



ORSZÁGOS TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI KONFERENCIA

2023. április 4-6.

**Természetes táptalaj-adalékok hatása *in vitro*
orchidea szaporításban**

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

Készítette: **Gaál Botond**
QUOK8D
Kertészmérnöki alapképzési szak
Nappali tagozat
Budai Campus

Témavezető: **Tillyné Dr. Mándy Andrea egyetemi docens** Budai
Campus, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet,
Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék

Agrártudományi szekció

Budapest
2022. 12. 29.

Tartalom jegyzék

1.) Bevezetés.....	5
2.) Irodalmi áttekintés.....	6
2.1 A trópusi orchideák szaporodásbiológiája	6
2.1.1 Pollenizáció	6
2.1.2 Magfejlesztés és csírázás.....	7
2.2 A generatív szaporítás	8
2.2.1 A generatív szaporítás fontossága	8
2.3 <i>In vitro</i> szaporítás	9
2.3.1 Táptalajok összetétele és változatai	10
2.4. Természetes táptalajadalekok	11
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	16
2.4.4. Termés kivonatok	17
2.4.5. Élesztő kivonat	18
2.4.6. A méz használata, mint alternatív szénhidrát-forrás <i>in vitro</i> szaporításban	19
2.4.7. Természetes adalekok összehasonlítása <i>in vitro</i> szaporításban	21
2.5. Prolin	23
2.6. Klorofill és karotin	25
2.7. <i>Dendrobium antennatum</i>	25
3.) Anyag és módszer.....	27
3.1. Alacsonyabb mézkoncentráció (I. kísérlet)	27
3.2. Magasabb mézkoncentráció (II. kísérlet)	28
3.3. Körülmények	28
3.4. Mérési módszerek	28
3.5. A prolin mérési módszere	29
3.6. A pigment-tartalom meghatározása levélmintából	30
3.7. Az adatok értékelésének módszere	30
4.) Eredmények.....	31
4.1. Az alacsonyabb mézkoncentrációk hatása a növénytömegre	31
4.2. Az alacsonyabb mézkoncentrációk hatása a növény-magasságra	32
4.3. A növények gyökérfejlődése különböző méz-koncentrációjú táptalajokon.....	34
4.4. Az alacsonyabb mézkoncentráció sarjhozatalra gyakorolt hatása	35
4.5. Magasabb mézkoncentráció használatának eredményei	36
4.6. A táptalajok hatása a prolin-tartalomra.....	37
4.7. A mézkoncentrációk hatása a pigment-tartalomra	37
5.) Következtetések	38
6.) Összefoglalás	39
7.) Irodalomjegyzék	41
8.) Köszönetnyilvánítás	48

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).....	19
7. táblázat. Mézkoncentrációk hatása az <i>Encyclia cordigera</i> fejlődésére (Mantovani és Pivetta 2016).....	21
8. táblázat <i>Dendrobium officinale</i> in vitro szaporítása különböző termesztése adalékokkal (Chen et al. 2014).....	22
9. táblázat <i>Vanda helvola</i> csírázása természetes adalékokat tartalmazó táptalajokon (David et al. 2015).....	23
10. táblázat A különböző kezelések méz és cukor tartalma.....	27
11. táblázat Az alacsonyabb mézkoncentráció kezelésenkénti átlag értékei.....	31
12. táblázat Kezelésenkénti átlag prolin mennyiség.....	37
13. táblázat Kezelésenkénti átlag karotin és klorofill tartalom.....	37
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.....	17
4.ábra <i>Dendrobium antennatum</i>	26
5. ábra Highland HCB602M típusú laboratóriumi mérleg.....	29
6. ábra <i>Dendrobium antennatum</i> átlag tömeg értékek és a statisztikai értékelés eredményei.....	32
7. ábra <i>Dendrobium antennatum</i> átlag hossz értékek és a statisztikai értékelés eredménye.....	33
8. ábra A kezelésenkénti hossz mérés mm papíron.....	33-34

9. ábra <i>Dendrobium antennatum</i> gyökérnövekedés értéke és a statisztikai elemzés eredménye.....	35
10. ábra Fokozott sarj növekedés az M ^{1/2} táptalajon.....	36
11. ábra A magasabb mézkoncentráció eredményei.....	37

1. Bevezetés

A kutatási témám a trópusi orchideák generatív szaporítása. Már több mint 8 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* 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 alkalmazkodási 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). A hat darab szíromlevél közel sem egyforma formát mutat a legtöbb orchideánál. Ezek közül kiemelnék 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). 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 a rovarok általi beporzás a mérvadó. Egyes fajoknál megfigyelhetünk *autogámiát* vagy részleges önbeporzást, de ez egy evolúciós zsákutca, hiszen a genetikai variabilitás folyamatos csökkenését jelenti (Benzing 2012). 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). Százalékos megoszlásban 86%-ban rovarmegporzásról beszélhetünk (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.)

	Virág jellemző				
Beporzó	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

2.1.2. Magfejlesztés és csírázás

A beporzás következtében, amint a *pollinarium* sikeresen megérkezett a bibéhez, megkezdődik a termés fejlődés folyamata (Chase et al. 2017). 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 év is lehet. A zöld termés az éréssel párhuzamosan növekszik, majd a sárgulás bekövetkeztével leszedhetőek (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

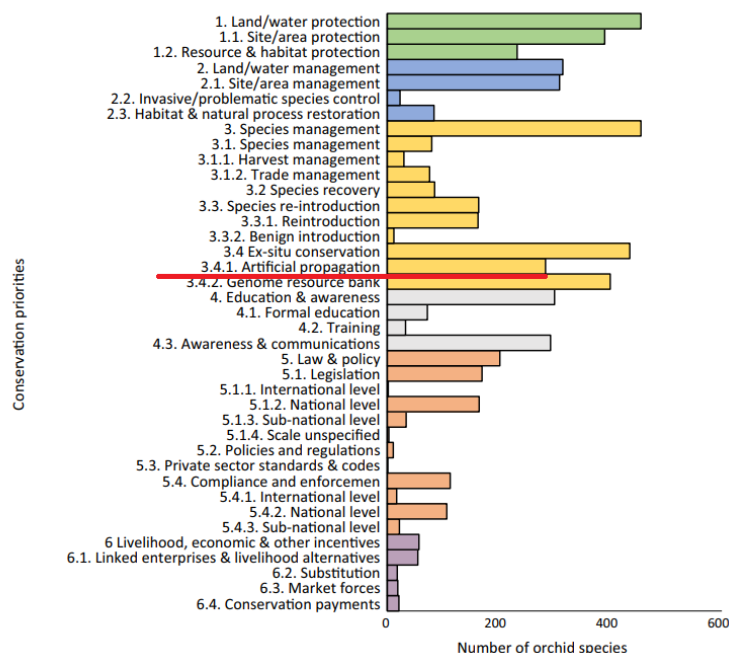
endomikorrhiza mutualista kapcsolat a legtöbb taxonnál megszakadhat a növény kifejtett korában, ugyanakkor vannak olyan parazita fajok (pl.: *Neottia nidus-avis*), melyek egész életük alatt igénylik a kapcsolatot (Makara 1980).

2.2. A generatív szaporítás

Mint minden szövetes növény (*Tracheophyta*), így az orchideák is kétféle módon szaporíthatóak: generatív és vegetatív szaporítási módokat ismerünk. A reproduktív szaporítási mód sajátossága, hogy nagyszámú, genetikailag diverz utódok jönnek létre, míg az ivartalan szaporítás során genetikailag azonos 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 köszönhetjük, hiszen a természetben begyűjtött fajok és a gyökereikhez tapadt közeg tartalmazta a csírázáshoz szükséges gombákat. Amennyiben a termesztők sikeresen megtermékenyítették a fajokat, a magvakat az anyanövény cserepébe kiszórva néhány egyed sikeresen csírázott (Makara 1980.)

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 csökkenéséhez (Wraith et. al. 2020). A számos példa közül kiemelném a *Paphiopedilum rothschildianum*-ot, amely a fokozott gyűjtés következtében a természetes élőhelyén kihaltnak 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 kereskedelembé hozatalára.



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

A fajok védelmére rengeteg lehetőséget ismerünk, ugyanakkor felmérések szerint az adott terület védelmét tartják a legfontosabbnak, 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 Pendert 2014).

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 szaporítás 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 asszimbiotikus (gombakapcsolat nélküli) csíráztatás is kivitelezhető (Jámborné Benczúr és Dobránszki 2005). A történelem során ez a technika egy magyar

kutatónő, 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 asszimbiotikus magvetést végzik túlnyomó többségben (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).

A magokból hiányzik az endospermium, de az embrió sejtjeiben vannak tárolt tápanyagok, főleg fehérjék és lipidek, időnként egyszerű oldható cukrok, amelyek segítségével elindulhat a sejtosztódás. Az előbb említett források hamar kifogynak, emiatt asszimbiotikus csíráztatás esetében szénhidrát forrás hozzáadása szükséges (Szendrák 1997). Ennek ellenére az *Orchis morio* cukor nélküli táptalajon is ki tudott csírázni, viszont amely szénhidrátot is tartalmazott, annál nagyobb csírázási százalék volt kimutatható. *Platanthera bifolia* esetében csak a cukrot tartalmazó táptalajon volt sikeres a csírázás (R. Eszéki 2012). Az orchidea magoncok kezdetben

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

MAKROELEMEK	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
MIKROELEMEK	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

heterotrófok, később a fotoszintézis beindulásával lépésről lépésre autotrófokká válnak, de néha még ebben az életsiklusban 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)

Vitaminok	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* 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)

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). 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). A természetes 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).

2.4.1.A kókuszvíz használata *in vitro* szaporításban

A kókuszdió, *Cocos nucifera* 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; *mezokarpium*, *endokarpium*, és az *endospermium*. A mezokarpiumot többek között termesztőközegek készítésére használják. Az edocarpiumból kiváló minőségű aktívszén 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 természetes terméknek tekinthető. Üdítőként is fogyasztják, mivel tápláló, és előnyös hatással 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 szövettényezetekben, akik megállapították, hogy a benne lévő összetevők hozzájárultak a *Datura stramonium* 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* fajra már 15%-os töménységben is pozitív hatással volt. MS táptalajhoz 5% kókuszvizet adva szomatikus embriogenezist értek el gombakalluszból (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* termésének folyékony endospermiumában, amely segítségével gyors sejtburjánzást érhetünk el *in vitro* körülmények között. A citokininben belül a három legnagyobb mennyiségben elfordulók: trans-zeatin riboside, trans-zeatin O-glucoside, dihydrozeatin O-glucoside. Továbbá, a kókuszvíz tartalmaz auxinokat (IAA), gibberellineket (GA1; GA2) és abszcizinsavat is (ABA) (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* 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* esetében, mint 5% vagy 20% hozzáadásával. A ½ MS táptalajhoz hozzáadott kókuszvíz fokozta a hajtások megnyúlását, de a gyökérindukciót nem segítette elő *Hylocereus polyrhizus* 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 természetesen 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 igen nagy különbségek lehetnek az érett és éretlen kókuszdió vizének kémiai összetételében. Az 5. táblázat tartalmazza az kókuszdió vizében 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 megtalálhatóak: 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).

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

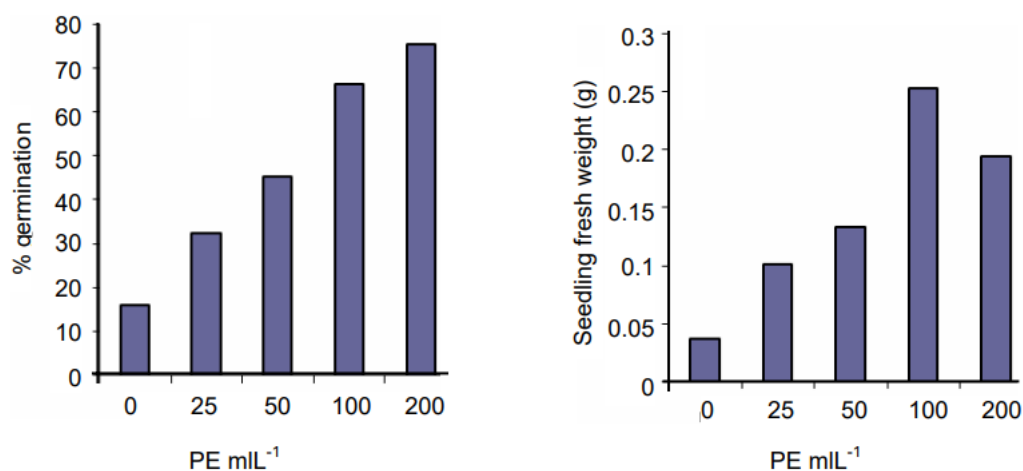
2.4.2 A *Solanum tuberosum* gumójának használata a mikroszaporításban

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 tartalmát, 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 aszkorbinsav (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* 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 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 roxburgii* 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 roxburgii* 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 kidobásra 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* gumójának használata a mikroszaporításban

A csicsóka (*Helianthus tuberosus*) Észak-Amerikai származású növény. A 17. századtól Európában is termesztik. Ma már számos országban igen bevált kultúrnövény, hiszen rendkívüli az alkalmazkodóképessége a környezeti tényezőkhez, 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.)

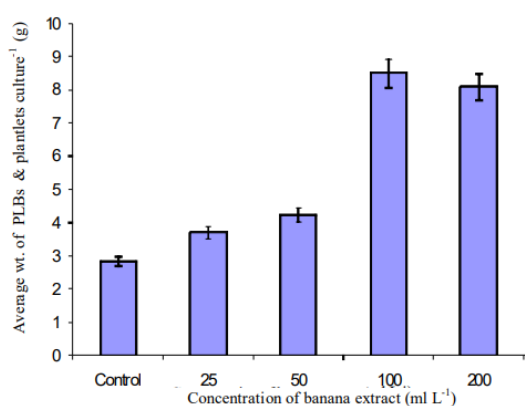
R. Eszéki (2012) egyik kísérletében bemutatta, hogy a különböző mennyiségű csicsóka homogenizátum milyen hatással van a *Paphiopedilum sukhakulii* csírázására és magoncnevelésére. Az alábbi koncentrációkban használta: 25 mL⁻¹; 50 mL⁻¹; 100 mL⁻¹; 200 mL⁻¹. A kontroll táptalajjal (csicsóka nélküli, ½ MS) 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 növény 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 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 kedvezően hatott a növények fejlődésére. 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 terméskivonatokat. 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* fajoknál is megemlíti (Vyas et al. 2009).



3. ábra A banánkivonat eredményei Islam et al. 2015

Islam és munkatársai (2015) kísérlete alapján is sikeresnek mondható a banán kivonat használata orchidea protokormok nevelésében. $\frac{1}{2}$ MS táptalajhoz 0.0; 25; 50; 100 és 200 mlL⁻¹ koncentrációban keverték banán kivonatot. 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 banán kivonatot

összehasonlítva, az értékek többszörös növekedést mutattak a banán tartalmú táptalajokon (3. ábra) (Islam et al. 2015).

Vyas és munkatársai (2008) eredményei azt mutatják, hogy a banán kivonat elősegíti a *Dendrobium lituiflorum* 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* magvakat.

Bár már nem használják gyakran, úgy tűnik, hogy a malátakivonat különleges szerepet játszik a *Citrus* taxonok *in vitro* szaporításában. A malátakivonat nagy mennyiségben tartalmaz szénhidrátokat. Továbbá, beindítja az embriogenezist a sejtmagi explantátumokban. A malátakivonat 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 kivonat 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 kivonaton csíráztatták a *Phalaenopsis amabilis* magjait, amelyek ezen idő alatt protokormokká fejlődtek. Ezen protokormokba egy transzgén segítségével kanamicin-rezisztencia gént transzformáltak. A génmódosított protokormok a paradicsomkivonatot tartalmazó táptalajon tenyészttek 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 maláta kivonatban 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 élesztőhasználatban kapcsolatban több eltérő hatásról tesznek említést különböző növénykultúrák esetében. Jawan és munkatársai (2007) KC (Knudson, 1946), $\frac{1}{2}$ MS (Murashige & Skoog, 1962), VW (Vacin & Went, 1945) táptalajokat egészítettek ki természetes adalékokkal (kókuszvíz, paradicsom kivonat, banán kivonat, élesztő kivonat, pepton), melyeken a *Vanda dearei* protokormok növekedését és fejlődését figyelték meg. A hajtás-, levél- és gyökernövekedés alapján az élesztőkivonatot tartalmazó táptalaj bizonyult a legjobbnak (Jawan et al. 2007). David és munkatársai (2015) a *Vanda helvola* 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 in vitro* szaporított biomasszájára és a hajtásnövekedésre. A magoncok azonban morfológiai rendellenességeket mutattak, amikor nagyobb mennyiségben használták az élesztő kivonatot (3,5 mgL⁻¹ és ennél magasabb). Ellenben a magasabb koncentrációjú (3,5 és 5,0 mgL⁻¹) élesztő kivonat használatakor intenzívebb gyökernövekedést figyeltek meg.

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

A méz összetett keverék, összetételében és jellemzőiben földrajzi és botanikai eredete miatt igen eltérő. A fő jellemzőit 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,

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

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 tartalmaznak: fruktózt (41%), glükózt (34%) és szacharózt (1-2%) (Cummings 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 számolnak be a méz használatával kapcsolatban *in vitro* szaporításban. Különböző mézkoncentrációban hasonlították össze az *Encyclia cordigera* fejlődését. Kontrollnak egy szacharóz alapú és egy szénhidrát-mentes táptalajt használtak. A faj magjait először 90 napig $\frac{1}{2}$ MS táptalajon csíráztatták, majd áttűzdelték 15 gL^{-1} , 30 gL^{-1} , 40 gL^{-1} vagy 60 gL^{-1} koncentrációjú mézet tartalmazó $\frac{1}{2}$ MS táptalajra. A kontrollt 30 gL^{-1} szacharózzal egészítették ki (7. táblázat). A hatodik féle táptalaj nem tartalmazott cukorforrást. Ezeken 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 *Encyclia cordigera* fejlődésére (Mantovani és Pivetta 2016)

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 *Encyplea 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* 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) ártalmas a magoncokra (Fatonah és Isda 2018).

Płazek és Dubert (2010) a *Miscanthus × giganteus* szövettenyésztése során fellépő barnulást okozó fenolok oxidációjának kiküszöbölése végett különböző természetes táptalaj-adalékokat használtak. Az eredményeik értelmében, a mézzel kiegészített táptalajon kisebb volt a barnulás. Megfigyelték, hogy a banánkivonatot és mézet tartalmazó táptalaj kallusz-indukcióhoz vezet. Továbbá, ezekből a kalluszokból regenerálódott a legtöbb hajtás (Płazek 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 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* esetében a szacharóz és a méz együttes hatása bizonyult a legjobbnak 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 módosíthat 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* szaporítása során összehasonlítottak különböző növényi kivonatokat. A kísérlet során 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 természetes adalékokkal (Chen et al. 2014)

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* magjainak csírázására és a csíranövényre gyakorolt hatásait figyelték meg különböző koncentrációjú KC (Knudson, 1946) alapközegben. A paradicsomlén 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 peptonot 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 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)

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

Nugroho és munkatársai (2019) a tanulmányukban összetett táptalajokon figyelték meg a *Dendrobium antennatum* 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 1 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 in vitro* szaporításában. A *Laelia purpurata* és az *Encyclia randii* esetében is a banánkivonat hasznosabbnak mutatkozott a peptonhoz és az aktívszénhez 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. aszály hatására, magas talaj sótartalom növekedésére, az optimálisnál hidegebb hőmérséklet esetén, bizonyos

kórokozók hatására (Ábrahám et al. 2010). A stressz során fontos ozmolitként 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 nagy számú 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 klorofillok, a karotinoidok, a flavonoidok és a betalainok mellett a növényekben termelt négy fő biológiai pigmentek egyike. A klorofillok a növényi fotoszintézisért felelős elsődleges pigmentek (Chen 2015). A kloroplasztiszok a növények intracelluláris organelumai, 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 nagyobb mennyiségben van jelen a növényekben, mint a klorofill-b (Datt 1998).

A növények karotinoid pigmentjei nélkülözhetetlen funkciókat töltenek be a fotoszintézisben. A kloroplasztiszokban másodlagos anyagcseretermékként 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. *Dendrobium antennatum*

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* sp. 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* 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. Közepes termetű, mérsékeltévi faj. Felálló, hengeres, nádszerű szár jellemzi, keskeny hosszúka

s 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). 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 Mátyás 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).

3. Anyag és módszer

A kísérleti növények (magoncok) az ELTE Füvészkertből, Dr. 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 $\frac{1}{2}$ MS táptalajon érkeztek. 2022. februárban új tápközegre tűzdeltem a magoncokat. A táptalaj összetételén nem változtattam. Ebben az esetben is csak mikro- és makroelemeket tartalmazó $\frac{1}{2}$ 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.

3.1 Alacsonyabb mézkoncentráció (I. kísérlet)

A *Dendrobium antennatum* továbbnevelési kísérletét a mézzel kiegészített táptalajon 2022. június elején kezdtem meg. 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 növények tovább neveléséhez $\frac{1}{2}$ MS táptalajt használtunk. A kontroll (K0) teljesen méz

10. táblázat A különböző kezelések méz és cukor tartalma

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

nélküli volt. Az M $\frac{1}{2}$ jelölésű táptalajt 10 g L⁻¹ cukorral (szacharózzal) és 15 g L⁻¹ mézzel egészítettük ki. Az M1 tápközegből már teljesen kihagytuk a cukrot és csak mézet adtunk hozzá 30 g L⁻¹ mennyiségben szénhidrátforrásként. Az M2 jelölésű táptalaj szénhidrátforrása is csak a méz volt 60 g L⁻¹ mennyiségben (10. 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 (II. kísérlet)

A 11. ábra és az adatok is jól szemléltetik, hogy az M2-es kezelésben egy kivétellel 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 következő három kezelés a következőket tartalmazta: M2b: 60 gL^{-1} , M3: 90 gL^{-1} és M4: 120 gL^{-1} . Ebben a kísérletben is ugyanazt a hársmézet kevertem az alap $\frac{1}{2}$ 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 bevitt jelentett, ami az ionantagonizmus révén kedvezőtlenül hathatott a növények fejlődésre, de szükségesnek véltem, hiszen 5 alatti pH szinten is vontatott a fejlődés.

3.3. 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 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 nyár folyamán megfigyeltük a növények fejlődését és a felmerülő problémákat. A kísérleti idő alatt nem tapasztaltam befertőződést és fenolosodást sem. A növények szeptember első hetében kerültek ki a lombikból ekkor végeztem el az adatok felvételezését.

3.4 Mérési módszerek



5. ábra Highland HCB602M típusú laboratóriumi mérleg

Az eredmények értékelése során megfigyeltem a növények nagyságát, tömegét, és a gyökerek fejlettségi állapotát. Továbbá, a prolintartalom mérésével próbáltunk képet kapni a növényt ért esetleges stresszhatásról is, amit a táptalaj váltott ki. A növények magasságát milliméterpapírral mértem, a gyökérnyaki résztől a legnagyobb levél csúcsáig. A tömeg mérése során Highland HCB602M típusú laboratóriumi mérleget használtam (5. ábra). A mérleg a tömeget grammban, 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 oldalhajtsást is hozott, ami tömegben felülmúlta azokat

a növényeket, amelyek az oldalhajtsók 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.

3.5. 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 prolintartalmával. 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 μ L/mg 3%-os szulfoszalicilsavval. Az így előállított homogenizátumot szobahőmérsékleten, 5 percre, 14 ezer rpm fordulatszámon centrifugáltuk. A reakcióelegy elkészítéséhez az alábbiakra volt szükség: 100 μ L 3 százalékos szulfoszalicilsav; 200 μ L koncentrált ecetsav; 200 μ L savas ninhidrid és 100 μ L 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 kémcsövenként 1,5 ml toluollal kioldottam az oldatból a színanyagot. Az elegyet a jobb keveredés érdekében 20 másodpercig

vortexeltük. Az így kapott felülúszót szűkített üveg küvettában, 520 nm-en spektrofotométerrel megmértem.

3.6. 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 acetonban homogenizáltuk, majd 5 ml végtérfogatra kiegészítettük. Az oldatokat szobahőmérsékleten, 5 percig 14 ezer rpm centrifugáltuk, majd a felülúszó fényelnyelését megértük 480 nm, 644 nm és 663 nm hullámhosszon. A fényelnyelésből a következő képlet segítségével kiszámoltuk a minták összes klorofill- és karotin-tartalmát.

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

3.7. 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 értékeket 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 elevenebb habitust mutat, míg az M2-es táptalajon lévő növények egy részénél vovtatott fejlődés figyelhető meg. Ahogy fentebb is említettem, minden

11. 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

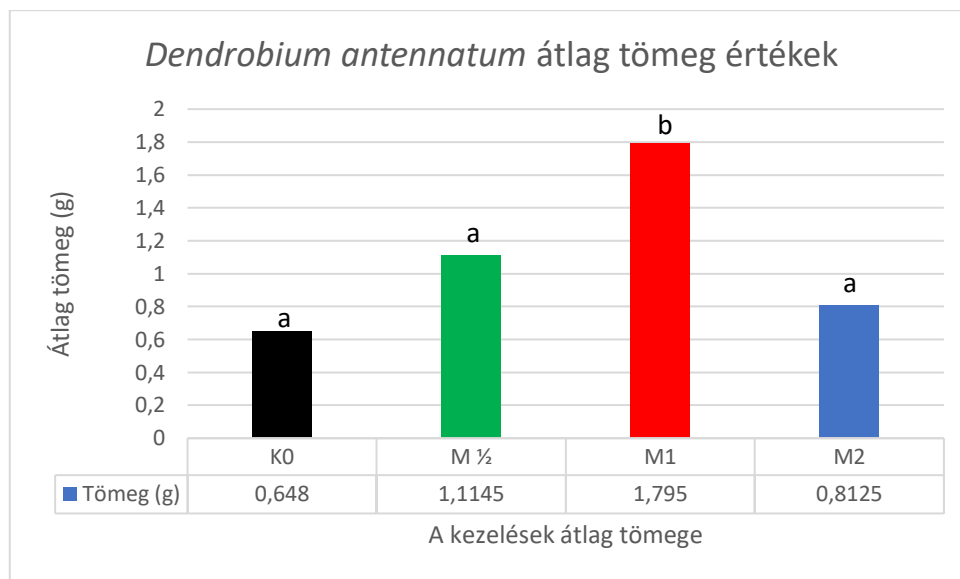
lombikba négy magoncot helyeztem el, ugyanakkor megfigyelhető volt, hogy valamennyi lombikban teljesen összenőtt a növényállomány és a gyökérzet. Ebben az esetben, ahol ilyen nagy volt a növekedési ráta, négy részre osztottam a növényállományt lombikonként és így

végeztem el az alábbi méréseket. Az 11. táblázat adatsorai a lombikonkénti átlag értékeket mutatják.

4.1. Az alacsonyabb mézkoncentrációk hatása a növénytömegre

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 (6. 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 van. Ezen a táptalajon a növények összes átlag tömege: 1,11 gramm volt. Ez egy igazán érdekes megfigyelés, 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. Az

érték azért is ilyen alacsony, mivel nem minden magonc maradt életben ezen a táptalajon. Az esetek nagyobb részében egy vontatott fejlődés volt megfigyelhető.

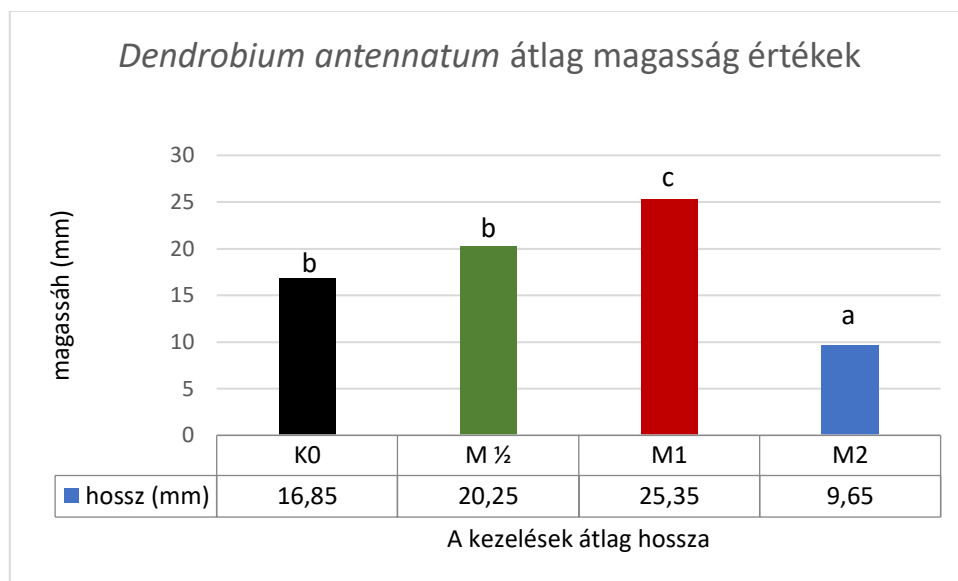


6. ábra *Dendrobium antennatum* átlag tömeg értékek és a statisztikai értékelés eredményei

4.2. Az alacsonyabb mézkoncentrációk hatása a növény-magasságra

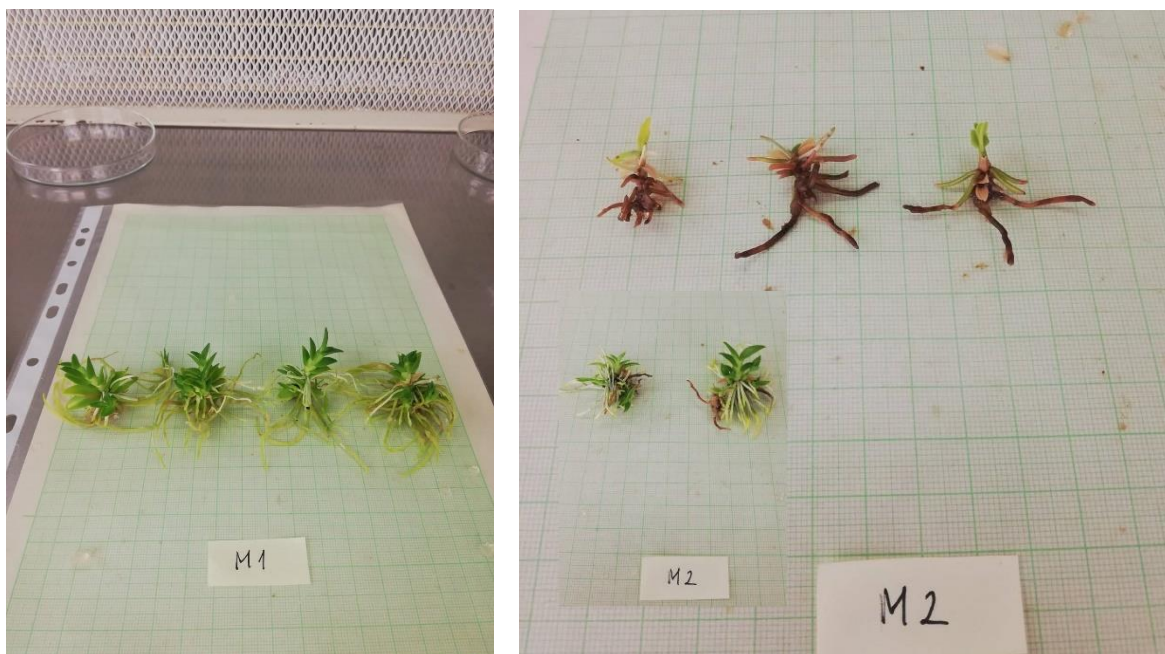
A növények magassága önmagában nem minden esetben adhat reprezentatív mintát ebben az esetben. Fontos figyelembe vennünk a növények tömegét is, hiszen több magonc esetében előfordult, hogy több oldalhajtást hozva nem növekedett kimagaslóan, ilyen esetben egy nagyobb tömegű alacsonyabb növénycsoportot 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, M½ és a M2 táptalaj közt is különbséget tett. A legjobb értékeket ebben az esetben is az M1 táptalaj mutatta (7. 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 M½ 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-ás táptalajhoz képest a kisebb mennyiségben alkalmazott méz hatékonyan működött, de 30 gL⁻¹ felett az érték csökkent. A kezelésenkénti mintákat a 8. ábrák mutatják.



7. ábra *Dendrobium antennatum* átlag hossz értékek és a statisztikai értékelés eredménye

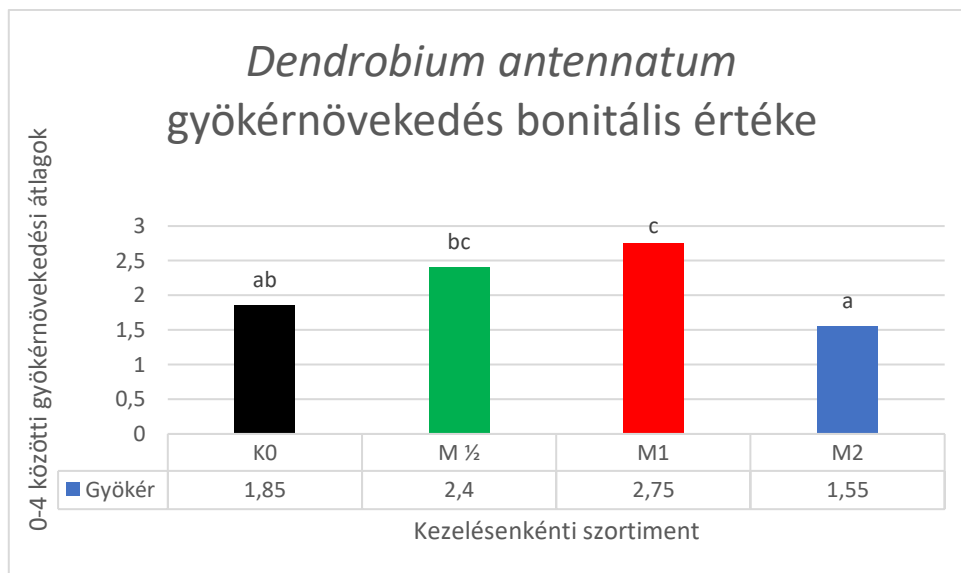




8. ábra A kezelésenkénti hossz mérés mm papíron

4.3. A növények 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 (9. 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.



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

4.4. Az alacsonyabb mézkoncentráció sarjhozatalra gyakorolt hatása

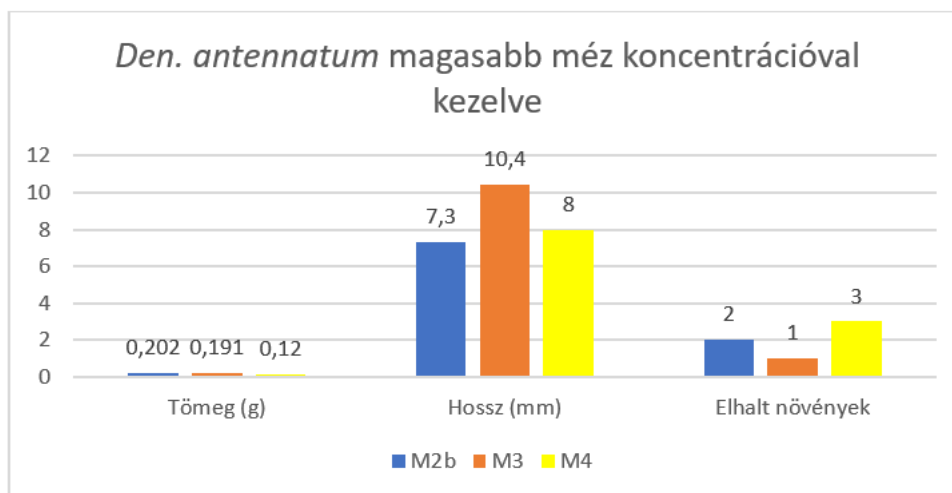
Szemrevételezés alapján megfigyeltem egy fokozott sarjhozatalt az M1 és M $\frac{1}{2}$ táptalajon (10. ábra). A kontroll (K0) tápközegen is megfigyelhető volt a sarjhozatal, de nem olyan mértékű, mint a két előbb említett méz alapú táptalajon. A faj hajlamos a sarjképzésre, de mindenképpen megfigyelhető, 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 kiültethetőségig szükséges idő.



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

4.5. Magasabb mézkoncentráció használatának eredményei

Az eredmények (11. 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 elmarad 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 11. ábrán megfigyelhetjük a különböző tulajdonságok változását eltérő kezelések hatására.



11. ábra A magasabb mézkoncentráció eredményei

4.6 A táptalajok hatása a prolin-tartalomra

Az eredmények a 12. táblázatban láthatók. A kezelések nem voltak hatással a növények prolin-tartalmára, a prolin-szint alapján nem volt

12. táblázat Kezelésenkénti átlag prolin mennyiség

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

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.

4.7 A mézkoncentrációk hatása a pigment tartalomra

13. táblázat Kezelésenkénti átlag karotin és klorofill tartalom

ÁTLAG	Karotin	Klorofill a+b
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 eredményei a 13. táblázatban láthatók. A kezeléseknek nem volt hatása sem a karotin, sem az összes klorofill-tartalomra, a statisztikai program nem tett különbséget a kezelések közti pigment tartalmak

között, annak ellenére, hogy a legnagyobb klorofill tartalmat az M1-es kezelésnél, míg a legkisebb értéket az M2-es kezelésnél kaptam. Az M2-es kezelésnél mért magas karotin és alacsony klorofill tartalom a növények lassú fejlődésében és a sárguló leveleiben is megmutatkozott.

5. Következtetések

A kísérletek bizonyították a hipotézisem, mivel a méz pozitív hatását bizonyította számos kezelés. Az M $\frac{1}{2}$ és az M1 táptalaj kimondottan jólékonyan hatott a hajtás- és gyökérfejlődésre. 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 egy fenntartható jövő alappillére a méhek és a méztermelésük.

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. 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* magoncok 60 gL $^{-1}$ mézkoncentráció alkalmazásával fokozott toxicitást mutattak. Viszont ezzel ellentétben 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.

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 megemlíti 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 kipróbáltam. 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.

Az eredmények értékelése során megfigyeltem a növények hosszát, tömegét, és a gyökerek fejlettségi állapotát. Továbbá, a prolin szint mérésével próbáltunk képet kapni a növényt ért esetleges stresszhatásról is, amit a táptalaj válthatott ki. Sem a prolin, sem a pigmentek mérése nem a várt eredményt adta, az értékek között nem kaptunk statisztikailag igazolt eltérést. Az M2 táptalajban fejlődött növények karotin/klorofill aránya megemelkedett, ami stresszhatásra enged következtetni.

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 értékeket mutatott. Az M2, M3 és M4 táptalajon lévő növények egy részénél vontatott fejlődés volt megfigyelhető. Az eredményeimet az SPSS statisztikai programcsomag egytényezős variancia-analízise (One-Way ANOVA), Duncan teszt lefuttatásával, 95% valószínűségi szinten is igazoltam.

7. 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. AZLAN G. J., ABDULLAH J. O. 2010. In Vitro Culture of Borneo's Endemic Orchid, *Vanda dearei*. In: Asia-Pacific of Molecular Biology and Biotechnology. 18. évf. 1. sz. p. 203-207.
9. 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.
10. BENZING, D. H. 2012. Air Plants. Epiphytes and Aerial Gardens. London. Cormstock Publishing Association.
11. CHEN, B. TRUEMAN, 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.
12. 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.
13. 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>
14. 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
 15. CROIX LA, I.F. 2008. The New Encyclopedia of Orchids: 1500 Species in Cultivation. Portland. Timberpress.
 16. 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>
 17. 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)
 18. 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
 19. DODSON, H. C., GILLESPIE, R. J. 1967. The Biology of the Orchids. Mid-America Orchid Congress. Nashville. Benson Printing Co.
 20. 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>
 21. DUCHEFA BIOCHEMIE B.V Catalogue 2010-2012; http://brochure.duchefa-biochemie.com/Duchefa_catalogus_2010_2012/
 22. FAST, G. 1980. Orchideen kultur. Stuttgart. Verlag Eugen Ulmer.
 23. 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.
 24. GARDINER, L., CRIBB, P. The Orchid. 2018. Botanic Gardens, Kew
 25. 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>

26. 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>
27. 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
28. GNASEKARAN P., RATHINAM X., SINNIHAH 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.
29. 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>
30. 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>
31. 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
32. 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>
33. 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.
34. 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.

35. JÁMBORNÉ BENCZÚR E., DOBRÁNSZKI J. 2005. Kertészeti növények mikroszaporítása. Budapest. Mezőgazda
36. 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.
37. JAWAN, R., GASAU, J.A., ABDULLAH J.O., 2010. *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>
38. KANG, H., KANG, 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>
39. 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>
40. MAKARA GY. 1982. Orchideák és Broméliák. Budapest. Mezőgazdasági Kiadó.
41. 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>
42. 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>
43. MEISEL, J. E., KAUFMANN, S. R., PUPULIN, F. 2014. Orchids of Tropical America. Itacha,London. Cornell University Press.
44. MOLAN, P.C. 1996. Authenticity of honey. In: ASHURST, P-R., DENNIS, M:J: (szerk.). Food authentication. Boston. Springer, p.259-303.
45. 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.
46. MOMTAJ, 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](https://doi.org/10.9734/JPRI/2021/v33i52B33618)

47. 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>
48. 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
49. 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>
50. 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>
51. 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.
52. 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
53. R. ESZÉKI E. 2012. Orchideafajok génmegőrzési és szaporítási lehetőségei. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest. Doktori értekezés
54. 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>
55. SCHIFF, J. L. 2019. Rare and Exotic Orchids. Their Nature and Significance. Springer. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-70034-2>
56. 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

57. 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>
58. 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
59. SLIMESTAD, R., SELJAASEN, R., MEIJER, K., SKAR, S.L. 2010. Norwegian-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>
60. 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
61. STEFANO, D.D., COSTA, B.N.S., DOWNING, J., FALLAHI, E., KHODDAM-ZADEH, 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
62. 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
63. SZENDRÁK E. 1997. Asymbiotic in vitro seed germination, micropropagation, micropropagation and scanning electron microscopy of several temperate terrestrial orchids (orchidaceae). Disszertáció <https://digitalcommons.unl.edu/agronhortdiss/1/>
64. **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>

65. TILLYNÉ MÁNDY A., PENDERT F. 2014. Titokzatos orchideák. Budapest. HTS-ART.
66. 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
67. VAN DER PILJ, L., DODSON, C. H. 1969. Orchid flowers their pollination and evolution. Florida. Coral Gables
68. 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.
69. 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.
70. 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
71. 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>
72. 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.
73. 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
74. 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>
75. 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

8. Köszönetnyilvánítás

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

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