©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Phyton (Austria)	Vol. 16	Fasc. 1—2	51—58	18.8 . 1975

Zur Kultur von Kambialgewebe der Lärche (*Larix decidua* L.)

Von

Johannes FRITZ *)

Aus dem Institut für Anatomie und Physiologie der Pflanzen
an der Universität Graz

Mit 1 Abbildung und 2 Tabellen

Eingegangen am 1. November 1974

Abstract

A convenient basis for the culture of cambial tissues of European Larch (*Larix decidua* L.) turned out to be a revised medium of MURASHIGE & SKOOG 1962. The composition of the medium proved to be optimal is given in the text. For larch cultures sucrose, used in *Pinus*- and other cultures, should be replaced by glucose. The cultures do only success by low temperatures (14—18°C). A short histological characterization of the larch callus is given.

Zusammenfassung

Zur Kultur von kambialem Gewebe der Lärche (*Larix decidua* L.) erweist sich als Basis Nährmedium nach MURASHIGE & SKOOG am geeignetsten. Es wurde etwas modifiziert, das Rezept wird im Text angegeben. Als beste C-Quelle erwies sich Glucose; Saccharose, die sich bei *Pinus*- und anderen Kulturen besser bewährt hat, ist für Larix-Kulturen weniger gut geeignet. Temperaturen von 14—18°C sind am günstigsten. — Die neugebildeten Gewebe werden histologisch kurz charakterisiert.

Einleitung

Im Zuge von Untersuchungen über den Erreger des „Lärchenkrebses" (*Lachnellula willkommii*) trat die Notwendigkeit auf, mit Gewebekulturen von *Larix* zu arbeiten (FRITZ 1973). Obwohl zur Kultur von Koniferengeweben bereits ausreichend Erfahrungen vorliegen (z. B. BALL 1950, LOEWENBERG & SKOOG 1952, REINERT 1955, 1956, BARNES & NAYLOR 1958, CONSTABEL 1960, WHITE & GILBEY 1966), wurde *Larix*-Gewebe nur selten

*) Dr. Johannes FRITZ, A-8053 Graz, Faunastraße 106, Österreich.

O.Ö. LANDESMUSEUM
BIBLIOTHEK

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

und mit geringem Erfolg kultiviert (STERLING 1949, BYCHENKOVA 1964, HARVEY & GRASHAM 1969). Es war daher notwendig, durch Versuche die geeignetste Zusammensetzung des Substrates und die günstigsten Kulturbedingungen zu ermitteln. Über die dabei gemachten Erfahrungen soll nachstehend kurz berichtet werden.

Material und Methode

Frische Stämme 8—10jähriger Lärchen (*Larix decidua* L.) von 5—6 cm ⌀ aus dem Versuchsgarten des Institutes wurden in ca. 10 cm lange Stücke geschnitten und der Länge nach halbiert. Um keimfreie Explantate zu erhalten, wurden die Stammstücke von der Borke befreit, 30 Minuten in 96%igen Alkohol gelegt und anschließend abgeflammt. Hierauf wurde die verbliebene Rinde bis wenige Zellschichten über dem Kambium entfernt und das innere Phloem mit dem Kambium steril vom Holz losgelöst. Mit sterilem Korkbohrer (⌀ 7 mm) wurden aus der so abgetragenen Schicht Explantate ausgestanzt, die auf das Nährmedium verbracht und mit dem Kambium nach oben in dieses leicht eingedrückt wurden.

Wahl des geeignetsten Nährsubstrates

In einer Reihe von Versuchen wurde die Kallusproduktion von *Larix*-Explantaten auf Nährmedien nach HELLER 1953, nach KNOP (BERGMANN 1958) und nach MURASHIGE & SKOOG 1962 geprüft; diesen Medien wurden noch Spurenelementlösung nach BERTHELOT 1934 bzw. MURASHIGE & SKOOG 1962 sowie Wuchsstoffe in verschiedenen Kombinationen zugesetzt. Mit den Substraten nach HELLER und nach KNOP konnten trotz Zusatz von Mikronährstoffen sowie Wuchsstoffen kein befriedigendes Wachstum erzielt werden; die Explantate waren spätestens nach 4 Wochen braun verfärbt und abgestorben. Auf eine Wiedergabe dieser Versuche darf daher verzichtet werden. Am günstigsten erwies sich das Nährmedium nach MURASHIGE & SKOOG, das etwas modifiziert wurde; insbesondere erwies sich der Zusatz von Edamin als entbehrlich, ferner wurde die Wuchsstoffkombination den Ansprüchen des Lärchengewebes angepaßt. In Anlehnung an MURASHIGE & SKOOG 1962 wurde das Kultursubstrat nach folgender Rezeptur bereitet:

Lösung I (Makroelement-Lösung): NH_4NO_3 1650 mg, KNO_3 1900 mg, $CaCl_2 \cdot 2\,H_2O$ 440 mg, $MgSO_4\ 7\,H_2O$ 370 mg, KH_2PO_4 170 mg, H_2O 1000 ml; Lösung II (Mikroelement-Lösung): H_3BO_3 620 mg, $MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$ 2230 mg (oder $MnSO_4 \cdot H_2O$ 1690 mg), $ZnSO_4\ 4\,H_2O$ 860 mg (oder $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$ 1060 mg), KJ 83 mg, $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$ 25 mg, $CuSO_4\ 5\,H_2O$ 2,5 mg, $CoCl_2 \cdot 6\,H_2O$ 2,5 mg, H_2O ad 100 ml; Lösung III (Eisenkomplex): Na-EDTA 373 mg, $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$ 278 mg, H_2O 100 ml; Lösung IV (Wirkstoffe): Glycin 40 mg, Nicotinsäure 10 mg, Pyridoxin-HCl 10 mg, Thiamin-HCl 2 mg,

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

H_2O 100 ml. Zu 1000 ml Lösung I werden 1 ml Lösung II, 10 ml Lösung III sowie 5 ml Lösung IV zugesetzt, ferner werden darin 100 mg myo-Inositol gelöst. Als C-Quelle diente zunächst, den Angaben in zahlreichen einschlägigen Arbeiten folgend, 1% Saccharose (vgl. SLANKIS 1948, BALL 1954, RISSER & WHITE 1964).

Günstig wirkte Zusatz von Kokosmilch, doch wurden Kombinationen mit diesem Zusatz ausgeschieden, weil ein vollsynthetisches Nährmedium angestrebt wurde. Aus verschiedenen Wuchsstoffkombinationen blieben schließlich folgende Ansätze zur engeren Wahl (Tabelle 1):

Tabelle 1

Wuchsstoffangebot und Kalluswachstum (Nährmedium vgl. Text, 1% Saccharose, Kultur im Licht bei 23—24°C), Konzentrationsangaben in $g \cdot ml^{-1}$.

Ansatz	NES [1])	2,4 D [1])	Kinetin	Gibberellin	Wachstum
1	10^{-6}	—	10^{-7}	—	+++
2	10^{-6}	10^{-6}	—	—	+++
3	10^{-6}	10^{-6}	—	10^{-6}	++
4	10^{-6}	—	10^{-7}	10^{-6}	++

[1]) NES = Naphthylessigsäure, 2,4-D = Dichlorphenoxyessigsäure

Zusatz von Gibberellin wirkte sich vor allem bei längerer Kulturdauer ungünstig auf das Wachstum aus. Zwischen der Wirkung von Kinetin und 2,4-D ergab sich kein Unterschied, es wurde schließlich 2,4-D der Vorzug gegeben, sodaß zu 1 l Substrat je 1 mg NES und 2,4-D zugesetzt wurden. Das Nährmedium wurde zuletzt mit 10 $g \cdot l^{-1}$ Agar versetzt, in üblicher Weise sterilisiert und in Kulturröhrchen abgefüllt. Der solcherart frisch zubereitete Nährboden hat ein pH von 5,3.

Die Eignung verschiedener C-Quellen

Um zu prüfen, ob Saccharose auch für Larix-Kulturen die günstigste C-Quelle darstellt, wurden in weiterer Folge Vergleichsreihen angesetzt, in denen neben Saccharose auch Glucose und Fructose (1%, 3% und 5%) sowie Stärke (3%) geboten wurden. Serie I wurde am 29. 11. 1972, Serie II am 16. 2. 1973 angesetzt. In beiden Serien wurden jeweils am 20., 37., 61. und 76. Tag je drei Röhrchen geöffnet, die Explantate entnommen, von anhaftendem Agar sorgfältig befreit und deren Frischgewicht auf 0,1 mg genau bestimmt. Diese Proben wurden dann verworfen. Da zu den einzelnen Terminen jeweils andere Proben gewogen wurden, wird die Streuung zwar größer, anderseits konnten nur so störende Infektionen der Kulturen vermieden werden.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Abb. 1 stellt die auf den genannten C-Quellen am 76. Versuchstag erreichten Endfrischgewichte in Prozenten des durchschnittlichen Anfangsfrischgewichtes der Explantate in einem Blockdiagramm dar. Die durchgezogenen Linien markieren die in Serie I, gestrichelte Linien die in Serie II erreichten Zuwächse.

In allen drei Konzentrationsstufen war das Wachstum auf Glucose am stärksten, auf Saccharose deutlich schwächer, am langsamsten wuchsen die Kalli auf Fructose. Eindeutig erkennbar ist ferner ein ungünstiger Einfluß steigender Zuckerkonzentrationen. Auch auf Stärke war das Wachstum gering und etwa dem auf Nährböden mit 5% Zuckergehalt vergleichbar.

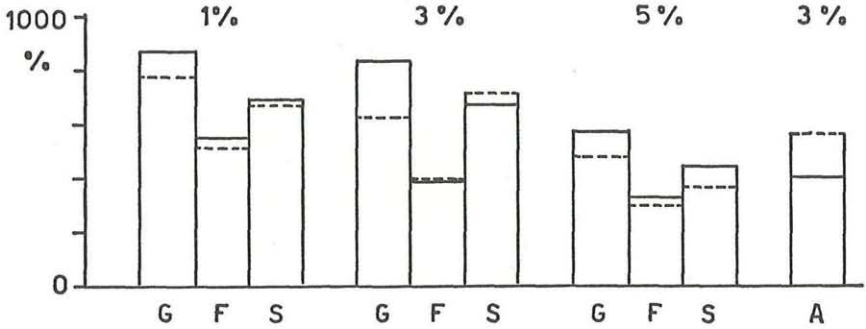

Abb. 1.

Beide Versuchsserien haben zu übereinstimmendem Ergebnis geführt, was vor allem dadurch bestätigt erscheint, daß sich nach Zusammenlegen beider Serien die Signifikanz der Unterschiede deutlich erhöht. Die Vorrangstellung der Glucose gegenüber der Saccharose ist auf dem 95%-Niveau, gegenüber der Fructose auf dem 99%-Niveau gesichert. Aus der Versuchsreihe mit Stärke fielen so viele Kulturen aus, daß eine statistische Berechnung nicht möglich war. Während die Frischgewichte der Explantate bis auf über das Achtfache zunahmen, stiegen deren Trockengewichte nur um höchstens 51%, wobei kein Zusammenhang mit den Frischgewichten erkennbar ist; die höchsten Trockengewichte wurden auf Nährböden mit 3% Kohlenhydrat gefunden, doch ergaben sich zwischen den verschiedenen Ansätzen keine signifikanten Unterschiede, weswegen darauf nicht näher eingegangen sei.

Vergleicht man jedoch nicht nur die erreichten Endgewichte, sondern auch die Resultate der zwischendurch vorgenommenen Wägungen, so ergeben sich in den beiden Serien etwas unterschiedliche Verläufe des Wachstums. Um die Darstellung zu vereinfachen, sind in Tabelle 2 die in den beiden Serien erzielten, auf jeweils 100 mg Frischgewicht bezogenen täglichen Gewichtszunahmen der Explantate zu Beginn und zu Ende der Versuchsperioden einander gegenübergestellt.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 2

Tägliche Gewichtszunahmen auf verschiedenen C-Quellen bei drei Konzentrationsstufen in % des jeweiligen Frischgewichtes. Näheres vgl. Text.

		1%		3%		5%	
Serie:		I	II	I	II	I	II
Glucose	0 – 20. Tag	5,3	3,3	4,6	3,7	4,9	2,9
	61. – 76. Tag	1,4	4,7	1,3	3,8	0,5	2,6
Fructose	0 – 20. Tag	4,1	2,5	4,5	2,3	3,6	3,1
	61. – 76. Tag	0,9	2,1	0,8	3,6	1,3	2,4
Saccharose	0 – 20. Tag	4,4	3,0	5,1	4,0	4,7	2,4
	61. – 76. Tag	2,9	3,7	1,2	4,0	—	1,4
Stärke	0 – 20. Tag	—	—	3,3	2,3	—	—
	61. – 76. Tag	—	—	0,2	1,1	—	—

Die Wachstumsgeschwindigkeiten der Kalli, ausgedrückt durch die über den jeweiligen Versuchsabschnitt gemittelte tägliche Zunahme ihrer Frischgewichte, nahmen im Laufe der Serie I auf allen untersuchten C-Quellen stark ab, bei Serie II änderten sie sich in bedeutend geringerem Ausmaße und nahmen z. T. sogar zu. Sie waren daher zu Ende des zweiten, im Februar angesetzten Versuches ohne Ausnahme größer als die entsprechenden Werte der ersten Serie (Versuchsbeginn November). Die Unterschiede sind mindestens auf dem 98%-Niveau, meist aber besser gesichert. Die aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht angeführten Zwischenwerte lassen erkennen, daß sich die Umkehr teils in der ersten, teils in der zweiten Versuchshälfte abzeichnet. Ein Vergleich mit Abb. 1 lehrt jedoch, daß eine auf Fructose (Serie II, 3%) oder Saccharose (Serie I, 1%) im Verlauf des Versuches zu beobachtende Beschleunigung des Wachstums nicht imstande war, den anfänglichen Vorsprung der Glucose aufzuholen. Ob der trotz gleicher Versuchsbedingungen verschiedene Wachstumsverlauf mit der Ruheperiode zusammenhängt, also endogen bedingt ist, kann nur durch weitere derartige Versuche zu verschiedenen Zeiten des Jahres geklärt werden (vgl. Bychenkova 1964).

Auf Grund dieser Ergebnisse darf Glucose als günstigste C-Quelle für die Kultur von Lärchengewebe angesehen werden. Damit nimmt *Larix* offenbar eine gewisse Sonderstellung ein, da Saccharose für Gewebekulturen im allgemeinen (Gautheret 1941, 1959, Hildebrandt & Riker 1949, 1953) und im besonderen von Koniferengewebe (Slankis 1948, vgl. auch Gautheret 1959: 589) als beste C-Quelle gilt. Auch gegenüber höheren Zuckerkonzentrationen ist *Larix* offenbar empfindlicher. *Pinus*-Wurzeln wachsen bei 7% Saccharose optimal, aber auch noch gut auf 4% Glucose (Slankis 1949), während nach unseren Erfahrungen das Wachstum von *Larix*-Gewebe auf 3% Zucker nicht mehr als optimal angesehen werden kann.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Weitere Beobachtungen bei der Kultur von *Larix*-Gewebe

Eine Kulturdauer von 76 Tagen stellt einen versuchsbedingten Ausnahmefall dar. Gewöhnlich wurden die Kulturen alle 4—6 Wochen überimpft, jedenfalls, sobald nekrotische Flecken auftraten. War der Kallus schwach entwickelt, so wurde nur das Nährmedium erneuert; bei starkem Wachstum wurde der Kallus zerteilt und so eine neue Passage angelegt.

Im Dunkeln wuchsen die Kalli nur langsam, behielten aber ihre helle Farbe; im Lichte kam es zwar zu raschem Wachstum, doch verfärbten sich die Kalli rasch dunkelbraun, so daß häufiges Überimpfen nötig wurde. Infolge der großen Empfindlichkeit gegenüber mechanischen Verletzungen, z. B. durch die Pinzette beim Übertragen, kommt es dabei zu starken Schädigungen und Ausfällen. Die Kalli benötigen nach jedem Überimpfen 10—14 Tage, um sich zu erholen.

Auch die Temperatur beeinflußt das Wachstum und das Aussehen der Kalli erheblich. Am günstigsten waren Temperaturen um 14—15°C; bei höheren wuchs das Gewebe rascher, doch verfärbte es sich bald und verschleimte. Nach Absenken der Temperatur um 2—4°C blieben die Zellen wieder in festem Zusammenhang. Unter 20° C kam es nur selten zu Verfärbung und Verschleimung trat nur mehr vereinzelt auf. Damit liegt das Temperaturoptimum für Kulturen von *Larix*-Geweben wesentlich unter dem für Gewebekulturen angegebenen Bereich von 23—33° C. (Nickell & Burkholder 1950, Straus & Larue 1954, Hildebrandt, Riker & Duggar 1945), aber auch 4—5° unter dem für *Pinus*-Wurzeln gefundenen Optimum (Slankis 1949). Nur Fichten-Tumorzellen wurden bei ähnlich niedrigen Temperaturen gezogen (White & Risser 1964).

Die pH-Werte der Nährböden nehmen bereits nach kurzer Kulturdauer um 1—1,5 Einheiten ab, bleiben aber dann unverändert. *Larix*-Gewebe vermag noch bei pH 3,8 mit unverminderter Intensität zu wachsen, d. i. nur 0,3 pH-Einheiten über dem Wert, bei dem Tabak- und Sonnenblumengewebe ihr Wachstum einstellen. Lärchengewebe ist somit recht wenig pH-empfindlich und vermag im Bereich von pH 6,3—3,8 zu wachsen.

Versuche, *Larix*-Gewebe auf flüssigen Nährsubstraten zu ziehen, schlugen fehl; es kam regelmäßig zu Gewebezerfall und dadurch zu Verlusten bis zu 75%.

Trotz aller Bemühungen optimale Kulturbedingungen aufzufinden, ist immer wieder mit plötzlichem Ausbleiben des Wachstums und mit Ausfällen zu rechnen; Lärchengewebe zählt nach wie vor zu den schwierig zu kultivierenden Geweben.

Zur Histologie der Kalli

Die Hauptmasse des Kallus wird durch Teilung von Parenchymzellen gebildet, wobei diffuse Proliferation (meristematische Aktivität in weiten Teilen des Parenchyms) eine wesentliche Rolle spielt. Spontan treten immer wieder verstreut Gruppen von wenigen Zellen auf, die sich rege teilen und

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

kambiale Zonen bilden. Meristematisches Parenchym und kambiale Zonen in Gewebekulturen unterscheiden sich nach GAUTHERET 1959 vor allem durch die Größe ihrer Zellen. Kambiale Zonen finden sich bei den *Larix*-Kalli entweder unterhalb der Oberfläche, wodurch sie einem Phellogen ähneln; tiefergelegene bestehen meist aus ringförmig oder konzentrisch angeordneten Zellen. Im Innern der Kalli liegen die Zellen meist in lockerem Verband, an der Oberfläche schließen sie dicht aneinander. Tracheiden, wie sie BALL 1954 beobachten konnte, wurden bei *Larix* nie gefunden.

Die Zellwände sind dünn und nicht verholzt. In den Kalli finden sich, besonders am Rande, reichlich gerbstoffhältige Zellen. Sämtliche Zellen, die von einer gerbstoffführenden Zelle abstammen, enthalten selbst wieder Gerbstoff und liegen dann oft in Reihen hintereinander. Die Anwesenheit solcher gerbstoffführender Zellen auch in den höheren Passagen beweist, daß die Fähigkeit der Gerbstoffbildung auch an die Deszendenten weitergegeben wird (vgl. BALL 1950).

Die Gewebekulturen wurden teils am Institut für Anatomie und Physiologie der Pflanzen an der Universität Graz, teils im Laboratorium für Gewebekultur am Reaktorzentrum Seibersdorf (Niederösterreich) durchgeführt. Für die erteilte Erlaubnis danke ich Herrn Dozent Dr. E. HAUNOLD, Leiter der Landwirtschaftlichen Abteilung des Instituts für Biologie und Landwirtschaft am Reaktorzentrum; für tatkräftige Mithilfe beim Ansatz und bei der Betreuung der Kulturen und für viele wertvolle Ratschläge bin ich der Leiterin des Laboratoriums für Gewebekultur daselbst, Frau Dr. W. RÜCKER, sehr zu Dank verpflichtet.

Schriftenverzeichnis

BALL E. 1950. Differentiation in a callus culture of *Sequoia sempervirens*. — Growth 14: 295—325.

— 1954. Studies of the nutrition of the callus culture of *Sequoia sempervirens*. — Ann. Biol. 31, 3. Ser.: 81—105, Paris.

BARNES R. L. & NAYLOR A. W. 1958. Culture of pine root callus and the use of *Pinus clausa* callus in preliminary metabolic studies. — Bot. Gaz. 120: 63—66.

BERGMANN W. 1958. Methoden zur Ermittlung mineralischer Bedürfnisse der Pflanzen. — In: RUHLAND, Hdb. Pflanzenphysiol. IV, Berlin, Göttingen, Heidelberg.

BERTHELOT A. 1934. Nouvelles remarques d'ordre chimique sur le choix des milieux de culture naturels et sur la manière de formuler les milieux synthétiques. — Bull. Soc. chim. Biol. 16: 1553—1557.

BYCHENKOVA E. 1964. An investigation of callus formation in certain trees and shrubs by the method of tissue culture *in vitro*. — Dokl. Akad. nauk. Biol. Sec. 151: 1077—1080, New York.

CONSTABEL F. 1960. Zur Amylasesekretion pflanzlicher Gewebekulturen. — Naturwiss. 47: 17—18.

FRITZ J. 1973. Die Kultur von *Larix*-Gewebe und Untersuchungen an *Lachnellula willkommii*. — Diss. Univ. Graz.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

GAUTHERET R. J. 1941. Action du saccharose sur la croissance des tissus de Carotte. — C. r. Soc. Biol. 135: 875—878.

— 1959. La culture des tissus végétaux. — Paris.

HARVEY A. E. & GRASHAM J. L. 1969. Procedures and media for obtaining tissue cultures of 12 conifer species. — Canad. J. Bot. 47: 547—549.

HELLER R. 1953. Recherches sur le nutrition minerale des tissus végétaux cultivés *in vitro*. — Ann. Soc. nat. Bot. Biol. veg. 14: 1—223.

HILDEBRANDT A. C., RIKER A. J. & DUGGAR B. M. 1945. Growth in vitro of excised tobacco and sunflower tissue with different temperatures, hydrogen-ion concentrations and amounts of sugar. — Amer. J. Bot. 32: 357—361.

— & RIKER A. J. 1949. The influence of various carbon compounds on the growth of Marigold, Paris-Daisy, Periwinkle, Sunflower, and Tobacco tissue in vitro. — Amer. J. Bot. 36: 74—85.

— 1953. Influence of concentrations of sugars and polysaccharides on callus tissue growth in vitro. — Amer. J. Bot. 40: 66—76.

LOEWENBERG J. R. & SKOOG F. 1952. Pine tissue cultures. — Physiol. Plant 5: 33—36.

MURASHIGE T. & SKOOG F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. — Physiol. Plant 15: 473—497.

NICKELL L. G. & BURKHOLDER P. R. 1950. Atypical growth of plants. II. Growth in vitro of virus tumors of *Rumex* in relations to temperature, pH, and various sources of nitrogen, carbon and sulfur. — Amer. J. Bot. 37: 538—547.

REINERT J. 1955. Über die Bedeutung kupferhaltiger Enzyme für die Kultur von Koniferengewebe *in vitro*. — Naturwiss. 42: 18—19.

— 1956. Dissociation of cultures from *Picea glauca* into small tissue fragments and single cells. — Science 123: 457—458.

RISSER P. G. & WHITE P. R. 1964. Nutritional requirements of spruce tumor cells *in vitro*. — Physiol. Plant. 17: 620—635.

SLANKIS V. 1948. Verschiedene Zuckerarten als Kohlenhydratquelle für isolierte Wurzeln von *Pinus strobus*. — Physiol. Plant. 1: 278—289.

— 1949. Einfluß der Temperatur auf das Wachstum der isolierten Wurzeln von *Pinus silvestris*. — Physiol. Plant 2: 131—137.

STERLING C. 1949. Preliminary attempts in larch embryo culture. — Bot. Gaz. 111: 90—94.

STRAUS J. & LARUE C. R. 1954. Maize endosperm tissue grown *in vitro*. I. Culture requirements. — Amer. J. Bot. 41: 687—694.

WHITE P. R. & GILBEY S. N. 1966. Sources of nitrogen for spruce tissue cultures. — Physiol. Plant. 19: 177—186.

WHITE P. R. & RISSER P. G. 1964. Some basic parameters in the cultivation of spruce tissues. — Physiol. Plant. 17: 600—619.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1975

Band/Volume: 17_1_2

Autor(en)/Author(s): Fritz Johannes

Artikel/Article: Zur Kultur von Kambialgewebe der Lärche (Larix decidua L.). 51-58