

카사바의 미세증식에서 기내 발생 부정근의 절단이 순화에 미치는 영향

윤실 · 조덕이¹ · 소웅영*

전북대학교 생물과학부, ¹우석대학교 생물학과

Effects of Excising *In Vitro*-Formed Roots on Acclimatization of Micropropagated Cassava Plantlets

YOON, Sil · CHO, Duck Yee¹ · SOH, Woong-Young*

Department of Biological Science, Chunbuk National University, 561-756, Korea

¹Department of Biology, WooSuk University, Chunbuk, 565-701, Korea

ABSTRACT The *in vitro* plantlets of cassava (*Manihot esculenta* Crantz cv. MColl 22) could be regenerated from nodal explant cultures in a liquid MS basal medium containing 0.01 mg/L zeatin for 2 weeks. The plantlets of 1.5~2.5 cm in shoot length were transplanted to a glass bottle containing fine sand and acclimated under non-sterile conditions after excising their intact roots by; 1) prune leaving roots base of 1~1.5 cm; 2) complete removal of roots; and 3) cutting off the rooting zone. The majority of *in vitro*-formed intact roots continued growth after transferred to soil, and all of the damaged roots stopped further growth. The plantlets with excised roots began to develop new roots within 7~10 days after being transferred to a glass bottle, and a few of the pruned roots developed lateral roots from the remaining portion. Pruning and removal of *in vitro* roots resulted in a high survival rate (>87%), and did not significantly affect *ex vitro* root regeneration and acclimation, but the plantlets in which the rooting zone had been cut-off showed 73% survival rate. Pruning or removal of *in vitro* roots before transfer of plantlets is recommended for useful method of commercial micropropagation because of easier handling and high survival rate of plantlets.

Key words: Acclimatization, microcutting, suspension cultures

서 론

열대산 관목인 카사바는 주로 삼목에 의해 영양번식되므로 바이러스 등의 병충해에 의한 수확 손실이 매년 30~50%에 이르고 있어 조직배양에 의한 우량 무균주의 대량생산 기술이 절실히 요구되고 있다 (Pounti-Kaerlas et al. 1999). 일반적으로 카사바의 조직배양은 마디절편과 정단부 절편배양 (Roca 1984; Konan et al. 1997; Soh et al. 1999) 및 체세포배 발생 (Raemaker et al. 1999)에 의해 이루어지고 있다.

조직배양 식물의 뿌리 발생에 대한 연구는 주로 기내 부정

근 발생에 대해서 이루어지고 있고, 기내 발생 부정근의 기에서의 성장과 기능에 대한 연구는 미흡한 실정이다 (Sharma et al. 1999). 기내에서의 부정근 발생은 식물의 유전적 특성, 개체발생적 나이, 절편의 위치와 크기, 생리적 특성, 내생 옥신 및 배양환경 등의 조건에 따라 달라진다 (Mullins 1985; Soh et al. 1999). 기내 발생된 뿌리는 순화과정 중에 유식물의 성장에 중요한 역할을 하므로 손상되지 않도록 해야 된다. 그러나 산업적으로 미세증식되는 식물의 경우, 기내에서 뿌리를 발생시키는 데 소요되는 비용이 식물에 따라 35~75%나 되므로 (Debergh and Maene 1981) 유식물 생산을 위한 경제적인 부정근 발생 방법에 대한 연구가 매우 부족하다.

그런데 식물에 따라 시험관 내에서 발생된 뿌리가 외부 환경으로 이식된 후에도 성장을 계속하여 기능을 다하는지, 아

*Corresponding author. Tel 063-270-3353 Fax 063-270-3362
E-mail sohwy@moak.chunbuk.ac.kr

나면 기외에서 2차적으로 재발생된 뿌리로 그 기능이 대체되는지 등에 대한 기초연구가 아직 불분명하다 (Maene and Debergh 1983; Mullins 1985; Nemeth 1986; McClelland et al. 1990; Apter et al. 1993; Gribando et al. 1995). 그리고 한천배지에서 배양된 식물의 기내발생 뿌리는 이식과정에 뿌리를 꺼내고, 미생물 증식 방지를 위해 한천을 씻어낼 때 대부분 끊어지거나 손상을 입는 문제점을 가지고 있다. 또한 기내 뿌리가 너무 길게 신장된 경우에는 토양 이식작업을 매우 불편하게 한다 (McCown 1988). 그러므로 기내에서 발생한 뿌리를 짧게 자르거나 제거한 상태로 이식하여 건강한 유식물로 생산해내는 것은 매우 중요한 연구과제이다 (Thomas and Ravindra 1997; Yoon et al. 2000). 특히 본 연구의 실험재료인 카사바의 마디절편은 MS기본 고체배지에서 4주만 배양해도 직경 1 mm 이하의 부정근이 10 cm 이상까지 길게 성장하므로, 이를 배지로부터 손상 없이 꺼내어 한천을 씻어내고 토양에 이식한다는 것은 거의 불가능한 일이다.

본 실험은 카사바의 마디절편을 현탁배양하여 발생한 기내발생 뿌리가 기외에서도 생장이 계속되는지 여부를 확인하는 한편, 기내 뿌리를 자르거나 완전 제거 또는 뿌리 발생부 전체를 절단한 상태로 이식했을 때 순화과정에 나타나는 유식물의 생존율과 성장상태 및 뿌리의 재발생 과정을 밝혀 경제적인 유식물 생산방법을 연구하고자 실시되었다.

재료 및 방법

실험재료 및 기내배양

실험재료로 사용된 카사바 (*Manihot esculenta* Crantz cv. MCol 22)는 1996년 콜롬비아의 CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical)로부터 분양받아 성장조절물질을 첨가하지 않은 MS 기본배지 (Murashige and Skoog 1962)에서 마디절편을 계대배양해 온 것을 모본으로 이용했다. 실험에서는 부정근보다 경엽부가 잘 발생한 유식물을 재료로 사용하기 위해, 0.01 mg/L의 제아틴이 첨가된 MS 기본배지에서 2주간 현탁배양하였으며 (100 rpm), 경엽부 길이가 1.5~2.5 cm인 유식물 가운데 부정근 길이가 2 cm 이내이며 부정근 발생 수가 1~4개인 유식물을 선발하여 사용했다 (Figure 1A).

뿌리 처리

이렇게 선발된 유식물의 기내 발생 뿌리는 다음과 같이 3가지 상태로 처리한 뒤 토양에 이식했다. 1) 기내에서 발생한 부정근 중 긴 뿌리만 약 1 cm 남기고 전정 (pruning)한 뒤 이식했다. 이 조건의 유식물은 대부분 부정근이 짧게 발생되어 있었으므로 (Figure 1A) 손상 없이 이식된 것이 많아 대조

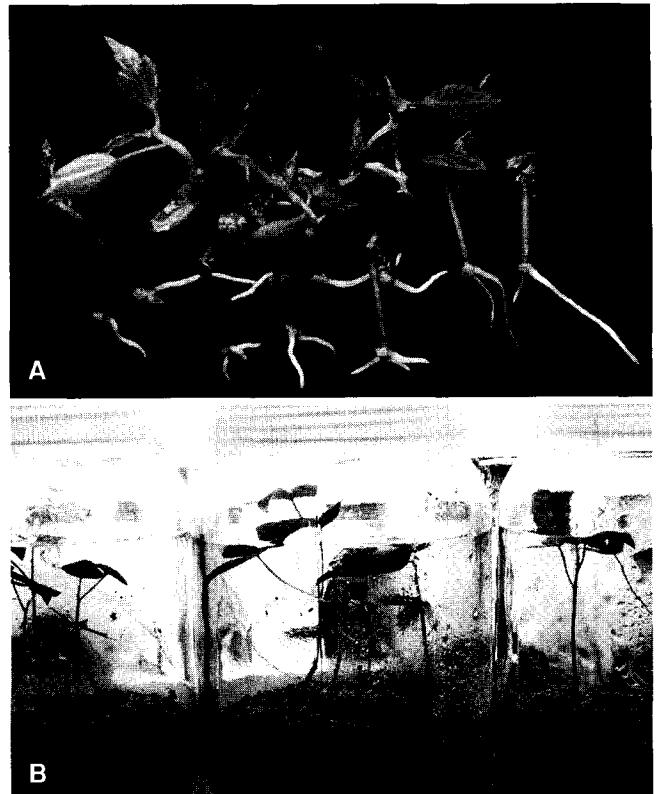


Figure 1. Short roots and long shoots were developed in nodal explants culture of cassava in liquid MS basal medium containing 0.01 mg/L zeatin for 2 weeks (A). They were transplanted to culture bottles filled with fine sand after excising *in vitro* roots (B).

구로 취급되었다. 2) 발생한 모든 부정근을 1~2 mm만 남기고 제거 (removal)했다. 3) 부정근이 발생한 마디 기부 3 mm 정도를 완전 절단 (cut-off)했다.

유식물체의 순화

이상과 같이 3가지 상태로 뿌리가 처리된 유식물은 전주근교에서 채취하여 3 mm 채로 거른 마사토를 담은 유리병 (8×8×14 cm, 1000 mL)에 이식하여 순화성장시켰다. 유리병에는 200 mL의 마사토를 담고 1/2 크롬솜 용액 50 mL를 첨가했으며, 반투명 뚜껑을 덮은 뒤 이를 121°C, 1.2 기압에서 15분간 멸균했다. 이식작업 및 순화는 비무균 조건에서 실시했다. 기내 배양된 유식물과 그 뿌리는 수돗물로 수세한 뒤 핀셋으로 흙을 헤집어 뿌리가 충분히 묻히도록 심었으며, 이 작업은 유식물의 건조 방지를 위해 신속히 했다. 유식물은 25±2°C, 46 μmol m⁻²·s⁻¹, 16시간 광주기 조건에서 배양했다. 순화 중에 잎이 황변하여 낙엽지는 것은 핀셋으로 집어내어 배양병 안에서 부패하지 않도록 했다. 유식물 수는 각 조건에서 25개체씩 2회 반복실험했다.

성장 조사

유리병은 유식물의 순화에 절대적 환경조건인 높은 상대습

도를 잘 유지시켜 주었다. 이들은 6주간 배양한 뒤 전정 (대조구), 제거, 절단조건에 따른 유식물의 생존율, 새로 발생한 뿌리의 수, 뿌리의 길이, 측근 발생률, 경엽부 길이, 마디 수 및 생체중을 측정했다. 순화기간에는 유리병에 추가 수분 공급을 하지 않았다. 관찰을 위해 유식물을 유리병에서 들어낼 때는 기내 발생 부정근에 미치는 손상을 최소화하기 위해 수돗물이 담긴 수조 안에서 서서히 흔들어 토양 분리 작업을 했다.

결과 및 고찰

저농도 (0.01 mg/L)의 제아틴이 첨가된 MS 배지에서 2주간 현탁배양된 마디절편에서는 부정근이 대부분 10 mm 이내로 짧게 발생한 반면에 경엽부가 최대 약 3 cm까지 효과적으로 신장된 유식물을 얻을 수 있었다 (Yoon et al. 2000). 실험 재료로 선발된 유식물의 부정근을 전정, 제거 및 절단 처리하여 토양배양병에 이식된 직후의 유식물은 약간 시든 상태였으나 약 12시간 후에는 모두 싱싱한 상태가 되었다.

마디절편 배양에서 저농도의 제아틴을 처리한 이유는 유식물의 부정근 발생을 다소 억제시키면서 경엽부를 효과적으로 신장시키기 위한 것이었다. 즉, 0.05 mg/L 이상의 고농도 제아틴을 처리했을 때는 마디절편 기부에 캘러스가 대량 발생되면서 부정근 발생이 매우 억제되지만, 0.01 mg/L 정도의 저농도에서는 부정근 발생이 다소 저조하더라도 경엽부를 길게 신장시키며 캘러스 형성이 적었다 (Yoon et al. 2000). 그리고 경엽부가 잘 발생한 유식물은 내생 옥신 생산이 활발하기 때문에 사이토키닌이 없는 토양에 이식된 후 즉시 새 뿌리가 왕성하게 발생되므로 순화에 효과적이었다. 또한 기내발생 부정근의 길이가 짧으면 토양이식 작업을 간편하게 하고 뿌리의 물리적 손상을 줄이는 방법이 되었다.

기내발생 뿌리의 생존

토양에서 6주 동안 순화시킨 유식물의 기내발생 뿌리의 기외

생존여부를 조사한 결과, 부정근이 손상되지 않은 상태로 이식된 뿌리는, 5 mm 내외이던 것이 평균 73 mm로 신장하여 기외에서도 정상적인 성장을 계속하는 것으로 확인되었다. 그러나 전정조건에서 뿌리의 선단부가 조금이라도 잘린 것과 제거되고 남은 짧은 뿌리는 모두 생장이 정지되고 새로 뿌리를 재발생시켰다 (Figure 2A). 그런데 전정된 뿌리 중에 잘리고 남은 부분에 측근이 발생된 것이 50개체 가운데 2개체 발견되었다 (C). 절단된 뿌리에서 측근이 발생할 수 있는 조건이 어떠한지에 대해서는 연구되어야 할 과제이다. 순화 시작 후 뿌리가 재발생되기 시작하는 시기를 조사하기 위해, 기내 배양 유식물을 토양에 이식하여 24시간 간격으로 뿌리의 재발생 시기를 조사한 결과 전정 (대조구), 제거 및 절단 어느 처리 조건에서나 이식 7~10일 경부터 재발생된 뿌리가 관찰되기 시작했다 (데이터 미발표). 전정 및 제거조건에서 뿌리가 재발생되는 위치는 기내 부정근 발생부와 동일한 부분이거나 인접한 바로 윗부분이었다. 기내에서 발생한 묵은 뿌리와 기외에서 재생된 새 뿌리는 육안으로 서로 구분하기 어려웠으나 재발생 뿌리의 표면이 보다 매끈하고 투명하게 보였다.

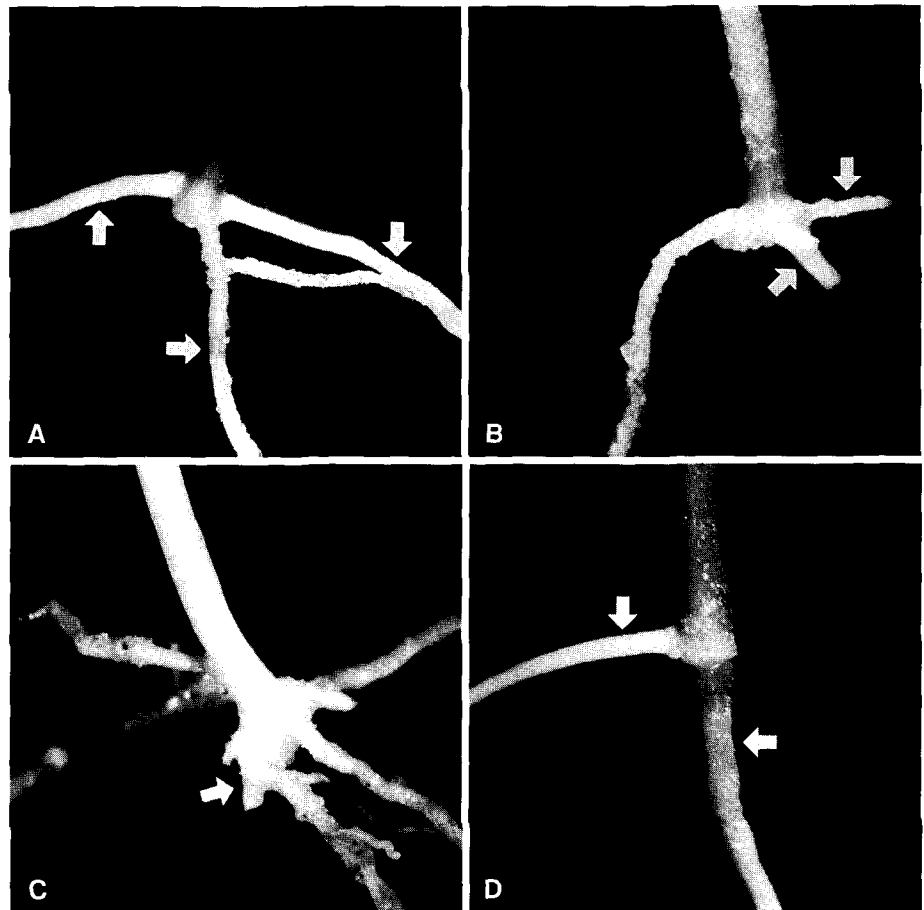


Figure 2. The regenerated new adventitious roots in plantlets were transplanted to soil after pruning (A), removal (B, C) or cut-off of (D) *in vitro* roots. After 6 weeks of acclimatization, the intact *in vitro* roots continued to elongate after transplanting (A, arrow), and all of excised roots did not make any further elongation (B), but a few of pruned roots developed secondary roots on their remain portion (C). Cut-off of rooting zone regenerated new roots at the base of nodal explant (D).

일반적으로 기내 환경에서 발생된 뿌리는 그 기능이 비정상적이어서 기외 이식 후 재발생시켜야 하며, 이러한 현상은 초본식물보다 목본식물에서 더 현저하게 나타나는 것으로 알려져 있다 (Maene and Debergh 1983; Soh et al. 1999). 이에 대한 중요 이유로는 모기관과 부정근 사이의 불완전한 유관속 연결 (Ziv 1986; Pierik 1987), 2기유관속 형성의 부진 (Maene and Debergh 1983; McClelland et al. 1990; Rogers and Smith 1992), 한천배지의 물리적 영향에 의한 뿌리 기능의 제한 (George 1996), 측근 발생과 근모 발생의 부진 (Ziv 1986; Pierik 1987), 및 배양액의 고농도 생장조절물질에 의한 캘러스의 대량 형성 (Dunstan 1981) 등이 지적되고 있다. 그러나 카사바의 경우 기내발생 뿌리는 기외에서도 정상생장하며 순화에 지장이 없는 것으로 나타났다.

순화 및 생장 상태

각 조건의 유식물은 토양 이식 6주 후의 관찰에서 전정 94%, 제거 87%, 절단 73%의 생존율을 각각 나타냈으며 (Figure 3), 뿌리 발생수는 전정 평균 2.4개, 제거 2.2개로 비슷했고, 절단에서는 1.2개가 재발생되었다. 한편 뿌리의 평균 길이에서는 전정 73 mm, 제거 69 mm, 절단 27 mm의 순으로 각각 나타나, 역시 전정과 제거조건 사이에 유의성 있는

차이가 나타나지 않았고 다만 뿌리발생부 절단에서만 지연된 결과를 보였다 (Figure 3). 전정 및 제거조건에서 재발생된 뿌리의 수와 길이가 거의 같아진 것은 경엽부로부터 생산된 내생옥신의 영향으로 뿌리가 왕성하게 재발생되고 신장된 결과로 볼 수 있다. 한편 각 조건에서 발생된 유식물의 뿌리 중에는 측근이 형성된 것이 있었으며 (Figure 2C), 측근 형성률은 전정과 제거 조건에서는 각기 약 40%로 서로 비슷했고, 절단 조건에서는 8% 정도로 측근 발생이 저조한 상태에 있었다 (Figure 3).

또한 경엽부의 길이 신장에서는 전정조건 42.1 mm, 제거 38.5 mm로 서로 비슷했고 절단 조건에서는 34.5 mm로 생장이 부진했다. 생체중에서는 전정조건 98 mg, 제거 82.4 mg, 절단 75 mg의 순으로 나타나, 전정조건에서 가장 왕성한 생장 상태를 보였다. 한편 경엽부 길이가 1.5 cm 이내로 짧은 유식물은 전정, 제거 및 절단 모든 조건에서 순화과정 중에 생존하지 못하거나 생장이 매우 부진했으며, 반면에 경엽부가 약 2 cm 이상 길게 발생된 유식물은 생존율이 100%에 이르고 생장도 양호한 결과를 나타냈다 (Figure 3).

카사바의 기내 뿌리를 전정 또는 제거하여 토양에 이식했을 때, 각 조건 모두 높은 생존율 (>87%)을 보이고, 경엽부의 신장 정도와 뿌리의 수 및 길이 또한 서로 비슷하며, 생체중에서 전정 조건이 가장 좋은 결과는, 카사바의 경우 기내 뿌

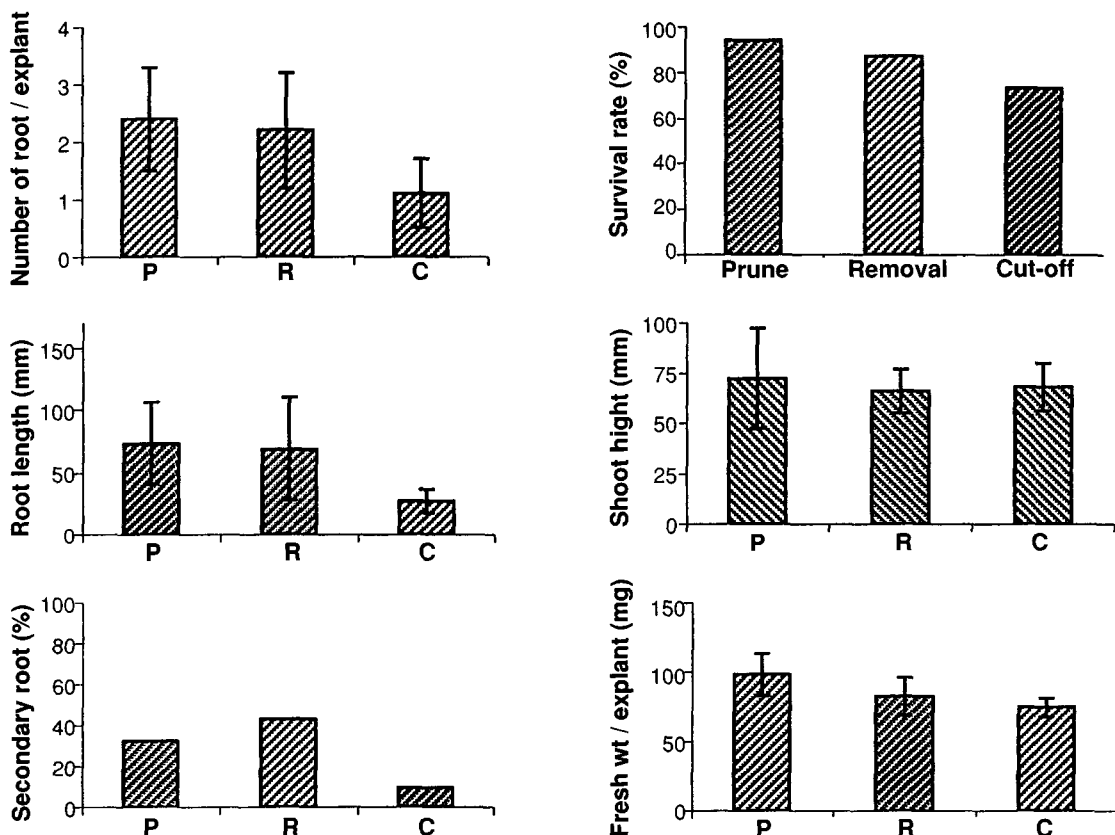


Figure 3. Shoot and root growth parameters in different excising of *in vitro* formed roots before transplant to soil. P : pruned roots remaining 1 cm (control), R : removal roots remaining 1~2 mm, C : cut-off of rooting zone.

리의 손상을 최소화하여 이식시키는 것이 순화에 더 유리한 증거라고 볼 수 있다. 그러나 전정 또는 절단 조건에서 유의성 있는 큰 차이가 나타나지 않는 것은 기내뿌리의 손상이 순화와 생장에 큰 지장이 없음을 나타내는 것이다. 카사바와 비슷한 예로서, 왕마삭나무 (Apter et al. 1993) 및 포도 (Thomas and Ravindra 1997)의 기내발생 뿌리 역시 기외 이식 후 생존율이 높는데, 특히 포도의 경우 전정 및 제거조건 모두 97% 이상의 생존율을 나타내고, 경엽부 신장에는 전정 조건이 약간 유리하나 재발생된 뿌리 수는 전정이나 대조구보다 제거조건에서 더 많이 발생되었다.

일반적으로 기내 뿌리가 손상되지 않은 상태로 이식되어야 할 이유는 수분 및 영양 흡수의 장애와 상처를 통한 세균 오염을 방지하고, 건조와 온도 변화 및 강한 광선 등의 외부 환경에 잘 순화시키기 위한 것이며, 동시에 사이토키닌 공급원인 근단부의 상실에 의해 잎이 탈락되고 뿌리 기능이 정지될 수 있기 때문이다 (George 1996; Soh et al. 1999). 사과와 배 (Kunneman and Albers 1992) 및 오리나무류 (Garton and Moses 1986)는 목본식물이지만 미세삼목으로 기내발생된 뿌리를 손상시키지 않고 기외이식하는 것이 순화기간을 단축시키고 더 건강한 유식물을 얻었다는 보고가 있다. 그러나 기내 발생 뿌리가 순화에 유리하다 하더라도 이식에 불편할 만큼 길거나 물리적으로 쉽게 손상되도록 연약할 경우 그러한 기내뿌리를 보호하여 이식한다는 것은 특히 산업적 증식에서 어려운 문제가 된다.

결론적으로 부정근 재생력이 강한 유전적 성질을 가진 카사바의 유묘 생산을 위해서는 부정근보다 경정부 발생을 촉진시키는 조건에서 현탁배양하는 것이 유리하며, 토양 이식시 기내 발생 뿌리를 적절히 자르고 심는 것은 순화에 지장이 거의 없는 경제적 방법인 것으로 판단되었다. 또한 이식시에 경엽부 길이가 2 cm 이상 신장된 유식물을 골라 이식한다면 생존율이 100% 가까우며 성장도 빠른 것이 확인되었다. 현탁 배양에 의한 마디절편 증식법은 대규모 배양이 가능하고, 기내에서의 배양기간을 단축시켜 주며, 배양공간 축소, 배양액 및 한천의 절약 등 경제적 이익이 크다. 다만 현탁배양된 유식물은 토양 이식 후 초기생장이 다소 늦은 경향이 있으나 이는 이식 초기에 나타나는 한시적 현상이므로 경제성에서는 별로 문제가 되지 않을 것이다.

초본식물과는 달리 목본식물을 액체배양하면 생장에 불리한 과수화현상이 잘 나타나기 때문에 목본식물을 액체배양한 연구는 현재까지 매우 드물다. 목본식물의 액체배양 예인 진달래류 (Douglas 1984)와 *Pinus caribaea* (Skidmore et al. 1988) 및 미니장미의 경정부 배양에서는 (Chu et al. 1993) 과수화를 대비하여 현탁배양 방식을 쓰지 않고 배양체를 배양액상에 띄우거나, 밀바닥에 작은 구멍을 낸 페트리접시를 액체배지상에 얹어두고 그 구멍에 배양체를 끼우거나, 또는 한천배지 표면에 소량의 액체배양액을 첨가한 상태 (two-phase medium)에서 배양하는 방법으로 이루어졌으므로, 이러한 증

식법은 실용면에서 대단히 비효율적이다. 그러나 본 실험에서 확인된 단기간의 현탁배양에 의한 유식물 생산은 경제적인 대량증식법으로 활용될 수 있다고 판단된다.

적 요

카사바 (*Manihot esculenta* Crantz cv. MColl 22)의 마디 절편을 제아틴 0.01%가 첨가된 MS 기본배지에서 2주간 현탁배양하여 경엽부 길이가 1.5~2.5 cm로 성장된 유식물의 부정근을 (1) 1~1.5 cm 길이만 남기고 짧게 전정, (2) 1~2 mm 이내로 제거, (3) 뿌리 발생부 전체를 절단한 후 마사토를 담은 유리병에 이식하여 비무균조건에서 순화생장시켰다. 그 결과 이식 7~10일경부터 각 조건에서 새 뿌리가 발생되기 시작하여 6주 후에는 조건에 따라 73~93%의 생존율을 나타냈다. 기내 발생 뿌리 가운데 손상 없이 토양에 이식된 것은 그대로 생존을 계속하여 유식물 생장에 도움을 주었으며, 제거된 부정근은 이식 후 신장이 중단되고 새로 뿌리가 발생되었다. 그러나 간혹 전정되고 남은 부분에 측근이 발생된 것이 관찰되었다. 각 조건에서 새로 발생한 기외 뿌리의 수와 길이 및 경엽부 길이와 마디 수에서는 서로 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으나, 생체중에서는 전정>제거>절단의 순으로 약간의 차이를 보였다. 미세증식된 카사바의 기내 발생 부정근을 적절히 전정 또는 제거한 후 이식하여 순화시키는 것은, 작업을 간편하게 할 뿐만 아니라 유식물의 생존율이 높고 생장에도 지장이 거의 없으므로 경제적인 미세증식 방법으로 유용하게 이용될 수 있다.

인용문헌

- Apter RC, Davies FT Jr, McWilliams EL (1993) In vitro and ex vitro adventitious root formation in Asian Jasmine (*Trachelospermum asiaticum*) II. Physiological comparisons. *J Am Soc Hort Sci* 118(6):906-909
- Chu CY, Knight SL, Smith MAL (1993) Effect of liquid culture on the growth and development of miniature rose (*Rosa chinensis* Jacq. 'Minima'). *Plant Cell Tiss Org Cult* 32:329-334
- Debergh, Maene (1981) A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Hort* 14:335-345
- Douglas GC (1984) Propagation of eight cultivars of *Rhododendron* in vitro using agar-solidified and liquid media and direct rooting of shoots in vivo. *Scientia Hort* 24:337-347
- Dunstan DJ (1981) Transplantation and post-transplantation of micropropagated tree-fruit rootstocks. *Proc Intl Plant Prop Soc* 31:39-44
- Garton S, Moses MS (1986) Production of native plants in tissue culture. *Comb Proc Int Plant Prop Soc* 35:306-315

- George EF** (1996) Plant propagation by tissue culture. Exegetics Ltd, Edington, UK, pp 670-732
- Gribando I, Morte MA, Schubert A** (1995) Use of gentian violet to differentiate *in vitro* and *ex vitro*-formed roots during acclimatization of grapevine. *Plant Cell Tiss Org Cult* **41**:187-188
- Konan NK, Schopke C, Carcamo R, Beachy RN** (1997) An efficient mass propagation system for cassava (*Manihot esculenta* Crantz) based on nodal explants and axillary bud-driven meristems. *Plant Cell Rep* **16**:444-449
- Kunneman BPAM, Albers MRJ** (1992) Effects of tissue culture and acclimatization conditions on the survival and growth of rooted and unrooted *Mallus* and *Pyrus* microcuttings. *Acta Hort* **314**:147-154
- Maene LM, Debergh PC** (1983) Rooting of tissue cultured plants under *in vivo* condition. *Acta Hort* **131**:201-208
- McClelland MT, Smith MAL, Carothers ZB** (1990) The effects of *in vitro* and *ex vitro* root initiation on subsequent microcutting root quality in three woody plants. *Plant Cell Tiss Org Cult* **23**:115-123
- McCown** (1988) Adventitious rooting of tissue cultured plants. In : Davis TD, Hassing BE, Sankla N (eds) *Adventitious Root Formation in Cuttings*, Dioscorides Press, Portland, USA, pp. 289-302
- Mullins MC** (1985) Regulation of adventitious root formation in microcuttings. *Acta Hort* **166**:53-61
- Murashige T, Skoog F** (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* **15**:473-497
- Nemeth G** (1986) Induction or rooting. In : Bajaj YPS (ed), *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol I, Trees*, Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 49-64
- Pierik RLM** (1987) *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff, Dordrecht, The Netherlands
- Pounti-Kaerlas J, Kloti A, Potrykus I** (1999) Biotechnological contributions to food security with cassava and rice. *Plant Biotech* **16**(1):39-48
- Raemaker KJJ, Jacobsen E, Visser RGF** (1999) Direct cyclic somatic embryogenesis of cassava for mass production purposes. In : Hall RD (ed) *Methods in Molecular Biology, Vol III : Plant Cell Culture Protocols*, Humana Press Inc. Totawa, NJ, pp. 61-70
- Roca WM** (1984) Root and tuber crops. In : Sharp WR, Evans DA, Ammirato PV, Yamada Y (eds), *Handbook of Plant Cell Culture. vol. II*, MacMillian Pub Comp, New York,
- Rogers RB, Smith MAL** (1992) Consequences of *in vitro* and *ex vitro* root initiation for miniature rose production. *J Hort Sci.* **67**:535-540
- Sharma M, Sood A, Nagar PK, Prakash O, Ahuja PS** (1999) Direct rooting and hardening of tea microshoots in the field. *Plant Cell Tiss Org Cult* **58**:111-118
- Skidmore DI, Simons AJ, Bedi S** (1988) *In vitro* culture of shoots of *Pinus caribaea* on a liquid medium. *Plant Cell Tiss Org Cult* **14**:129-136
- Soh WY, Bhojwani SS, Lee SC** (1999) Developmental and structural aspects of root organogenesis. In : Soh W-Y and Bhojwani SS (eds) *Morphogenesis in Plant Tissue Cultures*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 133-169
- Thomas P, Ravindra MB** (1997) Effect of pruning or removal of *in vitro* formed roots on *ex vitro* root regeneration and growth in micropropagated grapes. *Plant Cell Tiss Org Cult* **51**:177-180
- Yoon S, Cho DY, Soh WY** (2000) Micropropagation of cassava by suspension culture derived from its nodal explants. *Kor J Plant Tiss Cult* **27**(3):185-189
- Ziv M** (1986) *In vitro* hardning and acclimatization of tissue cultured plants. In : Withers LA and Alderson PG (eds), *Plant Tissue Culture and Its Agricultural Application*, Butterworths, London, pp. 187-196

(접수일자 2001년 2월 19일)