

MULTIPLIKÁCIA *Acer davidii* ssp. *grosseri* (Pax) De Jong V PODMIENKACH *in vitro*

M. Raček, H. Lichtnerová, M. Dragúňová, A. Gajdošová, A. Jakábová

Došlo: 2. září 2009

Abstract

RAČEK, M., LICHTNEROVÁ, H., DRAGÚŇOVÁ, M., GAJDOŠOVÁ, A., JAKÁBOVÁ, A.: *Multiplication of Acer davidii ssp. grosseri (Pax) De Jong under in vitro conditions*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2010, LVIII, No. 1, pp. 147–152

Experimental works were focused on creation of optimal protocol for *Acer davidii* ssp. *grosseri* shoots multiplication. As the basic medium we used MS (Murashige & Skoog) culture medium enriched by cytokinins TDZ (Thidiazuron) and BAP (6-Benzylaminopurine) in different concentrations. There were used single nodal segments from four years old mother plants in experiments. Experiments were established in the middle of June in the phase of rapid growth of shoots. Cultivation conditions were: 21°C, light intensity 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, period of light 16 hours during the day. The reactions of explants were evaluated after six and twelve month. The results were statistically analysed. The explants of *Acer davidii* ssp. *grosseri* reacted differently on hormonal regulation. The lowest multiplication activity of explants was found out on MS culture medium enriched by 2,6 μM BAP. The average shoot multiplication on MS + 0,5 μM TDZ culture medium was 1,2. Multiplication 1,49 shoot per explants was found out on MS + 2,6 μM BAP + 0,5 μM TDZ. On the basic MS medium 1,35 shoots per explants multiplied. In spite of positive influence of application of TDZ and BAP on shoot multiplication the results compared with multiplication on MS medium were statistically insignificant.

micropropagation, *Acer davidii* ssp. *grosseri*, *in vitro*, multiplication, hormonal regulation

Abbreviations: TDZ (Thidiazuron), BAP (6-Benzylaminopurine), NAA (Naphthalene Acetic Acid), IBA (Indole -3- Butyric Acid), MS (Murashige and Skoog, 1962), WPM (Woody Plant Medium, Lloyd and McCown, 1980), LS (Linsmaier and Skoog, 1965)

Mikropropagácia predstavuje progresívnu cestu pre multiplikáciu rastlín. Jej využitie je perspektívne pri produkcii veľkého množstva rastlinných druhov, vrátane drevín. Mnohé druhy okrasných a ovocných drevín sa v súčasnosti komerčne reproduktujú v podmienkach *in vitro*. Rozšírenej aplikácii mikropropagácie na ďalšie druhy a odrody drevín bráni špecifickosť ich nárokov na kultivačné podmienky. Príkladom sú aj druhy a odrody rodu javor – *Acer* L. Viaceré z nich sa v podmienkach *in vitro* úspešne rozmnožujú (HARTMANN et al., 1997). Ako príklad môžeme uviesť približne 200 000 kusov rôznych odrôd *Acer rubrum*, ktoré vyprodukovali laboratória v USA ešte v roku 1986 (ORLIKOWSKA a GABRYSEWSKA, 1995).

Na druhej strane, pri väčšine zo 124 druhov javorov (GELDEREN et al., 1994) nie sú technologické postupy mikropropagácie dostatočne preskúmané. Problematické sú rôzne fázy rozmnožovania, od odberu explantátov až po aklimatizáciu celistvých jedincov. BOJARCZUK a BOJARCZUK (1999) uvádzajú, že explantáty *Acer rubrum* 'Red Sunset' je najlepšie odberať na jar zo spiacich výhonkov, *Acer palmatum* 'Atropurpureum' a *Acer palmatum* 'Dissectum' z aktívne rastúcich letorastov v máji a júni. Explantáty *Acer pseudoplatanus* je možné odberať v niekoľkých termínoch od marca do novembra. Z uvedeného vyplýva, že úspešnosť technológie je značne závislá od termínu odberu explantátov, respektíve od fyziologického štádia donorovej rastliny. Ďalšou dôležitou vlastnosťou donorových rastlín je štádium ich ontogenetického vývinu. Dokazuje to aj všeobecne platné pravidlo, ktoré sa používa pri autovegetatívnom rozmnožovaní drevín. Materiál pre reprodukciu sa preferenčne odberá z mladých jedincov, ktoré sa nachádzajú, respektíve sú udržiavané, v štá-

diu juvenility. Na príklade explantátov *Acer sacharinum* to potvrdzujú PREECE et al. (1991).

V procese indukcie a multiplikácie výhonkov *in vitro* zohráva, okrem termínu odberu explantátu, dôležitú úlohu zloženie základného kultivačného média a prítomnosť rastových regulátorov. Priamo vplýva nielen na proliferáciu a elongáciu výhonkov, ale aj na regeneráciu ich koreňovej sústavy. ĎURKOVÍČ (1999) sa venoval *in vitro* rozmnožovaniu *Acer caudatifolium* s použitím WPM média (LLOYD a McCOWN, 1980). Ako uvádzajú, predĺžovací rast primárnych explantátov bolo možné pozorovať po troch týždňoch od zavedenia do kultúry *in vitro*. Na podporenie elongácie výhonkov bolo médium doplnené o rastové regulátory NAA a BAP. Multiplikácia výhonkov sa podporila potlačením apikálnej dominancie predlžujúceho sa výhonku, a to jeho zostrihnutím niekoľko centimetrov nad bázou. Po tomto ošetroaní sa na báze pôvodného primárneho explantátu diferencovalo niekoľko nových výhonkov. FERNÁNDEZ-LORENZO et al. (2000) sa zaoberali mikropagáciou *Acer palmatum* 'Osaki' využitím nodálnych segmentov z axilárnych letorastov štvorročných jedincov. Kultiváciou na WPM médiu doplnenom s $1,0 \text{ mg l}^{-1}$ IBA (Indole -3- Butyric Acid), sa na dvadsiaty ôsmy deň dosiahla indukcia tvorby koreňov, ktorej frekvencia dosahovala v priemere až 95%. ORLIKOWSKA a GABRYSZEWSKA (1995) reprodukovali *Acer rubrum* 'Red Sunset' v podmienkach *in vitro*. Najväčšiu multiplikáciu výhonkov zaznamenali po dodaní $0,01 \text{ mg l}^{-1}$ TDZ do MS média. V kombinácii MS média s TDZ a BAP zaznamenali tvorbu kalusu. Naopak MARKS a SIMPSON (1994) zistili pozitívny vplyv nízkych koncentrácií TDZ v kombinácii s $0,01 \mu\text{M}$ BAP na multiplikáciu výhonkov *Acer sacharinum* 'Pyramdale' na LS kultivačnom médiu. Ako vyplýva z uvedených informácií, pri vypracovaní technológie *in vitro* rozmnožovania konkrétneho druhu javora je potrebné kombinovať fyziologické predpoklady explantátu a rôzne typy hormonálne regulovaných kultivačných médií. Získané výsledky môžu byť aplikované pre komerčné množenie, tak ako to na príklade *Acer platanoides* a *Acer rubrum* uvádzajú MACDONALD et al. (1999).

MATERIÁL A METÓDY

Experimentálne práce sa zameriavali na optimalizáciu kultivačných podmienok, pomocou ktorých sa dosiahne efektívna multiplikácia výhonkov *Acer davidii* ssp. *grosseri*. Jedná sa o taxón pôvodom zo strednej a východnej Ázie, ktorý rastie ako mohutný ker, v závislosti od podmienok prostredia niekedy aj ako strom. Dorastá do výšky až desať metrov. V záhradno-krajinárskej praxi je hodnotný predovšetkým kvôli výraznej borke. Dosiaľ používané metódy rozmnožovania tohto taxónu sa orientujú na generatívne rozmnožovanie a vrúbľovanie (GELDEREN et al, 1994).

Odber explantátov sa realizoval zo štvorročných rastlín, ktoré boli pestované v kontajneroch na pokusnej ploche. Materské rastliny sa kvôli obnove

rastu šesť týždňov pred odberom zrezali. Letorasty sa odoberali v intenzívnej fáze rastu v polovici júla. Ako explantáty sa použili jedno nodálne segmenty, ktoré sa päť minút sterilizovali v dvadsať percentnom roztoku komerčného prípravku Savo (účinná látka chlornan sodný) a trikrát premývali v sterilnej destilovanej vode. Následne boli explantáty vertikálne vysadené na kultivačné médium v 125 ml Erlenmeyerových bankách. Kultivácia sa realizovala v definovaných podmienkach pri teplote 21°C a intenzite žiarenia $40 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Pokus sa realizoval v rozsahu pätnástich opakovaní pre každý variant pri zavedení explantátu do kultúry. V rámci jedného opakovania (jednej kultivačnej nádoby) sa použili tri explantáty. Použili sa štyri varianty kultivačného média v nasledovnom zložení:

1. MS
2. MS + $2,6 \mu\text{M}$ BAP
3. MS + $0,5 \mu\text{M}$ TDZ
4. MS + $2,6 \mu\text{M}$ BAP + $0,5 \mu\text{M}$ TDZ

Reakcia explantátov na kultivačné médium, iniciácia a multiplikácia výhonkov, sa zaznamenala po šiestich a dvanástich týždňoch od založenia pokusu. Výsledky sa podrobili matematicko-štatistickému vyhodnoteniu, na ktoré sa použila analýza rozptylu a LSD test štatistickej významnosti rozdielov v priemerných hodnotách (Statgraphic software).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe matematicko-štatistického vyhodnotenia bol zistený vysoko preukazný rozdiel v reakciách explantátov *Acer davidii* ssp. *grosseri* na odlišné kultivačné médiá a prítomné cytokiníny. LSD testom štatistickej významnosti rozdielov v priemerných hodnotách sa kultivačné médiá rozdelili na dve homogénne skupiny (Tab. I, II). Explantáty kultivované na MS médiu obohatenom o $2,6 \mu\text{M}$ BAP vykazovali štatisticky najnižšiu multiplikačnú schopnosť. Reakcie explantátov na ďalších kultivačných médiách sa štatisticky navzájom neodlišovali. Priemerná multiplikácia výhonkov na médiu MS + $0,5 \mu\text{M}$ TDZ bola na úrovni 1,2 výhonku. Štatisticky nevýznamné zvýšenie multiplikačnej schopnosti (1,49 výhonkov na explantát) bolo dosiahnuté po aplikácii MS + $2,6 \mu\text{M}$ BAP + $0,5 \mu\text{M}$ TDZ. Multiplikácia výhonkov na médiách so samotným TDZ a na médiách s kombináciou BAP + TDZ sa štatisticky neodlišovala od multiplikácie zaznamenatej na základnom MS médiu, kde priemerná multiplikačná schopnosť dosahovala 1,35 výhonku na explantát.

Výsledky sa okrajovo zhodujú so zistením, ktorým ĎURKOVÍČ (2003) prezentoval výsledky aplikácie $0,01 \text{ mg l}^{-1}$ TDZ a BAP na *Acer morifolium* Koidzumi, ktorý je príbuzným druhom *Acer davidii* ssp. *grosseri* (GELDEREN et al, 1994). Podľa autora aplikácia uvedených cytokinínov nemala na multiplikačnú schopnosť *Acer morifolium* žiaden vplyv. Na druhej strane po aplikácii všetkých použitých typov cytokinínov v MS médiu bola zaznamenaná tvorba kalusu, tak ako uvádzajú FERRERAS a SWARTZ (1990). Naopak vit-

rifikácia, ktorá sa výrazne prejavila v podobnom pokuse s *Acer tataricum* ssp. *ginnala* (RAČEK et al., 2008) sa nezaznamenal.

Súčasťou vyhodnotenia výsledkov bola aj analýza životaschopnosti a ďalšieho vývinu vytvorených výhonkov. Realizovala sa porovnávaním počtu diferencovaných listov na vyrastených výhonkoch. Analýzou rozptylu sa zistili štatisticky vysoko preukazné rozdiely vo vývine letorastov v závislosti od použitého kultivačného média. Priemerné hodnoty sa zaradili LSD testom do troch homogénnych skupín (Tab. III, IV). Ako vyplýva z tabuľky IV, najmenší počet vytvorených listov sa zaznamenal na MS mé-

diu obohatenom o 2,6 μ M BAP. Najväčší počet listov (3,6 listov na výhonok) sa zaznamenal po aplikácii MS + 2,6 μ M BAP + 0,5 μ M TDZ.

Toto zistenie sa potvrdilo aj po druhom meraní, ktoré sa realizovalo so šesť týždňovým odstupom (Tab. V, VI). Na základe LSD testu sa jednotlivé kultivačné médiá zaradili do dvoch homogénnych skupín. Po druhom meraní sa zistil štatisticky vysoko preukazne najnižší počet listov na médiu doplnenom s 2,6 μ M BAP (1,2 listov na výhonok) v porovnaní s ostatnými testovanými médiami (3,2 a 3,9 listov na výhonok), podobne ako to bolo zistené pri priemernom počte výhonkov na explantát (Tab. II).

I: Analýza rozptylu multiplikačnej schopnosti explantátov *Acer davidii* ssp. *grosseri* vplyvom kultivačného média

I: The analyses of variance of multiplication ability of *Acer davidii* ssp. *grosseri* explants influenced by culture medium

Zdroj variability	Suma štvorcov	Stupne voľnosti	Priemerný štvorec	F-hodnota	Hladina významnosti α
Kultivačné médium	11,6499	3	3,88332	11,85	0,0001
Reziduál	21,6215	66	0,327598		
Celkom	33,2714	69			

II: LSD test štatistickej významnosti rozdielov v priemernom počte multiplikovaných výhonkov na explantát *Acer davidii* ssp. *grosseri*

II: LSD test of statistical significance in differences in average number of multiplied shoots per explants of *Acer davidii* ssp. *grosseri*

Zdroj variability	N	Priemer	Homogénna skupina
MS + 2,6 μ M BAP	15	0,4	A
MS + 0,5 μ M TDZ	15	1,2	B
MS	17	1,35294	B
MS + 2,6 μ M BAP + 0,5 μ M TDZ	23	1,47826	B

III: Analýza rozptylu vývinovej schopnosti výhonkov *Acer davidii* ssp. *grosseri* vplyvom kultivačného média

III: The analyses of variance of developmental ability of *Acer davidii* ssp. *grosseri* shoots influenced by culture medium

Zdroj variability	Suma štvorcov	Stupne voľnosti	Priemerný štvorec	F-hodnota	Hladina významnosti α
Kultivačné médium	55,3644	3	18,4548	5,28	0,0026
Reziduál	223,856	64	3,49775		
Celkom	279,221	67			

IV: LSD test štatistickej významnosti rozdielov v priemernom počte vytvorených listov na výhonok *Acer davidii* ssp. *grosseri* (prvé meranie)

IV: LSD test of statistical significance in differences in average number of developed leaves per shoot of *Acer davidii* ssp. *grosseri* (the first measurement)

Zdroj variability	N	Priemer	Homogénna skupina
MS + 2,6 μ M BAP	14	1,1	A
MS	17	2,4	AB
MS + 0,5 μ M TDZ	15	2,9	BC
MS + 2,6 μ M BAP + 0,5 μ M TDZ	22	3,6	C

V: Analýza rozptylu vývinovej schopnosti výhonkov *Acer davidii* ssp. *grosseri* vplyvom kultivačného média

V: The analyses of variance of developmental ability of *Acer davidii* ssp. *grosseri* shoots influenced by culture medium

Zdroj variability	Suma štvorcov	Stupne voľnosti	Priemerný štvorec	F-hodnota	Hladina významnosti α
Kultivačné médium	69,7533	3	23,2511	5,04	0,0032
Reziduál	327,233	71	4,60892		
Celkom	396,987	74			

VI: LSD test štatistickej významnosti rozdielov v priemernom počte vytvorených listov na výhonok *Acer davidii* ssp. *grosseri* (druhé meranie)
 VI: LSD test of statistical significance in differences in average number of developed leaves per shoot of *Acer davidii* ssp. *grosseri* (the second measurement)

Zdroj variability	N	Priemer	Homogénna skupina
MS + 2,6 μ M BAP	15	1,2	A
MS + 0,5 μ M TDZ	18	3,2	B
MS	18	3,2	B
MS + 2,6 μ M BAP + 0,5 μ M TDZ	24	3,9	B

Môžeme konštatovať, že najnižšia multiplikačná a vývinová schopnosť výhonkov sa zistila pri explantátoch kultivovaných na MS médiu obohatenom o 2,6 μ M BAP. Toto zistenie korešponduje s výsledkami, ktoré získali WANN a GATES (1993), ktorí potvrdili, že vyššia koncentrácia BAP mala inhibičný efekt na proliferáciu a elongáciu výhonkov pri *Acer rubrum*. Iniciáciu prerastania púčikov do výhonkov a proliferáciu výhonkov pozorovali spomínaní autori na MS médiu doplnenom nízkou koncentráciou TDZ (0,01 mg.l⁻¹) alebo na médiu s 0,01 mg.l⁻¹ TDZ s nízkou koncentráciou BAP. Vhodnosť 0,01 mg.l⁻¹ TDZ pre multiplikáciu výhonkov pri *Acer palmatum* potvrdili aj FERNÁNDEZ-LORENZO et al. (2000). Aplikácia TDZ a kombinácia TDZ a BAP v kultivačnom médiu mala aj v našom prípade za následok nielen mierne zvýšenie multiplikačnej schopnosti, ale aj preukazne intenzívnejší vývin nových výhonkov

v porovnaní s médiom doplneným o BAP. V našich experimentoch bola po aplikácii všetkých použitých typov cytokinínov v MS médiu zaznamenaná tvorba kalusu. Tvorbu kalusu pozorovali aj WANN a GATES (1993) po pridaní 0,1 mg.l⁻¹ TDZ ako aj pri kombinácii 0,01 TDZ a 2 mg.l⁻¹ BAP.

Napriek pozitívnemu vplyvu spoločnej aplikácie TDZ a BAP v kultivačnom médiu, zistené rozdiely v počte výhonkov na explantát, ako aj v počte listov na výhonok neboli v našich experimentoch štatisticky preukazné v porovnaní so základným MS médiom. Nízkou proliferáciu výhonkov, ako aj tvorbu kalusu, pripisujeme vyšším koncentráciám cytokinínov použitých v našom experimente v porovnaní s inými autormi. Z tohto dôvodu sú potrebné ďalšie experimentálne práce zamerané na optimalizáciu koncentrácií cytokinínov pre multiplikáciu výhonkov pri *Acer davidii* ssp. *grosseri*.



1: Multiplikácia *Acer davidii* ssp. *grosseri* na MS médiu obohatenom o TDZ

1: Multiplication of *Acer davidii* ssp. *grosseri* on MS culture medium enriched by TDZ



2: Multiplikácia *Acer davidii* ssp. *grosseri* na MS médiu obohatenom TDZ a BAP

2: Multiplication of *Acer davidii* ssp. *grosseri* on MS culture medium enriched by TDZ and BAP

SÚHRN

V procese indukcie a multiplikácie výhonkov *in vitro* zohráva, okrem termínu odberu explantátu, dôležitú úlohu zloženie základného kultivačného média a prítomnosť rastových regulátorov. Špecifické nároky rôznych druhov drevín na prítomnosť rastových regulátorov v kultivačnom médiu vyžadujú pred etablovaním technologického postupu široké spektrum výskumných prác. Experimentálne práce sa preto zameriavali na vypracovanie optimálneho protokolu pre *in vitro* multiplikáciu výhonkov *Acer davidii* ssp. *grosseri*., dosiaľ komerčne nereprodukovaného javora v podmienkach *in vitro*. Letorasty sa odoberali v intenzívnej fáze rastu v polovici júla. Odber explantátov sa realizoval zo štvorročných rastlín, ktoré boli pestované v kontajneroch na pokusnej ploche. Ako explantáty sa použili jedno nodálne segmenty. Kultivácia sa realizovala v definovaných podmienkach pri tep-

lote 21 °C a intenzite žiarenia 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Pokus sa realizoval v rozsahu pätnástich opakovaní pre každý variant pri zavedení explantátu do kultúry. V rámci jedného opakovania (jednej kultivačnej nádoby) sa použili tri explantáty. Ako základné kultivačné médium bolo použité MS médium. Použili sa štyri varianty kultivačného média, ktoré sa odlišovali rôznymi koncentráciami a kombináciami cytokinínov. Reakcia explantátov na kultivačné médium, iniciácia a multiplikácia výhonkov, sa zaznamenala po šiestich a dvanástich týždňoch od založenia pokusu. Výsledky sa podrobili matematicko-štatistickému vyhodnoteniu, na ktoré sa použila analýza rozptylu a LSD test štatistickej významnosti rozdielov v priemerných hodnotách (Statgraphic software). Explantáty *Acer davidii* ssp. *grosseri* reagovali odlišne na rôzne typy cytokinínov. Explantáty kultivované na MS médiu obohatenom o 2,6 μM BAP vykazovali najnižšiu multiplikačnú schopnosť. Reakcie explantátov na ďalších kultivačných médiách sa štatisticky navzájom neodlišovali. Priemerná multiplikácia výhonkov na médiu MS + 0,5 μM TDZ bola na úrovni 1,2 výhonku. Štatisticky nevýznamné zvýšenie multiplikačnej schopnosti (1,49 výhonkov na explantát) bolo dosiahnuté po aplikácii MS + 2,6 μM BAP + 0,5 μM TDZ. Multiplikácia výhonkov na médiách so samotným TDZ a na médiách s kombináciou BAP + TDZ sa štatisticky neodlišovala od multiplikácie zaznamenatej na základnom MS médiu, kde priemerná multiplikačná schopnosť dosahovala 1,35 výhonku na explantát.

Napriek pozitívnemu vplyvu spoločnej aplikácie TDZ a BAP v kultivačnom médiu, zistené rozdiely v počte výhonkov na explantát ako aj v počte listov na výhonok neboli v našich experimentoch štatisticky preukazné v porovnaní so základným MS médiom.

mikropropagácia, *Acer davidii* ssp. *grosseri*, *in vitro*, multiplikácia, hormonálna regulácia

Príspevok vznikol s podporou grantového projektu VEGA č. 2/0004/08

LITERATÚRA

- BOJARCZUK, K., BOJARCZUK, T., 1999: Klony – *Acer campestre* L., *Acer platanoides* L., *Acer pseudoplatanus* L. Poznań: Bogucki Wydawnictwo Naukowe S. C., 1999, s. 229–255.
- ĐURKOVIČ, J., 1999: Clonal propagation of *Acer caudatifolium* Hayata. *Maple Society Newsletter* 9: 8–11.
- ĐURKOVIČ, J.: 2003. Regeneration of *Acer caudatifolium* Hayata plantlets from juvenile explants. *Plant Cell Reports*, 2003, 21: pp. 1060–1064.
- FERNANDÉZ-LORENZO, J. L., IGLESÍAS-DÍAZ, M. I., GUTIÉRREZ-ARAUJO, O., 2000: Micropropagation of a selected rootstock of *Acer palmatum*. In: *Acta Horticulture*, 536, 2000, pp. 347–353.
- FERRERAS, Y. P., SWARTZ, H. J., 1990: Micropropagation of *Acer ginnala*. Amur maple node culture and shoot propagation; culture medium optimization. In: *Hortscience*, 25, 9, 1990 [online]. [cit. 10.01.2008] <http://hortsci.ashspublications.org/cgi/content/abstract/25/9/1095?maxtoshow=&HITS=10&hits=10&RESULTFORMAT=&author1=Ferreras&searchid=1&FIRSTINDEX=0&sortspec=relevance&resourcetype=HWCIT>
- GELDEREN, D. M. VAN, JONG, P. C. DE, OTERDOOM, H. J., 1994: *Maples of the World*. Cambridge: Timber Press, 1994. 422 pp. ISBN 0-88192-000-2
- HARTMANN, H. T., KESTER, D. E., DAVIES, F. E., GENEVE, R., 1997: *Plant propagation: Principles and practices*. 6. ed. New Jersey: Simon and Schuster/ A Viacom company, 1997. 770 pp. ISBN 0-13-261488-X
- LINSMAIER, E. M., SKOOG, F., 1965: Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 18: 100–128.
- LLOYD, G., MCCOWN, B., 1980: Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Proceedings of the International Plant Propagators' Society* 30: 421–427.
- MACDONALD, B., 1999: *Practical woody plant propagation for nursery growers*. 6. ed. Portland, Oregon: Timber Press, 1999. p. 625, ISBN 0-88192-062-2
- MARKS, T. R., SIMPSON, S. E., 1994: Factor affecting shoot development in apically dominant *Acer* cultivars *in vitro*. In: *J Horticulture* 69, 1994, pp. 537–543.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F., 1962: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473–479.
- ORLIKOWSKA, T., GABRYSZEWSKA, E., 1995: *In vitro* propagation of *Acer rubrum* cv. 'Red Sunset'. In: *Journal of fruit and ornamental plant research*, Vol. 3, 1995, No. 4, pp. 195–204.
- PREECE, J. E., HUETTEMAN, C. A., ASHBY, W. C., ROTH, P. L., 1991: Micro- and cutting propagation of silver maple. I. Results with adult and juvenile propagules. In: *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Vol. 116(1), 1991, pp. 142–148.
- RÁČEK, M., LICHTNEROVÁ, H., DRAGÚŇOVÁ, M., JAKÁBOVÁ, A., 2008: Reproduction of *Acer tataricum* ssp. *ginnala* Max in conditions of *in vitro*. In: *Biotechnology*. České Budějovice: Scientific Pedagogical Publishing, 2008, pp. 225–228, ISBN 80-85645-58-0
- WANN, S. R., GATES E. E., 1993: Micropropagation of mature red maple (*Acer rubrum* L.). In: *Proc. Soc. Tree Improv. Conf.* 22: 99–105

Adresa

Ing. Marcel Raček, PhD., Ing. Helena Lichtnerová, Ing. Marta Dragúňová, prof. Ing. Anna Jakábová, CSc., Katedra biotechniky parkových a krajinných úprav, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika, RNDr. Alena Gajdošová, CSc., Ústav genetiky a biotechnológií SAV, Slovenská akadémia vied, P.O.Box 39 A, Akademická 2, 950 07 Nitra, Slovenská republika, e-mail: marcelracek@hotmail.com