

Otros tipos de compuestos que pueden afectar la organogénesis incluyen los fenoles sustituidos y los alcaloides. Lee et al. (1965) informaron que los fenoles monohidróxidos sustituidos en las posiciones 2 ó 4 estimulan la formación de yemas. Los ácidos fenólicos como el p-cumárico, el ferúlico y el vainílico estimulan la formación de raíces en explantes de alcachofa de Jerusalén (Rucker et al., 1969). Peters et al. (1974) estimularon el enraizamiento en *Nicotiana rustica* al incluir nicotina en el medio de cultivo. Estas sustancias pueden reaccionar con los niveles endógenos de los reguladores de crecimiento, alterando las proporciones de auxina y de citocinina. El carbón activado ha sido efectivo para remover del medio los compuestos fenólicos inhibidores (Fridborg et al., 1978).

Reguladores del crecimiento. El papel de los reguladores de crecimiento en la organogénesis se ha estudiado intensamente. Usualmente se induce la formación de callos a partir de explantes en medios que contengan auxina(s) o una proporción alta de auxina:citocinina.

El medio para que la proliferación de callos sea rápida puede requerir una composición ligeramente diferente de la que se usa para la inducción de los mismos. La diferenciación de yemas se logra subcultivando los callos en un medio que tenga alta relación citocinina:auxina; en cambio, para la diferenciación de raíces se requieren medios con una relación citocinina:auxina baja. En medios con citocinina, algunas veces ocurre la organogénesis directamente del explante (Flick et al., 1983). El uso de una auxina o citocinina ha sido efectivo para estimular la formación de yemas en explantes de Douglas Fir (Cheng, 1975); la formación de yemas puede también ser estimulada en presencia de la auxina solamente (Sastri, 1963). Las antiauxinas se han usado para inducir organogénesis. Estas respuestas in vitro suelen ser variables, debido, probablemente, a los distintos niveles endógenos de fitohormonas en el momento de la organogénesis.

Las giberelinas también pueden tener un papel importante en la organogénesis (Murashige, 1964; Thorpe et al., 1973): aunque generalmente inhiben la diferenciación, algunas veces estimulan la formación de yemas (Jarret et al., 1981). El efecto inhibitorio de las giberelinas en la diferenciación se puede anular parcialmente adicionando ácido abscísico al medio (Thorpe et al., 1973); las antigiberelinas como el CCC (cloruro de clorocolina) se consideran inefectivas. En presencia de los precursores del AIA (triptófano desaminado oxidativamente), el AG puede inducir la formación de raíces adventicias a partir de discos de hojas cultivados in vitro, probablemente debido al estímulo biosintético del AIA (Coleman et al., 1977; Thorpe, 1980).

Se han incluido en el medio componentes orgánicos como AC, extractos de malta y levadura, CH, pulpa y jugo de frutas, y productos extraídos de animales; sin embargo, con la excepción del AC y la CH, la mayoría de estos componentes se pueden remplazar por nutrimentos definidos.

Otros factores. La organogénesis puede estar afectada por una gran variedad de factores como luz, temperatura, consistencia del medio, y pH. La luz es un factor crítico para la iniciación de yemas en el cultivo de callos de tabaco (Murashige et al., 1968); su efecto se puede deber a que incrementa la acumulación de almidón en los tejidos cultivados, la cual es necesaria para la formación de primordios de vástagos (Thorpe et al., 1970). Kato (1978) ha demostrado que la formación de yemas a partir de callos de *Heloniopsis orientalis* se regula por medio de las concentraciones de los reguladores del crecimiento y también por medio de la actividad fotosintética.

El fotoperíodo también puede afectar los niveles internos de los reguladores del crecimiento (Heide et al., 1967). Usualmente, un fotoperíodo de 12 a 16 horas con 1000 a 3000 lux es suficiente para inducir la organogénesis; por otra parte, un cambio en la intensidad lumínica puede causar organogénesis (Hasegawa et al., 1973), y pueden ocurrir cambios morfogénéticos específicos debidos a la longitud de onda de la iluminación. Una mezcla de los colores rojo y azul afecta la formación de vástagos en *Heloniopsis orientalis*, aunque la luz verde no afecta esta respuesta (Kato, 1978).

Los cultivos de tejidos se mantienen generalmente a 25 °C (Thorpe, 1980); sin embargo, las temperaturas que estén dentro de 18 y 28 °C son también efectivas. Las fluctuaciones entre las temperaturas del día y de la noche pueden estimular la organogénesis; por ejemplo, Gautheret (1969) halló que alternando temperaturas diurnas y nocturnas de 20 y 15 °C respectivamente, se conseguía una formación óptima de raíces de explantes de tubérculos de *Helianthus tuberosus*. Los tratamientos previos con temperaturas bajas también son efectivos; por ejemplo, Fonnesbech (1974) demostró que, cuando se trataban segmentos de pecíolos de *Begonia x Cheimantha* con temperaturas frías, éstos formaban más yemas adventicias que cuando no se hacía ese tratamiento.

La interacción de los reguladores de crecimiento con la temperatura puede influenciar la respuesta in vitro (Cheng et al., 1977); así, explantes de lechuga que están a 17 °C producen yemas únicamente si el medio contiene cinetina, pero si están a 28 °C pueden producir yemas también en ausencia de esta hormona.

La mayoría de los estudios sobre organogénesis se han hecho en medios semisólidos que contienen de 0.3% a 1.0% de agar. La forma física del medio tiene una profunda influencia en las respuestas morfogénicas; White (1939) demostró que en un medio semisólido los callos de *Nicotiana* no se diferenciaban, pero que formaban raíces y vástagos en un medio líquido. Se cree que las concentraciones altas de agar crean un medio ambiente con mucho estrés para las plantas, lo cual reduce la formación de meristemoides (Brown et al., 1979), pero puede estimular la producción de yemas foliares y florales (Mangara et al., 1967).

Entre otros factores que afectan la organogénesis están el pH del medio, la polaridad del explante, la humedad relativa y la fase gaseosa del medio de cultivo.

Procedimiento para inducir organogénesis en tabaco

La organogénesis se ha estudiado extensamente en especies de la familia Solanaceae, particularmente del género *Nicotiana*; regularmente se utiliza *Nicotiana tabacum* como especie modelo. El procedimiento se puede realizar en una cámara estéril, así:

- 1) Cultive en un invernadero plantas de *Nicotiana tabacum* L. variedad Wisconsin 38. Antes de que ocurra la floración, corte la planta y descarte todas las hojas, las yemas axilares y los 10 cm apicales del tallo.
- 2) Coloque trozos del tallo en alcohol al 70%, durante 10 segundos. Transfíralos luego a una solución de blanqueador comercial al 10% (v/v); esta solución debe contener 2 gotas de Tween-20 por cada 100 ml de solución. Después de 10 minutos, enjuague 2 ó 3 veces con agua destilada estéril.
- 3) En una caja Petri estéril que contenga papel filtro húmedo, coloque las porciones de tallo. Corte y descarte 5 mm de la porción terminal de cada pedazo de tallo; divida luego el tallo en porciones de 1.0 cm.
- 4) Remueva la superficie externa de los trozos de tallo, usando forceps esterilizados y un bisturí. Corte diagonalmente tres o cuatro secciones en cada porción de tallo y coloque cada parte con el cambium hacia arriba, en un medio de cultivo.
- 5) Para la inducción de callos utilice tubos de ensayo con el medio de Murashige y Skoog (1962) suplementado con: 0.3 mg/litro de 2,4-D, 0.1 mg/litro de KIN, 8 g/litro de agar, 30 g/litro de sacarosa y 1 g/litro

de CH. Ajuste el pH del medio a 5.7 antes de someter éste a la esterilización en el autoclave, a 1.1 kg/cm² de presión y 121 °C de temperatura, durante 15 minutos.

- 6) Incube los cultivos en la oscuridad, a 27 °C. El callo se observa a los 7 días, y puede ser subcultivado después de 4 semanas.
- 7) La organogénesis se puede inducir subcultivando el callo en un medio que contenga 3.0 mg/litro de 2iP y 0.3 mg/litro de AIA; si los cultivos se han mantenido en la oscuridad o con baja luminosidad, los meristemas se forman después de 4 a 6 semanas. Para estimular la organogénesis han sido efectivas también otras citocininas y auxinas, en varias concentraciones.
- 8) La formación de raíces se puede inducir haciendo el subcultivo en un medio que contenga 3.0 mg/litro de AIA y 0.1 mg/litro de KIN.

Referencias

- Alleveltdt, G. y Radler, F. 1962. Interrelationship between photoperiodic behavior of grapes and growth of plant tissue cultures. *Plant Physiol.* 37:376-379.
- Ammirato, P. V. 1973. Some effects of abscisic acid on the development of embryos from caraway cells in suspension culture. *Amer. J. Bot.* 60 (supl.): 22-23.
- . 1974. The effects of abscisic acid on the development of somatic embryos from cells of caraway (*Carum carvi* L.). *Bot. Gaz.* 135:328-337.
- . 1983. Embryogenesis. En: Evans, D. A.; Sharp, W. R.; Ammirato, P. V. y Yamada, Y. (eds.). *Handbook of plant cell culture*. MacMillan Publishing, Nueva York. v. 1, p. 82-123.
- y Steward, F. C. 1971. Some effects of the environment on the development of embryos from cultured free cells. *Bot. Gaz.* 132:149-158.
- Asahira, T. y Kano, Y. 1977. Shoot formation from cultured tissue of strawberry fruits. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 46:317.
- Asbell, C. W. 1977. Ultrastructural modifications during shoot formation in vitro. *In vitro* 13:180.
- Backs-Husemann, D. y Reinert, J. 1970. Embryobildung durch isoilierte einzellen aus gewebeulturen von *Daucus carota*. *Protoplasma* 70:49-60.
- Bajaj, Y. P. S.; Kumar, P.; Labana, K. S. y Singh, M. M. 1981. Regeneration of plants from seedling explants and callus cultures of *Arachis hypogaea*. *Ind. J. Exp. Biol.* 19:1026-1029.

- Banks, M. S. 1979. Plant regeneration from callus of two growth phases of English ivy, *Hedera helix* L. Z. Pflanzenphysiol. 92:349-353.
- Bhojwani, S. S. 1966. Morphogenetic behavior of mature endosperm of *Croton bonplandianum* Baill. in culture. Phytomorphology 16:349-353.
- Bonnett, H. T. y Torrey, J. G. 1966. Comparative anatomy of endogenous bud and lateral root formation in *Convolvulus arvensis* roots cultured in vitro. Amer. J. Bot. 53:496-508.
- Bradley, P. M.; El-Fiki, F. y Giles, K. L. 1984. Polyamines and arginine affect somatic embryogenesis of *Daucus carota*. Plant Sci. Lett. 34:397-401.
- Branton, R. L. y Blake, J. 1983. Development of organized structures in callus derived from explants of *Cocos nucifera* L. Ann. Bot. 52:673-678.
- Brown, D. C. W.; Leung, D. W. M. y Thorpe, T. A. 1979. Osmotic requirement for shoot formation in tobacco callus. Physiol. Plant. 46:36-41.
- Bush, S. R.; Earle, E. D. y Langhans, R. W. 1976. Plantlets from petal segments, petal epidermis, and shoot tips of the periclinal chimera, *Chrysanthemum morifolium* 'Indianapolis'. Amer. J. Bot. 63:729-737.
- Button, J.; Kochba, J. y Bornman, C. H. 1974. Fine structure of, and embryoid development from, embryogenic ovular callus of 'Shamouti' orange (*Citrus sinensis* Osb.). J. Exp. Bot. 25:446-457.
- y ———. 1977. Tissue culture in the citrus industry. En: Reinert, J. y Bajaj, Y. P. S. (eds.). Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture. Springer-Verlag, Berlín. p. 70-92.
- Cameron, J. W. y Garber, M. J. 1968. Identical-twin hybrids of *Citrus* x *Poncirus* from strictly sexual seed partners. Amer. J. Bot. 55:199-205.
- Campbell, R. A. y Durzan, D. J. 1975. Induction of multiple buds and needles in tissue cultures of *Picea glauca*. Can. J. Bot. 53:1652-1657.
- Cheng, T. Y. 1975. Adventitious bud formation in culture of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco). Plant Sci. Lett. 5:97-102.
- y Voqui, T. H. 1977. Regeneration of Douglas-fir plantlets through tissue culture. Science 198:306-307.
- Chlyah, H. 1974a. Etude histologique de la neof ormation de meristemes caulinares et radicaire s a partir de segments d'entre-noeuds de *Torenia fournieri* cultivés in vitro. Can. J. Bot. 52:473-476.
- . 1974b. Inter-tissue correlations in organ fragments: Organogenetic capacity of tissues excised from stem segments of *Torenia fournieri* Lind. cultured separately in vitro. Plant Physiol. 54:341-348.

- Coffin, R.; Taper, C. D. y Chong, C. 1976. Sorbitol and sucrose as carbon sources for callus culture of some species of the *Rosaceae*. *Can. J. Bot.* 54:547-551.
- Coleman, W. K. y Greyson, R. I. 1977. Promotion of root initiation by gibberellic acid in leaf discs of tomato (*Lycopersicon esculentum*) cultured in vitro. *New Phytol.* 78:47-54.
- Conger, B. V. y Carabia, J. V. 1978. Callus induction and plantlet regeneration in orchardgrass. *Crop Sci.* 18:157-159.
- Cooper, D. C. 1943. Haploid-diploid twin embryos in *Lilium* and *Nicotiana*. *Amer. J. Bot.* 31:408-413.
- Crete, P. 1938. La polyembryonie chez la *Lobelia syphilitica* L. *Bul. Soc. Bot. Fr.* 85:580-583.
- Dudits, D.; Nemet, G. y Haydu, Z. 1975. Study of callus growth and organ formation in wheat (*Triticum aestivum*) tissue cultures. *Can. J. Bot.* 53:957-963.
- Eichholtz, D.; Robitaille, H. A. y Hasegawa, P. M. 1979. Adventive embryology in apple. *HortScience* 14:699-700.
- Evans, D. A.; Sharp, W. R. y Flick, C. E. 1981. Growth and behavior of cell cultures: Embryogenesis and organogenesis. En: Thorpe, T. A. (ed.). *Tissue culture: Methods and applications in agriculture*. Academic Press, Nueva York. p. 45-113.
- Fienberg, A. A.; Choi, J. H.; Lubich, W. P. y Sung, Z. R. (1985). Developmental regulation of polyamine metabolism in growth and differentiation of carrot culture. *Planta* (entregado para publicación).
- Flick, C. E.; Evans, D. A. y Sharp, W. R. 1983. Organogenesis. En: Evans, D. A.; Sharp, W. R.; Ammirato, P. V. y Yamada, Y. (eds.). *Handbook of plant cell culture*. MacMillan Publishing, Nueva York. v. 1, p. 13-81.
- Fonnesbech, M. 1974. Temperature effects on shoot and root development from *Begonia x Cheimantha* petiole segments grown in vitro. *Physiol. Plant.* 32:282-286.
- Fridborg, G. 1971. Growth and organogenesis in tissue cultures of *Allium cepa* var. *proliferum*. *Physiol. Plant.* 25:436-440.
- y Eriksson, T. 1975. Effects of activated charcoal on growth and morphogenesis in cell cultures. *Physiol. Plant.* 34:306-308.
- ; Pedersen, M.; Landstron, L. E. y Eriksson, T. 1978. The effect of activated charcoal on tissue cultures: Adsorption of metabolites inhibiting morphogenesis. *Physiol. Plant.* 43:104-106.

- Fujimura, T. y Komamine, A. 1979. Involvement of endogenous auxin in somatic embryogenesis in a carrot cell suspension culture. *Z. Pflanzenphysiol.* 95:13-19.
- y ——, 1980. Mode of action of 2,4-D and zeatin on somatic embryogenesis in a carrot cell suspension culture. *Z. Pflanzenphysiol.* 99:1-8.
- Gamborg, O. L.; Constabel, F. y Miller, R. A. 1970. Embryogenesis and production of albino plants from cell cultures of *Bromus inermis*. *Planta* 95:355-358.
- ; Miller, R. A. y Ojima, K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* 50:151-158.
- y Shyluk, J. P. 1981. Nutrition, media and characteristics of plant cell and tissue cultures. En: Thorpe, T. A. (ed.). *Tissue culture: Methods and applications in agriculture*. Academic Press, Nueva York, p. 21-44.
- Gautheret, R. J. 1969. Investigations on the root formation in the tissues of *Helianthus tuberosus* cultures in vitro. *Am. J. Bot.* 56:702-717.
- Guha, S. y Maheshwari, S. C. 1964. In vitro production of embryos from anthers of *Datura*. *Nature* 204:497.
- Gukasyan, I. A.; Butenko, R. G.; Petoyan, S. A. y Sevostyanova. 1977. Morphogenesis of isolated apices of remontant carnation on an artificial medium. *Sov. Plant Physiol.* 24:130-133.
- Haccius, B. 1973. Les premiers stages des embryons végétaux zygotiques et somatiques sont-ils différents ou non? *Société Botanique de France, Memoires Coll. Morphologie.* p. 201-206.
- y Lakshmanan, K. K. 1965. Adventiv-embryonen aus *Nicotiana*-kallus, der bei hohen lichtintensitäten kultiviert wurde. *Planta* 65:102-104.
- Hackett, W. P. 1969. Control of bulblet formation on bulb scales of *Lilium longifolium*. *HortScience* 4:69-70.
- Halperin, W. 1966. Alternative morphogenetic events in cell suspensions. *Amer. J. Bot.* 53:443-453.
- . 1967. Populations density effects on embryogenesis in carrot cell cultures. *Exptl. Cell Res.* 48:170-173.
- . 1970. Embryos from somatic plant cells. En: Padykula, H. A. (ed.). *Control mechanisms in the expression of cellular phenotypes*. Academic Press, Nueva York, p. 169-191.
- y Wetherell, D. F. 1964. Adventive embryony in tissue cultures of the wild carrot, *Daucus carota*. *Amer. J. Bot.* 51:274-283.

- y ———. 1965a. Ammonium requirement for embryogenesis in vitro. *Nature* 205:519-520.
- y ———. 1965b. Ontogeny of adventive embryos of wild carrot. *Science* 147:756-758.
- Handro, W.; Rao, P. S. y Harada, H. 1973. A histological study of the development of buds, roots, and embryos in organ cultures of *Petunia inflata* R. Fries. *Ann. Bot.* 37:817-821.
- Hasegawa, P. M.; Murashige, T. y Takatori, F. H. 1973. Propagation of asparagus through shoot apex culture; 2: Light and temperature requirements, transplantability of plants and cytological characteristics. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 98:143-148.
- Havranek, P. y Vagera, J. 1979. Regulation of in vitro androgenesis in tobacco through iron-free media. *Biol. Plant.* 21:412-417.
- Haydu, Z. y Vasil, I. K. 1981. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf tissue and anthers of *Pennisetum purpureum* Schum. *Theor. Appl. Genet.* 59:269-274.
- Heide, O. M. y Skoog, F. 1967. Cytokinin activity in *Begonia* and *Bryophyllum*. *Physiol. Plant.* 20:771-780.
- Heller, R. 1953. Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés in vitro. *Ann. Sci. Nat. Bot. Biol. Veg. (Paris)* 14:1-223.
- Hussey, G. 1975. Totipotency in tissue explants and callus of some members of the *Liliaceae*, *Iridaceae*, and *Amaryllidaceae*. *J. Exp. Bot.* 26:253-262.
- Jansson, E. y Bornman, C. H. 1980. In vitro phyllo-morphic regeneration of shoot buds and shoots in *Picea abies*. *Physiol. Plant.* 49:105-111.
- Jarret, R. L.; Hasegawa, P. M. y Erickson, H. T. 1980. Factors affecting shoot initiation in tuber discs of potato (*Solanum tuberosum*). *Physiol. Plant.* 49:177-184.
- ; ——— y Bressan, R. A. 1981. Gibberellic acid regulation of adventitious shoot formation from tuber discs of potato. *In vitro* 17:825-830.
- Jones, L. H. 1974. Long-term survival of embryooids of carrot (*Daucus carota* L.). *Plant Sci. Lett.* 2:221-224.
- Kato, H. y Takeguchi, M. 1966. Embryogenesis from the epidermal cells of carrot hypocotyl. *Sci. Papers College Gen. Educ. Univ. Tokyo* 16:245-254.
- Kato, Y. 1978. The involvement of photosynthesis in inducing bud formation on excised leaf segments of *Helonipsis orientalis* (*Liliaceae*). *Plant Cell Physiol.* 19:791-799.

- Kaul, K. y Sabharwal, P. S. 1975. Morphogenetic studies on *Haworthia*: Effects of inositol on growth and differentiation. *Amer. J. Bot.* 62:655-659.
- Kochba, J.; Button, J.; Spiegel-Roy, P.; Bornman, C. H. y Kochba, M. 1974. Stimulation of rooting *Citrus* embryoids by gibberellic acid and adenine sulfate. *Ann. Bot.* 38:795-802.
- Konar, R. N. y Konar, A. 1966. Plantlet and flower formation in callus culture from *Phlox drummondii* Hook. *Phytomorphology* 16:379-382.
- Krikorian, A. D. y Berquam, D. L. 1969. Plant cell and tissue cultures: The role of Haberlandt. *Bot. Rev.* 35:59-88.
- Lakshmi Sita, G.; Raghava Ram, N. V. y Vaidyanathan, C. S. 1979. Differentiation of embryoids and plantlets from shoot callus of sandalwood. *Plant Sci. Lett.* 15:265-270.
- ; ——— y ———. 1980. Triploid plants from endosperm cultures of sandalwood by experimental embryogenesis. *Plant Sci. Lett.* 20:63-69.
- Lee, T. T. y Skoog, F. 1965. Effects of substituted phenols on bud formation and growth of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 18:386-402.
- Linsmaier, E. M. y Skoog, F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 18:100-127.
- Litz, R. E. 1984a. In vitro somatic embryogenesis from nucellar callus of monoembryonic mango. *HortScience* 19:715-717.
- . 1984b. In vitro responses of adventitious embryos of two polyembryonic *Eugenia* species. *HortScience* 19:720-722.
- . 1984c. In vitro somatic embryogenesis from callus of jaboticaba, *Myrciaria cauliflora*. *HortScience* 19:62-64.
- y Conover, R. A. 1980. Somatic embryogenesis in cell cultures of *Carica stipulata*. *HortScience* 15:733-734.
- ; Knight, R. K. y Gazit, S. 1982. Somatic embryos from cultured ovules of polyembryonic *Mangifera indica* L. *Plant Cell Rep.* 1:264-266.
- ; O'Hair, S. K. y Conover, R. A. 1983. In vitro growth of *Carica papaya* L. cotyledons. *Scientia Hort.* 19:287-293.
- Loewenger, J. R. 1969. Cyclamen callus cultures. *Can. J. Bot.* 47:2065-2067.
- Lu, C. y Vasil, I. K. 1981. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf tissues of *Panicum maximum* Jacq. *Theor. Appl. Genet.* 59:275-280.
- ; ——— y Ozias-Akins, P. 1982. Somatic embryogenesis in *Zea mays* L. *Theor. Appl. Genet.* 62:109-112.

- Malmberg, R. L. 1979. Regeneration of whole plants from callus culture of diverse genetic lines of *Pisum sativum* L. *Planta* 146:243-244.
- Margara, J. y Bouniols, A. 1967. Comparision in vitro de l'influence du milieu liquide ou gélose, sur l'initiation florale chez *Cichorium intybus* L. C. R. Acad. Sci. Ser. D. 264:1166-1168.
- Miller, C. O.; Skoog, F.; von Saltza, M. H. y Strong, F. M. 1955. Kinetin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid. *J. Am. Chem. Soc.* 77:1392.
- Mullins, M. G. y Srinivasan, C. S. 1976. Somatic embryos and plantlets from an ancient clone of the grapevine (cv. Cabernet-Sauvignon) by apomixis in vitro. *J. Exptl. Bot.* 27:1022-1030.
- Muniyamma, A. 1977. Triploid embryos from endosperm in vivo. *Ann. Bot.* 41:1077-1079.
- Murashige, T. 1964. Analysis of the inhibition of organ formation in tobacco tissue culture by gibberellin. *Physiol. Plant.* 17:636-643.
- . 1974. Plant propagation through tissue cultures. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25:135-165.
- y Nakano, R. 1968. The light requirement for shoot initiation in tobacco callus cultures. *Amer. J. Bot.* 55(supl.):710.
- y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Nakano, H. y Maeda, E. 1974. Morphology of the process of shoot formation in rice callus cultures. *Proc. Crop. Sci. Soc. Japan* 43:151-160.
- Narayanaswamy, S. 1977. Regeneration of plants from tissue culture. En: Reinert, J. y Bajaj, Y. P. S. (eds.). *Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture.* Springer-Verlag, Berlín. p. 179-248.
- Nitsch, C. 1974. Pollen culture: A new technique for mass production of haploid and homozygous plants. En: Kasha, K. J. (ed.). *Haploids in higher plants.* Guelph Press, Guelph, Canadá. p. 123-135.
- Nitsch, J. P. 1969. Experimental androgenesis in *Nicotiana*. *Phytomorphology* 19:389-404.
- Nobencourt, P. 1939. Sur les radicules naissant des cultures de tissus vegetaux. *C. R. S. Soc. Biol.* 130:1271.
- Norstog, K. y Rhamstine, E. 1967. Isolation and culture of haploid and diploid cycad tissues. *Phytomorphology* 17:374-38.
- Norton, J. P. y Ball, W. G. 1954. Callus and shoot formation from tomato roots in vitro. *Science* 119:220-221.

- Okazawa, Y.; Katsura, N. y Tagawa, T. 1967. Effects of auxin and kinetin on the development and differentiation of potato tissue cultured in vitro. *Physiol. Plant.* 20:862-869.
- Pelletier, G. y Delise, B. 1969. Sur la faculté de régénération des plantes entières par culture in vitro du pédoncule floral de *Petunia pendula*. *Ann. Amélior. Plantes* 19:353-355.
- Pannetier, C. y Buffard-Morel, J. 1982. Production of somatic embryos from leaf tissues of coconut, *Cocos nucifera* L. En: Fujiwara, A. (ed.). *Plant tissue culture 1982*. Japan Assoc. Plant Tissue Culture, Tokio. p. 755-756.
- Peters, J. E.; Wu, P. H. L.; Sharp, W. R. y Paddock, E. F. 1974. Rooting and the metabolism of nicotine in tobacco callus cultures. *Physiol. Plant.* 31:97-100.
- Pierik, R. L. M. 1972. Adventitious root formation in isolated petiole fragments of *Lunaria annua* L. *Z. Pflanzenphysiol.* 60:343-351.
- y Steegmans, H. H. M. 1975. Analysis of adventitious root formation in isolated stem explants of *Rhododendron*. *Scientia Hort.* 3:1-20.
- ; ——— y Van Der Meys, J. A. J. 1974. Plantlet formation in callus tissue of *Anthurium andreanum* Lind. *Scientia Hort.* 2:193.
- Pollard, J. K.; Shantz, E. M. y Steward, F. C. 1961. Hexitols in coconut milk: Their role in nurture of dividing cells. *Plant Physiol.* 36:492-501.
- Rabehault, H.; Ahee, J. y Guenin, G. 1970. Colonies cellulaires et formes embryoides obtenues in vitro a partir de cultures d'embryons de Palmier a l'huile (*Elaeis guianensis* Jacq. var. *Dura* Becc.). *C. R. Acad. Sci. Paris* 270:3067-3070.
- Raghavan, V. 1976. *Experimental embryogenesis in vascular plants*. Academic Press, Nueva York.
- Raju, M. V. S. y Mann, H. E. 1970. Regenerative studies on the detached leaves of *Echeveria elegans*: Anatomy and regeneration of leaves in sterile culture. *Can. J. Bot.* 48:1887-1891.
- Rangan, T. S. 1976. Growth and plantlet regeneration in tissue cultures of some Indian millets: *Paspalum scrobiculatum* L., *Eleusine coracana* Gaertn. and *Pennisetum typhoideum* Pers. *Z. Pflanzenphysiol.* 78:208-216.
- ; Murashige, T. y Bitters, W. P. 1968. In vitro initiation of nucellar embryos in monoembryonic Citrus. *HortScience* 3:226-227.
- Reinert, J. 1958. Untersuchungen über die morphogenese und gewebekulturen. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 71:15.
- . 1967. Some aspects of embryogenesis in somatic cells of *Daucus carota*. *Phytomorphology* 17:510-516.

- . 1973. Aspects of organization-organogenesis and embryogenesis. En: Street, H. E. (ed.). Plant cell and tissue culture. Blackwell Sci. Pub., Oxford, Inglaterra. p. 338-355.
- ; Backs-Husemann, D. y Zerban, H. 1971. Determination of embryo and root formation in tissue cultures from *Daucus carota*. Coll. Natl. C. N. R. S. (Paris):261-268.
- Reynolds, J. F. y Murashige, T. 1979. Asexual embryogenesis in callus cultures of palms. In vitro 5:383-387.
- Ross, M. K. y Thorpe, T. A. 1973. Physiological gradients and shoot initiation in tobacco callus cultures. Plant Cell Physiol. 14:473-480.
- Rucker, W. y Paupardin, C. 1969. Action de quelques acides-phenols sur la rhizogénese des tissus de tubercules de topinambour (variété violet de Rennes) cultivés in vitro. C. R. Acad. Sci. Ser. D. 268:1279-1281.
- Sastri, R. L. N. 1963. Morphogenesis in plant tissue cultures. En: Plant tissue and organ culture: A symposium. International Society of Plant Morphologists, Delhi, India. p. 105-107.
- Schenk, R. U. y Hildebrandt, A. C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. Can. J. Bot. 50:199-204.
- Skoog, F. 1944. Growth and organ formation in tobacco tissue cultures. Amer. J. Bot. 31:19-24.
- y Miller, C. O. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. Symp. Soc. Exp. Biol. 11:118-130.
- y Tsui, C. 1948. Chemical control of growth and bud formation in tobacco stem segments and callus cultured in vitro. Amer. J. Bot. 35:782-787.
- y ———. 1951. Growth substances and the formation of buds in plant tissue. En: Skoog, F. (ed.). Plant growth substances. University of Wisconsin Press, Madison, E.U. p. 263-285.
- Smith, S. M. y Street, H. E. 1974. The decline of embryogenic potential as callus and suspension cultures of carrot (*Daucus carota* L.) are serially subcultured. Ann. Bot. 38:223-241.
- Smith, W. K. y Jones, L. H. 1970. Plant propagation through cell cultures. Chem. Ind. 44:1399.
- Sommer, H. E.; Brown, C. L. y Kormanik, P. P. 1975. Differentiation of plantlets in long-leaf pine (*Pinus palustris* Mill.) tissue cultured in vitro. Bot. Gaz. 136:196-200.
- Sterling, C. 1951. Origin of buds in tobacco stem segments cultured in vitro. Amer. J. Bot. 38:761-767.

- Steward, F. C.; Mapes, M. O. y Mears, K. 1958. Growth and organized development of cultured cells; 2: Organization in cultures grown from freely suspended cells. *Amer. J. Bot.* 45:705-708.
- ; ———; Kent, A. E. y Holsten, R. D. 1964. Growth and development of cultured plant cells. *Science* 143:20-22.
- y Shantz, E. M. 1959. The chemical induction of growth in plant tissue cultures. En: Wain, R. L. y Wightman, F. (eds.). *The chemistry and mode of action of plant growth substances*. Academic Press, Nueva York. p. 165-187.
- Street, H. E. 1976. Cell cultures: A tool in plant biology. En: Dudits, D.; Farkas, G. L. y Malia P. (eds.). *Cell genetics in higher plants*. Pub. House Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungría. p. 7-38.
- y Withers, L. A. 1974. The anatomy of embryogenesis in culture. En: Street, H. E. (ed.). *Tissue culture and plant science*. Academic Press, Londres. p. 71-100.
- Sung, Z. R.; Fienberg, A.; Chorneau, R.; Borkind, C.; Furner, I.; Smith, J.; Terzi, M.; LoShiavo, F.; Giuliano, G.; Pitto, L. y Nuti-Ronchi, V. 1984. Developmental biology of embryogenesis from carrot culture. *Plant Mol. Biol. Rep.* 2:3-14.
- Sussex, I. M. y Frei, K. A. 1968. Embryoid development in long-term tissue cultures of carrot. *Phytomorphology* 18:339-349.
- Takayama, S. y Misawa, M. 1979. Differentiation in *Lilium* bulb scales grown in vitro: Effects of various cultural conditions. *Physiol. Plant.* 46:184-190.
- Taylor, R. L. 1967. The foliar embryos of *Malaxis paludosa*. *Can. J. Bot.* 45:1553-1556.
- Thomas, E.; King, P. J. y Potrykus, I. 1977. Shoot and embryo-like structures from cultured tissues of *Sorghum bicolor*. *Naturwissenschaften* 64:587.
- Thorpe, T. A. 1980. Organogenesis in vitro: Structural, physiological and biochemical aspects. En: Vasil, I. K. (ed.). *Perspectives in plant cell and tissue culture*. Academic Press, Nueva York. p. 71-111.
- . 1983. Morphogenesis and regeneration in tissue culture. En: Owens, L. D. (ed.). *Genetic engineering: Applications to agriculture*. Rowman and Allanhead, Totowa, Nueva Jersey, E.U. p. 285-303.
- y Meier, D. D. 1973. Effects of gibberellic acid and abscisic acid on shoot formation in tobacco callus cultures. *Physiol. Plant.* 29:121-124.
- y Murashige, T. 1970. Some histochemical changes underlying shoot initiation in tobacco callus cultures. *Can. J. Bot.* 48:277-285.
- Tisserat, B.; Esan, E. B. y Murashige, T. 1979. Somatic embryogenesis in angiosperms. *Hort. Rev.* 1:1-78.

- Torrey, J. G. 1966. The initiation of organized development in plants. *Adv. Morphog.* 5:39-91.
- Tran Thanh Van, K. 1980. Control of morphogenesis by inherent and exogenously applied factors in thin cell layers. En: Vasil, I. K. (ed.). *Perspectives in plant cell and tissue culture*. Academic Press, Nueva York. p. 175-194.
- y Trinh, H. 1978. Morphogenesis in thin cell layers: Concept, methodology and results. En: Thorpe, T. A. (ed.). *Frontiers of plant tissue culture*. University of Calgary Press, Calgary, Canadá. p. 37-48.
- Vasil, I. K. 1982. Plant cell culture and somatic cell genetics of cereals and grasses. En: Vasil, I. K.; Scowcroft, W. R. y Frey, K. J. (eds.). *Plant improvement and somatic cells genetics*. Academic Press, New York. p. 179-203.
- Vasil, V. y Vasil, I. K. 1980. Isolation and culture of cereal protoplasts; 2: Embryogenesis and plantlet formation from protoplasts of *Pennisetum americanum*. *Theor. Appl. Genet.* 56:97-100.
- y ——, 1981a. Somatic embryogenesis and plant regeneration from suspension cultures of pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Ann. Bot.* 669:678.
- y ——, 1981b. Somatic embryogenesis and plant regeneration from tissue cultures of *Pennisetum americanum* and *P. americanum* x *P. purpureum* hybrid. *Amer. J. Bot.* 68:864-872.
- Weatherhead, M. A.; Burdon, J. y Henshaw, G. G. 1978. Some effects of activated charcoal as an additive to plant tissue culture media. *Z. Pflanzenphysiol.* 89:141-147.
- Wernicke, W. y Brettell, R. 1980. Somatic embryogenesis from *Sorghum bicolor* leaves. *Nature* 287:138-139.
- Wetherell, D. F. 1984. Enhanced adventive embryogenesis resulting from plasmolysis of cultured wild carrot cells. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 3:221-227.
- y Dougall, D. K. 1976. Sources of nitrogen supporting growth and embryogenesis in cultured wild carrot tissue. *Physiol. Plant.* 37:97-103.
- White, P. R. 1939. Controlled differentiation in a plant tissue culture. *Bull. Torrey Bot. Club* 66:507-513.
- . 1963. *The cultivation of animal and plant cells*. Ronald Press, Nueva York. 228 p.
- Wolter, K. E. y Skoog, F. 1966. Nutritional requirements of *Fraxinus* callus cultures. *Amer. J. Bot.* 53:263-269.
- Zatyko, J. M.; Simon, I. Y. y Szabo, C. S. 1975. Induction of polyembryony in cultivated ovules of red currant. *Plant Sci. Lett.* 4:822-825.