Badania nad biologią eksplantatów dna kwiatowego truskawki

Studies on the biology of the explants of the strawberry receptacle

E. K. LIS, R. ANTOSZEWSKI

Zachowanie się eksplantatów owoców w warunkach kultury tkankowej oraz ich zdolność wytwarzania kalusa były przedmiotem stosunkowo nielicznych badań, choć już w 1937 r. T u k e y (1937) wykazał, iż można prowadzić kulturę tkanki owoców mięsistych *in vitro*. Wymienić tu należy badania S c h r o e d e r a, który wykazał zdolność tkanki perykarpu awokado i moreli do proliferacji (S c h r o e d e r 1955; S c h r o e d e r i inni 1962). Tkanki jabłek hodował L e t h a m (1958). Badania nad proliferacją eksplantatów banana prowadził M o h a n R a m i S t e w a r d (1964). Wpływ substancji wzrostowych na rozwój dna kwiatowego poziomki badali C r e a s y i S o m m e r (1964). Przegląd badań w tej dziedzinie podaje N i t s c h (1963).

Celem pracy było zbadanie zachowania się eksplantatów dna kwiatowego truskawki wyszczepionych w różnych terminach po zapyleniu na różnych pożywkach. Badania przeprowadzono w intencji lepszego poznania relacji fizjologicznych i morfogenetycznych związanych z funkcjami dna kwiatowego jako „niszy fizjologicznej” („physiological sink”).

MATERIAŁ I METODA

Badania prowadzono na owocach truskawki odmiany ‘Talizman’ i ‘Senga Sengana’ (*Fragaria grandiflora* Duch. cv Talisman i Senga Sengana). Rośliny uprawiano w szklarni przez cały rok. W miesiącach zimowych przedłużano dzień światłem sztucznym. Kwiaty zapylano pędzelkiem i notowano termin każdego zapylenia. Do wyszczepiania brano owoce w 2, 4, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 16, 22 i 33 dni po zapyleniu. Owoce odcinano wraz z szypułką od roślin, przemywano wodą bieżącą, dolny koniec szypułki zatapiano w sterylnej parafinie (D e C a p i t e 1955) i sterylizowano 0,1% HgCl_2 przez 10 do 15 min., po czym płukano trzykrotnie sterylną wodą bidestylowaną (B u t e n k o 1964). Ze środka dna kwiatowego wykrawano podłużne plasterki grubości 2 mm, zawierające fragmenty kory, rdzenia oraz elementy przewodzące. W niektórych wypadkach usuwano niełupki.

Tabela 1 — Table 1

Skład pożywek na których prowadzono hodowlę eksplantatów dna kwiatowego truskawki
Composition of media on which explants of strawberry receptacle were grown

Skład pożywek w mg/l Components in mg/l	Nazwa pożywki Name of medium				
	mineralna mineral	mineralna z sacharozą mineral with sucrose	podstawowa basic	podstawowa z witaminami basic + vitamins	Murashige i skooga
Składniki mineralne Mineral components	jak w pożywce White'a* as in White's medium*	jak w pożywce White'a* as in White's medium*	jak w pożywce White'a* as in White's medium*	jak w pożywce White'a* as in White's medium*	jak w pożywce Murashige i Skooga** as in Murashige a. Skoog's medium**
Składniki organiczne Organic components mg/l					
Agar	8000	8000	8000	8000	8000
Sacharoza (sucrose)	—	3000	3000	3000	3000
Asparagina (asparagine)	—	—	180	180	180
Glikokol (glycine)	—	—	—	2	2
Kw. hydrolizat kazeiny Acid caseine hydrolyzate	—	—	—	—	1000
Mezo-inozyt (meso-ino- site)	—	—	—	—	100
Witaminy Vitamins					
Tiamina-HCl (thiamine-HCl)	—	—	—	0,1	0,1
Pirydoksyna-HCl (Pyridoxine-HCl)	—	—	—	0,5	0,5
Kwas nikotynowy (nico- tinic acid)	—	—	—	0,5	0,5
Regulatory wzrostu Growth regulators					
IAA	—	—	5	5	5
2,4-D	—	—	2	2	2
Kinetyna (kinetine)	—	—	2	2	2

* Mineralne składniki pożywki White'a (1963). Mineral components of White's medium (1963). $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — 200 mg/l, MgSO_4 — 360 mg/l, KNO_3 — 80 mg/l, KCl — 65 mg/l, Na_2SO_4 — 200 mg/l, NaH_2PO_4 — 16,5 mg/l, Fe_2SO_4 — 2,5 mg/l, KJ — 0,75 mg/l, MnSO_4 — 4,5 mg/l, ZnSO_4 — 1,5 mg/l, H_3BO_3 — 1,5 mg/l.

** Mineralne składniki pożywki Murashige i Skooga (1962). Mineral components Murashige and Skoog's medium (1962). KNO_3 — 1900 mg/l, NH_4NO_3 — 1650 mg/l, $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ — 440 mg/l, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 370 mg/l, KH_2PO_4 — 170 mg/l, Na_2EDTA — 37,3 mg/l, $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 27,8 mg/l.

Skład pożywek, na których prowadzono hodowlę eksplantatów zestawiono w tabeli 1.

Optymalne stężenie regulatorów wzrostu w pożywkach dobrano po wstępnych doświadczeniach. Witaminy dodawano do pożywki podstawowej w ilościach zalecanych przez Skooga i Chenga (1942). W niektórych wypadkach dodawano do pożywki podstawowej homogenat z zielonych i białych owoców truskawki (średnicy od 0,5 do 1,5 cm) w ilości 1,5% v/v, serwatkę w ilości 10% v/v lub hydrolizat kwaśny kazeiny w ilości 50 mg/l. Pożywkę w pełnym składzie doprowadzano do pH 6,2 i sterylizowano w autoklawie przy ciśnieniu 1 atm. Kulturę prowadzono w warunkach oświetlenia ciągłego o natężeniu światła 1000—1500 lux i temperaturze 24° C. Prowadzono regularną obserwację i dokumentację fotograficzną rozwoju eksplantatów. Interesujące eksplantaty utrwalano w utrwalaczu FAA, zatapiano w parafinie, cięto na mikrotomie i wybarwiano safraniną a następnie zielenią mocną (Jensen 1962). Dla zbadania wpływu auksyny na organy truskawki zachowujące kontakt z rośliną, nakładano pastę lanolinową zawierającą 1% IAA na szypułkę, owoc, owoc przecięty, ogonek liściowy i powierzchnię liścia.

WYNIKI

Ogólnie wyróżnić można dwa typy rozwoju eksplantatów dna kwiatowego truskawki. Jeden typ rozwoju polega na wytwarzaniu przez tkanki eksplantatu kalusa i określany jest terminem wzrostu kalusowego. Drugi typ rozwoju charakteryzuje się nieregularnym wzrostem wymiarów eksplantatu spowodowanym powiększaniem się komórek i nazywany jest przez nas wzrostem rozpięchłym (w literaturze amerykańskiej nazywany „popcorn-like”).

Brak sacharozy w pożywce mineralnej powodował zamieranie eksplantatów. Eksplantaty ze starszych owoców zamierały wkrótce po wyszczepieniu, z młodych zawiązków pozostawały żywe przez dłuższy czas (6 tygodni), zachowując zielony kolor, po czym brązowiwały i zamierały.

Na pożywce mineralnej zawierającej 3% sacharozy nie obserwowano wytwarzaniu kalusa, ale nawet eksplantaty z bardzo młodych zawiązków rosły wzrostem rozpięchłym po bardzo długim czasie jak gdyby „uśpienia”. Ten okres uśpienia trwał czasem nawet dwa miesiące. Natomiast eksplantaty ze starszych owoców zaraz po wyszczepieniu rozwijały się i zmieniały zabarwienie w sposób właściwy dojrzewającym owocom truskawki.

Na pożywce podstawowej po tygodniu hodowli można było spostrzec wzrost eksplantatów. Na eksplantatach z młodych owoców (2 do 11 dni po zapyleniu) powstawał kalus zlokalizowany na przecięciu centralnego pierścienia wiązek przewodzących i wiązek prowadzących do niełupek.

Kalus rozrastał się i pokrywał całą powierzchnię eksplantatu. Szczególnie intensywnie wytwarzany był kalus u podstawy dna kwiatowego, gdzie występuje zagęszczenie wiązek przewodzących (p. Fot. 1).

Intensywny wzrost kalusa obserwowano we wnękach po usuniętych niełupkach (Fot. 2).

Obserwowano też proliferację komórek skórki (Fot. 3).

Grupy komórek kalusowych były ściśle związane z tkanką, z której wyrastały, tworząc zwarte narośla złożone z drobnych komórek, zachowujących na ogół zielony kolor (Fot. 5).

Po miesięcznej hodowli kalus uzyskiwał dostateczne wymiary, by można było przeszczepić i dawał się hodować na pożywce o analogicznym składzie. Biologia izolowanej tkanki kalusa stanowi przedmiot osobnych badań.

U eksplantatów z młodych zawiązków nie obserwowano prawie wcale wzrostu tkanek miękkich, w przeciwieństwie do eksplantatów ze starszych owoców powyżej 11–14 dni po zapyleniu, u których powiększają się intensywnie komórki miękkie kory i rdzenia, powodując na powierzchni eksplantatu wielokrotne spękania. Eksplantat taki składa się z komórek wielkich, widocznych gołym okiem, luźno ułożonych, wodnistych. Nie zawierają one chlorofilu, po pewnym czasie czerwienieją i upodabiają się do dojrzałych komórek dna kwiatowego. Tkanka złożona z takich komórek słusznie nazywana bywa „popcorn-like” (Fot. 4).

Czas osiągnięcia takiej dojrzałości eksplantatu odpowiadał okresowi dojrzewania owoców badanej odmiany w warunkach naturalnych. Tkanki rozrastające się w ten sposób nie dawały się dalej pasażować, przejrzały i ginęły. Tylko powierzchnia wiązek przewodzących była pokryta grupkami komórek kalusa, który po oddzieleniu od eksplantatu zachowywał się tak jak kalus z owoców młodych. Eksplantaty wyszczerpione na pożywkę podstawową z dna kwiatowego 11–14 dni po zapyleniu wykazują wzrost typu rozpięzłego, natomiast eksplantaty z młodych owoców wykazują wzrost typu kalusowego. Termin ten (11–14 dni) wydaje się być terminem granicznym w opisanych warunkach doświadczenia. Proliferacja komórek sąsiadujących z wiązkami przewodzącymi zachodzi niezależnie od wieku eksplantatu.

Dodatek witamin do pożywki podstawowej nie zmienia zachowania się eksplantatów w istotny sposób. Także nie zmienia się rozwój eksplantatów na pożywce z hydrolizatem kazeiny. Wydaje się, iż dodatek homogenatu owoców znacznie stymuluje proliferację komórek. Dodatek serwatki do pożywki podstawowej wpływa dodatnio na rozwój kalusa, ale wyraźnie hamuje rozwój tkanki miękkiej eksplantatu i przyspiesza ich zamieranie.

Na pożywce Murashige i Skooga eksplantaty owoców zachowywały typ rozwoju podobny jak na pożywce podstawowej. Ich wzrost był szybszy i znacznie intensywniejszy. Wytwarzany kalus różnił się od kalusa z pożywki podstawowej luźniejszą strukturą i kremową barwą. U eksplan-

Fot. 1. Kalus u podstawy dna kwiatowego w miejscu zagęszczenia wiązek przewodzących

Callus at the base of receptacle from the place with dense vascular bundles system

Fot. 2. Kalus rozwijający się we wnęce po usuniętej niełupce
Development of callus in the achenes cave

Fot. 3. Proliferujące komórki skórki
Proliferation of epidermal cells

Fot. 4. Eksplantat o wzroście typu rozpięzchłego („popcorn-like”)
Explants with „popcorn-like” type of growth

Fot. 5. Eksplantaty z powierzchnią pokrytą kalusem
Explants with surface covered by callus

tatów w wieku 11—16 dni po zapyleniu poza bujnym wzrostem kalusa rozrastała się tkanka mięsiszowa, natomiast u eksplantatów z owoców starszych tkanka mięsiszowa kory rozrastała się nieznacznie i wkrótce brunatniała.

Przeprowadzono uzupełniające doświadczenia nad zachowaniem się eksplantatów z innych organów truskawki w warunkach *in vitro*. Wyszczepiony na pożywce podstawowej fragment rozłogu wytwarzał kalus na powierzchni cięcia, podobnie jak fragment szypułki. Wyszczepione pąki kwiatowe rozwijały się. Obserwowano wzrost kalusa na dolnej stronie działek kielicha oraz słabszy wzrost u podstawy płatków kwiatów hodowanych na pożywce White'a z IAA w stężeniu 1 i 5 mg/l. Na tej samej pożywce także podstawa pylników i szyjka dna kwiatowego rosła wzrostem typu rozpięzchłego i dojrzewała. Nie udało się uzyskać kalusa z liści i „crown” rośliny. W żadnym wypadku nie obserwowano pojawiania się kalusa na roślinach traktowanych pastą lanolinową zawierającą IAA, w niektórych wypadkach obserwowano jedynie znaczne zmiany morfologiczne organu. Nie obserwowano też wystąpienia wzrostu typu rozpięzchłego ani przyspieszenia dojrzewania owoców.

DYSKUSJA

Obecność w pożywce substancji wzrostowych typu auksyn takich jak 2,4-D i IAA, oraz kinetyny decyduje o wytwarzaniu kalusa na eksplantatach dna kwiatowego truskawki, podobnie jak w wypadku kultury owocu gruszy i pigwy prowadzonej przez *Leitham* (1960). Na pożywce bez substancji wzrostowych kalus nie wytwarza się. Także dodatek samej kinetyny, kwasu naftalenooctowego (NAA) czy kwasu giberelinowego, a także kinetyny z NAA nie powodował wytwarzania kalusa na przeciętym dnie kwiatowym poziomki (*Sommer, Creasy* 1964). Zwraca uwagę fakt, iż ta sama tkanka potencjalnie zdolna do wytwarzania kalusa w jednym wypadku jest w stanie korzystać z cukrów zawartych w pożywce i wytwarzać kalus, natomiast w innym wypadku wzrost jej jest bardzo powolny, więc wykorzystanie substancji pokarmowych środowiska niesprawne i rozwój ograniczony. Jedynym czynnikiem różnicującym te dwa skrajne typy zachowania się w opisanych warunkach jest obecność substancji wzrostowych w pożywce. Wygląda więc na to, iż właśnie substancje wzrostowe decydują o pobieraniu czy metabolicznym uruchamianiu cukrów znajdujących się w dostatecznej ilości w pożywce i wytwarzaniu ich kosztem tkanki kalusowej. Eksplantat truskawki w tym względzie zachował się tak samo jak eksplantaty innych roślin i sam kalus opisywany przez szereg autorów (*Wiggans* 1954; *Skog, Robinson* 1950).

Do rozwoju kalusa z tkanek dna kwiatowego truskawki poza regulatorami wzrostu w pożywce niezbędne jest jednak uszkodzenie związane

z oddzieleniem organu od rośliny. Prawdopodobnie istotna jest utrata pewnych korelacji fizjologicznych kontrolujących w normalnych warunkach rozwój rośliny jako całości.

Fakt, iż kalus rozwija się prawie zawsze w miejscu przecięcia wiązek przewodzących był notowany przy proliferacji tkanek innych owoców (Sommer, Bradley, Creasy 1962; Kordan 1959). Być może związane jest to z obecnością bardzo aktywnych w sensie podziałowym komórek stanowiących elementy układu przewodzącego. Jak wiadomo komórki tego typu często związane są funkcjonalnie z procesami regeneracji i proliferacji (Krenke 1950; Krenke 1966; Butenko 1964; Gautheret 1959). Nie widać różnic w zdolności kalusotwórczej uszkodzonych wiązek przewodzących w zależności od ich zlokalizowania na przekroju dna kwiatowego. Intensywność rozwoju kalusa zależy raczej od nagromadzenia elementów przewodzących w danym miejscu, co doskonale widać u podstawy owocu. W niektórych też wypadkach udało się uzyskać kalus na fragmentach szypułki i rozłogu umieszczonych na pożywce stałej. Jak widać zarówno szypułka, jak i rozłóg odznacza się szczególnym zagęszczeniem elementów przewodzących. Wskazywałoby na to, iż istotną rolę odgrywa tu efekt przyranny, sam fakt uszkodzenia elementów przewodzących, nie zaś odległość danego miejsca od niełupiek jako możliwych źródeł substancji morfogenetycznie czynnych (Nitsch 1950). W normalnych warunkach komórki potencjalnie zdolne do wytwarzania kalusa nie rozwijają się w ten sposób, widocznie więc sąsiednie komórki miękiszowe lub substancje dopływające z rośliny spełniają funkcje korelatywnych regulatorów ich rozwoju. Wprawdzie w niektórych wypadkach zaobserwowano powstawanie narośli kalusowych w zagłębieniach, w których tkwiły jeszcze niełupki, prawdopodobne jest jednak, iż wynikało to z niewidocznych uszkodzeń systemu przewodzącego, czy też z istotnego zachwiania korelacji wzrostowych w układzie na skutek dokonania zabiegu chirurgicznego. Podobnie można by tłumaczyć proliferację komórek skórki eksplantatu. Zasadniczym czynnikiem uniemożliwiającym, czy hamującym rozwój kalusowy komórek jest funkcjonalna całość organu.

Szczególną uwagę warto zwrócić na zdecydowanie różny rozwój eksplantatów na pożywce podstawowej w zależności od wieku dna kwiatowego, z którego pobrano eksplantat. Eksplantaty z młodych owoców wytwarzają przede wszystkim kalus na swojej powierzchni, eksplantaty ze starszych owoców rozwijają się głównie „popcorn-like”. Wydaje się, iż terminem przełomowym jest tu okres 11—14 dni po zapyleniu. Wiadomo, że właśnie w tym okresie obserwuje się w niełupkach maksymalne nagromadzenie auksyn poprzedzające załamanie się krzywej wzrostu dna kwiatowego truskawki (Nitsch 1952). Nasze pomiary biometryczne wskazują na występowanie zmiany tempa wzrostu dna kwiatowego akurat po około 12 dniach po zapyleniu. Nawet w okresie przejściowym, tzn. 11—14 dni po zapyleniu, po dłuższym czasie hodowli w rozwoju eksplan-

tatu przeważa jeden z możliwych typów wzrostu i albo pokrywa się kalusem, a tkanka miękiszowa zamiera, albo też drobne wysepki kalusa toną w tkance „popcorn-like” jak w pianie. Być może świadczy to o konkurencji między tymi typami wzrostu. Z wyników badań *Cress* i *Sommer* można by wnioskować, iż gibereliny powinny być substancjami, których stężenie w tkance decyduje o wzroście typu popcorn-like (*Cress*, *Sommer* 1964). Nie potwierdzają tego nasze badania. Z innych badań wnioskować by można, iż niełupki są źródłem auksyn, auksyny więc powinny znajdować się w elementach przewodzących (*Gustafson* 1936; *Nitsch* 1950; *Nitsch* 1955; *Nitsch* 1965). Warto jednak zaznaczyć, iż w organizmie roślinnym harmonia rozwojowa utrzymana jest zarówno przez czynniki typu stymulatorów, jak i przez inhibitory. Jak wynika z badań *Vargi* w truskawce wykrywa się aktywne inhibitory wzrostu (*Varga* 1957, 1958; *Köves* 1957). Zakładając, iż elementy przewodzące są dystrybutorami regulatorów wzrostu, miękisz zaś tym bardziej typowy, im odleglejszy od wiązek przewodzących, można wnioskować, że brak regulatorów wzrostu determinuje wzrost typu miękiszowego. Na to wskazywałoby także dziwne zachowanie się eksplantatów z młodych zawiązków na pożywce zawierającej samą sacharozę. Obserwowano ich wzrost typu rozpiezchłego, ale po dosyć długim okresie „odczekiwania”. Gdyby jednak typ wzrostu zależał tylko od bilansu substancji wzrostowych w tkance, zmiana tego bilansu przez ingerencję z zewnątrz powinna prowadzić do zmiany typu wzrostu i proces ten powinien być odwracalny. W badaniach naszych nie obserwowano wzrostu rozpiezchłego u kalusa i odwrotnie, rosnące komórki miękiszowe nie tworzyły kalusa. Wydaje się, że charakter wzrostu komórki do pewnego tylko momentu jest niezdeterminowany, potem następuje nieodwracalna determinacja jej typu wzrostu. W samym tym „decydowaniu się” bilans substancji wzrostowych w komórce, jak i w otoczeniu odgrywać może istotną rolę. Po „zapadnięciu decyzji” rola substancji wzrostowych maleje i komórki rozwijają się zgodnie ze swoim typem wzrostu lub giną. Przeniesienie kalusa na pożywkę bez substancji wzrostowych powoduje jego zamieranie. Nie zauważono też dyferencjacji komórek kalusa na opisanych pożywkach.

STRESZCZENIE

Badano zachowanie się eksplantatów dna kwiatowego truskawki na różnych pożywkach. Fragmenty dna kwiatowego truskawki wyszczerpięone w warunkach sterylnych na pożywki syntetyczne wykazują zdolność wytwarzania tkanki kalusowej. Poszczególne części dna kwiatowego odznaczają się różną zdolnością kalusotwórczą. Zdolność ta zależy także od wieku owocu, z którego pobierano eksplantat.

Najwyższą zdolnością do wytwarzania kalusa odznaczają się komórki w okolicy wiązek łykodrzewnych. Zaobserwowano wytwarzanie kalusa przez komórki skórki.

Młode owoce wykazują większą tendencję do wytwarzania kalusa niż starsze (do 14 dni po zapyleniu na pożywce mineralnej *White'a* z 3% sacharozy, IAA, kine-

tyną i 2,4-D). Natomiast dno kwiatowe w stadium białozielonym wykazuje tendencję do wzrostu rozpięzłego (popcorn-like).

Komórki kalusowe udało się utrzymać przy życiu po wielokrotnym pasażowaniu, natomiast komórki rozwijające się „popcorn-like” nie wykazują zdolności dalszego rozwoju na świeżej pożywce, czerwienieją i zamierają.

Wykazano zależność typu wzrostu od składu pożywki. Zwraca uwagę istotna rola w pożywce substancji biologicznie czynnych jak IAA, 2,4-D i kinetyny.

Autorzy składają podziękowanie Dr M. Zielińskiemu za wprowadzenie w technikę kultur tkankowych oraz cenne rady praktyczne.

Pracownia Izotopowa Instytutu Sadownictwa
Skierniewice, Polska

SUMMARY

The behaviour of strawberry receptacle explants cultivated on different mediums was studied.

The section of strawberry receptacle placed aseptically on synthetic medium, shows the ability to form callus tissue. This ability depends on the part of receptacle from which the section of tissue is taken and on the age of the receptacle. The best ability to produce callus tissue was found in the cells adjacent to vascular bundles. Forming the callus tissue by the epidermal cells was also observed.

The young receptacles until 14 days after pollination shows more ability to form callus tissue on White's medium with 3% sucrose, IAA, 2,4-D and kinetin, than the older ones. Strawberry receptacle explanted on medium in white-green stadium develops popcorn-like tissue.

While it was possible to keep alive callus tissue for a long time by means of manifold transplantations, the popcorn-like tissue did not show the ability to further development and died out.

The type of the development of receptacle explants depends on the composition of medium. The presence of IAA, kinetin and 2,4-D in medium is very substantial factor.

Isotope Laboratory, The Research Institute of Pomology,
Skierniewice, Poland

LITERATURA

- Butenko R. G., 1964, Kultura izolowanych tkanek i fizjologia morfogeneza rastenij, Izd. Nauka, Moskwa, s. 61, 85.
- De Capite L., 1955, La cultura dei frutti in vitro da fiori recisi di *Fragaria chiloensis* Ehrh x *F. virginiana* Duch. var. Marshall e di *Pisum sativum* L. var. Zelka, Ricerca Sci. 25 (3), 532—538.
- Creasy M. T., Sommer N. F., 1964, Growth of *Fragaria vesca* L. receptacles in vitro with reference to gibberellin inhibition by unfertilized carpels, *Physiol. Plantarum*, 17(3):710—716.
- Gautheret R., 1959, La culture des tissue végétaux, Paris, p. 221.
- Gustafson G. F., 1936, Inducement of fruit development by growth-promoting chemicals, *Nat. Acad. Sci. Wash. Proc.* 22:628—636.

- Kordan H. A., 1959, Proliferation of excised juice vesicles of lemon in vitro, *Science* 129:779—780.
- Köves E., 1957, Papierchromatographische Untersuchungen der ätherlöslichen Keimungs- und Wachstumshemmenden Stoffe der Haferspелze, *Acta biol. Szegediensis*. B. 3.
- Krenke N. P., 1950, *Regeneratsia rastenij*, Izd. AN. SSSR, Moskwa—Leningrad, s. 339.
- Krenke N. P., 1966, *Transplantatsia rastenij*, Izd. Nauka. Moskwa, s. 24.
- Latham D. S., 1958, Cultivation of apple-fruit in vitro. *Nature* 182:473—474.
- Mohan Ram H.Y., Steward F. C., 1964, The induction of growth in explanted tissue of the banana fruit, *Canad. J. Bot.*, 42(11):1559—1579.
- Murashige T., Soog F., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultres, *Physiol. plantarum* 15:473—479.
- Nitsch J. P., 1950, Growth and morphogenesis of the strawberry as related to auxin, *Amer. J. Bot.*, 47:211—215.
- Nitsch J. P., 1952, Plant hormones in the development of fruits, *Quart. Rev. Biol.* 27:33—57.
- Nitsch J. P., 1955, Free auxin and free tryptophane in the strawberry, *Plant. Physiol.* 30:33—39.
- Nitsch J. P., 1963, The in vitro culture of flowers and fruits, *Plant Tissue and Organ Culture a Symposium*, International Society of Plant Morphologist University of Delhi, 1963:198—211.
- Nitsch J. P., 1965, Physiology of flower and fruit development. *Handb. s. Pflanzenphysiologie XV/1*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1537—1627.
- Schroeder C. A., 1955, Proliferation of mature fruit pericarp tissue slices in vitro, *Science* 122:601.
- Schroeder C. A., Kay E., Davis L. H., 1962, Totipotency of cells from fruit pericarp tissue in vitro, *Science* 138:598—596.
- Skoog F., Robinson B. J., 1950, A direct relationship between indoleacetic acid effects on growth and reducing sugar in tobacco tissue, *Proc. Soc. Expl. Biol. and Med.* 74:565—568.
- Skoog F., Cheng T., 1948, Chemical control of growth and bud formation in tobacco stem segments and callus culture in vitro, *Amer. J. Bot.* 35:782—787.
- Sommer N. P., Bradley N. V., Creasy M. T., 1962, Peach mesocarp explant enlargement and callus production in vitro, *Science* 136:264—265.
- Tukey H. B., 1937, Plant parts of deciduous fruits which give evidence of being favorable for tissue culture, *Nat. Acad. Sci. Wash. Proc.* 23:577—580.
- Varga M., 1957, Examination of growth-inhibiting substances separated by paper chromatography in fleshy fruits. III. Change in concentration of growth-inhibiting substances as a function of the ripening, *Acta biol. Szegediensis* 3.
- Varga M., 1958, Paper chromatographic examination of growth-inhibiting substances with special respect to fleshy fruits, *Acta biol. Szegediensis*. IV. 1—2.
- White P. R., 1963. *The Cultivation of Animal and Plant cells*. — The Ronald Press Company, New York, p. 60.
- Wiggans S. C., 1954, Growth and organ formation on callus tissues derived from *Daucus carota*, *Amer. J. Bot.* 41:321—326.
- Yensen W. A., 1962, *Botanical Histochemistry*, W. H. Freeman and Company San Francisco and London.