

Különféle közegek hatása akklimatizált *Bowiea volubilis* növények morfológiai és élettani jellemzőire

ÖRDÖGH MÁTÉ¹, FARKAS DÓRA²

¹Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

²Dísznövénytermesztési és Zöldfelületgazdálkodási Kutatócsoport, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

E-mail: ordogh.mate@uni-mate.hu

Összefoglalás

A *Bowiea volubilis* akklimatizálásához az *in vitro* szaporított hagymákat megtisztítottuk, és méretük szerint négy csoportba rendeztük (6-tól 15 mm-ig). Összesen 10 csoportot állítottunk fel csoportonként 30 egyeddel, az eltérő méretű hagymákat mindegyikben egyenletesen elosztva. Az adatok (hagymahossz, -átmérő, friss hagymatömeg) előzetes felvételét követően fehér tőzegbe, perlitbe, kókuszrostba, homokba, valamint ezek 1:1 arányú keverékeibe ültettük a hagymákat; az akklimatizálást a Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék egyik üvegházában, a Budai Arborétumban végeztük. A sejttálcákba ültetéstől számított egy hónapig fátlyolfóliával takart, minden harmadik napon öntözött (külön tápanyagellátásban és mesterséges megvilágításban nem részesült) állományok sikeresen akklimatizált tagjain a főt említett hagyma-paramétereket ismét vizsgáltuk, továbbá megszámloltuk a kialakult gyökereket, leveleket és megmértük azok hosszát. A 3 hónapos időszak végén azt tapasztaltuk, hogy a növények fejlődésére a fehér tőzegnek perlittel vagy homokkal alkotott keverékei, vagy a homok + perlit elegye bizonyult optimálisnak, ugyanis e közegkeverékeken tapasztaltuk a legnagyobb mértékű gyökér- és levélfejlődést, hagymagyarapodást, valamint ezek mellett elsősorban tőzeg + perlit keverékén enzimaktivitás (stresszhatás) mérséklődést.

Kulcsszavak: *Bowiea*, akklimatizáció, közegek, növényfejlődés, enzimaktivitás

Bevezetés és irodalmi áttekintés

A Dél-afrikai *Bowiea volubilis* szárazságtűrő, gyógyászati célra is alkalmazott faj, kerekded, mérgező hagymával, csavarodva akár 3 m-re is kúszó zöld hajtásokkal, rajtuk jelentéktelen, sárgászöld

virágokkal (Watt és Breyer-Brandwijk 1962). A szívglikozidokat tartalmazó hagymák túlzott gyűjtésével, és éves szinten tonnaszámmra eladásával az eredeti, vad populációk száma jelentősen lecsökkent (Cunningham 1988; Hannweg et al. 1996). A csekély maghozam, alacsony csírázási arány (Dyer 1964), valamint a húsos, lassan regenerálódó hagymák feldarabolásával csak nehézkesen végezhető vegetatív szaporítás miatt már a hetvenes évek derekán próbálkoztak hatékonyabb *in vitro* szaporítási módszerekkel (Havranek és Novak 1976). Fertőtlenített hagyma-darabok (Jha és Shen 1985; Cook et al. 1988) vagy virágzati részek (Hannweg et al. 1996) explantátumként való felhasználásával, Murashige és Skoog (1962) alaptáptalajon, különféle hormonok (2,4-D, BA, NES) jelenlétében végezték a felszaporítást, gyökeresítést, végül tiszta közegeken (pl. homok és tőzeg) nagyságrendekkel nagyobb utódállományokhoz jutottak (akár 1000 új növényt nyerve 1 explantátumból). Jelen munkánkban szerettük volna kideríteni, hogy egyrészt jelentkeznek-e morfológiai eltérések különböző közegeken akklimatizálásakor, valamint tisztázni, hogy mely közeg/közegek bizonyulnak leginkább alkalmasnak e célra.

Anyag és módszer

A kísérleti növényállomány eredete, az akklimatizálás körülményei

Akklimatizálás előtt az *in vitro* szaporításból származó, lombikokból kivett hagymákat letisztítottuk, gyökérzetüket, leveleiket is eltávolítottuk (1. ábra), és méret szerint 4 csoportba kategorizáltuk (6-8; 9-10; 11-12; 13-15 mm, 2. ábra) avégett, hogy homogén összetételű állományokról induljunk. 10 csoportot hoztunk létre, mindegyikben 30 hagymával, amiket tiszta (100%-os) közegekbe: fehér tőzegbe (továbbiakban: tőzegbe), perlitbe, kókuszrostba, homokba, illetve ezeknek 1:1 arányú keverékeibe ültettünk, sejtálcákba (3. ábra). Az akklimatizálást a Budai Arborétumban lévő egyik tanszéki üvegházunkban végeztük, ahol a növényeket az első hónapban fátylvolfóliás takarással, és a teljes, 3 hónapos időszakban 3 naponta öntözéssel (ám külön mesterséges világítás és tápanyagellátás nélkül) tartottuk.

1. ábra. *Bowiea volubilis in vitro* hagymacsoportja szétosztás előtt (A), illetve a hagymák tisztítás előtt (B) és után (C) (Fotó: Farkas)

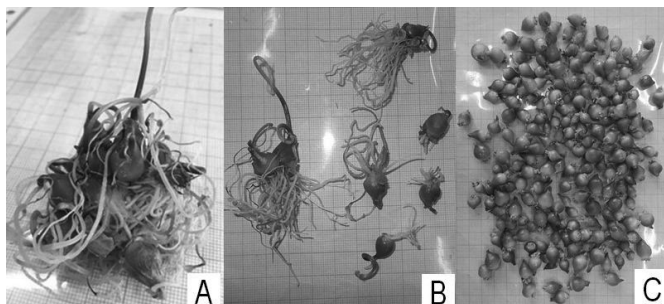


Figure 1. *Bowiea volubilis in vitro* bulb cluster before division (A) and divided bulbs before (B) and after (C) cleaning

2. ábra. Méret szerint csoportosított *in vitro* hagymák, akklimatizálásra készen (Fotó: Farkas)

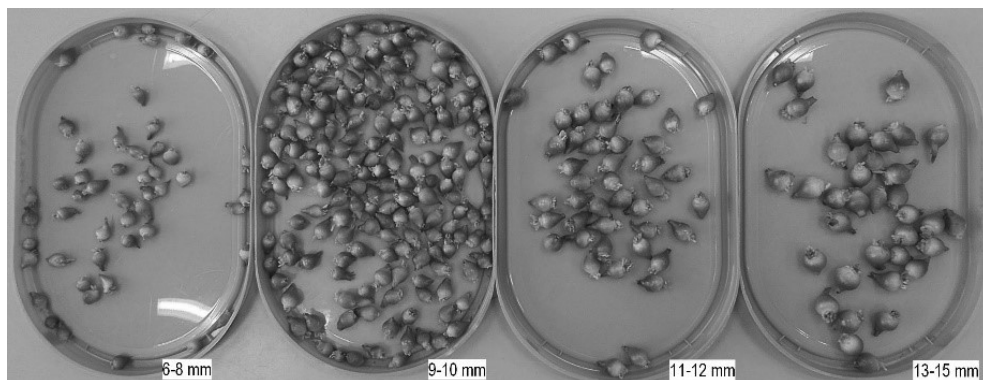


Figure 2. Categorised *in vitro* bulbs (according to their sizes), ready for acclimatisation

3. ábra. Az akklimatizálás indítása. 104-es sejtálcákba, különféle közegekbe ültetett hagymák (A: perlit, B: tőzeg, C: homok + tőzeg, D: homok, E: homok + kókuszrost, F: kókuszrost, G: kókuszrost + perlit, H: tőzeg + kókuszrost, I: homok + perlit, J: tőzeg + perlit) (Fotó: Ördög)

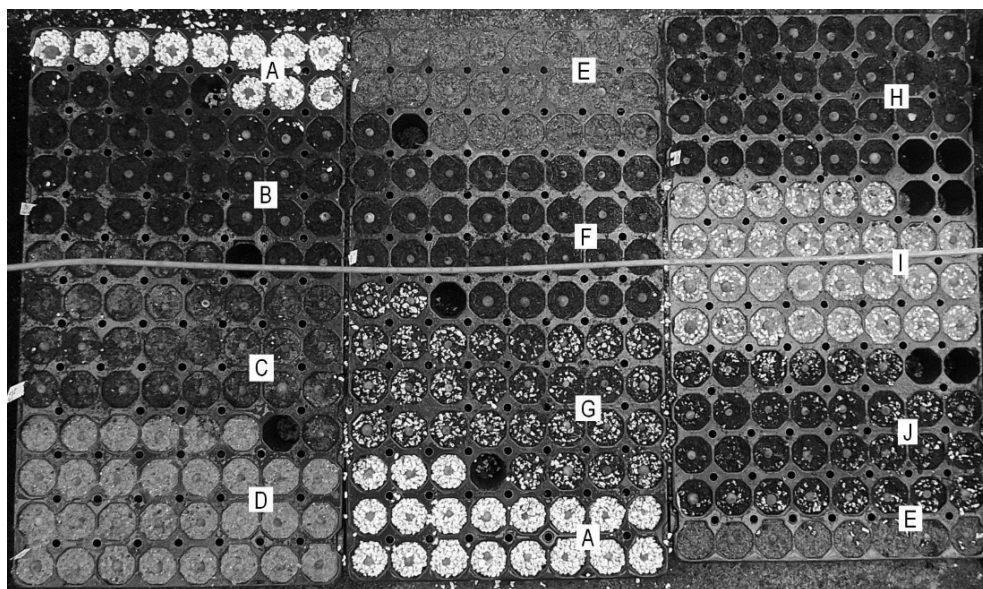


Figure 3. Initiation of the acclimatisation. Bulbs were planted into 104 plug trays, filled with the following substrates: A (perlite), B (peat), C (sand + peat), D (sand), E (sand + coconut fiber), F (coconut fiber), G (coconut fiber + perlite), H (peat + coconut fiber), I (sand + perlite), J (peat + perlite)

Morfológiai és élettani paraméterek vizsgálata

Közvetlenül az ültetés előtt megmértük a hagymák hosszát, átmérőjét és friss tömegét. 3 hónappal később, az akklimatizálást túlélő növényeken ugyanezeket a jellemzőket, ezeken kívül a gyökerek és levelek számát, hosszát, valamint a teljes friss növénytömeget vizsgáltuk. Meghatároztuk a levelek klorofill- és karotinoid tartalmát és peroxidáz enzimaktivitását is.

Mind a klorofill, karotinoid, mind a peroxidáz vizsgálatokhoz 100-100 mg aprított levélmintából készítettünk szuszpenziót. A színyanyagok esetén 80%-os acetont, enzimaktivitás kimutatásakor 0,1M kálium-foszfát hozzáadásával, dörzsmozsárban végeztük a homogenizálást. Az ülepítést, centrifugálást követően a klorofill-, karotinoid-tartalom 480, 644 és 663 nanométerre kalibrált Genesys 10vis típusú spektrofotométeres méréséhez továbbra is 80%-os acetont, míg a peroxidáz-aktivitásnak ugyanezen a műszeren 460 nanométer hullámhosszra beállított meghatározásához nátrium-acetát puffert, hidrogénperoxidot, valamint oldat-színező hatású ortodianidizint használtunk vak-mintaként. Az abszorbanciaértékek leolvasásával, és az alábbi egyenletekbe helyettesítésével határoztuk meg a klorofill (a+b), karotinoid, illetve peroxidáz enzimaktivitást:

$$\begin{aligned} \text{klorofill (a+b) } \mu\text{g/g} &= (20,2 \times A_{644} + 8,02 \times A_{663}) \times V/w \\ \text{karotinoid } \mu\text{g/g} &= (5,01 \times A_{480})/w \end{aligned}$$

ahol:

V= szövetkivonat mennyisége (10ml)

w= a szövet tömege (0,1g)

A= abszorbancia

(Arnon 1949; Helrich 1990)

$$\text{enzimaktivitás} = (\Delta A_1 \times \text{hígulás})/\varepsilon \text{ [unit/ml, U/ml]}$$

ahol:

ΔA_1 : 1 perc alatti abszorbancia-változás

$\varepsilon = 11,3$: az ortodianizidin extinkciós koefficiense (színváltozás mértékét jellemzi)

Ez átszámolható unit/mg-ra, a **(unit/ml) x (w/V)** képlettel,

ahol:

V= szövetkivonat mennyisége (1,5ml)

w= a szövet tömege (0,1g)

(Shannon et al. 1966; Blinda et al. 1996)

Az adatok kiértékelése

A statisztikai kiértékeléshez IBM SPSS Statistics 24 programot használtuk, szignifikáns eltéréseket keresve az egyes csoportok között egytényezős varianciaanalízissel (95%-os megbízhatósági szint mellett), illetve a Levene-próbát kiértékelve Sig>0,05 esetén Tukey-, Sig<0,05 esetén Games-Howell teszttel.

Eredmények

Friss teljes növénytömeg és hagymatömeg

Teljes tömegük alapján átlagosan a legnehezebbre (2,05g-ra) tőzeg + perlit esetén fejlődtek a növények. 100% homok vagy perlit közegen szignifikánsan könnyebbek voltak a mindössze 0,75-0,78g-ot elérő egyedek. Amennyiben a homokot tőzeggel vagy perlittel kombináltuk, 1,67 és 1,74 g-ra nőtt az átlagsúly. A levél és gyökér nélkül mért hagymatömeget illetően hasonló tendencia mutatkozott, vagyis a legnagyobb értékeket (0,65 és 0,64g) tőzeg + perlit, homok + perlit használatakor kaptuk, míg pusztán homok vagy perlit esetén jelentősen alacsonyabb lett az átlagos tömeg (0,35 és 0,36g, [4. ábra](#)).

4. ábra. Akklimatizált *Bowiea volubilis* növények friss teljes- és hagymatömege

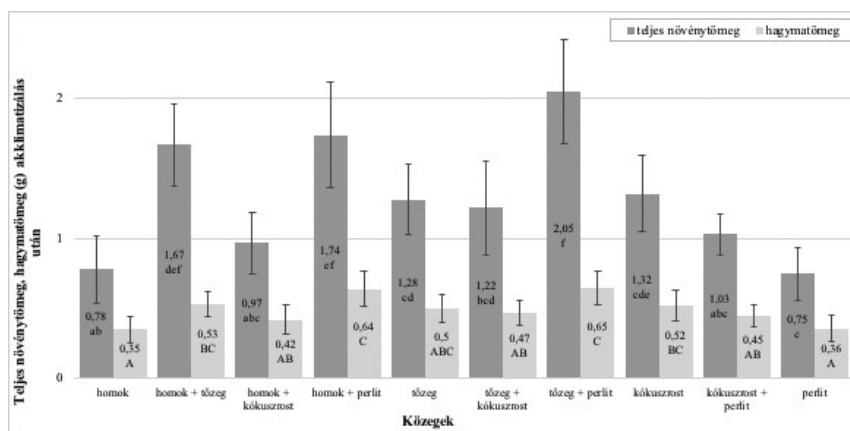
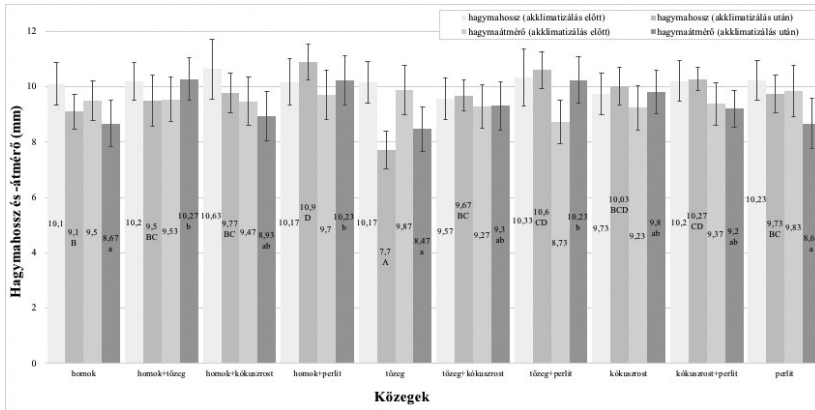


Figure 4. Fresh total weight and bulb weight of acclimatized *Bowiea volubilis* plants

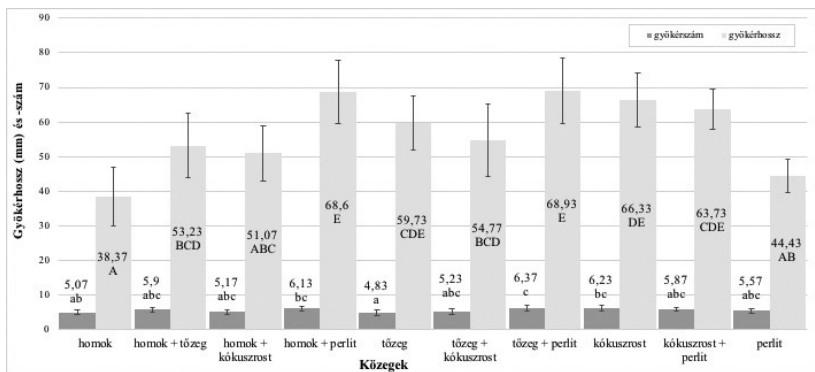
Hagymahossz és -átmérő

Az akklimatizálás során a **hagymák hossza, átmérője** csökkent, annak ellenére, hogy a tömegük nőtt, egyrészt vélhetően a víz tárolása, másrészt a szöveti szerkezetük átalakulása miatt. Az *in vitro*, valamint az *ex vitro*, akklimatizált növények anatómiai jellegzetességei ugyanis eltérőek; nem csak külső, hanem belső változásokra is sor kerül az akklimatizáció folyamán (Jámborné és Dobránszki 2005). A legnagyobb hagymaméreteket a homoknak perlittel vagy tőzeggel alkotott keverékein kaptuk (10,9 mm hagymahossz az előbbi, 10,27 mm átmérő az utóbbi keverékeken), a legalacsonyabbakat pedig tiszta tőzegen (7,7 mm hossz, 8,47 mm átmérő, [5. ábra](#)).

5. ábra. Akklimatizált *Bowiea volubilis* növények hagymahossza és -átmérőjeFigure 5. Bulb length and diameter of acclimatized *Bowiea volubilis* plants

Gyökérszám és -hossz

A **gyökérszám** gyakorlatilag minden csoport esetén 5-6 körül adódott, jelentős eltérések az esetek többségében nem mutatkoztak, leszámítva a 100% tőzeget, ami szignifikánsan kevesebb (4,83 db) gyökér kialakulásához vezetett a homok + perlit (6,13 db), kókuszrost (6,23 db), illetve a legtöbb (6,37 db) gyökéret eredményező tőzeg + perlit közegekkel összehasonlítva. A gyökerek hossza terén a homok + perlit, tőzeg + perlit adta a többi csoporttal összevetve általában jelentősen legmagasabb átlagokat (68,6 és 68,93 mm), a legrövidebbre (38 mm-re) 100% homokban fejlődtek a gyökerek. Jó eredményeket (60 mm-nél hosszabb gyökereket) kaptunk 100% kókuszrost, vagy ennek perlittel 1:1 arányban kevert elegyén (6. ábra).

6. ábra. Akklimatizált *Bowiea volubilis* növények gyökérszáma és -hosszaFigure 6. Root number and length of acclimatized *Bowiea volubilis* plants

Levélszám és –hossz

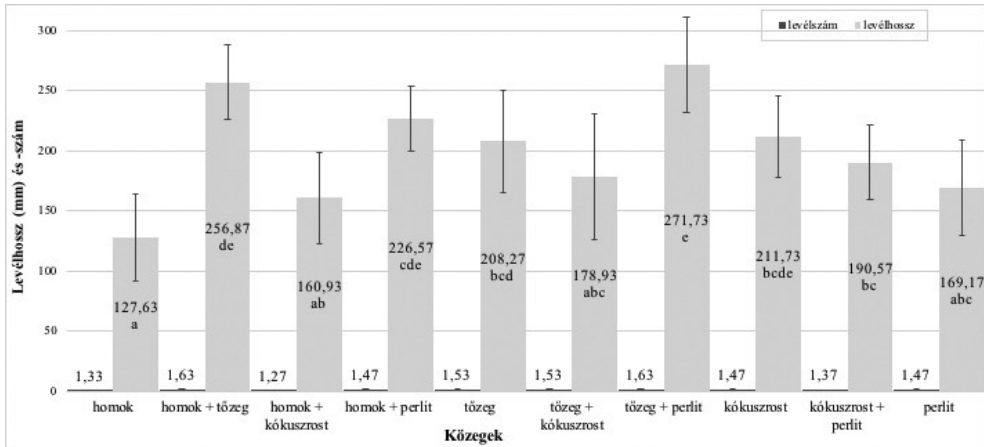
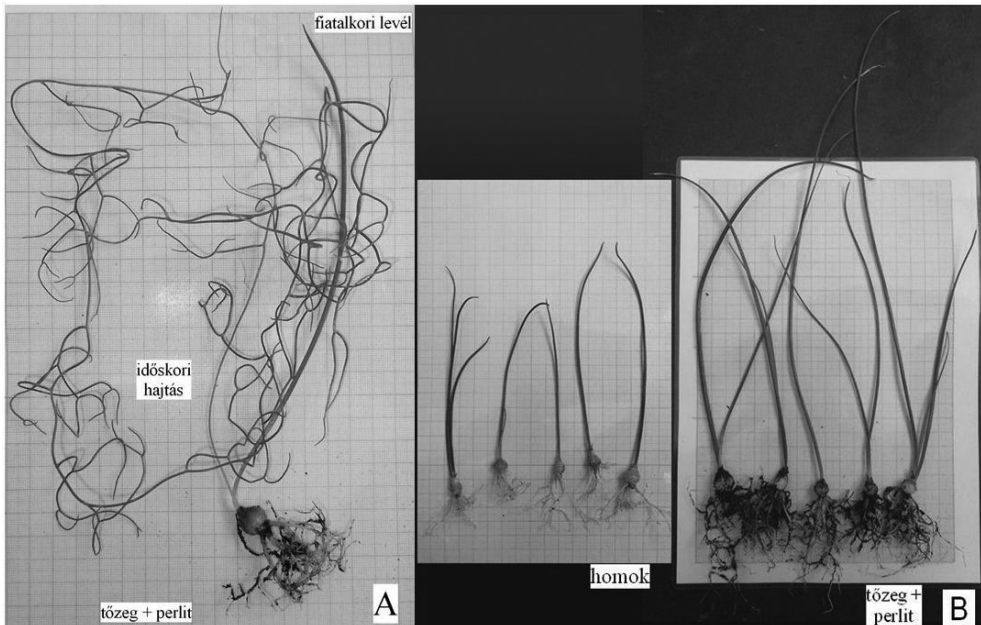
A fiatal (magonc vagy *in vitro* állományban lévő) *Bowiea volubilis* egyedek egy-két, ritkán három vékony, egyenes, egyszerű levéllel rendelkeznek, külön hajtásokkal (és azokon generatív részekkel) még nem. Éppen ezért e kísérletben a **levelek száma** közegtől függetlenül azonosnak volt tekinthető, jelentős eltérések nélkül (1,27-1,63 db). Máshogy alakult a helyzet a **levélhossz** vizsgálva: a tőzeg + perlit hatására nőttek leghosszabbra (272 mm-re), 100% homokon pedig a legrövidebbre (128 mm-re) a levelek, az utóbbi közeg szinte minden más csoporttal összehasonlítva szignifikánsan negatív eredményhez vezetett (7-8. ábra).

Hosszú, csavarodva kúszó (időskori, adult) hajtásokat (és azokon apró, nem feltűnő, zöldes-sárgás virágokat) csak bizonyos életkorú és hagymaméretű növények fejlesztenek. Az akklimatizálódott állományainkban csak kevés egyeden találtunk ilyen képleteket (egyiküket a 9. ábra "A" részlete mutatja), a kisebb, *in vitro* hagymákból rendszerint csak fiatalkori, juvenilis levelek alakulnak ki (9. ábra, "B"). Kiderült azonban, hogy a már eleve (az akklimatizálás előtt) nagyobb tömegű hagymákból nagyobb eséllyel fejlődhetnek generatív, adult-jellegű hajtások is, és ezekkel együtt értelemszerűen nagyobb friss teljes növénytömeget értek el. Ugyanakkor, ha képződött is ilyen hajtás, ezek száma egyedenként csak egy volt, és vélhetően e növényi részek kifejllesztése nagyobb energia-szükséglettel is járt, így a kúszóhajtásos hagymák tömege az akklimatizáció végére lecsökkent (10. ábra).

7. ábra. Növekedési eltérések tőzeg-perlit (balra) és homok (jobbra) közegekbe került *Bowiea volubilis* növények között (fotó: Farkas)



Figure 7. Growth differences of acclimatised *Bowiea volubilis* plants placed in peat + perlite (left) and sand (right)

8. ábra. Akklimatizált *Bowiea volubilis* növények levélszáma és –hosszaFigure 8. Leaf number and length of acclimatised *Bowiea volubilis* plants9. ábra. Akklimatizált *Bowiea volubilis* növények időskori hajtással (A) és fiatalkori levelekkel (B)Figure 9. Acclimatised *Bowiea volubilis* plants with adult shoot (A) and juvenile leaves (B)

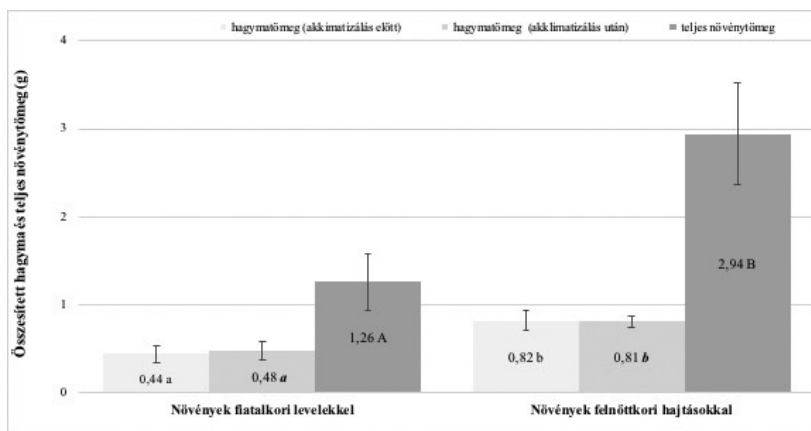
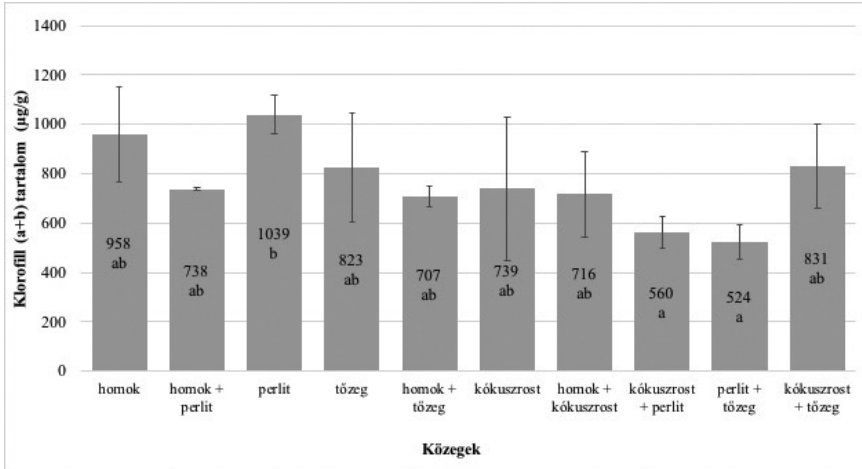
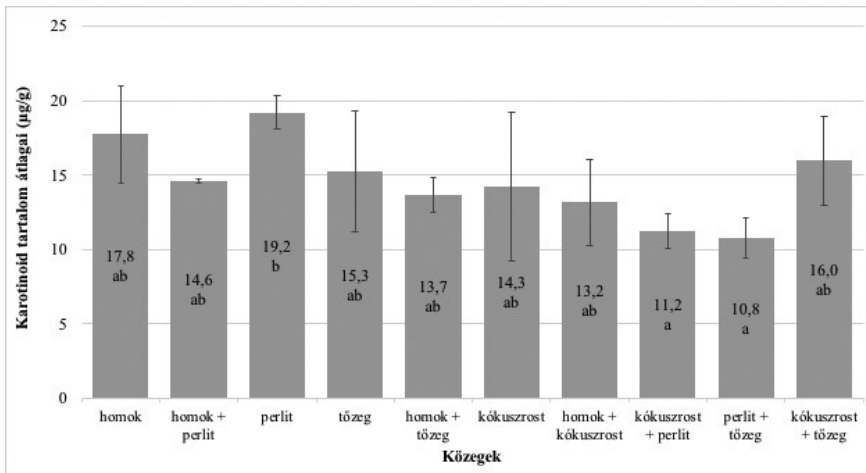
10. ábra. Akklimatizált *Bowiea volubilis* növények összesített hagyma- és teljes növénytömege

Figure 10. Summarized fresh bulb weight and total weight of acclimatized *Bowiea volubilis* plants

Levelek klorofill- és karotinoid-tartalma, enzimaktivitás

Az akklimatizált állományokról gyűjtött levelek vizsgálatok kiderült, hogy közülük is kiemelkedően sok **klorofill- és karotinoidtartalma** volt a homok, valamint a perlit közegekben fejlődött növényeknek. Ezzel szemben a perlit-tőzeg, illetve kókusz-perlit keverékeken akklimatizálódott növények színanyag-átlagai jóval elmaradtak (11-12. ábra).

A **peroxidáz-aktivitást** tekintve szignifikáns eltérés mutatkozott a homok és kókusz közegekkel szemben a perlit, homok-tőzeg és tőzeg csoportok növényállományain; homokon és kókuszon alacsony volt a stresszhatás. Ezzel szemben a perliten, a homok-tőzegen és a 100%-os tőzegen fejlődött enzimaktivitása jelentősen fokozódott, e közegek erősebb stresszhatásnak tették ki a növényeket. A tisztán, önmagukban alkalmazott közegek egymással keverése az esetek többségében kiegyensúlyozó-mérséklő hatást fejthetett ki (13. ábra).

11. ábra. Akklimatizált *Bowiea volubilis* növények klorofill tartalmaFigure 11. Chlorophyll content of acclimatized *Bowiea volubilis* plants12. ábra. Akklimatizált *Bowiea volubilis* növények karotinoid tartalmaFigure 12. Carotenoid content of acclimatized *Bowiea volubilis* plants

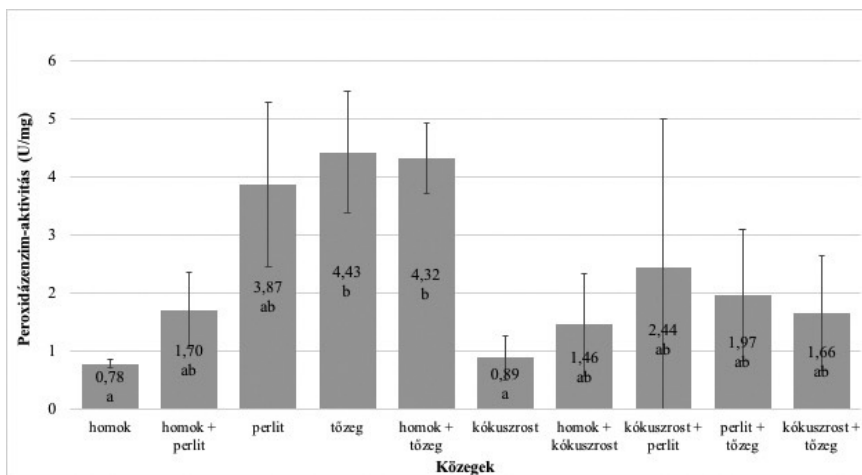
13. ábra. Akklimatizált *Bowiea volubilis* állományok peroxidázenzim-aktivitása

Figure 13. Peroxidase enzyme activity of acclimatized *Bowiea volubilis* plants

Következtetések

Mindent egybevetve, akklimatizálásra a tőzeg + perlit, tőzeg + homok, illetve homok + perlit keverékek váltak be leginkább, egyrészt a hagymák, teljes növények tömegének gyarodását tekintve, másrészt a levelek-hajtások, gyökerek fejlődése is ekkor volt a legintenzívebb. A közegek keverése főként homok és perlit esetén eredményezett elsősorban növény- és hagymatömeg-, valamint levél- és gyökérhossz növekedést, ugyanakkor a levelek színanyagtartalma mérséklődött a csak homokon vagy tőzegen akklimatizált növények klorofill, karotinoid értékeivel szemben. Az enzimaktivitást is mérsékelni lehetett egyes közegek keverésével (az önmagukban való alkalmazás fokozott stresszhatást jelentett elsősorban perlit, tőzeg esetén, ezek elegye csökkenéshez vezetett). Továbbá, a nehezebb hagymák nagyobb eséllyel fejlesztettek az egyszerű, egyenes (rendszerint egy vagy két) levélen kívül csavarodó, kúszó hajtást is.

Irodalomjegyzék

1. Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24(1): 1-15.
2. Blinda, A., Abou-Mandour, A., Azarkovich, M., Brune, A. and Dietz, K.J. 1996. Heavy metal-induced changes in peroxidase activity in leaves, roots and cell suspension cultures of *Hordeum vulgare* L. *Plant Peroxidases, Biochemistry and Physiology*, 380-385.
3. Cook, E.L., Cunningham, A. and van Staden, J. 1988. The tissue culture of an exploited medicinal plant, *Bowiea volubilis*. *S. Afr. J. Bot.* 54: 509-510.

4. Cunningham, T. 1988. Over-exploitation of medicinal plants in Natal/KwaZulu: Root Causes. Veld & Flora, September, 85-87.
5. Dyer, R.A. 1964. The genera of Southern African Flowering flowering Plantsplants: Gymnosperms and Monocotyledons. Department of Agricultural Technical Services, Pretoria, 923.
6. Hannweg, K., Watt, M.P. and Berjak, P. 1996. A simple method for the micropropagation of *Bowiea volubilis* from inflorescence explants. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 37: 213-218.
7. Havranek, P. and Novak, F.J. 1976. Bud formation in the callus cultures of *Allium sativum*. Z. Pflanzenphysiol, 68: 308-318.
8. Helrich, K. 1990. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemists, USA: Inc. Arlington, 62-63.
9. Jámborné Benczúr E. és Dobránszki J. 2005. Kertészeti növények mikroszaporítása. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
10. Jha, S. and Sen, S. 1985. Regeneration and rapid multiplication of *Bowiea volubilis* Harv. in tissue culture. Plant Cell Reports, 4(1): 12-14.
11. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, (15): 473-497.
12. Shannon, L.M., Kay, E. and Lew, J.Y. 1966. Peroxidase Isozymes from Horseradish Roots. The Journal of Biological Chemistry, 241(9): 2166-2172.
13. Watt, J.M. and Breyer-Brandwijk, M.G. 1962. The Medicinal and Poisonous Plants of southern Africa. University Microfilms International, Michigan, 1457.

The effect of various substrates on the morphological and physiological features of acclimatised plants

ÖRDÖGH, M¹, FARKAS, D.²

¹Department of Floriculture and Dendrology, Institute of Landscape Architecture,
Urban Planning and Garden Art, Hungarian University of Agriculture and Life Sciences

²Ornamental Plant and Green System Management Research Group,
Institute of Landscape Architecture, Urban Planning and Garden Art,
Hungarian University of Agriculture and Life Sciences

E-mail: ordogh.mate@uni-mate.hu

Summary

For the acclimatization of *Bowiea volubilis*, *in vitro* propagated bulbs were purified and divided into four categories (6 to 15 mm). A total of 10 groups with 30 bulbs per group were set up, with bulbs of different sizes evenly distributed in each. After pre-recording the data (bulbs length, diameter, fresh bulbs weight), the bulbs were planted in white peat, perlite, coconut fibre, sand, and 1:1 ratio mixture of the substrates. The acclimatization was carried out in one of the greenhouses of the Department of Ornamental Plants and Dendrology, at the Buda Arboretum. For one month

after planting in the cell trays, the above-mentioned bulb parameters were re-examined on the successfully acclimatized members of the stands, irrigated every three days and covered by fleece (without separate nutrient supply and artificial lighting), and the roots, leaves number and length were counted. At the end of the 3-month period, we found that mixtures of white peat with perlite or sand or a mixture of sand + perlite proved to be optimal for the development of the plants, as we observed the highest root and leaf development, bulb growth, and perlite mixture with a decrease in enzyme activity (stress effect).

Keywords: *Bowiea*, acclimatization, substrates, plant development, enzyme activity

Szerzők:

Ördögh Máté (kapcsolattartó szerző) – PhD, egyetemi adjunktus, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet, Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék, 1118 Budapest, Villányi út 29-43.

Farkas Dóra - PhD hallgató, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Tájépítészeti, Településtervezési és Díszkertészeti Intézet, Dísznövénytermesztési és Zöldfelületgazdálkodási Kutatócsoport, 1223 Budapest, Park utca 2.