



**ŐSHONOS *THYMUS* (KAKUKKFŰ) TAXONOK KÉMIAI DIVERZITÁSÁNAK,
VALAMINT TERMESZTÉSI LEHETŐSÉGÉNEK ÉRTÉKELÉSE**

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

BARÁTHNÉ SIMKÓ HELLA

TÉMAVEZETŐ: DR. PLUHÁR ZSUZSANNA

Budapest, 2014

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok

vezetője: Dr. Tóth Magdolna
Egyetemi tanár, DSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar
Kertészettudományi Doktori Iskola

témavezető: Dr. Pluhár Zsuzsanna
Egyetemi docens, PhD habil.
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Gyógy-és Aromanövények 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
Iskolavezető jóváhagyása

.....
Dr. Pluhár Zsuzsanna
Témavezető jóváhagyása

1. A munka előzményei, a kitűzött célok

Hazánkban a *Thymus pannonicus*, All. (magas kakukkfű) és a *Thymus glabrescens* Willd. (közönséges kakukkfű) a *Serpylli herba* drognév alatt gyűjtött, őshonos gyógynövényfajaink (Király, 2009). Drogjaikat, valamint illóolajukat régóta használják, elsősorban meghűléses betegségek esetén, köhögéscsillapító és hurutoldó szerként (Csupor, 2003). Korszerű vizsgálatokkal igazolták illóolajuk antimikrobiális hatását (Maksimović *et al.*, 2008a,b), továbbá virágos hajtásukban antioxidáns hatású fahéjsav-származékokat mutattak ki (Boros *et al.*, 2010).

A vadon termő kakukkfűvek esetében igen gyakori jelenség a másodlagos anyagcseretermékeket érintő kémiai variabilitás, melynek egyrészt genetikai, másrészt környezeti-ökológiai okai lehetnek. Ha a természetes populációkból gyűjtött egyedek gyógyászati szempontból jelentős hatóanyaga változékonny és szintje nem éri el a gyógyszerkönyv (Magyar Gyógyszerkönyv, 2004) által megkívánt értéket, akkor terápiás alkalmazása is kétségessé válhat. Ebből kiindulva időszzerűvé vált a vadon termő gyógynövény populációk feltérképezése és beltartalmi szempontú vizsgálata. Az egyes populációk hatóanyag-tartalmának és kemotípusának megismerése által mind a gyűjtés, mind a termesztésbe vonás szempontjából értékes genotípusok és gyűjtési körzetek emelhetők ki. A kemotípusok stabilitásának értékeléséhez a természetes élőhelyükről begyűjtött taxonokat azonos termőhelyi feltételek mellett szaporítják fel és értékelik.

Vizsgálatunk tárgyát a hazánkban legszélesebb körben előforduló kakukkfű gyűjtőfajok, a *Thymus pannonicus* és a *Thymus glabrescens* természetes és felszaporított populációi képezték. E fajok mind kemotaxonómiai, mind termesztésbe vonási szempontból perspektivikusnak tekinthetők tág ökológiai tűrőképességük miatt. Korábbi megfigyelések szerint e fajok a növénytársulásokban gyakran együttesen fordultak elő, vadon termő populációik kemotípusai azonban csak részben feltártak. Vizsgálataink kiterjedtek mind a vadon termő, mind a felszaporított állományaik kémiai stabilitásának vizsgálatára, valamint termesztésbevonásuk lehetőségének értékelésére.

A vadkakukkfűvek termesztéstechnológiájának kidolgozása azért fontos, mert találhatunk stabil, a jelenleg hatályos gyógyszerkönyvnek megfelelő, vagy épp különleges, új beltartalmi paraméterekkel rendelkező taxonokat is, melyek érdemesnek bizonyulhatnak a termesztésbe vonásra és nemesítésre. A hazai vadkakukkfű kutatások középpontjában olyan utódsorok állnak, melyek magas droghozammal bírnak, illetve magas az illóolaj-tartalmuk és abban a timol arányuk. Ezek kevésbé legyökerező, felálló bokorhabitussal rendelkeznek, mely a betakarítást könnyíti meg.

A beltartalmi paraméterek feltárása és a termesztésbe vonás kapcsán a hazánkban nem őshonos *Thymus vulgaris*, L. (kerti kakukkfű) rendelkezik a legkiterjedtebb szakirodalommal. Bár a Mediterráneumban honos kerti kakukkfű viszonylag távoli rokonnak számít, a rá vonatkozó adatok mégis jelentős támpontot nyújtanak a hazánkban fellelhető vadkakukkfű fajok termesztéstechnológiájának kidolgozásában.

Ahhoz, hogy a perspektivikus *Thymus* fajok minél hatékonyabb szaporítását és biztonságosabb génbanki megőrzését megvalósítsuk, szükséges megismernünk az egyes fajok magjainak optimális csírázási körülményeit is (Palevitch, 1988). E témakörben csak a keskenylevelű kakukkfű és a kerti kakukkfű esetében található adatok a szakirodalomban, melyek kiindulási pontként szolgáltak kísérleteinkhez.

A hazánkban is termesztett kerti kakukkfű mellett a vadon termő kakukkfűvek vizsgálatának is van létjogosultsága, mivel a növények biológiailag aktív anyagainak kutatása mindig időszzerű és a gyógyszergyártás szempontjából jelentős kutatási feladat. E vonatkozásban a kakukkfűvekben a közelmúltban felfedezett (Radonic & Mastelic, 2008)

timokinon nevű rákellenes és antioxidáns hatású vegyület érdemes említésre, melynek jelenlétét a hazánkban honos vadkakukkfüvekben eddig még nem regisztrálták.

Munkánk során célkitűzéseim a következők voltak:

I. A vizsgált taxonok értékelése a kémiai diverzitás szempontjából

1. A vadontermő és termesztett *Thymus pannonicus* és *Th. glabrescens* állományok illóolaj-tartalmának, illóolaj-összetételének, valamint összhidroxifahéjsav-származék tartalmának vizsgálata

II. A termesztésbe vonás lehetőségének vizsgálata illetve megalapozása

1. A vadontermő *Thymus pannonicus* és *Th. glabrescens* populációk illóolaj- és talajjellemzői közötti összefüggések feltárása
2. Felszaporított *Thymus pannonicus* és *Th. glabrescens* származékok növekedési, valamint fenológiai vizsgálatai
3. A *Thymus pannonicus* és *Th. glabrescens* taxonok szaporítási technológiája egyes részleteinek kidolgozása
4. A talajtakarás hatásának értékelése felszaporított *Thymus pannonicus* és *Th. glabrescens* állományokra

III. A génrezerváció és a nemesítés szempontjából történő értékelés

5. Az értékesnek bizonyuló kemovariánsok szaporítóanyagának rezerválása
6. A stabil beltartalmi tulajdonságokkal rendelkező kémiai változatok értékelése nemesítési szempontból

2. A kísérletek anyagai és módszerei

2.1. A kísérletek helye és anyaga

2.1.1. A *Thymus pannonicus* és *Th. glabrescens* természetes populációi

2010-ben és 2011-ben tavasztól késő ősziig, összesen **24 termőhelyre** kiterjedően végeztem a mintavételezéseket: az **Észak-Dunántúlon** a Keszthelyi-hegységből (Balatongyörök), a Balaton-felvidékről (Balatonarács, Tapolca) a Bakonyból (Szóc), a Vértesből (Csákvár), a Budai-hegységből (Érd, Budapest, Pesthidegkút, Nagykovácsi), a Pilisből (Dorog, Pilisszántó, Pilisszentiván) és a Visegrádi-hegységből (Visegrád, Szentendre) gyűjtöttünk mintákat. Az **Északi-Középhegységben** található termőhelyek a következők voltak: Bükk (Cserépváralja, Mónosbél), Bükkalja (Bogács, Noszvaj), Putnoki-dombság (Sajógalgóc), Aggteleki-karszt (Aggtelek, Jósvafő) és Cserehát (Szendrőlád, Rakaca, Rakacaszend).

2.1.2. A felszaporított *Thymus pannonicus* és *Th. glabrescens* állományok anyaga

Egyes kiválasztott kakukkfű genotípusok felszaporítására és állományaik vizsgálatára a **soroksári Gyógynövény Kísérleti Telepen** került sor 2010 és 2012 között. A kísérlet során 2011-ben felszaporított fiatal (egy- és két éves) és 2005-ben felszaporított idősebb (öt-, hat- és hét éves) utódsorokat tanulmányoztam. A vizsgált utódsorok a *Th. pannonicus* (TPA) esetében a Vajdaságból (Ada), a Gödöllői-dombságból (Ceglédbercel) és a Bakonyból (Fenyőfő), míg a *Th. glabrescens* (TGL) esetében a Bakonyból (Csesznek) és a Balaton-felvidékről (Szentbékáll) származtak.

2.2. A kísérletek módszerei

2.2.1. A természetes élőhelyeken végzett vizsgálatok módszerei

A terepi mintavételezés során minden termőhelyen a vizsgált faj populációjából friss, virágzó, vagy ritkábban vegetatív **hajtásmintát** gyűjtöttem drogellátás és hatóanyag vizsgálat céljából. Amennyiben lehetőség nyílt egy élőhelyen több faj, vagy egy faj több, egymástól távol eső, eltérő cönológiai helyzetű populációjának vizsgálatára, azt az adott földrajzi hely neve mellett számozással is jelöltem. Mintáimat természetes úton szárítottam meg árnyékos, szellős helyen. Több területről termést is gyűjtöttünk felszaporítás céljából (pl.: Aggtelek, Balatonarács, Cserépváralja, Érd, Mónosbél, Nagykovácsi).

A vizsgált kakukkfű populációk termőhelyein **talajmintát** is vettem a talaj felső, 0-20 cm-es szintjéből, a kakukkfű gyökérszínjéből. A talajvizsgálatokra a Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Központi Laboratóriumában került sor a pH, a sótartalom (%), a mézsttartalom (%), a humusztartalom (%) és a makrotápelemek (mg/kg) mennyiségi meghatározása céljából.

2.2.2. A felszaporított állományok vizsgálati módszerei

A **felszaporítás** során a vadon termő állományokból 2010-ben gyűjtött, valamint az ötéves, Soroksáron fenntartott állományokból származó magtégeket 2011. március 17-én szaporító ládába, virágföldbe vetettük el a Gyógynövény Kísérleti Telep üvegházában, majd 2011 júniusában szabadföldbe, fekete agrotexiliával takart, illetve takaratlan területre ültettem ki, 40 x 30 cm-es sor-és tőtáv alkalmazása mellett.

2011 és 2012 májusa és júliusa közötti időszakban **vágáskísérletet** végeztem a hatóanyagok felhalmozódásának elemzése érdekében, melynek során a levágott hajtások szárítása természetes úton, árnyékos helyen történt a soroksári Gyógynövény Kísérleti Telepen.

A **talajtakarás hatásának** értékeléséhez 2011-ben, az első éves kakukkfű állományokban gyomfelvételezést végeztem, fajonként 2-2, egyenként 4 m²-es felvételi négyzetekben, a talajtakart és a takaratlan kontroll területen.

A **hajtásnövekedés dinamikáját** mindkét faj kétéves állományaiban (2012-ben) vizsgáltuk. Havonta, összesen háromszor (2012. március 21-én 2012. április 20-án és 2012. május 18-án) felvételeztük a növények szélességét, magasságát és a hajtások hosszát (cm).

A **tőosztási kísérletet** 2011. május 11-én végeztem, melynek során a soroksári Gyógynövény Kísérleti Telepen fenntartott, hatéves anyanövények gyökeres hajtásrészeit választottam le. A járulékos gyökérképződés további serkentésére 0,4 %-os, por kiszerezésű β -IVS-t alkalmaztam, majd a növényeket perlites homokba helyeztem (Probocskai, 1980). Üvegházban, rendszeres öntözés mellett tartottam a növényeket, majd a becserepezett (2011. június 08.) palánták továbbnevelése védett, félárnyékos környezetben történt. A kiültetésre 2011. szeptember 15-én került sor, 40 x 30 cm alkalmazásával.

2.2.3. A laboratóriumi vizsgálatok módszerei

A **hatóanyagok** vizsgálatára a szárított drogból a Budapesti Corvinus Egyetem, Gyógy- és Aromanövények Tanszék laboratóriumában került sor. A vadon termő és felszaporított állományokból származó minták **illóolaj-tartalmának** meghatározása vízgőz-desztillációval történt a VIII. Magyar Gyógyszerkönyv (2004) alapján, mennyiségét ml/100 g száraz anyagra vonatkoztatva adtam meg.

Az **illóolaj-komponensek százalékos arányának** megállapításra gázkromatográfiás (GC) analízist végeztünk. Az Agilent Technologies 6980 N GC (Agilent Technologies, USA) működési paraméterei: HP-5 kolonna (töltet: 5% fenil-, 95% dimetil-polisziloxán, hossz: 30 m, átmérő: 250 μ m, filmvastagság: 0,25 μ m), vivőgáz: hélium (áramlási sebesség: 0,5 ml/min, konstans), az injektor és a detektor hőmérséklete: 250 °C. A kolonna lépcsős hőmérsékleti programja: 50 °C/5 min, majd 4 °C/min rátával 150 °C-ig, ezt követően 12 °C/min rátával 220 °C-ig, végül 220 °C/10 min. Lángionizációs detektort (FID) vagy tömegspektrométert (Agilent Technologies MS 5975, USA) alkalmaztunk. A komponensek azonosítása tömegspektrum alapján NIST könyvtár és saját illóolajos könyvtár segítségével, illetve FID detektor esetében standard addíciós módszerrel, a retenciók és indexek felhasználásával történt.

A **kemotípusokat** az illóolajban 9 % feletti arányban jelenlevő főkomponensek alapján különítettünk el és e szerint neveztük azokat újnak vagy már ismertnek az elérhető szakirodalomhoz viszonyítva.

A VIII. Magyar Gyógyszerkönyv (Magyar Gyógyszerkönyv, 2004) *Melissae folium*-ra kidolgozott **összhidroxifahéjsav-származék tartalom (%)** mérését adaptáltuk a *Serpylli herba*-ra. A vizsgálati oldat abszorbanciáját 505 nm-en, késedelem nélkül, a kompenzáló folyadékkal szemben határoztuk meg spektrofotométerrel (Spectro UV-VIS Dual Beam; Laborexport Kft.). A rozmaringsavban kifejezett, összes százalékos hidroxifahéjsav-származék tartalmat a rozmaringsav 505 nm-re vonatkozó $A_{1\text{ cm}} 1\% = 400$ fajlagos abszorpciós koefficiensét alapul véve, a következő összefüggés szerint számítottuk: $(5 \times A) / m$, ahol A = a vizsgálati oldat abszorbanciája 505 nm-en, m = a vizsgált drog tömege (g).

A **csírázásbiológiai vizsgálatokat** megelőzően a kakukkfű termések tételeit **szobahőmérsékleten** (20-24 °C-on), illetve **hűtőszekrényben** (4 °C-on) **tároltuk**. A kísérleteket csíráztató szekrényben (SANYO Versatile Environmental Test Chamber), Petri

csészében végeztük, a kerti kakukkfűre vonatkozó MSZ 6354-3 (2008) csíráztatási szabvány szerint (28 nap, 20/30°C váltakozó hőmérséklet, 16/8 h sötét/fényperiódus mellett). Minden kísérletben kezelésenként 3 x 33 db makkocska részterméssel dolgoztunk. Az optimális **hőmérsékleti** program tesztelésekor a 10/15°C alacsony hőmérsékleti programot is beállítottunk. A **fény** csírázásra gyakorolt hatásának vizsgálatakor a sötét kezeléshez a Petri-csészéket alufóliával vontuk be. A **csírázásserkentő szerek** hatékonyságának értékelésekor minden esetben 24 h előkezelést alkalmaztunk: 250 ppm GA₃-, 1%-os KNO₃-, vagy 10%, ill. 20%-os PEG₄₀₀- oldattal.

2.2.4. A statisztikai elemzések során alkalmazott módszerek

A statisztikai értékelést a *Statistica 11*, az *SPSS 20*, ill. a *PASW Statistics 18* programcsomagok segítségével végeztük el, melynek során kétmintás t-próbát, Cluster-analízist, korrelációanalízist vagy összetartozó mintás varianciaanalízist végeztünk. A kezeléseket között kapott különbséget $p < 0,05$ szinten tekintettük szignifikánsnak.

3. Eredmények és értékelésük

3.1. A vizsgált természetes kakukkfű populációk előfordulása és élőhely preferenciái

A terepi felvételezések és a vonatkozó irodalom alapján megállapítottam, hogy a vizsgált kakukkfű fajok populációi *sokféle alapkőzeten és talajtípuson előfordulnak*. A vizsgált *Th. glabrescens* (TGL) populációk megtalálhatók voltak mészkövön, dolomiton, rioliton és homokon, míg a *Th. pannonicus* (TPA) állományok dolomiton, rioliton, löszön, agyagpalán, márványon, mészkövön, vulkanikus tufán és agyag alapkőzeteken kialakult talajokon telepedtek meg. A TPA termőtalajai magasabb átlagos foszfát-, kálium- és humusz-tartalmúak voltak, mint a TGL esetében. A TPA alacsonyabb pH mellett is megélt, de mindkét faj a semleges kémhatású talajokat preferálta. *Adataink e vonatkozásban kiegészítik a fajokra vonatkozó korábbi eredményeket* (Mártonfi *et al.*, 1996 és Pluhár *et al.*, 2011).

3.2. A vizsgált természetes kakukkfű populációk kemotaxonómiai értékelése

Megállapítottam, hogy igen eltérő illóolaj-tartalommal és -összetétellel rendelkeznek a vizsgált *Thymus pannonicus* és *Th. glabrescens* populációkból származó minták. Az illóolaj-összetevők bioszintézisének genetikai meghatározottsága tudományosan bizonyított, mely saját eredményeim alapján is igazolható. A természetes élőhelyekről gyűjtött minták alapján igazoltam, hogy a magas kakukkfű (TPA) magasabb illóolaj-akkumulációra képes, mint a közönséges kakukkfű (TGL). Ez és a korábban közölt adatok alapján elsősorban a TPA gyűjtése javasolható a természetes élőhelyeken. Környezeti hatásként megfigyeltem továbbá az *évjárat* hatását az illóolaj-akkumulációra: 2010-ben ugyanis magasabb és kevésbé szélsőséges illóolaj-tartalom (0,270-1,079 ml/100g) volt mérhető a TPA mintáknál, mint 2011-ben.

Igazoltam továbbá, hogy a *Th. pannonicus* esetében a legtöbb természetes populációból gyűjtött mintából *timolban* gazdag illóolaj nyerhető, ami terápiás szempontból is kedvező. A közönséges kakukkfű vadon termő populációiból származó minták illóolaja viszont a farmakológiai hatás tekintetében eddig kevésbé kutatott szeszkviterpénekben volt gazdag. A szeszkviterpének nagyarányú megjelenésének okairól eddig még nem jelent meg közlemény.

Mindkét faj esetében számos új illóolaj-összetételű kemotípus volt kimutatható, melynek bemutatása az alábbiakban fajonként és terpén főkomponensek szerint csoportosítva történik.

A *Thymus pannonicus* esetében 17 új kemotípus leírására került sor:

Monoterpén főkomponensűek:

- karvakrol (40,7%)/p-cimol (15,9%)/ γ -terpinén (13,7%)- Bükk (Mónosbél)
- linalool (24,6%)/p-cimol (14,1%)/**timol** (10,8%)/timol-metiléter (9,9%)/karvakrol (10,3%)- Bükkalja (Noszvaj)
- linalool (26,6%)/**timol** (22,3%)/p-cimol (14,6%)/ γ -terpinén (11,1%)- Szendrői-hegység (Rakacaszend)
- linalool (47,1%)/p-cimol (15,1%)- Bükkalja (Bog2), ill. linalool (61,6%)/p-cimol (12,5%)- Pilis (Szentendre)
- linalool (61,5%)/**timol** (11,1%)- Aggteleki-karszt (Jósvafő)
- linalool (68,7%)- Bükkalja (Bogács)
- p-cimol (28,0%)/**timol** (11,7%)/timol-metiléter(11,7%)/linalool (10,6%)- Bükkalja (Noszvaj)
- p-cimol (31,6%)/**timol** (17,3%)/timol-metiléter (17,2%)- Bükkalja (Noszvaj)
- **timol** (30,2%)/p-cimol (25,9%)/timol-metiléter (13,4%)/ γ -terpinén (9,5%)- Vértes (Csákberény)
- **timol** (40,7%)/p-cimol (19,8%)/karvakrol-metiléter (11,9%)/timol-metiléter (10,2%)- Vértes (Csákberény)

Szeszkviterpén főkomponensűek

- β -kadinén (28,8%)/germakrén-D (13,2%)- Bükk (Cserépváralja)
- germakrén-D (26,4%)/kariofillén-oxid (10,4%)- Aggteleki-karszt (Aggtelek)
- tau-kadinol (36,5%)/germakrén-D (13,6%)- Aggteleki-karszt (Aggtelek)

Vegyes (mono-és szeszkviterpén főkomponensekkel)

- geranil-acetát (24,1%)/ β -bizabolén (16,3%)/geraniál (12,0%)- Aggteleki-karszt (Jósvafő)
- linalool (38,5%)/transz-szabinén-hidrát (13,7%)/ β -kadinén (12,9%)- Aggteleki-karszt (Jósvafő)
- timol (26,1%)/geraniol (23,5%)/geranil-acetát (12,7%)/ β -bizabolén (10,5%)- Bükk (Mónosbél)
- timol (38,2%)/ γ -terpinén (12,1%)/ β -bizabolén (11,3%)- Tapolcai-medence (Tapolca)

A *Thymus glabrescens* 12 kemotípus bizonyult újnak a szakirodalom alapján:

Szeszkviterpén főkomponensűek

- β -kadinén (15,8%)/germakrén-D (15,3%)- Budai-hegység (Budapest)
- β -kariofillén (29,8%)/germakrén-D (23,8%)/ β -kadinén (11,9%)- Pilis (Pilisszentiván)
- β -kariofillén (36,7%)/kariofillén-oxid (27,7%)/germakrén-D (15,8%)/E,E-farnesol (11,6%) - Keszthelyi-hegység (Balatonyörök)
- germakrén-D (49,4%)- Balaton-felvidék (Szóc)
- germakrén-D (17,8%)/nerolidol (12,9%)/ β -kadinén (12,9%)/ β -bizabolén (9,2%)- Pilis (Dorog)
- germakrén-D (29,5%)/biciklogermakrén (17,2%)/ β -kariofillén (10,8%)/tau-kadinol (9,1%)- Budai-hegység (Nagykovácsi)
- germakrén-D (32,1%)/ β -kariofillén (27,3%)/ δ -kadinén (13,9%)- Budai-hegység (Budapest)
- germakrén-D (44,7%)/ β -kariofillén (13,9%)/biciklogermakrén (10,5%)- Budai-hegység (Nagykovácsi)
- germakrén-D (56,9%)/ β -farnesol (9,0%)- Budai-hegység (Érd)
- kariofillén-oxid (35,8%)/ β -kariofillén (26,5%)/ α -humulén (9,5%)- Pilis (Pilisszentiván)
- tau-kadinol (43,2%)/germakrén-D (15,5%)/cisz- γ -kadinén (10,4%)- Vértes (Csákberény)

Vegyes (mono-és szeszkviterpén főkomponensekkel)

- germakrén-D (43,7%)/timol (28,0%)- Budai-hegység (Budapest)

3.3. Az illóolaj- és a talajjellemzők közötti összefüggések feltárása

A vizsgált két faj vadon termő populációi illóolaj- és talajjellemzői közötti korrelációanalízis alapján megállapítottam, hogy az illóolaj-tartalmat elsősorban a talaj só-, nitrát-, Ca^{2+} - és CaCO_3 - tartalma befolyásolja, míg gyengébb korreláció volt kimutatható a foszfát-tartalom és az illóolaj-

felhalmozódás között. A Ca- és CaCO₃-tartalom és az illóolaj-tartalom között erős pozitív összefüggés volt igazolható. A *Th. pannonicus* esetében a talaj humusz-tartalmának emelkedésével párhuzamosan az illóolaj-tartalom kismértékű növekedést mutatott, míg a *Th. glabrescens*-nél ellentétes irányú gyenge összefüggést találtunk.

3. 4. A termesztésbe vonással kapcsolatos eredmények és értékelésük

3.4.1. A szaporítási technológia fejlesztése és a génmegőrzés lehetőségei

Elsőként végeztünk csíráztatási vizsgálatokat a két fajt illetően. Kísérleteinkben a vizsgált vadkakukkfű magtétélek féléves tárolás után alacsony csírázási arányt adtak, mind a kezeletlen, mind a csírázásserkentő szerekkel kezelt csoportok esetén. Eredményeink alapján a magas és a közönséges kakukkfű magok *fényközömbösek*. A 30/20 °C magasabb váltakozó hőmérsékleti beállítás magasabb csírázási százalékot eredményezett, mint az alacsonyabb (15/10 °C). A magok csíráztatás előtti, +4 °C-on, papír+nylonzacskóban történő hűtőtárolása szignifikánsan magasabb csírázási százalékot biztosított a szobahőmérsékleten tároltakhoz képest. Az általunk alkalmazott csírázásserkentő szerek nem javították a csírázóképeséget. A vizsgált *Thymus* fajok magjainál utóérés következett be, illetve *endogén dormanica* állhatott fenn. A két fajra vonatkozóan évenkénti magfogást és betárolást ajánlunk.

A kakukkfű fajok nagy része generatíván és vegetatíván is szaporítható. A tőosztás a *Th. pannonicus* esetében átlagosan 58,2 %-os, míg a *Th. glabrescens*-nél 46,5 %-os eredést eredményezett. Legnagyobb arányú gyökeresedés a TPA származékok közül az adai, míg a TGL esetében a szentbékállai eredetűnél volt megfigyelhető. Eredményeink összhangban vannak a szakirodalom más *Thymus* fajok esetében leírtakkal (Driemeier-Kreimeier & Barros, 2006; Fodor, 1991; Gyöngyösi *et al.*, 2008). A 0,4%-os β-indolvajsavas gyökereztető hormon-kezelés, illetve a május közepi tőosztási és a szeptemberi kiültetési időpont megfelelő a két faj vegetatív szaporításához.

3.4.2. A talajtakarás hatásának értékelése

A talajtakarás hasznossága abban állt, hogy még ha össze is értek a szomszédos egyedek hajtásai, azok nem tudtak legyökerezni, így betakarításkor könnyen fel lehetett azokat emelni, szemben a szabadföldön nevelt állomány egyedeivel. Az agroszövet alkalmazása arra is megfelelő volt, hogy *csökkentse az élőkommunikációt*, mivel a talajtakarás állományban kevesebb gyomfajt, kisebb egyed- illetve hajtásszámmal felvételeztünk. A talajtakarás csökkentette a drogok esetleges peszticidreziduum-tartalmát, illetve *növelte azok tisztaságát*, továbbá a *Th. glabrescens* esetében az illóolaj-tartalmat is. A talajtakarás hatásának pontosabb értékeléséhez több kísérleti év eredményei lesznek szükségesek.

3.4.3. A felszaporított kakukkfű állományok növekedése és fenológiai jellemzőinek értékelése

A bokorhabitust tekintve a *Th. pannonicus* érdemesebb a termesztésbe vonásra, mert megfelelőbb, felfelé növekvő hajtásai vannak, valamint nagyobb virágzat/növény aránnyal rendelkezik, mint a közönséges kakukkfű. A talajtakarás nem volt szignifikáns hatással a vizsgált kakukkfű utódsorok egyedeinek méretére és növekedési ütemére. Eredményeink alapján a termesztés során *50x40 cm-es sor- és tőtávolság javasolható* mindkét faj számára.

A 2011 márciusában magról vetett elsőéves *Th. pannonicus* és *Th. glabrescens* állományok későn, augusztus közepén virágoztak, míg a több éve fenntartott állományok már korábban (május-július) virágoztak. A fiatal utódsorokra jellemző volt a *másodvirágzás*, míg az idősebb, 5-

7 éves állományoknál ez nem volt megfigyelhető. A két faj *optimális betakarítási ideje* május végétől június közepéig tart, a teljes virágzás kezdeti szakaszára esik.

3.4.4. A felszaporított kakukkfű állományok beltartalmi jellemzőinek értékelése

Az illóolaj-tartalmat befolyásoló tényezők értékelése

Az azonos körülmények között, a Kísérleti Telepen *felszaporított állományokban kiegyenlítettebb és általában magasabb illóolaj-tartalom* volt detektálható, mint azonos évben a vadon termő populációknál. Mindkét faj esetében a *fiatalabb* kísérleti állományok több illóolajat termeltek, mint az azonos eredetű idősebb állományok. Szignifikáns különbség azonban nem volt kimutatható az azonos eredetű utódsorok illóolaj szintjei között, sem egy- és hatéves (2011), sem a két- és hétéves (2012) állományok összehasonlításakor.

A statisztikai értékelés szerint a felszaporított állományok drogjának illóolaj-tartalmát a *növények kora* (egy-, két-, illetve öt-, hat-, hétéves) nem, míg a *betakarítás ideje* (május vége vagy szeptember), illetve a *fenofázis* befolyásolta. Az első virágzás utáni időszakban, vegetatív állapotban történt vágásokból származó minták illóolaj-tartalom értékei - mindkét fajnál - szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyultak. Eredményeim szerint az első virágzáskor, a május-júliusban történő betakarításból származó hajtások illóolaja mind mennyiség, mind minőség szempontjából kedvezőbb, mint a későbbi szedésből származóké, mely kifejezetten jelentkezett a magas kakukkfűnél.

Eredményeim szerint a felszaporított közönséges kakukkfű (TGL) származékok legtöbbször *idősebb* (5-7 éves) korában már nem tudja teljesíteni a 0,300 ml/100g illóolaj-tartalomra vonatkozó gyógyszerkönyvi követelményt (Magyar Gyógyszerkönyv, 2004). A természetesen magas kakukkfű (TPA) állományok - a közönséges és a kerti kakukkfű származékokkal szemben (Pank & Krüger, 2003; Pluhár *et al.*, 2003) - azonban igen magas illóolaj-akkumulációra voltak képesek még hétéves korban is: az utódsorok átlagos illóolaj-tartalma mindig elérte vagy jelentősen meg is haladta (0,900 ml/100 g <) a *Serpylli herba*-ra vonatkozó fenti minimum értékét.

A *szaporítás mód* hatását értékelve megállapítottam, hogy a tóosztott vadkakukkfű utódsorok illóolaj-tartalma általában jóval elmaradt a magról szaporított - fiatalabb és idősebb - származékok illóolaj-tartalmától, igaz hogy ebben a vonatkozásban csak 1 év (2011) adatait értékeltük ki.

Az illóolaj-összetételt befolyásoló tényezők értékelése

A *kemotípusok stabilitása* a *Th. pannonicus* felszaporított utódsoraiban általában kimutatható volt a vágásidőtől (1 és 2 éves állományoknál vizsgálva) és az életkortól (1, 2, 5, 6, 7 évesek) függetlenül. E taxonok nagy részénél az illóolaj timol dominanciájának (30-60 %) bizonyult, mely alól kivételt az Ada-i (Vajdaság) és a Mónosbél-i, szintén stabil kemotípusú, geraniol és geraniol-acetát főkomponensű illóolajat termelő származékok képeztek.

A vadon termő eredetű, magról felszaporított egyéves TPA származékok megtartották az eredeti populációknál kimutatott illóolaj-összetételt, ill. igen hasonló illóolaj-spektrumot mutattak, mely a korábban felszaporított 5-7 éves származékokra is jellemző volt. Mindezek alapján igazoltnak tekinthető, hogy a magas kakukkfű alkalmas a termesztésbe vonásra, stabil és értékes kemotípusok jellemzik, melyek nemesítése és termesztésbe vonása perspektivikus. A közönséges kakukkfű származékok illóolajában többfajta komponens –elsősorban szeszkviterpének-betöltheti a domináns alkotó szerepét, mint a magas kakukkfűeknél, azaz a TGL-nek változatosabb, míg a TPA-nak homogénebb illóolaj-spektrumot tulajdoníthatunk.

A *vágásidő* hatását vizsgálva a felszaporított *Thymus pannonicus* állományok illóolaj-összetételére nézve igazoltam, hogy az első virágzáskor a timolt a γ -terpinén követte az illóolaj

komponensek dominancia sorrendjében, míg másodvirágzaskor a p-cimol. A TPA másodvirágzásakor az illóolajában megnőtt a timol-metiléter, karvakrol-metiléter és β -bizabolén aránya. A magas kakukkfűvel ellentétben a termesztett *Thymus glabrescens* utódsorok jelentős mértékben megváltoztatták illóolaj-komponenseik arányát másodvirágzásukkor.

Az összhidroxifahéjsav-származék tartalom értékelése

Mivel először alkalmaztam a *Melissae folium*-ra vonatkozó, általam adaptált vizsgálati módszert és mutattam ki a vizsgált kakukkfű származékok esetében az összhidroxifahéjsav-származékok mennyiségét (%), ezért a kapott adatok újnak tekinthetők a szakirodalomra nézve. Igazoltam, hogy a *termőhely* és a *genotípus* szignifikáns hatással van a hidroxifahéjsav-származékok akkumulációjára, de sem a vizsgált *fajok*, sem a *fenofázisok*, sem az *eltérő korú* növények között nem volt kimutatható lényeges különbség. A vizsgált állományok korától függetlenül a termesztett utódsorok hasonló vagy kissé magasabb akkumulációs szintet képviseltek, mint a vadon termő populációk. Az egyéves, termesztett állományok kiegyenlítettebb értékeket adtak (1,75-2,42 %), mint a többéves, vadon termő populációk mintái (0,89-2,35 %), melyet vélhetően az egységes, kevésbé extrém környezeti feltételek és a kompetíció hiánya okozott. Ellentétben az illóolaj-felhalmozódásnál kapott eredményekkel, a statisztikai analízis szerint a két fajban azonos mennyiségben halmozódnak fel a hidroxifahéjsav-származékok.

3.5. Összegzés és javaslatok

Eredményeink alapján gyűjteni és termesztésbe vonni is a magas kakukkfűvet (*Th. pannonicus*) érdemes felálló bokorhabitusa, nagyobb átlagos droghozama, magasabb virágzat/hajtás aránya, illóolaj-tartalma (ml/100 g), azon belül megfelelően magas timol aránya (%) és stabil illóolaj-összetétele (kemotípusa) miatt.

Az említett feltételeknek a több éve tesztelt *ceglédberceli* és *fenyőfői*, valamint az általam vizsgálatba vont *balatonarácsi*, *balatongyöröki*, *csákberényi*, *dorogi*, *tapolcai* és *visegrádi* eredetű magas kakukkfű genotípusok felelnek meg. Eredeti élőhelyeiket javasoljuk gyűjtőterületeknek a természetvédelemre vonatkozó szabályok betartása mellett.

Mindkét faj esetében jelentős *élőgyűjteményt* hoztunk létre a soroksári Gyógynövény Kísérleti Telepen. Származékaik maganyagát minden vizsgálati évben az ugyanitt megtalálható génbanki tárolóban rezerváltuk. A soroksári termőhely alkalmasnak bizonyult a vadkakukkfűvek termesztésbe vonására, a területre jellemző könnyű, jó vízáteresztő képességű homoktalajával, a napsütéses órák magas számával és az időszakos vízpótló öntözés biztosításával. A jövőben feladatként jelentkezik a kiválasztott, értékes genotípusok produktivitásának értékelése, valamint a termesztéstechnológia további elemeinek kidolgozása, illetve optimalizálása.

A korábbi szakirodalmak és vizsgálati eredményeim alapján a *Thymus pannonicus*-t és *Th. glabrescens*-t értékes genetikai erőforrásoknak és további kutatásra érdemesnek tartom.

4. Új tudományos eredmények

2010-2012 közötti kísérleti munkánk során elsőként végeztünk összehasonlító vizsgálatokat azonos helyen felszaporított, eltérő korú, szaporítású és származású *Thymus pannonicus* és *Th. glabrescens* állományok esetében.

1. A két faj illóolaj jellemzőire vonatkozó új tudományos eredmények:

- Nagyszámú új kemotípust találtam a 2010-2011-ben felvételezett vadon termő populációkat illetően.
- A vadontermő *Th. pannonicus* populációkból származó minták illóolajában a leggyakrabban megjelenő illóolaj-komponensek a timol, a p-cimol, a γ -terpinén, a linalool és a timol-metiléter voltak.
- Gyűjtési területek javasolhatóak a *Th. pannonicus*-ra vonatkozóan, mivel virágzó populációi megfelelő mennyiségű és minőségű (magas timol %) illóolajat akkumuláltak.
- A *Th. glabrescens* populációinak illóolaj jellemzői változékonynak és a gyűjtött drog illóolaja szeszkviterpénekben gazdagnak bizonyult.
- A talaj- és illóolaj-jellemzők közötti korrelációanalízis eredményei alapján igazoltam, hogy a vizsgált két faj illóolaj-tartalmára a talaj só-, nitrát-, Ca- és CaCO₃-tartalma volt a legnagyobb hatással.
- A felszaporított állományok illóolaj-tartalma kiegyenlítettnek és magasabbnak bizonyult, mint a természetes populációké.
- Elsőként igazoltam, hogy azonos termőhelyen felszaporítva az életkornak nincs szignifikáns hatása az azonos eredetű *Thymus pannonicus* és *Th. glabrescens* származékok illóolaj-tartalmára és – összetételére.
- Megállapítottam, hogy a genotípus, a fenofázis, a vágási idő és a talajtakarás egyaránt befolyásolják a vizsgált *Thymus* fajok illóolaj-tartalmát és – összetételét.
- A *Th. pannonicus* esetében igazoltam, hogy az első vágáskor betakarított minták magasabb illóolaj-tartalommal és timol %-kal jellemezhetők, mint a másodvirágzáskor vágott minták.
- A *Th. pannonicus* utódsorok esetében kimutattam, hogy illóolajuk jellemzői megfeleltek a VIII. Magyar Gyógyszerkönyv (2004) követelményeinek, valamint stabilnak bizonyultak minden körülmények és feltételek között.

2. Új tudományos eredmények a vizsgált fajok hidroxifahéjsav-származék felhalmozását illetően:

- Elsőként végeztem összhidroxifahéjsav-tartalom méréseket a két fajra vonatkozóan.
- A *Th. pannonicus* és a *Th. glabrescens* vad populációiból és termesztett állományjaiból származó minták közel azonos mennyiségű összhidroxifahéjsav-származék % értékeket mutattak.
- Eredményeim szerint a termőhely és az genotípus jelentős hatással vannak a két faj hidroxifahéjsav-származékainak felhalmozódására.
- Igazoltam, hogy e beltartalmi paraméter akkumulációjára nincs hatással sem a növények életkora, sem azok fenofázisa.

3. A két vizsgált kakukkfű faj vetőmagjának csíráztatásával kapcsolatos új eredmények:

- Megállapítottam, hogy magjaik (makkocskák résztermései) fényen és sötétben is csírázóképesek, azaz fényközömbösek.
- Igazoltam, hogy csíráztatásukhoz a 20/30 °C váltakozó hőmérséklet (16/8 óra sötét- és fényperiódus mellett) javasolható, valamint a magok +4 °C-on történő hűtőtárolása.

- Az általam alkalmazott csírázáskeresőt célzó előkezelések -250 ppm GA₃-, az 1%-os KNO₃-, és a 10, ill. 20%-os PEG₄₀₀ - oldatok nem emelték a csírázási százalékot.
- Kimutattam, hogy a két faj magjai közel azonos mértékben csíráznak, azonban az eredmények erősen származékfüggők.

4. A termesztésbe vonással kapcsolatos kísérletek új eredményei:

- Elsőként végeztem tőosztási kísérletet a vizsgált vadkakukkfű fajokat illetően.
- A 0,4 % β-IVS gyökereztető hormon, illetve a május közepi tőosztás és a szeptemberi kiültetési időpont alkalmazásával alacsony eredési arányokat értünk el, azonban eredményeink jó kiindulási alapot adnak a további vizsgálatokhoz.
- Elsőként végeztem talajtakarás vizsgálatokat vadkakukkfű fajokra vonatkozóan.
- Megállapítottam, hogy a talajtakarás a *Th. glabrescens* drogjának illóolaj-tartalmát növelte, illetve mindkét vizsgált faj állományainál csökkentette az ápolási munkáigényt, elősegítette a betakarítást és növelte a drogok tisztaságát.
- A két faj termesztéséhez a megfelelő sor-és tőtávolságnak az 50x40 cm ajánlható.

Irodalmi hivatkozások

1. Boros B., Jakabová S., Dörnyei Á., Horváth G., Pluhár Zs., Kilár F., Felinger A. (2010): Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*, 1217(51): 7972-7980.
2. Csupor D. (2003): Fitoterápia a házi orvoslásban, megfázásos betegségek fitoterápiája. *Praxis*, 2: 40-45.
3. Driemeier-Kreimeier R., Barros I. B. I. (2006): Rooting process in different species of thyme (*Thymus spp*). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 8: 59-61.
4. Fodor T. (1991): A citromillatú kakukkfű szaporítása és szelekciója. Diplomamunka.
5. Gyöngyösi R., Pluhár Zs., Sárosi Sz., Rajhárt P. (2008): A kerti kakukkfű (*Thymus vulgaris* L.) dugványozási technológiájának fejlesztése. *Kertgazdaság*, 40 (3): 66-75.
6. Király G. (2009): Új Magyar Fűvészkönyv, Magyarország hajtásos növényei. Aggteleki Nemzeti Park Igazgatóság, Jósvafő. pp. 356-357, 383.
7. Magyar Gyógyszerkönyv (2004): *Pharmacopoeia Hungarica* Ed. VIII. Medicina Kiadó, Budapest, p. 2359-2360.
8. Maksimović Z., Milenković M., Vučićević D., Ristić M. (2008b): Chemical composition and antimicrobial activity of *Thymus pannonicus*, All. (*Lamiaceae*) essential oil. *Central European Journal of Biology*, 3 (2): 149-154.
9. Maksimović Z., Stojanovic D, Sostaric I., Dajic Z., Ristic M. (2008a): Composition and radical-scavenging activity of *Thymus glabrescens*, Willd. (*Lamiaceae*) essential oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88 (11): 2036-2041.
10. Mártonfi P., Grejtovksy A., Repcák M. (1996): Soil chemistry of *Thymus* species stands in Carpathians and Pannonia. *Thaiszia, J. Bot. Kosice*, 6: 39-48.
11. Palevitch D. (1988): Agronomy applied to medicinal plant conservation. In: Akerele O., Heywood V., Syngé H. (editors): *The conservation of medicinal plants*. Cambridge University Press. Cambridge.
12. Pank F. & Krüger H. (2003): Sources of variability of thyme populations (*Thymus vulgaris* L.) and conclusions for breeding. *Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen*, 8 (3): 117-124.
13. Pluhár Zs., Dienes E., Héthelyi É. (2003): A környezeti hatások szerepe a kerti kakukkfű (*Thymus vulgaris* L.) fenotípusának alakulásában. Lippay János-Ormos Imre-Vas Károly Tudományos Ülésszak, Budapest, 2003. november 6-7. Összefoglalók, p. 288.
14. Pluhár Zs., Simkó H., Sárosi Sz. (2011): Őshonos kakukkfű (*Thymus spp.*) populációk termőhelyein előforduló talajok értékelése. 12. Magyar Magnézium Szimpózium. Budapest. Összefoglalók, pp. 33-34.
15. Radonic A. & Mastelic J. (2008): Essential oil and glycosidically bound volatiles of *Thymus pulegioides* L. growing wild in Croatia. *Croatia Chemica Acta*, 81 (4): 599-606.

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó publikációk

IF-es folyóiratcikk:

Pluhár Zs., Kocsis M., Kuczmog A., Csete S., Simkó H., Sárosi Sz., Molnár P., Horváth Gy. (2012): Essential oil composition and preliminary molecular study of four Hungarian *Thymus* species. *Acta Biologica Hungarica*. 63 (1): 81-96. **IF₂₀₁₂: 0,504**

Nem IF-es folyóiratcikkek:

Simkó H., Csontos P., Vas I. E., Jászberényi Cs., Pluhár Zs. (2012): Hazai *Thymus glabrescens* Willd. és *Thymus pannonicus* All. magtétélek csírázókéességének vizsgálata. *Kertgazdaság*, 14 (3): 52-59.

Simkó H., Sárosi Sz., Reményi M. L., Csontos P., Cservenka J., Pluhár Zs. (2012): Adatok magyarországi *Thymus* fajok előfordulásához és morfológiai jellemzéséhez. *Tájökológiai Lapok*, 10 (2): 219-230.

Simkó H., Sárosi Sz., Ladányi M., Marton B., Radácsi P., Csontos P., Pluhár Zs. (2013): Studies on occurrence, essential oil data and habitat conditions of Hungarian *Thymus pannonicus* and *Thymus glabrescens*. *Medicinal and Aromatic Plants*. 2(1) Open access, No. 1000119.

Magyar nyelvű konferencia kiadványok (magyar nyelvű összefoglaló):

Pluhár Zs., Simkó H., Sárosi Sz. (2011): Óshonos kakukkfű (*Thymus* spp.) populációk termőhelyein előforduló talajok értékelése. 12. Magyar Magnézium Szimpózium. Budapest. Összefoglalók, p. 33-34.

Magyar nyelvű konferencia kiadványok (Full paper):

Simkó H., Vas I. E., Marton B., Pluhár Zs. (2011): Kakukkfű (*Thymus* spp.) fajok csírázásbiológiai vizsgálata. *Erdei Ferenc VI. Tudományos Konferencia*. 2011. augusztus 25-26. Kecskemét, III. kötet, p. 472-476.

Nemzetközi konferencia kiadványok (Abstract):

Pluhár Zs., Sárosi Sz., Simkó H. (2010): Evaluation of the essential oil polymorphism and chemotype stability in Hungarian *Thymus* populations of different origin. 2nd International Conference on Horticulture Post-Graduate Study, Lednice, Czech Republic, August 30-31, 2010, Book of Abstracts, p. 14.

Simkó H., Sárosi Sz., Marton B., Pluhár Zs. (2011): Studies on occurrence, habitat conditions and essential oil properties of two Hungarian *Thymus* species. Hungarian-Chinese Conference, Corvinus University of Budapest, November 10-11, 2011, Book of Abstracts

Pluhár, Zs., Simkó, H., Marton, B., Sárosi, Sz.(2012): Significant sesquiterpene compounds identified in the essential oils of *Thymus* species. 7th CMAPSEEC: Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, Subotica, Serbia, May 27-31, 2012, Book of Abstracts, p. 34. (ISBN 978-86-83141-15-9)

Pluhár Zs., Simkó H., Sárosi Sz., Boros B., Dörnyei Á., Felinger A., Horváth Gy. (2012): Determination of essential oil and polyphenolic compounds in *Thymus* species. 2nd Symposium on Horticulture in Europe, Angers, France, July 2-5, 2012, Book of Abstracts, p. 237.