



BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM

HOSTA FAJTÁK MIKROSZAPORÍTÁSÁNAK BIOLÓGIAI ÉS TECHNOLÓGIAI ÖSSZEFÜGGÉSEI

Doktori értekezés tézisei

SZAFIÁN ZSOLT

Témavezető:

Jámborné dr. Benczúr Erzsébet,
egyetemi tanár, CSc, habil

Készült a Budapesti Corvinus Egyetem
Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszékén

Budapest
2010

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: Dr. Tóth Magdolna
egyetemi tanár, DSc, habil
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

témavezető: Jámborné dr Benczúr Erzsébet
egyetemi tanár, CSc, habil
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Dísnövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Dr. Tóth Magdolna
(Az iskolavezető jóváhagyása)

.....
Jámborné dr. Benczúr Erzsébet
(A témavezető jóváhagyása)

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, KITŰZÖTT CÉLOK

A Budapesti Corvinus Egyetem (illetve jogelőd intézményei) Kertészettudományi Kara Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszékének szövetenyésztő laboratóriuma egyike volt hazánk első mikroszaporítást kutató laboratóriumának. Az elmúlt évtizedek alatt számos dísznövénynek, köztük több évelőnek sikerült kidolgozni a szaporítástechnológiáját. Ebbe a kutatási vonalba tartozik a *Hosta* taxonok in vitro szaporítástechnológiájának kidolgozása is.

Európában és az USA-ban évek óta nagy népszerűségnek örvendenek ezek a változatosan felhasználható, hosszú életű árnyéki évelő dísznövények. Évről évre új fajták sora jelenik meg a piacon, mintegy 4000-re növelve az elérhető taxonok számát. Ezek a trendek a hazai felhasználókra is hatással vannak, s eredményükként megnövekedett az igény ezen növények iránt.

Az árnyékliliomokat hagyományosan tavaszi töosztással szaporítjuk, azonban az elmúlt években jelentős szerep jut a mikroszaporításnak is. A módszer előnye, hogy rövid idő alatt egy növényből igen nagy számú egyedet lehet előállítani. Hátránya viszont, hogy a töosztáshoz képest drágább eljárás, s az így előállított növények csak bizonyos esetekben versenyképesek a hagyományos úton előállított növényekkel. A magas árat csak az új fajtáknál, illetve hazánkban a fajták bevezetésénél lehet könnyen érvényesíteni, hiszen itt a cél a gyors felszaporítás. További hátrányt jelent a mikroszaporítás során fellépő szomaklonális mutáció, illetve a kiméra tulajdonságú fajták hasadása.

Munkám célja volt a hazai évelőkínálatba bevonni néhány új, sokat ígérő *Hosta* taxont, s kidolgozni a hazai tömegtermesztés számára egy szaporítástechnológiát, mely kiterjed a kultúra indítására, és magába foglalja a szaporítási szakaszban alkalmazható, nagy hatékonyságú táptalaj-összetétel kidolgozását is.

Különös figyelmet fordítottam a szénforrásként szolgáló cukrok mennyiségének és fajtájának megválasztására, illetve az alkalmazott növekedés-szabályzók fajtájának, mennyiségének meghatározására.

A szaporítástechnológia kidolgozása kapcsán az alábbi problémákat kívántam megoldani:

- A sterilizálás módjának kidolgozása, steril tenyészetek létrehozása
- Indító, sokszorozó és gyökeresítő táptalajok összeállítása, különös tekintettel a
 - növekedés-szabályzó anyagok (benzil-adenin, kinetin, naftil-ecetsav) hatására,
 - a szénhidrátok (szacharóz, glükóz, fruktóz) fajtájának és mennyiségének hatására
- A fajtaazonosság megőrzésének lehetőségeit megvizsgálni és a gyakorlat számára átadni.
- A kidolgozott szaporítástechnológiát bevezetni üzemi méretek között is.

A technológia kidolgozása mellett anatómiai vizsgálatok segítségével nyomon kívántam követni a mikroszaporítás során bekövetkező változásokat.

A szöveti felépítés vizsgálatánál célul tűztem ki:

- a szabadföldön fejlődött növények szöveti felépítésének vizsgálatát, valamint összehasonlítását
- az *in vitro* fejlődött növényekre jellemző anatómiai eltérésekkel, és
- az akklimatizálódó növények szöveti szerkezetében megjelenő változásokkal.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

A *Hosta* fajták *in vitro* szaporítástechnológiájának kidolgozását célzó vizsgálatok mintegy előkísérletének tekinthető a Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem Kertészeti Karának, Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszékén 1993-ban elkezdett munkám, mely a *Hosta fortunei* 'Albopicta' mikroszaporításának megvalósítására irányult. Az ekkor kapott eredményekből kiindulva a további fajták szaporítástechnológiájának kidolgozását 1995-ben kezdtem el. Ekkor 40 - részben hazánkban még nem ismert - *Hosta* taxont szereztem be Marco Fransen hollandiai (Ter Are) kertészetéből. A 40 taxonból választottam ki 6 fajtát, s ezeken végeztem el részletes vizsgálataimat. A kiválasztott fajták a következők voltak:

Hosta 'Blue Cadet'

Hosta 'Devon Green'

Hosta 'Dew Drop'

Hosta 'Gold Drop'

Hosta 'Gold Haze'

Hosta 'Samurai'

2.1. In vitro tenyészetek létesítése

Kiindulási anyagként a rizómákon található fejlett rügyeket használtam. A rügyeket leválasztottam a rizómákról és kétféle fertőtlenítési eljárást próbáltam ki. A *Hosta fortunei* 'Albopicta' indítása során alkalmazott eljárás hatékonynak bizonyult, ezért ezt választottam egyiknek, míg a másiknak egy kevésbé roncsoló hatású eljárást alkalmaztam.

- Az I. eljárás:
- 10 perces áztatás 0,5 %-os HgCl₂ oldatban
 - 10 perces áztatás 70 %-os etil-alkohol oldatban
 - háromszori öblítés steril desztillált vízben.

- A II. eljárás:
- 10 perces áztatás kétszeresére hígított Clorox oldatban (NaOCl tartalma kb. 2,5%)
 - 5 perces áztatás 70 %-os etil-alkohol oldatban
 - háromszori öblítés steril desztillált vízben.

A rügyekről eltávolítottam a külső 2-3 rügpikkelyt, majd friss metszlapot vágva levágtam a rajta maradt rizómarészt. Az így előkészített rügyeket hormonmentes táptalajra helyeztem.

A fertőzésmentes rügyeket 1 hét után a *Hosta fortunei* 'Albopicta' esetében legjobbnak bizonyult, 6 mg/l benzil-adenint tartalmazó táptalajra; 3 mg/l benzil-adenint tartalmazó táptalajra, illetve 6 mg/l kinetint tartalmazó táptalajra helyeztem és ezen végeztem el a felszaporítást. Fajtánként és táptalajonként 12 db rügyet tudtam felhasználni a rendelkezésemre álló anyanövények kis száma miatt. A sokszorozás során az axilláris rügyekből fejlődött sarjhajtásokat osztottam és passzáltam át friss táptalajra.

2.2. A különböző szénhidrátok hatásának vizsgálata a fajták szaporodására és a fajtaazonosságra

A szaporítási szakaszban a passzálásokat 6 hetenként végeztem. A kellő nagyságú egyedszám elérésekor tudtam beállítani a szénhidrátok szaporodásra kifejtett hatásának vizsgálatát célzó kísérleteket. Ezeket a kísérleteket 3 ismételtsben, ismételtsenként 12 mintával végeztem.

A megfelelő sarjszám elérésekor a következő kísérleteket állítottam be:

- I. A szacharóz mennyiségének hatása a szaporodásra
- II. A különböző cukrok hatása a szaporodásra és a fajták állandóságára

2.2.1. A szacharóz mennyiségének hatása a szaporodásra

A szacharóz mennyiségének szaporodásra gyakorolt hatásának vizsgálatához a *Hosta* 'Dew Drop', *H.* 'Gold Drop' és *H.* 'Gold Haze' tenyészeit választottam. A felhasznált táptalajok szacharóztartalma 0-40 g/l között változott. A táptalajok 2 mg/l benzil-adenint és 0,1 mg/l naftil-ecetsavat tartalmaztak.

2.2.2. A különböző cukrok hatása a szaporodásra és a fajták állandóságára

A vizsgálatokban három cukor, a glükóz, a fruktóz és a szacharóz hatását vizsgáltam 0-50 g/l mennyiségben alkalmazva azokat. A táptalajok ebben az esetben is 2 mg/l benzil-adenint és 0,1

mg/l naftil-ecetsavat tartalmaztak. A vizsgálatokhoz a zöld levelű *H. 'Devon Green'* és a kék lombú *H. 'Blue Cadet'* fajták mellett a tarka *H. 'Dew Drop'* és *H. 'Samurai'* fajtákat használtam. Ez utóbbi két, tarka levelű fajta kiméra eredetű, s az in-vitro szaporítás alatt hajlamos elveszteni fajtajellegét. A vizsgálatok arra is irányultak, hogy az alkalmazott cukor fajtája és mennyisége hogyan befolyásolja a fajta állandóságát.

2.3. In vitro gyökeresítés

Egy szaporítás technológia nem lehet teljes a kapott sarjak gyökeresítése nélkül. Ezért öt különböző táptalajt vizsgáltam a gyökeresítési fázisban. A hormonmentes táptalaj mellett alkalmaztam 0,1 mg/l naftil ecetsavat tartalmazó táptalajokat is, 1 g/l aktív szén vagy 0,2 g/l kálium-humát, illetve 20 ml/l fulvosav kiegészítéssel.

2.4. Az in vitro tenyésztés körülményei

A vizsgálatok az egykori Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem (ma Budapesti Corvinus Egyetem) Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszékének laboratóriumában folytak. A fajták üzemi szaporítását a Szombathelyi Erdészeti Rt. Biotechnológiai Laboratóriumában végzik, üzemi eredményeim onnan származnak.

A kultúrák indításához (I. fázis) 100 ml-es Erlenmeyer lombikokat használtam, majd a II. és III. szakaszban 220 ml-es befőttesüvegek használatára tértem át. Az üzemi szaporítás Vegbox márkájú műanyag dobozokban folyik. Autoklávozáskor a lombikokat alufóliával, a befőttesüvegeket alufóliával és a hozzájuk tartozó alumínium tetővel zártam le. A tenyészedenyeket 3 rétegű Ongrofol fóliával fedtük be. A fényszoba átlagos hőmérséklet 25 °C. A megvilágítást 30 W-os, 1:1 arányban elhelyezett F7-es és F31-es fénycsövek biztosítják. A fénycsövek a tenyészetek fölött helyezkednek el. A megvilágítás erőssége 20 $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}$, a fotoperiódus 16/8 óra.

2.5. Az akklimatizálás és a szabadföldi termesztés körülményei

A kísérletek során meggyökeresedett növényeket a Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem Budai Arborétumában lévő üvegházban, talpfűtéssel ellátott fóliaalagútban akklimatizáltam, de egy részük a Soroksári Kísérleti Üzem természetes magasárnyékoló alatt lévő fóliasátraiban került akklimatizálásra.

Az akklimatizálandó növényeket 104 lyukú sejtálcába ültettem, balti tőzeg és perlit 2:1 arányú keverékébe. Az akklimatizálódott növényeket 5,5-es műanyag cserepekbe ültettem és ebben neveltem tovább. A végső cserepük 10-es cserép volt. A nevelés közege balti tőzeg, **hazai síkláp** tőzeg és alginit 6:3:1 arányú keveréke volt. A tápanyagutánpótlásra Osmocote 8-9 hónap

hatástartamú, tartós hatású műtrágyát ($4,5 \text{ kg/m}^3$) és Kristalon vízzoldható műtrágyát ($1,5 \text{ g/l}$) használtam.

Az üzemi szaporítás során a gyökeres sarjakat Jiffy tőzegpogácsába tűzdelik, s automatizált, közepes légterű üvegházban akklimatizálják. Az akklimatizálódott növénykéket a Prenor Kft telephelyén egy hónap üvegházi nevelés után 8×8 -as szögletes cserepekbe ültetjük. Értékesíthető áruvá nevelésük az akklimatizálást követő évben, 2 literes konténerbe ültetve történik.

A cserepezéshez és konténerezéshez 60% balti tőzezből, 30% fekete tőzezből és 10% agyagból álló kész földkeveréket (Stender MC 530) használunk, melynek pH értéke 6,5-6,8 közötti.

A tápanyagutánpótlás $4,5 \text{ kg/m}^3$ Osmocote Exact Standard, 8-9 hónap hatástartamú műtrágyával történik.

2.6. A vizsgált tulajdonságok

A tenyészetek értékelését általában a 6 hetes tenészciklus végén értékeltem. Mértem a növények növekedésére jellemző tulajdonságokat (sarj- és gyökérszám, a hajtások és gyökerek hossza, a levelek hossza és szélessége), a tenyészetek egységességét és a fenotípusosan fajtaazonos növények arányát.

2.7. A szövettani vizsgálatok módszere

Az anatómiai vizsgálatokat részben fénymikroszkóppal, részben scanning elektronmikroszkóppal végeztem. A szöveti felépítés tanulmányozásához a mikroszaporítás különböző szakaszaiban, az akklimatizálás során és a szabadföldön nevelt növényekről is vettem mintákat. A vizsgálatokhoz az egyes hajtások harmadik legfiatalabb levelét használtuk fel. A sokszorozási szakaszban a mintákat azonos táptalajon (2 mg/l BA) fejlődő növényekről vettük. Az akklimatizálásra kiültetett növényekről és az akklimatizáció végén, a már begyökeresedett, de még üvegházi körülmények között fejlődő növényekről is vettünk mintákat.

A fény- és scanning elektronmikroszkópos vizsgálatokat a Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem Központi Laboratóriumában végeztem.

A fénymikroszkópos vizsgálatokhoz a mintákat toluidinkékkel festettük meg, műgyantába ágyaztuk és mikrotonnal készítettünk belőlük metszeteket. A mikroszkópos munkák közben a metszetekről Canon típusú fényképezőgéppel készítettünk felvételeket.

Az elektronmikroszkópos vizsgálatokhoz a mintákat fixáltuk, dehidratáltuk, majd 30 nm vastagságú aranyréteggel vontuk be. Ezt követően a mintákat elektronmikroszkóp alatt értékeltük, s a legjellemzőbb helyekről fényképfelvételeket készítettünk. A vizsgálatokhoz Tesla BS 300 típusú pásztázó (scanning) elektronmikroszkópot használtunk.

2.8. Az adatok kiértékelésének módszerei

A kísérleteket három ismételtsben, véletlen blokk elrendezésben végeztem. Az adatok kiértékelését egy- és kéttényezős varianciaanalízissel (Sváb, 1973.) végeztem, melyhez Statgraf 3.0, Excel 5.0 programokat használtam. Az eredményeket grafikonokon ábrázoltam.

3. EREDMÉNYEK

A *Hosta* taxonok mikroszaporítása során kapott eredményeimet az alkalmazott technológiai sorrendben, az egyes mikroszaporítási szakaszokhoz kapcsolódóan mutatom be.

3.1. A kultúra indítása, fertőtlenítési eljárások vizsgálata

A HgCl₂ fertőtlenítő hatása (I. eljárás) kiváló, a fertőzésmentes inokulumok aránya több mint 85 % volt. A Clorox oldat (II. eljárás) valamivel gyengébb hatékonyságú, itt az inokulumok 70%-a bizonyult fertőzésmentesnek. A növények fertőtlenítése minden esetben sokkot okoz. Ezért az indítást követő 3. héten értékeltem, hogy a rügyek fejlődésére milyen hatással van a fertőtlenítő eljárás. Azt tapasztaltam, hogy a Clorox kevésbé okoz káros utóhatást, a növények gyorsabban és erőteljesebben indulnak fejlődésnek.

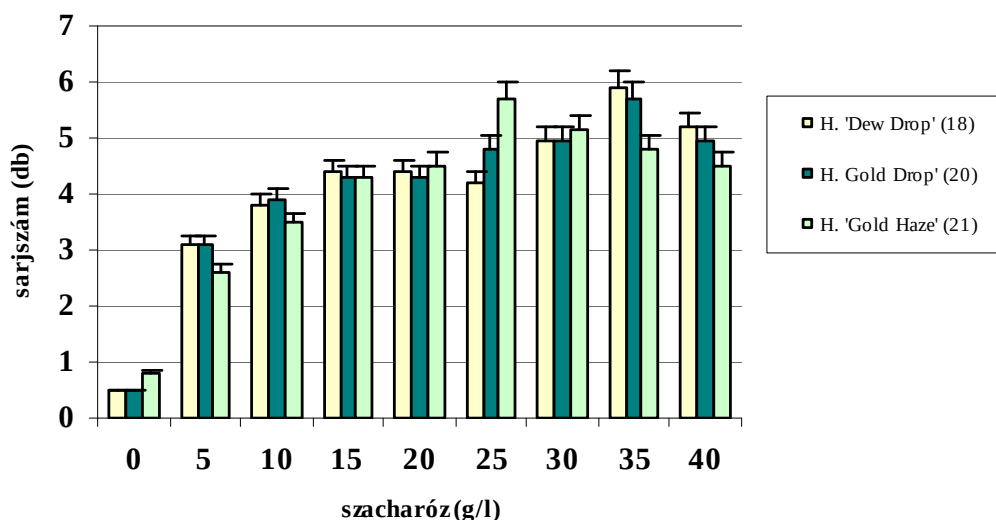
A vizsgált hat fajta fele (*H.* 'Blue Cadet', *H.* 'Devon Green' és *H.* 'Samurai') a 6 mg/l BA-t tartalmazó táptalajon, míg a másik fele (*H.* 'Dew Drop', *H.* 'Gold Drop' és *H.* 'Gold Haze') a 3 mg/l BA-t tartalmazó táptalajon hozta a legtöbb sarjat. A kinetin alkalmazása minden fajtánál rosszabb eredményt mutatott, mint a benzil-adenin bármely vizsgált koncentrációja.

A felszaporítás alatt vizsgáltam a különböző fajták szaporodási rátáját is. A hatodik passzálás után az eredményeket vizsgálva megállapítható, hogy a *H.* 'Dew Drop' és a *H.* 'Gold Drop' fajták gyors ütemben szaporodtak. Szaporodási rátájuk szignifikánsan különbözött a többi fajtaétól. A *H.* 'Gold Haze', *H.* 'Devon Green' és a *H.* 'Blue Cadet' fajták lassabb ütemben szaporodtak, s a szaporodási rátájuk szignifikánsan különbözött mind az előző két fajtaétól, mind a *H.* 'Samurai' fajtaétól. A *H.* 'Samurai' lassan szaporodott, szaporodási rátája szignifikánsan alacsonyabb volt a többi fajtánál. Bár a szaporodási ráták eltérőek, a rokonságot mutató fajták esetében hasonlóságot figyeltem meg.

3.2. A szacharóz, a glükóz és a fruktóz hatása a fajták szaporodására és a fajtaazonosságra

3.2.1. A szacharóz mennyiségének hatása a szaporodásra

Samyn (1995) kísérletei alapján választ kerestem arra a kérdésre, hogy a szacharóz mennyisége milyen mértékben befolyásolja a szaporodási rátát a különböző *Hosta* taxonok estében.



1. ábra Az egyes fajták sarjszámainak alakulása különböző mennyiségű szacharóz hatására

Az 1. ábrán látható a három *Hosta* taxon sarjszámának alakulása. A szacharózmentes táptalajon mindhárom fajta igen gyengén fejlődött, az átlagos sarjszám 1 alatt volt. A *H. 'Dew Drop'* és a *H. 'Gold Drop'* fajták esetében a legjobbnak a 35 g/l szacharózt tartalmazó táptalaj, míg a *H. 'Gold Haze'* fajtánál a 25 g/l szacharózt tartalmazó táptalaj bizonyult a legmegfelelőbbnek.

Az eredményekből kitűnik, hogy a szacharóz mennyiségének alapvető hatása van a tenyészetek fejlődésére. Ez a *H. 'Dew Drop'* esetében a legszembetűnőbb, mikor ez a tényező a tarkaság mértékét, és a szemmel azonnal látható fajtaazonosságot is befolyásolja (2. ábra).



2 ábra A *Hosta 'Dew Drop'* tenyészetek 15 g/l (balra) és 35 g/l (jobbra) szacharózt tartalmazó táptalajokon

3.2.2. A különböző cukrok hatásának vizsgálata a fajták szaporodására és állandóságára

A vonatkozó irodalmi adatok alapján, néhány kultúra esetében kedvezőbb hatású lehet a szacharóznál a glükóz vagy a fruktóz alkalmazása. Annak vizsgálatára, hogy ez hogyan alakul a *Hosta* taxonok esetében, összehasonlító kísérleteket állítottam be a 'Devon Green', 'Blue Cadet', 'Dew Drop' és a 'Gold Drop' fajtákkal. A kísérlet során 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50 g/l szacharózt, fruktózt és glükózt tartalmazó táptalajokra helyeztem a növényeket.

A sarjszámok alakulását tekintve a 4 fajta nagyon eltérően viselkedett. Míg a 'Blue Cadet', 'Dew Drop' és a 'Gold Drop' fajták esetében a legnagyobb sarjszámot valamely szacharóz tartalmú táptalajon kaptam, addig a 'Devon Green' fajta esetében mind a fruktóz, mind a glükóz jobbnak bizonyult a szacharóznál.

A 'Devon Green' fajta a 10 g/l fruktózt tartalmazó táptalajon hozta a legtöbb sarjat (5,6 db), és a glükózt tartalmazó táptalajok közül is ez a koncentráció bizonyult a legkedvezőbbnek (4,8 db). A fajta nagyon érzékeny a túl magas cukorkoncentrációra, melyre gyors sarjszám-csökkenéssel reagál.

A 'Blue Cadet' fajtánál mindhárom szénhidrát esetében a 20 g/l töménység bizonyult legkedvezőbbnek, itt kaptam a legtöbb sarjat. A három szénhidrát közül a szacharóz volt a legjobb (7,2 db), ezen szignifikánsan több sarj fejlődött mint a fruktózon (5,2 db) vagy a glükózon (5,6 db). A két utóbbi hatása azonban nem különböztethető meg egymástól.

A 'Dew Drop' fajta esetében a legtöbb sarj a 40 g/l szacharózt tartalmazó táptalajon fejlődött (5,2 db). A fruktózt és a glükózt tartalmazó táptalajok közül egyaránt a 20 g/l volt a legjobb (4,8 db).

A 'Samurai' fajta az előzőkhöz hasonlóan viselkedett. A legtöbb sarjat a 30 g/l szacharózt tartalmazó táptalajon hozta (4,8 db), míg a fruktóz és a glükóz optimális koncentrációja 20 g/l (4,2 illetve 4,3 db).

A 'Dew Drop' fajta tenyészetének egységességét vizsgálva érdekes megfigyeléseket tettünk. Míg a glükóz és szacharóz tartalmú táptalajokon a levelek szegélyének színe fehér, a fruktóz hatására ez sárgássá vált. A cukorkoncentráció növekedésével a mintázat határozottabbá, a fehér szegély szélesebbé vált (3. ábra). A tenyészetek egységesebbek lettek, több fajtaazonos sarj keletkezett, a zöld sarjak száma csökkent.



3. ábra *H. 'Dew Drop'* levelek (10, 15, 25 és 50 g/l szacharózt tartalmazó táptalajokról)

A 'Samurai' fajta tenyészetére is elmondható, hogy a mintázat jobban megjelent a magasabb cukorkoncentráció esetében, de ez leginkább a szacharóz alkalmazásakor volt igaz. Itt a fajtaazonos utódok elkülönítését nehezítette, hogy a sárga szegély zöldes árnyalatú lett, s a halványzöld levéllemeztől nehezen vált el. Ezért a tarka és a teljesen sárga utódok egy része biztosan csak az akklimatizáció után volt különválasztható.

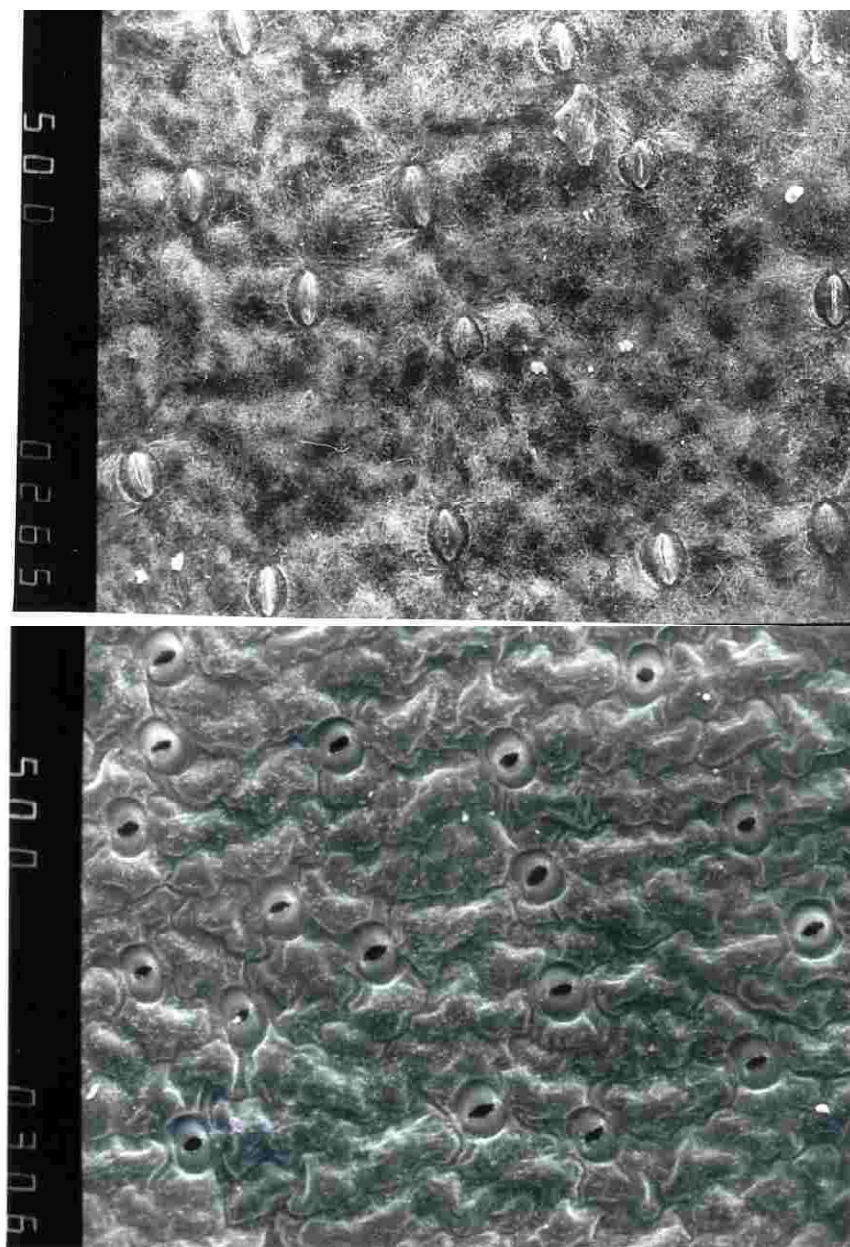
3.3. A növekedésszabályzó anyagok és természetes kiegészítők hatása a *Hosta* taxonok gyökeresedésére

A szaporítási fázisban kapott sarjakat különböző gyökeresítő táptalajokra helyeztem. Itt a NES mellett aktív szén, kálium-humátot és fulvosavat adagoltam a táptalajhoz.

A vizsgálatok azt mutatták, hogy a növények minden kipróbált táptalajon meggyökeresedtek, de a fejlődött gyökerek minőségében nagy eltérések voltak kimutathatók. A NES hatására a gyökerek rövidebbekké, vastagabbakká váltak. Az aktív szén tartalmazó táptalajokon a gyökerek megjelenése gyorsabb volt, de a képződő gyökerek vékonyak és gyengék voltak. A kálium-humát és a NES együttes hatására a gyökerek minősége javult, a fulvosav azonban nem volt kedvező a gyökeresedésre.

3.4. Szöveti változások a *Hosta* taxonok mikroszaporítása és akklimatizációja során

Az *in vitro* szaporítás során bekövetkező változásokat több vizsgált fajta esetében is nyomon követtem.



35. ábra Szabadszéken (fent) és *in vitro* (lent) fejlődött *H. 'Samurai'* növény levelének fonáki epidermisze (SEM felvétel, 500x nagyítás).

A mikroszkópos felvételek alapján megállapítható volt, hogy a levél színi epidermiszének sejtjei az *in vitro* tenyésztés során elvesztik kerekded formájukat, szélük erősen hullámosossá válik. A sejtek jobban kiemelkednek, nem illeszkednek olyan szorosan, mint a szabadszék növény esetében. A kutikula elvékonyodik, a viaszréteg nem, vagy csak igen kis mértékben található meg a leveleken. Sztómákat a színi epidermiszben is találhatunk. A fonáki epidermisz sejtjei kisebbek, faluk hullámosabb. A sztómák méretében kismértékű különbségek mutatkoznak, az *in vitro* növényeknél a sztómák valamelyest nagyobbak, mint a szabadszék növények esetében. *In vitro* körülmények között a sztómák nyitott állapotúak. A levéllemez vastagságát vizsgálva

megállapíthatjuk, hogy mind az oszlopos, mind a szivacsos parenchima elvékonyodik. A szivacsos parenchima aránya megnő a szabadföldi növényekéhez képest.

Az akklimatizáció során a sztómák száma fokozatosan csökken. Kiültetéskor a növény az *in vitro* körülményekre jellemző sztómákkal rendelkezik, melyek az *ex vitro* körülményekre nehezen reagálnak. A sztómák záródása hosszú folyamat, a kiültetés utáni 3. napon még mindig csak 50%-osan záródtak a sztómák. A 10. nap körül megjelenő első új levelek sztómái már jól működnek, bár számuk még mindig magasabb a szabadföldi növényekénél

3.5. Az üzemi szaporítás eredményei

A fajták üzemi szaporítása 1998-tól a Szombathelyi Erdészeti Rt. Biotecnológiai Laboratóriumában történik. A kidolgozott technológia jól alkalmazható az üzemi méretű szaporításban. A folyamatosan szaporított növények akklimatizálására legkedvezőbb az április-májusi időszak. Tapasztalataink szerint a június után akklimatizálódott növényeknek nincs elég idejük a cserepezést követően kellően begyökeresedni és megerősödni a fagyok beálltaig. A növények további nevelése során nem tapasztaltunk problémákat. A cserepes növények, kora tavasszal 2 literes konténerbe ültetve, még ugyanazon év második felére értékesítésre alkalmas növényekké fejlődnek.

3.7. Új tudományos eredmények

1, A kísérletek alapján sikerült 13 fajta számára hatékony fertőtlenítő eljárást kidolgozni, melynek használatával csökkenthető a növényeket érő stressz, gyorsabb ütemű további fejlődést lehet elérni a mikroszaporítás során.

2, A kísérletekbe vont 13 fajtának sikerült nagy hatékonyságú indító táptalaj összetételt meghatározni.

3, A felszaporítási szakaszban meghatároztam a citokininek optimális koncentrációját, mely nagy hatékonysággal biztosítja a jó minőségű sarjak fejlődését.

4, Meghatároztam a mikroszaporítás sokszorozó szakasz során alkalmazott különböző szénhidrátok optimális koncentrációját.

5, Meghatároztam a fajták gyökeresítésére alkalmas, hatékony táptalaj összetételét.

6, Az *in vitro* körülmények között nevelt növények összehasonlító szövettani vizsgálatainak eredménye további adatokkal járult hozzá a mikroszaporítás anatómiai hatásainak megismeréséhez.

7, Ezen fajták *in vitro* tenyésztésbe vett steril tenyészteti alkalmasak piaci értékesítésre kerülő növényanyag előállítására. A kapott eredmények alapján megvalósult a dolgozatban említett

6 fajta, valamint további 3 fajta üzemi méretű szaporítása. A technológia alapján szaporított konténeres növények több éve folyamatosan a faiskolai kínálat részét képezik. A kidolgozott szaporítástechnológiák hozzájárulnak a további *Hosta* taxonok hazai tömegtermesztésének megvalósításához.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

4.1. Általános megállapítások

- A kultúra indítása a rhizómán található rügyek felhasználásával, minden fajtánál bevált. A módszerrel nem kerül sor az explantátum kalluszosítására, majd az abból történő regenerációra, mely a kiméra fajták hasadásához vezetne.

- A táptalajhoz adagolt szénhidrátok mennyisége és fajtája erőteljes hatással van a tenyészetek fejlődése mellett a fajták stabilitására is.

- Egyes fajták az irodalmi forrásokban közölt 20 g/l szacaróz koncentrációnál magasabb, 30-35 g/l szacharózt igényelnek optimális fejlődésükhöz.

4.2. Javasolt mikroszaporítási technológia különböző *Hosta* taxonok szaporításához

A kísérleteim során kapott eredményeket összefoglalva, vázlatos formában elkészítettem a vizsgált fajtákra vonatkozó szaporítástechnológiát. Ennek lépései az alábbiak:

1. Anyanövények kiválasztása

A kultúra indításához kiválasztott, jó növekedési erélyű, kórokozóktól és kártevőktől mentes növényeket már az indítást megelőző vegetációs periódusban rendszeres megfigyelés alatt kell tartani. Célszerű meggyőződni arról, hogy minden fenológiai fázisban mutatja az adott fajtára jellemző tulajdonságokat. Az anyanövényeket a tavaszi indításig szabadban kell tartani, hogy a természetes hideghatást megkaphassák.

2. A kultúra indítása

A kiválasztott anyanövények gyökérzetéről le kell mosni a természetközéget és eltávolítani a rizómáról a gyökereket. A rizómákat alaposan súrololás után, egy órán keresztül folyó vezetékes víz alatt kell mosni. A rügyeket úgy célszerű leválasztani a rizómákról, hogy a talpi részükön maradjon egy kis rizómadarab. A rügyek tisztításakor, egy-két külső rügypikkelyt is el kell távolítanunk róluk. Az így előkészített rügyeket helyezzük főzőpohárba, majd néhány csepp Tween 80 hozzáadása után és a pohár száját gézlappal le kell zárni. Ezek után a rügyeket egy óra hosszáig mossuk folyó csapvízben. A megtisztított rügyek sterilizésére az alábbi eljárást javaslom:

- 10 perces áztatás kétszeresére hígított Clorox oldatban
(NaOCl tartalma kb. 2,5%)
- 5 perces áztatás 70 %-os etil-alkohol oldatban
- háromszori öblítés steril desztillált vízben.

Az így előkészített rügyeket helyezzük hormonmentes MS táptalajra. A fertőzésmentes rügyeket 1 hét múlva át kell rakni indító táptalajra.

Az alaptáptalaj összetétele:

- MS makroelemek 50%-os koncentrációban
- MS mikroelemek változatlan koncentrációban
- vitaminok kétszeres koncentrációban, thiamin négyszeres koncentrációban
- adenin-szulfát: 80 mg/l és mio-inositol: 100 mg/l

Az indító táptalaj összetétele:

- alaptáptalaj
- 3 mg/l BA és 0,1 mg/l NES 'Devon Green', 'Blue Cadet', 'Samurai' fajtáknál
- 6 mg/l BA és 0,1 mg/l NES 'Dew Drop', 'Gold Drop', 'Gold Haze' fajtáknál

3. Szaporító szakasz

Átrakás ideje: 4-5 hetenként

Szaporító táptalaj: az alaptáptalaj 2 mg/l BA és 0,1 mg/l NES kiegészítéssel

A javasolt szénhidrátot és az optimális mennyiséget az 1. táblázatban foglalom össze.

1. táblázat Különbféle *Hosta* fajták szaporításához ajánlott szénhidrátok és azok mennyisége

Fajta neve	Szénhidrát neve	Ajánlott mennyiség (g/l)
Blue Cadet	szacharóz	20
Devon Green	fruktóz	10
Dew Drop	szacharóz	35
Gold Drop	szacharóz	35
Gold Haze	szacharóz	25
Samurai	szacharóz	30

4. Gyökeresítő szakasz

A vizsgált fajták gyökeresedése problémamentesnek bizonyult a kipróbált táptalajokon. A gyökök minőségét alapul véve azonban az alábbi táptalajösszetételt javaslom az *in vitro* gyökeresítéshez:

- az alaptáptalaj 0,1 mg/l NES és 0,2 g/l Kálium-humát kiegészítéssel

5. Akklimatizáció

A gyökeres növények akklimatizációja az általánosan használt akklimatizációs eljárások alkalmazásával a vizsgált fajták esetében problémamentes. Ez várható a további fajták esetében is. A teljes akklimatizáció 12-20 napot vesz igénybe, az akklimatizáció időpontjától függően.

6. Szabadföldi továbbnevelés

Az akklimatizálódott növények továbbnevelése során általában nem adódnak problémák. Tapasztalataink szerint a június után akklimatizálódott növényeknek nincs elég idejük a cserepezést követően kellően begyökeresedni és megerősödni a fagyok beálltaig, ezért a növények akklimatizációját legkésőbb május második felében kezdjük meg. A növények jól fejlődnek bármely tőzeg alapú termesztőközegben, melynek pH értéke 6-7 között mozog. A közeghez javaslom 4,5 g/l mennyiségben, valamely szabályozott tápanyagleadású műtrágya adagolását.

5. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

5.1. Folyóiratcikkek

Nem IF-es folyóiratcikk

Szafián, Zs., Jámbor-Benczúr, E., Ferenczy, A. 1995. *In vitro* propagation of *Hosta fortunei* I. Effect of growth regulators on proliferation Horticultural Science 27. 1-2: 19-22.

Szafián, Zs., Jámbor-Benczúr, E., Ferenczy, A. 1996. *In vitro* propagation of *Hosta fortunei*. II. Rooting and acclimatisation. Horticultural Science 28. 8-10.

Mándy A., Stefanovics-Bányai É., Imre Cs., **Szafián, Zs.** 2001, Results in the determination of some *Hosta* varieties by the method of isoelectric focusing Int. J. of Hort. Sci. 7 (1): 90-92.

Jámbor-Benczúr, E., Mándy, A., Sinkó, Z., Hipszki, B., **Szafián, Zs.**, Dobránszki, J. 2004. The effect of different carbohydrates on multiplication of *Hosta* cultivars Int. J. of Hort. Sci. 10 (4) 115-117.

5.2. Publikációk konferencia kiadványokban

Magyar nyelvű összefoglaló

Szafián, Zs. 1995 *In vitro* propagation and investigation of epidermis of *Hosta fortunei* 'Albopicta'. Abstract of prize winning papers presented at the 22nd National Conference of Student's Circles. Agriculture Vol. 2. p. 22 Keszthely

Szafián, Zs., Jámborné Benczúr, E., Ferenczy, A. 1996. A *Hosta fortunei* mikroszaporítása és levél epidermiszének vizsgálata. III. Növény-nemesítési Tudományos Napok, Budapest, 1996. január 22-23. p.52.

Szafián, Zs., Jámbor-Benczúr, E., Ferenczy, A. 1996. A *Hosta fortunei* mikroszaporítása A Lippay János tudományos ülésszak előadásainak és poszttereinek összefoglalói. Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem, Budapest. 88-89.

Mándy A., **Szafián Zs.**, Jámborné Benczúr E. 1998. Eredmények egyes *Hosta* fajták akklimatizálásában és variabilitás vizsgálatában. Lippay János - Vas Károly Nemzetközi Tudományos Ülésszak Előadási és Poszterei, Dísnövénytermesztési Szekció 98-99.

Szafián Zs., Jámborné Benczúr E., Tillyné Mándy A. 1998. A szacharóz hatása a különböző *Hosta* fajták szaporodására és klorofill tartalmára. Lippay János - Vas Károly Nemzetközi Tudományos Ülésszak Előadási és Poszterei Dísnövénytermesztési Szekció 110-111.

Jámborné Benczúr E., Hipszki B., Mándy A., Sinkó Z., **Szafián Zs.** 2000. Különböző szénhidrátok hatása a *Hosta tokudama* fajtaák *in vitro* szaporítása során. Lippay János - Vas Károly Tudományos Ülésszak november 6-7. Budapest. Összefoglalók 114-115.

Mándy A., Stefanovits-Bányai É., **Szafián Zs.** 2000: Egyes *Hosta* fajták stressztolerancia vizsgálata az akklimatizálás során. Lippay János - Vas Károly Tudományos Ülésszak november 6-7. Budapest. Összefoglalók 120-121.

Tilly-Mándy A., Jámborné Benczúr E., Császár O., Ördögh M., **Szafián Zs.**, Stefanovits-Bányai É. 2007. Eredmények a Titavit *in vitro* használatával *Hosta* 'Dew Drop' és 'Gold Drop' tesztnövény esetén. XIII. Növénynevelési Tudományos Napok MTA Budapest, március 12. Összefoglalók. 121.

Ördögh M., Jámborné Benczúr E., Tillyné Mándy A., Lelik L., **Szafián Zs.** 2007. Különböző növekedésszabályozó anyagok hatásának vizsgálata *Hosta* 'Gold Drop' *in vitro* felszaporításánál. Lippay János-Ormos Imre-Vass Károly Tudományos Ülésszak 2007. november 7-8. Budapest. Összefoglalók. 70-71.

Tillyné Mándy A., Császár O., Ördögh M., **Szafián Zs.**, Jámborné Benczúr E., Stefanovits-Bányai É. 2007. A Titavit hatása *Hosta* 'Dew Drop' *in vitro* tenyésztésére. Lippay János-Ormos Imre-Vass Károly Tudományos Ülésszak 2007. november 7-8. Budapest. Összefoglalók. 88-89.

Nemzetközi konferencia (full paper)

Szafián, Zs., Jámbor-Benczúr, E., Csillag, F. 1997. *In vitro* propagation and study of the epidermis of *Hosta fortunei* 'Albopicta' Proceedings of the Third International Symposium on *In Vitro* Culture and Horticultural Breeding Jerusalem, Izrael. Acta Horticult. 447. 191-192.

Nemzetközi konferencia (abstract)

Szafián, Zs., Jámbor-Benczúr, E., Csillag, F. 1996. *In vitro* propagation and study of the epidermis of *Hosta fortunei* 'Albopicta' Third International Symposium on *In Vitro* Culture and Horticultural Breeding Jerusalem, Izrael. Program and Book of Abstracts 23.

Szafián, Zs., Jámbor-Benczúr, E., Tilly-Mándy, A., Komiszár L. 1998. Influence of the carbohydrate concentration on shoot production of different *Hosta* cultivars IX International Congress On Plant Tissue And Cell Culture, Jerusalem Book of Abstracts 111.

Jámbor-Benczúr, E., Mándy, A., Sinkó, Z., Dobránszki, J., Hipszky, B., **Szafián, Zs.** 2000. The effect of different carbohydrates on multiplication of *Hosta tokudama* cultivars COST 843 WGI: Developmental Biology of Regeneration, 1st Meeting, 12-15 Oct 2000, Geisenheim, Germany, 33-34

Stefanovits-Bányai É., A. Mándy, Cs. Imre, **Zs. Szafián**: Isoelectric Focusing, as a Method in the Determination of some *Hosta* Varieties. Plant Biology and Biochemistry. 12th Congress of the Federation of European Societies of Plant Physiology 2000, Budapest. p. 18.

Tilly-Mándy, A., **Szafián Zs.**, Jámbor-Benczúr, E., Ördögh, M., Stefanovits-Bányai É. 2007. The effect of titavit on the *in vitro* development of *Hosta* 'Dew Drop' and 'Gold Drop' International Scientific Conference Propagation of Ornamental Plants. 4-6. September. Sofia, Bulgaria. Book of Abstracts. 175.

Könyv, könyvrészlet

Tillyné Mándy A., **Szafián Zs.** 2005 Árnyékliliomok in Jámborné Benczúr E.-Dobránszki J. (szerk.) Kertészeti növények mikroszaporítása, Mezőgazda Kiadó pp.228-229