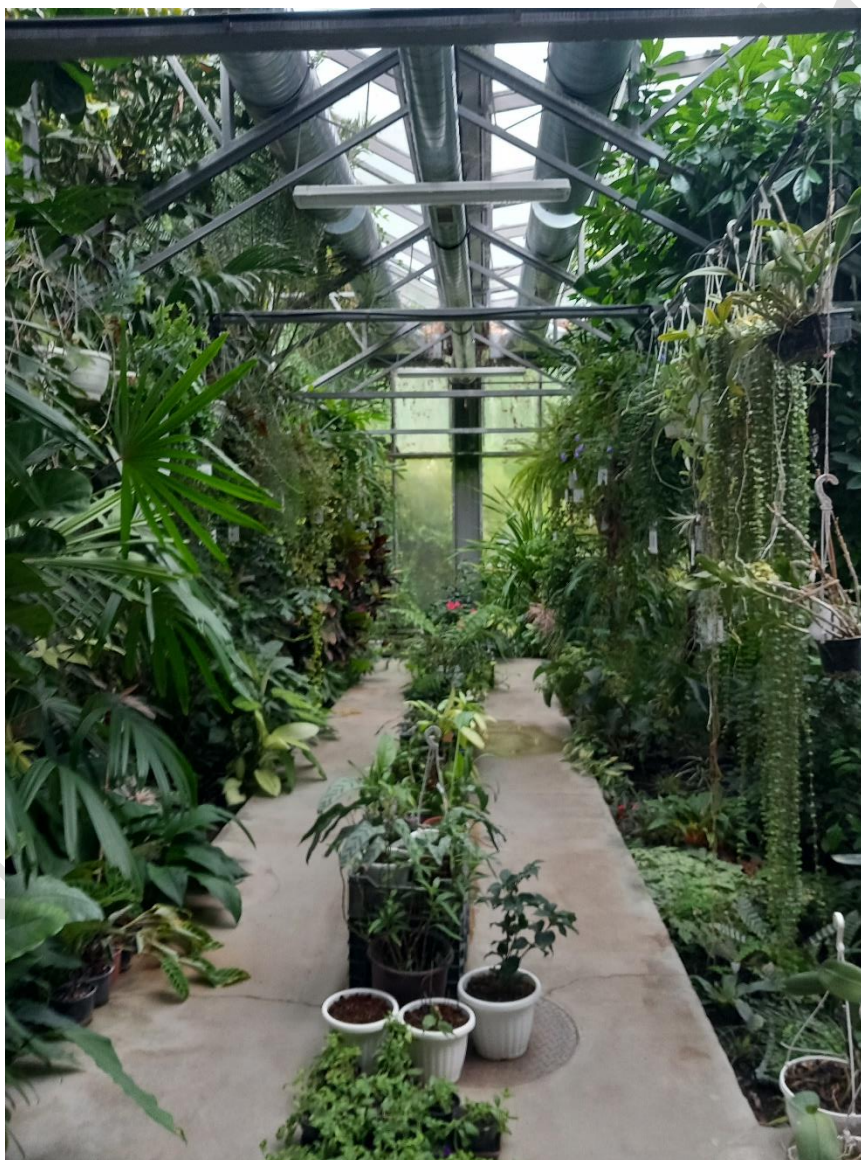
összetömörödött tőle, elkezdhattuk a növények elhelyezését is, óvatosan, csipesszel, a cserepek közepébe előkészített maximum 1 cm-es mélyedésbe, majd betakarva őket az adott közegekkel. Az első három féle kezeléstől eltérően a négyes számú cserepekbe a növényeket még kezeltük a közegbe helyezés előtt. Ehhez egy természetes auxint használtunk, indol-vajsavat, amiben minden növényt egyesével körülbelül 5 másodpercig tartottunk úgy, hogy a gyökérrészük az oldatban legyen. Ezután helyeztük el őket a közegben.

Amikor ezzel készen voltunk, 2 nagy tálcát kaptunk, benne a cserepekkel, amelyekről a felesleges vizet leöntöttük a berohadást megelőző szándékkal. Az üvegház talajára helyeztük a tálcákat és négy réteg fátolfóliával takartuk le, majd ezt követően naponta legalább egy alkalommal megszellőztetve ezeket, pár percre kitakartuk a tálcákat. Edzési időnek négy hetet határoztunk meg, majd újabb négy hét biztonsági időt, hogy kellően megerősödjének a növények. Két hét után csökkentettük a fóliák számát kettőre, de azt tapasztaltuk, hogy valamilyen oknál fogva egyik növény sem élte túl, hervadásnak indultak. A kísérletet sikertelennek tekintjük, újabb próbálkozást tervezünk, a laboratóriumban még lombikokban maradt egyedek segítségével, amelyet a 3.3.2-es pontban ismertetek.

3.3.2. A második akklimatizációs kísérlet bemutatása

A fent leírt fejezetben kapott adatok lejegyzése, dokumentálása után a megvizsgált állományt továbbvittük egy akklimatizációs szakaszba is, ahol 4 különböző talajösszetétel mellett vizsgáltuk a növény egyedek fennmaradási arányát a közegek szerint. Ezt az időben korábbi kísérlet helyszínén, a K épület gyakorlati üvegházában végeztük, és állítottuk össze 2024 április 24-én (16. ábra).

16. ábra Akklimatizációs kísérletének helyszíne (Forrás: saját fotó)



Összesen 60 db 6 cm átmérőjű tisztított cserepet használtunk. A növényeket gyökereztető oldatba áztattuk kb. 5 percig, amihez 2 liter vízbe 0,5 ml auxint, indol-vajsavat használtunk (0,5 mg/ml indol-vajsavat). A cserepeket 4 csoportra szedtük, majd 15-ösével különböző talajkeverékekkel töltöttük meg: A-val jelöltük a 100%-ban tőzeget tartalmazó cserepeket, B-vel a tőzeg-kókuszrost kombinációt 1:1 arányban, C-vel a tőzeg-perlit keveréket, szintén 1:1 arányban, végül a D-vel jelölt 100%-os perlit közeget. Ezekbe a cserepekbe helyeztük el egyesével a növényeket, megközelítőleg egyforma vitalitással és méretekkel rendelkezőket választottunk a könnyebb és realisabb eredmény nyérése végett (17. ábra).

17. ábra Négyféle talajösszetételbe helyezett növények magasfalú tálcán, 15 db/talajkeverék (Forrás: saját fotó)



A cserepek beáztatása után, a megfelelő nedvesség tartalmú közegeket egy magasabb falú tálcába helyeztünk, majd az időben első akklimatizációs kísérlethez hasonlóan fátlyolfóliával letakartuk. Ezúttal figyeltünk arra, hogy az üvegház párás, meleg közege miatt ne forduljon elő túllöntözés, illetve a fólia a növényekkel való fizikai érintkezését kitámasztó rudacsakkal akadályoztuk meg, elkerülve az ez okból kialakuló gombásodás lehetőségét (18. ábra). Az így elhelyezett növényeket heti rendszerességgel ellenőriztük, szellőztettük, szükség esetén folyadékpótlást alkalmaztunk.

Az eredményeket folyamatában tapasztaltuk, a vizsgálat során penészgomba jelenlétét fedeztük fel, részletesebb adatokat az Eredmények fejezetben taglaljuk.

18. ábra Rudakkal megemelt fátyolfóliával takart cserepek a K épület üvegházában (Forrás: saját fotó)



4.Eredmények

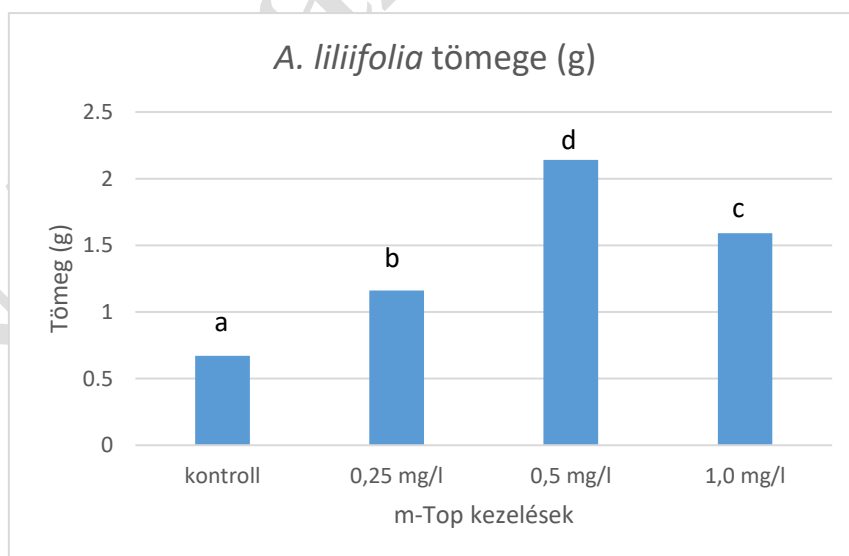
4.1. Az in vitro szaporításos kísérlet eredményei

A 19-es ábrán látható, 2023 október 30-án mikroszaporított állományt a lombikokból kiemelve, egyesével mértük több szempontból is. A korábban ismertetett módon, négy féle táptalajon, típusonként 13 növény tulajdonságait jegyeztük le. Ezek a magasság (mm), gyökérszám (db), tömeg (g), levélszám (db) és a legnagyobb levél átmérője (mm) voltak.

A négy féle kezelés hatása a vizsgáltakra digaramokon olvasható ki, ahol a kezeléseket a Duncan szerint megfelelnek: 1-es számmal a kontroll csoport, azaz metatopolin hozzáadása nélkül kezelt egyedek; 2-es a 0,25; 3-as a 0,5 mg; 3-as pedig 1 mg m-Top alkalmazásának felel meg. Látható ezen kívül az is, hogy a statisztikai mérés alapján a, b, c, illetve d halmazok különültek el a feljegyzett adatokból, a 13 vizsgált növény esetében.

Az elvégzett statisztikai eredmények a Duncan teszt szerint a legnagyobb tömeget az A2-es, azaz 0,5 mg m-Top kezelésű csoport idézte elő, ennek grafikonját a 20.ábra szemlélteti. Mindegyik kezelés mind a kontrolltól, mind pedig egymástól statisztikailag elkülönül.

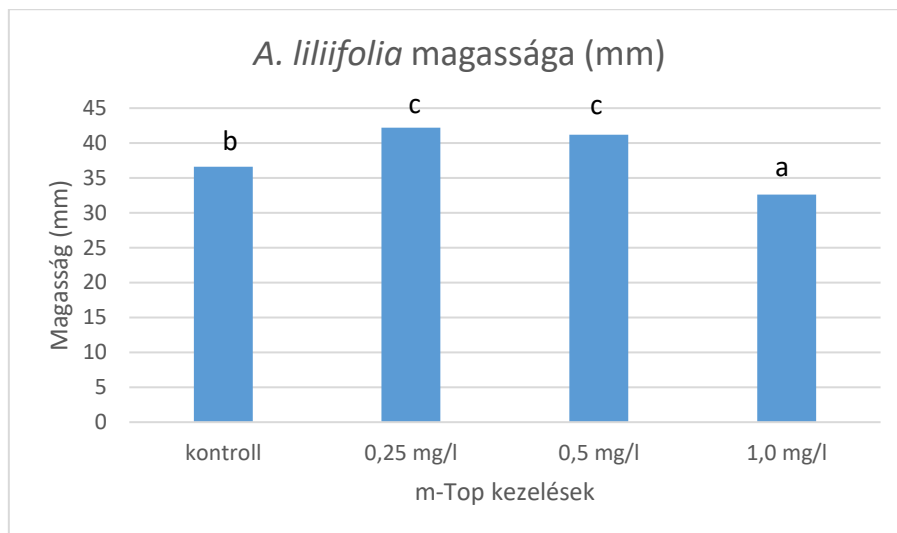
19. ábra Meta-topolin koncentrációk hatása az *A. liliifolia* tömegére. Az oszlopok feletti betűk az eltérő szignifikanciát jelölik (Forrás: saját munka)



A 20-es ábrán az előzőhöz hasonlóan, az egyes növények magasságának eloszlását figyelhetjük meg. Ezek alapján az az eredmény született, hogy az A1- 0,25 és A2- 0,5 mg m-Top kezelés jóval megnöveli az egyes növények magasságát. A legalacsonyabb hajtásokat az

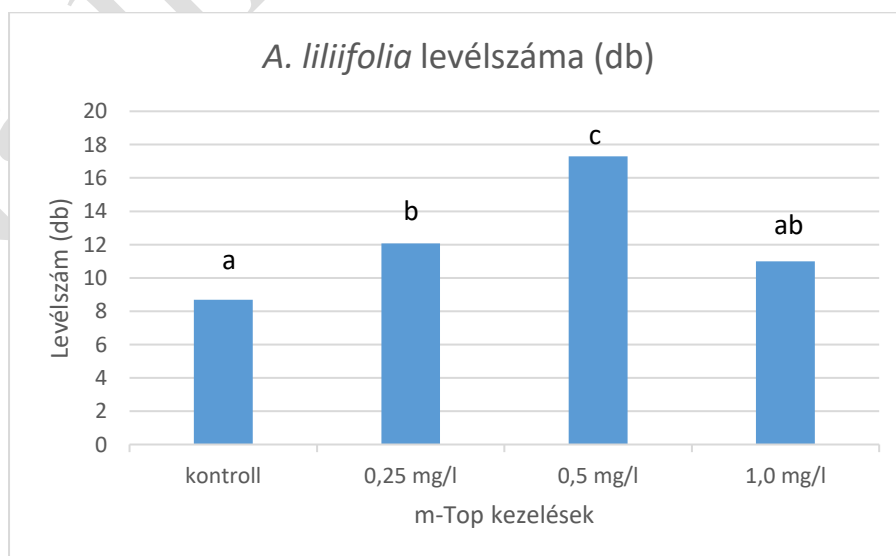
1 mg/l m-Top kezelésnél kaptuk, ennél még a kontroll, hormonmentes táptalajon is magasabb sarjak keletkeztek.

20. ábra Meta-topolin koncentrációk hatása az *A. liliifolia* magasságára. Az oszlopok feletti betűk az eltérő szignifikanciát jelölik (Forrás: saját munka)



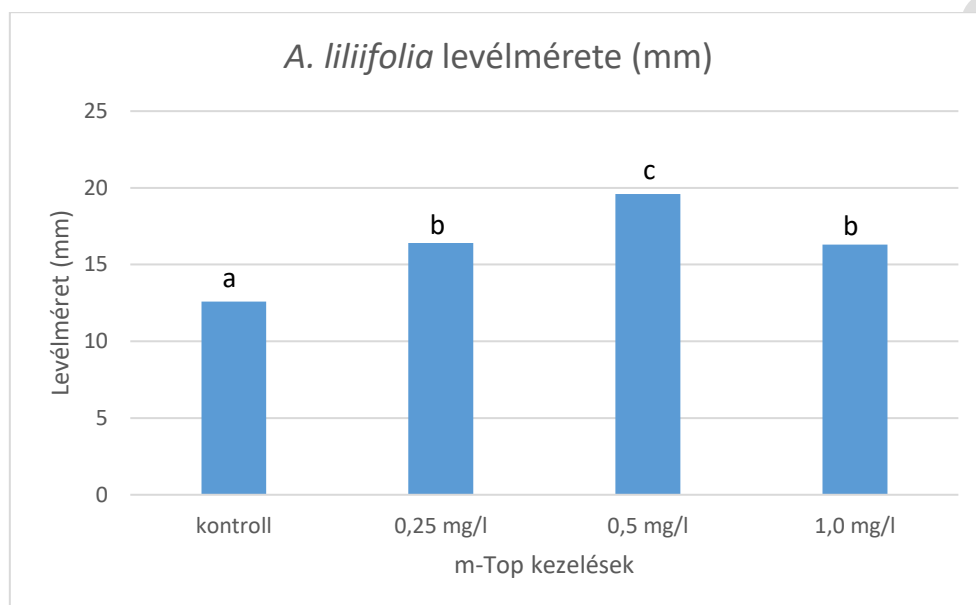
A 21-es ábra a levélszámok változását szemlélteti kezelése hatására, itt is, mint azt a magasságnál és a tömegnél is megfigyelhettük, az A0-s kezelés, azaz a kontroll, metatopolin nélküli táptalaj volt a legkevésbé serkentő hatású. Az A2-es kezelés (0,5 mg m-Top) viszont itt is kiemelkedik, ennél mértük a legnagyobb levélszámot, illetve levélméretet is.

21. ábra Meta-topolin koncentrációk hatása az *A. liliifolia* levélszámára. Az oszlopok feletti betűk az eltérő szignifikanciát jelölik (Forrás: saját munka)



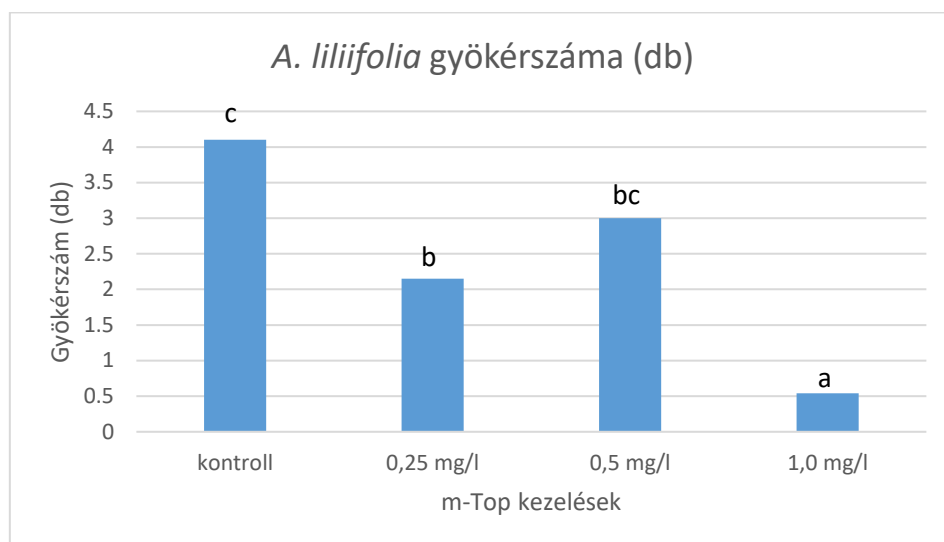
A 22-es ábra mutatja, hogy az előzőkkel megegyezve, az A2-es vizsgálat, 0,5 mg m-Toppal a leghatékonyabb a levélméret növelésére, a legkevésbé hatékonynak pedig a az A0-ás kontroll csoport bizonyult. A A1-es és A3-as kezelések nem különülnek el, ezeket így egy, 'b' halmazba sorolja.

22. ábra Meta-topolin koncentrációk hatása az *A. liliifolia* levélméretére. Az oszlopok feletti betűk az eltérő szignifikanciát jelölik (Forrás: saját munka)



Gyökérszám tekintetében a 23-as ábrán láthatjuk, hogy a legkiemelkedőbb gyökérszámot az A0-ás csoport, azaz a kontroll, 0 mg m-Top mellett eredményezett, amit a citokinin hiányának is betudhatunk. A statisztika igazolja, hogy az elvégzett kísérlet eredménye a kísérleti kezelés következtében alakult ki.

23. ábra Meta-topolin koncentrációk hatása az *A. liliifolia* gyökérszámára. Az oszlopok feletti betűk az eltérő szignifikanciát jelölik (Forrás: saját munka)



4.2. Az akklimatizációs kísérletek eredményei

4.2.1. Az első akklimatizációs kísérlet eredményei

A 2022-ben kezdett vizsgálat, az anyag és módszer fejezetben leírtak szerint sikertelennek bizonyult, mivel megfelelő szellőztetés hiányában a leszaporított és üvegházba helyezett növényállományunkat különböző kórokozók és kártevők támadták meg. Köztük a penészgomba igen széleskörben elterjedt, meleg, nedves környezetben könnyen elpusztította a fiatal egyedeket. Az üvegházi molytetű pedig úgyszintén rongálta a növényeinket, így a sikeres laboratóriumi leszaporítást követően a talajba való átültetés után nem sokkal fel kellett számolnunk az állományt és le kellett állítani a kísérletet.

4.2.2 A második akklimatizálás során kapott eredmények

A fent leírt módon leszaporított növényeket egy másik vizsgálatnak vetettük alá, ahol a lombikból kiemeltük a növényeket és az említett paraméterek szerint lemértünk, majd újabb akklimatizációnak vetettük alá 2024 április 24-étől. A heti rendszerességű ellenőrzés,

24. ábra Penészgomba általi károsítás a különböző talajokon (Forrás: saját fotó, 2024. május)



szellőztetés és igény szerinti folyadékpótlás ellenére is, amint azt a 24. ábrán megfigyelhetjük, penészgomba jelent meg a vizsgált egyedeken, ez az állományt valamelyest megritkította.

24. ábra Perlites talajon maradó egyedek (Forrás: saját fotó, 2024 szeptember)



Végeredményként 2024 októberére azt jelenthettük ki, a talaj összetétel szempontjából vizsgálva az *Adenophora liliifolia* mikroszaporítását, hogy a perlitben fejlődött egyedek tudtak csak egészséges és erős állapotba fejlődni. Az ebben a közegben tartott egyedek közül szám szerint 7 növény maradt életben, amelyek a 25. ábrán láthatók. Ezek vitalitásuk és túlélési képességük miatt, alkalmasak lehetnek további átültetésre, illetve *ex situ* kiültetésre, melyet jövőbeli kísérletnek és vizsgálatnak lehet alávetni.

5.Összefoglalás

A diplomamunkám célja az *Adenophora liliifolia* hazai természetes élőhelyéhez közel azonos tulajdonságokkal bíró területre való *ex situ* telepítésének lehetőségei és körülményei. Ezen felül a laboratóriumban történő *in vitro* szaporítás követő üvegházi akklimatizálás megvalósítása révén kapott adatok alapján talajpreferenciák megállapítása.

A táptalajok elkészítése a Murashige és Skoog recept alapján történt, a makroelemek mennyiségének felezésével, illetve a különböző meta-Topolin koncentrációk variálásával. Ez utóbbi hatását elemezve megállapítottuk, hogy a 0,5 mg/l m-Topkezelés serkentette mind a növények tömegét, magasságát és levélszámát is.

Az első akklimatizációs kísérlet sikertelenül zárult, mivel a növények kórokozók és kártevők támadásának áldozataivá váltak. Ellenben az időben másodikként, az *in vitro* szaporítást követő akklimatizációs kísérletből születtek értékelhető eredmények, melyekből az következik, hogy a 100%-ban perlit összetételű talajon, üvegházi körülmények közt az *Adenophora liliifolia*nak megfelelő környezeti feltételek teljesültek ahhoz, hogy azokat a későbbiekben akár kiültethessük egy kijelölt *ex situ* élőhelyre.

Eredményeink továbbá rávilágítanak az *in vitro* szaporítás és az akklimatizációs folyamatok jelentőségére, valamint a megfelelő környezeti feltételek biztosításának szükségességére. Ez szükséges a természetvédelmi gyakorlatokban annak érdekében, hogy a természetes állományokat esetlegesen felszaporíthassuk, a populációkat bővíthessük az azt megelőző *ex situ* egyedszám növeléssel.

6.Köszönetnyilvánítás

Dolgozatom elkészüléséhez nagyban hozzájárult az egyetem Dísnövény-és Dendrológiai Tanszék legtöbb munkatársa, de legfőképpen Tillyné-Mándy Andrea, aki elvállalta konzulensi felkérésemet és mindenben szakmailag kifogástalan segítséget nyújtott mindvégig. Hasznos tanácsai és belém vetett hite nélkül sokkal nehezebben készült volna el ez a dolgozat.

A MATE-GEAC atlétika szakosztályának, név szerint Kriszt Balázsnak, hogy nem csak a Bsc időszak alatt álltak mellettem, de az Msc tanulmányaimat is segítették, támogatták, időt és biztatást nyújtottak, amikor kellett.

A Plantart Kft. csapatának, hogy motiváltak és szakmai segítség mellett lelki támogatást és hasznos időt is a rendelkezésemre bocsátottak az utolsó időszakban. Büki Kálmánnak, aki a sok gyönyörű és értékes forrással segítette munkámat és a dolgozatom esztétikai teljessé válását is. A Duna-Ipoly Nemzeti Park Igazgatóságának, ahonnan az eredeti magok származnak, köszönöm, hogy ez a kísérlet sorozat létrejöhetett.

Az egyetem korábbi PhD hallgatójának, Kovács Zsófiának, akinek az előzményeket köszönhetem, s akinek dolgozatából sok hasznos ismeretet és az eredményt tudtam felhasználni. Ki szeretném emelni Vidu Veronikát, aki saját elhivatottsága, alapossága és munkája révén példaképként szolgált ez idő alatt, mint ahogyan előtte és azóta is.

Végül köszönöm a családom, barátaim és párom támogatását, akik tartották bennem a lelket a nehezebb időszakokban.

7.Irodalomjegyzék

Szakirodalmi források

- Berry, P. E.- *Campanulaceae*, plant family, 2009. febr. 03.
- Brandt, K., Ishimard K. -*Campanula* (Bellflower) Species: *In Vitro* Culture, Micropropagation, and the Production of Anthocyanins, Polyacetylenes, and Other Secondary Metabolites, *Biotechnology in Agriculture and Forestry (Agriculture*, vol. 41), Medicinal and Aromatic Plants X (ed. by Y.P.S. Bajaj) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1998
- Brandt, K.- Micropropagation of *Campanula*, *High-Tech and Micropropagation VI*, 1997.
- Chen, C. C., Chen, S.-J., Sagare, A. P., Tsay, H.-S.- Adventitious shoot regeneration from stem internode explants of *Adenophora triphylla* (Thunb.) A. DC. (*Campanulaceae*) - an important medicinal herb (Bot. Bull. Acad. Sin. 42: 1-7), Institute of Chinese Pharmaceutical Science, China Medical College, Taichung 40421, Taiwan, 2001.
- Demeter A. (szerk.)- Magyarország és a Natura2000-I., Európi hálózat a természeti értékek megőrzésére, Öko Rt., Budapest, 2002.
- Faragó T., Schmuck E. (szerk.)- A biológiai sokféleség megőrzése, Magyar Természetvédők Szövetsége, 2013.
- Farkas T., Vojtkó A.- Az *Adenophora liliifolia* (L.) Besser morfológiai változatossága és cönológiai viszonyai hazánkban. (Kitaibelia 17(1): 94.), 2012.
- Farkas T., Vojtkó A.- A csengettyűvirág *Adenophora liliifolia* (L.) Bess. aktuális helyzete, morfológiai változatossága és élőhelyválasztása Magyarországon. (Botanikai Közlemények 100 (1): 77-103.), 2013.
- Farkas T.- Illatos csengettyűvirág, In: Haraszty L. (szerk.): Natura 2000 fajok és élőhelyek Magyarországon, (pp. 94-96.), 2014.
- Farkas T.- Az illatos csengettyűvirág (*Adenophora liliifolia*) biológiai jellemzői, Aggteleki Nemzeti Park Igazgatóság, 3758 Jósza, (Tengerszem oldal 1., Botanikai Közlemények 107(1): 57–74), 2020.
- Farkas S.- Magyarország védett növényei, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 1999.

- Házi J., Lesku B. (összeállították)- A Nemzeti Park Igazgatóságok által *ex-situ* védelemre javasolt növényfajok listája, (Aktuális Flóra-és Vegetációkutatás a Kárpátmedencében VII. konferencia keretében) elhangzott: Debrecenben, 2006. február 24-26.
- Keszthelyi I.- Kaán Károly természetvédelmi munkássága, (Erdészeti Lapok 483–484. o.), 1987.
- Király G. (szerk.) - Új magyar fűvészkönyv. Magyarország hajtásos növényei, 2009.
- Kocsis K. (főszerk.)- MNA Természeti környezet kötet (Magyarország Nemzeti Atlasza), 2018.
- Kovács Zs., L. K. Portocarrero, Honfi P., Kohut I., Tillyné Mándy A., E. E. Abdelhakim- Enhancing micropropagation of *Adenophora liliifolia*: Insights from PGRs, Natural Extracts, and pH optimization- Plants, 2024.
- Kovács ZS., Tillyné Mándy A.- *In vitro* steril magvetés és mikroszaporítás az *ex situ* konzerváció szolgálatában, Kertgazdaság 51, 2019.
- Maria, A. E.- *Campanula rotundifolia* L. species endangered with extinction, conserved through *in vitro* techniques- University of Oradea, Faculty of Environmental Protection, (26 Gen. Magheru, St., 410048 Oradea; Romania, Analele Universității din Oradea, Fascicula Protecția Mediului, Vol. XXIII), 2014
- Molnár V.A.- Kitaibel, Egy magyar tudós élete, Debreceni Egyetem TTK Növénytan Tanszék, Debrecen, 2015.
- Murashige, T., Skoog F. – A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures, Physiologia plantarum, 1962.
- Pirhan, A. F., Sevindik, E., Sevindik, B. - Investigation of In vitro Propagation Possibilities of Endemic *Campanula phitosiana* Yıldırım & Şentürk (Volume: 39 Issue: 3, 107 - 112, 15.12.2022) 2022
- Seglie, L., Scariot, V., Larcher, F., Devecchi, M., Chiavazza, P. M. - *In vitro* seed germination and seedling propagation in *Campanula spp.*, (Pages 15-23) Received: 2010.03.09., Accepted: 2011.02.07., Published online: 07 Dec 2011
- Simon T.- Magyarország edényes flóra határozója; Harasztok-virágos növények; Budapest, 1992.
- Turcsányi G., Turcsányiné Siller I.- Növénytan, 1999., Kempelen Farkas Digitális Tankönyvtár, 2005.

- Vaculná, L.- *Adenophora liliifolia* - present, past and future of the critically endangered species in Europe, 2022.
- Vojtkó A.- Fajmegőrzési tervek, Illatos csengettyűvirág (*Adenophora liliifolia*), 2021.
- Waldstein F.A., Kitaibel P.- *Descriptiones et Icones plantarum rariorum Hungariae*, 1850.
- Zsigmond V. (szerk.): *Ex situ növénymegőrzés- Gyűjteményes kertek a növényvilág megőrzéséért*, Budapest, 2020.

Internetes források:

- **Internet1:** Természetvédelem, Védett fajok listája, Csengettyűvirág, 2024.
<https://termeszetvedelem.hu/talalati-oldal/?type=vedett-fajok&id=670> (2024.08.10.)
- **Internet2:** Természetvédelmi kezelés, Illatos csengettyűvirág
<http://termeszetvedelmikezeles.hu/adatlap-novenyek?showAll=0&id=1292>
(2024.08.06.)
- **Internet3:** Biológiai sokféleség egyezmény
<http://www.biodiv.hu/convention/F1117799202> (2024.08.06.)
- **Internet 3:** The Ramsar Convention Manual: a Guide to the Convention on Wetlands (Ramsar, Iran, 1971), 6th ed., 2013
<https://www.ramsar.org/sites/default/files/documents/library/manual6-2013-e.pdf>
(2024.08.06.)
- **Internet 4:** Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, (Amended: Bonn, 22nd June 1979; Amended: Gaborone, 30th April 1983). Signed: Washington, D.C., 3rd March 1973.
<https://cites.org/sites/default/files/eng/disc/CITES-Convention-EN.pdf> (2024.08.10.)
- **Internet 5:** 292/2008. (XII. 10.) Korm. rendelet a veszélyeztetett vadon élő állat- és növényfajok nemzetközi kereskedelmét szabályozó nemzetközi és európai közösségi jogi aktusok végrehajtásának egyes szabályairól, 2008.
<https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a0800292.kor> (2024.08.10.)
- **Internet 6:** A biológiai sokféleség egyezmény magyarországi honlapja 1996. évi LIII. törvény a természet védelméről
<https://www.biodiv.hu/hu> (2024.08.12.)
- **1.ábra:** <http://termeszetvedelmikezeles.hu/adatlap-novenyek?showAll=0&id=1292>

8.Mellékletek

NYILATKOZAT

a záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió¹ nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: NADHÁZY EVELIN
A Hallgató Neptun kódja: ND7TUO
A dolgozat címe: Adenophora pilosipolia mikroszaporítása és akklimatizációs vizsgálata
A megjelenés éve: 2024
A konzulens intézetének neve: Kertészet-tudományi Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió² egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

-nem titkosított dolgozat a védést követően

-titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: 2024 év 11 hó 02 nap

Nadányi Evelin
Hallgató aláírása

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

² A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

NYILATKOZAT

Nádházy Evelin (név) (hallgató Neptun azonosítója: ND7TUO) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A szakdolgozatot védeésre **javaslom**.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: **nem**

Kelt: Budapest, 2024. november 3.



belső konzulens