



Szent István Egyetem

**A Kárpátalján védett *Narcissus angustifolius* Curt.
in vitro szaporítása**

Doktori értekezés tézisei

Jevcsák Melinda

Gödöllő

2016

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola
tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: Dr. Tóth Magdolna
egyetemi tanár, DSc
BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM,
Kertészettudományi Kar
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

Témavezetők: Jámborné dr. Benczúr Erzsébet
ny. egyetemi tanár, CSc
BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM,
Kertészettudományi Kar
Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék

Dr. Ördögh Máté
egyetemi tanársegéd, PhD
BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM,
Kertészettudományi Kar
Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszék

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

.....
.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
.....
A témavezetők jóváhagyása

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, KITŰZÖTT CÉLOK

Kárpátalja természeti értékeit tekintve Ukrajna kitüntetett területének számít, mivel Ukrajna Vörös Könyve alapján a 826 védett gomba- és növényfaj közül 268 megtalálható Kárpátalján is (DIDUKH, 2010). A védett fajok megőrzésének világstratégiája szerint a fajok védelme *in situ* és *ex situ* körülmények között is szükségszerű.

Az Ukrajna területén élő fehér nárcisz taxonok mindegyike szerepel korábbi és recens ukrajnai, illetve kárpátaljai vörös listán és vörös könyvben (SYTNIK, 1980; TAKHTAJAN, 1981; TASYENKEVYCH et al., 1982; KOMENDAR et al., 1987; KOMENDAR, 1996; KRICSFALUSY és BUDNIKOV, 1999; MALYNOVSKYI et al., 2002; SOBKA, 2002; SOBKO, 2007; ZYMAN és BULAH, 2009; Internet 1.-3.). Azonban részben a szovjet időkben végzett agrártevékenység, részben a dekoratív virágok miatti gyűjtés következtében a populációk, visszaszorultak, egyes élőhelyekről el is tűntek. Ezért a vadontermő nárciszokat még a Szovjetunió idején védettség alá vonták, és ez a határozat mindmáig életben van.

Az Ukrajnában védett keskenylevelű nárciszt a virágzási idő alatt tömegesen gyűjtik (KOMENDAR, 1996). A gyűjtés megakadályozására és a választék bővítésére felvetődött a termesztésbe vonás gondolata. A legkíméletesebb és leggyorsabb módszernek a mikroszaporítás ígérkezett, mivel évekkel ezelőtt már sikeresen megoldották egy termesztett nárciszfajta mikroszaporítását benziladenin (BA) alkalmazásával (JÁMBORNÉ BENCZÚR et al., 1989).

A Nárciszok Völgye 256,5 hektáron, a Máramarosi medencében terül el, mely 1979 óta védett, az UNESCO Kárpáti Bioszféra Rezervátum fennhatósága alá tartozik (CHOPYK, 1970a,b). A vizsgálatok elindításában Komendár Vaszil professzor (Ungvári Nemzeti Egyetem, Botanika Tanszék) is közreműködött, segítségével engedélyt kaptam a védett területre belépésre.

Célkitűzéseim az alábbiak voltak:

Kidolgozni a keskenylevelű nárcisz teljes mikroszaporítás technológiáját, amelynek kapcsán:

- Steril tenyészetek létrehozása, és a szaporítás elindítása PB és BA kombinációjával
- A szaporítás során a BA és PB kombinációjával magasabb szaporodási ráta elérése.
- A szaporítás során a BAR és PB kombinációjával a differenciálódott nagy sarjmagymák számának növelése.
- A sarjindukciós kísérlet során a vitrifikáció mértékének csökkentése megfelelő szaporodási ráta mellett.
- Az optimális gyökereztető táptalaj összetételének meghatározása.
- Akklimatizálás.
- Elsőként alkalmazni a paklobutrazolt a nárcisz mikroszaporítása során.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

A mikroszaporítási kísérleteket a Budapesti Corvinus Egyetem Dísznövénytermesztési és Dendrológiai Tanszékének laboratóriumában végeztem 2009-2013-ban.

A hagymákat 2009. július 4-én szedtem fel. Már 95 %-os visszahúzódást mutattak. 20 db hagymát készítettem elő a steril tenyésztéshez. A hagymákat ezt követően földesen tároltam a tenyészet indításáig, 20-25 °C-on.

2.1. A tenyészet indítása

A steril tenyészet első indítása

A hagymákról lemostam a földet, és az elszáradt pikkelyleveleket leszedtem egészen addig, amíg a fehér, még élő allevelekig jutottam (1. ábra). A hagymák már kezdtek új gyökereket hozni, így ezeket is el kellett távolítani, a hagymatönk egy részével együtt.

A hagymákat így sterilizáltam 2009. július 20-án:

- Folyó csapvízben (néhány csepp Tween-80 hozzáadásával) előmostam (2. ábra) 1 óra hosszat,
- Tíz percig 70 %-os etanolban, tíz percig 1 %-es HgCl₂-dal fertőtlenítettem a hagymákat (3. ábra)
- Steril boxban steril desztillált vízzel öblítettem, majd egészben inkubációs (hormonmentes) S-táptalajra tettem a hagymákat (4. ábra), a hidegkezelés biztosítása végett 4 °C-ra, 6 hétig.

Az indítást a hagymák 4, illetve 6 cikkelyre vágásával E1, fél makroelem töménységű MS (MURASHIGE és SKOOG, 1962), 1 mg/l BA + 0,1 mg/l NES tartalmú táptalajon kezdtem el 2009. szeptember 1-én. Az inkubáció során sterilnek látszó hagymák mind baktériumos fertőzést mutattak, így az első 5 hagymát elveszítettem.

A megmaradt hagymákat ismételt sterilizálásnak vetettem alá. Ehhez a Gram-pozitív baktériumok ellen hatásos malachitzöldet (ZATYKÓ, 1992) tartalmazó oldatban áztattam, majd ugyanezen hagymákat 3 mg/l malachitzöldet tartalmazó táptalajra helyeztem, egészben és felszeletelve is. A hagymák ennek ellenére továbbra is baktériummal fertőződtek.

Ezt követően baktériumtesztelést végeztem, mert az a gyanú merült fel, hogy az ismeretlen baktérium Gram-negatív. Ezt a teszt be is bizonyította. Ezután a maradék 5 hagymát az irodalmi adatok szerint a Gram-negatív baktériumok ellen is hatásos Cefotaximot (HEGEDŰS, 2005) tartalmazó oldatban (250 mg/l) áztattam, melyhez 3 mg/l malachitzöldet is adtam. A hagymákat rotorban, kémcsőben forgattam egy hétig, majd 200 mg/l Cefotaximot és növekedésszabályozó anyagokat (1 mg/l BA + 0,1 mg/l NES) is tartalmazó, E1C táptalajra helyeztem. Az így előkészített hagymapikkely szeletekből (explantum) 8 db bizonyult sterilnek, ezek közül 6 db-on elindult a sarjfejlődés. A sarjdifferenciálódás igen lassan zajlott le, részben az antibiotikumnak köszönhetően, mivel az a növényre is gátlón hatott.



1. ábra: A megtisztított nárcisz hagymák



2. ábra: A hagymák csapvizetes előmosása



3. ábra: A hagymák áthelyezése az 1 %-es HgCl_2 oldatból a desztillált vízbe



4. ábra: A nárcisz hagymák egészben kerültek a hormonmentes (S) táptalajra

A kapott (kevés) steril növényanyagot 2010. január 15-én Cefotaximot már nem tartalmazó E1 táptalajon tenyésztettem tovább. Mivel a szubkultúra nagyon heterogén eredményt adott, a vitrifikált sarjakat hormonmentes (S), míg a normálisan fejlődött kis hagymákat kettévágva E1 táptalajra helyeztem. Az eredményeket 2010. július 1-én értékeltem, majd a következő értékelést 2011. március 3-án végeztem. A növényanyag heterogenitása és matematikai értékeléshez kevés száma miatt csak átlagokat határoztam meg.

A steril tenyészet újbóli indítása különféle citokininekkel

Mivel az első indításból kevés utódot kaptam, és a szaporodás nagyon lassú volt, ezért 2010-ben ismét arra kényszerültem, hogy az eredeti termőhelyről gyűjtsék újabb 20 db hagymát. A hagymák felének felszíni fertőtlenítését a már ismertetett módon végeztem, eredményként 6 db steril hagymát kaptam, ezeket előkezelések után feldarabolva helyeztem a szaporító táptalajokra.

Új eljárásként már az inkubáció során előkezeltem a hagymák egy részét BA-nel. Emellett a ritkán használt metatopolint (MT) és a paklobutrazolt (PB) is alkalmaztam az

indításhoz. A hagymákat a fertőtlenítés után egészben helyeztem 2010. július 17-én az inkubációs, BM makroelemeket (JÁMBORNÉ BENCZÚR és MÁRTA, 1990) és HELLER (1953) mikroelemeket tartalmazó S táptalajokra, melyek vagy hormonmentesek voltak, vagy 1 mg/l BA-t tartalmaztak. Az inkubációt követően a tényleges indítás (a hagymák feldarabolásával) 2010. szeptember 13-án történt.

Az alkalmazott kombinációkat az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat: A 2. indítás során alkalmazott előkezelő és indító táptalajok jelzései és összetétele

Előkezelő	BA (mg/l)	Indító	PB (mg/l)	BA (mg/l)	MT (mg/l)	IVS (mg/l)
S	-	PB1	2,5	0,5	-	0,1
S	-	PB2	2,5	1	-	0,1
E1	1	PB3	0,25	1	-	0,1
E1	1	E1	-	1	-	0,1
S	-	E1	-	1	-	0,1
S	-	MT1	-	-	1	0,1

A kísérletet 2011. február 10-én értékeltem. Mivel egy-egy kombinációhoz csak 1-1 hagyma feldarabolt cikkelyeit tudtam felhasználni, ezért az eredményeket átlagszámítással értékeltem.

2.2. Az egyes kísérletek során alkalmazott táptalajok

A tenyésztéshez (indításhoz, szaporításhoz, gyökereztetéshez egyaránt) használt 100 ml-es Erlenmeyer lombikokba 50 ml táptalajt öntöttem. A lombikokat az autoklávozáshoz alumínium fóliával fedtem. A táptalaj szilárdítására 10 g/l agart és szénforrásként 30 g/l szacharózt adtam. A táptalajok pH-ját 1 M KOH-dal 5,5-re állítottam be. A táptalajokat 30 percig 10^5 Pa túlnyomáson, 120 °C-on fertőtlenítettem.

2.2.1. A paklobutrazol alkalmazása a szaporítás során (2. kísérlet)

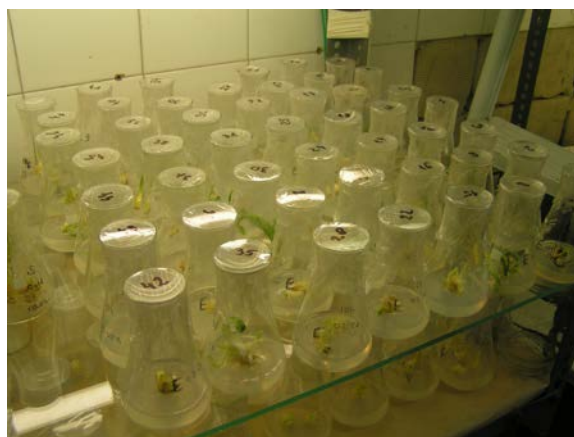
A kísérletnek az volt a célja, hogy az előző munkában elért sarjszámot tovább emeljem. A célt úgy kívántam elérni, hogy a tenyészet második indítása során pozitív hatású paklobutrazol különböző koncentrációit és kombinációit alkalmaztam (2. táblázat).

2. táblázat: A kísérlet során alkalmazott táptalajok összetétele

Táptalaj	BA (mg/l)	PB (mg/l)	NES (mg/l)
PB1	0,5	2,5	0,1
PB2	1	2,5	0,1
PB3	0,5	0,25	0,1
PB4	1	0,25	0,1
E1	1	-	0,1
E0,5	0,5	-	0,1
S	-	-	-

2.2.2. A paklobutrazol utóhatásának vizsgálata hormonmentes táptalajon (5. kísérlet)

Az eddigi tapasztalatok azt bizonyították, hogy PB hatására megindult a sarjképződés, de később vitrifikációt okozott. Az adott kísérlettel arra kerestem a választ, hogy a PB csak rövidebb ideig történő alkalmazása esetén (miután a merisztéma-indukció bekövetkezik és a tenyészetek hormonmentes táptalajra kerülnek), kis hagymák differenciálódása mellett vajon kiküszöbölhető-e a vitrifikáció.



5. ábra: A PB tartalmú indukciós táptalajokon beállított kísérlet állománya

Az előző kísérletek során differenciálódott steril hagymák feldarabolt cikkelyei 2012. január 18-án indukciós táptalajra (1 mg/l BA + 1 mg/l PB + 0,1 mg/l NES) kerültek (5. ábra), lombikonként 1-2 inokulummal. Ezt követően a tenyészetek három csoportra (1,2,3) osztva, három egymást követő alkalommal, 11-13 napos intervallummal hormonmentes ½ MS alaptáptalajra kerültek január 30-án, február 10-én és 23-án, ezáltal vizsgáltam az indukció különböző időtartamának hatását. A tenyészetek fejlődését hat alkalommal követtem nyomon: 2012. március és április 27-én, május 08-án és 29-én, jún. 19-én, végül szeptember 17-21-én.

A tenyészeteket 16/8 órás fotoperiódus mellett 3000 lux fényerősségen tartottam a szaporítás során, minden növekedésszabályozó esetén.

2.2.3. A gyökereztetés során alkalmazott táptalajok

A kísérletet 2013. január 29-30-án indítottam, és március 3-5-én értékeltem ki.

A kísérlethez fél makroelem töménységű MS alaptáptalajt alkalmaztam. A kiegészítéseket az 3. táblázat tartalmazza. Korábbi kísérleteim arról tanúskodtak, hogy a nárcisz hormonmentes táptalajon is meggyökeresedett, de feltételeztem, hogy NES hozzáadásával jobb eredményt kaphatok. Mivel a PB elvileg a gyökeresedést serkenti, így azonos koncentrációban azt is alkalmaztam. A két serkentőszert egyszerre is használtam annak reményében, hogy együttesen jobb hatást fejtenek ki. A tenyésztés körülményei az első kísérletnél írottakkal megegyeztek.

Az előző kísérlet során nyert steril sarjhagymákat használtam, melyeket a gyökeresítő táptalajokra helyeztem. Az értékeléskor többek között a teljes hagymák tömegét (6. ábra) is feljegyeztem.

3. táblázat: A kísérlet során alkalmazott táptalajok jelzései és kiegészítései

Táptalaj	PB (mg/l)	NES (mg/l)
E0	0	0
GN1	0	0,1
GN2	0	0,2
GN3	0,1	0
GN4	0,2	0
GN5	0,1	0,1

2.3. Akklimatizálás

A gyökereztetési kísérletet követően a meggyökeresedett hagymákat 2013. március 5-én műanyag cserepekbe ültettem, tőzeg-perlit 1:1 arányú keverékébe. Az állományt ezt követően fitotronba helyeztem, akklimatizálásra. Az akklimatizálási idő másfél hónapig tartott 60-80 %-os RP mellett. A fitotronban beállított, további paramétereket a 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat: A fitotronban 2013. március 5-én beállított környezeti értékek

Napszak (óra)	6-től	9-től	11-től	17-től	20-től	21-től
Hőmérséklet (°C)	22	23	25	24	23	22
Fényerősség (lux)	4000	11500	11500	11500	4000	0

A fitotronból kikerült növényeket 2013. április 16-án értékeltem, majd üvegházba kerültek. Itt 18-23 °C-on, természetes megvilágítás mellett fejlődött tovább az állomány, melyet 2013. május 14-én és június 16-án ismét vizsgáltam. Az értékelés során a levélképződésen túl feljegyeztem a hagymák életképességét, valamint azt is, hogy a gyökerek a tenyészedeények alján megjelentek-e. Ezekből az adatokból %-ot számoltam.

2.4. Az értékelés módszere

A kísérleteim értékeléséhez 20-20 tenyészeti adatait vettem figyelembe. A tenyészetekben kis (1-9 mm) és nagy sarjak (10 mm-felett) egyaránt képződtek, emiatt külön vettem fel az adatokat (db, mm). A kialakult gyökereket is számoltam (db) és mértem (mm). Egyes táptalajokon vitrifikációt is megfigyeltem, az erre vonatkozó adatokat is rögzítettem. A gyökereztetési kísérlet során a fejlődött levelek adatait is feljegyeztem (db, mm), valamint a hagymák tömegét (g).

A mérések során kapott adatok bevitelét és rendezését, illetve a diagramok elkészítését a Microsoft Excel táblázatkezelő program segítségével oldottam meg. Az első két felszaporítási



6. ábra: A teljes hagymák tömegének mérése

kísérlet és az akklimatizálás esetén a kísérletek kiértékelését a Ropstat statisztikai programcsomag segítségével végeztem, egytényezős varianciaanalízissel. Az eredményeket 95%-os megbízhatósági szint ($p < 0,05$) mellett elemeztem. A további felszaporítási kísérletek, valamint a gyökereztetési kísérlet esetén az adatok kiértékelését a SPSS statisztikai programcsomaggal, egytényezős varianciaanalízissel (Tukey HSD) végeztem, az eredményeket 95%-os megbízhatósági szint mellett elemeztem. Az egyes grafikonokon és táblázatokban látható betűjelzések a szignifikáns különbségeket jelölik.

3. EREDMÉNYEK

3.1. A tenyészet indítása

A steril tenyészet első indítása

A 2009. július 20-án fertőtlenített hagymák a hűtést követően a fényszobában 1 hét elteltével sterilnek látszottak. Egy részük, melyet 2009. szeptember 14-én indukciós táptalajra helyeztem, baktériumos fertőzést mutatott, ám a Cefotaximmal való kezelést követően a sterilnek bizonyult 8 explantumból haton indult el az igen lassú a sarjdifferenciálódás.

Az első indításból a Cefotaximos kezelést követően 14 hét múlva egyetlen hagymából származó explantumok maradtak sterilek, összesen 7 db, ami 10 %-os sterilitási eredményt jelentett. Egy hagymacikkely átlagosan 1 sarjat hozott. A megduzzadt hagymapikkelyeket a tönkdarabbal együtt több darabra vágva E1 táptalajon tenyésztettem tovább.

Ezt az átrakást 18 hét múlva értékeltem. A kapott eredmény nagyon változatos képet mutatott, egyik pikkelydarabon több apró, másikon kevesebb, de nagy sarj fejlődött. A sarjak egy része vitrifikációt mutatott. Ezeket hormonmentes S táptalajra, míg a nagyobb sarjakat felszelve E1-es táptalajra helyeztem.

A kísérletet 10 hónap múlva értékeltem: összesen 15 db, kisebb-nagyobb méretű és sarjszámú steril tenyészetem lett S és E1 táptalajokon. Az S táptalajon a vitrifikációt mutató inokulumokon egységes szöveti felépítésű sarjak fejlődtek. Átlagosan 5,2 db sarjat és 18,2 db gyökeret kaptam. Az E1 táptalajon újonnan differenciálódott sarjak átlaga 5,8, míg a gyökérszám átlaga 2,1 db volt. A tenyészetek túlnyomó része ezen a táptalajon, ezért hormonmentes S táptalajra került. Ekkorra az átrakást követően már 84 db hagymácskával rendelkeztem az első indításból.

A steril tenyészet újbóli indítása különféle citokininekkel

A 2010 nyarán indított és inkubációs előkezelésekkel kombinált kísérlet eredményesen zárult. Összesen 6 kezelést alkalmaztam. A legjobb kombinációnak (a hormonmentes inkubációt követően) a PB2 szaporító táptalaj bizonyult, amin 8,7 sarj képződött (5. táblázat). Ezt követték a szintén hormonmentes táptalajon inkubált, de PB1 szaporító táptalajra került explantumok, ezeken átlagosan 4,5 db sarjat, de jóval kisebb méretű hagymácskákat kaptam. 100%-os gyökeresedést tapasztaltam (a

PB2 táptalajon is), és a gyökerek átlagszáma (12,5 db) itt volt a legtöbb. Hasonló eredményt adott az E1 inkubációs táptalaj PB3 szaporító táptalajjal kombinálva, ugyanakkor 50%-ra csökkent a gyökeresedés mértéke.

5. táblázat: A második indítás során fejlődött sarjak adatai a különböző táptalajokon

Előkezelő	Indító	Sarjszám	Sajhossz átl.	Sarjszéles.	Gyökérsz.	Gyökeres
S	PB1	4,5	4,3	2,1	12,5	100
S	PB2	8,7	9,4	5,5	4,3	100
E1	PB3	3,7	7,7	6,4	2,7	50
E1	E1	2,1	3,4	2,5	1,3	33
S	E1	0,4	12,6	9,0	0	0
S	MT1	0,6	12,0	6,0	0	0

A BA-t tartalmazó előkezelő táptalajnak csak abban az esetben volt döntő hatása, ha az indító táptalaj csak BA-t tartalmazott, így átlagosan 2,1 db sarjhagymát kaptam. A legrosszabb kombinációt a hormonmentes előkezelő táptalajról E1 és MT1 táptalajra került explantumok esetén kaptam, ahol a sarjszám még az egyet sem érte el, bár a differenciálódott hagymácskák a többihez képest nagyobbak voltak. E kombinációkon gyökérfejlődést nem tapasztaltam.

3.2. Az egyes kísérletek során alkalmazott táptalajok hatása

3.2.1. A paklobutrazol hatása a szaporodásra (2. kísérlet)

Mivel a második indításkor a PB alkalmazásával jó eredményt értem el, ebben a kísérletben a különböző PB-koncentrációk sarjszámra gyakorolt hatását vizsgáltam.

Ahogy a kis hagymák adatait mutató 6. táblázaton is látható, sarjszám tekintetében a PB3 (11. ábra) és PB4 táptalaj (12. ábra) bizonyult a legjobbnak, a többi táptalajjal összevetve szignifikánsan. Bár a PB4 táptalajon képződött a legtöbb sarj (7,75 db), ez nem különbözött szignifikánsan a PB3 táptalajon kapott értékhez (6,65 db) képest. A hormontartalmúak közül a PB1 (9. ábra) és E1 táptalaj (13. ábra) adta a leggyengébb eredményt (2,35 db sarj). A PB2 (10. ábra) az E0,5-höz hasonló hatású volt. A jobb eredményeket a kisebb hormontartalmú táptalajokon kaptam a sarjszám tekintetében. A leghosszabb (7,65 mm-es) sarjakat az E1 táptalajon mértem, ez szignifikánsan a PB1 és PB4 táptalajon kapott értékektől (5,5 és 5,58 mm) különbözött.

A 7. táblázatban jól látható, hogy a nagy hagymák tekintetében a PB3 táptalaj adta a legjobb eredményt (2,5 db sarj), amely szignifikánsan különbözött az E0,5 táptalaj eredményezte 1,1 db sarjtól. A kontrollt (S táptalaj: 28,5 mm) leszámítva, a leghosszabb (22,63 mm-es) sarjakat a PB4 táptalajon találtam, a legrövidebbeket (16,8 mm) pedig az E05-ön, az utóbbit a kontrollal összehasonlítva mutatkozott szignifikáns eltérés.

A különböző táptalajokon kapott gyökeresedési adatokat a 8. táblázat tartalmazza, mi szerint a PB4 táptalajon a gyökerek száma, hossza egyaránt alacsonynak mutatkozott. Ez előnyt jelentett, mert ebben a (szaporítást, sarjképződést célzó) kísérletben a gyökerek képződését el

kívántam kerülni, lévén, az újabb táptalajokra történő átrakásoknál a gyökereket a tenyészetek könnyebb kezelhetősége érdekében célszerű volt eltávolítani. A PB1, PB2 táptalajokon képződött a legkevesebb gyökér (0,75, 0,85 db), valamint a gyökeresedési arány és gyökérhossz átlagok ideálisan alacsonyak voltak (7-7%, illetve 2,9 és 4,75 mm), ám a kis hagymák sarjszáma kedvezőtlenül alakult. A hormonmentes és a kis hormontartalmú táptalajokon a tenyészetek 100 %-ban gyökeresedtek, ami a mikroszaporítás e szakaszában nem kívánatos. A hormonkoncentráció növelésével a gyökeresedési arány csökkent (7. ábra). Az E1 táptalajon találtam a PB3 táptalajt követően a legtöbb gyökert (előbbin 3,7, utóbbin 4,15 db-ot) a kontrollt (9,85 db) leszámítva; és ezen értékek az esetek többségében szignifikánsan is meghaladták a PB1, PB2, PB4, E0,5 táptalajokon kapottakat. A gyökerek a kontrollon (33,88 mm) kívül az E0,5 (16 mm) és E1 (8,68 mm) táptalajokon nyúltak a leghosszabbra; a különbség a többi táptalajhoz képest csak az utóbbinál nem volt minden esetben szignifikáns.

6. táblázat: A kis hagymák számának és hosszának alakulása a vizsgált táptalajokon

	Kis hagyma (átlagértékek)	
Táptalaj	sarjszám (db)	sarjhossz (mm)
PB1	2,35 ± 1,09 a	5,50 ± 2,78 a
PB2	3,15 ± 1,04 a	6,50 ± 1,86 ab
PB3	6,65 ± 2,80 b	6,25 ± 3,55 ab
PB4	7,75 ± 4,54 b	5,58 ± 1,18 a
E1	2,35 ± 1,09 a	7,65 ± 2,03 b
E0,5	3,70 ± 0,87 a	7,18 ± 1,41 ab
S	0 c	0 c

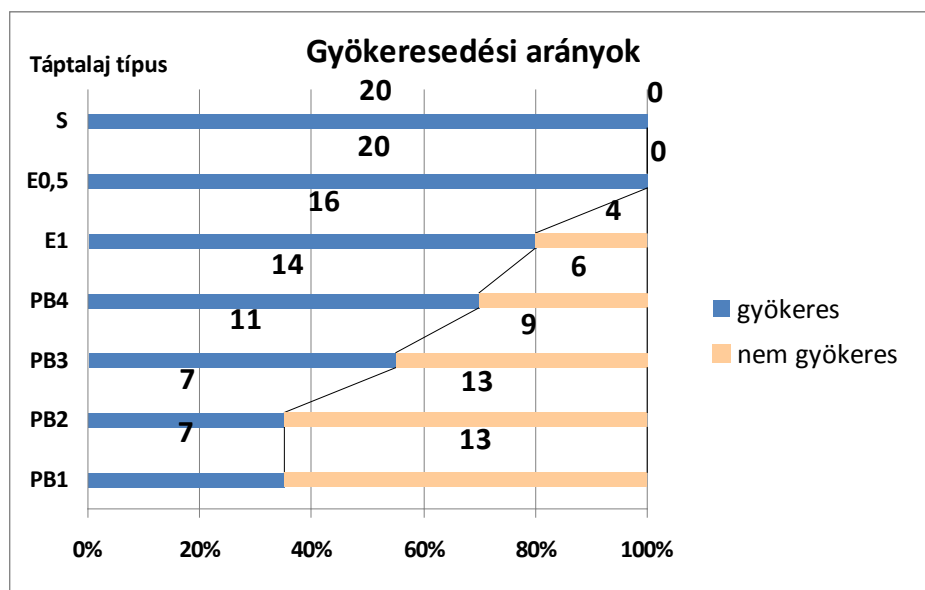
A tenyészetek egy része vitrifikálódott (8-10, 14. ábra), ugyanakkor hormonmentes (S) táptalajon e jelenséget nem tapasztaltam. A PB-t magasabb koncentrációban tartalmazó PB1, PB2, PB3 táptalajokon fokozódott a vitrifikáció, különösen az előbbi kettőn, ahol az állomány 60 és 70%-ka vitrifikálódott (8-10. ábra). E tenyészetek egy része csak hormonmentes táptalajra helyezést követően válhat életképesé.

7. táblázat: A nagy hagymák számának és hosszának alakulása a vizsgált táptalajokon

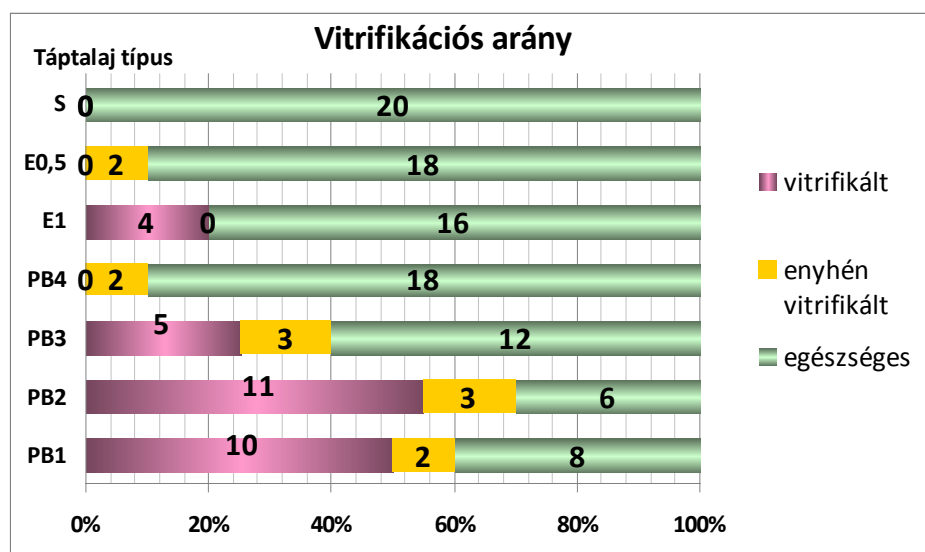
	Nagy hagyma (átlagértékek)	
Táptalaj	sarjszám (db)	sarjhossz (mm)
PB1	1,40 ± 0,60 ab	20,23 ± 9,71 a
PB2	1,50 ± 0,76 ab	21,93 ± 6,21 a
PB3	2,50 ± 3,62 a	20,75 ± 6,96 a
PB4	1,15 ± 0,37 b	22,63 ± 6,61 ab
E1	1,45 ± 0,69 ab	20,52 ± 9,09 a
E0,5	1,10 ± 0,31 b	16,8 ± 3,07 a
S	1,50 ± 0,69 ab	28,5 ± 5,98 b

8. táblázat: A gyökerek számának és hosszának alakulása a vizsgált táptalajokon

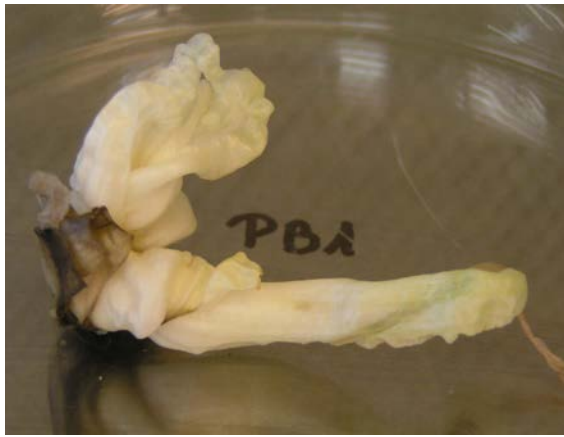
Táptalaj	Gyökér (átlagértékek)	
	gyökérszám (db)	gyökérhossz (mm)
PB1	0,75 ± 1,12 a	2,90 ± 4,90 a
PB2	0,85 ± 1,31 a	4,75 ± 11,39 abc
PB3	4,15 ± 5,04 b	4,30 ± 5,12 abc
PB4	1,60 ± 1,54 ac	4,65 ± 3,49 abc
E1	3,70 ± 2,56 bc	8,68 ± 5,43 c
E0,5	1,30 ± 0,47 a	16,00 ± 5,03 d
S	9,85 ± 2,37 d	33,88 ± 4,55 e



7. ábra: A gyökeresedés alakulása a kísérleti táptalajokon



8. ábra: A vitrifikáció (hiperhidratáció) alakulása a kísérleti táptalajokon



9. ábra: Erősen vitrifikálódott nagy és kis sarjhagyma a PB1 táptalajról



10. ábra: Az előzőnél kevésbé vitrifikálódott nagy és kis sarjhagymák a PB2 táptalajról



11. ábra: Egy nagy és több kis sarjhagyma a PB3 táptalajról



12. ábra: A nagy sarjhagyma körül jól látható kis sarjhagymák a PB4 táptalajról



13. ábra: Nagy és kis sarjhagymák az E1 táptalajról



14. ábra: Enyhén vitrifikált sarjhagymák az E0,5 táptalajról

3.2.2. A paklobutrazol utóhatás vizsgálatok eredményei hormonmentes táptalajon (5. kísérlet)

A kísérlet kezdetén, 2012 márciusában még az első, április-májusban a harmadik, míg júniusban, szeptemberben ismét az első csoport állománya képezte a legtöbb sarjhagymát (9. táblázat). Az

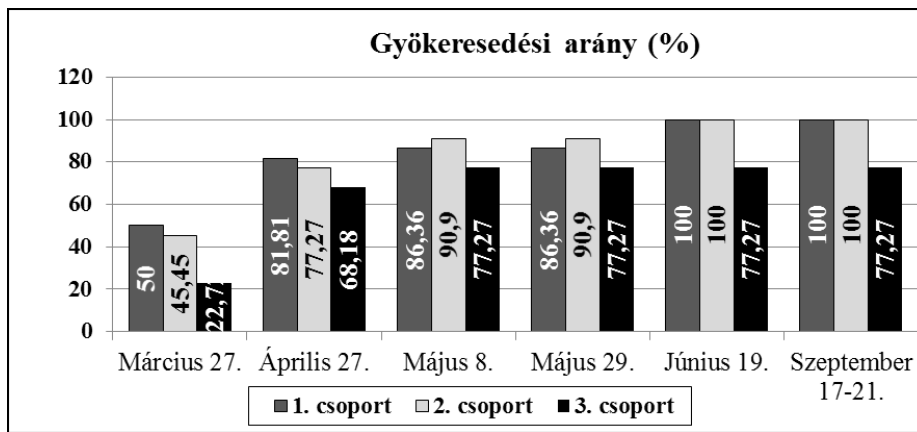
utóbbi hónapban egyben szignifikáns különbség is mutatkozott az első és a harmadik csoportba tartozó kezelések sarjthagyma számai közt (4,9 és 3,68 db).

9. táblázat: Átlagos sarjthagyma- és gyökérszám a *N. angustifolius* tenyészetekben

Megfigyelések ideje (2012)	Csoport	Sarjthagymák száma	Gyökerek száma
Március 27	1.	0,95 ± 1,21 a	1,54 ± 2,11 a
	2.	0,5 ± 0,8 a	1,09 ± 1,5 a
	3.	0,4 ± 0,66 a	0,54 ± 1,22 a
Április 27	1.	1,31 ± 1,17 a	2,72 ± 2,27 a
	2.	1,18 ± 1,29 a	2,54 ± 2,08 a
	3.	1,68 ± 1,64 a	3,4 ± 3,2 a
Május 8	1.	1,9 ± 1,3 a	4,59 ± 2,93 a
	2.	1,86 ± 1,39 a	4,4 ± 3,2 a
	3.	2,54 ± 2,13 a	6,54 ± 6,37 a
Május 29	1.	2,4 ± 1,36 a	6,13 ± 3,72 a
	2.	2,27 ± 1,63 a	5,09 ± 3,63 a
	3.	2,95 ± 2,25 a	8,36 ± 8,28 a
Június 19	1.	3,22 ± 1,41 a	7,72 ± 2,41 a
	2.	2,63 ± 1,56 a	5,63 ± 3,59 b
	3.	3,13 ± 1,78 a	9,04 ± 8,34 ab
Szeptember 17-21	1.	4,9 ± 1,37 a	8,71 ± 2,83 a
	2.	4,54 ± 1,29 ab	8,04 ± 2,4 a
	3.	3,68 ± 1,46 b	13,91 ± 8,55 b

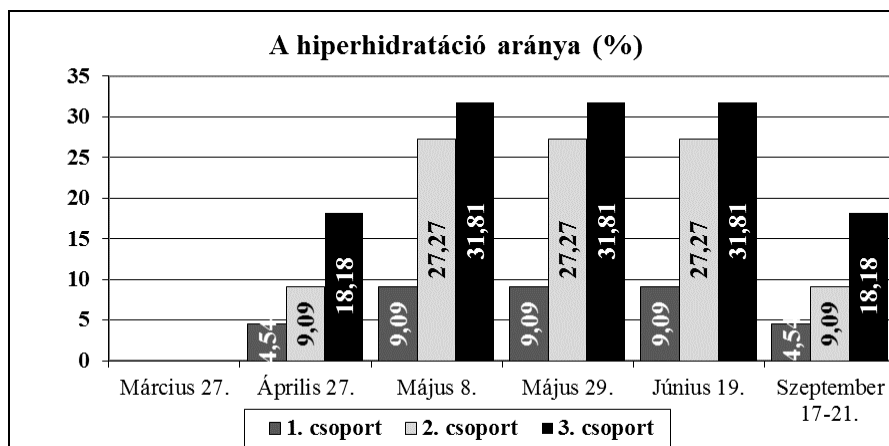
A gyökérszám majdnem minden mérési időpontban (márciust kivéve) a 3. csoport esetén volt a legmagasabb. Átlagosan (és a másik két csoporthoz képest szignifikánsan) a legtöbb, 13,9 db gyökér a szeptemberi kiértékelésre képződött a 3. csoportban a 34 napos előkezelést követően. A gyökérhosszúságot csak az utolsó kiértékeléskor mértem. Nem mutatkozott pozitív korreláció a gyökérhosszúság és az előkezelési idő között, a leghosszabb (41,19 mm-es) gyökerek az első csoportban fejlődtek.

Az első és második csoport állományai már júniusban is 100 %-ban begyökeresedtek. A márciusban, áprilisban is a legkisebb mértékben gyökeresedő harmadik csoportban ez az arány csak a 77,27 %-ot érte el, ami a májusi megfigyelési időponttól kezdve nem változott. A PB a túl hosszú előkezelési időszak miatt gátlónak bizonyulhatott (15. ábra).



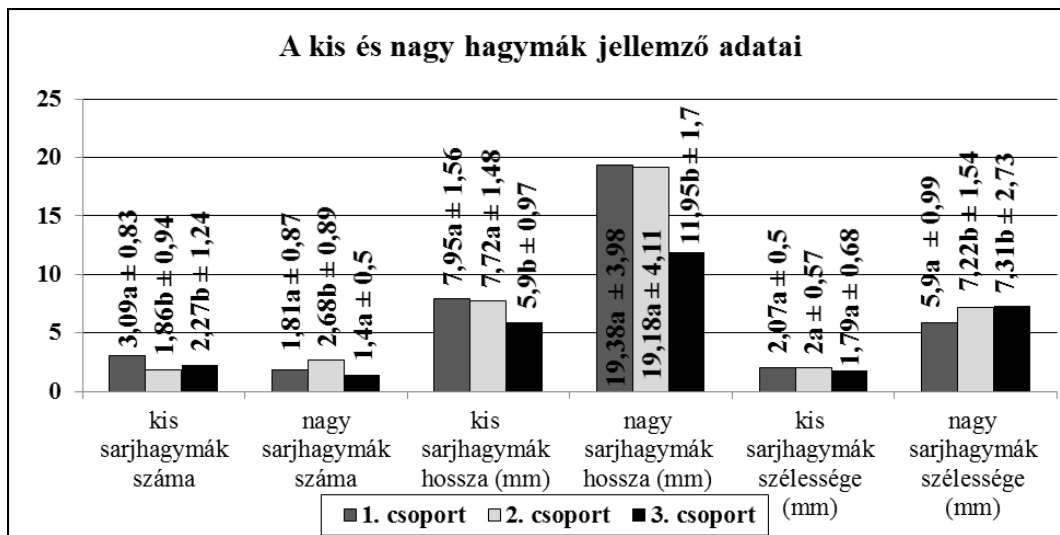
15. ábra: A gyökeresedési % alakulása csoportonként a *Narcissus angustifolius* tenyészetekben, a különböző értékelési időpontokban

Hiperhidratált (vitifikált) sarjhagymákat először április 27-én találtam, és már akkor is a harmadik csoportban mutatkozott a legnagyobb (18,18%-os) arányban ez a rendellenesség. A következő (május 8-i) értékeléskor mind a 3 csoportban emelkedett a hiperhidratált egyedek száma (legfeljebb 31,81 %-ra, a harmadik csoport esetén), de a végső, szeptemberi kiértékelésre ez a szám ott is 18,18 %-ra csökkent (16. ábra), leginkább az első (4,54%) és a második (9,09%) csoportban (16. ábra).



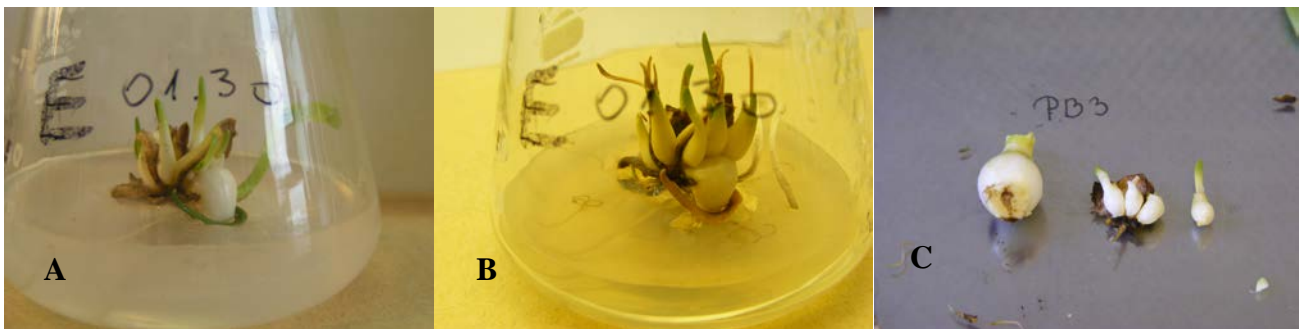
16. ábra: A hiperhidratált hagymák százalékos megoszlása a *Narcissus angustifolius* tenyészetekben, a különböző értékelési időpontokban

Az utolsó vizsgálati napon (szeptember 21-én) a sarjhagymákat csoportosítottam nagyság szerint, mint kis és nagy sarjhagymák (17. ábra). Átlagosan (és a másik 2 csoporthoz képest szignifikánsan) a legtöbb (3,09 db) kis sarjhagymát az első, a legtöbb (2,68 db) nagyot pedig a második csoportban találtam. Mind a kis, mind a nagy sarjhagymák az első csoportban fejlődtek a leghosszabbra (kis: 7,95 mm, nagy: 19,38 mm), illetve a harmadik csoport kis és nagy sarjhagymái jelentősen rövidebbnek és keskenyebbnek bizonyultak a másik 2 állományeihez viszonyítva. A kis sarjhagymák szélessége is az első állományban volt (bár nem szignifikánsan) a legnagyobb (2,07 mm), míg a nagy sarjhagymáknál a harmadik csoportban kaptam ilyen eredményt (7,31 mm).

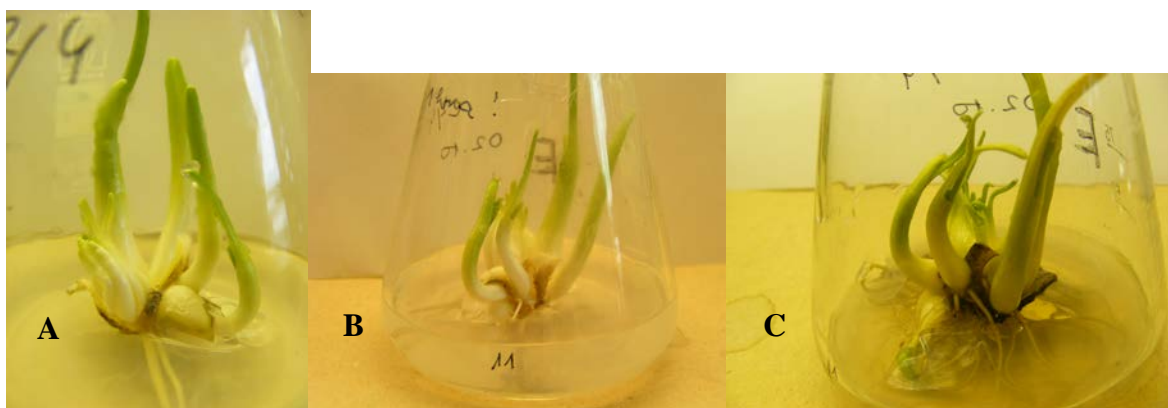


17. ábra: A kis és nagy sarjhagymák jellemző adatai (hagymaszm, hosszúság és szélesség) a *Narcissus angustifolius* tenyészetekben, szeptember 21-én
 (*kicsi: rövidebb, mint 9 mm, nagy: hosszabb, mint 10 mm)

Mind a három csoportra példát szemléltetnek (ugyanazon egyedet lefotózva három különböző értékelési időpontban) a 18-20. ábrák. A legutóbbin rendellenesen fejlődött, vitrifikálódott sarjhagymák láthatók.



18. ábra: Az első kezelésnek alávetett 1. számú egyed a március 27-i (A), május 29-i (B), illetve szeptember 17-i (C) kiértékelés idején



19. ábra: A második kezelésnek alávetett 11. számú egyed a május 8-i (A) és 29-i (B), illetve szeptember 18-i (C) kiértékelés idején

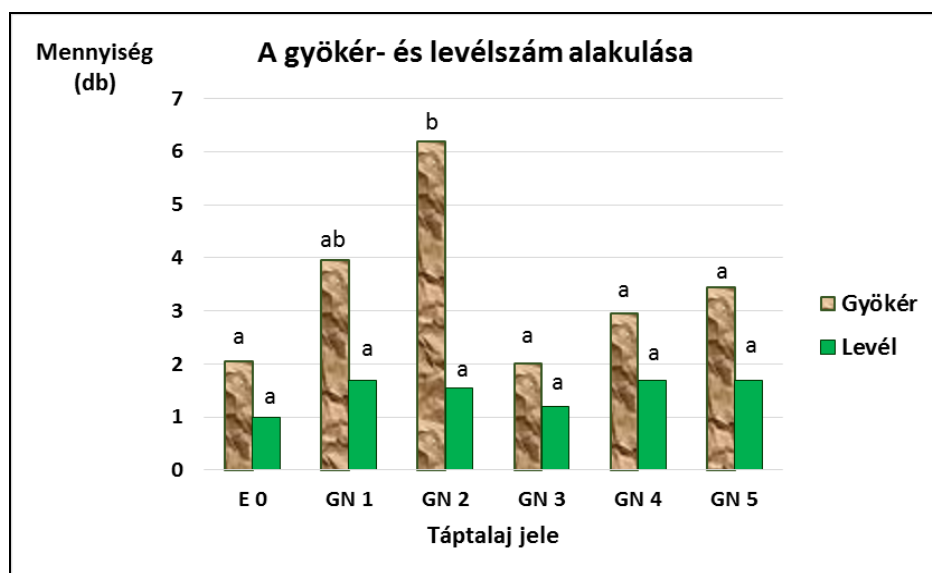


20. ábra: A harmadik kezelésnek alávetett 35. számú egyed a március 27-i (A), május 29-i (B), szeptember 19-i (C) kiértékelés idején

3.2.3. A gyökereztetés során alkalmazott táptalajok hatása

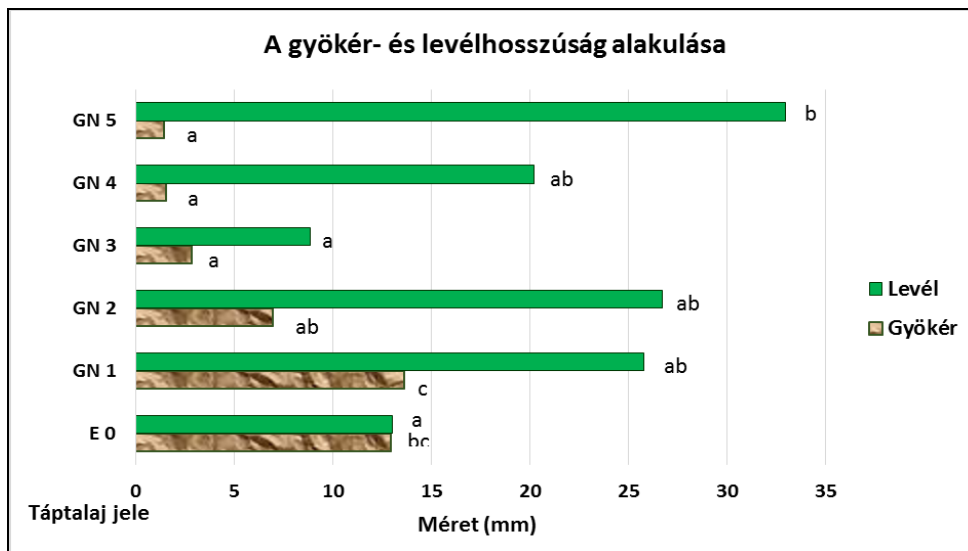
A gyökereztetés során 6 féle táptalaj (3. táblázat) hatását hasonlítottam össze. Feltételeztem, hogy a PB ez esetben pozitív hatású lesz, mivel az eddigi (szaporítási) kísérletek során serkentette az akkor nem kívánt gyökeresedést.

Ahogy a 21. ábra mutatja, átlagosan és az esetek többségében szignifikánsan a legtöbb (6,2 db) gyökér a GN2 táptalajon fejlődött. A kizárólag NES tartalmú táptalajokon (GN1, GN2) több gyökeret kaptam, mint a kontrollon, valamint a PB-t (GN3, GN4) vagy PB+NES kombinációt tartalmazókon. A gyökerek hossza (84. ábra) a GN1 táptalajon lett a leghosszabb (átlagosan 13,56 mm), amik a kontroll (E0) eredményezte 12,95 mm-es gyökerekhez képest nem, de a többi táptalajon kapottakkal összevetve jelentősen hosszabbnak bizonyultak.



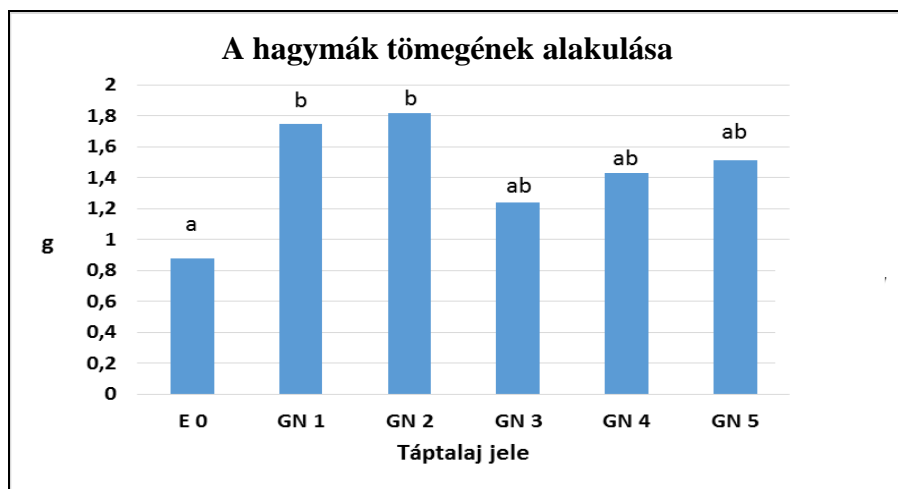
21. ábra: Az átlagos gyökér- és levélszám alakulás a gyökereztetési táptalajokon

A hagymákon képződött levelek számában nem tapasztaltam szignifikáns eltérést (21. ábra), átlagosan 1,7 levél fejlődött a GN1, GN és a GN5 táptalajokon. A leghosszabb (32,99 mm-es) leveleket a GN5 (29. ábra), ehhez képest szignifikánsan a legrövidebbeket (8,88 mm) pedig a GN3 táptalajon kaptam (22. ábra).



22. ábra: A gyökereztetési táptalajokon fejlődött gyökerek és levelek átlaghosszának alakulása

A 23. ábra a hagymák átlagos tömegének alakulását mutatja be a vizsgált táptalajokon. A legjobb eredményeket itt is a NES tartalmú láptalajokon kaptam: 1,82 g a GN2, 1,75 g a GN1 táptalajon, valamint 1,51 g a NES mellett PB-t is tartalmazó GN5 táptalajon. A GN1, GN2 állományoknál kapott értékekkel összehasonlítva szignifikánsan is a legkönnyebb (0,88 g-os) hagymákat a kontroll (E0) táptalajon mértem (24. ábra).



23. ábra: A hagymák átlagtömegének alakulása a gyökereztetési táptalajokon

Ahogy az alábbi fotók is mutatják, a kizárólag NES-t tartalmazó GN1, GN2 táptalajokon jó állapotú, nagy, kellően gyökeresedett hagymák fejlődtek (25., 26. ábra) nem úgy, mint a PB-t tartalmazó GN3 (27. ábra), GN4, GN5 táptalajokon. Különös tekintettel a magasabb koncentrációban alkalmazott PB hatására (feltételezésem szerint) stressz léphetett fel a növényeknél, ami rendellenesen csavarodó levelekben mutatkozott meg (28. ábra). A két növekedésszabályozó együttes hatása (GN5 táptalaj) sem hozta meg a várt jó eredményt a hagymák fejlődésére, amit a halványzöld, megnyúlt és görbült levelek is bizonyítottak (29. ábra).



24. ábra: Hagymák az E0 táptalajról



25. ábra: Hagymák a GN1 táptalajról



26. ábra: Hagymák a GN2 táptalajról



27. ábra: Hagymák a GN3 táptalajról



28. ábra: Hagymák a GN4 táptalajról



29. ábra: Hagymák a GN5 táptalajról

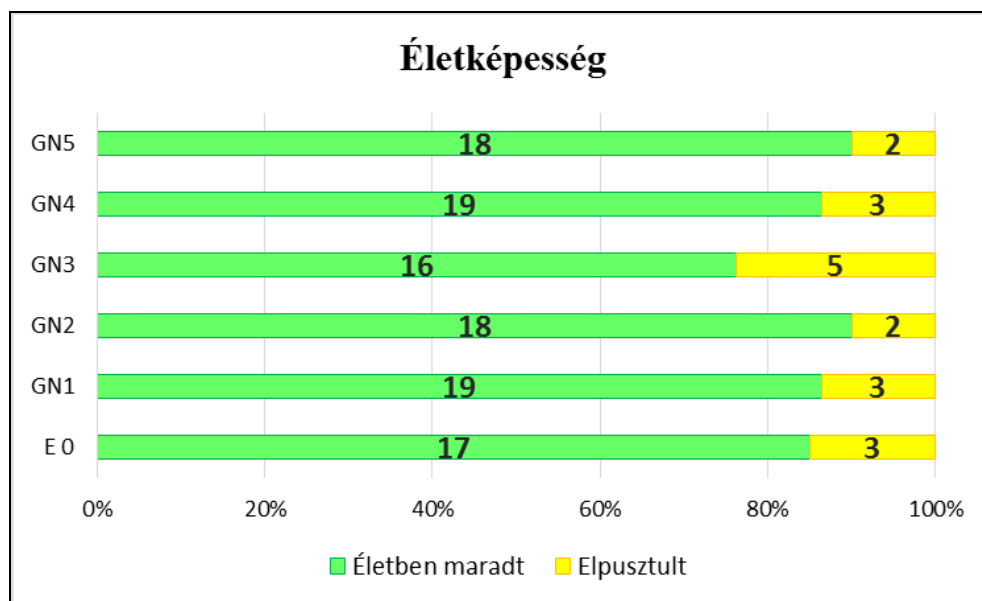
3.3. Az akklimatizálás eredménye

Mivel e nárcisznak összesen 3 levele van (faji sajátosság), ezért a levélszámban szignifikáns különbséget nem tudtam kimutatni. Mindazonáltal a legtöbb (2,68 db) levelet a GN1 táptalaj utóhatásaként kaptam, május 14-én. A levélhosszt nézve a GN1 és GN3 gyökeresítő táptalajokról kikerült növények közt tapasztaltam jelentős eltérést (szintén május 14-én), és az előbbin fejlődtek a leghosszabb levelek (10. táblázat).

10. táblázat: Az akklimatizáláskor fejlődött levelek számának, hosszának alakulása

Táptalaj jele	Vizsgálat ideje	Levélszám (db)	Levélhossz (cm)
E 0	<i>ápr. 16.</i>	1,18 ± 0,53 a	1,28 ± 1,13 a
	<i>máj. 14.</i>	1,82 ± 1,81 a	1,46 ± 1,17 ab
	<i>jún. 25.</i>	1,24 ± 0,83 a	1,54 ± 1,57 a
GN1	<i>ápr. 16.</i>	1,74 ± 0,87 a	1,87 ± 1,62 a
	<i>máj. 14.</i>	2,68 ± 1,11 a	2,67 ± 2,14 a
	<i>jún. 25.</i>	1,42 ± 0,61 a	1,76 ± 1,37 a
GN2	<i>ápr. 16.</i>	1,72 ± 0,67 a	1,18 ± 0,51 a
	<i>máj. 14.</i>	1,67 ± 1,28 a	1,91 ± 2,27 ab
	<i>jún. 25.</i>	1,00 ± 0,97 a	1,04 ± 1,20 a
GN3	<i>ápr. 16.</i>	1,44 ± 0,81 a	0,92 ± 0,82 a
	<i>máj. 14.</i>	2,06 ± 1,98 a	0,86 ± 0,84 bc
	<i>jún. 25.</i>	1,19 ± 0,75 a	1,47 ± 1,69 a
GN4	<i>ápr. 16.</i>	1,74 ± 0,99 a	1,25 ± 0,80 a
	<i>máj. 14.</i>	2,58 ± 1,35 a	1,95 ± 1,25 ab
	<i>jún. 25.</i>	1,21 ± 0,92 a	1,28 ± 1,42 a
GN5	<i>ápr. 16.</i>	1,39 ± 0,70 a	1,25 ± 0,75 a
	<i>máj. 14.</i>	2,11 ± 1,49 a	1,38 ± 0,97 ab
	<i>jún. 25.</i>	0,78 ± 0,81 a	1,07 ± 1,27 a

Az életképesség tekintetében a gyökeresítő táptalajok közt nem tapasztaltam különbséget, kivéve a GN3-as táptalajt, ahol az életben maradási arány 80 % alá csökkent. Minden táptalajt figyelembe véve 86 %-os volt az életben maradt növényegyedek aránya, ez jó eredménynek tekinthető (30. ábra).



30. ábra: Az akklimatizálás végén tapasztalt életképesség (életben maradt egyedek százalékos aránya és száma)

3.4. Új tudományos eredmények

Kidolgoztam a *Narcissus angustifolius* Curt. (keskenylevelű nárcisz) teljes mikroszaporítás-technológiáját, amelynek kapcsán:

- Steril tenyészeteket hoztam létre és a szaporodást megindítottam PB és BA kombinációjával.
- A szaporítás során a BA + PB kombinációjával magasabb szaporodási rátát értem el, mint egyedül a BA alkalmazásával.
- A szaporítás során a BAR és PB kombinációjával a differenciálódott nagy sarjhogymák számát jelentősen növelni tudtam.
- A sarjindukciós kísérlet során a vitrifikáció mértékét jelentősen sikerült csökkenteni, emellett a szaporodási ráta is megfelelő volt.
- Meghatároztam a gyökereztető táptalaj optimális összetételét.
- Elsőként alkalmaztam a paklobutrazolt a nárcisz mikroszaporítása során.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A tenyészet indítása

A 2009. július 20-án 70 %-os etanollal és 1%-os HgCl₂-dal fertőtlenített hagymák 1 hét elteltével sterilnek látszottak, ám egy részük Gram-negatív baktériummal fertőződött, így az első 5 hagymát elveszítettem. A maradékot 250 mg/l Cefotaximot tartalmazó oldatban, malachitzöld hozzáadása mellett áztattam. Ezt követően, növekedésszabályozó anyagok (1 mg/l BA + 0,1 mg/l NES) hatására, az így előkészített hagymapikkely szeletekből 8 lett steril, amik közül 6-on elindult az igen lassú sarjfejlődés.

Az első indítást követően megállapítottam, hogy egyrészt a hagyományos fertőtlenítés nem bizonyult elegendőnek, másrészt a fertőzött hagymák folyékony táptalajon 250, szilárd táptalajon 200 mg/l Cefotaximmal a baktériumoktól mentesíthetők, és mintegy másfél év alatt az első indításból származó hagymácskák száma megtízszerezhető. Mivel az első indításkor kevés sarjhogymát kaptam, egy második indításra is sor került.

A második indításkor a sterilizett egész hagymákat először inkubációs táptalajokra helyeztem, majd a 6 steril hagymát felszelve tettem 6 féle indító táptalajra. A kísérletből azt a következtetést vonhattam le, hogy az inkubációs táptalajban alkalmazott BA nem befolyásolta az indítás során keletkezett sarjak számát, akkor sem, ha utána az indító táptalajhoz PB-t adtam. Ellenben (és előzetesen hormonmentes inkubáló táptalajon tartást követően) az indítás során újonnan adott PB (2,5 mg/l koncentrációban) beváltotta a hozzá fűzött reményeket 1 mg/l BA jelenlétében, jelentősen (8,7 db-ra) megnövelve a sarjszámot. A magában alkalmazott BA esetén viszont csak 2,1 db sarjat kaptam akkor is, ha az inkubációs táptalaj is tartalmazott BA-t. A PB

alkalmazásának egyik nem kívánt mellékhatása volt, hogy az explantumokon gyökerek is fejlődtek, melyeket a passzálás során el kellett távolítani. Másik mellékhatásként a tenyészetek enyhe vitrifikációt mutattak, ezért a továbbiakban hormonmentes táptalajra kerültek.

Az indítási kísérletekből levonható az a végső következtetés, hogy a keskenylevelű nárcisz tenyészetek nehezen indíthatók, valamint az indítás során (hormonmentes táptalajon történő inkubálás után) elsőként alkalmaztam sikeresen a PB és BA kombinációját, amellyel a csak BA-t tartalmazó táptalajhoz képest négyszeres szaporodást lehetett elérni.

A tenyészet felszaporítása

A benziladenin és a naftilecetsav hatása a szaporításra

Ebből az első szaporítási kísérletből azt a következtetést vonhattam le, hogy $\frac{1}{2}$ MS alaptáptalajon 1 mg/l BA + 0,1 mg/l NES hatására kevés sarj keletkezett, de a BA mellett 0,2 mg/l NES beváltotta a hozzá fűzött reményeket, átlagosan 3,5 db kis sarj differenciálódott. A 0,3 mg/l NES (E30) már soknak bizonyult, hatására a kis sarjak száma 0,76 db-ra csökkent, a tenyészetek egy részén nem is fejlődtek apró sarjak. A nagy sarjak tekintetében szintén a 0,2 mg/l NES-t tartalmazó E20 táptalaj bizonyult jobbnak (2,03 és 1,71 db), bár itt szignifikáns különbség nem volt. A vitrifikáció is fokozódott az E30 táptalajon (13,3 és 28,8 %), ami azt mutatta, hogy nemcsak a magas BA-szint, de a túl sok auxin is okozhat vitrifikációt. Ez utóbbi táptalajon 6 tenyészetünk elpusztult, amit feltehetőleg szintén a vitrifikáció okozott. A sarjakon nemkívánatos gyökérképződést is megfigyeltem, de ennek oka valószínűleg nem az auxin mennyiségében, hanem inkább a tenyésztési idő hosszában keresendő. A hosszan tartó tenyésztési időszakra a keskenylevelű nárcisz lassú sarjképzése miatt volt szükség.

Mivel ezzel a fajjal senki sem végzett mikroszaporítási kísérleteket, így az irodalommal való összehasonlítást más nárcisz taxonokkal lehetett elvégezni.

GEORGE (1996) szerint a nárcisz fajták szaporításához általában 2 mg/l BA + 1 mg/l NES volt az optimális, azonban a fajták szaporítását sokkal könnyebben végezték, mint a vad fajokét, lévén előbbieket esetén a magasabb BA-koncentrációk sem okoztak vitrifikációt. Megemlíthető a *Narcissus bulbocodium* fajjal (SANTOS et al., 1998) végzett kísérlet, ami során a szaporításhoz optimálisnak találták a 2-4 mg/l BA + 1 mg/l IVS kombinációt. SOCHACKI és ORLIKOWSKA (2005) több nárcisz fajta *in vitro* szaporítását végezte 0,5-1 mg/l NES-t és 2 mg/l BA-t tartalmazó MS alaptáptalajon. Az új sarjhagymák differenciálódása 24 hetet vett igénybe, ennyi idő alatt a 'Carlton' fajtánál csak 8,4, míg a 'Hewelius' fajtánál 15,2 sarjhagyma keletkezett. Megállapították, hogy a szaporodás azonos körülmények között erősen fajta (genotípus) függő. HE et al. (2005) kísérlete során a *Narcissus tazetta* var. *chinensis* 'Huanghua' és 'Nanridao' *in vitro* szaporítás technológiájának kifejlesztése volt a cél. A kísérlethez használt explantumot 1 hónappal korábban preparálták ki, melyet 4 °C-os hőmérsékleten tároltak. Az MS

táptalaj 0,5 mg/l BA-t és 2 mg NES-at tartalmazott a hagyma indukálásához. ZAHRA és ORAN (2009) a *Narcissus tazetta* faj mikroszaporítását MS alaptáptalajon, különböző BA, NES koncentrációkon végezték. A szaporítási fázisban a legjobb eredményt 10 mg/l BA + 0,5 mg/l NES esetén érték el (szaporodási ráta: 3,4), vitrifikáció nélkül. SUN et al. (2010) a *Narcissus* 'Arkle' mikroszaporítását dolgozták ki, hagymacikkelyek felhasználásával. A tenyészet indításához 3 mg/l BA + 0,5 mg/l NES + 0,2 mg/l IVS, a felszaporításhoz pedig 1,5 mg/l BA + 0,3 mg/l NES bizonyult a legjobbnak. Mindezek alapján elmondható, hogy a mikroszaporítás szaporítási fázisában az optimális citokinin típus, koncentráció (illetve citokin-auxin arány) az adott nárcisz fajtától és fajtától függően változhat.

A paklobutrazol hatása a szaporításra

Minden tekintetben (a vitrifikációt is beleértve) a szaporításhoz a 0,25 mg/l PB-t, 1 mg/l BA-t és 0,1 mg/l NES-t tartalmazó PB4 táptalaj bizonyult a legjobbnak. Ez a PB töménység alacsonyabb, mint az irodalomban más, rokon hagymás növények esetén leírt optimális mennyiségek.

JEVCSÁK et al. (2012) a nyári tözike (*Leucojum aestivum*) mikroszaporítása során kombinálták a BA-t és PB-t. A legjobb eredményt 0,5 mg/l BA + 0,5 mg/l PB esetén kapták 7,8 db nagy sarjjal. A megemelt PB hatására (2,5 mg/l) a sarjszám 6,4-re csökkent. Vitrifikációt nem, gyökeresedést viszont 100 %-ban tapasztaltak. MOSONYI et al. (2013) hóvirág (*Galanthus nivalis*) esetén alkalmaztak a táptalajban BA és PB kombinációkat. A legjobb eredményt, összesen 15,08 sarjhagymát 0,5 mg/l BA + 2,5 mg/l PB esetén nyerték. Ha a PB mennyiségét 0,25 mg/l-re csökkentették az előzővel azonos BA mennyiség mellett, akkor csak 10,27 db sarjhagymát kaptak összesen. A legjobb sarjszám esetén 20 % volt a vitrifikáció, 8 % a gyökeresedés.

A keskenylevelű nárcisz esetén a második legjobb eredményt adó táptalaj a PB-t hasonló, míg a BA-t csak fele mennyiségben tartalmazta. A két legjobb táptalajon (PB4 és PB3) a kis sarjak száma 7,8 és 6,7 db, míg a nagy sarjak száma 2,5 és 1,2 db volt. Ez összesen 10,3 és 7,9 db sarjat jelentett. A PB4 táptalaj nemcsak a sarjszám, hanem az alacsony (10%-os) mértékű vitrifikáció miatt is optimálisnak bizonyult.

Az előző kísérlettel összehasonlítva kijelenthető, hogy PB hatására a sarjdifferenciálódás jelentősen megnőtt, mintegy 4 sarjjal a kis sarjak esetén, ami a duplája az előző kísérletben optimálisnak talált táptalajon nyert kis sarjak számának. Viszont a hiperhidratáció is megjelent, különösen magas koncentrációk esetén. Az optimálisnak tartott kombináción (0,25 mg/l PB + 1 mg/l BA + 0,1 mg/l NES) a hiperhidratáció mértéke hasonlóan alakult, mint az előző kísérletben jobbnak talált táptalaj esetén. A PB hatása itt nem kívánt gyökérbélképződésben is megnyilvánult, ami még az optimálisnak ítélt PB4 táptalajon is 70 %-os volt, ami több, mint az előző kísérletben tapasztalt 50 % körüli arány. Erre természetesen magyarázat az, hogy a PB-t elsősorban, mint *in vivo* gyökeresedés serkentő szert ajánlják. A kísérletben a PB alkalmazása mégis meghozta a várt

eredményt (bár a gyökereket a további szaporításhoz el kell távolítani), a sarjszám jelentős mértékben növekedett. E szaporítási fázist követően is ajánlatos beiktatni legalább egy hosszabb hormonmentes szakaszt.

A 2-izopentil-adenin hatása a szaporításra

E kísérlet során kétféle citokinin (BA és 2iP) és a PB hatását vizsgáltam különféle kombinációkban. A kísérlet célja a 2iP sarjszáma, illetve vitrifikációra gyakorolt hatásának vizsgálata volt. A kis és nagy sarjszámot külön értékeltem, de ebben a fejezetben már összevontan ismertetem. A 2iP + PB kombináció esetén a szaporodási ráta csak 1,9, míg ha a 2iP-t azonos mennyiségű (1 mg/l) BA-nel kombináltam, a ráta 2,25 volt. 2iP + (0,5 vagy 1 mg/l) BA + 0,25 mg/l PB kiegészítés hatására ez az érték jelentősen megnőtt, 5,25-ra és 5,9-re. Ezekben az esetekben viszont 100%-os vitrifikáció jelentkezett, mindkét táptalajon. Ennek ellenére a két citokinin és a PB kombinációja bizonyult a legjobbnak ebben a kísérletben. A sarjhagymák rosszabb egészségi állapotát mutató vitrifikáció jelenségét viszont tapasztaltam az N5 és N6 táptalajok esetén is. E rendellenesség csökkentése a a sarjhagymák hormonmentes táptalajra történő átrakásával és továbbnevelésével lehetséges.

A kísérletből levonható az a következtetés, hogy a 2iP alkalmazásával nem értem el a kívánt hatást (bár a vitrifikáció igen kedvezően alakult), lévén a sarjszám nagyon alacsonynak bizonyult. Amennyiben a sarjszám növelése érdekében a 2iP-t BA-nel kombináltam és PB-t is alkalmaztam, a szaporodási ráta magasabb lett ugyan, de nem érte el az előző kísérletben a BA + PB kombinációval elért sarjszámot. A keskenylevelű nárcisz nagyon érzékenynek bizonyult a különböző növekedésszabályozókra, ezért nem tanácsos kétféle citokinint adni a táptalajhoz abban az esetben, ha PB-t is alkalmazunk.

Egy rokon nemzetségbe tartozó faj, a hóvirág (*Galanthus nivalis*) viszont nagyon jól reagált a 2iP alkalmazására (TILLY-MÁNDY et al., 2006). Az 1 mg/l 2iP-t + 0,2 mg/l IVS-t tartalmazó táptalajon 3,7-es szaporodási rátát értek el, míg 2 mg/l BA alkalmazásával csak 2,6-ot. Megállapítható, hogy a keskenylevelű nárcisz nem reagált hasonlóan, mint rokona, a hóvirág.

A 6-benzil-amino-purin-ribozid hatása a szaporításra

A kísérlet célja a BA-ribozid kipróbálása volt, amely irodalmi források szerint néhány növénynél jó eredményt adott. Feltételeztem azt is, hogy kevésbé okoz vitrifikációt, mint a BA.

DOBRÁNSZKI et al. (2000a) BA helyett BAR-t használtak 1 mg/l koncentrációban az MM 106-os almafajta és a JTE-H alanyok esetében. DOBRÁNSZKI et al., (2004) szerint egy másik alamaalany, az M 26-os esetében járulékos hajtásregeneráció során 5 mg/l BAR alkalmazása bizonyult hatásosnak. A *Rubus fruticosus* L. 'Loch Ness' fajta esetén a legjobb eredményt a BAR adta a legmagasabb koncentráción (1,59 mg/l), ahol 27,4 db sarjat kaptak (MAGYAR-TÁBORI et al., 2014). A krizantém mikroszaporításánál TÓTH (2005, a) a BA

helyett a BAR-ot javasolta. A hortenzia *in vitro* szaporítására TÓTH és KISS (2005) IES (2 mg/l) mellett 0,2 mg/l BAR használatát ajánlotta. A nárcisszal, illetve hagymás növényekkel kapcsolatban a BAR-re vonatkozó irodalmi adatokat nem találtam.

A kísérlet során a sarjakat a méretük szerint szétválogatva, és a nagy hagymák mennyiségére vonatkozóan azt állapítottam meg, hogy a legjobbnak a BR1 táptalaj bizonyult 4,2 db nagy sarjhagymával. Ettől nem sokkal maradt el a BR2 táptalajon elért 3,5 db nagy sarjhagyma. A többi táptalajon a BAR koncentráció emelésével tovább csökkent a nagy sarjhagymák száma. A kis sarjhagymák számának tekintetében a helyzet hasonlóan alakult, itt is a BR1 táptalaj adta a legjobb eredményt (3 db). A legegészségesebb sarjak (a kontrollt kivéve) szintén a BR1 táptalajon fejlődtek, míg a hormonkoncentráció növelésével nemcsak a sarjszám csökkent, de a vitrifikáció is fokozódott, a BR5 és BR6 táptalajokról kikerült tenyészetekben már pusztuláshoz vezető mértékben.

A sarjdifferenciálódás mellett nem kívánt gyökérképződés is mutatkozott. A legtöbb (ugyanakkor rövid) gyökér a BR3 és BR4 táptalajokon fejlődött (6,6 és 6,3 db). A sarjdifferenciálódás szempontjából legjobbnak tartott BR1 táptalajon 3,2 (nagyon megnyúlt) gyökér differenciálódott. A gyökeresedés a PB hatásának is tulajdonítható, ezzel magyarázható, hogy a hormonmentes táptalajon a tenyészeteknek csak alig több mint a fele gyökeresedett. A további tenyésztés szempontjából a szaporítási szakaszban a kevés gyökér a megfelelő.

A BAR alkalmazásával elért eredményeimet összehasonlítva az eddigiekkel megállapítható, hogy a tenyésztés során elsőként alkalmazott, BAR-t tartalmazó indukciós táptalaj, és az azt követő hormonmentes tenyésztés beváltotta a hozzá fűzött reményeket, 7-nél valamivel több sarjhagyma fejlődött átlagosan. Ez nagyobb érték, mint az előző kísérletben kapott legmagasabb sarjszám. A pozitív hatás főként a nagy sarjak számának növekedésében nyilvánult meg.

A paklobutrazol utóhatás vizsgálata

Mivel nem álltak rendelkezésemre konkrét szakirodalmi (és mikroszaporítási) adatok sem a PB hatását illetően, sem a *Narcissus angustifolius* fajjal kapcsolatosan, ezért csak saját, előző kísérleti eredményeimet vehettem alapul, megfigyeléseim alapján levonva következtetéseket.

A fél évig tartó kísérletet a PB + BA + NES tartalmú táptalajon való tartás idejére állítottam be, így a vitrifikáció szintjét is tudtam vizsgálni a táptalajon eltöltött idő függvényében. A három eltérő indukciós időtartamon való tartás függvényében (11, 23 és 35 nap) vizsgáltam az állományt. A második időtartamon növekedett legjobban a sarjak száma, kísérőjelenségként pedig minden csoportban nőtt a gyökerek száma és hossza. Az első indukciós idő a kapott utolsó kiértékelés adatait nézve hasonló eredménnyel járt, mint a második, de a kis és nagy sarjak száma eltért. Az első esetben több kis (3,1 db) és kevesebb nagy sarj (1,82 db)

differentiálódott, míg a második időtartamot illetően a kis sarjak száma ugyan 1,86-ra csökkent, de a további felhasználásra alkalmasabb nagy sarjak száma már 2,7 db lett. Összességében nem volt jelentős különbség a sarjzárban az első két csoport közt, de a sarjak méretét illetően a második csoportban tapasztaltam a legjobb eredményeket. Az első két csoportban szignifikánsan hosszabb, míg a harmadikban rövidebb sarjak képződtek, a kis (8,05 és 5,91 mm) és nagy sarjak (19,41 és 11,95 mm) tekintetében egyaránt. A sarjak szélességében hasonló tendenciát figyeltem meg. Kivételt képeztek a gyökeresedési jellemzők, melyek igen kicsik voltak, de a szaporítási szakaszban éppen a kisebb gyökér-értékek a kedvezőbbek, ugyanis a további szaporítás, átrakások során nehezebb kezelni a gyökerekkel rendelkező tenyészeteket, a gyökerek eltávolítása plusz munkával jár. A kísérlet eredményeként azt tapasztaltam, hogy a PB táptalajban való alkalmazásakor a tenyészetek jól reagáltak a jelenlétére, a gyökérképzés mértéke is csökkent a második időtartam esetén.

A vitrifikáció csökkentését sikerült elérni. A végső értékeléskor az első csoportban a vitrifikáció csak 4,54 %, míg a másodikban 9,09 % volt. A harmadik időtartam már túl hosszúnak bizonyult, a rendellenesség itt 18,18 %-ban jelentkezett az állományban. Mindazonáltal ezek az értékek jóval kisebbek voltak az eddigi kísérletek során tapasztaltaknál. Az indukciót illetően a 2. indukciós időszak (23 nap) volt a kedvező, egyrészt a vitrifikáció alacsony értékét, másrészt (és főként) a nagy hagymák számát illetően.

Gyökereztetés

Mivel a keskenylevelű nárcisz *in vitro* gyökereztetéséről sem találtam irodalmi adatokat, ezért csak a rokon *N. tazetta* gyökereztetését leíró két forrásra támaszkodhattam. Az adatok viszont ezzel a fajjal kapcsolatban nagyon nagy eltérést mutattak. HE et al. (2005) kísérletében a *N. tazetta* var. *chinensis* 'Huanghua' és 'Nanridao' fajták *in vitro* gyökereztetéséhez a fél makroelem töménységű MS táptalajhoz adott 0,05 mg/l NES bizonyult optimálisnak. ZAHRA és ORAN (2009) a faj *in vitro* gyökereztetése során a legjobb eredményt 0,6 mg/l NES tartalmú táptalajon érték el mindössze 1 db gyökérrel, ám a NES koncentráció növelésével nem emelkedett a gyökérszám.

Gyökereztetési kísérletemben PB-t is alkalmaztam (mivel a szaporítás során serkentette a gyökeresedést), de arra jutottam, hogy a 0,2 mg/l NES kiegészítés bizonyult a legjobbnak (átlag 6,2 db gyökérrel). Ugyanennyi PB hatására csak 3 db gyökér fejlődött. A két növekedésszabályozó együttes hatása nem hozta meg a várt eredményt. A NES tartalmú táptalajokon a sarjhagymák tömege (1,7-1,8 g) szignifikánsan meghaladta a többi táptalajon kapott értékeket.

Bár a PB *in vitro* alkalmazása néhány esetben pozitív hatást fejtett ki a gyökérképződésre - például KOZAK (2006) a *Tibouchina urvilleana* esetén szignifikánsan több és rövidebb

gyökeret, KUCHARSKA és ORLIKOWSZKA (2008) a 'Ludo' krizantémfaján erőteljesebb gyökérezet, HONGXIA et al. (2009) a *Syringa x hyacinthiflora* 'Luo Lan Zi', illetve MOSONYI et al. (2013) a *Galanthus elwesii* 'Hook' esetén fokozott gyökerezést tapasztaltak -, az általam vizsgált nárcisz esetén nem tudtam igazolni a PB gyökerezést serkentő hatását, legalábbis akkor, amikor kifejezetten *in vitro* gyökereztetés volt a cél. A *N. angustifolius* gyökereztetéséhez a 0,2 mg/l NES-t tartalmazó táptalaj volt optimális.

Akklimatizálás

Az akklimatizálás szempontjából vizsgálva a gyökerezítő táptalajokat, a PB-t és NES-t egyaránt tartalmazó GN5 gyökerezítő táptalajról származó növények kivételével minden állománynál találtam a cserép alján megjelenő gyökereket. Ha a gyökerezítő táptalajban csak egyféle növekedésszabályozót alkalmaztam, az eredmény sokkal jobb volt. Az átlagosan 86%-os túlélési arányt lényegesen nem befolyásolta a gyökerezítő táptalaj típusa.

Javaslat a keskenylevelű nárcisz teljes mikroszaporítási technológiájára

1. Sterilizálás

Felszíni fertőtlenítés: először 1 órán át folyó csapvizet előmosás (néhány csepp Tween-80 hozzáadásával), utána 10 percig 70%-os etanolban, majd 10 percig 1 ‰-es HgCl₂ -ban áztatás, végül desztillált vizet öblítés. Utána a baktériumos fertőzés kiküszöbölése érdekében 250 mg/l Cefotaxim + 3 mg/l malachitöld tartalmú, folyékony oldatban (rotorban, kémcsőben) forgatás 1 hétig. Szilárd táptalaj is alkalmazható (200 mg/l Cefotaximmal).

2. Inkubáció

Hormonmentes, BM makroelemeket (JÁMBORNÉ BENCZÚR és MÁRTA, 1990) és HELLER (1953) mikroelemeket tartalmazó S alaptáptalajra helyezük, majd a hidegkezelés biztosítása végett 4 °C-on, 6 hétig hűtőszekrényben tartjuk az egész hagymákat.

3. Indítás

A steril hagymákat feldarabolva 2,5 mg/l PB + 1 mg/l BA tartalmú, ½ MS alaptáptalajra tesszük. A lassú fejlődés miatt 4-5 hónapra is szükség lehet, és vitrifikáció esetén hormonmentes táptalajra célszerű átrakni az állományt, akár további 4-5 hónapra.

4. Szaporítás

A hagymákat feldarabolva helyezük ½ MS (MURASHIGE és SKOOG, 1962) alaptáptalajra. Két féle összetételűt választhatunk, attól függően, hogy inkább kis vagy nagy sarjhagymák előállítására a cél. Nagyobb mennyiségű kis hagyma létrehozására a 0,25 mg/l PB + 1 mg/l BA + 0,1 mg/l NES tartalmú (PB4) táptalaj alkalmazható. Több nagy hagymát nyerhetünk a 0,1 mg/l PB + 0,5 mg/l BAR + 0,1 mg/l NES tartalmú (BR1) táptalajon. Mindkét esetben nem kívánt mellékhatásként vitrifikáció és gyökéreképződés mutatkozhat, ezért e fázist (ami több hónapot vehet igénybe) követően ajánlatos beiktatni egy hosszabb (szükség esetén ismét több

hónapig tartó) hormonmentes szakaszt, hogy a szaporítás során fellépő vitrifikációt csökkentjük, kiküszöböljük.

Az egész folyamat lerövidíthető (összesen akár fél évre), ha a tenyészeteket a növekedésszabályozókat (BA vagy BAR + PB + NES) tartalmazó táptalajon 23 napig (mintegy 3 hétig), utána pedig néhány hónapig hormonmentes táptalajon tartjuk. E módszer főként akkor javasolt, ha a gyökeresedés, vitrifikáció mérséklése (illetve a nagy sarjmagymák nagyobb arányú képződése) a cél.

5. Gyökereztetés

Az egész hagymákat 0,2 mg/l NES tartalmú, ½ MS alaptáptalajon gyökereztetjük (3 hónap).

6. Akklimatizálás

A meggyökeresedett hagymákat tőzeg-perlit 1:1 arányú keverékébe ültetjük, és 1,5-2 (3) hónap alatt fokozatosan szoktatjuk, célszerűen úgy időzítve, hogy ősre már szabadföldbe kiültethetők legyenek a hagymák.

FELHASZNÁLT SZAKIRODALOM

- CHOPYK V.I. (1970a): Ridkisini roslyny Ukrainy. Naukova Dumka, Kyiv. (Чопик В.І., (1970): Рідкісні рослини України. Наукова Думка, Київ).
- CHOPYK V.I. (1970b): Naukovi osnovy okhorony ridkisnykh bydiv flory Ukrainy. Ukr. botan. journ., 27 (6): 683-703. (Чопик В.І. (1970): Наукові основи охорони рідкісних видів флори України. Укр ботан. журн., 27 (6): 683-703.)
- DIDUKH Ya. P. (2010): „Chervona Knyha Ukrayiny. Roslynniy svit.” Pisliamova. Ukr. botan. journ., 67 (4): 481-503. (Дідух Я.П. (2003): «Червона Книга України. Рослинний світ». Післямова. Укр ботан. журн., 67 (4): 481-503.)
- DOBRÁNSZKI J., HUDÁK I., MAGYAR-TÁBORI K., JÁMBOR-BENCZÚR E., GALLI ZS., KISS E. (2004): Effects of different cytokinins on the shoot regeneration from apple leaves of 'Royal Gala' and 'M.26'. International Journal of Horticultural Science, 10 (1): 69-75.
- DOBRÁNSZKI J., ABDUL-KADER A., MAGYAR-TÁBORI K., JÁMBOR-BENCZÚR E., BUBÁN T., SZALAI J., LAZÁNYI J. (2000a): *In vitro* shoot multiplication of apple: comparative of three rootstocks to cytokinin and auxin. International Journal of Horticultural Science, 6 (1): 36-39.
- GEORGE E.F. (1996): Plant Propagation by Tissue Culture; Part 2. 2nd Edition, Exegetics Limited. England.
- HE W.Y., CHEN X.J., CHEN X.T. (2005): *In vitro* propagation of Huanghua and Nanridao *Narcissus*. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 34 (3): 313-317.
- HEGEDŰS Á.-né (2005): Endogén sterilitás. In: Jámborné Benczúr E., Dobránszki J. (szerk.) Kertészeti növények mikroszaporítása. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 36-39.
- HELLER R. (1953): Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés *in vitro*. Ann. Sci. Nat. Bot. Veg., 14: 1-223.

- buds and *ex vitro* protocol for effective propagation of *Syringa x hyacinthiflora* 'Luo Lan Zi'. *Scientia Horticulturae*, 121: 186–191.
- JÁMBORNÉ BENCZÚR E., MÁRTA K. (1990): *In vitro* propagation of *Philodendron tuxulanum* bunting with benzyladenine. *Acta Agron. Hung.*, 39: 341-348.
- JÁMBORNÉ BENCZÚR E., MÁRTA K.-né, PEREDI A. (1989): A nárcisz mikroszaporítása. *Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem Közleményei*, Budapest, LII: 101-107.
- JEVCSÁK M., KOHUT E., ÖRDÖGH M., JÁMBORNÉ BENCZÚR E. (2012): Paclobutrazol hatásának vizsgálata a *Leucojum aestivum in vitro* szaporítása során. *Acta Academiae Beregsasiensis*, XI. (2): 151-160.
- KOMENDAR V.I. (1996): Nartsys vuzkolystyi. In: Sheliag-Sosonko Yu.R. (ed.): Chervona knyha Ukrainy. Roslynni svit. „Ukrainska entsyklopediia imeni M.P. Bazhana”. Kyiv. 319. (Комендар В.І., Нарцис вузьколистий В: Шеляг-Сосонко Ю.Р. (ред.) Червона книга України. Рослинний світ. Київ, видавництво «Українська енциклопедія імені М.П. Бажана, 1996.)
- KOMENDAR V.I., FODOR S.S., VAINANII I.V. (1987): Roslyny, shcho okhoroniaiutsia. 279-282. In: Stoiko S.M. (ed.): Pryrodni bahatstva Zakarpattia. Karpaty. Uzhhorod. (Комендар В.І., Фодор С.С., Вайнагій І.В. (1987): Рослини, що охороняються. 279-282. Стойко С.М. (ред): Природні Багатства Закарпаття. Ужгород, Карпати.)
- KOZAK D. (2006): The influence of growth retardants and BA on the growth and development of *Tibouchina urvilleana* Cogn. *in vitro*. Proc. Vth IS on In Vitro Culture and ort. Breeding. *Acta Hort.*, 725 (1): 435-438.
- KRICSFALUSY V.V., BUDNIKOV G.B. (1999): Red list of the threatened vascular plants, 49-88 In: Kricsfalusy V.V., Budnikov G.B., Mihaly S.V.: Red list of Transcarpathia. Threatened plant species and plant communities. Zakarpattya. Uzhgorod. (Крічфалушій В.В., Будніков Г.Б., (1999): Червоний список загрожуваних судинних рослин. 49-88. В: Крічфалушій В.В., Будніков Г.Б., Мігаль Ш.В.: Червоний список Зкарпаття. Види рослин та рослинні угруповання, що знаходиться під загрозою зникнення. Закарпаттяю Ужгород).
- KUCHARSKA D., OLIKOWSKA T. (2008): The influence of paclobutrazol in the rooting medium on the quality of *chrysanthemum* vitroplants. *J. Fruit and Ornament. Plant Res.*,16: 417-424.
- MAGYAR-TÁBORI K., HUDÁK I., CLAPA D., FIRA A. (2014): 2. Effectd of cytokinis on the growth and development in plant tissue culture and on *in vitro* propagation. In: Dobránszki J. (ed.) Aromatic cytokinins applied exogenously in plant tissue culture. University of Debrecen Centre for Agricultural Sciences Research Institute of Nyíregyháza, Hungary. Nyíregyháza. 23-49.
- MALYNOVSKYI K., Tsaryk Y., Kyiak V., Nesteruk Yu. (2002): Ridkisni, endemichni, reliktovi ta pohranychno-arealni vydy roslyn Ukrainskykh Karpat. Liha-Pres, Lviv. (Малиновський К., Царик Й., Кияк В., Нестерук Ю. Рідкісні, ендемічні, Реліктові та погранично-ареальні види рослин Українських Карпат, Львів, Ліга–Прес, 2002)
- MOSONYI I. D., ÖRDÖGH M., TILLYNÉ MÁNDY A. (2013): A paclobutrazol hatása *Galanthus elwesii* Hook mikroszaporítása során. *Kertgazdaság*, 45 (4): 50-55.

- MURASHIGE T., SKOOG F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.
- SANTOS J., SANTOS I., SALEMA R. (1998): *In vitro* production of bulbs of *Narcissus bulbocodium* flowering in the first season of growth. *Scientia Horticulturae*, 76 (3-4): 205-217.
- SOBKA V.G. (szerk.) (2002): Karpatski storinky Chervonoj knyhy Ukrainy. Kyiv, Ukrainskyi fitosotsiologichnyi tsentr. (Собка В.Г. (ред) (2002): Карпатські сторінки Червоної Книги України. Київ, Український фітосоціологічний центр). SOBKA
- SOBKO V.G. (2007): Stezhynamy Chervonoj knyhy. Druhe vydannia, dopovnene. Urozhai. Kyiv. (Собко В.Г. (2007): Стежинами Червоної книги. Друге видання, доповнене. Урожай. Київ).
- SOCHACKI D., ORLIKOWSKA T. (2005): Factors influencing micropropagation of *Narcissus*. *Acta Hort. (ISHS)*, 673: 669-673.
- SUN X., SUN Q., YANG H., CUI W., WANG Y. (2010): Construction of rapid micropropagation system via *in vitro* culture for *Narcissus* cv. Arkle. *Journal of Northwest Agriculture and Forestry University*, 38 (3): 173-178.
- SYTNIK K.M. (szerk.) (1980): Chervona knyha Ukrainskoi RSR. Tvarynnyi i roslynniy svit. Naukova dumka, Kyiv. (Ситнік К.М. Червона книга Української РСР. Тваринний і рослинний світ. Наукова думка Київ)
- TAKHTAJAN A.L. (1981): Rare and vanishing plants of the USSR to be protected. Nauka. Leningrad. (Тахтаджяна А.Л. (1981): Редкие и исчезающие виды флоры СССР нуждающиеся в охране. 2-е дополнительное издание. Наука. Ленинград.)
- TASYENKEVYCH L.O., MALYNOVSKYJ K.A., STOYKO S.M. (1982): ridkisni i znykaiuchy vydy roslyn Karpatskoho derzhavnoho zapovidnyka. In: Stoyko S.M. (ed.): Flora i roslynnist Karpatskoho zapovidnyka. Naukova dumka, Kyiv. 196-205. (Тасенкевич Л.О., Малиновський К.А., Стойко С.М. (1982): Рідкісні і зникаючі види рослин Карпатського державного заповідника. В: Стойко С.М. (ред.) Флора і рослинність Карпатського заповідника. Наукова думка, Київ. 196-205.)
- TILLY-MÁNDY A., JÁMBOR-BENCZÚR E., SZABÓ J. (2006): Results with the Micropropagation of *Galanthus elwesii* and *Galanthus nivalisi* 'Flore Pleno'. Proc. Vth IS on In Vitro Culture and ort. Breeding. *Acta Hort*, 725 (1): 439-443.
- TÓTH E. (2005, a): Krizantém. In: Jámborné Benczúr E., Dobránszki J. (szerk.) Kertészeti növények mikroszaporítása. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 183-187.
- TÓTH E., KISS I.-né (2005): Hortenzia. In: Jámborné Benczúr E., Dobránszki J. (szerk.) Kertészeti növények mikroszaporítása. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 191-194.
- ZAHRA H.M.F.A., ORAN S.A. (2009): Remove from marked Records Micropropagation of the wild endangered daffodil *Narcissus tazetta* L.. *Acta Horticulturae*, 826: 135-140.
- ZATYKÓ J. (1992): Egy mikrotechnikai festék kedvező hatása gyümölcskultúrák tenyésztésére. Lippai J. Tudományos Ülésszak, KÉE. Budapest.

ZYMAN S.M., BULAH O.V. (2009): Nartsys vuzkolystyi. In: Didukh Ja. P. (ed.) Chervona Knyha Ukrainy, Roslynniy svit. Globalkonzalting, Kyiv. 67. (Зиман С.М., Булах О.В. (2009): Нарцис вузьколистий. In: Я.П. Дідух, Червона Книга України, Рослинний світ Київ Видавництво «Глобалконсалтинг» 2009)

Internetes források:

1. Internet: http://nature.land.kiev.ua/RB_80/index.htm ukrainai vöröskönyvek honlapja
2. Internet: http://nature.land.kiev.ua/RB_96/index.htm
3. Internet: (<http://www.iucnredlist.org/details/193504/0>)
http://www.iucnredlist.org/static/categories_criteria_3_1

5. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

5.1. Folyóiratcikkek

Nem IF-es folyóiratcikk

Jevcsák M., Ördögh M., Kohut I., Jámborné Benczúr E. (2012): A különböző auxinmennyiségek hatása a *Narcissus poeticus* ssp. *radiiflorus* mikroszaporítása során. Budapest. Kertgazdaság 44. (1) 59-63.

Jevcsák M. (2013): A Kárpátalján fokozottan védett *Narcissus poeticus* ssp. *radiiflorus* area botanikai értékelése és mikroszaporítása. (A II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola Öregdiák Szövetségének I. Tudományos Konferenciája. Főiskolai végzősök és a tudományos utánpótlás. 2012. Beregszász, november 21.) Acta Beregsasiensis XII. (1) 253-262.

Jevcsák M., Ördögh M., Kohut I., Jámborné Benczúr E. (2013): A paclobutrazol hatása a *Narcissus poeticus* ssp. *radiiflorus* *in vitro* tenyészeire. Budapest. Kertgazdaság 45. (1) 29-34.

Jevcsák M., Ördögh M., Jámborné Benczúr E. (2014): Különböző növekedésszabályozók hatása a *Narcissus poeticus* ssp. *radiiflorus* *in vitro* gyökeresedésére. Budapest. Kertgazdaság 46. (3) 36-43.

Jevcsák M., Ördögh M., Jámborné Benczúr E. (2015): The after-effect of paclobutrazol on morphological characteristics of *in vitro* *Narcissus poeticus* ssp. *radiiflorus* plants. Budapest, International Journal of Horticultural Science, 21. (1–2): 43-46.

5.2. Konferencia kiadványok

Magyar nyelvű összefoglaló

Jevcsák M., Jámborné Benczúr E., Kohut I., Komendár V. (2011.): Különböző kezelések hatása a *Narcissus poeticus* ssp. *radiiflorus* steril tenyészeinek indítása során. Erdei Ferenc VI. Tudományos Konferencia. III. kötet. Augusztus 25-26., Kecskemét. 339-343.

Jevcsák M. (2013): Különböző táptalajok hatása a *Narcissus poeticus* ssp. *radiiflorus* *in vitro* szaporítása során. PhD-konferencia 2013, Balassi Intézet (és Márton Áron Szakkollégium), február 8., Debrecen. 85-94.

Magyar nyelvű (abstract)

Jevcsák M., Jámborné Benczúr E., Kohut I., Komendár V. 2011: Előzetes eredmények a *Narcissus poeticus* ssp. *radiiflorus* termesztésbe vonásához. XVII. Növénynevelési Tudományos Napok, 2011. április 27. Óvári Judit (szerk.): Összefoglalók. MTA Agrártudományok Osztályának Növénynevelési Bizottsága, Magyar Növénynevelők Egyesülete, MAE Genetikai Szakosztálya. 113.

Jevcsák M., Kohut I., Ördögh M., Jámborné Benczúr E. 2012: A *Narcissus poeticus* ssp. *radiiflorus* termesztésbe vonásának elindítása mikroszaporítás segítségével. XVIII. Növénynevelési Tudományos Napok, 2012. március 6. Veisz Ottó (szerk.): Összefoglalók. MTA Agrártudományok Osztályának Növénynevelési Tudományos Bizottsága, Magyar Növénynevelők Egyesülete, MAE Genetikai Szakosztálya. 91.

Nemzetközi konferencia (full paper)

Jevcsák, M., Höhn, M., Benczúr, E., Jevcsák Sz., Komendar, V.I. 2010. *Narcissus poeticus* ssp. *radiiflorus* area scientifically based protection and restitution in the Ukrainian Carpathians. Bicentenary of vegetation cover studies of the Carpathians: Proceedings of International Scientific Conference devoted to the 130th anniversary since Antal Margiittai's birthday (2010 September, 16-18, Munkachevo-Beregovo-Ukraine). 72-75.

Jevcsák M., Ördögh M., Jámborné Benczúr E. (2015): A BA-ribozid *in vitro* szaporodásra gyakorolt hatása a *Narcissus poeticus* ssp. *radiiflorus* esetén. Contribution of amateur naturalists into biological diversity studies. Proceedings. International Scientific Conference devoted to the 200th anniversary of Lajos Vágner's birthday (2015, May 14-16, Beregszász, Ukraine). 54-63.

Nemzetközi konferencia (abstract)

Jevcsák M. 2009. Научные основы охраны и восстановления ареалов *Narcissus poeticus* subsp. *stellaris* Curt. в Украинских Карпатах. A biodiverzitás megőrzésének problémái az Ukrán-Kárpátokban (Проблеми збереження біорізноманіття Українських Карпат). Міністерство освіти і науки України Державний Вищий Навчальний Заклад «Ужгородський Національний Університет» Біологічний Факультет. Április 23. Ужгород. 33.