

SZAKDOLGOZAT



Gaál Botond

2023



MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM
KERTÉSZETTUDOMÁNYI INTÉZET
BUDAPEST

Természetes táptalaj-adalékok hatása *in vitro* orchidea szaporításban

The effect of natural compounds in *in vitro* propagation of orchids

Gaál Botond

Kertészemérnöki alapképzési szak

Készült a Budai Campus, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet,
Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszéken

Tanszéki konzulens: Tillyné Dr. Mándy Andrea egyetemi docens

Bírálok: _____

Budapest, 2023.10.25

tanszékvezető/szakirányfelelős

konzulens

Tartalom jegyzék

1.) Bevezetés.....	5
2.) Irodalmi áttekintés.....	6
2.1 A trópusi orchideák szaporodásbiológiája	6
2.1.1 Pollenizáció	6
2.1.2 Magfejlés és csírázás.....	7
2.2 A generatív szaporítás	8
2.2.1 A generatív szaporítás fontossága	8
2.3 <i>In vitro</i> szaporítás	10
2.3.1 Táptalajok összetétele és változatai	10
2.4. Természetes táptalajadalékok	12
2.4.1 A kókuszvíz használata <i>in vitro</i> szaporításban	12
2.4.2. A <i>Solanum tuberosum</i> gumójának használata a mikroszaporításban	14
2.4.3. A <i>Helianthus tuberosus</i> gumójának használata a mikroszaporításban	15
2.4.4. Termés kivonatok	16
2.4.5. Élesztő kivonat	17
2.4.6. A méz használata, mint alternatív szénhidrát-forrás <i>in vitro</i> szaporításban	18
2.4.7. Természetes adalékok összehasonlítása <i>in vitro</i> szaporításban	20
2.5. Prolin	21
2.6. Klorofill és karotin	22
2.7. Peroxidázenzim.....	23
2.8. <i>Dendrobium antennatum</i>	23
2.9. <i>Lycaste</i>	24
3.) Anyag és módszer.....	26
3.1. Alacsonyabb mézkoncentráció <i>D. antennatum</i> (I. kísérlet)	27
3.2. Magasabb mézkoncentráció <i>D. antennatum</i> (II. kísérlet)	27
3.3 A <i>Lycaste macrophylla</i> var. <i>alba x bradeorum</i> magvetése	27
3.4. Körülmények	28
3.5. Mérési módszerek	28
3.6. A prolin mérési módszere	29
3.7. A pigment-tartalom meghatározása levélmintából	29
3.8. Peroxidázenzim-aktivitás mérése növénymintából spektrofotometriával.....	30
3.9. Az adatok értékelésének módszere	30
4.) Eredmények.....	31
4.1. Az alacsonyabb mézkoncentrációk hatása a <i>Dendrobium antennatum</i> tömegére.....	31
4.2. Az alacsonyabb mézkoncentrációk hatása a <i>Dendrobium antennatum</i> magasságára.....	32

4.3. A <i>Dendrobium antennatum</i> gyökérfejlődése különböző méz-koncentrációjú táptalajokon.....	34
4.4. Az alacsonyabb mézkoncentráció a <i>Dendrobium antennatum</i> sarjhozatalra gyakorolt hatása	34
4.5. Magasabb mézkoncentráció használatának eredményei a <i>Dendrobium antennatum</i>	35
4.6. <i>Lycaste</i> hibrid protokormok nagysága.....	36
4.7. A táptalajok hatása a <i>Dendrobium antennatum</i> prolin-tartalmára	37
4.8. A mézkoncentrációk hatása a <i>Dendrobium antennatum</i> pigment-tartalmára	38
4.9. Peroxidázenzim-aktivitás mérésének eredményei a <i>Dendrobium antennatum</i> -nak	38
5.) Következtetések	39
6.) Összefoglalás	40
7.) Köszönetnyilvánítás	42
8.) Irodalomjegyzék	43

1. Bevezetés

A kutatási témám a trópusi orchideák generatív szaporítása. Már több mint 10 éve foglalkozom orchideák tartásával. Saját gyűjteménnyel is rendelkezem, amely többször hazai kiállításon is megjelent. Az orchideák iránti nagyfokú érdeklődésem a kísérlet alapja. Kiemelten fontosnak tartom a botanikai fajok magról való szaporítását, ezzel is megőrizve a növények genetikai diverzitását. Számos növény természetes élőhelye elpusztult az elmúlt évtizedekben, ami az ott élő orchideafajok eltűnéséhez vezethet, ill. vezetett. Kiemelten fontosnak tartom e mind nagyobb veszélynek kitett fajok megóvását és fenntartását. Az elmúlt években több kutatás bizonyította, hogy a természetes adalékoknak számos előnyös hatása van. R. Eszéki (2012) doktori disszertációjában a csicsóka és burgonya kivonat hatását elemezte, valamint a csicsóka kivonat táptalaj-komponens használatával sikerrel szaporította a hazánkban szigorúan védett és veszélyeztetett *Liparis loeselii* (Rich.) orchideafajt. A kókuszvíz általánosan alkalmazott táptalaj-alkotó orchideák és más fajok *in vitro* szaporításában (Yong és mts. 2009; Vilcherrez-Atoche és mts. 2020). Előnyös tulajdonságait számos kutató bizonyította (Baque és mts. 2011; Chen mts. 2014, Stefano és mts. 2022). A mézzel kiegészített táptalajokról igen csekély a szakirodalom (Mantovani és Pivetta 2016), bár egyes kutatók említik használatát (Fatonah és Isda 2018; Isda és mts. 2019). A kutatásom célja, hogy megkönnyítsem a növények *in vitro* szaporítását természetes adalékok használatával a táptalajban. Véleményem szerint a természetes adalékok hozzájárulnak a növények gyorsabb és kiegyenlítettebb fejlődéséhez, emellett a természetes hozzávalók környezetbarát megoldást jelentenek a növények mikroszaporítása során. A természetes hozzávalók használata csökkenti a mesterséges úton előállított tápelemek mennyiségét a táptalajban. A kutatásom nem csak a trópusi növények fenntartását segítené elő, hanem a hazai, nehezen szaporítható növények szaporításában is kulcsfontosságú lehet.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A trópusi orchideák szaporodásbiológiája

A szaporodás, szűkebb értelemben vett utódnemzés, nem csak a növény következő nemzedékének kifejlődését, hanem az adott taxon fennmaradását és evolúciós fejlődését is jelenti. Az evolúciós folyamatok igen összetettek, és a fajok többségének küzdeni kell a fennmaradásért, aminek következtében számos adaptációs formát megfigyelhetünk megannyi növényfajnál, beleértve az orchideákat is (Makara 1980).

Az orchideák virág formája hihetetlen változatosságot mutat, ugyanakkor a szerkezeti felépítése az egész *Orchidacea* családban azonos. A virágok szíromlevelei (3+3) két körben helyezkednek el, szimmetrikus képet mutatnak. Tehát, a családra jellemzően trimer, zigomorf virágot figyelhetünk meg (Molnár 2011, Crisenhusz et al. 2018). A hat darab szíromlevél közel sem egyforma formát mutat a legtöbb orchideánál. Ezek közül kiemelnek egyet, amely teljes mértékben eltérhet a többitől; ezt nevezzük *labellumnak* (ajak). A *labellum* formája, színe, összetettsége igen meghatározó a megporzásánál, hiszen ez a növény egyik fő megtévesztő és figyelemfelkeltő szerve (Pijl, Dodson 1969, Crisenhusz et al. 2018). A pollenszemek összeálltak és így egy nagy pollen csomagot, azaz *polliniumot* alkotnak (Tillyné Mándy és Pendert 2014). Ennek előnye, hogy a beporzók egy mozdulattal akár több tízezer pollen szemet is átvihetnek egy másik növény bibéjére (Pijl, Dodson 1969).

2.1.1. Pollenizáció

Az orchideák jelentős többségénél az *allogámia* mérvadó. Egyes fajoknál megfigyelhetünk *autogámiát*, amely lehet obligát vagy fakultatív is. Ez egy evolúciós zsákutca, hiszen a genetikai variabilitás folyamatos amortizációját jelenti (beltenyészet) (Benzing 2012, Darwin 1862). Az *autogamia* botanikai szempontból ott alakulhat ki, ahol a *rostellum* általában hiányzik, vagy nem jól fejlett. Ez lehetővé teszi, hogy a *pollina* könnyen lecsússzon a porzóról a bibére, ami önmegtermékenyítéshez vezet. *Kazogámiáról* beszélhetünk pl. a *Phaius tankervilleae* (Blume), *Spathoglottis aurea* (Lindl.) és *S. plicata* (Blume)) esetében (Ong et al. 2011). Kleisztogámiát az *Epipactis phyllanthes* (G.E. Smith) fajnál írtak le (Claessen, Kleynen 2011). Az orchideák megtévesztéssel, vagy táplálék felkínálásával csalogatják a rovarokat magukhoz (1. táblázat), ezzel biztosítva a megtermékenyítést (Chase et al. 2017). Továbbá, a *Cypripedioideae* alcsalád tagjainak *labelluma* olyan csapdává alakult, ami a beporzó rovarokat odacsalogatja, de csak úgy tudnak belőle kijutni, ha közben elvégzik a beporzást (Fast 1980). Minden egyes faj nagyfokú alkalmazkodást mutat a saját beporzója iránt. A beporzó állatok közt denevérek, méhek, darazsak, éjszaki lepkék, és madarak is találhatóak (Benzing 2012; Meisel et al. 2014). Az orchideafélék családjában gyakran megfigyelhető, hogy a virághoz egy nektártartó sarkantyú is tartozik, ami különösen a lepkéféléknek előnyös, hiszen a hosszú pödörnyelvükkel ki tudják szívni a nektárt az akár harminc centiméteres sarkantyúból is (Darwin 1862). Százalékos megoszlásban 86%-ban rovarmegporzás jellemző (méhek és darazsak 60%; éjszakai lepkék 8%; lepkék 3%; legyek 15%), a további 14%-ot a madarak (8%), a denevérek (3%) és az önbeporzás (3%) teszik ki (Schiff 2019).

1. táblázat. A virág jellemzői és a beporzók közti összefüggések (Benzing 2012.)

Beporzó	Virág jellemző				
	Szín	Illat	Jutalom	Forma és méret	Nyílás ideje
Denevér	krém fehér	erős, kellemetlen	bőséges nektár és vagy pollen	egy nagy, vagy több kicsi	Éjszaka
Méh, darázs	pasztell	kellemes	nektár, pollen vagy semmi utánzás esetén	kicsi-közepes, rengeteg forma	Nappal
Esti rovarok	világos pasztell/fehér	kellemes	nektár	közepes-nagy, hosszú csőszerű pártá	Este-éjjel
Madarak	piros, narancssárga, világos színek	nincs	bőséges nektár	közepes-nagy, hosszú csőszerű pártá	Nappal
Autogamia	zöldes, szürke	nincs	nincs	kicsi, főleg a petalumok	Napközben, éjszaka vagy soha

A természetben számos olyan egyed is előfordul, amelyeknek hibrid származásuk van. Az egymáshoz helyileg közel lévő taxonokat, amelyek egy időben virágoznak, előfordulhat, hogy egyazon beporzó látogatja. Ennek az is lehet az eredménye, hogy két különböző orchidea faj kereszteződik. Példa egy természetes hibridre: *Guarianthe* × *guatemalensis* (T. Moore). Már Charles Darwin (1809-1882) is felfigyelt az orchidea hibridek mivoltára (Tillyné Mándy és Pendert 2014; Molnár 2011). Számos esetben nem hagyatkozhatunk az állati beporzásra, és a fajok többségénél az önbeporzás nem járható út számos genetikai inkompatibilitás miatt, ebben az esetben mesterségesen kell megtermékenyíteni az orchideákat. Az egyik példa erre a *Vanilla planifolia* (Andrews), amely Mexikóban őshonos faj, de olyan helyeken is termesztik, ahol nem található meg a beporzója (Madagaszkár, Réunion stb.). A mesterséges megporzás ma is használatos technikáját Edmond Albius, egy 12 éves Réunion szigetén élő rabszolgaifú fedezte fel, aki egy vanília ültetvényben dolgozott. Az orchidea keresztezéses nemesítése során is ezt a technikát alkalmazzák (Fouché és Jouve 1999).

2.1.2. Magfejlés és csírázás

A beporzás következtében, amint a *pollinarium* sikeresen megérkezett a bibéhez, megkezdődik a termés fejlődés folyamata (Chase et al. 2017). A beporzást követően, és a tok fejlődésével egyidőben a legtöbb orchidea hamar elvirágzik. Ennek ellenére a *Dendrobium* (Sw.) nemzetség *Spatulata* (Lindl.) szekció taxonjai, ahova a *D. antennatum* (Lindl.) is tartozik, nem indul hervadásnak. Ennél a szekciónál a színes virágok zöldes árnyalatot öltenek, merevbb szerkezetűvé válnak, és egy ideig a termésen maradnak (Lavarack et al. 2000). Az *Orchidaceae* családra egységesen jellemző, hogy a magvaik aprók, könnyűek és egy toktermésben rengeteg található belőle. Ezen tulajdonságok alapján elmondható, hogy a család fajai azt a stratégiát követik, hogy rengeteg magot fejlesztenek, viszont ezek kis hányada csíráképes. A kevés csíráképes utód egyik velejárója,

hogy a mag nem tartalmaz *endospermiumot* (Molnár 2011). A beporzás és a megtermékenyítés közti időszak néhány hét is lehet. A teljes toktermés megérése fajtól függően, néhány hónap vagy akár fél évet is igénybe vehet. A zöld termés az éréssel párhuzamosan növekszik, majd a sárgulás bekövetkeztével leszedhető (Tillyné Mándy és Pendert 2014).

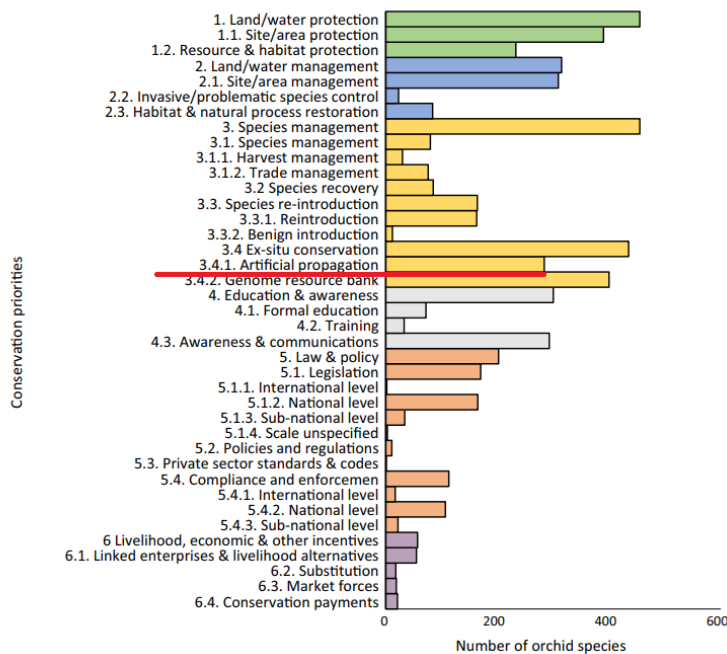
A magok kiszóródása után, a vízfelvétel következtében, csak néhány sejtosztódás megy végbe, megalkotva ezzel egy kezdetleges, differenciálatlan csíranövényt, a protokormot. A protokorm abban az esetben tud tovább fejlődni, amennyiben rátalál a megfelelő gombakapcsolatra (Molnár 2011). A magokban lévő táplálósövet hiányában a csírázáshoz nélkülözhetetlen a *mikorrhiza* kapcsolat. A gomba tápanyaggal látja el a csíranövényt, hiszen az még nem tudja előállítani magának a megfelelő asszimilátumokat fotoszintézis híján (Chase et al. 2017). Ez az *endomikorrhiza* mutualista kapcsolat a legtöbb taxonnál megszakadhat a növény kifejlett korában, ugyanakkor vannak olyan parazita fajok (pl.: *Neottia nidus-avis* (L.)), melyek egész életük alatt igénylik a kapcsolatot (Makara 1980).

2.2. A generatív szaporítás

Mint minden szövetes növény (*Tracheophyta*), így az orchideák is kétféle módon szaporíthatók: generatív és vegetatív szaporítási módokat ismerünk. A reproductív szaporítási mód sajátossága, hogy nagyszámú, genetikailag diverz utód jön létre, míg az ivartalan szaporítás során genetikailag uniformis utódok (klónok) indulnak fejlődésnek (Tillyné Mándy és Pendert 2014). Az orchideák szaporításának kezdetei a 19. századig nyúlnak vissza, amikor a kereslet hirtelen megnövekedett a ritka trópusi fajok iránt, viszont a beszerzésük az orchidea vadászokon keresztül igen hosszú időnek és költségesnek bizonyult (Schiff 2019). Az első sikeres csíráztatásokat a véletleneknek köszönhetőek, hiszen a természetben begyűjtött fajok és a gyökérükhöz tapadt közeg tartalmazta a csírázáshoz szükséges gombákat. Amennyiben a természetők sikeresen megtermékenyítették a fajokat, a magvakat az anyanövény cserepébe kiszórva néhány egyed sikeresen csírázott (Makara 1980). Az orchideák és egyes gomba taxonok endofita szimbióta *mikorrhiza* kapcsolatára napjainkban is több kutatás irányul (Teixeira da Silva et al. 2015, Gilián 2020).

2.2.1. A generatív szaporítás fontossága

Az eddig felfedezett 26000 faj többsége veszélyeztetettnek mondható a régóta tartó tömeges illegális gyűjtés és kereskedelem következtében. A 19. századtól kezdve rengeteg trópusi orchideát gyűjtöttek be a természetből, aminek nagy része tönkrement a hosszú út során (Schiff 2019). Továbbá, a természetes élőhelyek elpusztítása és a klímaváltozás is hozzájárul a fajok populációjának redukálásához (Wraith et al. 2020). A számos példa közül kiemelném a *Paphiopedilum rothschildianum*-ot (Stein), amely a fokozott gyűjtés következtében a természetes élőhelyén kihaltak bizonyult (Gardiner, Cribb 2018). A fajok védelmében több nemzetközi összefogás is létrejött, mint például a CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna) és a IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources) (R. Eszéki 2012). R. Eszéki (2012) szerint a tiltás nem a megfelelő megoldás, hiszen az emberek többsége így is megtalálja az utat a természetkárosításra és a veszélyeztetett fajok kereskedelmébe hozatalára.



1. ábra. A növények védelmének lehetőségei (Warith et al. 2020.)

¹A fajok védelmére rengeteg lehetőséget ismerünk, ugyanakkor felmérések szerint az adott terület védelmét tartják a legrelevánsabbnak, és nem a veszélyeztetett fajok génbanki elhelyezését vagy szaporításukat. A mellékelt diagrammon (1. ábra) is jól látható, hogy a mesterséges szaporítás (Artificial propagation) nem az első helyen áll (Wraith et. al. 2020). Arditti (2008) szerint egy jól működő alternatív lehetőség lenne az orchideák *in vitro* szaporítása és tömegtermelése. A veszélyeztetett növények tömegtermelése

kereskedelmi célra, és egy részük visszatelepítése a természetes élőhelyükre, csökkentené az illegális gyűjtést. Ebből adódóan az orchideák fokozottabb szaporításával és visszatelepítésével visszaszoríthatnánk a veszélyeztetett fajokok számát (Tillyné Mándy és Pender 2014). Ong és munkatársai (2011) is az *in-situ* megőrzést tartja a legfontosabbnak, hiszen így nem csak az összes életforma marad meg, hanem minden egyes olyan ökológiai követelmény is, amely biztosítja a sikeres virágzást, terméstermést és regenerálódást. A teljes ökoszisztéma-hálózat hosszú távú fennmaradása biztosított. Az *in-situ* megőrzés fontos kiegészítője az *ex-situ* megőrzés. Ebben az esetben a növényeket mesterségesen tartják fenn génbankokban, ami lehet: *in vitro* szövettanyészet, magbankok, vagy maga a növénygyűjtemény. Az ilyen gyűjtemények biztosítékot jelentenek a természetes élőhelyen bekövetkező növényveszteségek ellen, vagy egyszerűen mentőövként szolgálnak a kihalás szélén álló fajok megmentéséhez (Ong 2011). Továbbá, Ong és munkatársai (2011) is fontosnak tartják az *ex-situ* állományok szaporítását és visszatelepítését. Hazánkban is vannak törekvések a veszélyeztetett fajok szaporítására és visszatelepítésére Gilián (2020) a *Himantoglossum adriaticum* (H. Baumann) *ex-situ* szaporításának módszerét fejlesztette ki.

¹ 1. Föld/vízvédelem 1.1. Helyszín/terület védelme 1.2. Erőforrás- és élőhelyvédelem 2. Föld-/vízgazdálkodás 2.1. Terület- és területgazdálkodás 2.2. Invazív/problémás fajok elleni védekezés 2.3. Élőhely és természetes folyamatok helyreállítása 3. Fajgazdálkodás 3.1. Fajgazdálkodás 3.1.1. Gyűjtésgazdálkodás 3.1.2. Kereskedelmi irányítás 3.3.1. Visszatelepítés 3.2. A fajok helyreállítása 3.3. A fajok visszatelepítése 3.3.2. Kíméletes betelepítés 3.4. Ex-situ megőrzés 3.4.1. Mesterséges szaporítás 3.4.2. Gén-bank 4. Oktatás és tudatosítás 4.1. Hivatalos oktatás 4.2. Képzés 4.3. Tudatosság és kommunikáció 5.1.2. Nemzeti szint 5. Jog és politika 5.1. Jogszabályok 5.1.1. Nemzetközi szint 5.1.3. Nemzeti szint alatti szint 5.1.4. Meghatározatlan szint 5.2. Politikák és rendeletek 5.3. Magánszektorbeli szabványok és kódexek 5.4. Megfelelés és végrehajtás 5.4.1. Nemzetközi szint 5.4.3. Nemzeti szint 6.1. Kapcsolódó vállalkozások és megélhetési alternatívák 5.4.2. Nemzeti szint 6. Megélhetési, gazdasági és egyéb ösztönzők 6.2. Helyettesítés 6.3. Piaci erők 6.4. Természetvédelmi támogatások

2.3. *In vitro* szaporítás

Az *in vitro* szaporítás magában foglalhat generatív, illetve vegetatív (klónozás) szaporítást is. A folyamat során ellenőrzött körülmények között viszonylag rövid időn belüli tömegszaporítás történik. Ezen szaporítási módszer egyik fő előnye az előbb említettek mellett a kórokozó- és kártevő-mentesség. További előnyökhöz sorolható, hogy évszaktól és időjárástól függetlenül bármikor végezhető. A művelet során nélkülözhetetlen a teljes sterilitás (Jámborné Benczúr és Dobránszki 2005). A veszélyeztetett növények *in vitro* szaporítása hatékony technika a tömegtermelésre és a megőrzésükre, különösen a csökkenő populációjú taxonok esetében (Stefano et al. 2022).

A természetben szimbióta gombák fertőzése szükséges az orchideamagvak csírázásához. A gomba elhagyásának lehetősége az *in vitro* csíráztatás során új szempontokkal gazdagította az orchideák szaporítását (Kang et al. 2020). *In vitro* körülmények között a megfelelő tápelemek és cukor hozzáadásával aszimbiotikus (gombakapcsolat nélküli) csíráztatás is kivitelezhető (Jámborné Benczúr és Dobránszki 2005). A történelem során ez a technika egy magyar kutató, Galambos Mária nevéhez fűződik, aki 1914-ben kidolgozta a módszert, ugyanakkor a kutatási eredményei elvesztek. 1922-ben L. Knudson (1884-1958) publikálta ezt az eljárást, akinek nemzetközi hírnevet hozott (Tillyné Mándy és Pendert 2014). A mai napig is jellemzően az aszimbiotikus magvetést végzik túlnyomó többségben (Arditti 2008). A nemesítés során a fajták gyors felszaporítása miatt az *in vitro* kultúrában a szövettenyésztés technikája terjedt el. A technika a növényi sejtek totipotenciájára épül, mely során az izolált inokulumot fitohormonokkal kezelve morfogenezist idézünk elő, ami lehet organogenezis vagy szomatikus embriogenezis. Ez esetben az inokulum leggyakrabban a csúcshajtásról származó szövet, merisztéma szövet, de akár egyetlen sejtből (protoplasztból) is regenerálhatunk új egyedeket (Arditti 2008).

2.3.1 Táptalajok összetétele és változatai

In vitro körülmények között a növények számára a táptalaj tartalmazza azokat az anyagokat, amelyekre természetes körülmények között szükségük lehet a fejlődéshez (Jámborné Benczúr és Dobránszki 2005). Az orchideák szaporítására használt táptalajok általában a következőket tartalmazzák: ásványi anyagokat (makro- és mikro elemek), vitaminokat, szénforrást és esetleg növekedésszabályozókat (auxin és citokinin csoportok) (Utami és Hariyanto 2016). A táptalaj alapját desztillált víz adja, amiben a komponenseket feloldjuk. A folyadék szilárdítására gélképző anyagot használunk, leggyakrabban ez egy tengeri alga tisztított, porított terméke, a neve agar. A táptalaj elkészítését követően a fertőtlenítése következik (Tillyné Mándy és Pendert 2014).

A növényi táptalajokban található ásványi anyagok a szerves molekulák szintézisének építőkövei, illetve enzimatis reakciók katalizátorai. Az oldott sók ionjainak nagy jelentősége van, szerepet játszanak ellenionként az ionizált molekulák szállításában, az ozmotikus szabályozásban és az elektrokémiai rendszer fenntartásában (DUCHEFA BIOCHEMIE B.V Catalogue 2010-2012). A táptalajban lévő sók mikro- és makroelemekre oszthatók: Fe, Cu, Mn, Co, Mo, B, I, Ni, Cl és Al mikroelemekre és N, P, K, Mg, Ca, S makroelemekre (2. táblázat). Ez a felosztás azon alapszik, hogy az adott elemekből mennyire van szükségük a növényeknek (Fast 1980).

2. táblázat. MS táptalaj mikro- és makro elemek
DUCHEFA BIOCHEMIE B.V Catalogue 2010-2012

MAKROELEMEEK	mg l ⁻¹
CaCl ₂	332.02
KH ₂ PO ₄	170.00
KNO ₃	1900.00
MgSO ₄	180.54
NH ₄ NO ₃	1650.00
MIKROELEMEEK	mg l ⁻¹
CoCl ₂ x 6H ₂ O	0.025
CuSO ₄ x 5H ₂ O	0.025
FeNaEDTA	36.70
H ₃ BO ₃	6.20
KI	0.83
MnSO ₄ x H ₂ O	16.90
Na ₂ MoO ₄ x 2H ₂ O	0.25
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	8.60

A magokból hiányzik az *endospermium*, de az embrió sejtjeiben vannak tárolt tápanyagok, főleg proteinek és lipidek, időnként egyszerű oldható cukrok, amelyek segítségével elindulhat a sejtosztódás. Az előbb említett források hamar kifogynak, emiatt aszimbiotikus csíráztatás esetében szénhidrát forrás hozzáadása szükséges (Szendrák 1997). Ennek ellenére az *Orchis morio* (L.) cukor nélküli táptalajon is ki tudott csírázni, viszont amely szénhidrátot is tartalmazott, annál nagyobb csírázási százalék volt kimutatható. *Platanthera bifolia* (Rich) esetében csak a cukrot tartalmazó táptalajon volt sikeres a csírázás (R. Eszéki 2012). Az orchidea magoncok kezdetben heterotrófok, később a fotoszintézis beindulásával lépésről lépésre autotrófokká válnak, de néha még ebben az életciklusban is szükségük van további aminosavakra és egyéb tápanyagokra külső forrásból (Szendrák 1997). Nem minden szénhidrát forrás alkalmas a csíráztatáshoz. Alkalmasnak említhető: D-glükóz, D-fruktóz és a szacharóz. Nem felvehető például az L-cukrok és kimondottan toxikusnak mondható a galaktóz (Arditti 1984). Arditti (1984) arról számolt be, hogy a fruktóz alapú táptalajon jobb csírázás érhető el. A leggyakrabban és leghatékonyabban használt cukor viszont a szacharóz, ugyanakkor fontos megemlíteni, hogy csak a megfelelő mennyiségben segíti elő a csírázást (Arditti 1984).

3. táblázat MS táptalaj vitaminok (DUCHEFA)

Vitaminiok	mg l ⁻¹
Glicin	2.00
Inozitol	100.00
Nikotinsav	0.50
Pyridoxin	0.50
Tiamin	0.10

Az optimális pH érték beállítását KOH-dal vagy citromsavval végezzük annak függvényében, hogy az érték emelése vagy csökkentése a cél (Jámborné Benczúr és Dobránszki 2005). A trópusi orchideák számára legtöbb hasznos elem 5-6,5 közötti pH érték mellett érhető el (Dodson, Gillespie 1967). Arditti (1984) szerint a csírázáshoz szükséges pH 3,6-7,6 között van, ugyanakkor a túl alacsony pH szintén vontatott növekedést eredményezhet.

4. táblázat. MS kiegészítés (Fast 1980)

Kiegészítés	mg l ⁻¹
Agar	10
Szacharóz	30
Indol-3-ecetsav (IES)	1-30
Kinetin	0,04-10

Az MS (Murashige és Skoog 1962) táptalaj a leggyakrabban használt szövettenyésztő táptalaj, amelynek számos változatát fejlesztették ki. Eredetileg a *Nicotiana tabacum* (L.) kalluszok tenyésztésére fejlesztették ki (DUCHEFA BIOCH EMIE B.V Catalogue 2010-2012). A táptalaj igen hasznosnak bizonyult az orchideák szaporításánál is, viszont egyes esetekben célszerűbb a makroelemeket a felére (1/2 MS), vagy harmadára (1/3 MS) csökkenteni, a mikroelemeket meghagyva eredeti mennyiségben (R. Eszéki 2012). Az MS táptalaj makro- és mikroelemeit a 2. táblázat mutatja. A táptalajt esetenként kiegészíthetjük vitaminokkal (3. táblázat). Az elkészítés során valamilyen szilárdító anyagot érdemes használni (agar), és a cukor forrás sem maradhat ki *mikorrhiza* kapcsolat nélküli közegből. A hormonok használata nem minden esetben szükséges, de kiegészítésnek a növények egyes fejlődési szakaszaiban előnyös (4. táblázat).

Az MS mellett nagy gyakorisággal használják a Knudson C-t és ennek módosított változatait (Arditti et al. 1982). R. Eszéki (2012) több alkalmammal is használta a KC (Knudson C) táptalajt a trópusi orchideák magvetése esetén. Jainol és Jualang (2015) sikeresen szaporította a *Dimorphorchis lowii* (Rolfe) fajt Knudson C táptalajon. Ezenfelül, amikor a Knudson C táptalajt különböző természetes adalékokkal egészítették ki, fokozott növekedést tapasztaltak (Jainol és Jualang 2015).

2.4 Természetes táptalajadalékok

A szövettenyésztéshez használt táptalajok a drága szintetikus adalékanyagok helyett olcsó szerves anyagok hozzáadásával helyettesíthetők (Stefano et al. 2022). Sok tudományos szövegben megemlítik, hogy az alap táptalaj feljavítható természetes adalékanyagokkal, amik serkentik és kiegyenlítik a növények fejlődését (Arditti 1967, Jainol és Jualang 2015, Utami és Hariyanto 2020). A szövettenyésztés kutatásának korai szakaszában igen gyakori volt a használatuk, ugyanakkor az elmúlt évtizedekben visszaszorult. Manapság főleg pontosan ismert összetételű kémiai hatóanyagokat használnak, ugyanakkor számos bizonytalan és változó összetételű természetes adalékot is (DUCHEFA BIOCHEMIE B.V Catalogue 2010-2012). Makara (1980) megemlíti, hogy a kókuszvíz, banán kivonat és a halkivonat használatával serkentették a növények fejlődését. A legérdekesebbnek talán a selyemhernyó bábót és maláj sört emelném ki, mint természetes adalék (Arditti 1984). Az organikus adalékok használata igen összetett kérdés, mivel nehéz meghatározni a pontos mennyiségüket, hiszen az összetételük sok komponensű és változékony. Továbbá az egyes természetes adalékok különböző hatást mutatnak eltérő orchidea taxonok esetében (Arditti 2008). Egyes természetes adalékok, mint például a kókuszvíz, gyümölcslé és a terméskivonatok jelentős mennyiségű vitamint, aminosavakat és szerves vegyületeket tartalmaznak, amelyek növekedésszabályozóként működhetnek. Ezek a jótékony hatású összetevők kiválóan kiegészítik az *in vitro* tenyésztéshez szükséges táptalajt (Stefano et al. 2022). Olyan természetes eredetű anyagokkal is kísérleteznek, amelyek elsősorban nem a jobb növekedést, hanem a táptalaj olcsóbbá tételét teszik lehetővé. Az egyik jelentős költségű hozzávaló a táptalajban a zselésítő anyag, az agar. A magas termelési költségek drasztikusan csökkenthetők, ha a rendkívül drága, szövettenyésztési minőségű tisztított agar helyett egy olcsóbb alternatívát lehetne alkalmazni anélkül, hogy a regenerált növények minősége romlana. Több szakirodalmi forrás is alátámasztja, hogy az agar helyettesítésére jól használható a *Plantago ovata* (Frossk.) magjából származó rost un. isabgol, valamint a szágó por, amely keményítő tartalmú, és a *Metroxylon sagu* (Rottb.) pálmafaj feldolgozásával állítják elő (Sahu és Sahu 2013; Lal et al. 2020; Gour és Kant 2011).

2.4.1.A kókuszvíz használata *in vitro* szaporításban

A kókuszdió, *Cocos nucifera* (L.) a világ legnagyobb területén termesztett pálmafajai közé tartozik. A növény minden része hasznos. Feldolgozható a növény törzse, levele, gyökere és termése is. A termés részei; *mezocarpium*, *endocarpium*, és az *endospermium*. A *mezocarpiumot* többek között termesztőközegek készítésére használják. Az *endocarpiumból* kiváló minőségű aktívzén állítható elő. Az *endospermium* két ehető részre bontható: a fehér magra és egy tiszta folyadékra, a kókuszvízre (Prades et al. 2012; R. Eszéki 2012). Számos jótékony hatásával, az egyik leggyakrabban használt organikus terméknek tekinthető. Üdítőként is

fogyasztják, mivel tápláló, és előnyös befolyással van az egészségre. Egyre több tudományos bizonyíték támasztja alá a kókuszvíz egészségügyi szerepét (Yong et al. 2009).

A kókuszvizet először Overbeek és munkatársai (1941) használták szövettenyészetekben, akik megállapították, hogy a benne lévő összetevők hozzájárultak a *Datura stramonium* (L.) kezdeti embrionális fejlődéséhez. A kókuszvíz széleskörű felhasználását a következőkkel lehet magyarázni: a cukrok, vitaminok, ásványi anyagok, aminosavak és a kókuszvíz egyedi kémiai összetétele miatt igen kimagaslónak és komplexnek nevezhetjük. Továbbá fitohormonokat is tartalmaz (Yong et al. 2009). A legjobb, ha frissen, 20-30%-os töménységben használjuk (R. Eszéki 2012). George és munkatársai (2008) kisebb mennyiségekről is beszámoltak; a *Panicum miliaceum* (Walter) fajra már 15%-os töménységben is pozitív hatással volt. MS táptalajhoz 5% kókuszvizet adva szomatikus embriogenezist értek el gombakallusból (Lu és Vasil, 1981). Szendrák (1997) A *Dactylorhiza sp.*, *Ophrys sp.* és a *Anacamptis sp.* nemzetségeknél is sikereket ért el kókuszvízzel való csíráztatásban és magoncnevelésben is.

A fitohormonok egy összefoglaló kifejezés, amely számos növekedésszabályzó anyagot takar. Az öt alap növényi hormon (auxin, gibberellin, etilén, citokinin és az abszcizinsav) közül a legnagyobb mennyiségben citokinin származékokat találhatunk a *Cocos nucifera* (L.) termésének folyékony *endospermiumában*, amely segítségével gyors sejtburjánzást érhetünk el *in vitro* körülmények között. A citokininen belül a három legnagyobb mennyiségben elfordulók: trans-zeatin riboside, trans-zeatin O-glucoside, dihydrozeatin O-glucoside. Továbbá, a kókuszvíz tartalmaz auxinokat (IES), gibberellineket (GA1; GA2) és abszcizinsavat is (ABS) (Yong et al. 2009).

Al-Khayri és munkatársai (1992) a kókuszvízről kimutatták, hogy a sejtek osztódását indukálja: egy táptalaj, 10-15% térfogatszázalékban érett kókuszvízzel kiegészítve, 5 hét után megnövelte a *Spinacia oleracea* (L.) kallusz súlyát, felgyorsította a növekedést és a hajtásregenerációt. A kókuszvíz nélküli táptalajokon ugyanez a folyamat 8-12 hét volt. Srinivasan és munkatársai (2020) a fél koncentrációjú MS táptalajt 10%-os kókuszvízzel kiegészítve gyorsabb növekedést tapasztaltak a *Ranunculus wallichianus* (Wight. & Arn.) esetében, mint 5% vagy 20% hozzáadásával. A ½ MS táptalajhoz hozzáadott kókuszvíz fokozta a hajtások megnyúlását, de a gyökérindukciót nem segítette elő *Hylocereus polyrhizus* (Britton & Rose) esetében (Ng et al. 2020). A kókuszvíz sok szempontból előnyösnek mondható a növekedés-szabályozás tekintetében, habár a szaporító laborok nem gyakran használják a magas ára miatt. Ennek ellenére számos kísérletben szerepel (George et al. 2008).

A kókuszdió vize a termésen belül steril. Szerves és szervetlen vegyületekből áll, valamennyi ásványi só is tartalmaz, amire a növényeknek – ebben az esetben a csíranövényeknek – szüksége lehet. Az ásványi anyagok közül a káliumot tartják a legnagyobb mennyiségben előforduló elemnek. A tanulmányok szerint jelentős különbségek lehetnek az érett és éretlen kókuszdió vizének kémiai összetételében. Az 5. táblázat tartalmazza az kókuszdió folyékony *endospermiumában* eddig kimutatott tápelemeket. Az egyes sorokban szereplő értékek különböző élőhelyekről származó kókuszvíz minták tápelem-tartalmát mutatják (Prades et al. 2012).

5. táblázat. Különböző származású kókuszvizek tápelemeinek összehasonlítása (Prades et al. 2012).

K	Cl	S	Ca	Na	Mg	P	Mn	Al	Zn	Fe	Cu
mg·100 mL ⁻¹										µg·100 mL ⁻¹	
356	–	–	46.0	31.0	14.0	–	–	–	0.03	–	–
255	–	4	31.3	15.9	9.3	12.6	0.08	0.06	0.02	16	29.3
247	108	80	40.0	48.0	15.0	6.3	–	–	–	79	26.0
164	131	–	18.2	4.1	7.8	21.0	–	–	–	–	–
273	–	–	47.7	45.4	11.7	9.2	–	–	–	112	28.7

A kókuszvízben továbbá megtalálhatók: vitaminok, aminosavak, cukrok, cukoralkoholok, lipidek, nitrogén tartalmú vegyületek, szerves savak és enzimek (Yong et al. 2009). A vitaminok közül a legnagyobb mennyiségben a C-vitamin (aszcorbinsav) található meg a termékben (20-40 mgL⁻¹), ez az érték pl. a citrusfélékkel összehasonlítva igen kevés (Prades et al. 2012). Továbbá, a kókuszvízben megtalálhatók az alábbi B vitaminok: Tiamin (B1); Riboflavin (B2); Nikotinsav (B3); Pantoténsav (B5); Pyridoxin (B6).

Kevésbé megfigyelt tény, de Asghar et al. (2011) kimutatta, hogy a magasabb kókuszvíz koncentráció gátló hatással volt a hajtásfejlődésre egy *Dendrobium* taxon esetében.

A kókuszvíz még számos különleges kutatás alapját képezheti. Megállapították például, hogy a kókuszvíz képes támogatni a rekombináns fehérjék szintézisét DNS-vektorok segítségével (Prades et al. 2012).

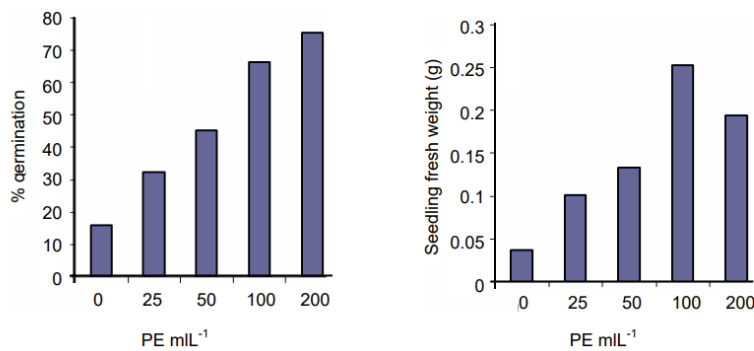
2.4.2 A *Solanum tuberosum* (L.) gumójának használata a mikroszaporításban

A burgonya (*Solanum tuberosum*) a világon az egyik legnagyobb mennyiségben termesztett növény. Az emberi táplálkozás szempontjából rengeteg hasznos anyagot tartalmaz a gyökér raktározó szerve. Ugyanezen növényi szerv a növények szaporításánál is felhasználható, mint tápanyagforrás (Gaudino et al. 2020). A burgonya kivonat az általános táptalajokkal használva hasznosak bizonyult portok kultúra létrehozásában különböző gabonafélék esetében (George et al. 2008).

A növényi fejlődés szempontjából is számos fontos alkotóelemet tartalmaz a burgonyakivonat, ezek közül kiemelném a magas kálium tartalmat, amely akár 693,8 mg/100 g is lehet (Gaudino et al. 2020). A fontosabb tápelemek közé tartozik még a magnézium, amelyből a gumó nagy mennyiséget tartalmaz (Molnár et al. 2011). Továbbá az aszcorbinsav (42 mg/100 g) és a fehérje tartalma (0,85-4,2%) is magasnak mondható (Gaudino et al. 2020). A C-vitamin mellett B1 és B6 vitaminokat is tartalmaz (Molnár et al. 2011).

Számos kutatás bizonyítja a burgonya gumó kivonatának jótékony hatásait a növények *in vitro* csíráztatásában és a magoncnevelésben: *Cypripedium flavum* (P.F. Hunt & Summerh.) esetében hatékonyan működött a burgonyagumó homogenizátum (Yan et al. 2006), és a *Paphiopedilum* fajok is pozitív értékeket mutattak (Yao et al. 2021). Chen és munkatársai (2014) ½ MS táptalajhoz 25, 50 és 100 gL⁻¹ mennyiségű burgonyagumó homogenizátumot adtak *Dendrobium officinale* (Kimura & Migo) *in vitro* szaporítása során. Az eredményeik a

következők voltak: a 25 gL⁻¹ tartalmú táptalajon volt a legkisebb a növekedés és a növények sárga leveleket fejlesztettek; az 50 gL⁻¹ es táptalajon a növekedés erőteljesebbnek bizonyult, de ugyancsak sárga levelek képződtek. A legnagyobb, 100 g L⁻¹ koncentráció bizonyult a legjobbnak; itt mutatkoztak a legnagyobb zöld hajtások (Chen et al. 2014). Egy hasonló kísérletben a *Vanda roxburghii* (R.Br.) csírázását vizsgálták különböző mennyiségű burgonyagumó homogenizátumon. A kísérletben 25, 50, 100 és 200 mL⁻¹ mennyiséggel dolgoztak. A legnagyobb csírázási százalékot a legmagasabb koncentráció mutatta (Islam et al. 2011) (2. ábra).



2. ábra. *Vanda roxburghii* csírázása különböző mennyiségű burgonyagumó homogenizátumon. (Islam et al. 2011)

A burgonya az egyik legnagyobb mennyiségben termesztett kultúrnövény, emiatt hatalmas mennyiségű hulladék származik a feldolgozásuk során. A kibocsárára szánt részek feldolgozásának sok alternatívája lehet, az egyik, hogy újra bevigyük a növények körforgásába az *in vitro* táptalajok felhasználásához (George et al. 2008).

2.4.3. A *Helianthus tuberosus* (L.) gumójának használata a mikroszaporításban

A csicsóka (*Helianthus tuberosus*) Észak-Amerikai származású növény. A 17. századtól Európában is termesztik. Ma már számos országban igen bevált kultúrfaj, hiszen rendkívüli az alkalmazkodóképessége a környezeti tényezőkhoz, és a növény valamennyi része felhasználható (Slimestad et al., 2010). *In vitro* szaporításhoz a táptalajba keverve ritkán szokták használni, de R. Eszéki (2012) számos jó eredményt ért el használatával.

A növény legértékesebb része a gumója, hiszen ez tartalmazza a legtöbb tápanyagot. A *H. tuberosus* gumójának megközelítőleg 75-80 százaléka víz, 2-3 százaléka protein és 15-16 százaléka szénhidrát. A szénhidrátok közül érdemes megemlíteni az inulint. Az inulinok olyan polimerek, amelyeket fruktózegységek építenek fel és a láncvégeken található meg a glükóz csoport. A *Helianthus tuberosus* és a *Solanum tuberosum* raktározó szerve sok mindenben hasonlít. Mind a kettőnek magas a szénhidrát tartalma, ugyanakkor abban eltérnek, hogy a *H. tuberosus* inulin formájában tartalmazza, míg a *S. tuberosum* keményítő formájában (Xiao et al. 2011). Az inulin nagy mennyiségben tartalmaz káliumot (478 mg/100 g). A vitaminok közül főleg a B (B1, B2) vitaminok találhatóak meg benne (R. Eszéki 2012.)

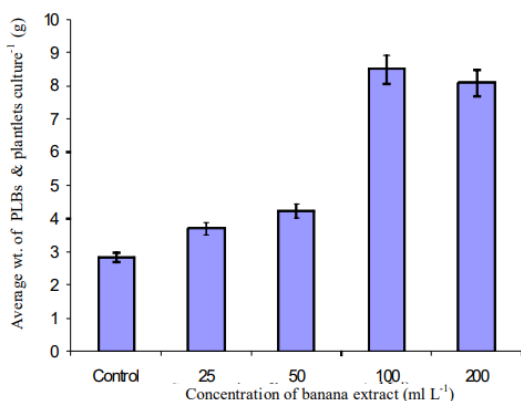
R. Eszéki (2012) egyik kísérletében bemutatta, hogy a különböző mennyiségű csicsóka homogenizátum milyen hatással van a *Paphiopedilum sukhakulii* (Schoser & Senghas) csírázására és magoncnevelésére. Az alábbi koncentrációkban használta: 25 mL⁻¹; 50 mL⁻¹; 100 mL⁻¹; 200 mL⁻¹. A kontroll táptalajjal (csicsóka nélküli, ½ MS) összehasonlítva mindegyik csicsókás táptalajon lévő magonc gyorsabban fejlődött. A legkiegyenlítettebb

állomány a 25 mL⁻¹ koncentrációjú táptalajon volt. A 100 mL⁻¹ illetve a 200 mL⁻¹ koncentrációjú csicsóka homogenizátumot tartalmazó táptalajokon fejlődő növények igen nagy szórást mutattak. A legtöbb fejletlen példány ezeken mutatkozott, viszont a többivel összehasonlítva ezen a két táptalaj típuson kapta a legtöbb olyan növényt, amely a legnagyobbra növekedett, mind a levél, hajtás és a gyökér tekintetében (R. Eszéki 2012). Egy másik kísérletben *Paphiopedilum venustum*-ot (Pfizer) csíráztatott és különböző csicsóka termékeket hasonlított össze: friss csicsóka 10 g/35 ml; csicsóka homogenizátum 100 mL⁻¹; szárított csicsóka 1,5 g/35 ml. A megfigyelések alapján a szárított csicsókával kiegészített táptalaj toxikusan hatott a növényekre. A friss csicsóka homogenizátum kedvezőnek mutatkozott a fejlődésükre. A friss csicsókás táptalajon összességében több levél fejlődött, de rövidebbre nőttek, míg a homogenizátumon kevesebb volt az átlag levélszám, de a levelek hosszabbak (R. Eszéki 2012).

2.4.4. Termés kivonatok

Az *in vitro* szaporítás kezdetétől alkalmaztak terméskivonatokot. Az elsők között szerepelt a banán, a paradicsom és a maláta homogenizátum. Nem véletlenül használták ezeket a termékeket, hiszen nagy mennyiségben tartalmaznak aminosavakat, peptideket, zsírsavakat, szénhidrátokat, vitaminokat és növényi növekedést szabályzó anyagokat (George et al. 2008). Molnár és munkatársai (2011) beszámolnak a terméskivonatok jótékony hatásáról, ugyanakkor fontos megemlíteni, hogy az adott termékek hatása különböző növényi kultúrákban eltérhet.

A banán homogenizátumot igen gyakran szokták használni *in vitro* orchidea szaporításban. Számos tanulmány beszámol a növények növekedését gyorsító hatásáról, ami valószínűleg a citokinin tartalmával magyarázható (Molnár et al. 2011.) Továbbá pH semlegesítő hatást is mutat (George et al. 2008). A növényi fejlődésre gyakorolt hatásában fontos szerepet játszik magas vitamin, szénhidrát és ásványi anyag tartalma. 100 gramm terméskivonatban 12 g cukor található, ami nélkülözhetetlen lehet asszimbiotikus orchidea csíráztatásban. A vitaminok közül kiemelhetők a C, B5, B6 vitaminok. Ásványi anyag tartalma is magas, 100 g termés tartalmaz magnéziumot (27 mg), foszfort (22 mg), káliumot (358 mg), nátriumot (1 mg) és cinket (0,15 mg) (Sidhu és Tasleem 2018). A banán kivonat jótékony hatását a *Cattleya* sp. és a *Dendrobium tosaense* (Makino) fajknál is megemlítik (Vyas et al. 2009).



Islam és munkatársai (2015) kísérlete alapján is sikeresnek mondható a banán extraktum használata orchidea protokormok nevelésében. ½ MS táptalajhoz 0.0; 25; 50; 100 és 200 mL⁻¹ koncentrációban keverték banánkivonatot. A protokormok 90 napig fejlődtek a táptalajokon. A kísérlet során megfigyelték az új protokormok számát és tömegét. A kontrollt és a két legnagyobb mennyiségben hozzáadott banánkivonatot összehasonlítva, az értékek többszörös növekedést mutattak a

3. ábra A banánkivonat eredményei (Islam et al. 2015)

banán tartalmú táptalajokon (3. ábra) (Islam et al. 2015).

Vyas és munkatársai (2008) eredményei azt mutatják, hogy a banán extraktum elősegíti a *Dendrobium luteiflorum* (Lindl.) csírázását. Megfigyeléseik alapján a banánkivonat előnye abban rejlik, hogy felgyorsítja a protokormok differenciálódását és elősegíti a levelek és gyökerek fejlődését (Vyas et al. 2008). Vilcherrez-Atoche és munkatársai (2020) banánliszt kiegészítéssel csíráztattak sikeresen *Cattleya maxima* (Lindl.) magvakat.

Bár már nem használják gyakran, úgy tűnik, hogy a malátakivonat különleges szerepet játszik a *Citrus* taxonok *in vitro* szaporításában. A maláta extraktum nagy mennyiségben tartalmaz szénhidrátokat. Továbbá, beindítja az embriogenezist a sejtmagi explantátumokban. Továbbá, a magvak csírázását is elősegíti. A növények fejlődésében fontos szerepet játszik a malátakivonat az auxin és gibberellin tartalma (George et al. 2008).

Az orchideák *in vitro* szaporítása során sokszor előkerül a paradicsom extraktum is, hiszen a C-vitamin, cukrok és egyéb antioxidánsok jelenléte a paradicsomkivonatokban elősegíthetik a csírázását és a protokormok növekedését (Arditti és Ernst, 1993). Azt is megállapították, hogy a paradicsomkivonatot tartalmazó táptalajon tenyésztett embriók gyorsabban növekedtek, mint a kókuszvizet tartalmazó táptalajon tenyésztettek (Semiarti et al. 2010). Semiarti és munkatársai (2010) 3 héten át különböző mennyiségű (50 - 200 mgL⁻¹) paradicsom extraktumon csíráztatták a *Phalaenopsis amabilis* (Blume) magjait, amelyek ezen idő alatt protokormokká fejlődtek. Ezen protokormokba egy transzgen segítségével kanamicin-rezisztencia gént transzformáltak. A génmódosított protokormok a paradicsomkivonatot tartalmazó táptalajon tenyésztettek a legsikeresebben. A regenerált hajtások nagy gyakorisággal (7-17%) tartalmaztak kanamicin-rezisztencia gént (Semiarti et al. 2010).

2.4.5. Élesztő kivonat

Az élesztőkivonat használata a kezdeti *in vitro* szaporítási gyakorlathoz képest lecsökkent. Főként olyan táptalajokhoz keverték kiegészítésnek, amelyek csak makro- és mikroelemeket tartalmaztak, hiszen az élesztőkivonatnak magas az aminosav és a vitamin, elsősorban tiamin (B1) tartalma. Az aminosavak százalékos aránya az élesztőkivonatban 7% körül van (aminonitrogén). Ez jelentősen magasabb az eddig említett természetes adalékok nitrogén tartalmával szemben, a malátakivonatban 0,5% nitrogénforrást találhatunk. Az esetek többségében a 0,1-1 gL⁻¹ élesztőkivonattal egészítették ki a táptalajokat. Nagyobb mennyiségben az élesztőkivonat csírázásgátló hatású lehet (George et al. 2008). Manapság már szintetikus vegyületekkel egyszerűen helyettesíthető az élesztőkivonat, ilyen helyettesíthetők lehetnek az aminosavak közül a glicin, lizin és arginin, továbbá a B1 és a B3 vitaminok. Az élesztőkivonat főként a növekedést fokozza viszonylag alacsony nitrogén-koncentrációt tartalmazó táptalajon, vagy ahol a vitaminok hiányoznak (Molnár et al. 2011).

Az élesztőhasználattal kapcsolatban több eltérő hatásról tesznek említést különböző növénykultúrák esetében. Jawan és munkatársai (2007) KC (Knudson, 1946), ½ MS (Murashige & Skoog, 1962), VW (Vacin & Went, 1945) táptalajokat egészítették ki természetes adalékokkal (kókuszvíz, paradicsomkivonat, banánkivonat, élesztőkivonat, pepton), melyeken a *Vanda dearei* (Rchb.f.) protokormok növekedését és fejlődését figyelték meg. A hajtás-, levél- és gyökérnövekedés alapján az élesztőkivonatot tartalmazó táptalaj bizonyult a legjobbnak

(Jawan et al. 2007). David és munkatársai (2015) a *Vanda helvola* (Blume) csírázását figyelték meg különböző természetes adalékokkal kiegészített KC táptalajon. Az élesztő hatására kétszeresére gyorsult a csírázás. Ugyanakkor, a fejlődésük hosszútávon csökkent, még 30 és 60 nap után is fejlettebbek voltak az élesztőkivonaton lévő növények, viszont 90 nap után már a kontroll volt jobb hatású.

Abraham és munkatársai (2010) megfigyelései alapján az élesztőkivonat nem mutatott semmilyen hatást a *Curcuma mangga* (Valeton & Zijp) *in vitro* szaporított biomasszájára és a hajtásnövekedésre. A magoncok azonban morfológiai rendellenességeket mutattak, amikor nagyobb mennyiségben használták az élesztő kivonatát (3,5 mgL⁻¹ és ennél magasabb). Ellenben a magasabb koncentrációjú (3,5 és 5,0 mgL⁻¹) élesztő kivonat használatakor intenzívebb gyökérnövekedést figyeltek meg.

2.4.6. A méz használata, mint alternatív szénhidrát-forrás *in vitro* szaporításban

A méz komplex keverék, összetételében és jellemzőiben földrajzi és botanikai eredete miatt nagymértékben eltérő. A fő tulajdonságait a virág származása és a méhek által gyűjtött nektár határozza meg. A méz összetétele és minősége a termelés során számos környezeti tényezőtől függ: az időjárás, a kaptáron belüli páratartalom, a nektár körülményei, a méz kezelése, a méz kinyerése és tárolása. Továbbá, a méz összetétele a méhek táplálkozásától is függ. A számos tanulmány értelmében a méz akár több mint 180 anyagot is tartalmaz (Tafere 2021). Gheldof és Engeseth (2002) szerint a sötétebb színű mézek több fenolsav-származékot, és kevesebb flavonoidot tartalmaznak, a világosabb színűek ezzel pont ellentétesen.

A méz összetevői között a szénhidrátoknak nagy jelentősége van. Összesen a termékek három féle cukrot

6. táblázat A méz összetevői (Tafere 2021)

Ásványi anyag	Átlagos mennyiség 100g mézben
Ca	4-30 mg
Cl	2-20 mg
Cu	0.01-0.1 mg
Fe	1-3.4 mg
Mg	0.7-13 mg
P	2-60 mg
K	10-470 mg
Na	0.6-40 mg
Zn	0.2-0.5 mg

tartalmaznak: fruktózt (41%), glükózt (34%) és szacharózt (1-2%) (Cummins et al. 2007). A méz pontos cukor összetételét meghatározza az invertáz enzim, amely katalizálja a szacharóz fruktózzá és glükózzá alakulását. Az enzim megtalálható abban a virágban, amelyről a méhek nektárt gyűjtenek és a méhek testében is jelen van (Pasquale et al. 2013).

A méz különböző mennyiségben tartalmaz ásványi anyagokat (6. táblázat). A fő elem a kálium, de a nyomelemek széles skálája is megtalálható benne. A nyomelemtartalma elsősorban a méz botanikai eredetétől függ. Általánosságban elmondható, hogy a sötétebb színű mézek nagyobb mennyiségben tartalmaznak ásványi anyagot, mint a világosabbak (Tafere 2021).

A savak szintén a méz összetevői, leginkább alma- és citromsavat tartalmaz. A méz pufferképessége a foszfátoknak, karbonátoknak és egyéb ásványi só tartalmának köszönhető (Molan 1996).

Mantovani és Pivetta (2016) sikerekről számoltak be a méz használatával kapcsolatban *in vitro* szaporításban. Különböző mézkoncentrációban hasonlították össze az *Encyclia cordigera* (Dressler) fejlődését. Kontrollnak egy szacharóz alapú és egy szénhidrát-mentes táptalajt használtak. A faj magjait először 90 napig ½ MS táptalajon

csíráztatták, majd áttűzdelték 15 gL⁻¹, 30 gL⁻¹, 40 gL⁻¹ vagy 60 gL⁻¹ koncentrációjú mézet tartalmazó ½ MS táptalajra. A kontrollt 30 gL⁻¹ szacharózzal egészítették ki (7. táblázat). A hatodik féle táptalaj nem tartalmazott cukorforrást. Ezekon a táptalajokon is 90 napig fejlődtek a növények. A növények számát, a gyökerek számát, a legnagyobb levél hosszát, a leghosszabb gyökér hosszát, a gyökerek számát, levelek számát, valamint a friss és száraz tömeget értékelték. Az eredmények alapján a 60 gL⁻¹ koncentrációjú mézzel kezelt növények fejlődtek a legjobban. Ez a táptalaj a 30 gL⁻¹ szacharózt tartalmazó táptalajnál is jobbnak bizonyult. Az alábbi táblázaton részletesen megtekinthető a kísérletük eredményei (Mantovani és Pivetta 2016).

7. táblázat. Mézkoncentrációk hatása az *Encyelia cordigera* fejlődésére (Mantovani és Pivetta 2016)²

Mean values for the number of leaves (NL), length of the largest leaf (LLL) in mm, number of roots (NR), length of the largest root (LLR) in mm, total fresh mass (FM) in mg, and dry mass (DM) in mg of *Encyelia cordigera* seedlings grown *in vitro* in different concentrations of honey.

Treatments	NL	NR	LLL mm	LLR mm	FM mg	DM mg
30g L ⁻¹ sucrose	2.47abc	2.62c	62.80c	27.25cd	338.70c	13.55c
15g L ⁻¹ honey	2.53a	2.26d	51.05c	21.90d	331.15c	12.25c
30g L ⁻¹ honey	2.50ab	3.02b	113.90b	48.45b	740.15b	29.50b
45g L ⁻¹ honey	2.45bc	2.71c	52.85c	31.75c	364.00c	14.55c
60g L ⁻¹ honey	2.41c	3.61a	138.40a	63.70a	1055.05a	42.30a
no carbohydrates	2.31d	1.98d	28.35d	14.55e	159.22c	5.80c
CV %	1.32	4.77	10.25	9.00	19.48	19.83

Fatonah és Isda (2018) *Fagraea fragrans* (Roxb.) magoncokon végeztek összehasonlítást a szacharóz és a méz különböző koncentrációban való használatáról *in vitro* szaporításban. Az alap MS táptalajhoz 1 mgL⁻¹ BAP-t (6-Benzilaminopurin), különböző mennyiségű szacharózt (30, 40, 50, 60 gL⁻¹) és mézet (6 és 12 mL⁻¹) adtak. Az eredményeik azt mutatták, hogy az 1 mgL⁻¹ + BAP + 12 mL⁻¹ méz eredményezte a legmagasabb hajtásképzési százalékot (93.33%). A kísérlet során azt is tapasztalták, hogy a nagy mennyiségben hozzáadott szacharóz (60 gL⁻¹) toxikus a magoncokra (Fatonah és Isda 2018).

Plažek és Dubert (2010) a *Miscanthus × giganteus* (J.M. Greef & Deuter) szövettenyésztése során fellépő barnulást okozó fenolok oxidációjának kiküszöbölése végett különböző természetes táptalaj-adalékokat használtak. Az eredményeik értelmében, a mézzel kiegészített táptalajon kisebb volt a fenolosodás. Megfigyelték, hogy a banánkivonat és mézet tartalmazó táptalaj kallusz-indukcióhoz vezet. Továbbá, ezekből a kalluszokból regenerálódott a legtöbb hajtás (Plažek és Dubert 2010).

Isda és munkatársai (2019) sikeresen használták a mézet kiegészítésként MS táptalajon. Kutatásuk célja az volt, hogy meghatározzák az optimális BAP és mézkoncentrációját a *Garcinia mangostana* (L.) *in vitro* szaporítása során. Az eredményeik alapján a legjobb növényállomány a 7 mgL⁻¹ BAP + 3 mL⁻¹ mézzel kiegészített MS táptalajon alakult ki. A *Sorghum bicolor* (Moench) esetében a szacharóz és a méz együttes hatása bizonyult a

² A levelek számának (NL), a legnagyobb levél hosszának (LLL) mm-ben, a gyökerek számának (NR), a legnagyobb gyökér hosszának (LLR) mm-ben, az *Encyelia cordigera* palánták friss tömegének (FM) mg-ban és száraz tömegének (DM) mg-ban méz különböző koncentrációiban történő növekedésének átlagértékei *in vitro*ban.

legjobbnek kallusz-regenerációban. A két komponens szinergikusan hatott a cirok kalluszkultúrák hajtásregenerációjára (Dreger et al. 2019).

2.4.7. Természetes adalékok összehasonlítása *in vitro* szaporításban

A természetes adalékok vizsgálata igen nehéz feladat (George et al. 2008). Sokszor ugyanazon adalékok is nagyon eltérhetnek, például nagy különbségeket mutatnak a különböző érettségi stádiumban lévő kókuszdióból kivont kókuszvíz tételek (Prades et al. 2012). Ugyanez elmondható a mézre is, ha ugyanonnan származik is, számos faktor módosíthatja a termék összetételén (Tafere 2021). Ebből kiindulva a különböző természetes adalékok hatását összehasonlítani is egy összetett kérdés (George et al. 2008). Az alábbiakban néhány összehasonlításon alapuló kísérletet szeretnék ismertetni.

Chen és munkatársai (2014) a *Dendrobium officinale* (Kimura & Migo) szaporítása során összehasonlítottak különböző növényi extraktumokat. A kísérletben felhasználtak burgonyakivonatot, almakivonatot és banánkivonatot (8. táblázat). Mind a három természetes adalékot 100 gL⁻¹ koncentrációban alkalmazták. A kísérlet során a magoncok szaporodását, a növények hosszát és növekedési erejét figyelték meg. Az eredmények alapján a három kivonat közül a burgonyakivonat bizonyult a legmegfelelőbbnek (Chen et al. 2014). Az eredmény nem meglepő, hiszen a három kivonat közül a burgonya tartalmaz a legnagyobb mennyiségben káliumot és jelentős a szénhidrát tartalma is (Gaudino et al. 2020).

8. táblázat *Dendrobium officinale* *in vitro* szaporítása különböző természetű adalékokkal (Chen et al. 2014)³

Additive	Concentration (g L ⁻¹)	Multiplication rate	Shoot length (cm)	Vigour
Potato	100	6.0 ± 0.2a	3.4 ± 0.2a	Tall vigorous shoots; green leaves. ++++
Apple	100	4.5 ± 0.2b	1.4 ± 0.1c	Less-vigorous small shoots; small yellow leaves. ++
Banana	100	5.0 ± 0.3b	2.2 ± 0.1b	Shoots with good vigour; small yellow leaves. +++
Control	0	5.0 ± 0.2b	0.6 ± 0.2d	Small shoots; some shoots chlorotic; small yellow leaves. +

David és munkatársai (2015) a paradicsomlé, a kókuszvíz, a pepton és az élesztőkivonat *Vanda helvola* (Blume) magjainak csírázására és a csíranövényre gyakorolt hatásait figyelték meg különböző koncentrációjú KC (Knudson, 1946) alapközegben. A paradicsomlében lévő magoncok viszonylag gyors csírázást és dinamikus, egyenletes fejlődést mutattak. Az összehasonlított adalékok közül, hosszútávon a paradicsomlé bizonyult a legjobbnak. A paradicsomlé és az összes többi kivonattal összehasonlítva az élesztőkivonaton a csírázás jelentősen kevesebb időt vett igénybe, ugyanakkor a kezdeti gyorsaság 90 nap elteltével lecsökkent. A pepton tartalmazó táptalajon a csírázási idő megegyezett a kontroll (alap KC) táptalajjal. Fejlődésük egyenletes, gyors volt. A 90 nap elteltével a peptonnal kiegészített táptalaj mutatta a második legjobb értéket (9. táblázat). Meglepő módon a kókuszvízzel kiegészített táptalajon igen rosszul fejlődtek a magoncok. A csírázási idő jelentősen

³ Burgonya: Magas, erőteljes hajtások; zöld levelek. +; Alma: Kevésbé erőteljes kis hajtások, kis sárga levelek. +; Banán: Jó életerős hajtások, kis sárga levelek. +++; Kontrol: Kicsi hajtások, néhány hajtás klorotikus, kicsi sárga levelek. +

magasabb volt a kontrollénál és a 90 nap elteltével a fejlődésük alig volt számottevő a többi természetes adalékot tartalmazó táptalajjal összehasonlítva (David et al. 2015).

9. táblázat *Vanda helvola* csírázása természetes adalékokat tartalmazó táptalajokon (David et al. 2015) ⁴

Organic additive	Concentration	Germination response (day)	Germination percentage (% ± S.D)		
			30 days	60 days	90 days
Control	0	28	12.10 ± 2.08 ^e	33.70 ± 1.57 ^e	66.40 ± 4.14 ^e
Tomato juice (% v/v)	10	23	42.80 ± 2.53 ^c	81.60 ± 1.35 ^a	91.20 ± 1.55 ^a
	15	23	44.30 ± 3.53 ^c	83.90 ± 2.47 ^a	92.30 ± 1.42 ^a
	20	21	47.90 ± 4.31 ^b	83.10 ± 3.18 ^a	80.60 ± 1.90 ^b
Coconut water (% v/v)	10	38	0 ^b	9.20 ± 3.08 ^g	19.80 ± 2.49 ^j
	15	38	0 ^b	11.70 ± 3.56 ^{fg}	24.20 ± 4.02 ^j
	20	35	0 ^b	13.80 ± 3.12 ^f	26.50 ± 4.74 ⁱ
Peptone (% w/v)	0.1	28	3.40 ± 1.78 ^g	47.30 ± 5.12 ^c	73.20 ± 2.97 ^d
	0.2	28	8.20 ± 1.48 ^f	49.50 ± 4.77 ^d	74.90 ± 2.08 ^{cd}
	0.3	28	7.10 ± 1.10 ^f	52.50 ± 2.99 ^d	76.10 ± 2.02 ^c
Yeast extract (% w/v)	0.1	15	44.80 ± 4.08 ^c	74.20 ± 2.44 ^b	62.10 ± 3.03 ^f
	0.2	15	39.10 ± 4.89 ^d	73.90 ± 1.72 ^b	58.10 ± 3.14 ^g
	0.3	14	53.50 ± 4.09 ^a	73.10 ± 3.62 ^b	49.20 ± 3.01 ^h

Nugroho és munkatársai (2019) a tanulmányukban összetett táptalajokon figyelték meg a *Dendrobium antennatum* (Lindl.) csírázását. Az öt különböző táptalaj típus a következőket tartalmazta: (1.) MS (Murashige & Skoog, 1962) + kókuszvíz 10% + szacharóz 20 gL⁻¹; (2.) Growmore 1 gL⁻¹ + kókuszvíz 10% + szacharóz 20 gL⁻¹; (3.) Growmore 1 gL⁻¹ + banánpép 100 gL⁻¹ + kókuszvíz 10% + szacharóz 20 gL⁻¹; (4.) Growmore gL⁻¹ + banánpép 100 gL⁻¹ + kókuszvíz 10% + sárgarépalé 50 mL⁻¹ + szacharóz 20 gL⁻¹; (5.) Growmore 1 gL⁻¹ + újhagymakivonat 50 gL⁻¹ + szacharóz 20 gL⁻¹. A Growmore egy műtrágya, ami az öt táptalajból négynek az alapját képezi. A kémiai összetevői: 10-55-10 (N:P:K); Ca 0,05%; Mg 0,10%; S 0,20%; B 0,02%; Co 0,05%; Fe 0,1%; Mn 0,05%; C 0,05%; C 0,05; Mo 0,0005%; Zn 0,05%. Az öt táptalaj közül háromnál figyelték meg 100 százalékos csírázást: az 1., a 2. és az 5. esetében. Közülük az 5-ös számúnál volt a leggyorsabb az átlagos csírázási idő és az egyik legegészségesebb tenyészet is ezen a táptalajon valósult meg (Nugroho et al. 2019).

Számos kísérlet bebizonyította, hogy a banánpép jó hatással van az orchideák fejlődésére (Momtaj et al. 2021). Az előbbi állítást Gnasekaran és munkatársai (2010) is alátámasztják; a kísérletükben összehasonlították a banán, a paradicsom a kókuszvíz és a papaja hatását. A banánkivonat bizonyult a legalkalmasabbnak a *Phalaenopsis violacea* (H.Witte) *in vitro* szaporításában. A *Laelia purpurata* (Lindl. & Paxton) és az *Encyclia randii* (Porto & Brade) esetében is a banánkivonat hasznosabbnak mutatkozott a peptonhoz és az aktív szénhez képest (Gonçalves et al. 2012).

2.5. Prolin

Amikor a növények kedvezőtlen környezeti hatásoknak vannak kitéve, metabolitokat halmoznak fel, különösen aminosavak formájában (Hayat et al. 2012). Egyik ilyen aminosav a prolin, amely felhalmozódása a magasabb rendű növényekben biotikus vagy abiotikus stressz hatására történik. A növények szabad prolin-tartalma növekedhet pl. dehidratáció hatására, magas talaj sótartalom növekedésére, az optimálisnál hidegebb hőmérséklet esetén, bizonyos kórokozók hatására (Ábrahám et al. 2010). A stressz során fontos ozmolitként

⁴ Első oszlop; Természetes hozzávalók: kontrol, paradicsomlé, kókuszvíz, pepton, élesztő kivonat
Első sor; Természetes hozzávalók, Koncetráció, Csírázási idő (napban), Csírázási százalék 30, 60, 90 nap elteltével

viselkedik. A biotikus és abiotikus tényezők hatására a növényekben a prolin túltermelődik, ami a sejtek turgor vagy ozmotikus egyensúlyának fenntartásával stressztűrő képességet biztosít. E folyamat által stabilizálja a sejtmembránokat, ami megakadályozza az elektrolitok szivárgást. Továbbá, megelőzi az oxidatív károsodást (Hayat et al. 2012; Verbruggen és Hermans 2008).

A növényekben a prolin bioszintézise kétféleképpen történik: a glutamát útvonalon és az ornitin útvonalon. A glutamát út során történik a prolin felhalmozódás az ozmotikus stressz következtében. A prolin a glutaminból szintetizálódik a P5C savon (Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate) keresztül. A prolin katabolizmusa a mitokondriumban történik. Rehidratáció során a lebontógének aktiválódnak és lebontják a prolin molekulákat, ugyanakkor dehidratáció esetén ezen gének transzkripciója gátolt, nem tudják lebontani a prolint, ami felhalmozódik. Felhalmozódása számos módon segíthet a növények stressztűrésében: fenntartja a fehérjeszintézist és enzimaktivátor is. A prolin intercelluláris transzportja a citoszol, a kloroplasztiszok és a mitokondriumok között történik (Hayat et al. 2012).

A stressz válaszreakcióban betöltött szerepe mellett, számos tanulmány kimutatta, hogy a prolinnak meghatározó jelentősége van a virág- és a hajtásindukcióban egyaránt (Mattioli et al. 2009). Az *Arabidopsis* reproduktív szöveteiben a prolin akár 26%-át is képviseli a teljes aminosavkészletnek, míg a vegetatív szövetekben csak 1-3%-át teszi ki (Chiang és Dandekar 1995). Schwacke és munkatársai (1999) megfigyelték, hogy a szabad prolintartalom a paradicsomvirágokban hatvanszor nagyobb, mint bármely más vizsgált szervben. A *Sinapsis alba* esetében azt feltételezik, hogy a prolin virágindukciót válthat ki. A virágzás idejét a prolin befolyásolhatja, akár fejlődési, akár stressz okozta módon, ez azon a tapasztalaton alapul, hogy a stressz virágzást indukálhat. Ugyanakkor ennek ténye még nem bizonyított (Mattioli et al. 2009).

A prolin kimutatására több módszert is alkalmazhatunk. Az izatinpapíron végzett vizsgálat egyszerű és nagyszámú minta prolin-tartalmának meghatározására alkalmas. A kolorimetrikus mérés kvantitatív, és megbízható adatokat szolgáltat a prolin-tartalomról. A HPLC-alapú aminosav-analízis akkor alkalmazható, ha az összes aminosav koncentrációját össze szeretnénk hasonlítani (Ábrahám et al. 2010).

A prolinnak, előnyös tulajdonságai ellenére, toxikus hatása is van, ha túlságosan felhalmozódik a növényben. A rizs növekedésére, magasabb koncentrációban (40-50 mM) a prolin toxikus hatást és gyenge növénynövekedést eredményezett. *Arabidopsis* hipokotil explantátumokban, alacsony koncentrációban alkalmazva fokozta az *in vitro* hajtásorganogenezist, míg magasabb mennyiségben inhibítorként hatott (Hayat et al. 2012).

2.6 Klorofill és karotin

A klorofilok, a karotinoidok, a flavonoidok és a betalainok mellett a növényekben termelt négy fő biológiai pigmentek egyike. A klorofilok a növényi fotoszintézisért felelős elsődleges pigmentek (Chen 2015). A kloroplasztiszok a növények intracelluláris organellumai, amelyek a fotoszintézis mechanizmusát biztosítják. Részt vesznek továbbá az aminosavak, nukleotidok, lipidek és keményítő bioszintézisében (Sugiura 1992). A klorofillt két nagy csoportra oszthatjuk: klorofill-a-ra és a klorofill-b-re. A kettő között szerkezeti különbséget

figyelhetünk meg: a klorofill-a esetében a II. pirolgyűrű 3. szénatomjához metil-csoport tartozik, míg a klorofill-b esetében aldehidcsoport kötődik (Buchanan et al. 2015). A klorofill-a nagyobb mennyiségben van jelen a növényekben, mint a klorofill-b (Datt 1998).

A növények karotinoid pigmentjei nélkülözhetetlen funkciókat töltenek be a fotoszintézisben. Két nagy csoportjukat ismerjük: az oxigént nem tartalmazó karotinokat és az oxigént tartalmazó xantofillokat (Buchanan et al. 2015). A kloroplastszokban másodlagos anyagcsereterméként felhalmozódó, hatékony antioxidánsként is működnek, és egyedülálló szerepet töltenek be a fotokémiai folyamatokban (Jaleel et al. 2009). A magasabb rendű növényekben a karotinoidok további szerepet játszanak abban, hogy bizonyos szerveknek, például a virágoknak és a gyümölcsöknek határozott sárga, narancssárga és vörös színt kölcsönöznek, hogy az állatokat a beporzáshoz és a magok terjesztéséhez vonzzák (Ronen et al. 2000). A karotinoidok a növényeknek a stressz tényezőkkel (különösen a fény- és szárazság-stressz) szembeni védekezésében is fontos szerepet játszanak (Jaleel et al. 2009).

2.7. Peroxidáz enzim

A peroxidáz egy olyan enzim, amely számos élő szervezetben megtalálható. Feladata a hidrogén-peroxid (H_2O_2) lebontása, amely az oxigén használatának melléktermékeként keletkező toxinok egyike. Az enzim katalizálja a szabadgyökök vízzé alakítását, ezzel semlegesítve a nem kívánt anyagot. A növényi kivonatban lévő enzim a hígított hidrogén-peroxidot, vízzé alakítja át. A peroxidáz oxidatív típusú reakciót is katalizálhat, valamint peroxidatív típusú reakciót is (Kay et al. 1967).

2.8. *Dendrobium antennatum* (Lindl.)

A *Dendrobium* nemzetség az *Orchideaceae* családon belül a *Dendrobieae* törzsbe tartozik. A név származása görög eredetű: dendron = fa; bios = élet. A gyakori nevezéktani átsorolásokkal igen nehéz megállapítani a fajok számát, de körülbelül 1000-1400 faj tartozhat ide (Croix 2008.). A természetben a *Dendrobium* genus tágabb értelemben véve Kelet- és Délkelet-Ázsiában, Északkelet- és Kelet-Ausztráliában, valamint Óceánia trópusi és szubtrópusi szigetvilágában található meg (Tillyné Mándy és Pendert 2014). Epifiton, litofiton vagy talajlakó

fajokkal is találkozhatunk a fajok között, valamennyi szimpodiális felépítésű.



4. ábra *Dendrobium antennatum*

A *Dendrobium antennatum* (Lindl.) A *Spatulata* (Lindl.) szekcióba tartozik a nemzetségben belül (Lavarack et al. 2000). A faj az ausztráliai Queenslandben, Pápua és Új-Guineában, a Salamon-szigeteken és a környező szigeteken található magas faágakon, part menti erdőkben, mangrove mocsarakban, szavannákon és esőerdőkben is, 0-1200 méter közötti tengerszint feletti

magasságban. Epifitonként, jellemzően *Calophyllum* és mangrove fajokon telepszik meg. Közepes termetű, mérsékeltévi faj. Felálló, hengeres, nádszerű szár jellemzi, keskenyen hosszúkás levelekkel. A virágzati szár legfeljebb 25 cm hosszú, 3-15 virággal, amely lehet merev, vízszintes vagy ívelt. A nyári hónapokban megjelenő, hosszan tartó, illatos rózsavirág illatú virágai világos alapon mintásak (Croix 2008; Lavarack et al. 2000). A virág illatanyag tartalma miatt illatanyag-előállításban és gyógynövényként is felhasználható (Utami, Hariyanto 2016). A két alsó sepalum mereven felfelé áll és csavarodott formát mutat, emiatt antilop szarvú orchideának is nevezik (Antelope Orchid) (4. ábra) (Tillyné Mándy és Pendert 2014). A virág nektárt nem termel, a beporzó méheket (Hyaleus nemzetség) a virág formájával, színével és illatával csalogatja (Chase et al. 2017). Az egyenletes, egész évben párás, világos fényviszonyok jól megfelelnek ennek a növénynek (Croix 2008). Az ázsiai országokban gyakran használt cserepes dísznövény, de számos helyen találkozhatunk vele, mint vágott virág (Utami és Hariyanto 2016). Továbbá a fajnak nagy jelentősége van az orchideák nemesítésében. A megfelelő intézkedések és a faj szaporításának hiányában a természetes élőhelyén könnyen a veszélyeztetett státuszba kerülhet (Nugroho 2019).

A *D. antennatum* biológiai vonatkozásai még nem széles körben ismertek, különösen a magcsírázás, az embrió és a hajtások *in vitro* fejlődése (Utami és Hariyanto 2016). A faj könnyen fejleszt termést, benne rengeteg maggal, ugyanakkor, mint az orchideafélék többségénél, ezen magok csak kis százaléka tud kicsírázni a természetben, hiszen nem tartalmaz tápláló szövetet. A növény nagy tömegű szaporításához ezért nélkülözhetetlen az *in vitro* szaporítási mód. Az orchideák, így a *Dendrobium antennatum* esetében is, a legfőbb csírázási faktort a táptalaj összetétele képezi. A leggyakrabban MS vagy ½ MS táptalajt használnak. Sok esetben az alap táptalajt kiegészítik kókuszvízzel vagy banánpéppel (Nugroho 2019).

2.9. Lycaste

Amikor Lindley publikált a „Genera and Species of Orchidaceous Plants” (1830-1840) című könyvét, említést tett a *Maxillaria* (Ruiz & Pav.) nemzetségről, amely abban az időben kevés, de annál különbözőbb fajokkal rendelkezett. Évekkel később, amikor a *Maxillaria* nemzetség számos fajjal kibővült, 5 nemzetséget elkülönített az eddig *Maxillaria*-ként leírt fajokból: *Promenaea*, *Scuticaria*, *Warrea*, *Paphinia* és *Lycaste* (Lindl.). Ezzel 1843-ban megalkotta a *Lycaste* nemzetséget. A "Lycaste" név eredete továbbra is rejtély. Az évek során több kutató is próbálta megfejteni a név eredetét, habár pontosan nem tudjuk, de a kutatók az ókori görög mitológia egyik személyének vélik felfedezni a névadót (Ryan 2001). A Kew Gardens adatbázisa alapján jelenleg 36 elfogadott faj tartozik a nemzetségbe (Plants of the World Online 2023)⁵. Rayen (2001) a publikációjában 4 szekcióról és 2 alszekcióról tett említést (*Sect. Fimbriatae*; *Sect. Deciduosae*; *Subsect. Xanthanthae*; *Subsect. Paradeciduosae*; *Sect. Longisepalae* *Sect. Lycaste*). 2003-ban a *Fimbriatae* szekciót genetikai vizsgálatok alapján elkülönítették a *Lycaste* nemzetségtől, és megalkották az *Ida* (A. Ryan & Oakeley) nemzetséget (Syn.: *Sudamerlycaste*) (Bogerin 2007). A *Lycaste* taxonok epifiton, litofiton vagy tereszter növények. A természetes élőhelyük Mexikótól a trópusi Amerikáig terjed, ahol 500 és 2200 m tengerszint feletti magasságban találhatók meg (Croix 2008). A

⁵ <https://powo.science.kew.org/>



5. ábra *Lycaste bradeorum* (Schltr.)

gyökérzetük *velamennel* borított, ahogy ez más epifiton orchideánál is megfigyelt. A pszeudobulbáik viszonylag nagyok, sok vizet és tápanyagot tudnak tárolni, ezzel is alkalmazkodva az esetleges száraz évszakhoz. A leveleik többnyire vékonyak és nagy felületűek. Számos taxon minden évben a száraz évszak bekövetkeztével lehullatja a levelét, és csak az új hatáson fejleszt újat. Ezzel ellentétben a *Fimbriatae* szekcióba (jelenleg *Ida* genus, 2003) tartozó növények 2-4 évig is megőrizhetik lombjukat. A virág szára a pszeudobulbák tövétől növekszik, minden száron egy virágot fejleszt. Valamennyi faj erősen fűszeres illatú virágokkal rendelkezik. A *Lycaste* fajok közti keresztezése genetikailag többnyire kompatibilis, sőt a közeli rokon nemzetségekkel is (pl. *Anguloa* (Ruiz & Pav.)) jól felhasználható a hibridizáció során (Ryan 2001).

A *Lycaste bradeorum* (Schltr.) (5. ábra) taxonomiailag a *Deciduosae* szekcióba, ezen belül a *Xanthanthae* alszekcióba tartozik. Guatemalában, El Salvadorban, Hondurasban, Nicaraguában és Costa Ricában a trópusi erdőkben, félárnyékos helyen fordul elő a természetben. Meleg-mérsékeltvázi epifiton 700 és 1250 méter közötti magasságban található meg. Tojásdad, lapított pszeudobulbákkal rendelkezik, amelyeken a levélhullás után 2 rövid tüske helyezkedik el. Sárga virágai tartósak, nyár végétől tél elejéig van a fő virágzási időszaka (Oakley 2008).

Lycaste macrophylla Lindl. a *Lycaste* szekcióba tartozik. Természetes előfordulása: Costa Rica, Panama, Kolumbia, Ecuador, Peru, Bolívia és Venezuela 400 és 2400 méter tengerszint feletti magasságban. Terreszter faj, virágszín és növényméret tekintetében igen változatos (Oakley 2008). Oakley (2008) említést tesz a faj alba változatáról is: *Lycaste macrophylla* var. *alba* (Oakley) (6. ábra).



6. ábra *Lycaste macrophylla* var. *alba* (Oakley)

3. Anyag és módszer

A *Dendrobium antennatum* kísérleti növények (magoncok) az ELTE Fűvészkertből, Dr. R. Eszéki Esztertől, az orchideák és rovarfogó növények kezelőjétől származnak magvetésből. Az orchideák 2020-ban kerültek át a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetemre a Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet, Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék laboratóriumába. A növények ½ MS táptalajon érkeztek. 2022. februárban új tápközegre tűzdeltem a magoncokat. A táptalaj összetételén nem változtattam. Ebben az esetben is csak mikro- és makroelemeket tartalmazó ½ MS táptalajt alkalmaztam. A tenyészeteket a tanszéki mikroszaporító laboratórium nevelő szobájában („fényszobában”) helyeztem el, ahol 22 ± 4 °C hőmérséklet és 16/8 órás megvilágítás voltak biztosítottak.

A *Lycaste bradeorum*-ot 2016-ban vettem egy hazai orchidea gyűjtőtől. A növény azóta is szépen fejlődik, és minden évben virágzik. A *Lycaste macrophylla* var. *alba*-t egy ecuadori cégtől vásároltam a Magyar Orchidea Társaság kiállításán kb. 3-4 évvel ezelőtt. A mesterséges megtermékenyítést, hibridizációt 2021. november 25-én

10. táblázat A hársméz összetétele (I. melléklet)

Ásványianyag	Mennyiség
N	0,08 (m/m) %
Ca	20,9 mg/100g
Cu	0,0268 mg/100g
Fe	0,227 mg/100g
K	127,3 mg/100g
Mg	4,88 mg/100g
Mn	0,0743 mg/100g
Na	2,02 mg/100g
P	5,52 mg/100g
S	5,89 mg/100g
Zn	0,0887 mg/100g
Cukrok	
Fruktóz	39,5 mg/100g
Glükóz	30,8 mg/100g
Szacharóz	0,288 mg/100g
Maltóz	1,08 mg/100g

végeztem el. A toktermés 9 hónapig fejlődött. Augusztus

közepén kezdett felnyíltni, amikor eltávolítottam, majd 4 Celsius fokon tároltam vetésig. A növényeket üvegházi körülmények között tartom. A két fajt valószínűleg még senki sem porozta össze, ezzel virágzás következtében egy teljesen új hibridet alkotok (RHS⁶ adatbázisa szerint nem regisztráltak ilyen hibridet eddig).

A tanulmány során részben vagy teljesen a szacharóz helyett különböző mennyiségben mézet használtam. A mézek egy vizsolyi méhésztől származtak. Összesen négyféle mézet szereztem be: repce, hárs, galagonya és gesztenye. A mézek pH értéke alapján döntöttem el, hogy melyiket használjam. Mindegyik termék igen savasnak mutatkozott: repce 3,6 pH; hárs 4,3 pH; galagonya 4,4 pH; gesztenye 4,1 pH, ami a táptalaj kémhatásának beállításánál gondot okozhatott. Végző soron a

hársmézre esett a választásom, hiszen majdnem az egyik legmagasabb pH értéket mutatta, és ebből több állt rendelkezésre, mint a galagonyából. A 10. táblázatban⁷ látható az általam használt hársméz ásványi anyag és cukor összetétele. Az összes cukor tartalom a hársmézben 71,6 g/100 g. Ebből kiszámolva 1 g mézben 0,716 g cukor van. A 15 gL⁻¹ méz +10 g cukor (M 1/2) és 30 gL⁻¹ méz (M1) használata során megközelítőleg 20 g cukor mennyiséggel dolgoztam a kontrollal összhangban. Az M2-es kezelés ennél már jóval több, 42,96 g cukrot tartalmazott.

⁶ RHS: Royal Horticultural Society, UK

⁷ Az eredeti laboratóriumi tanúsítvány a mellékletekben található

3.1 Alacsonyabb mézkoncentráció *Dendrobium antennatum* (I. kísérlet)

A *Dendrobium antennatum* továbbnevelési kísérletét a mézzel kiegészített táptalajon 2022. februárban állítottam be, majd kb. 120 nap elteltével vettem ki a lombikból, fagyaszttva tároltam és kezdtem meg a kiértékelésüket. A növények tovább neveléséhez ½ MS táptalajt használtunk. A kontroll (K0) teljesen méz nélküli volt. Az M½ jelölésű táptalajt 10 gL⁻¹ cukorral (szacharózzal) és 15 gL⁻¹ mézzel egészítettük ki. Az M1 tápközegből már teljesen kihagytuk a cukrot és csak mézet adtunk hozzá 30 gL⁻¹ mennyiségben szénhidrátforrásként. Az M2 jelölésű táptalaj szénhidrátforrása is csak méz volt 60 gL⁻¹ mennyiségben (11. táblázat). Minden lombikban összesen négy magoncot helyeztem el. A magoncok nem mutattak teljes homogenitást, de úgy válogattam össze, hogy megközelítőleg egyforma méretűek legyenek.

3.2 Magasabb mézkoncentráció *Dendrobium antennatum* (II. kísérlet)

11. táblázat A különböző kezelések méz és cukor tartalma

Kezelés	Méz (gL ⁻¹)	Cukor (gL ⁻¹)
K0	0	20
M 1/2	15	10
M1	30	0
M2	60	0
M2b	60	0
M3	90	0
M4	125	0

Ebben a kísérletben is a kontroll (K0) 20 gL⁻¹ szacharózt tartalmazott, mézet egyáltalán nem. A magasabb mézkoncentráció esetében is ugyanazt a hársmézet kevertem az alap ½ MS táptalajhoz. Ilyen magas koncentrációban a méz jelentősen levitte a pH értékét, emiatt 1 N KOH oldattal kellett felemelni az orchideáknak megfelelő 5,7-es értékre. Ez igen nagy mennyiségű kálium bevitelt jelentett, ami az ionantagonizmus révén kedvezőtlenül hathatott a növények fejlődésre, de szükségesnek véltem, hiszen 5 alatti pH szinten is vontatott a

12. táblázat MKC táptalaj összetétele (R. Eszéki és Győrvári 2000.)

Makroelemek	Mennyiség
KH ₂ PO ₄	250 mgL ⁻¹
Ca(NO ₃) ₂	500 mgL ⁻¹
(NH ₄) ₂ SO ₄	250 mgL ⁻¹
MgSO ₄	250 mgL ⁻¹
NH ₄ NO ₃	500 mgL ⁻¹
Fe-Edta	5 mL ⁻¹
Mikroelemek	ld. MS mikroelemek
Cukor	20gL ⁻¹
Agar	5 gL ⁻¹

A 13. ábra és az adatok is jól szemléltetik, hogy az M2-es kezelésben egy kivételével az összes érték kedvezőtlen. Kíváncsi voltam, hogy a kedvezőtlen eredmény a véletlen műve, vagy a magasabb mézkoncentráció hatása miatt lett kedvezőtlen az eredmény. Ebből kiindulva egy újabb kísérletet állítottam be magasabb mézkoncentrációkkal. A tenyészetet szintén 120 napig tartottam fenn, majd ezt követte a fagyasztás és kiértékelés. A következő három kezelés a következőket tartalmazta: M2b: 60 gL⁻¹, M3: 90 gL⁻¹ és M4: 120 gL⁻¹. (Az M2b és az M2 kezelés összetételében ugyan az, a „b” jelölés az időbeli eltérést mutatja.)

fejlődés.

3.3. A *Lycaste macrophylla* var. *alba* x *bradeorum* magvetése

A *L. macrophylla* var. *alba* x *L. bradeorum* hibridet 2022. szeptember 28-án vettem el. A táptalaj összetételét a *Dendrobium antennatum* kísérleteire alapoztam, ennek függvényében az alacsonyabb mézkoncentrációval dolgoztam tovább. Alap táptalajnak módosított Knudson C (továbbiakban MKC) táptalajt (R. Eszéki és Győrvári 2000.) használtam, összetevői a 12. táblázatban láthatók. Az MKC táptalaj alacsonyabb sókoncentrációja jobban megfelel a magvak vetésére, mint

az ½ MS táptalaj. Összesen 4 féle kezelést állítottam be: kontroll (sima MKC), M ½ MKC (MKC táptalaj 10 gL⁻¹ szacharózzal és 15 gL⁻¹ az eddigiekben is használt hársmézzel), M1 MKC (MKC táptalaj 0 gL⁻¹ szacharózzal és 30 gL⁻¹ az eddigiekben is használt hársmézzel) és a negyedik kezelésben kókuszvízzel egészítettem ki a táptalajt CW MKC (MKC+eredeti 20 gL⁻¹ szacharóz és 50 mL⁻¹ kókuszvíz). A magokat először 70%-os etanol oldatba mártottuk 1 percre, majd 6 gL⁻¹ Na-DCC (Na-diklór-izocianurát) oldatban fertőtlenítettük 10 percig, amihez 2 csepp Tween 80 nedvesítőszeret adtunk. A magokat háromszor öblítettük steril desztillált vízben, majd vetettük. A növények láthatóan decemberben kezdtek csírázni, kialakultak a protokormok. Viszonylag gyors fejlődésnek indultak, megduzzadtak (14. ábrák, a képek február 9-én készültek). A növények fejlődését ezután kiértékeltem. A vetéstől számítva kb. 130 napot fejlődtek 2023. február 9-ig. Az értékelés után azonos típusú új táptalajra kerültek, majd a gyors növekedésük következtében 2023. júniusában újra áttűzdeltem őket, ugyanakkor ezeket az eredményeket jelen dolgozatba nem tudom bemutatni a szöveg engedélyezett mennyiségének túllépése nélkül. Továbbiakban a mérés és az eredmények az első 130 napot reprezentálják.

3.4. Körülmények

A kísérletben szereplő növényeket továbbra is a tanszéki „fényszobában” helyeztük el steril körülmények között. A helyiségben a növényeket tartalmazó lombikok felett meleg és hideg hullámhossz-tartományú fényt kibocsátó lámpákkal (Polylux XL_R FT8/30W/860) biztosítottuk a megvilágítást napi 16 órában. A további 8 órában nem kaptak világítást. A hőmérséklet az egész nevelési időszak alatt 22-24 Celsius között mozgott. Az említett feltételekkel minden biztosított volt a növények fejlődéséhez. Ezt követően már minden a táptalajon múlt. A növények fejlődése folyamán megfigyeltük a növények növekedését és a felmerülő problémákat. A kísérleti idő alatt nem tapasztaltam befertőződést és fenolosodást sem. A kiértékelés előtti azonnali fagyasztás a gyorsan bomló enzimek miatt volt fontos.

3.5. Mérési módszerek



7. ábra Highland HCB602M típusú laboratóriumi mérleg

A *Dendrobium antennatum* esetében az eredmények értékelése során megfigyeltem a növények nagyságát, tömegét, és a gyökerek fejlettségi állapotát. Továbbá, a prolintartalom mérésével, a pigment tartalom mérésével és a peroxidáz-enzim-aktivitás mérésével próbáltunk képet kapni a növényt ért esetleges stresszhatásról is, amit a táptalaj válthatott ki. A növények magasságát milliméterpapírral mértem, a gyökérszaktól a legnagyobb levél csúcsáig. A tömeg mérése során Highland HCB602M típusú laboratóriumi mérleget használtam (7. ábra). A mérleg a tömeget grammokban, két tizedes pontossággal adta meg. A hossz és a tömeg között nem minden esetben húzhatunk párhuzamot, hiszen számos esetben előfordult, hogy egy alacsonyabb növény több oldalhajtást is

hozott, ami tömegben felülmúlta azokat a növényeket, amelyek az oldalhajtások hiányában szinte csak felfelé törekedtek. A gyökerek fejlettségi szintjét öt kategóriába osztottam: 0; 1; 2; 3; 4. A 0-s számozású fejlettségi szintű növényeknek gyökereik egyáltalán nem voltak, vagy amennyiben volt, még az előző táptalajon képződtek, és már nem voltak funkcióképesek. Az 1-4 közötti intervallumba tartozó növényeknek élő, funkcióképes gyökereik voltak, csak mennyiségi és hosszúsági eltéréseket figyeltem meg.

A *Lycaste* hibrid esetében, az apró protokormok pontos mérése igen nehéz, sőt tovább nehezíti a steril körülmények fenntartása, így egy rendhagyó technikához folyamodtam, amit Forrai Mihály (2010) szakdolgozatában olvastam. A protokormokról fényképet készítettem Xiaomi 11 Lite telefontal, majd a képeket egy képszerkesztő programba helyeztem, ahol a fénykép képpontjait (pixeleit) vettem egy adott állandó egységnek, és a protokormok nagyságát pixeleketben határoztam meg. Mivel a szórás nagy volt ugyanazon kezelések között is, ezért minden kezelésből a 20 legnagyobb protokormot vettem alapul, és vettem össze a többi kezeléssel.

3.6. A prolin mérési módszere

A prolin-szint mérésével meghatározható, hogy a növények az adott körülmények között mekkora stressznek vannak kitéve. A mérés alapja, hogy a prolin savas közegben a ninhidrinnel vörös színű terméket képez. Az oldat színe egyenes arányban áll a növényi minta prolin-tartalmával. A méréshez 4 x 100 mg fagyasztott növényi levélmintát használtam kezelésekként. Mind a négy kezelésből négy ismétléssel dolgoztam, így összesen 16 mintánk volt. A növényi mintát egy mozsárban eldörzsöltem 5 µL/mg 3%-os szulfoszalicilsavval. Az így előállított homogenizátumot szobahőmérsékleten, 5 percig, 14 ezer rpm fordulatszámon centrifugáltuk. A reakcióelegy elkészítéséhez az alábbiakra volt szükség: 100 µL 3 százalékos szulfoszalicilsav; 200 µL koncentrált ecetsav; 200 µL savas ninhidrin és 100 µL a centrifugált növényi minta felülúszójából. Az előbbieken említett mennyiségeket mind a 16 kémcsőbe kimértem. A kémcsöveket lefedés után a reakció elősegítése érdekében 96°C fokon egy óráig melegítettük. A melegítés után hűtőközegbe helyeztem és kémcsőenként 1,5 ml toluollal kioldottam az oldatból a színanyagot. Az elegyet a jobb keveredés érdekében 20 másodpercig vortexeltük. Az így kapott felülúszót szűkített üveg küvétában, 520 nm-en spektrofotométerrel megmértem.

3.7. A pigment-tartalom meghatározása levélmintából

A klorofill- és karotin-tartalom meghatározását Arnon (1949) módszere alapján, azt kissé módosítva végeztük. Az Explorer®Pro analitikai mérlegen pontosan kimért növényi mintákat kevés kvarchomokkal 80%-os acetóban homogenizáltuk, majd 5 ml végtérfogatra kiegészítettük. Az oldatokat szobahőmérsékleten, 5 percig 14 ezer rpm centrifugáltuk, majd a felülúszó fényelnyelését megmértük 480 nm, 644 nm és 663 nm hullámhosszon. A fényelnyelésből a következő képletek segítségével kiszámoltuk a minták összes klorofill- és karotin-tartalmát.

- Klorofill a+b = $(20,2 \times A_{644} + 8,02 \times A_{663}) \times 5 \text{ ml} / \text{bemért tömeg (g)}$
- Karotinoid = $5,01 \times A_{480} \times 5 \text{ ml} / \text{bemért tömeg (g)}$

3.8. Peroxidázenzim-aktivitás mérése növénymintából spektrofotometriával

Első lépésben a növény leveléből homogenizátumot készítettem jéghideg dörzsmozsárban. A mozsarakat rendszeresen cseréltem, hiszen 4° C felett az enzim elbomlik. A növényi rész eldörzsöléséhez 1200 µl K-foszfát puffert (pH=6,5) adagoltam. A mintákat 13500 rpm fordulatszámon 20 percig 4° C-on centrifugáltam.

A méréshez 1650 µl 4,5 pH értékű Na-acetát puffert, 30 µl 1000-szeresre hígított H₂O₂-t, 20 µl ortodianizidin (3,3'-dimetoxibenzidine 10 mg/ml) oldatot, végül 50 µl növényi mintát üveg küvettában összemértem, majd Genesis 10vis típusú spektrofotométerrel 460 nm-en mértem az oldat fényelnyelésének változását (az oldat színének mélyülését) 10 mp-enként, 2 percen keresztül. Az enzimaktivitást az alábbi képlettel számoltam ki:

$$\text{enzimaktivitás} = (\Delta A_1 \times \text{hígítás}) / \epsilon \quad [\text{unit/ml}]$$

ahol:

ΔA_1 : 1 perc alatti abszorbancia változás (a leolvasott érték)

$\epsilon = 11,3$ az ortodianizidin extinciókoefficiense

Az így kapott eredményeket unit/mg-ra átszámoltam a növényi szövet pontos tömegére vonatkoztatva (Kay et al. 1967).

3.9. Az adatok értékelésének módszere

Az adatokat SPSS statisztikai programcsomag egytényezős variancia-analízis (One-Way ANOVA) módszerével, a Duncan teszt lefuttatásával, 95% valószínűségi szinten értékeltük ki.

4. Eredmények

A hipotézisem, hogy a méz alapú táptalaj előnyösen hat az orchidea magoncok fejlődésére, az adatok alapján helytálló volt. A kontrollal (K0) összehasonlítva a három mézzel kiegészített táptalajból kettő minden szempontból sikeresebbnek volt mondható, ebből az M1-es tápközeg kimagasló értéket mutatott. Az eredmény szemmel látható volt. Amennyiben mind a négyféle alapanyagból kiválasztunk egy átlagos darabot, látható, hogy a kontroll táptalajhoz képest az M $\frac{1}{2}$ és az M1 egészségesebb és elevebb habitust mutat, míg az M2-es táptalajon lévő növények egy részénél vontatott fejlődés figyelhető meg. Ahogy fentebb is említettem, minden lombikba négy

13. táblázat Az alacsonyabb mézkoncentráció kezelésenkénti átlag értékei

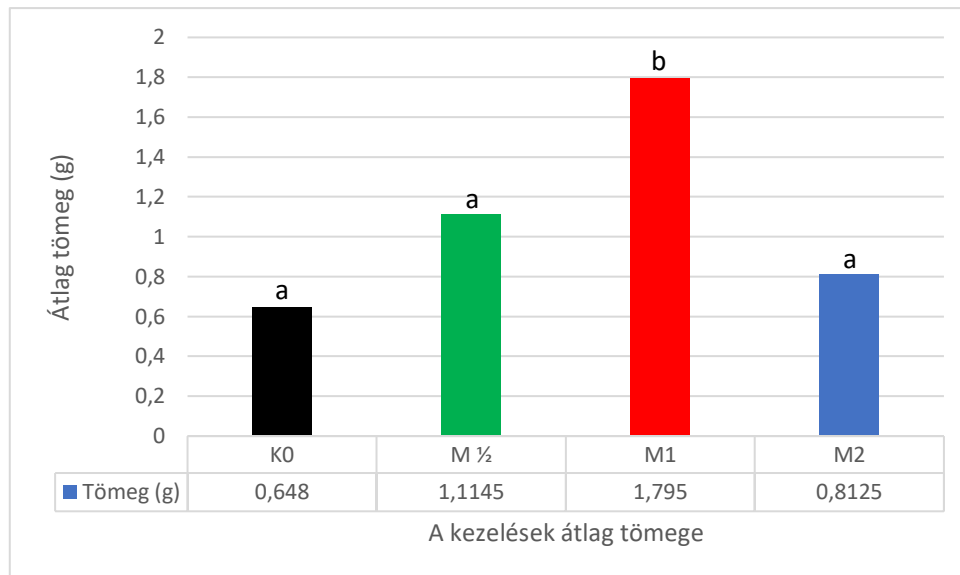
Átlagok	Tömeg (g)	Hossz (mm)	Gyökér
K0	0,648	16,85	1,85
M $\frac{1}{2}$	1,1145	20,25	2,4
M1	1,795	25,35	2,75
M2	0,8125	9,65	1,55

átlag értékeket mutatják.

magoncot helyeztem el, ugyanakkor megfigyelhető volt, hogy valamennyi lombikban teljesen összenőtt a növényállomány és a gyökérzet. Ebben az esetben, ahol ilyen nagy volt a növekedési ráta, négy részre osztottam a növényállományt lombikonként, és így végeztem el az alábbi méréseket. A 13. táblázat adatsorai a lombikonkénti

4.1. Az alacsonyabb mézkoncentrációk hatása a *Dendrobium antennatum* tömegére

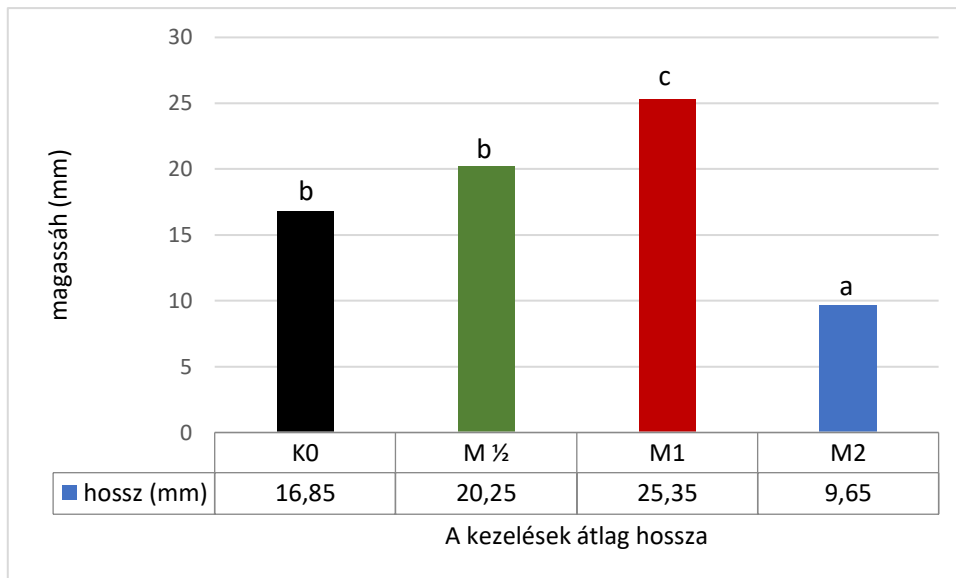
A tömeg adataiban is megfigyelhető volt kis szórás, minden táptalaj típuson voltak kiemelkedőbb és kevésbé fejlődött növények. Természetesen ez az alap növény állománytól is függ, de ettől függetlenül megállapítható, hogy a kontrollhoz képest a mézes kezelések jobb eredményt mutattak a tömeg szempontjából (8. ábra). A Duncan teszt 95 százalékos konfidencia intervallum mellett megmutatta, hogy az M1-es táptalaj szignifikáns különbséget mutat az összes többi kezeléshez képest. Az összes kontroll átlag tömege 0,65 gramm volt, ehhez képest a legjobb M1-es 1,79 g, ami több mint a kontroll kétszerese. Ez a nagy különbség megmutatta, hogy a 30 gL⁻¹ mézet (és egyéb cukrot nem) tartalmazó táptalajon jelentősen jobb volt a növények átlagtömege. Az M $\frac{1}{2}$ (10 g szacharóz + 15 gL⁻¹ méz) táptalajon a fejlődés nagyjából a két előbb említett érték között volt. Ezen a táptalajon a növények összes átlag tömege: 1,11 gramm volt. Az eredmény igen érdekes, hiszen két szénhidrát forrást is tartalmaz: a K0 szacharóz felét és az M1 méz felét, és így is csak a két kezelés között helyezkedik el az átlag tömeg érték. Az M2 táptalajon lévő növények is jobban teljesítettek a K0-nál a tömeg szempontjából. Viszont fontos megemlítenünk, hogy az M1 növényállományhoz képest jelentős visszaesést tapasztalhattunk. Az M2 táptalajon lévő növények átlag tömege: 0,81 g volt. Az érték azért is ilyen alacsony, mivel nem minden magonc maradt életben ezen a táptalajon. Az esetek nagyobb részében egy vontatott fejlődés volt megfigyelhető.



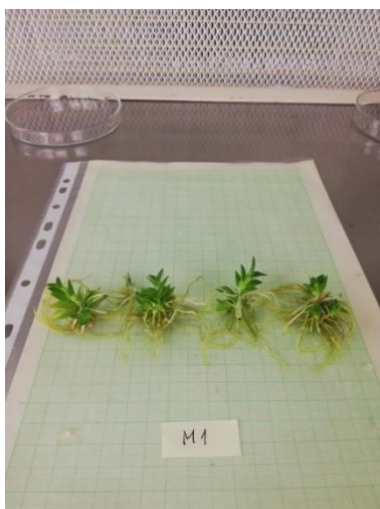
8. ábra *Dendrobium antennatum* átlag tömeg (gramm) értékek és a statisztikai értékelés eredményei

4.2. Az alacsonyabb mézkoncentrációk hatása a *Dendrobium antennatum* magasságára

A növények magassága önmagában nem minden esetben adhat reprezentatív mintát ebben az esetben. Fontos figyelembe vennünk a növények tömegét is, hiszen több magonc esetében előfordult, hogy több oldalhajtást hozva nem növekedett kimagaslóan, ilyen esetben egy nagyobb tömegű alacsonyabb növénycsoportot kaptunk. Ugyanakkor sok hasonlóság figyelhető meg az adatokban a tömeg és a hossz értékek között. A Duncan teszt 95 százalékos konfidencia intervallum mellett bizonyította, hogy az M1 táptalajon a növények magasabbra nőttek. A statisztikai program a K0, M $\frac{1}{2}$ és a M2 táptalaj közt is különbséget tett. A legjobb értékeket ebben az esetben is az M1 táptalaj mutatta (9. ábra). Ezen kezelés növényeinek összessége átlagosan 25,35 milliméter volt. Ezzel párhuzamba vonva a kontroll (K0) táptalajon az átlag hosszának 16,85 millimétert mértem. A két érték között egy viszonylag nagy különbséget láthatunk. Mint ahogyan a tömeg esetében is megfigyelhető volt, az M $\frac{1}{2}$ tápközeg érték a kettő között helyezkedik el, a növények hosszának átlag értéke 20,25 milliméter volt. Fontos megemlíteni az M2 kritikusan alacsony értékét: a kontroll növények jobb értéket mutattak, mint amelyek 60 gL⁻¹ mennyiségű mézet tartalmazó táptalajon fejlődtek. Az M2 tápközegen lévő növények hosszának átlag értéke 9,65 milliméter volt. Ez az érték ugyancsak bizonyítja, hogy a méz egy bizonyos koncentráció fölött kedvezőtlenül hat a növények növekedésére. Összességében a hosszanti növekedésről elmondható, hogy a K0 táptalajhoz képest a kisebb mennyiségben alkalmazott méz hatékony volt, de 30 gL⁻¹ felett az érték csökkent. A kezelésenkénti mintákat a 10. ábrák mutatják.



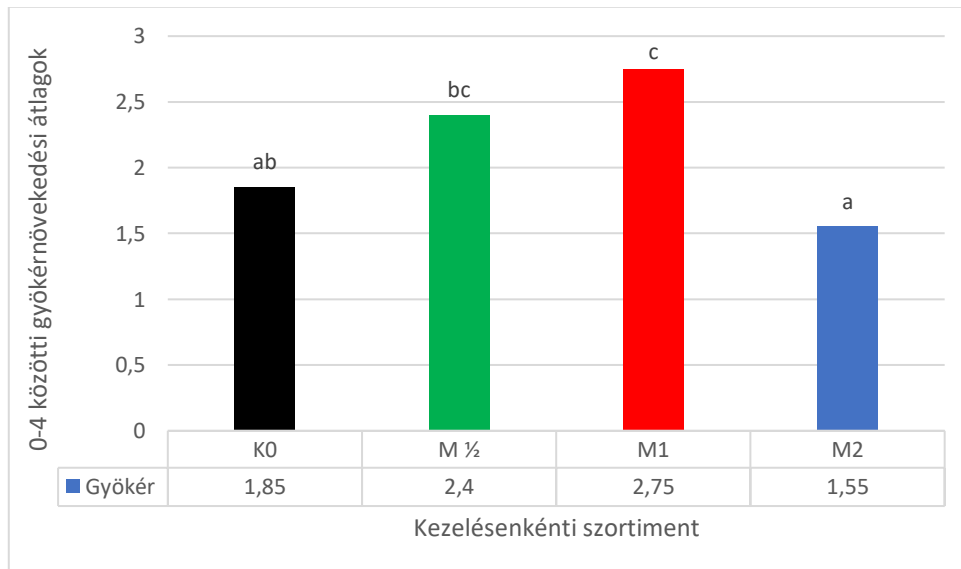
9. ábra *Dendrobium antennatum* átlag hossz (milliméter) értékek és a statisztikai értékelés eredménye



10. ábra A kezelésenkénti hossz mérés mm papíron

4.3. A *Dendrobium antennatum* gyökérfejlődése különböző mézkoncentrációjú táptalajokon

A gyökér növekedése kulcsfontosságú, hiszen ez meghatározza a növény fejlődését és az akklimatizáció során is kiemelt szerepe van. Összességében elmondható, hogy viszonylag nagy százalékban minden növénynek volt egészséges gyökere, amit a kezelés során növesztett. A gyökeresedésben is igazolható a szignifikancia 95 százalékos konfidencia intervallum mellett a Duncan teszttel. Az adataim, a fentiekkel megegyezően hasonló képet mutattak. A legjobb gyökeresedési erélyt az M1 tápközegen tapasztaltam (11. ábra). Ebben a kategóriában számos növényt a legjobb, 4-es kategóriába soroltam. A gyökernövekedés átlag bonitálás-értéke: 2,75. Ehhez képest nem sokkal maradt le a M $\frac{1}{2}$ kezelés, ebben az esetben 2,4 volt az átlag. Ez az érték is kimondottan jónak mondható. Ezt a kontroll csoport követte 1,85-ös átlaggal, majd végül az M2 táptalaj 1,55-ös értékkel került a sor végére. Az M2 táptalajon a vontatott fejlődés kihatott a gyökerek fejlődésre is. Több növénynél tapasztaltam, hogy egyáltalán nem fejlesztett újakat.



11. ábra *Dendrobium antennatum* gyökernövekedés bonitális értéke és a statisztikai elemzés eredménye

4.4. Az alacsonyabb mézkoncentráció a *Dendrobium antennatum* sarjhozatalára gyakorolt hatása

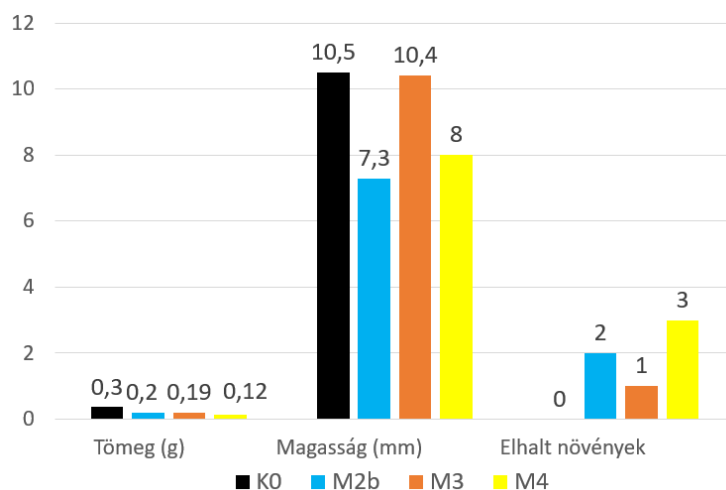
Szemrevételezés alapján megfigyeltem egy fokozott sarjhozatalt az M1 és M $\frac{1}{2}$ táptalajon (12. ábra). A kontroll (K0) tápközegen is megfigyelhető volt a sarjhozatal, de nem olyan mértékű, mint a két előbb említett méz alapú táptalajon. A faj hajlamos a sarjképzésre, de mindenképpen megfigyelhető, hogy a méz alapú táptalaj, meghatározott koncentrációig, elősegíti a vegetatív sarjak képződését. Továbbá, feltételezhető, hogy a méz citokinin származékokat is tartalmaz. Az M2 táptalaj nagy koncentrációjú méztartalma nem hatott előnyösen a sarjhozatalra sem. Az M1 és M $\frac{1}{2}$ táptalajon sok esetben nem egy-két sarjat hoztak a növények, hanem akár több mint tízet. Ezzel a hatalmas osztódással rengeteg genetikailag azonos új növény állítható elő. A nagy sarjhozatal azonban visszavetheti a hosszanti fejlődést, ami miatt meghosszabbodik a kiültethetőség szükséges idő.



12. ábra Fokozott sarj növekedés az M $\frac{1}{2}$ táptalajon

4.5. Magasabb mézkoncentráció használatának eredményei *Dendrobium antennatum* esetében

Az eredmények (13. ábra) igazolták azon hipotézisem, hogy a magasabb mézkoncentráció károsan hat a növényekre, egyes esetekben teljes elhalást is eredményezhet. Ugyanakkor az adatok alapján nem mondható, hogy lineáris hanyatlás következett be. A Duncan teszt alapján, 95 százalékos konfidencia intervallum mellett nem mondható szignifikánsnak az M2b, M3, sem az M4. táptalaj hatása. Viszont az előző kísérlet adataival összehasonlítva mindenképpen egy jelentősen alacsonyabb értéket mutatnak tömeg, magasság és a gyökernövekedés szempontjából is. A tömeg szempontjából az M2b táptalaj mutatta a legnagyobb értéket (0,202 g) ugyanakkor ez bőven elmaradt az előző M2 kezeléstől, ami ugyanannyi mézet tartalmazott. A hossz vonatkozásában a legeredményesebb növényeket ebben a kísérletben az M3 kezelésnél figyeltem meg. Ez az érték 10,4 mm. Az M4 növények csak hosszban nem maradtak alul, de itt mértem a legkisebb tömeget és az elhalási arány is magas volt. A gyökernövekedésük az összes kezelésnél nagyon alacsony volt, minden növény esetében a fentiekben említett osztályzás alapján 0 és 2 kettő közé estek. Továbbá fontos megemlíteni, hogy mind a három kezelés során volt elhalt növény. Az alábbi 13. ábrán megfigyelhetjük a különböző tulajdonságok változását eltérő kezelések hatására.



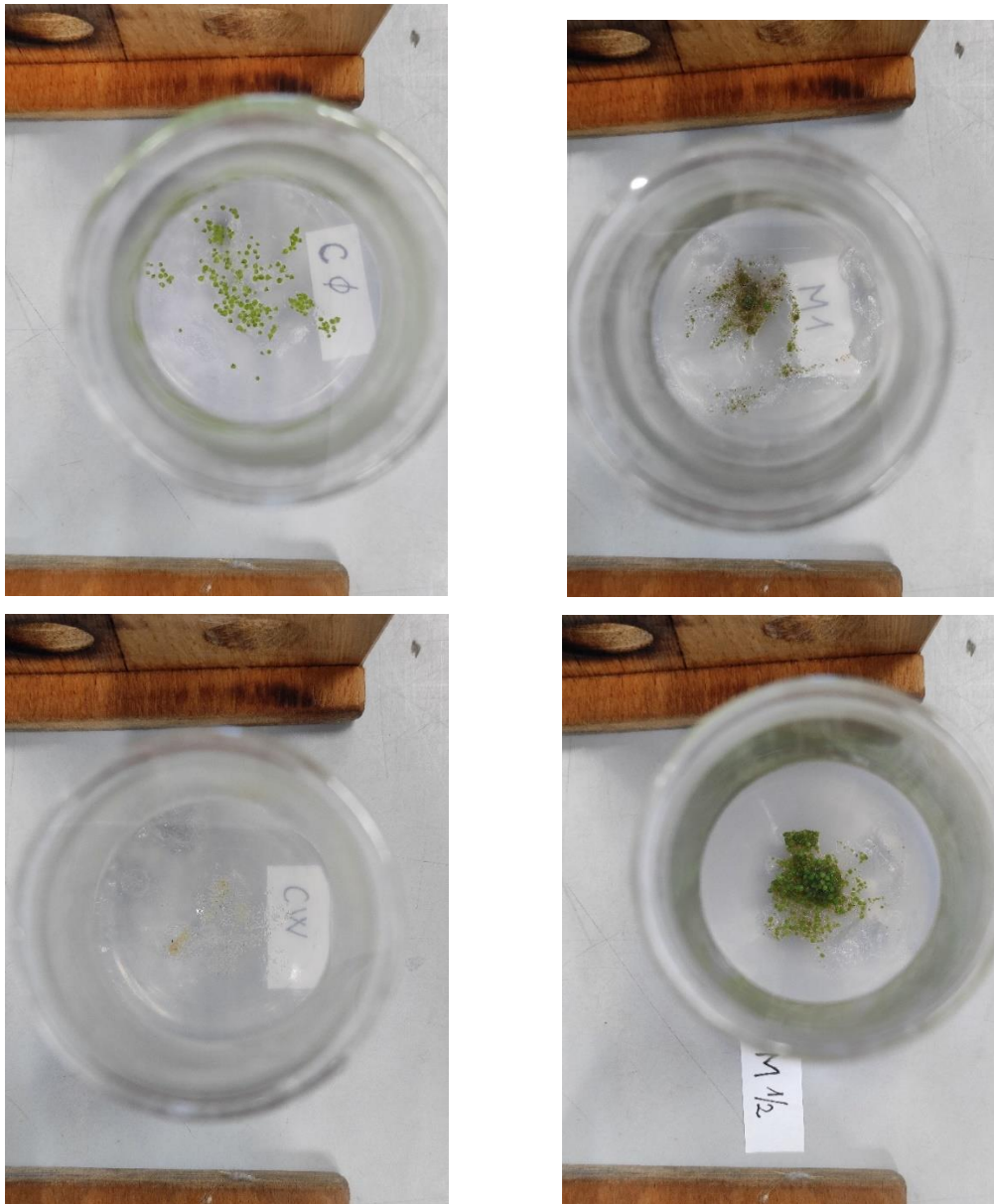
13. ábra A magasabb mézkoncentráció tömeg (gramm) és magasság (milliméter) eredményei, valamint az elhalt növények darabszáma

4.6. *Lycaste* hibrid protokormok nagysága

14. táblázat A protokormok átlag értéke pixelben

Kezelések	Pixelek átlaga
K0 MKC	54,65 ^a
M 1/2 MKC	54,85 ^a
M1 MKC	38,1 ^b
CW MKC	0 ^c

130 nappal a vetés után a magok lassan kezdtek csírázni, de utána gyors növekedésnek indultak. A legjobb eredményeket az M1/2 MKC és a kontroll MKC táptalajon értem el, a statisztikai program szignifikanciát mutat a másik két kezeléshez képest (14. táblázat). Számomra az egyik meglepő eredmény, hogy a kókuszvízzel kiegészített táptalajon semmilyen fejlődést, protokorm duzzadást nem tapasztaltam, kloroplasztizok megjelenését követően leállt a növekedés. Ez a kezelés ellent mond mind annak a sok szakirodalomnak, amelyek kiváló eredményekről tanúskodtak. Az M1 MKC táptalajon kielégítően fejlődtek a növények, csak lassabban, mint az M1/2 MKC és K0 MKC táptalajon (14. ábra).



14.ábrák *Lycaste* hibrid protokormok kezelésenként

4.7. A táptalajok hatása a *Dendrobium antennatum* prolin-tartalmára

15. táblázat Kezelésenkénti átlag prolin mennyiség

Prolin eredmények	
Kezelés	Mennyiség (mg/ml)
K0	0,03375
M1/2	0,04075
M1	0,02775
M2	0,03725

Az eredmények a 15. táblázatban láthatók. A kezelések nem voltak hatással a növények prolin-tartalmára, a prolin-szint alapján nem volt bizonyítható a kezelések hatása a stressz-állapotra. Ugyanakkor az is feltételezhető, hogy a méz nincs nagy befolyással a prolin termelésre. A kapott számok átlagai alapján az M1 kezelésnek volt a legkisebb a prolin szintje, azonban a különbségek statisztikailag nem igazoltak.

4.8 A mézkoncentrációk hatása a *Dendrobium anntenatum* pigment tartalmára

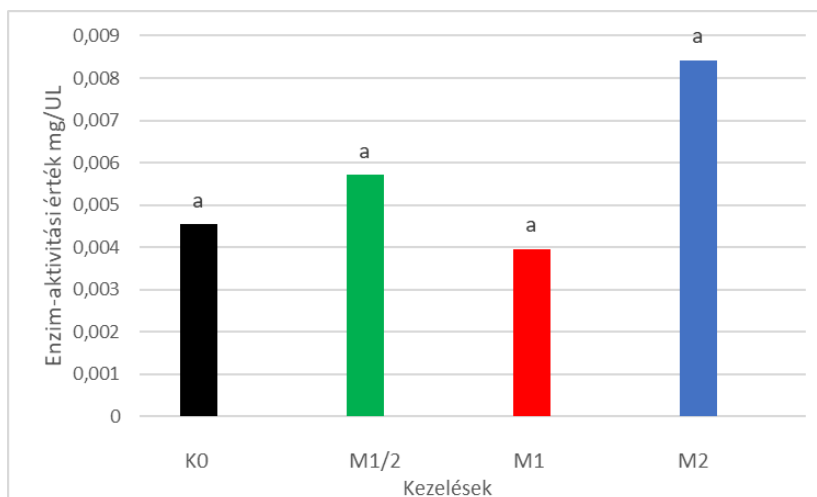
16. táblázat Kezelésenkénti átlag karotin és klorofill tartalom (µg/g)

ÁTLAG	Karotin µg/g	Klorofill a + b µg/g
K0	72,71	272,07
M 1/2	67,8	257,65
M1	72,92	303,53
M2	74,16	232,99

A karotin és klorofill mennyiségének (µg/g) eredményei a 16. táblázatban láthatók. A kezeléseknél nem volt hatása sem a karotin, sem az összes klorofill-tartalomra, a statisztikai program nem tett különbséget a kezeléseknél közti pigment tartalmak között, annak ellenére, hogy a legnagyobb klorofill tartalmat az M1-es kezelésknél, míg a legkisebb értéket az M2-es kezelésknél kaptam. Az M2-es kezelésknél mért magas karotin és alacsony klorofill tartalom a növények lassú fejlődésében és a sárguló leveleiben is megmutatkozott.

4.9. Peroxidáz enzim-aktivitás eredményei a *Dendrobium anntenatum*-nak

A Peroxidáz enzim-aktivitás mérésének az eredményeit a 15. ábra ismerteti. A kezelésenkénti átlageredmények között nincs jelentős eltérés. Mindennek ellenére, felhívnom a figyelmet arra, hogy a legkisebb enzimaktivitás az M1-es kezelésknél volt látható, míg a legnagyobb enzimaktivitás pedig az M2 kezeléskben. Ez alátámaszthatná a hipotézisem, miszerint az M1-es kezelés mutatkozott a legjobbnak és ezáltal a legkevésbé szenvedtek a növények, míg az M2-es kezelés bizonyult a legrosszabbnak, az alacsonyabb koncentrációnál, emiatt a stressz válaszuk is magasabb. Viszont statisztikailag cáfolható, hiszen a statisztikai program nem mutatott szignifikanciát a kezeléseknél között.



15. ábra A Peroxidáz enzim-aktivitásának eredményei (U/g)

5. Következtetések

A kísérletek bizonyították a hipotézisem, mivel a méz pozitív hatását bizonyította számos kezelés. A *Dendrobium antennatum* esetében az M $\frac{1}{2}$ és az M1 táptalaj kimondottan jótékonyan hatott a hajtás- és gyökérfejlődésre. A *Lycaste* hibrid esetében az M $\frac{1}{2}$ MKC és KOMKC bizonyult a legjobbnak. A cukornak fontos szerepe van a növekedésben, viszont a méz egyéb összetevői is befolyásolták a pozitív fejlődést. Véleményem szerint, azért is jobb mézet használni, mivel komplexebb anyag, mint a cukor. A méz természetes forrásból származik, nem hagy maga után környezetre ártalmas anyagokat. Ezzel ellentétben a cukorgyártáshoz igen sok energia és termőföld szükséges. A termőföldek növekedésével és a monokultúra (cukorrépa) termesztésével a biodiverzitás csökken. A méz használatával elősegítjük a méhészek munkáját. A méz használata nem csak a növényeknek kedvező, hanem a méhek és a méztermelésük egy fenntartható jövő alappillére.

Mindezek ellenére a kísérlet azt is bemutatta, hogy a méz túlzott mennyisége vontatott fejlődést eredményez, és/vagy a növények elhalásához vezethet. Ez is alátámasztja Javed és Ikram (2018) tanulmányait, amelyben leírják, hogy a nagy mennyiségű szacharóz ozmotikus stresszt idéz elő a növényekben, ami a hirtelen gyors növekedését és ezzel párhuzamosan a kationok (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+}) jelentős csökkentését idézi elő. Továbbá, Neumann és munkatársai (2020) a könyvükben említést tesznek a fruktóz akutoklávózis során felszabaduló toxikus anyagok sejtnövekedés gátló hatásától. A kísérletemben a 60 gL^{-1} és e feletti koncentrációnál sokkal kisebb aktivitást mutattak a növények. Az M2 és az ennél magasabb arányban mézet tartalmazó kezelések mind alulmaradtak az M1 és az M $\frac{1}{2}$ kezeléshez, de még a kontrollhoz (K0) képest is.

A kutatási eredményim egyezést mutatnak Fatonah és Isda (2018) kutatásával, amelyben *Fagraea fragrans* (Roxb.) magoncok 60 gL^{-1} mézkoncentráció alkalmazásával fokozott toxicitást mutattak. Viszont ezzel ellentétes Mantovani és Pivetta (2016) kutatási eredményei, amelyben a 60 gL^{-1} koncentrációjú mézet tartalmazó kezelés mutatkozott optimálisnak. Ez a nagyfokú eltérés is azt bizonyítja, hogy számos tényező meghatározhatja a növények fejlődését. A fent említett két kísérlet nem részletezi a tárolásra használt helyiség pontos tulajdonságait és azt sem, hogy a kutatásuk során milyen mézet használtak.

Érdekesnek vélem, hogy a *Lycaste* hibrid esetében a kókuszvizes (CW) táptalaj inhibitorként hatott a növények csírázására. Véleményem szerint, a válasz abban rejlik, hogy a kókuszdiót milyen érettségben dolgozták fel, hiszen – mint minden magban és termésben – az érés folyamán a fitohormonok mennyisége változik. Az absz-cizinsav felhalmozódása is lehet inhibitor hatású. Ma és munkatársai (2008.) kimutatták, hogy a nagyobb stresszt szenvedett kókuszpalmák terméseiben megnövekedett az ABS szint, ami véleményük szerint így nem működik jól növekedési kiegészítő adalékanyagként. A helyes használathoz az ABS eltávolítását javasolják a kókuszvíz használata esetén (Ma et al. 2008). Véleményem szerint, a fitohormon eltávolítása igen költséges lenne. Továbbá, az esetek többségében a fentebb említett szakirodalmi források alapján jól használható a kókuszvíz és kis mennyiségben hasznos.

6. Összefoglalás

A kutatási témám a trópusi orchideák generatív *in vitro* szaporítása természetes adalékok használatával. Az eddig felfedezett 26000 orchidea faj többsége veszélyeztetettnek mondható a régóta tartó tömeges illegális gyűjtés és kereskedelem következtében, emiatt fontosnak tartom a fajok szaporítását.

A szövettenyésztéshez használt táptalajok a szintetikus adalékanyagok helyett szerves anyagok hozzáadásával helyettesíthetők vagy kiegészíthetők. Számos tudományos értekezésben megemlítik egyes természetes táptalaj-adalékok előnyös hatásait a növények fejlődésére. Ugyanakkor a természetes adalékok használata igen összetett kérdés, mivel nehéz meghatározni a pontos mennyiségüket, hiszen az összetételük sok komponensű és változékony. Az elmúlt évtizedekben több természetes anyagról is bizonyították a hatékonyságukat, mint például a kókuszvíz (*Cocos nucifera* termésének a folyékony endospermiuma), a burgonyakivonat (*Solanum tuberosum* gumójának kivonata), a csicsóka homogenizátum (*Helianthus tuberosa* gumója) és egyéb termés kivonatok és homogenizátumok (banán, paradicsom, maláta).

A méz használata, mint természetes adalék nem kifejezetten ismert dolog. Igen kevés tudományos cikk készült ebben a témában. A kutatásommal a méz hatékonyságára kerestem a válaszokat. A *Dendrobium antennatum* továbbnevelési kísérletét a mézzel kiegészített táptalajon, többféle koncentrációban is kiprobáltam. A kontroll (K0) teljesen méz nélküli volt. Az M $\frac{1}{2}$ jelölésű táptalajt 10 gL⁻¹ cukorral (szacharózzal) és 15 gL⁻¹ mézzel egészítettük ki. Az M1 tápközegből már teljesen kihagytuk a cukrot, és csak mézet adtunk hozzá 30 gL⁻¹ mennyiségben, szénhidrátforrásként. Az M2 jelölésű táptalaj szénhidrátforrása is csak méz volt 60 gL⁻¹ mennyiségben. Továbbá a második kísérletsorozatunk során emelt mézadagokkal dolgoztunk: M2b: 60 gL⁻¹, M3: 90 gL⁻¹ és M4: 120 gL⁻¹. A méréseim során megfigyeltem a növények tömegét, magasságát, gyökerüket. Továbbá, megmértem a pigment (krolofil és karotin) tartalmukat. A prolin, valamint a peroxidáz-enzim mérésével próbáltam meghatározni a növényeket ért esetleges stresszhatást. Sem a prolin, sem a POD mérése nem a várt eredményt adta, az értékek között nem kaptunk statisztikailag igazolt eltérést. Az M2 táptalajban fejlődött növények karotin/klorofil aránya megemelkedett, ami stresszhatásra enged következtetni.

A *Lycaste macrophylla* var. *alba* x *bradeorum* magvetése esetén módosított Knudson C táptalajt használtam (K0 MKC). Ezt a táptalajt egészítettem ki 15g⁻¹ mézzel + 10g cukorral (M1/2 MKC); 30g⁻¹ mézzel (M1 MKC); valamint 50ml⁻¹ kókuszvízzel (CW). Utóbbi esetben is 20g szacharózt kevertem a táptalajhoz, ugyan úgy mint a K0 MKC-hez. Az apró protokormokat steril körülmények között mértem le és átlagoltam az eredményeket.

A hipotézisem, hogy a méz alapú táptalaj előnyösen hat az orchidea magoncok fejlődésére, az adatok alapján helytálló volt. A kontrollal (K0) összehasonlítva a három mézzel kiegészített táptalajból kettő minden szempontból sikeresebbnek volt mondható, ebből az M1 tápközeg kimagasló értéket mutatott A *Dendrobium antennatum* esetében. Az M2, M3 és M4 táptalajon lévő növények egy részénél vontatott fejlődés volt megfigyelhető. A *Lycaste* hibrid szempontjából a természetes adalékokkal kiegészített tápközegek közül a mézzel kiegészített M $\frac{1}{2}$

MKC táptalaj mutatkozott a legjobbnak. Az eredményeimet az SPSS statisztikai programcsomag egytényezős variancia-analízise (One-Way ANOVA), Duncan teszt lefuttatásával, 95% valószínűségi szinten is igazoltam.

7. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek Tillyné dr. Mándy Andreának a dolgozathoz nyújtott iránymutatásért és a szakmai tanácsokért.

Szeretném megköszönni Molnár Szabolcsnak, aki a hársmez elemzésében segített.

Szeretném megköszönni az ÚNKP-nak (Új Nemzeti Kiválóság Program) a támogatásukat a kutatásomhoz.

8. Irodalomjegyzék

1. ÁBRAHÁM E., HOURTON-CABASSA, C., ERDEI L. és SZABADOS L. 2010. Methods for Determination of Proline in Plants. In: Sunkar, R. (szerk.) Plant Stress Tolerance. Methods in Molecular Biology, vol 639. Humana Press. DOI: 10.1007/978-1-60761-702-0_20
2. ABRAHAM, F. ,BHATT, A. , KENG, C. L., INDRAYANTO, G. és SULAIMAN, S. F. 2011. Effect of yeast extract and chitosan on shoot proliferation, morphology and antioxidant activity of Curcuma mangga in vitro plantlets. In: African Journal of Biotechnology. 10. évf. 40. sz. p. 7787-7795. DOI: 10.5897/AJB10.1261
3. AL-KHAYRI, J. M., HUANG, F. H., MORELOCK, T. E., BUSHARAR, T. A. 1992. , Spinach tissue culture improved with coconut water, In: HortScience 27 évf. 4. sz. p. 357– 358. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.4.357>
4. ARDITTI, J. 1967. Factors affecting the germination of orchid seeds. In: The Botanical Review. 33. évf. p.1–97 DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02858656>
5. ARDITTI, J. 1984. Orchid Biology Reviews and Perspectives, III. Itacha és London. Cornell University Press.
6. ARDITTI, J. 2008. Micropropagation of orchids. II. kiadás. Oxford, Wiley-Blackwell.
7. ARDITTI, J., ERNST R., 1993. Micropropagation of Orchids. New York. Wiley.
8. Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. *Plant physiology*, 24(1), 1.
9. ASGHAR, S., Ahmad, T., Hafiz, I. A., Yaseen, M. 2011. In vitro propagation of orchid (*Dendrobium nobile*) var. Emma white. African Journal of Biotechnology, 10(16), 3097–3103. doi:10.5897/ajb10.401
10. AZLAN G. J., ABDULLAH J. O. 2010. In Vitro Culture of Borneo's Endemic Orchid, *Vanda dearei*. In: Asoa-Pacific of Molecular Biology and Biotechnology. 18. évf. 1. sz. p. 203-207.
11. BAQUE, M. A., SHIN, Y-K., ELSHMARI, T. , LEE, E. J., PAEK, K. Y. 2011. Effect of light quality, sucrose and coconut water concentration on the micropropagation of *Calanthe* hybrids ('Bukduseong' × 'Hyesung' and 'Chunkwang' × 'Hyesung'). In: Australian Journal of Crop Science 5. évf. 10. sz. p.1247-1254.
12. BENZING, D. H. 2012. Air Plants. Epiphytes and Aerial Gardens. London. Cormstock Publishing Association.
13. BOGARÍN, D., 2007. A new *Lycaste* (Orchidaceae: Maxillariinae) from Costa Rica. Lankesteriana International Journal on Orchidology, 7(3), 543-549.
14. BUCHANAN, B. B., GRUISSEM, W., & JONES, R. L. (Eds.). 2015. *Biochemistry and molecular biology of plants*. John wiley & sons.
15. CHEN, B. TRUEEMAN, J., JIANMIN L., QIANZHEN L., 2014. Micropropagation of the Endangered Medicinal Orchid, *Dendrobium officinale*. In: Life Science Journal. 11. évf. 9. sz. p.526-530.
16. CHASE, M., CHRISTENHUSZ, M., MIRENDA, T. 2017. The Book of Orchids: a life-size guide to six hundred species from around the world. Brighton. Ivy Press.

17. CHIANG, H. H., DANDEKAR, A. M. 1995. Regulation of proline accumulation in *Arabidopsis thaliana* (L.) during development and in response to desiccation. In: *Plant Cell & Environment* 18. évf. 11. sz. p. 1280-1290. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1995.tb00187.x>
- CHEN, C. 2015. Overview of Plant Pigments. In: CHEN, C. (szerk.) *Pigments in Fruits and Vegetables*. New York. Springer. p.1-7. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2356-4_1
19. CHRISTENHUSZ, M., FAY, M., CHASE, M. 2018. *Plants of the world: an illustrated encyclopedia of vascular plants*. Kew. The University of Chicago Press. DOI: 10.7208/chicago/9780226536705.001.001
20. CLAESSEN, J. és KLEYNEN, J. 2011. *The Flower of the European Orchid Form and Function*. Schrijen-Lippertz. The Netherlands.
21. CROIX LA, I.F. 2008. *The New Encyclopedia of Orchids: 1500 Species in Cultivation*. Portland. Timberpress.
22. CUMMINGS, J.H., STEPHEN, A.M. 2007. Carbohydrate terminology and classification. In: *European Journal of Clinical Nutrition*. 61. évf. 1. sz. p. 5-18. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602936>
23. DARWIN, C. 1862. *On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilised by insects, and on the good effects of intercrossing*. London: John Murray.
24. DATT, B. 1998. Remote Sensing of Chlorophyll a, Chlorophyll b, Chlorophyll a+b, and Total Carotenoid Content in Eucalyptus Leaves. In *Remote Sensing of Environment*. 66. évf. 2. sz. p. 111-121. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(98\)00046-7](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(98)00046-7)
25. DAVID, D., JAWAN, R., MARBAWI, H., GANSAU, J. A. 2015. Organic Additives Improves the in Vitro Growth of Native Orchid *Vanda helvola* Blume. In: *Notulae Scientia Biologica*. 7. évf. 2. sz. p. 192-197. DOI: 10.15835/nsb.7.2.9546
26. DODSON, H. C., GILLESPIE, R. J. 1967. *The Biology of the Orchids*. Mid-America Orchid Congress. Nashville. Benson Printing Co.
27. DREGER, M., MÓL, R., DEJA, A. *et al.* 2019. Improved plant regeneration in callus cultures of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. In: *In Vitro Cellular & Development Biology – Plant*. 55.évf. p. 90–198 DOI:<https://doi.org/10.1007/s11627-019-09963-9>
28. DUCHEFA BIOCHEMIE B.V Catalogue 2010-2012; http://brochure.duchefa-biochemie.com/Duchefa_catalogus_2010_2012/
29. FAST, G. 1980. *Orchideen kultur*. Stuttgart. Verlag Eugen Ulmer.
30. FATONAH, S., ISDA, M.N., 2018. In vitro shoot regeneration of tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb.) from seed explants on different concentrations of sucrose and honey. In: *Bioscience Research Print*. 15. évf. 2. sz. p.655-662.
31. FORRAI, M. 2010. *Leila purpurata* Lindl. stelis magvetése és akklimatizálása. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest. Diplomamunka
32. FOUCHÉ, J. G., JOUVE L., 1999. *Vanilla planifolia*: history, botany and culture in Reunion island. *Agronomie*, 1999, 19 (8), pp.689-703. <https://hal.science/hal-00885962>
33. GARDINER, L., CRIBB, P. *The Orchid*. 2018. Botanic Gardens, Kew

34. GAUDINO, E. C., COLLETTI, A., GRILLO, G., TABASSO, S., CRAVOTTO, G. 2020. Emerging Processing Technologies for the Recovery of Valuable Bioactive Compounds from Potato Peels. In: *Foods*. 9. évf. 11. sz. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods9111598>
35. GEORGE, E. F., HALL, M. A., KLERK, G. D. (szerk.) 2008. The Background In: *Plant Propagation by Tissue Culture* 3. kiadás. 1. kötet. Springer. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3>
36. GHELDOF, N., ENGESETH, N.J. 2002. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. In: *Journal of agricultural and food chemistry*. 50. évf. 10. sz. p. 3050-3055. DOI: 10.1021/jf0114637
37. GILIÁN, L. D. 2020. A Himantoglossum adriaticum – adriai sallangvirág ex situ szaporításának módszertani fejlesztése. Doktori értekezés tézisei. Gödöllő.
38. GNASEKARAN P., RATHINAM X., SINNI AH U. R., SUBRAMANIAM S. 2010. A study on the use of organic additives on the protocorm-like bodies (PLBS) growth of phalaenopsis violacea orchid. In: *Journal of Phytology*. 2. évf. 1. sz. p. 29–33.
39. GONÇALVES, L. M., PRIZÃO, E. C., GUTIERRE, M. A. M. , MANGOLIN, C. A., MACHADO M. F.P.S., 2012. Use of complex supplements and light-differential effects for micropropagation of *Hadrolaelia purpurata* (= *Laelia purpurata*) and *Encyclia randii* orchids. In: *Acta Scientiarum Agronomy*. 34. évf. 4. sz. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v34i4.12333>
40. GOUR, V. S., Kant, T. 2011. Efficacy of low cost gelling agents and carbon source alternatives during in vitro rooting of *Balanites aegyptiaca* and *Phyllanthus emblica* microshoots. *Tree For Sci Biotechnol*, 5, 58-60.
41. HAYAT, S., HAYAT, O., ALYEMENI, M. N., WANI, A. S., PICHTEL, J., AHMAD, A. 2012. Role of proline under changing environments. In: *Plant Signaling & Behavior*. 7. évf. 11. sz. p. 1456-1466- DOI: <https://doi.org/10.4161/psb.21949>
42. ISDA, M. N., AMIN, N. A., FATONA, S. 2019. Effect of 6-Benzylaminopurine and Honey for in Vitro Shoot Initiation of Mangosteen Seed Explant From Riau, Indonesia. In: *Journal of Physics: Conference Series*. 1351. sz. doi:10.1088/1742-6596/1351/1/012029
43. ISLAM, M. O., AKTER, M., PRODHAN, A. K. M. A. 2011. Effect of potato extract on in vitro seed germination and seedling growth of local *Vanda roxburgii* orchid. In: *Journal of the Bangladesh Agricultural University*. 9. évf. 2. sz. p. 211–215. DOI: <http://dx.doi.org/10.3329/jbau.v9i2.10988>
44. ISLAM, M. O., ISLAM, M. S., SALEH, M. A. 2015. Effect of Banana Extract on Growth and Development of Protocorm Like Bodies in *Dendrobium* sp. orchid. In: *The Agriculturists* 13. évf. 1. sz. p. 101-108.
45. JAINOL, J. E., & JUALANG, A. G. 2015. In vitro shoot multiplication and rooting of shoot tip explants of *Dimorphorchis lowii*: an endemic orchid of Borneo. *J. Trop. Plant Physiol*, 7(2015), 14-25.
46. JALEEL, C. A. , MANIVANNAN, P., WAHID, A., FAROOQ, M., AL-JUBURI, H. J., SOMASUNDARAM, R., PANNEERSELVAM, R. 2009. Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. In: *International Journal of Agriculture and Biology*. 11. évf. 1. sz. p. 100-105.

47. JÁMBORNÉ BENCZÚR E., DOBRÁNSZKI J. 2005. Kertészeti növények mikroszaporítása. Budapest. Mezőgazda
48. JAVED, F., IKRAM, S., 2008. Effect of sucrose induced osmotic stress on callus growth and biochemical aspects of two wheat genotypes. In: Pakistan Journal of Botany. 40. évf. 4. sz. p.1487-1495.
49. JAWAN, R., GASAU, J.A., ABDULLAH J.O., 2007. *In Vitro* Culture of borneo's Endemic Orchid, *Vanda dearei*. In: Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology. 18. évf. 1. sz. p.203-207. <http://www.msmbb.my/index.php/archive-issues>
50. KANG, H., KANF, K. V., KIM, D.H., SIVANESAN, I. 2020. In Vitro Propagation of Gastrochilus matsuran (Makino) Schltr., an Endangered Epiphytic Orchid.. In: Plants 9. évf. 4. sz. p. 524; DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9040524>
51. KAY, E., Shannon, L. M., Lew, J. Y. 1967. Peroxidase isozymes from horseradish roots: II. Catalytic properties. *Journal of Biological Chemistry*, 242(10), 2470-2473.
52. LAL, A., Pant, M., Palni, L. M. S., Kumar, A., Kholiya, D. 2020. Rhynchosstylis retusa (L.) Blume. *Int J Cur Res Rev| Vol, 12(20)*, 21. DOI: <http://dx.doi.org/10.31782/IJCRR.2020.12209>
53. Lavarack, P., S., Harris, W., Stocker, G. 2000. Dendrobium and Its Relatives. Kangaroo Press, Australia
54. LU, C., VASIL, I.K., 1981. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf tissues of Panicum maximum Jacq. In: Theoretical Applied genetics. 59. évf. p.275-280. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00264979>
55. Ma, Z., Ge, L., Lee, A. S., Yong, J. W. H., Tan, S. N., & Ong, E. S. 2008. Simultaneous analysis of different classes of phytohormones in coconut (Cocos nucifera L.) water using high-performance liquid chromatography and liquid chromatography–tandem mass spectrometry after solid-phase extraction. *Analytica chimica acta*, 610(2), 274-281.
56. MAKARA GY. 1982. Orchideák és Broméliák. Budapest. Mezőgazdasági Kiadó.
57. MANTOVANI, C., FERNANDEZ, K., PIVETTA, L. 2016. In vitro development of Encyclia cordigera in different concentrations of honey. In: Ciência Rural, Santa Maria 46. évf. 4. sz. p. 590-692. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20150046>
58. MATTIOLI, R., COSTANTINO, P., TROVATO, M. 2009. Proline accumulation in plants. In: Plant Signaling & Behavior. 4. évf. 11. sz. p. 1016-1018, DOI: <https://doi.org/10.4161/psb.4.11.9797>
59. MEISEL, J. E., KAUFMANN, S. R., PUPULIN, F. 2014. Orchids of Tropical America. Itacha, London. Cornell University Press.
60. MOLAN, P.C. 1996. Authenticity of honey. In: ASHURST, P-R., DENNIS, M:J: (szerk.). Food authentication. Boston. Springer, p.259-303.
61. MOLNÁR Z., VIRÁG E., ÖRDÖG V. 2011. Natural substances in tissue culture media of higher plants. In: Acta Biologica Szegediensis. 55. évf. 1. sz. p.123-127.
62. MONTAJ, S., SUSHMA, KAUR, S. 2021. Role of Organic Growth Supplement In vitro Multiplication of Orchid Species- A Review. In: Journal of Pharmaceutical Research International. 33. évf. 52B. sz. p.212-215. DOI: 10.9734/JPRI/2021/v33i52B33618

63. Neumann, K. H., Kumar, A., & Imani, J. 2020. *Plant cell and tissue culture: a tool in biotechnology Second edition* (Vol. 12). Berlin: Springer. doi:10.1007/978-3-030-49098-0
64. NG, Z. C., TAN, S. H., SHIEKH MAHMUD, S. H. R., & MA, N. L. 2020. Preliminary Study on Micropropagation of *Hylocereus polyrhizus* with Waste Coconut Water and Sucros. In: *Materials Science Forum*. 981. évf. p.316–321. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/msf.981.316>
65. NUGROHO, J. D., AROBAYA, A. Y. S., TANUR, E. A. 2019. Propagation of *Dendrobium antennatum* Lindl via Seed Culture In Vitro Using Simple Medium: Fertilizer and Complex Organic Based Medium. In: *Hayati Journal of Biosciences*. 26. évf. 3. sz. p. 133-138 DOI:10.4308/hjb.26.3.133
66. OAKELEY., H. 2008. *Lycaste, Ida and Anguloa The Essential Guide*. Beckenham-Kent. United Kingdom.
67. ONG, PT., O'Byrne P., Yong W.S.Y., Saw. L.G. 2011. *Wild Orchids of Peninsular Malaysia*. Govt. Print. Off. Singapore. ISBN 978-967-5221-66-8
68. OVERBEEK, J. VAN, CONKLIN, E. M., BLAKESLEE, A.F. 1941. Factors in Coconut Milk Essential for Growth and Development of Very Young *Datura Embryos*. In: *Science*. 94. évf. 2441. sz. p.350-351. DOI: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.94.2441.350>
69. PASQUALE, G. D., SALIGNON, M., CONTE, Y.L., 2013. Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and diversity matter? In. *PLOS ONE* 8. évf. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072016>
70. PŁAŻEK, A., DUBERT, F. 2010. Improvement of medium for *miscanthus × giganteus* callus induction and plant regeneration. In: *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 52. évf. 1. sz. p. 105–110.
71. PRADES, A., DORNIER, M., DIOP, N., PAIN, J-P. 2012. Coconut water uses, composition and properties: a review In: *Fruits*. 67. évf. p. 87–107.DOI: 10.1051/fruits/2012002
72. R. ESZÉKI E. 2012. *Orchideafajok génmegőrzési és szaporítási lehetőségei*. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest. Doktori értekezés
73. R. Eszéki E., Györvary A. 2000: A Knudson C táptalaj optimalizálása az orchidea mikroszaporításban. Lippay J & Vas K. *Nemz. Tud. Ülésszak (Dísznövény II. Üvegházi Term. Szekció)* 130-131.
74. RONEN, G., CARMEL-GOREN, L., ZAMIR, D., HIRSCHBERG, J. 2000. An alternative pathway to β -carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of Beta and old-gold color mutations in tomato. In: *PNAS*. 97. évf. 20. sz. p.11102-11107. DOI:<https://doi.org/10.1073/pnas.190177497>
75. RYAN, A. 2001. *A phylogenetic assessment of Lycaste and Anguloa (Orchidaceae)*. University of London, University College London (United Kingdom).
76. SAHU, J., Sahu, R. K. 2013. A review on low cost methods for in vitro micropropagation of plant through tissue culture technique. *Pharmaceutical and Biosciences Journal*, 38-41. <https://doi.org/10.20510/ukjpb/1/i1/91115>
77. SCHIFF, J. L. 2019. *Rare and Exotic Orchids. Their Nature and Significance*. Springer. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-70034-2>

78. SCHWACKE, R., GRALLATH, S., BREITKREUZ, K.E, STRANSKY, H., FROMMER, W.B., RENTSCH, D. 1999. LeProT1, a transporter for proline, glycine betaine and γ -amino butyric acid in tomato pollen. In: The Plant Cell 11. évf. 3. sz. p.377-391. DOI: 10.1105/tpc.11.3.377
79. SEMIARTI, E., INDRIANTO, A., PURWANTORO, A., MARTIWI, I. N. A., FERONIASANTI, Y. M. L., NADIFAH, F., MERCURIANA, I. S., DWIYANI, R., IWAKAWA, H., YOSHIOKA, Y., MACHIDA, Y., MACHIDA, C. 2010. High-frequency genetic transformation of *Phalaenopsis amabilis* orchid using tomato extract-enriched medium for the pre-culture of protocorms. In: Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 85. évf. 3. sz. p. 205–210.
DOI: <https://doi.org/10.1080/14620316.2010.11512655>
80. SIDHU, J. S., TASLEEM, A. Z. 2018. Bioactive compounds in banana fruits and their health benefits. In: Food Quality and Safety, 2. évf. 4. sz. p. 183–188 DOI:10.1093/fqsafe/fyy019
81. SLIMESTAD, R., SELJAASEN, R., MEIJER, K., SKAR, S.L. 2010. Nor wegian-grown Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.): morphology and content of sugars and fructo-oligosaccharides in stems and tubers. In: Journal of the Science of Food and Agriculture 90. évf. 6. sz. p. 956-964. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3903>
82. SRINIVASAN, P., RAJA, H. D, TAMILVANAN, R. 2020. Effect of coconut water and cytokinins on rapid micropropagation of *Ranunculus wallichianus* Wight & Arn— a rare and endemic medicinal plant of the Western Ghats, India. In: In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 57. évf. January. DOI:10.1007/s11627-020-10137-1
83. STEFANO, D.D., COSTA, B.N.S., DOWNING, J., FALLAHI, E., KHODDAMZADEH, A.A. 2022. *In-Vitro* Micropropagation and Acclimatization of an Endangered Native Orchid Using Organic Supplements. In: American Journal of Plant Science. 13. évf. 3. sz. p.380-393. DOI: 10.4236/ajps.2022.133023
84. SUGIURA, M. 1992. The chloroplast genome. In: SCHILPEROORT, R.A., DURE, L. (szerk.) In: 10 Years Plant Molecular Biology. Dordrecht. Springer. DOI: 10.1007/978-94-011-2656-4_10
85. SZENDRÁK E. 1997. Asymbiotic in vitro seed germination, micropropagation and scanning electron microscopy of several temperate terrestrial orchids (orchidaceae). Disszertáció <https://digitalcommons.unl.edu/agronhortdiss/1/>
86. TAFERE, D.A. 2021. Chemical composition and uses of Honey: A Review. In: Journal of Food Science and Nutrition Research 4. évf. p.194-201. <http://fortunepublish.com/articles/chemical-composition-and-uses-of-honey-a-review.html>
87. TEIXEIRA DA SILVA, J.A., TSAVKELOVA, E.A., ZENG, S., NG, T. B, PARTHIBAN, S., DOBRÁNSZKI, J., CARDOSO, J. C., RAO, V. M. Symbiotic in vitro seed propagation of *Dendrobium*: fungal and bacterial partners and their influence on plant growth and development. *Planta* 242, 1–22 (2015). <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2301-9>
88. TILLYNÉ MÁNDY A., PENDERT F. 2014. Titokzatos orchideák. Budapest. HTS-ART.

89. UTAMI, E. W.S., HARIYANTO, S. 2016. The Effect of Organic Nutrient and Growth Regulators on Seed Germination, Embryo and Shoots Development of *Dendrobium antennatum* by In Vitro. In: Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education. 8. évf. 2. sz. p.165-171. DOI: 10.15294/biosaintifika.v8i2.5165
90. UTAMI, E. W.S., HARIYANTO, S. 2020. Organic Compounds: Contents and Their Role in Improving Seed Germination and Protocorm Development in Orchids", International Journal of Agronomy, vol. 2020, Article ID 2795108, 12 pages, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/2795108>
91. VAN DER PILJ, L., DODSON, C. H. 1969. Orchid flowers their pollination and evolution. Florida. Coral Gables
92. VERBRUGGEN, N. HERMANS, C. 2008. Proline accumulation in plants: a review. In: Amino Acids. 35. évf. p.753-759. DOI 10.1007/s00726-008-0061-6.
93. VILCHERREZ-ATOCHE, J. A., ROJAS-IDROGO, C., DELGADO-PAREDES, G.E. 2020. Micropropagation of *Cattleya maxima* J. Lindley in Culture Medium with Banana Flour and Coconut Water. In: International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences. 10. évf. 4. sz. p.179-193.
94. VYAS, S, GUHA, S. BHATTACHARYA, I. M., RAO, I. 2009. Rapid regeneration of plants of *Dendrobium lituiflorum* Lindl. (Orchidaceae) by using banana extract. In: Scientia Horticulturae 121. évf. p.32–37
95. WRAITH, J., NORMAN, P., PICKERING, C. 2020. Orchid conservation and research: An analysis of gaps and priorities for globally Red Listed species. In: Ambio. 49. évf. p.1601-1611. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13280-019-01306-7>
96. XIAO, Y. M., LI, H. Z., HONG, B. S., GANG, X., FENG, Z., FU, T. N., BRESTIC, M. 2011. Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*), a medicinal salt-resistant plant has high adaptability and multiple-use values. In: Journal of Medicinal Plants Research 5. évf. 8. sz. p. 1272-1279.
97. YAN, N., HU, H., HUANG, J., XU, K., WANG, H., ZHOU, Z. 2006. Micropropagation of *Cypripedium flavum* through multiple shoots of seedlings derived from mature seeds. In: Plant Tissue and Organ Culture 84. évf. p.113–117 DOI 10.1007/s11240-005-9001-2
98. YAO L, HUANG J, ZHANG S. 2021. An Improved Protocol for Asymbiotic Seed Germination and Seedling Development of *Paphiopedilum tigrinum*. In: Horticulturae. 7. évf. 9. sz. p.298. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae7090298>
99. YONG, J.W.H.; GE, L.; NG, Y.F.; TAN, S.N. 2009. The Chemical Composition and Biological Properties of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Water. In: Molecules 14. évf. 12. sz. p. 5144-5164; DOI:10.3390/molecules14125144

Ábra- és táblajegyzék

1. táblázat. A virág jellemzői és a beporzók közti összefüggések (Benzing 2012.)	7
2. táblázat. MS táptalaj mikro- és makro elemek DUCHEFA BIOCHEMIE B.V Catalogue 2010-2012.....	11
3. táblázat MS táptalaj vitaminok (DUCHEFA).....	11
4. táblázat. MS kiegészítés (Fast 1980).....	11
5. táblázat. Különböző származású kókuszvizek tápelemeinek összehasonlítása (Prades et al. 2012).....	14
6. táblázat A méz összetevői (Tafere 2021).....	18
7. táblázat. Mézkoncentrációk hatása az <i>Encyclia cordigera</i> fejlődésére (Mantovani és Pivetta 2016).....	19
8. táblázat <i>Dendrobium officinale</i> in vitro szaporítása különböző természetese adalékokkal (Chen et al. 2014).....	20
9. táblázat <i>Vanda helvola</i> csírázása természetes adalékokat tartalmazó táptalajokon (David et al. 2015).....	21
10. táblázat A hársméz összetétele.....	26
11. táblázat A különböző kezelések méz és cukor tartalma.....	27
12. táblázat Az alacsonyabb mézkoncentráció kezelésenkénti átlag értékei.....	27
13. táblázat Az alacsonyabb mézkoncentráció kezelésenkénti átlag értéke.....	31
14. táblázat A protokormok átlag értéke pixelben.....	36
15. táblázat Kezelésenkénti átlag prolin mennyiség.....	37
16. táblázat Kezelésenkénti átlag karotin és klorofill tartalom.....	38
1. ábra. A növények védelmének lehetőségei (Warith et al. 2020.).....	9
2. ábra. <i>Vanda roxburgii</i> csírázása különböző mennyiségű burgonyagumó homogenizátumon. (Islam et al. 2011).....	15
3. ábra A banánkivonat eredményei Islam et al. 2015.....	16
4. ábra <i>Dendrobium antennatum</i>	23
5. ábra <i>Lycaste bradeorum</i>	25
6. ábra <i>Lycaste macrophylla</i> var. <i>alba</i>	25
7. ábra Highland HCB602M típusú laboratóriumi mérleg.....	28
8. ábra <i>Dendrobium antennatum</i> átlag tömeg értékek és a statisztikai értékelés eredményei.....	32
9. ábra <i>Dendrobium antennatum</i> átlag hossz értékek és a statisztikai értékelés eredménye.....	33
10. ábra A kezelésenkénti hossz mérés mm papíron.....	33
11. ábra <i>Dendrobium antennatum</i> gyökernövekedés értéke és a statisztikai elemzés eredménye.....	34
12. ábra Fokozott sarj növekedés az M $\frac{1}{2}$ táptalajon.....	35
13. ábra A magasabb mézkoncentráció eredményei.....	36
14. ábra A <i>Lycaste</i> protokormok kezelésenként.....	37
15. ábra A Peroxidáz enzim-aktivitásának eredményei.....	38



**DEBRECENI
EGYETEM**

Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi
és Környezetgazdálkodási Kar Agrárműszerközpont
H-4032 Debrecen, Bószörményi út 138.
H-4002, Debrecen Pf.: 400
Tel/fax: 52/526-980, email: pusztahelyi@agr.unideb.hu
A NAH által NAH-1-1054/2023 számon akkreditált vizsgálólaboratórium.

Iktatószám: KE485/2023

Dátum: 2023.09.06.

oldal 1 / 2

VIZSGÁLATI JEGYZŐKÖNYV

Ügyfél adatai:

Beküldő neve: Pro Faber Kft.
Címe: 3400 Mezőkövesd, Jegenyesor u.105

A minta adatai

Minta azonosító: K23/485

Minta megnevezése: méz

Mintavétel: Laboratórium vette a mintát Megrendelő vette a mintát

akkreditált nem akkreditált

Vizsgálat költsége: 43 740Ft+ÁFA=55 550Ft

Mintavétel ideje:	Beérkezés ideje:	Vizsgálat kezdete:	Vizsgálat vége:
nem ismert	2023.08.22.	2023.08.28.	2023.09.05.

Vizsgált paraméter (mértékegység)	Vizsgálati módszer	K23/485 Méz	Megengedett vizsgálati eltérés/Alsó méréshatár
Összes nitrogén (m/m)% Kjeldahl-módszer	MSZ 1385:1987	0,08	± 0,5 m/m %
Mintaelőkészítés (nyomás alatti feltárás)	MSZ EN 13805:2015	-	-
Kalcium (mg/kg) ICP-OES	EPA 6010C:2007	209	±15% R
Réz (mg/kg) ICP-OES	EPA 6010C:2007	0,268	±15% R
Vas (mg/kg) ICP-OES	EPA 6010C:2007	2,27	±15% R
Kálium (mg/kg) ICP-OES	EPA 6010C:2007	1273	±15% R
Magnézium (mg/kg) ICP-OES	EPA 6010C:2007	48,8	±15% R
Mangán (mg/kg) ICP-OES	EPA 6010C:2007	0,743	±15% R
Nátrium (mg/kg) ICP-OES	EPA 6010C:2007	20,2	±15% R
Foszfor (mg/kg) ICP-OES	EPA 6010C:2007	55,2	±15% R
Kén (mg/kg) ICP-OES	EPA 6010C:2007	58,9	±15% R
Cink (mg/kg) ICP-OES	EPA 6010C:2007	0,887	±15% R





**DEBRECENI
EGYETEM**

Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi
és Környezetgazdálkodási Kar Agrárműszerközpont
H-4032 Debrecen, Böszörményi út 138.

H-4002, Debrecen Pf.: 400

Tel/fax: 52/526-980, email: pusztahelyi@agr.unideb.hu

A NAH által NAH-1-1054/2023 számon akkreditált vizsgálólaboratórium.

Iktatószám: KE485/2023

Dátum: 2023.09.06.

oldal 2 / 2

Vizsgált paraméter (mértékegység)	Vizsgáló módszer	K23/485 Méz	Megengedett vizsgálati eltérés/Alsó mérés határ
Klorid (Konyhasó) (m/m) %* Argentometria, Mohr szerint	MSZ 3618:1985 3. fejezet	<0,100	0,100 m/m%
Fruktóz (g/100g)* HLPC-RI	Magyar Élelmiszerkönyv 3-2-2009/1 4. melléklet	39,5	±10% R
Glükóz (g/100g)* HLPC-RI	Magyar Élelmiszerkönyv 3-2-2009/1 4. melléklet	30,8	±10% R
Szacharóz (g/100g)* HLPC-RI	Magyar Élelmiszerkönyv 3-2-2009/1 4. melléklet	<0,288	0,288 g/100g
Maltóz (g/100g)* HLPC-RI	Magyar Élelmiszerkönyv 3-2-2009/1 4. melléklet	1,08	±10% R

*Nem akkreditált vizsgálat. A szénhidrátok vizsgálatát a DE MÉK Élelmiszertudományi Intézet végezte.

A minta postán érkezett.

Az eredmények eredeti anyagra vonatkoznak.

A vizsgálati jegyzőkönyv 2 db számozott oldalt tartalmaz.

A vizsgálati eredmények csak a megvizsgált mintára vonatkoznak.

Az eredményekkel kapcsolatos véleményt vagy értékelést a laboratórium nem adhat ki.

A vizsgálati jelentést a vizsgáló laboratórium engedélye nélkül csak teljes terjedelmében szabad lemásolni.

Reklamációt az eredmény kiadását követően 10 napon belül fogadunk el.

Debrecen, 2023.09.06.

Prof. Dr. Pusztahelyi Tünde
egyetemi tanár, agrárműszerközpont vezető



NYILATKOZAT A SZAKDOLGOZAT EREDETISÉGÉRŐL ÉS NYILVÁNOS HOZZÁFÉRÉSÉRŐL

A hallgató neve: Gaál Botond

A hallgató neptun kódja: QUOK8D

A dolgozat címe: Természetes táptalaj-adalékok hatása *in vitro* orchidea szaporításban

A megjelenés éve: 2023

A konzulens intézetének neve: Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet

A konzulens tanszékének neve: Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszéken

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

Ha a fenti nyilatkozattal valótlant 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.

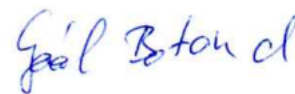
Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemitulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

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 eltelté után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: Budapest, 2023.10.15.



.....
szerző aláírása

NYILATKOZAT

Gaál Botond (Neptun azonosítója: QUOK8D) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A szakdolgozatot a záróvizsgán történő védésre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*2}

Kelt: Budapest 2023. október 27.



Tillyné dr. Mátyás Andrea