

Obserwacje nad zrastaniem się tkanek korzenia marchwi, hodowanych in vitro.

*Observations sur la soudure des tissus de la racine de carotte
cultivés in vitro*

BOHDAN RODKIEWICZ

(Z Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Łódzkiego)

(wpłynęło 6. XII. 51.)

Wstęp

Zdolność zrastania się oddzielnych części roślin jest ważną i ogromnie cenną właściwością, szeroko wykorzystaną w praktyce przy szczepieniu. Studia nad anatomią zrostów były prowadzone na wielką skalę. Obecnie zainteresowano się bliżej fizjologiczną stroną tego zjawiska (Ellenhorn 1951). Wiadomym jest, że prawie u wszystkich roślin w obrębie gatunku można wykonywać skuteczne szczepienia, a bardzo często udają się one między osobnikami odległych grup systematycznych. Metoda hodowli tkanek pozwoliła dokonać i obserwować szczepienia „na gorąco” w probówkach. Prace Camusa (1943, 1944, 1945, 1947 a, b, c), Camusa i Gauthereeta (1948 a, b, c) i Roppa (1948) wykazały, że zdolność zrastania się posiadają nawet niewielkie kawałeczki tkanek, oddzielone od rośliny macierzystej. Camus badał zrastanie się tkanek u Endywii, oraz u *Crambe maritima*. Na rosnącą in vitro tkankę zaszczepiał on pączek wycięty z rośliny tego samego gatunku. W rezultacie wytwarzało się połączenie między elementami przewodzącymi obu składników, czyli następował ścisły zrost. Gautheret (1937, 1945) podaje swoje doświadczenia nad zrastaniem się tkanek u topoli, bzu i marchwi. Z przytoczonych fotografii wynika, że pełny zrost, z wytworzeniem się elementów przewodzących, nie nastąpił, a tkanki połączyły się tylko warstwą kalusa. Camus i Gautheret (1948 a, b, c) szczepili na tkanki rosnące in vitro tkanki naroślów (rakowate) i tkanki zwane przez nich „tis-

sus accoutumée à l'hétéroauxine". Zwrócili oni przy tym uwagę na zmiany fizjologiczne, które zaszły w podkładce, ale nie sprecyzowali charakteru zrostu. Podobne doświadczenie przeprowadził R o p p (1948) na tkankach tytoniu.

Z krótkiej pracy F i g d o r a (1891), oraz z większej R z i m a n n a (1932) wiadomym było, że poprzecznie lub podłużnie przecięte korzenie marchwi zrastają się, jeżeli umieścić je w wilgotnym piasku, lub posadzić w glebie. Figdor nie opisuje bliżej tego zjawiska, natomiast Rzimann podaje, że korzenie zrosły się dzięki wytworzeniu się kalusa i miazgi.

Praca niniejsza została wykonana pod kierownictwem prof. dr F. X. S k u p i e ń s k i e g o. Za pomoc i zachętę okazywaną mi w czasie studiów serdecznie dziękuję profesorowi F. X. Supieńskiemu oraz dr A n n i e W a ł e k - C z e r n e c k i e j.

B a d a n i a w ł a s n e

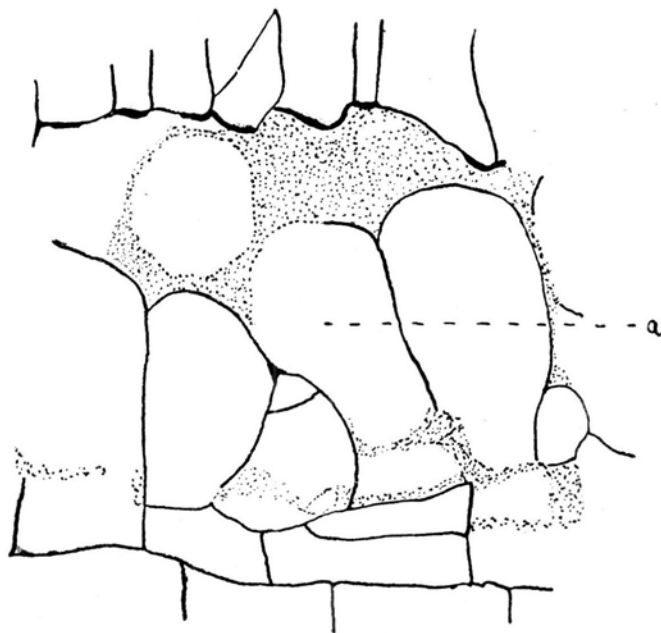
Interesowało mnie, czy można otrzymać całkowity zrost między małymi wycinkami korzenia marchwi, hodowanymi in vitro. Z prac przytoczonych powyżej widać, że znana była zdolność zrastania się tkanek, jednak nie podano dokładnego opisu całego procesu. Dlatego nie wiadomo było czy polega on tylko na wytworzeniu wspólnej warstwy kalusa, czy następuje ściśle zespolenie się obu zrastających się kawałków tkanek z wytworzeniem łączności między elementami przewodzącymi. Wprawdzie C a m u s otrzymał pełny zrost szczepiąc pączki na tkankę rosnącą in vitro, ale przypuszczał on, że właśnie w pączku wytwarzają się substancje, które działają formująco na leżące poniżej tkanki. Dzięki tym substancjom formującym tworzy się według niego zrost obu połączonych części.

W pracy swojej oparłem się na metodzie hodowli tkanek podanej szeroko przez G a u t h e r e t a (1942) i W h i t e ' a (1943). Zasadniczo dotychczas metoda ta stosowana była głównie do prac fizjologicznych i okazała się tam przydatną (T a u s o n, P r o k o f i e v, P o n t o v i c z 1944). Do hodowli brałem niewielkie kawałki korzenia marchwi zawierające część łykową i drzewną oraz miazgę. Układałem je jeden na drugim tak, aby odpowiadające strefy stykały się ze sobą. Powierzchnia, która w korzeniu znajdowała się bliżej wierzchołka wzrostu, w hodowli zwrócona była ku górze. Do niej dotykał górny fragment korzenia powierzchnią, która w organie zwrócona była ku liściom. Materiał utrwaląłem w płynach Bouina i Navaszina, po zatopieniu w parafinie, krawałem na mikrotomie. Z materiału nieutrwalonego sporządzałem skrawki ręczne.

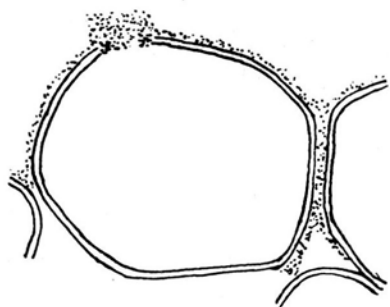
Prepartaty mikrotomowe o grubości 12—15 mikronów barwiłem metodami anatomicznymi i cytologicznymi. Używałem hematoksylinę i brunat Bismarcka, hematoksylinę i zielen światlistą, karmin, czerwien Kongo i chryzoidynę. Przeprowadzałem reakcję floroglucyną i kwasem solnym, chlorcynekjodem, sudanem III i amoniakalną gencją. Rysunki wykonałem aparatem rysunkowym Zeissa.

Początek rozwoju tkanek daje się zauważyć już po kilku dniach. Na powierzchni pojawia się lekki białawy nalot, złożony z dużych komórek charakterystycznych dla pierwszych stadiów gojenia się ran. Komórki takie nazywa K ü s t e r (1925) włoskami przyrannymi. Włoski przyranne powstawały zarówno na górnej wolnej powierzchni, jak i na powierzchniach stykających się ze sobą w miejscu połączenia obu fragmentów tkanek. Komórki te rozwijały się w luźną tkankę zwaną przez G a u t h e r e t a (1937, 1938) pseudothallembyplecha.

Obserwując skrawki z pierwszej fazy rozwoju tej tkanki spostrzegłem interesujące zjawisko. Duże komórki, wypełnione wakuolami i zawierające niewielką ilość przyściennej cytoplazmy, ulega-



Rys. 1. Warstwa gumowatej substancji łączy obie zrastające się tkanki. Szereg nowowyrośniętych komórek przyrannych, z których jedna uległa gumozie (a). — *Couche de substance gommeuse unissant les deux tissus qui sont en train de se souder. On voit un certain nombre de cellules cicatricielles dont une se transforme en gomme (a).*



Rys. 2. Pierwsza faza degeneracji komórki przyrannej. Następuje gumowacenie błony. — *Première phase de dégénérescence de la cellule cicatricielle. La membrane se transforme en gomme.*

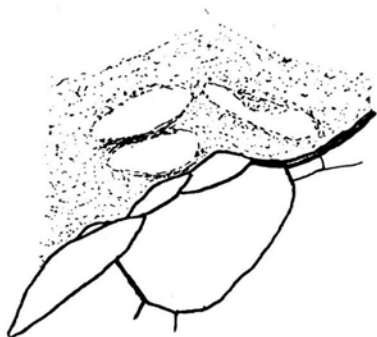
ją podziałowi. W rezultacie, w obrębie dużej komórki tworzy się kilka mniejszych, odgraniczonych cienkimi błonami. Zarysy starych komórek są przy tym doskonale widoczne, ponieważ posiadają one znacznie grubsze błony. Zjawisko takie obserwował również B u v a t (1944).

Początkowe stadia zrastania się obserwowałem na kawałeczkach marchwi, z których jeden (dolny) posiadał przyrmatyczne wycięcie w części łykowej. W wycięciu tym umieszczałem drugi kawałek, w kształcie przyratu, zawierający drewno, łyko i miazgę. Część komórek znajdujących się w płaszczyźnie przecięcia została przy tym zabiegu uszkodzona. Zamieniły się one w gęstą gumowatą masę, której warstwa skleiała oba fragmenty. W miejscach, gdzie między tkankami były większe odległości substancja ta tworzyła nitkowate pasma łączące. W miejscach tych obserwowałem również wzrost komórek, na zranionej powierzchni tworzyły się włoski przyranne. Część ich uległa gumozie w wyniku której powstały nowe porcje sklejującej substancji. (Rys. 1).

Mogłem prześledzić z dużą dokładnością gumozę nowowytworzonych komórek. W pierwszej fazie zniszczeniu ulegają błony komórkowe (Rys. 2), a następnie rozpada się zawartość komórki, zmieniając się w drobnoziarnistą substancję. Często w tej masie można było z łatwością wyróżnić zarysy dawnych komórek. Zagęszczona substancja gumowata znajdowała się tam, gdzie były uprzednio błony komórkowe i przyścienna cytoplazma, natomiast brakło jej w miejscach dawnych wakuol. (Rys. 3). Taki rozpad błon i komórek odbywa się według B l o c h a (1941) pod wpływem enzymów nekrobiotycznych komórek.

W dalszej fazie następuje zespolenie się ze sobą obu fragmentów korzenia. Stykające się powierzchnie wytwarzają bowiem warstwę kalusa. Ilość kalusa powstałego na dolnej „liściowej” stronie górnego fragmentu jest znacznie mniejsza od ilości kalusa powstałego na górnej „korzeniowej” stronie fragmentu dolnego. Potwierdza to

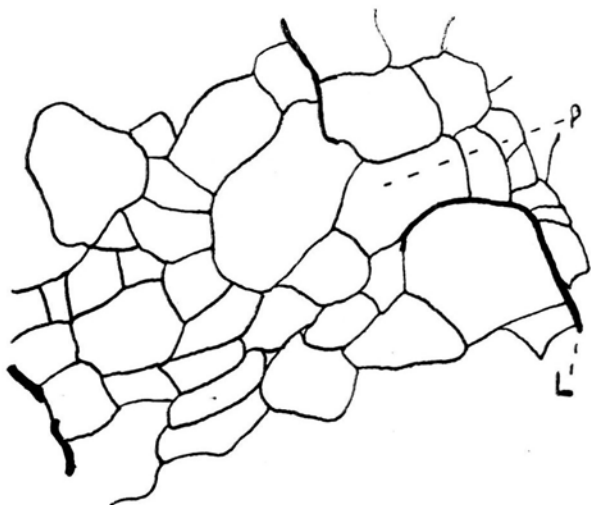
Rys. 3. W masie gumowatej substancji wyróżniają się zarysy dawnych komórek. — *On distingue dans la masse gommeuse les traces des anciennes cellules.*



obserwacje G a u t h e r e t a (1944), który opisuje biegunowy wzrost tkanek korzenia marchwi. Biegunowość ta polega na znacznie silniejszym rozwoju tkanki na powierzchni morfologicznie bliższej wierzchołka wzrostu, niż na powierzchni, która w organie była bardziej od niego odległa. Warstwa kalusa, która łączy oba kawałeczki korzenia jest zupełnie jednolita. Nie można zauważyć tam granicy oddzielającej tkanki powstałe z górnego, lub dolnego fragmentu, ale tylko w tym wypadku, gdy zetknęły się one dostatecznie szybko. Jeżeli kalusy zrosły się ze sobą po dłuższym kontakcie z otaczającą atmosferą to granica między nimi występuje zupełnie wyraźnie. Zewnętrzne komórki każdego z tych kalusów są bowiem lekko skorkowaciałe. Błony tych komórek ulegają później odróżnicowaniu i linia graniczna zanika.

Zupełnie wyraźnie można rozpoznać na preparatach barwionych jak i niebarwionych strefę odgraniczającą stare tkanki od nowopowstałych. Strefa ta uwydatnia się w postaci szeregu komórek o grubych skorkowaciałych i lekko zdrewniałych błonach. Dają one prócz reakcji na korek słabą reakcję z floroglucyną i kwasem solnym. Granica ta zanika w rejonie, gdzie działa kambium. Niewielkie przerwy w tej linii obserwuje się i w innych miejscach, mianowicie tam gdzie została ona przzerwana przez rosnące i dzielące się komórki kalusa (Rys. 4).

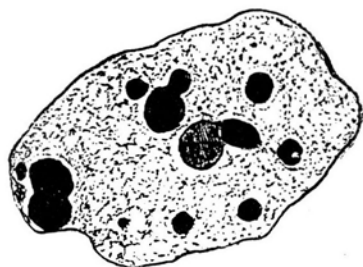
Kalus tworzy się dzięki podziałom komórek przyrastających, ale w głównej mierze dzięki działalności kambium. Kalus łączący „zraz” z „podkładką” zbudowany jest początkowo z nieodróżnicowanych komórek o wymiarach wahających się od 200 do 15 mikronów średnicy (Rys. 4). W olbrzymich komórkach znajdują się ogromne jądra zawierające czasami po kilkanaście jąder (Rys. 5). Średnice tych jąder wynoszą od 24 do 16 mikronów, podczas gdy inne komórki kalusa posiadają jądra o średnicy od 12 do 6 mikronów. B u v a t (1944) opisuje takie jądra w młodych kulturach tkanek, moje zaś



Rys. 4. Warstwa nieodróżnionego kalusa łączy oba fragmenty zrastających się tkanek. L — skorkowaciała i zgrubiała błona komórkowa ograniczająca stare tkanki od kalusa. P — przerwa w tej błonie. — *Couche indifférenciée du callus unit les deux fragments qui sont en train de se souder. L — membrane cellulaire suberifiée et épaissie, sépare les anciens tissus du callus; P — rupture dans cette membrane.*

spostrzeżenia dotyczą i starszych kultur — trzymiesięcznych (bez przeszczepiania). Buvat przypisuje powstawanie wielojąderkowych jąder zlewaniu się. Rzeczywiście obrazy, które oglądałem mogą świadczyć o słuszności tego tłumaczenia.

Gdy warstwa kalusa połączy oba kawałki marchwi, widoczny jest całkowity zanik substancji gumowatej obficie uprzednio wytworzonej. Tylko jej resztki pozostają w szczelinach tkanek, bowiem

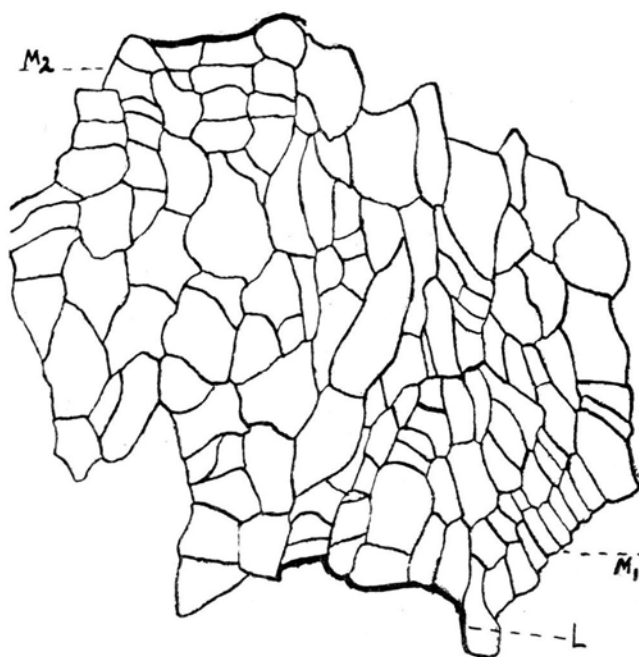


Rys. 5. Jądro z olbrzymiej komórki kalusa zawierające 13 jąderek. — *Noyau d'une grande cellule du callus, contenant 13 nucléoles.*

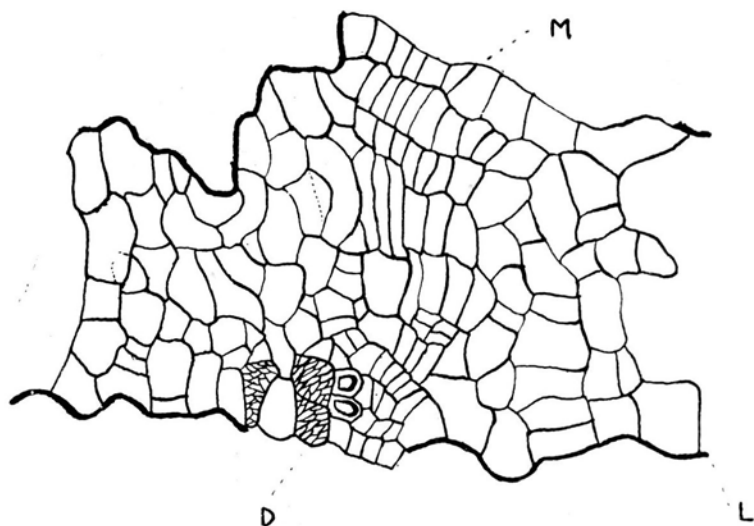
kalus pomimo intensywnego wzrostu nie zawsze wypełnia całą przestrzeń między zrastającymi się powierzchniami.

W kalusie podziały komórek następują bezładnie w różnych kierunkach. W rezultacie powstaje nieregularna charakterystyczna

tkanka. Jednak w strefie gdzie kończy się miazga starych tkanek, część komórek dzieli się kierunkowo. Podziały te zachodzą w ten sposób, że w kalusie powstaje kambium, które jest przedłużeniem kambium tkanek starych. Przedłużenie takie wytwarza się zarówno od strony dolnego jak i od strony górnego fragmentu (Rys. 6). Miazga powstająca w kalusie pojedynczego kawałka korzenia, hodowanego na pożywce, ulega dośrodkowemu zagięciu, t.j. że w narośli uformowanej na zranionej powierzchni znajduje się miazga, która rozpoczyna się od miazgi tkanek starych, a następnie wychyla się w kierunku części drzewnej starych tkanek. Przy ułożeniu jeden na drugim dwóch kawałeczków korzenia, kierunek tworzenia się miazgi może ulegać zmianie. W wypadku przeze mnie opisywanym miazga zaginała się na niewielkiej przestrzeni w kierunku przeciwnym niż normalnie, dążąc do połączenia się z miazgą drugiego komponenta. Kierunek tworzenia się kambium w kalusie łączącym wyznacza wzajemny układ tkanek obu fragmentów.



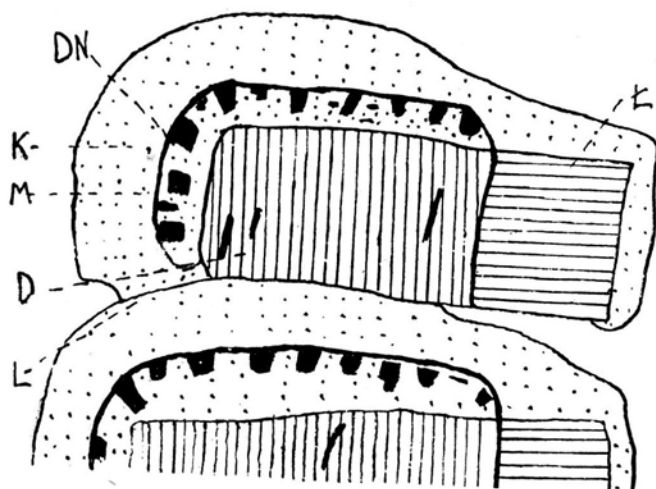
Rys. 6. Kierunkowe różnicowanie się miazgi w kalusie łączącym oba fragmenty. Miazga dolnego fragmentu M_1 i miazga górnego fragmentu M_2 wchodzi do kalusa. L — granica kalusa i tkanek starych. — *Apparition de l'assise génératrice dans le callus unissant les deux fragments. L'assise génératrice du fragment inférieur M_1 et l'assise génératrice du fragment supérieur M_2 entrent dans le callus. L — limite entre le callus et anciens tissus.*



Rys. 7. Pasma miazgi M przechodzi przez kalus łącząc miazgi obu fragmentów. W rejonie tym linia L odgraniczająca stare tkanki od nowych zanikła. D — pierwsze wyróżnicowane elementy drewna. — *Assise génératrice (M) passant par le callus réunit les assises génératrices de deux fragments. Dans ce parage la ligne L, séparant les vieux tissus des tissus nouveaux, est disparue. D — premiers éléments du bois.*

W dalszym stadium łączą się miazgi obu fragmentów za pomocą miazgi wyróżnicowanej w kalusie (Rys. 7). Zbudowana jest ona z paru warstw charakterystycznych cienkościennych komórek. Następnie część komórek utworzonych przez miazgę ulega zdrewnieniu. Drewnieją również niektóre komórki kalusa, przy czym elementy zligifikowane pojawiają się jeszcze przed połączeniem się miazg. Elementy zdrewniałe tworzą nieregularne pasma między drewnem jednego komponenta a drewnem drugiego. Komórki zdrewniałe są różnej wielkości i różnych kształtów: podłużne, owalne, prostokątne, oraz mniej lub więcej nieregularne (Ryc. 10). Większość z nich posiada siateczkowate zgrubienia, ale w elementach wydłużonych występują zgrubienia spiralne i pierścieniowe. Sąsiadujące ze sobą zdrewniałe komórki są połączone prostymi perforacjami.

W rezultacie różnicowania się i wzrostu, następuje połączenie elementów przewodzących obu fragmentów w strefie najbliższej miazdze. Jak wynika z powyższego, kawałeczki korzenia marchwi hodowane *in vitro* posiadają taką samą zdolność ścisłego zrastania się, jaką spotyka się powszechnie w świecie roślinnym.



Rys. 8. Kawałki tkanek z silnie rozwiniętym kalusem (K). Ł — łyko starych tkanek. D — drewno starych tkanek. M — miazga DN — drewno kalusa L — skorkowaciała strefa odgraniczająca kalus fragmentu dolnego od górnego. *Morceaux de tissus avec le callus bien développé (K); Ł — liber de vieux tissus; D — bois de vieux tissus; M — assise génératrice; DN — bois du callus; L — zone subérifiée, séparant le callus du fragment inférieur et du fragment supérieur.*

Prócz takiego „normalnego” połączenia elementów przewodzących obu fragmentów, obserwowałem połączenie innego rodzaju. Po ułożeniu kawałków korzenia jeden na drugim kalus rozwijał się głównie na miększu drzewnym w strefie bliżej rdzenia. Nobécourt (1938) spostrzegł, że własność tworzenia obfitego kalusa przez tkanki bliższe rdzenia posiadają młode korzenie marchwi. W rezultacie nowa tkanka połączyła oba kawałki w strefie miększu drzewnego, natomiast w strefie gdzie znajdowały się zakończenia miazg starych tkanek połączenie nie nastąpiło. (Rys. 8). Intensywny wzrost kalusa odbywał się na górnym i na dolnym kawałku tkanek. W jednym i w drugim wyróżnicowały się miazga i elementy przewodzące. Miazga ta rozpoczynała się na przedłużeniu miazgi tkanek starych i biegła w kalusie równolegle do powierzchni poziomej i pionowej części drzewnej tkanek starych. Koniec kambium zaginał się dośrodkowo, dotykając części drzewnej (Rys. 8). W strefie, gdzie kończyła się miazga górnego kalusa, wytworzył się pomost elementów przewodzących i miazgi, który połączył oba fragmenty tkanek (Rys. 9).

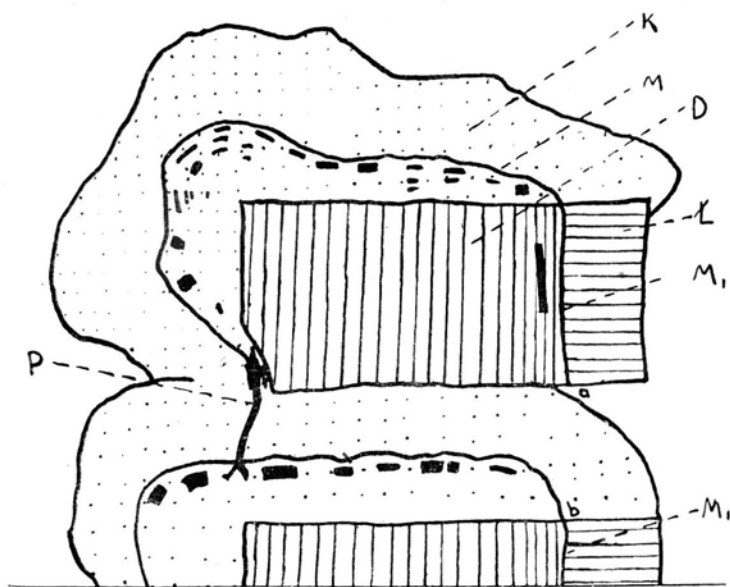
Na zakończeniu miazgi górnego kalusa powstało dość duże zgrupowanie elementów zdrewniałych. Stąd odeszły w dół silnie wydłużone elementy przewodzące i miazga (Ryc. 10). Łączą się one pod

kątem prostym z elementami przewodzącymi i miazgą dolnego kalusa.

Można przypuszczać, że miazga działa tutaj różnicująco na tkanki leżące poniżej jej zakończenia. Z obserwacji wynika, że tkanki mają zdolność do ścisłego zrastania się, przy czym następuje połączenie ich przez elementy przewodzące i miazgę. Różnicowanie się tkanek jest kierunkowe, a kierunek ten wiąże się wyraźnie z położeniem miazgi. Ogólniej można powiedzieć, że wzajemne oddziaływanie na siebie tkanek, szczególnie merystematycznych prowadzi do wytworzenia się połączeń.

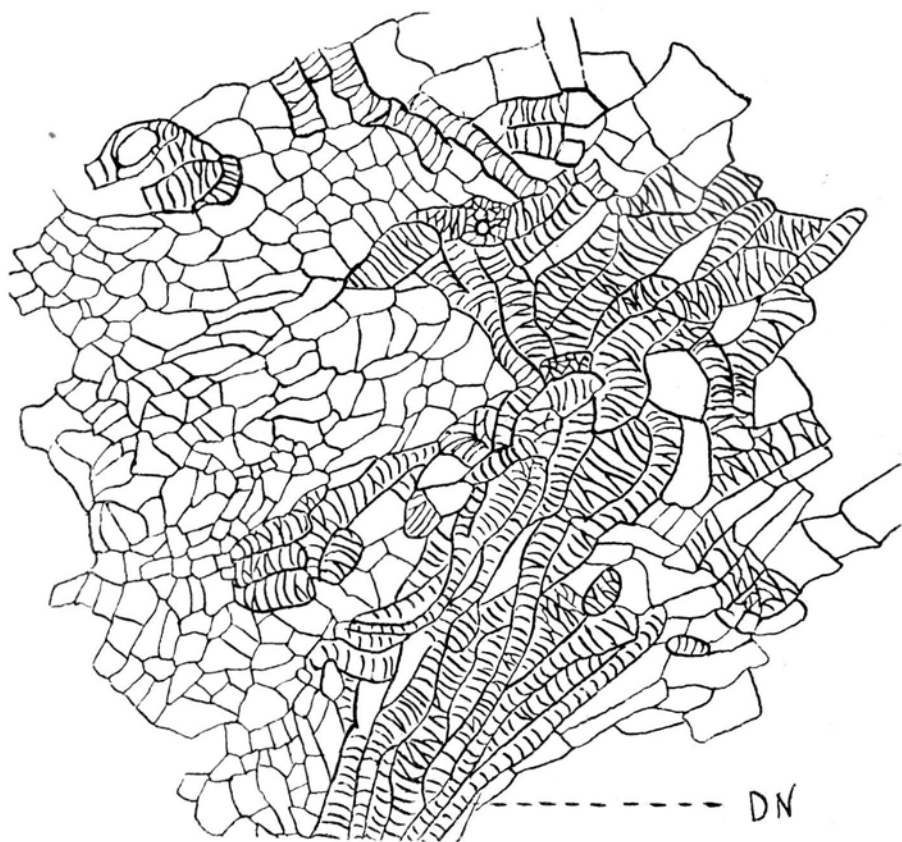
Streszczenie wyników

1. Stwierdzono zdolność do pełnego zrostu fragmentów tkanek korzenia marchwi hodowanych na sztucznych pożywkach. Fragmenty zawierające miazgę, drewno i łyko zrastały się, wytwarzając połączenia miazgi i elementów przewodzących.



Rys. 9. Utworzone połączenie P górnego fragmentu z dolnym. Zrost nastąpił, zamiast na linii a—b, w miejscu nienormalnym. M_1 — miazga; D — drewno tkanki starej; L — łyko tkanki starej; K — kalus; M — miazga kalusa. — *Jonction P produite entre les fragments supérieur et inférieur. La soudure s'est opérée dans un endroit anormal au lieu sur la ligne a—b. M_1 — assise génératrice; D — bois du vieux tissu; L — liber du vieux tissu; M — assise génératrice du callus.*

2. Stwierdzono szereg faz zrostu: a) Zlepianie się tkanek substancjami gumowatymi. b) Tworzenie się łączącej warstwy kalusa. c) Różnicowanie się w kalusie odcinka miazgi łączącej miazgi starych tkanek. d) Tworzenie się połączenia między elementami przewodzącymi.
3. W początku pierwszej fazy wytwarzają się substancje gumowate. Powstają one nie tylko z komórek uszkodzonych, jak się to zwykle opisuje, ale i z komórek nowopowstałych na zranionej powierzchni.
4. W procesach związanych z podziałami i różnicowaniem się komórek dał się zauważyć znaczny wpływ miazgi.



Rys. 10. Zgrupowanie elementów zdrewniałych w strefie końcowej miazgi górnego kalusa. Silnie wydłużone elementy przewodzące DN odchodzą w dół, aby połączyć się z elementami przewodzącymi dolnego kalusa. — *Grouppement des éléments lignifiés dans la zone terminale de l'assise génératrice du callus supérieur. Les éléments conducteurs fortement allongés (DN) partent vers le bas pour s'unir avec ceux du callus inférieur.*

RÉSUMÉ

Pour cultiver les tissus provenant de la racine de carotte j'utilisais comme substratum la gélose à la solution de Knopp, coupée à moitié d'eau et additionnée de 2% de saccharose et d'extrait de levure. Les fragments de tissus à cultiver mesuraient environ 1 cm³ et contenaient chacun un cambium, une partie de liber et une partie de bois. Les cultures montées dans des tubes à essai furent gardées à la température de 22°C. Deux fragments de racine associés ne tardent pas à se souder. Dans ce procès de soudure on peut distinguer plusieurs phases. Dans la première les deux fragments de la racine s'accolent l'un contre l'autre à l'aide d'une substance gommeuse. Cette substance se forme à la suite d'une décomposition de cellules blessées et d'une partie de cellules qui se développent à la surface de la tranche. La phase suivante est marquée par la rupture de la couche gommeuse par le tissu cicatriciel (callus), constitué de cellules parenchymateuses, qui soude les deux fragments en question. Dans cette couche homogène des tissus cicatriciels apparaît le tissu cambial, celui-ci se forme comme prolongement des assises génératrices de deux fragments soudés; il se forme ainsi une assise génératrice commune. Dans la phase suivante on constate la mise au contact des vaisseaux de deux fragments soudés, par les vaisseaux nouvellement formés dans le tissu cicatriciel, à partir du tissu cambial et en partie de cellules parenchymateuses du callus.

Au cours de toutes mes observations j'ai pu constater une action directrice des assises génératrices de deux fragments soudés sur l'ordre de la différenciation des cellules de l'assise cicatricielle.

CYTOWANA LITERATURA

1. Bloch R. 1941. Wound healing in higher plants. Bot. Rev. 7. 110—146.
2. Buvat R. 1944. Recherches sur la dédifférenciation des cellules végétales. Ann. d. Sc. Nat. Botanique 5. 1—113.
3. Camus G. 1943. Sur le greffage de bourgeons d'Endive sur les fragments de tissus coultivés „in vitro“. C. R. Soc. Biol. 137. 184.
4. Camus G. 1944. Action différenciatrice des bourgeons d'Endive sur les tissus soujacentes. C. R. Ac. Sc. 219. 34—36.
5. Camus G. 1945. Mise en evidence de l'action différenciatrice des bourgeons d'Endive par la méthode des greffes. C. R. Ac. Sc. 221. 570—572.
6. Camus G. 1947a. Modifications histologiques provoquées par la greffage de bourgeons sur les fragments isolés de parenchyme vasculaire d'Endive. C. R. Soc. Biol. 141. 38—40.

7. C a m u s G. 1947b. Modifications provoquées par le greffage de bourgeons sur le développement de fragments de racine d'Endive cultivés „in vitro“. C. R. 141. 389—391.
8. C a m u s G. 1947c. Modifications histologiques provoquées par les bourgeons se développant sur des prismes de *Crambe maritima* L. C. R. Ac. Sc. 224. 154—156.
9. C a m u s G. R. J. G a u t h e r e t 1948a. Sur la transmission par greffage des propriétés tumorales des tissus de crown.-gall. C. R. Soc. Biol. 142. 15.
10. C a m u s C. R. J. G a u t h e r e t 1948b. Nouvelles recherches sur le greffage des tissus normaux et tumoraux sur des fragments de racine de *Scorsonère* cultivés „in vitro“. C. R. Soc. Biol. 142. 769—771.
11. C a m u s G. R. J. G a u t h e r e t 1948c. Sur le repiquage des proliférations induites sur des fragments de racines de *Scorsonère* par des tissus de crown.-gall.... C. R. Soc. Biol. 143. 771.
12. E l l e n h o r n J. E. 1951. Kletoczno-fiziologiczeskij analiz vzaimootnoszenij tkanej podvoja i privoja. Izv. A. N. SSSR s. biol. 21—29.
13. F i g d o r W. 1891. Experimentalle und histologische Studien ueber die Erscheinung der Verwachsung in Pflanzenreich. Sitzber. d. Math. Natur Clas. d. k. Akad. d. Wiss. Wien 100. 177—200.
14. G a u t h e r e t R. J. 1937. La culture des tissus végétaux son état actuel comparaison avec la culture de tissus animaux. 66pp. Paris Hermann.
15. G a u t h e r e t R. J. 1938. Recherches sur la culture de fragments de tubercules de Carotte. C. R. Ac. Sc. 206. 457—459.
16. G a u t h e r e t R. J. 1942. Manuel technique de culture de tissus végétaux 177 pp. Paris, Masson.
17. G a u t h e r e t R. J. 1944. Recherches sur la polarité des tissus végétaux. Rev. Cytol. et Cytophysiol. Végét. 17. 45—217.
18. G a u t h e r e t R. J. 1945. La culture de tissu. 203 pp. Gallimard.
19. K ü s t e r E. 1925. Pathologische Pflanzenanatomie. Jena Fischer.
20. N o b é c o u r t P. 1938. Sur les proliférations spontanées de fragments de tubercules de Carotte et leur culture sur milieu synthétique. Bull. Soc. Bot. Fr. 85. 1—7.
21. R o p p R. S. 1948. The interaction of normal and crown gall tumor tissue in vitro grafts. Amer. Jour. Bot. 35. 372.
22. R z i m a n n G. 1932. Regenerations und Transplantationsversuche an *Daucus Carota*. Die Gartenbauwiss. 6. 612—636.
23. T a u s o n V. O. A. A. P r o k o f e v V. E. P o n t o v i c z 1944. Steril'nye kul'tury kak metod izuczenija obmena veshchestv u vysszich rastenij. DAN SSSR 42. 136—139.
24. W h i t e P. R. 1943. A handbook of plant tissue culture. pp. 277. Lancaster Pens. Cattell Press.