

COMPORTAMENT DE LA TAXA DE MULTIPLICACIÓ AL LLARG DE SUCCESSIUS SUBCULTIUS, ATENENT L'ÈPOCA D'EXPLANTACIÓ, DE *C. SCOLYMUS* cv. «BLANCA DE TUDELA»

Núria Cañameras; F.X. Martínez;
Nuria Carazo; Silvia Quintanilla
Escola Superior d'Agricultura.

Data de recepció: desembre de 1991

RESUM

Els millors resultats durant la fase de multiplicació al llarg de set subcultius s'obtenen quan l'explantació dels àpexs caulinaris es fa en el mes de setembre, mentre que les taxes viables més baixes s'aconsegueixen amb el material sembrat en el mes de gener. Per a totes les explantacions

(setembre, novembre, gener, març i maig) s'observa una variabilitat en la taxa de multiplicació al llarg dels diferents subcultius.

Mots clau:

Carxofa, micropropagació, cultiu de teixits.

ABSTRACT

Evolution of the multiplication rate along subcultures, according the explantation date, of *C. Scolymus* cv. «Blanca de Tudela».

The best results in the multiplication phase during seven subcultures were obtained when cultures (caulinar tips) were initiated in September. The lowest shoot

proliferation rates were done with material seeded in January. For all explantation dates (September, November, January, March, April and May) variability in shoot multiplication was observed during subcultures.

Key words:

Globe artichoke, micropropagation, tissue culture.

INTRODUCCIÓ

La majoria de treballs publicats sobre el comportament en la fase de multiplicació, normalment tan sols fan esment a la resposta del material microprogramat a diferents tractaments (hormonals, nutritius, ambientals, etc.) en un únic subcultiu, tot i que la resposta al llarg de diferents subcultius pot ser força diferent (NORTON i NORTON, 1986).

Normalment la taxa de multiplicació incrementa durant les primeres generacions per davallar posteriorment, així com es produeix un decrement en la llargada dels brots, en la grandària de la fulla i un augment en la formació de cal·lus. Aquest fet ha estat estudiat en diverses espècies: *Chaenomeles japonica*, *Crataegus brachyacantha*, *Potentilla fruticosa*, *Prunus cerasifera*, *Prunus tormentosa* (NORTON i NORTON, 1986) i en *Actinidia chinensis* (STANDARDE, 1982). Altres autors han comprovat que, si més no després de seguir set generacions de cultiu de morera *in vitro*, no es produïren canvis notables en la taxa de proliferació (SWARTZ et al., 1983), i que brots de *Prunus* podien ser cultivats sense cap problema per més de dos anys (RUGINI i VERMA, 1983). GERTSSON (1988) en els seus estudis amb *Senecio x hybridus* concloué que el comportament al llarg de diferents subcultius, presentava dintre d'un mateix cultivar, variabilitat clonal.

En *Cynara scolymus*, L. i per la varietat «Blanca de Tudela» (CERVERA, 1989) l'efecte subcultiu té una incidència molt important en la resposta als diferents tractaments hormonals, sobretot quan el material porta més d'un any en cultiu, mentre que

aquest efecte és menys evident en els primers subcultius (ABAD i TORRES, 1991). En altres cultivars aquesta variació del comportament del material vegetal al llarg dels subcultius també ha estat citada (MONCOUSIN, 1981 i MORONE et al., 1981).

La determinació d'època d'explantació òptima ha estat estudiada en molt poques espècies. L'equip de Scaramuzzi (SCARAMUZZI i D'ITOLO, 1985) per *Lantana sellowiana* determinaren que la primavera i l'estiu eren les millors estacions d'iniciació dels cultius per aconseguir un desenvolupament més ràpid del meristem i que per al cultiu de *Jasminum primulinum* si es fa l'explantació amb gemes axil·lars durant el període de juny a febrer-març es forma cal·lus, mentre que si s'utilitzen gemes apicals aquest fenomen no es produeix. Per al cultiu de carxofera, MONCOUSIN (1981) indicà que l'època més desfavorable per iniciar els cultius era l'hivern i BARNÉS i QUINTANILLA (1990) observaren durant la fase d'iniciació un millor desenvolupament del material quan aquest era explantat durant els mesos de setembre a març.

En aquest treball es pretén estudiar l'evolució de les taxes de multiplicació segons l'època de sembra (5 èpoques) i el nombre de subcultius (7). A partir dels subcultius obtinguts es podrà deduir quina és l'època més aconsellable per entrar material del cultivar «Blanca de Tudela » en les nostres condicions de cultiu (Baix Llobregat) i si les taxes de multiplicació estan afectades per l'època de l'explantació i/o el nombre de subcultius.

MATERIAL I MÈTODES

Per a la fase d'iniciació de la micropropagació s'utilitzà com a explant el material més comunament recomanat a la bibliografia, és a dir, àpexs caulinars, extrets de cardets d'una llargada entre 5 i 15 cm. La grandària dels explants fou inferior a 1 mm. d'alçada. La pauta de desinfecció utilitzada fou la proposada per CAÑAMERAS (1990), i el medi bàsic d'iniciació fou el proposat per HARBAOUI et al. (1982), però addicionat amb 5 mg/l de 2ip, 8 g/l de bacto-agar i ajustant el pH a 5.6. Els explants se subcultivaren dues vegades en el medi d'iniciació.

Per a tot l'assaig de multiplicació s'utilitzaren microbrots procedents de la fase d'iniciació, d'una grandària compresa entre 2 i 3 cm., amb un mínim de 3 fulles desenvolupades, i que havien entrat a explantació en 5 èpoques diferents de l'any: setembre i novembre del 88, i gener, març i

maig del 89.

L'esmentat material se subcultivà cada 21 dies durant 7 vegades consecutives. El medi de multiplicació utilitzat (medi bàsic + concentració hormonal) durant tot l'assaig fou el proposat per HARBAOUI et al. (1982). El nombre de propàguls emprats en cada subcultiu fou de 50, escollits completament a l'atzar d'entre el material que assolís les característiques de microbrot viable (brot que pot emprar-se amb èxit com a nou propàgul en un proper subcultiu, grandària superior a 0.5 cm). Les taxes de multiplicació total, viable i tipus de no viabilitat s'avaluaren coincidint amb el moment de la realització del subcultiu.

Durant tot l'assaig de multiplicació la irradiància fou de $90 \mu\text{EPARm}^{-2}\text{s}^{-1}$ i la temperatura de la cambra d'incubació es mantingué constant dia i nit i fou de $24^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

RESULTATS

En el global dels resultats s'observà que l'època d'explantació afecta significativament, tant les taxes viables com les taxes totals. L'explantació del mes de setembre comporta assolir una taxa viable de multiplicació (2.48) estadísticament superior i una taxa total (3.56), també significativament més elevada que la resta d'explantacions. La pitjor posta en cultiu és la corresponent a l'hivern (gener) que exhibeix les taxes de multiplicació viable (1.63) i total (2.90) més baixes. Quant al global dels subcultius es manifesta que el subcultiu que mostra la taxa viable més elevada (2.39) és el cinquè. L'esmentat repicat

també exhibeix la taxa total més elevada en valors absoluts, encara que no es pot distingir clarament de la resposta, excepció feta, com ja hem dit anteriorment, del primer subcultiu (Taula 1, figura 1).

En analitzar la variació de les taxes al llarg dels subcultius per a cadascuna de les explantacions s'observa que les corresponents al mes de setembre i el mes de gener presenten una elevada homogeneïtat, pel que fa al manteniment de les taxes viables al llarg dels subcultius. Malgrat aquesta homogeneïtat, cal tenir present que les taxes del material sembrat en el mes de setembre són les més elevades de

totes les explantacions, i que les de gener són les més baixes, amb diferències significatives entre si. Per a la resta d'èpoques d'explantació s'observen variacions segons subcultius, detectant-se sempre les mínimes, en valors absoluts, en el primer subcultiu. Els valors màxims s'obtenen en els subcultius tercer, quart i cinquè, i no s'observen diferències significatives entre aquests tres.

La taxa viable més elevada (3.08) es dona en el segon subcultiu de l'explantació de setembre i és significativament diferent a la resta de tractaments. La taxa total major (4.18) la comporta el setè subcultiu de l'explantació de març, però només mostra diferències significatives amb l'explantació de gener.

De l'anàlisi comparativa entre les taxes total i viable es desprèn que la no-viabilitat al llarg dels diferents subcultius i per a cadascuna de les distintes explantacions presenta una tònica general. En la major part dels casos els propàguls no viables conformen entre el 35 i el 55% del total de propàguls formats, amb una mitjana pel global dels tractaments de 40.62%. En la sembra de setembre, i sobretot en el primer i segon cultiu, el percentatge de brots no viables sobre el total format és inferior al 20%. En aquesta explantació es detecten en valors absoluts les taxes viables màximes tant en el global com per a cadascun dels subcultius, excepció feta del cinquè subcultiu (percentatge de brots viables = 63.43%), on tot i estar per sobre del percentatge mitjà global (59.38%) és inferior al percentatge corresponent al global de les diferents entrades (Taules 2 i 3).

Els resultats dels valors absoluts corresponents a les taxes no viables són, al nostre entendre, de difícil interpretació, i fins i

tot poden induir a errors. Per aquest motiu es presenten els resultats, com a percentuals de cadascuna de les taxes. El fet més destacable és la gran importància dels brots no suficientment desenvolupats (tp) en l'establiment de la no-viabilitat. En la major part dels casos el percentatge és igual o superior al 70%. Quan s'obtenen valors inferior, no s'observa cap tendència clara en les causes de no viabilitat. El percentatge de brots petits en l'explantació de gener al llarg dels diferents subcultius és menor que en la resta.

Els fenòmens de vitrificació només són clarament importants en el primer i tercer subcultius corresponents a les explantacions de novembre i setembre respectivament. La clorosi només assoleix valors importants en diversos subcultius (segon, cinquè, sisè i setè) de la sembra de gener, i en els dos primers subcultius de l'explantació de novembre.

Les pèrdues de material per necrosi (tn) són molt baixes, tan sols el material sembrat a gener i puntualment en el tercer subcultiu presenta un percentatge de necrosi del 31.91%. La principal causa d'aquestes necrosis és atribuïble a problemes de deshidratació del propàgul, que molt freqüentment, quan s'efectuava el control, s'observava que estava separat del medi de cultiu.

Si es consideren globalment els percentatges dels diferents factors de no viabilitat, es fa evident la baixa incidència dels fenòmens no desitjables en la micropropagació *in vitro*: vitrificació (11.30%), clorosi (12.60%) i necrosi (3.88%). És de fet el grau de desenvolupament d'alguns propàguls neoformats (72.23%) el responsable d'aquesta inviabilitat (40.62%).

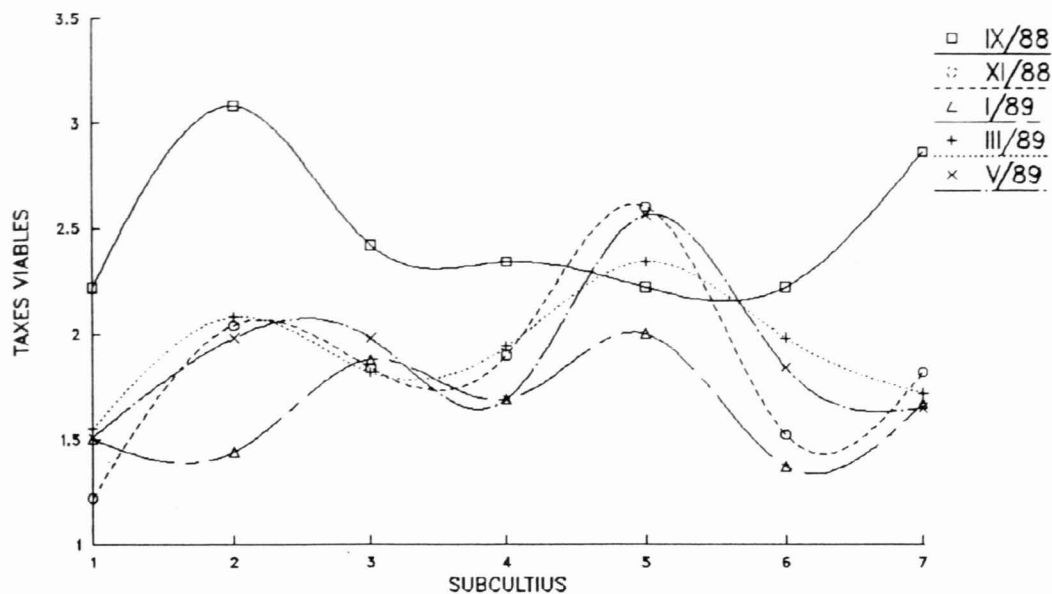


Figura 1- Efectes de l'època de sembra i del nombre de subcultius en les taxes viables obtingudes en medi de multiplicació.

Effects of explantation dates and the subculture number on useful rates obtained on the proliferation medium.

TAULA 1

EFFECTES DE L'ÈPOCA DE SEMBRA I DEL NOMBRE DE SUBCULTIUS
EN LES TAXES VIABLES I TOTALS EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓ
(Sb: subcultiu; m: mitjana)

EFFECTS OF EXPLANTATION DATES AND THE SUBCULTURE NUMBER
ON USEFUL AND TOTAL RATES DURING MULTIPLICATION PHASE
(Sb: subculture; m: average)

TAXA VIABLE							TAXA TOTAL					
DATES DE SEMBRA												
Sb	IX/88	XI/88	I/89	III/89	V/89	m	IX/88	XI/88	I/89	III/89	V/89	m
1	2.22b a	1.22a a	1.50a a	1.55a a	1.51a a	1.60 a	2.72a a	2.94a a	2.44a a	2.97a a	3.14a abc	2.84 a
2	3.08c a	2.04b bc	1.44a a	2.08b ab	1.98b a	2.13 b	3.42a ab	3.20a ab	3.12a a	3.42a ab	3.60a bcd	3.36 b
3	2.42a a	1.84a bc	1.88a a	1.82a ab	1.98a a	1.99 b	3.88b b	2.94ab a	2.82a a	3.22ab ab	3.88b cd	3.35 b
4	2.34a a	1.90a bc	1.69a a	1.94a ab	1.69a a	1.92b b	3.80b b	2.68a a	3.21ab a	3.26ab ab	4.06c d	3.41 b
5	2.22a a	2.60a c	2.00a a	2.34a b	2.56a b	2.39 c	3.50a ab	4.02a b	3.32a b	3.34a ab	3.48a abcd	3.56 b
6	2.22b a	1.52a ab	1.37a a	1.98ab ab	1.84ab a	1.81 ab	3.70b b	3.36ab ab	2.83a a	3.90b a	2.80a a	3.35 b
7 c	2.86b a	1.82a bc	1.67a a	1.72a ab	1.65a a	1.95 b	3.92bc b	3.62ab ab	2.64a a	4.18c a	2.90a ab	3.39 b
m	2.48c	1.85b	1.63a	1.92b	1.89b		3.56c	3.20b	2.90a	3.48bc	3.41bc	

Nivell de significació: 5%.

Lletres iguals al costat dels nombres: no hi ha diferències entre èpoques de sembra.

Lletres iguals sota els nombres: no hi ha diferències entre subcultius.

Significant level: 5%.

Same letters beside numbers: no difference between explantation dates.

Same letters under numbers: no difference between subcultures.

TAULA 2

EFFECTE DE L'ÈPOCA DE SEMBRA I DEL NOMBRE DE SUBCULTIUS
EN LES TAXES NO VIABLES EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓ
(tnv: no viable; tvit: vitrificació; tp: microbrots petits o gemes poc desenvolupades;
tcl: clorosi; tn: necrosi; m: mitjana).

EFFECTS OF EXPLANTATION DATES AND THE SUBCULTURE NUMBER
ON USELESS RATES DURING MULTIPLICATION PHASE
(tnv: useless; tvit: vitrification; tp: short microshoots or not developed buds;
tcl: chlorosis; tn: necrosis; m: average).

SUBCULTIUS								
Sembra	1	2	3	4	5	6	7	m
tnv:								
IX/88	0.50	0.34	1.46	1.46	1.28	1.48	1.06	1.08
XI/88	1.72	1.16	1.10	0.78	1.42	1.84	1.44	1.35
I/89	0.94	1.68	0.94	1.52	1.32	1.46	0.97	1.26
III/89	1.42	1.34	1.40	1.32	1.00	1.92	2.46	1.55
V/89	1.63	1.62	1.90	2.37	0.92	0.96	1.25	1.52
m	1.24	1.23	1.36	1.49	1.19	1.53	1.44	1.35
tvit:								
IX/88	0.00	0.00	0.84	0.08	0.12	0.14	0.00	0.17
XI/88	0.78	0.16	0.08	0.04	0.12	0.32	0.26	0.25
I/89	0.06	0.04	0.10	0.00	0.00	0.06	0.08	0.07
III/89	0.00	0.00	0.20	0.06	0.24	0.10	0.12	0.14
V/89	0.34	0.14	0.30	0.19	0.04	0.23	0.32	0.23
m	0.24	0.16	0.30	0.07	0.10	0.18	0.16	0.17
tp:								
IX/88	0.50	0.32	0.32	1.28	1.12	1.22	0.98	0.82
XI/88	0.54	0.64	0.88	0.60	0.98	1.36	0.90	0.84
I/89	0.66	0.90	0.52	1.22	0.86	0.77	0.57	0.79
III/89	1.23	1.30	0.92	1.02	0.70	1.48	2.10	1.25
V/89	1.12	1.40	1.30	2.00	0.76	0.63	0.77	1.14
m	0.81	0.90	0.79	1.22	0.88	1.09	1.06	0.97
tcl:								
IX/88	0.00	0.00	0.30	0.06	0.04	0.12	0.06	0.08
XI/88	0.40	0.34	0.08	0.14	0.22	0.08	0.28	0.29
I/89	0.20	0.58	0.02	0.24	0.37	0.52	0.22	0.31
III/89	0.19	0.00	0.18	0.16	0.06	0.28	0.18	0.15
V/89	0.14	0.08	0.22	0.06	0.12	0.04	0.14	0.11
m	0.19	0.20	0.16	0.13	0.16	0.21	0.18	0.18
tn:								
IX/88	0.00	0.02	0.00	0.04	0.00	0.00	0.02	0.01
XI/88	0.00	0.02	0.06	0.00	0.10	0.08	0.00	0.04
I/89	0.02	0.16	0.30	0.06	0.09	0.11	0.10	0.12
III/89	0.00	0.04	0.10	0.08	0.00	0.06	0.06	0.05
V/89	0.03	0.00	0.08	0.12	0.00	0.00	0.02	0.04
m	0.01	0.05	0.11	0.06	0.04	0.05	0.04	0.05

TAULA 3

EFECTE DE L'ÈPOCA DE SEMBRA I DEL NOMBRE DE SUBCULTIUS
EN EL TIPUS DE NO-VIABILITAT EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓ(bv: brots viables; bnv: brots no viables; bvlt: vitrificació;
bcl: cloròtics; bn: necròtics; m: mitjana).EFFECTS OF EXPLANTATION DATES AND THE SUBCULTURE NUMBER
ON UNVIALE TYPES DURING MULTIPLICATION PHASES(bv: useful shoots; bnv: no useful shoots; bvlt: vitrification;
bcl: chlorosis; bn: necrosis; m: average).

	SUBCULTIUS							
Sembra	1	2	3	4	5	6	7	m
% bv:								
IX/88	81.62	90.06	62.37	61.58	63.43	60.00	72.96	70.29
XI/88	41.50	63.75	62.59	70.90	64.68	45.24	55.83	57.78
I/89	61.48	46.15	66.67	52.65	60.24	48.41	63.26	56.98
III/89	52.19	60.82	56.52	59.51	70.06	50.77	41.15	55.86
V/89	48.09	55.00	51.03	41.62	73.56	65.71	56.90	55.99
m	56.98	63.17	59.84	57.25	66.39	54.03	58.02	59.38
% bnv:								
IX/88	18.38	9.94	37.63	38.42	36.57	40.00	27.04	29.71
XI/88	58.50	36.25	37.41	29.10	35.32	54.76	44.17	42.22
I/89	38.52	53.85	33.33	47.35	39.76	51.59	36.74	43.02
III/89	47.81	39.18	43.48	40.49	29.94	49.23	58.85	44.14
V/89	51.91	45.00	48.97	58.38	26.44	34.29	43.10	44.01
m	43.02	36.84	40.16	42.75	33.61	45.97	41.98	40.62
% bvlt:								
IX/88	0.00	0.00	57.53	5.48	9.38	9.46	0.00	11.69
XI/88	45.35	13.79	7.27	5.13	8.45	17.39	18.06	16.49
I/89	6.38	2.38	10.64	0.00	0.00	4.11	8.25	16.49
III/89	0.00	0.00	14.29	4.55	24.00	5.21	4.87	4.54
V/89	20.86	8.64	15.79	8.02	4.35	30.21	25.60	7.56
m	14.52	4.96	21.10	4.64	9.24	13.28	11.36	11.30
% bp:								
IX/88	100.00	94.11	21.92	87.67	87.50	82.43	92.45	80.87
XI/88	31.40	55.17	80.00	76.92	69.01	73.91	62.50	64.13
I/89	70.21	53.57	55.32	80.26	65.15	52.74	58.76	62.29
III/89	86.62	97.01	65.71	77.27	70.00	77.08	85.37	79.87
V/89	68.71	86.42	68.42	84.39	82.60	65.62	61.60	73.97
m	71.39	77.26	58.27	81.30	74.85	70.36	72.14	72.23
% bcl:								
IX/88	0.00	0.00	20.55	4.11	3.12	8.11	5.66	5.94
XI/88	23.25	29.31	7.27	17.95	15.49	4.35	19.44	16.72
I/89	21.28	34.52	2.13	15.79	28.03	35.62	22.68	22.86
III/89	13.38	0.00	12.86	12.12	6.00	14.58	7.32	9.47
V/89	8.59	4.94	11.58	2.53	13.05	4.17	11.20	8.01
m	13.30	13.75	10.88	10.50	13.14	13.37	13.26	12.60
% bn:								
IX/88	0.00	5.89	0.00	2.74	0.00	0.00	1.89	1.50
XI/88	0.00	1.73	5.46	0.00	7.05	4.35	0.00	2.66
I/89	2.13	9.53	31.91	3.95	6.82	7.53	10.31	10.31
III/89	0.00	2.99	7.14	6.06	0.00	3.13	2.44	3.11
V/89	1.84	0.00	4.21	5.06	0.00	0.00	1.60	1.82
m	0.79	4.03	9.74	3.56	2.77	3.00	3.25	3.88

DISCUSSIÓ

Els resultats obtinguts en l'estudi del comportament de les taxes de multiplicació al llarg de successius subcultius, atenent a l'època d'explantació, manifesten una clara resposta segons l'origen estacional del material utilitzat com a propàgul. Les millors taxes de multiplicació viables i totals es corresponen amb l'entrada d'àpexs caulinaris realitzada el mes de setembre, mentre que la més desfavorable és la del mes de gener. Aquest comportament estaria força d'acord amb els resultats de MONCOUSIN (1981), encara que en aquest cas per la fase d'iniciació, també s'observà que l'època més desfavorable era l'hivern. BARNÉS i QUINTANILLA (1990), en analitzar l'efecte època d'explantació en la fase d'iniciació i primer subcultiu en multiplicació detectaren taxes de multiplicació màximes i mínimes a setembre i març respectivament. El contrast d'ambdós resultats suggereix que la capacitat organogènica ve força condicionada per l'estat fisiològic en el moment de l'explantació i que aquestes característiques diferencials es mantenen generalment com a mínim al llarg de set subcultius. Tanmateix, en altres espècies, com per exemple *Lantana sellowiana* no s'han trobat diferències en el comportament del material explantat en les diverses estacions de l'any (SCARAMUZZI i D'ITOLLO, 1985). En analitzar l'efecte subcultiu per a cadascuna de les èpoques d'explantació s'observa en general que les taxes no són estables, fet que significa que hi ha un

efecte subcultiu detectable. Aquesta inestabilitat provocada pels subcultius també ha estat citada en altres espècies, com per exemple en *Actinidia chinensi* (STANDARDI, 1982), *Manihot esculenta* (ROCA, 1984), *Chaenomeles japonica*, *Crataegus brachyachntha*, *Potentilla fruticosa*, *Prunus cerasifera*, *Prunus tormentosa* (NORTON i NORTON, 1986), *Prunus*, *Malus* i *Pyrus* (DRUART, 1987, 1988), en *Rhododendron* (ECONOMOU i READ, 1986), així com en carxofera per MONCOUSIN (1980), MORONE et al. (1981) i CERVERA (1989); mentre que ANCORA et al. (1981) obtenen una elevada estabilitat. Generalment es pot considerar que les taxes de multiplicació s'estabilitzen després d'un determinat nombre de subcultius, però aquest comportament és variable segons els medis de cultiu (DRUART, 1988). MONCOUSIN (1980) aconsegueix disminuir aquest fenomen afegint GA_3 en el medi de multiplicació, MORONE et al. (1979) obtenen taxes de multiplicació estables a dosis altes de citoquinina (10 mg l^{-1} de BAP), mentre que a dosis inferiors sembla ser necessària la incorporació de GA_3 en els medis. En el present assaig, tot i mantenir concentracions relativament altes de 2ip (20 mg l^{-1}) el fenomen es manifesta, per la qual cosa no sembla que la taxa s'estabilitzi amb dosis relativament altes de 2ip. Caldria comprovar si l'addició de GA_3 en el medi fóra capaç de minimitzar el fenomen en la nostra varietat.

CONCLUSIONS

Les taxes de multiplicació de *Cynara scolymus* (cultivar «Blanca de Tudela») es veuen afectades tant per l'època d'iniciació dels cultius com per l'efecte subcultiu. En les condicions assajades els millors resultats s'obtenen a partir del material explantat

el mes de setembre, i són molt inferiors els de gener. La principal causa de no viabilitat que condiciona les baixes taxes de multiplicació ve determinada per la presència de microbrots poc desenvolupats, no aptes per a continuar el subcultiu.

BIBLIOGRAFIA

- ABAD, E.; TORRES, M. (1991). Incidència dels medis d'iniciació en la micropropagació de *Cynara scolymus* L. (cultivar «Blanca de Tudela»). T.F.C. presentat a l'ESAB, 255 pp.
- ANCORA, G.; BELLI-DONINI, M.L.; CUOZZO, L. (1981). Globe artichoke plants obtained from shoot apices through rapid *in vitro* micropropagation. *Scientia Horticult.*, 14: 207-213.
- BARNES, V.; QUINTANILLA, S. (1990). Efectes de l'època d'explantació en els estadis inicials de la micropropagació d'apexs caulinars de *Cynara scolymus* L. cv. «Blanca de Aranjuez» i cv. «Blanca de Tudela». T.F.C. presentat a l'ESAB, 195 pp.
- CERVERA, J.M. (1989). Efecte de les citoquinines en la multiplicació *in vitro* C. *Scolymus*, L. varietat «Blanca de Tudela». T.F.C. presentat a l'ESAB, 193 pp.
- DRUART, Ph. (1987). Contribution à l'élaboration de techniques de production en masse *in vitro* d'espèces ligneuses utilisables en culture fruitière». Thèse de doctorat. Gembloux.
- DRUART, Ph. (1988). Regulation of axillary branching in micropropagation of woody plant species. *Acta Horticulturae*, 227: 369-380.
- ECONOMOU, A.S.; READ, P.E. (1986). Micro-cutting production from sequential reculturing of hardy deciduous azalea shoot tips. *HortScience*, 21: 137-139.
- GERTSSON, U.E. (1988). Large-scale *in vitro* propagation of *Senecio x hybridus* Hyl. *Jour. of Hort. Sci.*, 63 (1): 131-136.
- HARBAOUI, Y.; SAMIJN, G.; WELVAERT, W.; DEBERGH, P. (1982). Assainissement viral de l'artichaut per la culture *in vitro* d'apexs méristématiques. *Phytopath. medit.*, 21: 15-19.
- MONCOUSIN, Ch. (1980). Multiplication végétative accélérée de *Cynara scolymus* L.: Résultats préliminaires. *Rev. Hortic. Suisse*, 53: 149-154.
- MONCOUSIN, Ch. (1981). Multiplication végétative accélérée de *Cynara scolymus* L.: II Amélioration des diverses techniques. *Rev. Hortic. Suisse*, 54: 105-111.

- MORONE FORTUNATO, I.; VANIDIA, S.; LATANZIO, V. (1981). Primi risultati sulla micropropagazione del carciofo (*Cynara scolymus* L.). In: Atti 3rd Congr. Inter. Stud. Carciofo. Bari. Ind. Grafica Laterza, pp. 243-253.
- NORTON, M.E.; NORTON, C.R. (1986). Change in proliferation with repeated *in vitro* subculture of shoots of woody species of Rosaceae. Plant Cell, Tissue and Org. Cult., 5: 187-197.
- ROCA, W.M. (1984). Cassava. In: Sharp, Evans, Ammirato & Yamada (ed). Handbook of Plant Cell Culture. Vol. 2. Crop Sciences. Macmillan Publisher, pp. 269-301.
- RUGINI, E.; VERMA, D.C. (1983). Micropropagation of difficult-to-propagate almond (*Prunus amygdalus*, Batsch) cultivar. Plant Sci. Letter, 28: 273-281.
- SCARAMUZZI, F.; ITOLO, P.R. (1985). Multiplication végétative *in vitro* de *Lantana sellowiana* Link et Otto par culture et repiquages répétés de méristèmes. C.R. Acad. Sc. Paris, 15: 591-596.
- STANDARDI, A. (1982). Effects of repeated subcultures in shoots of *Actinidia chinensis*. In: Fujiwara, A. (ed). Plant Tissue Culture, 1982. The Japanese Association for Plant Tissue Culture, pp. 737-738.
- SWARTZ, H.J.; GALLETTA, G.J.; ZIMMERMAN, R.H. (1983). Field performance and phenotypic stability of tissue culture-propagated thornless blackberries. Jour. Amer. Soc. Hort. Sci., 108: 285-290.