

Szegedi Tudományegyetem
Mezőgazdasági Kar

FENNTARTHATÓ PRECÍZIÓS KERTÉSZETI SZAKMÉRNÖK képzés



Szaporítás növényházi
termesztésben

kurzus

Olvasólecke

30 perc

Dr. Csontos Györgyi

Jelen tananyag a Szegedi Tudományegyetemen készült az Európai Unió
támogatásával.

Projekt azonosító: EFOP-3.4.3-16-2016-00014

SZÉCHENYI 2020



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE

Összegzés

A szaporításról szóló olvasóleckében nemcsak a növények megsokszorozódásával kapcsolatos kérdéseket tárgyaljuk, hanem minden olyan eljárást is, amelynek során a nyugalomban lévő generatív és vegetatív növényi részek életfolyamatait megindítjuk, vagy a növény egy-egy kis részét (sokszor csak néhány sejtjét) helyezzük „in vitro” körülmények közé tárolás, továbbnevelés vagy gyors megsokszorozás céljából. A lecke anyaga a mesterségesen kialakított környezet technológiai és technikai feladatainak, feltételrendszerének tárgyalását is magába foglalja. Szaporításnak nevezzük ezért gyűjtőnéven a termesztett növények életfolyamatának újrakezdésére irányuló tevékenységét.

Tartalom:

Az olvasólecke összefoglalja

Zöldségnövények szaporítását

- a vegetatív szaporítást
- a mikroszaporítás módjait

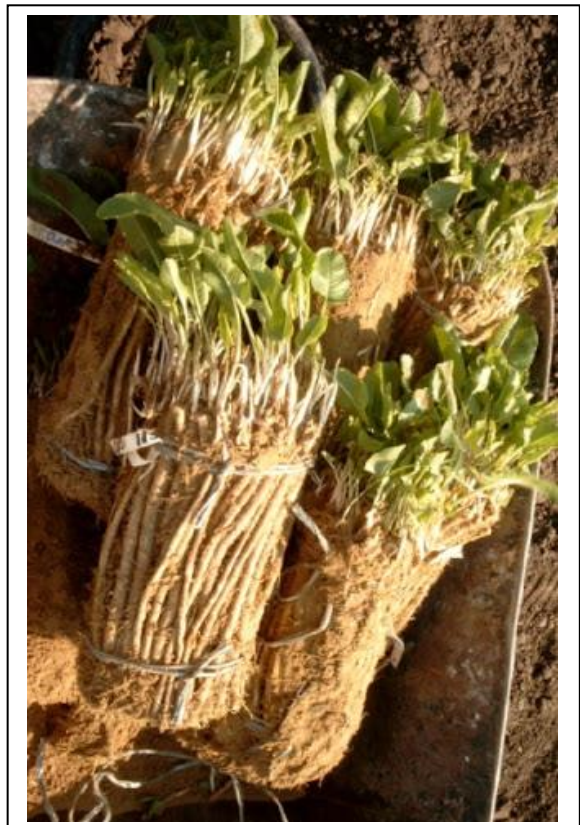
Kifejtésre kerül

a gyakorlati felhasználás

- in vitro génbank
- kórokozó mentesítés
- burgonya in vitro szaporítása
- az alkalmazható technológiák
- a módszer gazdaságossága

Feltüntetésre kerülnek az

- Ellenőrző kérdések
- Források
- Ajánlott irodalmak



A zöldségnövények szaporítása

A zöldségnövények szaporítási módjai

Minden olyan eljárást is ide tartozik, amelynek során a nyugalomban lévő generatív és vegetatív növényi részek életfolyamatait megindítjuk, vagy a növény egy-egy kis részét (sokszor csak néhány sejtjét) helyezzük „in vitro” körülmények közé tárolás, továbbnevelés vagy gyors megsokszorozás céljából.

Szaporításnak nevezzük a termesztett növények életfolyamatainak újratezdésére irányuló tevékenységet. A szaporítási módokat attól függően, hogy a növény melyik részét használják fel a makroszaporításon belül alapvetően két csoportba soroljuk

MAKROSZAPORÍTÁSI MÓDOK

1. Szaporítás ivaros (generatív) szervekkel.

E szaporításmódhoz tartozik a magvetés, amely lehetséges:

- szabadföldön
- termesztőlétesítményben.

A magvetés célja szerint megkülönböztethetünk:

- végleges helyre vetést,
- vetést palántanevelés céljára
- vetést kétéves, illetve évelő (nyugalmi állapotú) növények nevelésére

2. Szaporítás ivartalan (vegetatív) szervekkel.

Lényege, hogy többé-kevésbé kifejtett növényi részeket használnak továbbszaporításra.

- különböző *növényi részeket ültetünk* el végleges helyükre.
- a burgonyagumó előcsíráztatása korai termesztés céljára
- a gombák szaporítása micéliumok nevelésével, steril körülmények között.
- az *oltás* különleges eljárás a szaporítási munkákban

<https://www.slideserve.com/chet/a-n-v-nyek-szaporod-sa>

MIKROSZAPORÍTÁSI MÓDOK

A mikroszaporítás a biotechnológia fejlődésével került előtérbe és napjainkban vált a mindennapi gyakorlat számára is elérhető szaporítási móddá. Steril körülmények között végzett vegetatív szaporítás, melynek eredményeként az utódok az anyanövény pontos másolatai lesznek

• **Sejt és szövettenyésztés.** A zöldségfajok szaporítása a különböző növényi részek izolálásával, és „in vitro” körülmények közötti tovább tenyésztéssel.

Ivartalan szaporítás

Akkor alkalmazzuk amikor:

- a generatív szaporítás az adott fajnál nem megoldható
- magról szaporítva a jellemző bélyegek biztonságosan nem fejeződnek ki, a faj, fajta nem tartja meg a tulajdonságait
- a gyorsabb termőre fordulás a cél

Klón: vegetatív szaporítással létrehozott egyedek összessége.

Ivartalan (aszexuális vagy vegetatív) szaporodás:

A növényegyed életének folytatása egyetlen sejtből vagy különböző növényi részekből történő újra képződéssel.

Egy egyed szükséges hozzá.

- Nagy számú utód keletkezik
- Az utódok egyedfejlődésüket nem a magból kezdik
- Környezeti tényezőkkel szemben igénytelen
- Az utódok kis távolságra terjednek el
- Nincs genetikai változatosság

Autovegetatív

- -tőosztás
- -dugványozás
- -bujtás

Heterovegetatív

- -oltás
- -szemzés
- -ablaktálás

Kertészeti növények ivartalan szaporítása

Természetes szaporító képlettel szaporítható

- – tősarjjal – tárkony
- – sarjnövénnyel – kövirózsa
- – indával - szamóca
- – (földalatti) hajtással, sztólóval – meténg; menta
- – gumóval – burgonya, dália
- – rhizómával - gyöngyvirág, gyömbér
- – hagymával - fokhagyma, vöröshagyma; hagymás dísnövények; sáfrány
- – léghagymával – téli sarjadékhagyma; lilium
-

Tőosztással szaporítható

– metélőhagyma, rebarbara; pampafű, árnyéklilium, sáslilium; citromfű, tárkony

Gyökereztetéssel szaporítható

– Dugványozással

- Levél – fokföldi ibolya, begónia
- Hajtás – szegfű, egynyári fajták (muskátlí, petúnia, verbéna, stb.), varjúháj
- Gyökér – torma

Összenövesztéssel

– oltás – burgonyafélék, kabakosok; kaktuszok



Fokhagyma – sarjhagyma



Vöröshagyma – dughagyma



Szamóca – inda



Burgonya – szárgumó



Torma – gyökérdugvány



Rebarbara – tőosztás

A mikroszaporítás gyakorlati felhasználása

In vitro génbankok

Az in vitro génbank a különböző genetikai tartalékok tartós tárolását jelenti, biotechnológiai (szövettenyésztés, mélyfagyasztás) módszerekkel.

Az in vitro tárolás feltételei:

- kidolgozott a kórokozómentesítés
- kidolgozott a lassú növekedésű tenyészet
- kidolgozott a mikroszaporítás (mert a tárolókból kikerülő tételeket fel kell szaporítani)

Az in vitro tárolás technikái: (klasszikus)

- tárolás alacsony hőmérsékleten (0-8°C)
- tárolás gyenge megvilágításban (800-1000 lux, 8-12 óra)
- tárolás minimális táptalajon (szervetlen sók +cukor)
- tárolás ozmotikus növekedésgátlókkal (4-8% mannitol)
- tárolás hormonális növekedésgátlókkal (5-10 mg/l ABA)

Aktív technikák:

- kallusztárolás paraffinolaj alatt
- hajtásdarab tárolás paraffinolaj alatt
- tárolás csökkentett légnyomáson
- szárított szomatikus embriók tárolása
- kapszulázott szomatikus embriók és rügyek tárolása

Gyakorlati alkalmazás:

A gyakorlatban a "minimal growth conditions" eljárások terjedtek el:

- egyszerűek, olcsók,
- nem járnak genetikai változással
- tárolást követően az intenzív növekedés gyorsan helyreállíthatók

Az eljárást elsőként a szőlőn végezték el (Morel prof, 70-es évek), friss hajtásdarabokat oltottak táptalajra (évi egyszer átoltották, friss táptalajra, majd 9°C-on tárolták a merisztéma tenyészeteket)

Alma esetében 0,28 köbméteres tárolóban 2000 db-os tenyészetet tartottak fent, ez szabadföldön 1 ha intenzív ültetvénnel egyenértékű

Hasonló eljárás mellett tárolják a vírusmentes számócát, burgonyát

Az átoltások gyakorisága fajfüggő (2 hónap - 2 év)

Hazai **burgonyatenyészet**, Heszky László, 70-es évek, Tápiószele

Genetikai stabilitás fenntartása:

A hajtástenyészetekben a fajták elég nehezen különböztethetők meg, könnyen összekeverhetők

Ezért nagyon fontos, hogy a bekerült tételekről pontos fehérjemintázat vagy izoenzim mintázat készüljön (rügymutások és szomaklonális variabilitás kiszűrése)

Kórokozó-mentesítés

Vírusmentes szaporító anyagok előállítása. (Nem rezisztenciáról van szó.)

Fertőzött növényekből vírus-, baktérium-, és gombamentesítést jelent hagyományos (hőkezelés, kemoterápia) és biotechnológiai (merisztématenyésztés) módszerekkel vagy ezek kombinációival. **Főként a vegetatív szaporítással előállított növényeknél mérvadó.** Maggal szaporított növények esetében azért nem jelentős, mert a legtöbb ismert kórokozó maggal nem terjed.

A kórokozó-mentesítés két fő területre osztható:

- diagnosztikára (növénykórtan)
- mentesítésre
 - Merisztématenyésztés
 - Hőkezelés

Merisztématenyésztés

Minél kisebb merisztémát izolálunk annál kisebb a vírushatás esélye. Az ideális méret 0,1 mm átmérőjű és 0,25 mm hosszúságú, azonban nagy a kalluszosodás veszélye így a gyakorlatban nagyobb izolátum terjedt el

Az elimináció azonban vírusfüggőséget és fajtafüggőséget mutat. Burgonya esetében a merisztémák levélsodródás vírusra 100%-ban, A és Y-vírusra 70-80%-ban mentes, de nem mentesek X- és S-vírusról.

Kemoterápia

Kémiai szerek alkalmazása vírusmentesítés szempontjából. Széleskörű felhasználása nem megoldott, mivel a növényi sejtet is pusztítja. A vírusok lényegében nukleinsavból és fehérjéből állnak, így ezek szintézisét kell gátolni. Alkalmazott anyag: ribazol vagy ribavirin.

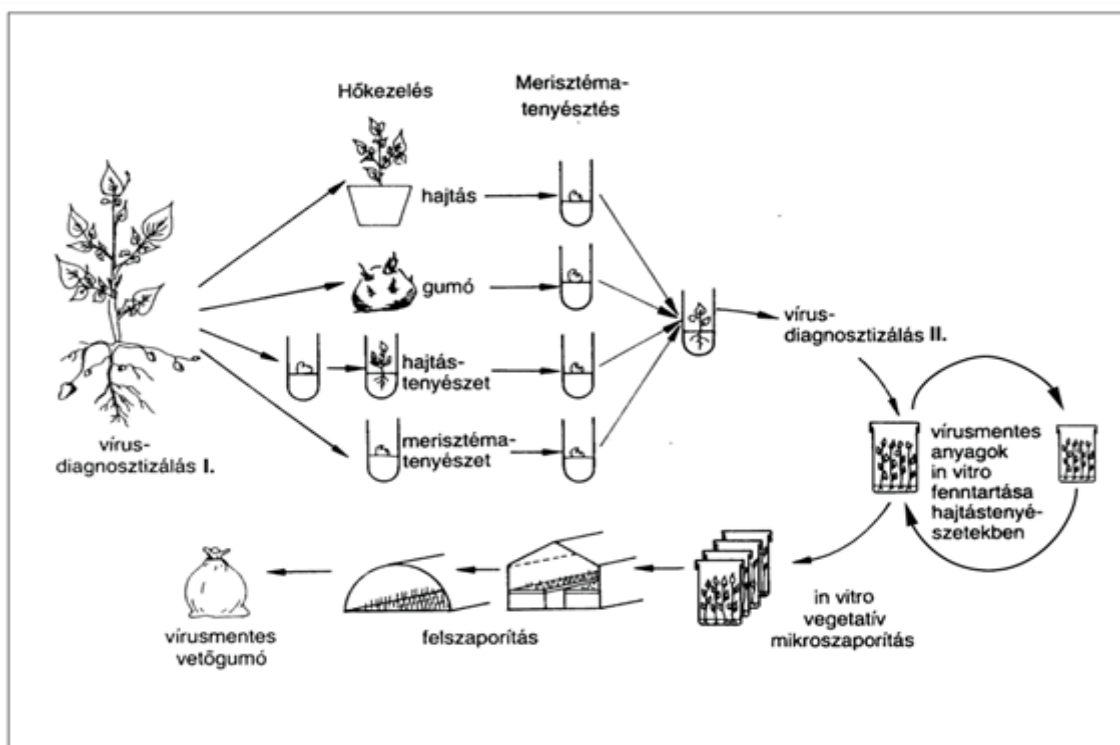
Burgonya fajtafenntartás, in vitro szaporítás

- 1.) az in vitro szaporítóanyag előállítása mikroszaporítással (szövettenyésztő laboratórium),
- 2.) primer és szekunder gumó előállítása izolált körülmények között (üvegház),
- 3.) és végül a vetőgumó szaporítása szántóföldön.

A burgonya mikroszaporításának első lépése az in vitro tenyészetek indítása merisztéma izolálással és tenyésztéssel. A steril körülmények között kiperarált

merisztémákat megfelelő táptalajra helyezve egy-két hónap múlva 7-8 leveles in vitro növényeket lehet nevelni. A hajtástenyésztés során a tömegszaporítás az in vitro fejlődött hajtások hónaljrügyeit tartalmazó egynóduszos hajtásdarabokkal történik.

Három-négy hét alatt a hónaljrügyekből átoltásra alkalmas járulékos hajtások fejlődnek. Mivel a hajtásfejlődéssel egyidejűleg járulékos gyökérképződés is történik, a négyhetes tenyészetek közvetlenül alkalmasak üvegházi kiültetésre is. A mikroszaporításnak azonban végterméke lehet az in vitro gumó is.



Kérem, nézzék meg a Nemzeti agrárkamara összefoglalóját a mikroszaporítással kapcsolatban:

<https://www.youtube.com/watch?v=3jtDgraUS40>

In vitro technikák

A mikroszaporítás: szomatikus (testi) sejteket tartalmazó szövetekből indul ki

diploid technika:

- embrió kultúra

haploid technika:

- androgenezis
- mikrospóra tenyésztés
- ginogenezis
- ovárium (magház kultúra)
- ovulum (magkezdemény kultúra)

A mikroszaporítás előnyei

- betegségmentesség
- fajtaazonosság, egyöntetű állomány
- új fajok vegetatív szaporítása (Cotinus coggygria, Sorbus, Tilia stb.)
- környezeti hatásoktól mentes
- kis felületen relatíve nagy mennyiség
- a logisztika és a tárolás egyszerűsíthető

Hátrányai

- magasfokú műszerezettség
- nagy szaktudás
- nagy munkaóraigény
- magas előállítási költség
- szomaklonális variabilitás
- nagy állománypusztulás kiültetést követően (gyökeresítés, akklimatizáció hiánya)

Szomaklonális variabilitás

A növények különböző szomatikus szöveiből létrehozott in vitro kultúrából regenerált növények ivaros utódai között kimutatható (genetikailag determinált) különbségeket nevezzük szomaklonális variabilitásnak

Variabilitás eredete:

- az izolálás előtt már eleve "benne volt" a növényben
- a szövetek és szervek differenciálódásakor, ill. a növény további élete során bekövetkező mutációk következménye -> sejtszintű szomatikus mozaikosság
- in vitro körülmények hatására következett be
- kromoszómaszám változás (poli-, aneuploidia)
- molekuláris változások
- DNS metiláltság változás

- génmutációk
- mozgékony genetikai elemek

A mikroszaporítás realitása

A 20. sz. végére a mikroszaporított növények száma elérte az évi 500 milliót. Manapság ez 600-700 millió/év. Az ipari mikroszaporítás a 60-as években kezdődött a Cymbidium tenyésztéssel. A 90-es évek végére igen intenzív volt a fejlődés Európában. Ebben az időszakban kezdtek megjelenni az indiai és dél-afrikai piacok (105 labor, 200 milliós termeléssel). USA 100 kereskedelmi laborban, 120 millió növényt, 50% dísnövényt állított elő. Magyarországon 30 labor, nagy része dísnövényekre (krizantém, szegfű) és a burgonyára specializálódott. Zöldségféléknél a tiszta hím **spárga** állomány előállításában van jelentős szerepe.

Sterilitás

Az in vitro kultúrákat leggyakrabban fertőző organizmusok:

- baktériumok (Pseudomonas spp., Enterobacter spp.)
- gombák (Penicillium spp. Aspergillus spp., Fusarium spp.)
- ízeltlábúak (atkák, tripszek, üvegházi molytetvek)

Eszközök sterilizálása:

- Száraz hő (szárítószekrény 90-250 °C)
- Nedves hő (autokláv 120°C, 1,2 atm nyomás)
- Ultraszűrés (hő hatására bomló komponensek, pl. vitaminok, antibiotikumok stb.)
- Kémiai sterilizálás (steril fülke alkoholos letörlése)
- Sugárzás (UV lámpa a steril fülkében)
- Gázsterilizálás (műanyag edények)

Táptalaj

- Mikro és makroelemek
- Murasihige-Skoog, 1962 -> **MS táptalajok**
- Vitaminok
- C-vitamin, B-vitaminok, H-vitamin, PABA, Folsav, Inozit
- Növekedésszabályozó anyagok
- különböző hormonok
- Természetes serkentő anyagok
- könnyezési nedvek, kókusztej, banánkivonat, paradicsomlé
- Egyéb táptalajkomponensek
- szénhidrátok (szacharóz, glükóz, fruktóz, maltóz)
- szerves nitrogénforrások (aminosavak)
- aktív szén
- szilárdító anyagok (agar, Phytogel, Gelrite)
- KOH, citromsav (pH érték beállítása, pH=5-6)

Növekedés szabályozók

Auxin (IES; NES; IVS; 2,4D)

- sejtek megnyúlásos növekedése és gyökérképződés
- apikális dominancia fenntartása

Citokinin (Zeatin; 2iP; Kinetin; BA)

- sejtosztódás, differenciálódás, rejuvenizáció, csúcsdominancia megtörése

Gibberellin (GA3)

- megnyúlásos növekedés a fás növények juvenizációja

Etilén

- sejtosztódást és morfogenezist gátolja

Abszcizinsav

- gátló hatású stresszhormon

Brasszinoszteroidok

- etilénprodukciónak serkent
- xylem differenciálódás szabályozása
- növekedésgátlás a gyökérben
- serkenti a csírázást
- javítja a terméskötést
- fokozza az asszimilátumok felvételét
- növeli a só- és szárazsággal szembeni rezisztenciát
-

Fizikai körülmények

Fény

- fotoperiodus (pl. 12/12 vagy 16/8 óra)
- hullámhossz 660-460 nm (fotoszintetikus tartomány)
- fénycsövek
- hideg-, melegfénycsövek
- horizontális, vertikális elhelyezés



Hőmérséklet

- optimális 20-24°C
- trópusi növények. 27-30 °C

Tenyészciklus hossza - passzálások közötti időtartam

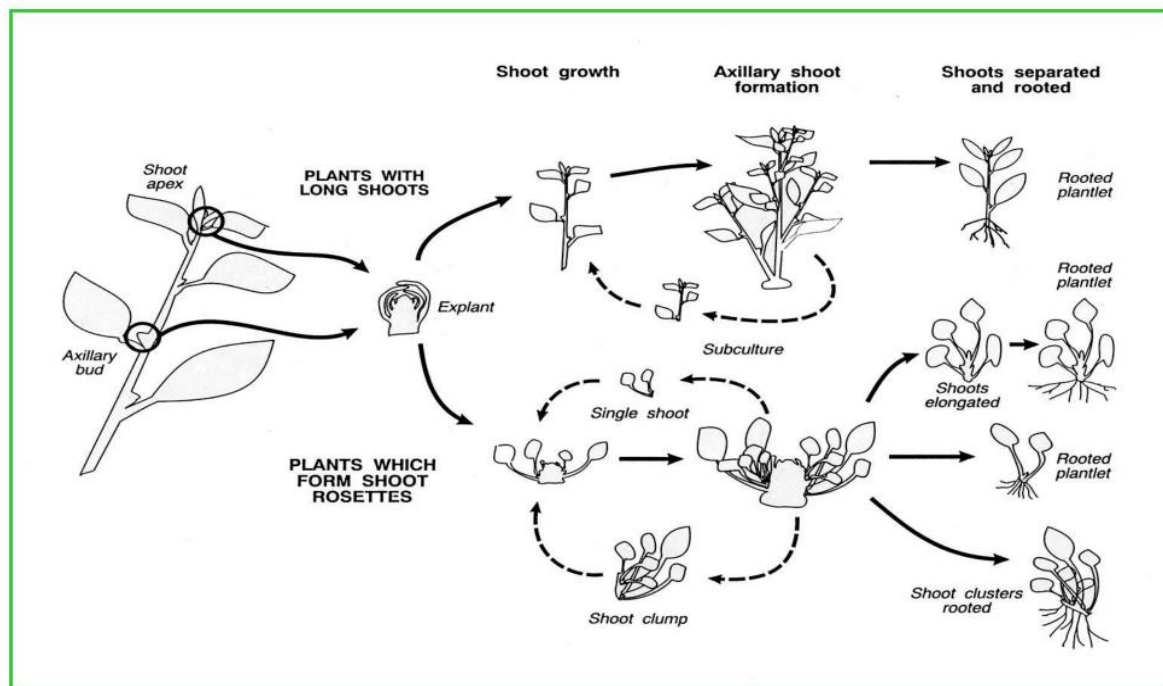
Tenyészmedény légtere - légzési gázok és páratartalom

A mikroszaporítás szakaszai

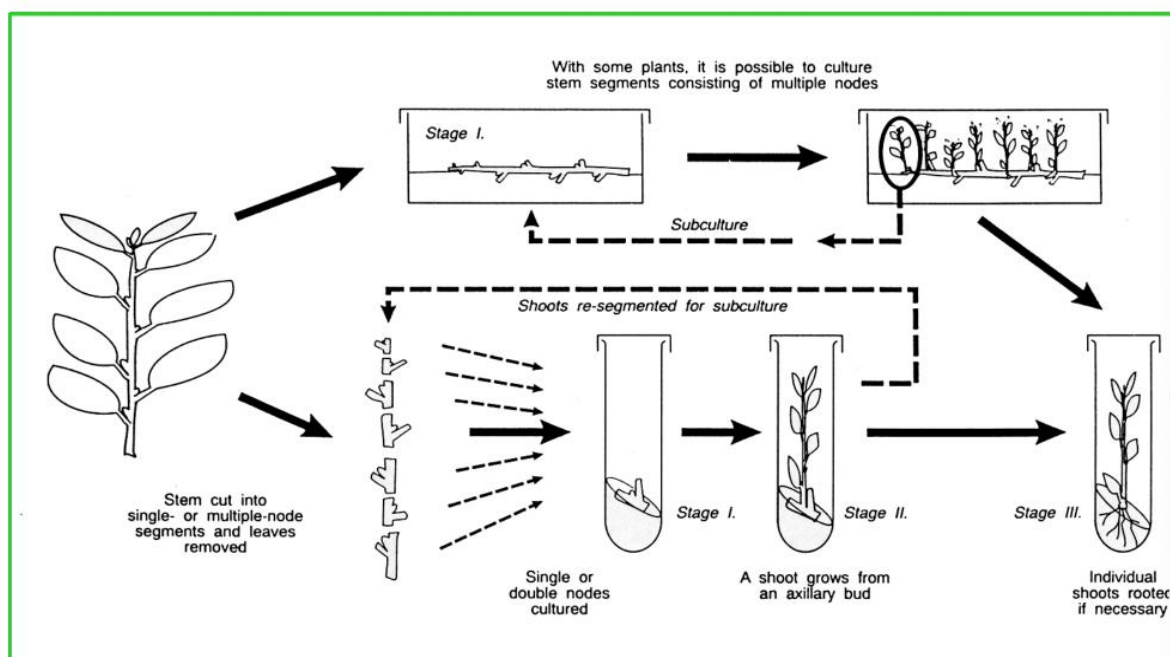
0. anyanyövények kiválasztása, előkészítése, vizsgálata
1. steril tenyészetek létrehozása
2. felszaporítás (magas citokinin, alacsony auxin szint)
3. megnyújtás és gyökereztetés (magas auxin alacsony citokinin)
4. akklimatizálás, üvegházi felnevelés

A fenti folyamatokat az alábbi ábrákon keresztül szemléltetjük

Explantátum készítése a növény növekedési típusának megfelelően



Hajtás feldarabolás



Gyökereztetés



Akklimatizálás, üvegházi felnevelés



A mikroszaporítás módszerei

- hajtástenyészetek
- járulékos hajtástenyészetek
- járulékos szervtenyészetek
- szomatikus embriogenezis

Hajtástenyésztés

Gyökér nélküli hajtások növekedését és fejlődését jelenti steril táptalajon. Az inokulom merisztémát tartalmazó explantátum (hajtáscsúcs)

- a mag csírázása után dekapitáljuk a hipo- vagy epikotilnál és a hajtáscsúcsot (merisztéma) oltjuk a táptalajra
- közvetlen regenerálás és szaporítás in vitro fejlődött hajtásokkal, oldalhajtásokkal és ezek hónaljrügyeinek nodális szegmentjeivel

A genetikai stabilitás valószínűsége e módszernél a legnagyobb veszélyforrásként a hajtások alapi részénél kalluszosodás indulhat, amely viszont már genetikailag instabil állapot. A felszaporított tenyészeteket kiültetés előtt gyökereztetni kell.

Alkalmazás: in vitro génbankok létrehozása, legáltalánosabb módszere a kertészeti és erdészeti fajok felszaporításának. Fertőzésmentes szaporító anyag előállítására alkalmas ellenőrzés után.

Járulékos hajtástenyészetek

Növényi szövetek izolálása - kallusz - differenciálódó hajtás vagy oldalhajtással szaporítás. A hajtásregenerálás az inokulumokból fejlődő kalluszokból.

Inokulum a növény bármely része felhasználható, amely tartalmaz merisztéma, parenchima stb. szöveteket, a lényeg, hogy minél fiatalabb legyen.

Az inokulumból kallusztenyészetet hozunk létre a dedifferenciálódás segítségével - sejtömeg regenerálás (organogenezissel alakulnak ki)

Járulékos hajtástenyészet

Járulékos szervek differenciálódása (pl. gumó, hagyma) szaporítása (másodlagos hajtástenyészet) - növények regenerálása

Legismertebb fajok: fokhagyma, burgonya, orchidea, ananász

Inokulum: a növény bármely része felhasználható, mely tartalmaz merisztéma, parenchima stb. szöveteket. Leggyakrabban: levél, szár, sziklevél, hipokotil, epikotil szegmensek, és minél fiatalabb legyen

Protokorm tenyészetek: kifejezetten folyékony táptalajon

A feldarabolt protokormokkal történik a szaporítás, differenciálódás - majd szilárd táptalajon hajtások regenerálódnak, a legalkalmasabb berendezés a bioreaktor

Szomatikus embriógenesis

A növényi sejtek, szövetek tenyésztése -> szaporítás sejtuszuszenzióban indukált és fejlődött szomatikus embrió -> mesterséges (szintetikus) szomatikus mag

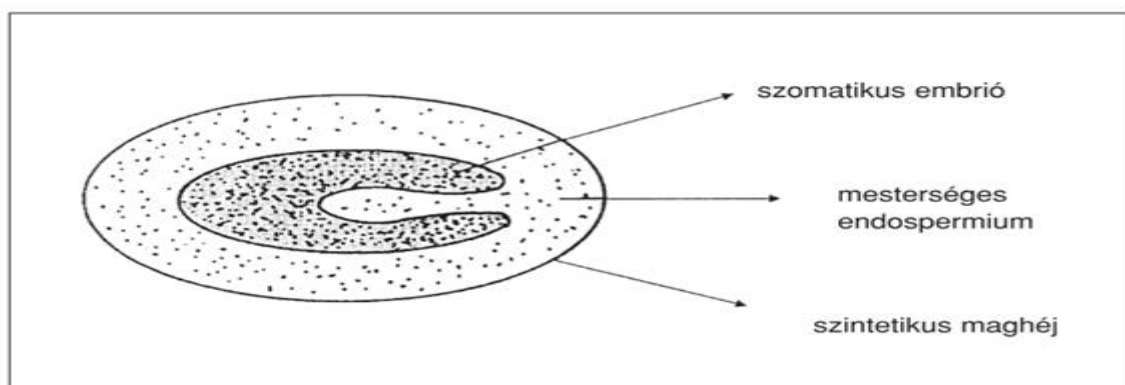
- szövettenyészetekben fejlődött testi sejtek genomját tartalmazó embrió és az azt burkoló tápláló, védő anyag

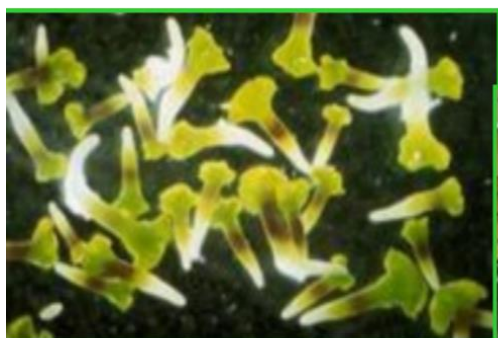
Inokulum: a növény bármely része, melyből egy jól működő embriogén rendszert kell létrehozni, ennek célja a kiinduló kallusz, azaz sejtuszuszenzió (rekalcitráns)

Érett szomatikus embriók előállítása:

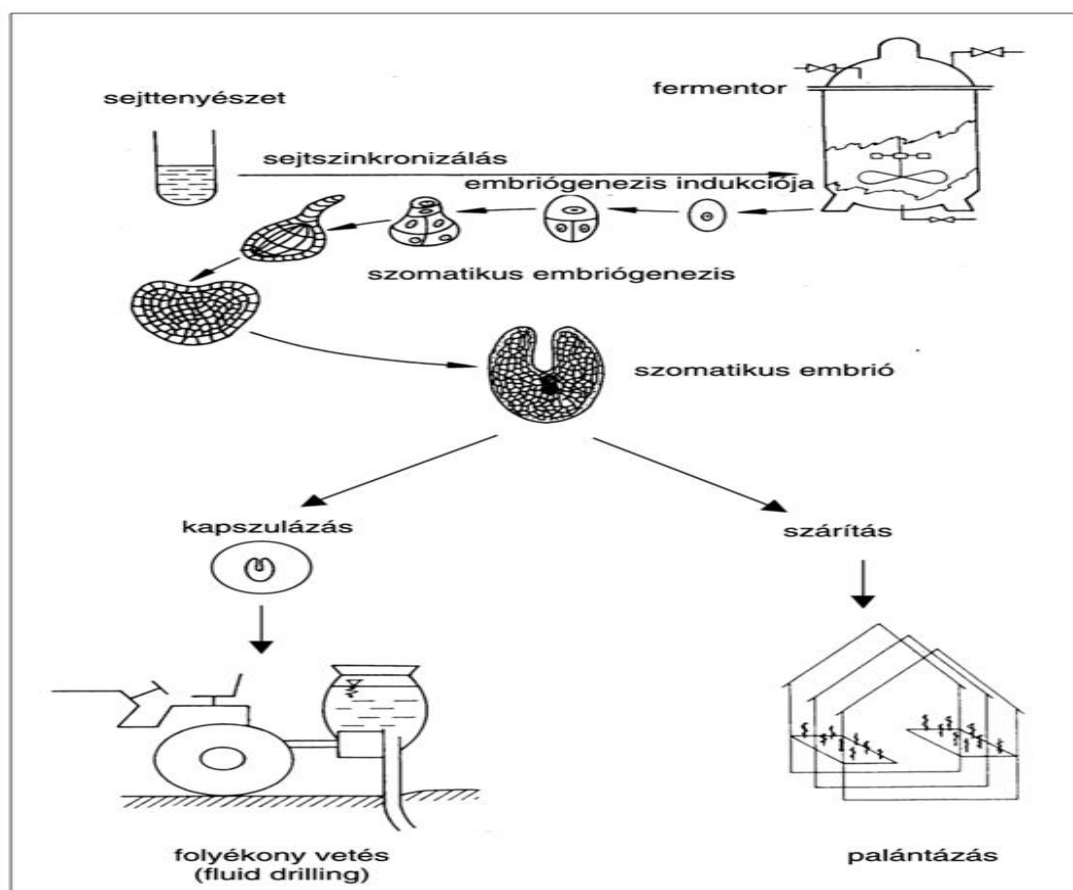
- az embriogén kallusz tenyészetben az embriogenezis indukciója, úgy, hogy azok 80-100%-ban azonos időben történjenek -> az inkubáció végén nagyszámú kb. azonos fejlettségű embrióömeg
- szomatikus embriók érlelése, hogy minél több legyen a csíráképes embrió
- alkalmazás pl.: kakaó –Nestlé

Embriókultúrák:





Mesterséges mag:



Gazdasági jelentőség

Általános jelentőség:

- heterózis felhasználása szélesebb körben (utódnak hasznosabb tulajdonságai vannak)
- heterózis fixálása
- teljes termés hasznosítása
- genetikai manipulációval előállított növények gyors felnevelése
- az előállítás helyének és idejének függetlenítése az évszaktól, kontinenstől
- 10 literes fermentorban, 1 hónap alatt 10 millió embrióállítható elő (1 ml = 100 ezer sejt)

Előny a többi vegetatív szaporításhoz képest:

- korlátlan és gyors szaporítási lehetőség (időben és térben)
- az in vitro növényeknek egyidejűleg gyökerük és hajtásuk is van
- közvetlenül is kijuttathatók a taljba
- alkalmasak a femrentációra
- alkalmas az automatizálásra
- alkalmas a krioprezervációra (kriobank)

Hátrány a többi vegetatív szaporításhoz képest:

- szomaklonális variabilitás
- nagy ráfordítást, befektetést igényel (élő munkaerő, eszközök, berendezések)

Kérdések

1. A zöldségnövények szaporítási módjai
2. A vegetatív szaporítás jellemzése
3. A mikroszaporítás jelentősége
4. A mikroszaporítás gyakorlati felhasználása
5. Mikroszaporítási módszerek
6. A mikroszaporítás gazdasági jelentősége

7

Források:

manome.bc.szie.hu/uploads/lov09_dj.pdf

<https://www.youtube.com/watch?v=3jtDqraUS40>

Kötelező irodalom

:

Némethné Uzoni Hanna-Ertseyne Peregı Katalin: Zöldségvetőmag-termesztés, Mezőgazda Kiadó, 2009.

.

Ajánlott irodalom:

Takácsné Hájos Mária: Zöldségajtatás, University Press, 2014.

Balázs Sándor: Zöldségtermesztők kézikönyve, Mezőgazda Kiadó, 2001.

<https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tkt/zoldsegtermesztok/ch10s04.html>

https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_533_NovenyiBiotechnologia/ch02s02.html

