

FISIOLOGIA DE LA REGENERACION DE *DIPLOTAXIS TENUIFOLIA* (L.) D. C.

POR O. H. CASO¹

SUMMARY

The physiology of the regeneration process in this weed was studied using root segments. It was determined that there is a minimum age before the plants can show their regenerating ability. It was also established that there is no relation between either fresh weight or length and bud number. However, the volume could have some effect on the number of buds, when short segments (2 cm long) were used. This could be due to a greater number of possible regenerating sites in the proximal end of these segments.

The new formation of buds occurred both in darkness and in light; in both conditions the formation of buds precedes that of the roots.

This species showed a marked polarity of the regeneration process. This polarity could be affected by the orientation of the segments, when they were more than 2 cm long. In the vertically oriented segments with the distal end up, buds arose in both ends. Moreover, gravity affected the bud number and its mode of formation. In this inverted segments, buds differentiated in the callus which had proliferated in the distal end, while they originated without any visible proliferation in the proximal one, as typically occurs in this plant.

INTRODUCCION

Diploxaxis tenuifolia (L.) D.C. (flor amarilla, mostacilla, yuyo hediondo, entre otros nombres vulgares) pertenece a la familia *Cruciferae*, siendo originaria de Europa Central y Asia Occidental (Parodi, 1941). Si bien se la citó por primera vez en el país en los primeros años de este siglo (Spegazzini, 1905) se puede considerar que su gran difusión se originó en la importación de semillas que se hizo entre los años 1920 y 1923 para ser sembrada como planta melífera (Marzocca, 1962). Se trata de una planta perenne, con raíz pivotante la cual puede alcanzar gran profundidad. Es indiferente al fotoperíodo, pudiendo florecer en cualquier época del año, aún antes de los 40 días de edad. El período de mayor crecimiento

¹Facultad de Farmacia y Bioquímica, Junín 956, Buenos Aires, Argentina. Miembro de la Carrera del Investigador, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

Esta investigación fue posible debido a un subsidio acordado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

vegetativo se produce en los meses de primavera-verano, salvo en los períodos de excesivo calor y sequía, y en otoño. Las heladas invernales provocan la muerte de la parte aérea, pero las temperaturas favorables al comienzo de primavera permiten que reanude su crecimiento vigoroso.

La invasión de campos de cultivo y pastoreo por esta maleza está alcanzando actualmente caracteres alarmantes (Petetin, 1967). Su área de difusión abarca los partidos del sur y oeste de la provincia de Bs. As., en especial Puán, A. Alsina, Caseros, Guaminí, General Lamadrid y Coronel Suárez. Si bien en los estados jóvenes es posible su control con herbicidas selectivos (Marzocca, 1962; Claver, 1959; Petetin, 1967) su gran poder invasor depende de la profusión con que produce semillas y en la capacidad regenerativa que presentan sus raíces.

En los últimos años, en diversos países están adquiriendo enorme importancia distintas malezas perennes que se caracterizan por poseer raíces gemíferas. Tal es el caso en Australia con *Chondrilla juncea* L. (Mc Vean, 1966); en Canadá y Estados de Norteamérica con *Euphorbia esula* L. (Coupland et al., 1955; Selleck et al., 1962 entre otros) y *Convolvulus arvensis* L. La parte aérea de estas malezas puede ser controlada con herbicidas selectivos del tipo del 2,4-D o con Picloram. Sin embargo, en todos los casos existe un traslado pobre de los herbicidas a las partes subterráneas, por lo cual dadas las características regenerativas de éstas, el tratamiento químico resulta ineficaz. Al mismo tiempo, las labores culturales provocan el fraccionamiento de las raíces y rizomas, habiéndose determinado que en algunas de estas plantas, trozos de raíces de sólo 5 cm de longitud pueden emerger desde 25 a 30 cm de profundidad (Caso y Kefford, 1966) formando nuevos tallos. Por todo ello resulta muy importante conocer la fisiología de la regeneración de estas plantas con el objeto de poder desarrollar nuevos y más eficaces métodos de control.

Este trabajo se refiere a algunos aspectos de la fisiología de la regeneración de la raíz de *Diploaxis tenuifolia* (L.) D.C. tales como la relación con la edad de las plantas, claridad, condiciones ambientales, etc.

MATERIAL Y METODOS

Para los estudios fisiológicos se utilizó material obtenido en distintas formas: a) cultivado en invernáculo o/a campo en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias I.N.T.A. —Castelar—; b) procedente de la Estación Experimental Agropecuaria de Bordenave (Buenos Aires); c) plantas que crecían en el terraplén ferroviario de la zona de Castelar-Ituzaingó (Buenos Aires). Las plantas utilizadas estaban en estado reproductivo desde comienzos de floración hasta la aparición de los primeros frutos. Conviene resaltar que solamente en los meses de julio-agosto fue posible encontrar plantas en estado vegetativo. En condiciones de invernáculo y fotoperíodo natural las plantas florecieron entre los 30-40 días

de sembradas pudiendo continuar haciéndolo todo el año. Al describirse las experiencias realizadas, se detalla el origen del material utilizado en ellas.

Para los estudios de regeneración se utilizaron segmentos de raíces de longitudes variables según los casos, los cuales fueron colocados en terrinas con grava volcánica, la cual fue regada periódicamente con agua desmineralizada. El período de regeneración se cumplió en condiciones de oscuridad, a $26^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ extendiéndose por cuatro semanas. Al final de dicho lapso se procedió al recuento de órganos adventicios formados. Cada una de las experiencias descritas fue repetida, por lo menos, dos veces. Los resultados aquí presentados corresponde a una de esas repeticiones.

RESULTADOS

a) *Edad mínima de las plantas para mostrar capacidad regenerativa:*

Para ello se utilizaron plantas cultivadas en invernáculo, las cuales crecieron en tubos de papel alquitranado de 7 cm de diámetro y 30 cm de longitud. Se tomaron 10 plantas que tenían 4, 8, 16 ó 20 semanas de edad y cuyas raíces se cortaron en segmentos de 5 cm de longitud. Para cada edad se utilizó un mínimo de 40 segmentos. Estos fueron mezclados al azar y puestos a regenerar, en posición horizontal, en la forma descrita anteriormente. No se observó formación de yemas en las raíces más jóvenes, las cuales estaban muertas al final del experimento. Las plantas que tenían 8 semanas de edad ya presentaban cierta capacidad de formar yemas adventicias en sus raíces, aunque sólo en el 30 % de los segmentos. En plantas de mayor edad, la formación de yemas adventicias se observó en el 60-80 % de los trozos de raíces colocados a regenerar. El número de yemas formadas, como promedio por segmento se expresa en la tabla 1.

TABLA 1

**Edad y capacidad regenerativa de segmentos de raíces
de «*Diplotaxis tenuifolia*» (L.) D. C.**

Edad (semanas)	Yemas/Segmentos
4	0,0
8	1,0
16	2,1
20	2,8

b) *Tamaño mínimo del trozo de raíz y relación número de yemas: longitud y peso fresco:*

Para el estudio del tamaño mínimo del segmento de raíz con capacidad para formar yemas adventicias, se utilizaron plantas que crecían en invernáculo y tenían 20 semanas de edad. Las raíces de plantas se cortaron en segmentos que tenían 2,4 u 8 cm de longitud. Se trató que el diámetro fuese lo más uniforme posible oscilando entre 2,5 y 3,9 mm. Los trozos cortados fueron distribuidos al azar manteniendo identificados los extremos proximal y distal. Se emplearon 10 segmentos para cada longitud.

En la tabla 2, se presentan los resultados que demuestran que los segmentos más cortos son prácticamente incapaces para formar yemas. En un solo caso se formó una yema adventicia; el resto de los segmentos estaban muertos al cabo de las 4 semanas que duró el período de regeneración. En los otros dos tamaños estudiados, el número de yemas formadas fue similar. En todos los casos las yemas aparecieron antes que las raíces adventicias, siendo éstas más abundantes en los segmentos más largos. Solamente un trozo de 4 cm de longitud formó 4 raíces mientras que 5 de los otros formaron un total de 12 raíces. Las yemas se originaron en el extremo proximal de los segmentos cortos, y en el extremo o tercio proximal de los otros.

TABLA II

Tamaño mínimo y capacidad regenerativa de raíces de «*Diplotaxis tenuifolia*» (L.) D.C.

Longitud (cm)	Yemas/segmento	Raíces/segmento
2,0	0,1	0,0
4,0	2,6	0,4
8,0	2,0	1,2

En otro experimento se pudo observar que más que una longitud mínima para que el segmento de la raíz pueda manifestar su capacidad regenerativa es posible que el factor determinante sea su volumen. En este caso, se usaron segmentos de 2 cm de longitud, cortados de plantas adultas obtenidas en el terraplén ferroviario de la zona de Castelar-Ituzaingó. Estos segmentos tenían diámetros que oscilaban entre 10 y 25 mm. Solamente aquellos de mayor diámetro (25 mm) alcanzaron a regenerar formando numerosas yemas en el extremo proximal indistintamente de la posición vertical en que fueron colocados (Fig. 1).

También se realizó otro experimento con el objeto de determinar si existía relación entre la longitud y el peso fresco de los trozos colocados a regenerar y el número de órganos adventicios formados. Para ello se

TABLA III
Relación entre longitud y peso fresco del segmento de raíz
y el número de yemas adventicias

Longitud (cm)	Prom. peso fresco (g)	Yemas/segmento
5.....	0,817	2,5
10.....	1,270	3,2

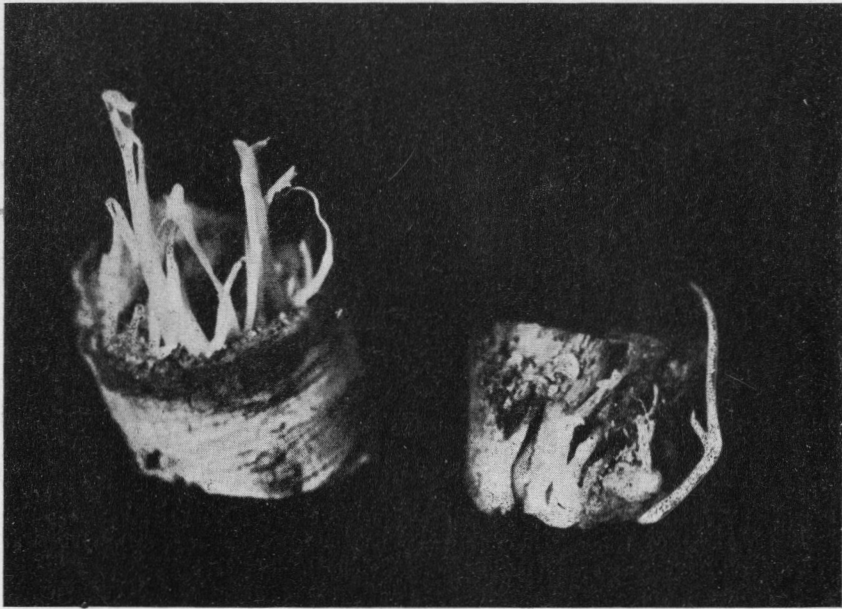


Fig. 1. — Segmentos de raíz de 25 mm de diámetro, colocados a regenerar en distintas posiciones verticales. Nótase que en ambos casos, las yemas adventicias se originaron en el extremo proximal.

emplearon las raíces de 8 plantas, las que se cortaron en segmentos de 5 y 10 cm de longitud, que se mezclaron al azar. Al iniciarse el período de regeneración, los segmentos fueron pesados, habiéndose empleado 20 trozos para cada longitud. Tal como se deduce de los resultados presentados en la tabla n° 3 no se encontró relación entre la longitud o el peso fresco de los segmentos de raíces y el número de yemas adventicias. En todos los casos las yemas se formaron en el extremo proximal. En el caso de los segmentos más cortos, se notó una acentuada dominancia con respecto al

alargamiento de las yemas, dado que si bien podían haberse formado varias, sólo una se alargó hasta alcanzar varios centímetros de longitud; el resto no superó una extensión de 1-2 mm de largo. En cambio, en los segmentos más largos podían haberse alargado más de una yema, tal como se muestra en la figura 2. En todos los casos, la formación de yemas precedió a la formación de raíces.



Fig. 2. — Segmentos de raíz, de 5 y 10 cm de longitud colocados a regenerar en posición horizontal. Obsérvese que en el segmento más largo se alargaron varias yemas adventicias. P : extremo proximal ; D : extremo distal.

c) *Efectos de la orientación del segmento regenerante sobre la formación de órganos:*

En todos los experimentos ya descriptos los segmentos se colocaron en posición horizontal. Solamente en el caso ya detallado en que se usaron segmentos muy cortos (2 cm) y de gran diámetro (entre 10 y 25 mm) éstos se dispusieron en posición vertical, tanto con el extremo distal o el proximal hacia abajo. Por ello se presumía que en las raíces de *D. tenuifolia* existiría una notable polaridad en la formación de yemas, como ocurre con otras especies (cf. Doré, 1965).

Sin embargo la fuerza de gravedad demostró tener efecto en la distribución de estos órganos cuando se usaron segmentos de mayor longitud. En este caso, se utilizaron raíces cortadas de plantas provenientes del te-

rraplén ferroviario cercano a la estación Ituzaingó (Bs. As.) Ferrocarril General Sarmiento. Las plantas estaban en plena floración, con abundantes frutos. Se cortaron segmentos de 5 cm de longitud y diámetros que

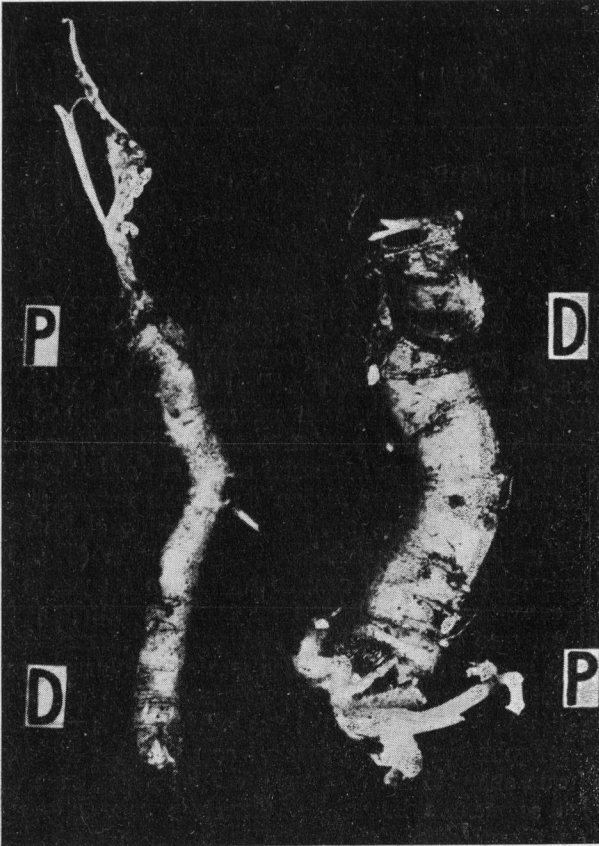


Fig. 3. — Efecto de la orientación del segmento de raíz sobre la regeneración. Derecha : Posición vertical normal; Izquierda : Posición vertical invertida; P : extremo proximal; D : extremo distal. La flecha señala una yema formada en el extremo distal. La diferencia de diámetro de los segmentos solo refleja los diámetros mínimo y máximo utilizados en la experiencia.

oscilaban entre 5 y 9 mm, los cuales fueron colocados a regenerar en posición vertical, con el extremo distal o proximal enterrado en grava volcánica. Para asegurar una buena humedad en el extremo que permanecía descubierto, las terrinas que contenían los trozos fueron tapadas con otras semejantes revestidas con polietileno. Se emplearon 10 segmentos en cada posición.

TABLA IV

Efecto de la posición sobre la formación de yemas adventicias

Posición	Yemas/segmento	Porcentaje de yemas formadas en extremo distal
Vertical normal	7,0	0
Vertical invertida	1,4	50

Los resultados de la tabla 4 demuestran claramente que la posición que ocupaba el segmento durante el período de regeneración no sólo afectó el número de yemas adventicias, sino también su distribución. Cuando el segmento se colocó en posición vertical invertida, es decir con el extremo proximal hacia abajo, llegaron a formarse sólo 20 % de las yemas que se originaron cuando el segmento tenía ese extremo hacia arriba. Además, la mitad de éstas se formaron sobre el "callo" que proliferó en el extremo distal. Estas yemas fueron de mucho menor tamaño que las formadas en el otro extremo, posiblemente debido al hecho de haberse originado tardíamente en el período de regeneración (Fig. 3). Como se demostrará más adelante en el estudio anatómico las yemas formadas en los distintos extremos se originaron de manera diferente. Aquellas formadas en el extremo proximal lo fueron por dediferenciación del parénquima cortical, mientras que las yemas que se originaron en el extremo distal se produjeron a partir de "meristemoides" o centros meristemáticos que se diferenciaron dentro del "callo" formados por proliferaciones del tejido parenquimático, tanto cortical como de los radios xilemáticos. Este "callo" que apareció siempre en el extremo distal fue de mayor volumen en los segmentos invertidos. Conviene aclarar que sólo en los segmentos de mayor diámetro se formaron yemas en ambos extremos, cuando aquellos fueron colocados en posición invertida.

d) Regeneración en condiciones de luz y oscuridad:

Con el objeto de estudiar si el proceso regenerativo se cumplía igualmente en condiciones de luz u oscuridad, segmentos de raíces fueron colocados en dos distintas condiciones de iluminación: oscuridad constante ó 16 horas de luz. Esta fue suministrada por medio de 2 lámparas a gas de mercurio, ubicadas a 1,50 m de los segmentos puestos a regenerar, los cuales estaban colocados en cajas de Petri, sobre papel de filtro. Las raíces fueron obtenidas de plantas cultivadas en el campo, las que tenían entre 25 y 30 semanas de edad. La temperatura no se controló, oscilan-

TABLA V

Segmento N°	Prom. diám. (mm)	Yemas/segmento
1.....	3,2	4,0
2.....	2,7	1,9
3.....	2,2	2,1
4.....	2,0	2,0
5.....	1,9	2,1

do entre 15° y 22°. Se colocaron 20 segmentos en cada condición. Tanto a la luz como en oscuridad, sólo el 40 % de los trozos formaron yemas al cabo de 4 semanas, observándose un número similar de ellas (2,2 yemas/segmento a la luz y 2,7 yemas/segmento en la oscuridad).

DISCUSION

Los resultados experimentales expuestos demuestran que *Diplotaxis tenuifolia* posee una acentuada capacidad para regenerar yemas adventicias en sus raíces. Sin embargo para que esta capacidad se manifieste es necesario que las plantas superen una edad mínima —posiblemente las 4 a 8 semanas de edad—. Una situación similar ha sido comprobada por otros autores para diferentes especies (cf Dore, 1965; Kefford y Caso 1972). En algunas de estas plantas esta capacidad regenerativa parece estar relacionada con el crecimiento secundario de la raíz. En el caso de *Diplotaxis tenuifolia*, no existió una relación entre el número de yemas y el largo o peso fresco de la raíz, aunque parecería haberlo con relación al volumen del trozo. Así fue que sólo los trozos de mayor volumen llegaron a formar yemas cuando se colocaron a regenerar segmentos de corta longitud (2 cm). Esto se explicaría por el hecho que en estos segmentos colocados en posición vertical, como en los más largos colocados en esta posición o apoyados horizontalmente sobre el sustrato, las nuevas yemas se formaron por de-diferenciación de células parenquimáticas de los radios xilemáticos (Casa, inéd.). Es natural, entonces, que a un mayor volumen corresponda un mayor número de yemas. Sin embargo, esto sólo es válido para segmentos de corta longitud, ya que se observó que en aquellos de hasta 10 cm de longitud no existía relación entre el tamaño y el número de nuevos brotes. Esto se interpretaría por la manifiesta polaridad que, por lo general, presentan estos segmentos con respecto a la formación de nuevos órganos, lo cual limita las zonas en las cuales se pueden formar nuevas yemas. Este hecho ya ha sido

observado en otras especies, en las cuales en proceso de regeneración es similar al que ocurre en esta planta (Doré, 1965; Caso y Kefford, 1972).

Si bien en los segmentos de corta longitud, la polaridad en la regeneración no fue afectada por la orientación vertical, fuese normal o invertida, de aquellos segmentos más largos ésta se vio alterada cuando se orientaron en posiciones diferentes. Así, cuando segmentos de 5 cm fueron colocados con el extremo distal hacia abajo, se observó la formación de algunas yemas en el "callo" que se originó en el extremo distal. Este efecto de la orientación sobre polaridad en la regeneración ya ha sido observado por otros autores con distintas plantas (cf Dore, 1965; Marcavillaca, Caso y Montaldi, 1971). Se ha intentado (Dore 1965) establecer una relación entre el grado de polaridad en la regeneración y el origen histológico de las yemas. Este investigador considera que la polaridad es fácilmente alterable, cuando los nuevos brotes se originan en tejidos profundos de la raíz, mientras que aquella es muy fuerte si las yemas se forman sobre proliferaciones (callos) que aparecen en las superficies de corte del trozo de raíz. En esta planta no aparece tan clara esta situación, ya que la orientación que se dio al trozo durante el período de regeneración provocó alteración del modo de regeneración. Ya se dijo que las yemas se formaron sobre el extremo proximal por diferenciación de células parenquimáticas de los radios. Otro tanto sucedió cuando dichos órganos, se formaron asociados con las cicatrices que quedaron al desprenderse las raíces laterales, en el caso de segmentos voluminosos o muy largos (20 cm). En todos estos casos, la neoformación de yemas no fue precedida por la proliferación de un "callo" en el extremo proximal, o en los lugares donde se formarán las yemas. Este "callo" siempre se observó sobre el extremo distal, indistintamente de la posición en que se colocó la raíz a regenerar.

La gravedad provocó cambios en el tipo de órgano que allí se formó. Cuando el trozo de raíz se colocó horizontalmente o en posición vertical, con el extremo distal hacia abajo, en dicho callo pudo aparecer esporádicamente alguna raíz. En todo caso, dicha formación fue posterior a la de los nuevos brotes. Cuando el trozo de raíz se colocó invertido, con el extremo distal hacia arriba, en el callo que ahora era más voluminoso, se llegaron a formar algunas yemas. Sin embargo en estas condiciones, el número de yemas que se originó fue mucho menor que en los segmentos colocados en posición vertical normal. Es decir, que el cambio de posición no sólo afectó la polaridad sino que modificó también el modo de formación de los nuevos brotes, así como influyó sobre su número. Con respecto a esto último *D. tenuifolia* se comportó diferentemente al cv Rambler de alfalfa (Marcavillaca, Caso y Montaldi, 1971) en el cual si bien la posición modificó la polaridad, no provocó una disminución en el número de yemas formadas sino que, por lo contrario, éstas tendieron a formarse en mayor número. Por el momento resulta difícil interpretar este efecto de la gravedad sobre la regeneración. Es

conocido el efecto que los cambios en el balance de auxinas-citocininas tienen sobre la formación de yemas y raíces por órganos aislados. Desde el trabajo inicial con tejidos de tabaco (Skoog y Miller, 1957) la capacidad para regenerar nuevas yemas y raíces ha sido modificada en distintas especies por el agregado exógeno de dichos reguladores del crecimiento (Torrey, 1958; Danckwardt-Lilliestrom, 1957; Caso y Kefford, 1966; Marcavillaca, Caso y Montaldi, 1971). También es sabido que las auxinas se trasladan en forma acrópeta en la raíz (Kirk y Jacobs, 1968). Existen evidencias que la raíz sería uno de los centros de síntesis de las citocininas (Fox, 1970), si bien no se conoce el tejido donde se producirán ni existen evidencias claras sobre la forma en que se movilizan. (Goldsmith, 1970). Asimismo, son escasas y poco claras las referencias sobre el efecto que la gravedad puede tener sobre el traslado y distribución de los reguladores del crecimiento (Goldsmith, 1970). Si la alteración de la orientación normal del trozo de raíz provocase un gradiente hormonal que fuese favorable a la formación de yemas, podría explicarse la aparición de estos órganos en el extremo donde, generalmente, se forman raíces. Este proceso se vería ayudado por la tardía formación de estos últimos órganos. Ya se dijo antes que en todos los casos la formación de yemas precede a la de raíces.

Al mismo tiempo debe considerarse el efecto que las diferentes condiciones ambientales prevalecientes en ambos extremos (tensión de O₂, humedad, etc.) pueden tener sobre la expresión de la capacidad regenerativa. En la bibliografía existen varias citas sobre este aspecto de la fisiología de la regeneración (cf. Doré, 1965).

Agradecimientos: Se agradece la colaboración prestada por los Sres. M. A. Sposaro, J. M. Cuello en la realización de las experiencias. Asimismo se agradece al Ing. Agr. E. R. Montaldi por la posibilidad de utilizar las instalaciones del Instituto de Botánica Agrícola y la lectura crítica del manuscrito.

BIBLIOGRAFIA

- CASO, O. H. y KEFFORD, N. P. 1966. *The regeneration of buds by isolated root section of Chondrilla juncea*. Seventh Meeting Aust. Soc. of Plant Physiol. Brisbane, Queensland, mayo 1966.
- CLAVER, F. K. 1959. *Ensayo sobre Diplotaxis tenuifolia con herbicidas a base de 2,4 D y 2,4, 5 T*. Memoria Reunión de Comun. de lucha contra las malezas, p. 111, Tandil, 11-14 agosto 1959.
- COUPLAND, T. R., SELLECK, G. W. y ALEX, J. F. *The reproductive capacity of vegetative buds on the underground parts of leafy spurge (Euphorbia esula L.)*. Can. J. Agric. Sci., 35: 477-484.
- DANCKWARDT-LILLIESTROM, C. 1957. *Kinetin induced shoot formation from isolated roots of Isatis tinctoria*. Physiol. Plant. 10: 794-796.
- DORÉ, J. 1965. *Physiology of regeneration in Cormophytes*. En Encyclopedia of Plant Physiology (Ed. W. Ruhland) XV (2): 1-91.

- GOLDSMITH, M. H. M. 1970. *Transport of Plant Growth Regulators*. En *Physiology of Plant Growth and Development* (Ed. M. B. Wilkins) Mc Graw Hill, Londres.
- KEFFORD, N. P. y CASO, O. H. 1972. *Organ regeneration on excised roots of Chondrilla juncea and its chemical regulation*. En preparación.
- KIRK, C. C. y JACOBS, W. P. 1968. *Polar movement of indole-3-acetic acid ¹⁴C in roots of Lens and Phaseolus*. *Plant Physiol.* 43: 674-682.
- MARCAVILLACA, M. C., CASO, O. H. y MONTALDI, E. R. 1971. *Regeneración en segmentos de raíces de Medicago sativa cv. Rambler*. *Rev. Inv. Agrop. Serie 2, VIII*: 179-199.
- MC VEAN, D. N. 1966. *Ecology of Chondrilla juncea L. in South-Eastern Australia*. *J. Ecol.*, 54: 345-365.
- MARZOCCA, A. 1962. *Manual de Malezas*. Colección Agropecuaria. INTA, Buenos Aires.
- PARODI, L. R. 1941. *Notas sobre algunas plantas invasoras de los cultivos en la Argentina*. *Rev. Arg. Agron.* 8: 8-15.
- PETETIN, C. A. 1967. Informe elevado al Director del Instituto de Botánica Agrícola INTA, Castelar, Buenos Aires.
- SELLECK, G. W., COUPLAND, R. R. and FRANKTON, C. 1962. *Leafy spurge in Saskatchewan*. *Ecol. Monog.*, 32: 1-29.
- SPEGAZZINI, C. 1905. *Flora de la Provincia de Buenos Aires*. *An. Min. Agric. Bs. As.* (no visto: citado por Marzocca A., 1962).
- SKOOG, F. and MILLER, C. O. 1957. *Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultures in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 11: 118-131.
- TORREY, J. G. 1958. *Endogenous bud and root formation by isolated roots of Convolvulus grown in vitro*. *Plant Physiol.* 33: 258-263.