

*Alocasia amazonica*의 생물반응기 배양에서 배지 공급 방식이 식물체의 생장과 잎조직 및 기공의 특성에 미치는 영향

조은아¹, 한은주¹, 백기엽^{1*}

¹충북대학교 첨단원예기술개발연구센터

Plantlet Growth, and Leaf and Stomatal Characteristics of *Alocasia amazonica* Affected by Medium Supply Methods in Bioreactor Culture

Eun-A Jo¹, Eun-Joo Hahn¹ and Kee-Yoeup Paek^{1*}

¹Research Center for the Development of Advanced Horticultural Technology, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

ABSTRACT Comparative studies on medium supply in bioreactors (raft, immersion and ebb and flood) have revealed that multiplication and growth of *Alocasia Amazonica* were greatest in the raft system, while lowest in ebb and flood system. In the raft system, the basal part of the shoots was continuously in contact with medium, which enabled a constant uptake of nutrients as well as aeration to the explants. The number and the size of leaf stomata were higher in the raft system compared with immersion and ebb&flood system. In the immersion system, plantlets were deformed and epidermal cells in leaves were irregular with a large intercellular space. The results suggested that the medium supply should be controlled properly to maintain normal and healthy plantlets during liquid cultures in bioreactors which affects morphology and physiology of the plantlets.

Key words: *Alocasia*, bioreactor, ebb&flood, immersion, liquid culture, raft

서 론

Alocasia Schott는 천남성과(*Araceae*)에 속하는 동남아시아 원산의 구근 식물로 아시아와 열대 아메리카에 약 70종이 분포하고 있다. *Alocasia*는 반음지성 관엽식물로 테라리움 및 실내의 거실, 선반, 테이블 등에 소형 화분식물로 대량 소비되고 있으며, 크기, 모양, 색 등이 다양하고 특히 특이한 엽맥 구조를 가지고 있어 기호도가 높은 관엽식물 중 하나이다 (Thao 등, 2003).

*Alocasia*는 지하경에 부착하는 소구경, 삼목 및 분주로 번식하는데, 증식률이 너무 낮아 일시에 대량의 식물체를 얻기 어렵고, virus 감염에 의한 퇴화가 큰 문제점으로 지적되

고 있어, 대부분 조직배양에 의해 대량 증식되고 있다. 그러나 기내 배양환경의 특성 때문에 식물의 광합성능 저하와 생리 장애에 따른 낮은 생산 효율이 여전히 문제점으로 지적되고 있다(Pospíšilová, 등, 1997; Kadleček 등, 2001).

이러한 문제점을 해결하기 위해 최근 생물반응기를 이용한 배양방법이 주목받고 있는데, 생물반응기는 공기공급, 배양밀도, 배지조성, 배양 방식 등 배양환경의 최적화와 자동화가 가능해 식물 세포나 기관의 배양 효율을 크게 높일 수 있고 배양 용기의 대규모화를 통해 생산비와 노동비를 절감하면서 일시에 대량생산이 가능한 새로운 배양시스템으로 주목받고 있다(Paek 등, 2001). 식물생산에 생물반응기를 적용한 예는 1981년 베고니아의 대량 증식에서 처음으로 보고되었고(Takayama 등, 1981), 최근 다양한 목적으로 원예식물과 약용식물의 세포와 기관배양에 적용되고 있는데, 그

*Corresponding author Tel 043-266-3245 Fax 043-272-5369
E-mail: paekky@chungbuk.ac.kr

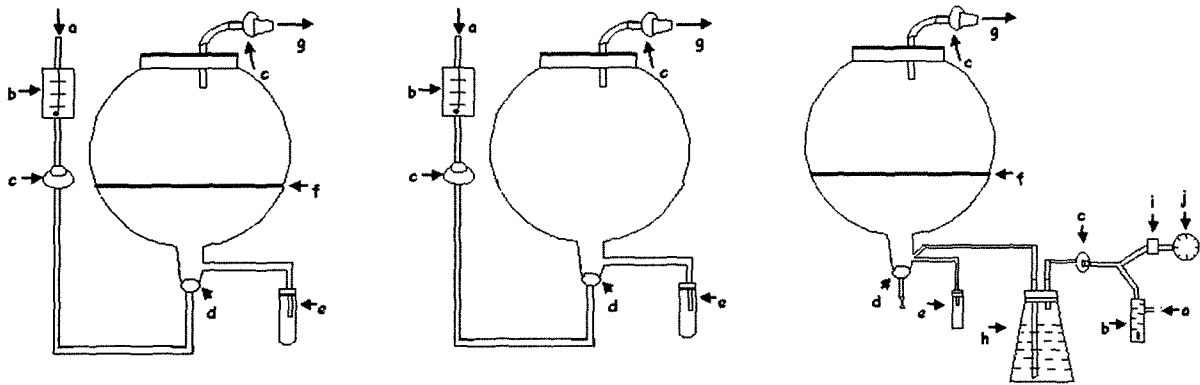


Fig. 1. Schematic diagram of different bioreactor system. A. Continuous immersion with net (raft culture system). B. Continuous immersion without net (immersion culture system). C. Temporary immersion using Ebb & Flood (ebb & flood culture system). (a) air inlet, (b) air flow meter, (c) membrane filter, (d) glass sparger, (e) sampling port, (f) supporter (net), (g) air outlet, (h) medium reservoir, (i) solenoid valve, (j) timer.

예로, 백합 종구(Lian 등, 2002), 국화 shoot(Hahn and Paek, 2005), *Phalaenopsis*의 체세포 배(Park 등, 2000), 인삼 세포 및 부정근(Yu 등, 2000), 가시오가피 체세포배(Shohaek 등, 2005) 배양 등을 들 수 있다.

이 같은 장점에도 불구하고 생물반응기 배양은 액체배양이라는 특수한 환경조건을 가지기 때문에 나머지 환경조건이 적절히 조절되지 않으면 비정상적인 식물체의 발생으로 생산 효율이 크게 저하될 수 있다(Liu 등, 2003). 특히 생물반응기 내 배지 공급 방법은 배지를 계속적 또는, 일정한 시간 간격에 따라 공급하는지에 따라 배양체의 양분 흡수와 vitrification 유 무에 가장 큰 영향을 미치는 요인이기 때문에 생물반응기 배양에서 최우선적으로 확립되어야 하는 조건이다. 또한, 배지 공급은 대상식물과 배양체의 종류, 배양 목적에 따라 최적화 조건이 달라지기 때문에 각각의 식물에 따라 달리 조절되어야 한다(Paek 등, 2001).

따라서 본 연구에서는 *Alocasia* 중 현재 국내에서 가장 많이 재배되고 있는 *Alocasia Amazonica* (*A. lowii* × *A. sandersoniana*)의 생물반응기 배양 시스템 확립을 위한 첫 번째 실험으로, 생물반응기 내 배지 공급 방식이 묘의 성장과 잎의 조직, 기공 특성에 미치는 영향에 대한 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료

일반 화원에서 구입한 구경 4 cm 정도의 *A. Amazonica*를 구입하여 흐르는 수돗물에 잘 씻고 적당한 크기로 잘라 Physan (1000배 액)과 Benlate (1000배 액)를 1:1 혼합한 살균제 용액에 2~3시간 진탕 살균 후 멸균수로 수세했다. Clean bench 내

에서 70 % ethanol에 수 초간 침지시키고, 2 % sodium hypochloride 용액에 Tween 20을 첨가한 용액에 10~15분간 살균 후, 멸균수로 3-4회 수세한 다음 외과용 메스를 이용하여 구근조직을 0.2 mm 정도 부착시킨 눈을 도려내어 배지에 치상하였다.

배지는 N_6 -benzyladenine(BA) 2.0 mg·L⁻¹와 sucrose 3 %가 첨가된 MS (Murashige 와 Skoog, 1962)배지에 gelite (Duchefa, Haarlem, The Netherlands) 2.1 g·L⁻¹을 첨가하여 고형화 하였다. 배지는 공기용적 400 ml인 유리 배양 용기에 70 ml씩 분주한 후, 121 °C에서 20분간 멸균했다. 배양 30일 후 유도된 부정아 덩어리를 3 %의 당과 7.5g·L⁻¹ agar (Duchefa, Haarlem, The Netherlands)가 더해진 hormone-free MS 배지에 30일 간격으로 계대 배양해서 얻어진 싹을 1~1.5cm 크기로 절단하여 실험 재료로 이용하였다. 배양온도는 25±2°C, 광도는 30 μmol·m⁻²·s⁻¹, 광주기는 16/8시간 (명/암)으로 조절하였다.

생물반응기 배양

생물반응기를 이용한 액체배양은 3L balloon type 생물반응기에 Sucrose 3%가 포함된 MS 배지 700 ml를 넣고 30 개의 싹을 접종하여 4주간 배양하였다. 생물반응기 내 배지 공급은 1) 배지를 1일 6회 1시간 간격으로 공급하고 지지물로서 net를 걸어 그 위에 배양체를 배양하는 ebb & flood 방식, 2) 배지를 24시간 지속적으로 공급하고 지지물로서 net를 걸어 그 위에 배양체를 배양하는 방식인 Raft 방식, 3) 배지를 24시간 지속적으로 공급하지만 net를 걸지 않고 배양체를 배지 내에 침지 배양하는 immersion 방식 등의 3가지로 달리 하였다(Fig. 1). 생물반응기 내 공기주입량은 0.1 vvm으로 하였고 온도 25±2 °C, 광도 30 μmol·m⁻²·s⁻¹, 광주기 16 / 8시간(명/암)으로 조절한 배양실에서 처리당 3 반복으로 4 주간 배양하

Table 1. Plantlet growth of *A. amazonica* as affected by medium supply after 4 weeks of bioreactor culture.

Bioreactor system	No. shoots	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Shoot length	Bulb size (cm)	No. leaves	Rooting (%)
Raft	5.87a ^Z	4.67 a	0.41 a	6.23 a	1.26 a	2.40 a	92.86
Immersion	5.67 a	4.35 a	0.29 b	5.99 a	1.11 b	2.33 a	86.67
Ebb&Flood	4.67 b	1.53 b	0.13 c	3.67 b	0.81 c	0.40 b	23.33

^Z Mean separation within columns by Duncan's multiple range test (P=0.05).

였다. 4 주 배양 후 식물체 당 증식 수, 식물체 길이, 생체중, 건물중, 구 크기, 엽수, 발근률, 엽 생, 엽록소 함량, 카로테노이드, 기내 순 광합성량을 조사하고 기공의 형태와 잎 조직을 관찰하였다.

잎 조직 관찰

식물체의 잎 조직을 GMA section하여 관찰하였다. 잎을 0.3×0.3cm 크기로 잘라 0.05M의 phosphate buffer (pH 6.8)로 2.5%의 glutaraldehyde와 1.6%의 paraformaldehyde가 포함된 고정액에 24~48시간동안 4℃에서 고정하였다. 그 다음 에탄올을 30, 50, 70, 80, 90, 95, 98, 100%로 12시간 단위로 교환하여 탈수 시간 후 vacuum을 이용하여 식물체내의 공기를 제거하였고, 에탄올과 Technovit 7100 (Heraeus Kluzer, Germany)을 2:1, 1:1, 1:2의 비율로 각각 24시간씩 3차례 잎 조직 내에 침투용액을 침투 포매시킨 후, 포매시킨 블록을 microtome (RM 2165, Leica, Nussloch, Germany)으로 3 μm두께로 잎 단면을 절단 하였다. slide에 3차 증류수를 스포이드로 적당량 떨어뜨린 후 그 위에 절단된 조직을 올려놓고 50℃에서 건조 고정시켰다. 염색은 0.1%의 periodic acid와 shiff (PAS)용액에 각각 30분간 처리한 후 흐르는 물에 5분 세척하고, toluidine-blue O(TBO)용액에 5분간 염색 후 흐르는 물로 5분 세척하여 광학현미경(DM RE, Leica, Germany)하에서 200배로 잎의 단면 조직을 관찰하였다.

공초점레이저주사현미경(confocal laser scanning microscopy)을 이용한 기공관찰

새로 전개된 잎의 오른쪽 상위 부분을 3 mm × 3 mm의 크기로 절단한 후에 FAA(formaldehyde : glacial acetic acid : ethylalcohol(50%) = 5 : 5 : 90)용액으로 24시간 동안 고정하였다. 고정된 잎 절편을 증류수로 30분간 세척한 다음 0.01% acridine orange로 5분간 염색하였다. 염색 후 잎 절편을 증류수로 10분 세척 한 후 excitation 488/10 nm과 emission 522/32 nm 형광모드로 Nikon Diapot 300과 Kr/Ar laser가 복합된 inverted 공초점레이저주사현미경(MRC 1024ES, Bio-Rad, Hercules, California, USA)을 이용하여 관찰하였다. 렌즈는 dry

objective lens 20×(0.6-1.0variable NA)였으며, Scanning은 Kalman filter를 이용하여 slow scan speed로 하였다.

엽록소 및 카로테노이드 함량 분석

엽록소 함량은 잎 중간 부위 생체조직을 0.05 g씩 채취하여 80% acetone 6 mL에 침지시켜 냉암소에서 48시간 추출한 후 분광광도계(Uvikon-930, Kontron Instruments, Zurich, Switzerland)를 이용하여 엽록소 a와 b를 각각 663.2 nm, 646.8 nm에서 흡광도를 측정하였고, Carotenoids의 함량은 470 nm에서 측정하여 Lichtenthaler(1987)법으로 계산하였다.

결과 및 고찰

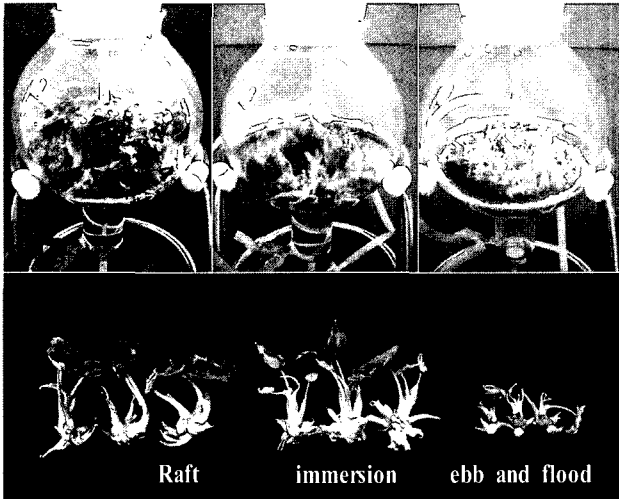
생물반응기 내 배지 공급에 따른 묘의 생장은 Table 1과 같다. 다신초 증식과, 생체중, 신초길이, 구크기, 엽수, 발근률 등은 식물체가 배지면에 접하도록한 raft 방식과 계속 배지에 침지된 상태로 배양하는 immersion 방식이 배지를 간헐적으로 공급해준 ebb & flood 방식에 비해 양호하였다. 그러나 건물중은 raft 방식(0.41g/plantlet)이 immersion 과 ebb & flood 방식(0.29, 0.13 g/plantlet)에 비해 각각 1.5배, 3배 정도 증가하여 묘 성장에 가장 효과적임을 알 수 있었다. Immersion 방식에서는 묘가 배양 기간 내내 액체배지에 침지되어 있어 조직의 과수화로 인하여 shoot 가 정상 식물에 비해 세포간극 내에 과다한 양의 수분을 보유하고 있어(Park 등, 2004) 건물중 함량이 상대적으로 낮았던 것으로 생각된다. 잎의 성장도 raft 방식에서 가장 좋아, Ebb & flood방식에 비해 4배 이상의 엽면적 증가를 보였고 엽록소 함량도 가장 높았다(Table 2)(Fig. 2). 식물체 생장이 가장 저조했던 Ebb & flood방식에서는 잎의 상대수분함량이 저하되면서 엽록체 내 세포막이 손상을 입고 세포가 죽게 되어 엽록소 함량이 저하된 것으로 생각된다.

Raft 방식으로 배양한 식물체는 정상적인 잎 모양을 가진 반면 immersion 방식에서는 잎의 폭이 얇고 길며 휘어졌고 줄기의 형태도 비정상적으로 형성되었다(Fig. 2). 식물체를 계속 액체 배지에 침지한 상태로 배양하면 식물체는 산소결핍과 통기 스트레스 하에 놓이게 되는데, 이러한 환경에 의해

Table 2. Growth, chlorophyll content and carotenoid content in leaves of *A. amazonica* as affected by culture method after 4 weeks of bioreactor culture.

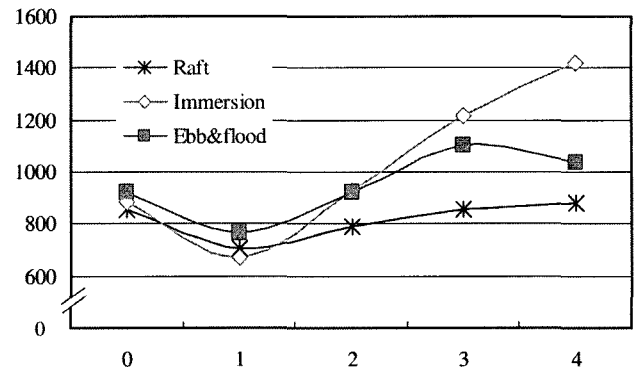
Bioreactor system	Leaf			Chlorophyll contents (mg·g ⁻¹ FW)			Carotenoids (mg·g ⁻¹ FW)
	Area (cm ²)	Width (cm)	Length (cm)	a	b	a+b	
Raft	6.77 a ^Z	2.39 a	4.31 a	1.53 a	0.57 a	2.10 a	0.41 a
Immersion	4.54 a	1.85 b	3.49 a	1.30 b	0.49 b	1.79 b	0.36 b
Ebb&Flood	1.56 b	1.31 c	1.62 b	0.63 c	0.24 c	0.88 c	0.17 c

^Z Mean separation within columns by Duncan's multiple range test (P=0.05).

**Fig. 2.** Proliferation and growth of *A. amazonica* in bioreactors as affected by medium supply after 4 weeks of culture.

과다한 양의 에틸렌이 형성되고, 식물체 내 효소 활성에 변화가 생겨 결과적으로 형태적 변화를 야기한다(Park 등, 2004; Ziv, 1991). 따라서 생물반응기를 이용한 액체배양에서도 지속적인 침지를 방지하기 위해 일반적으로 bridge를 사용하여 배양체를 배양하는 raft 방식 또는 일정한 주기로 배지를 공급하는 ebb & flood 방식을 사용한다. 그러나 본 실험에서 ebb & flood 방식의 경우 배지 공급 시간이 raft와 immersion 방식에 비해 1/4 밖에 안 되었기 때문에 배양체가 배양액으로부터 흡수할 수 있는 양분이 제한적이어서 생장이 감소된 것으로 생각된다. 따라서 ebb & flood 방식을 적용할 경우, 실험을 통해 각 배양체에 적합한 배지의 공급량과 공급주기를 결정해야 할 것으로 생각된다(Lian 등, 2003; Shim 등, 2004). Piao 등 (2002)도 생물반응기를 이용한 감자 shoot 배양 시 raft 방식에서 생장이 가장 좋았으며 net를 걸지 않은 immersion 배양에서는 배양기간 동안의 산소 결핍에 의해 shoot 생장이 억제되었다고 보고하였다.

배양 기간별 생물반응기 내 CO₂ 농도를 측정된 결과 배양 1주 후부터 배양방식에 따라 농도차이를 보였다. Raft 방식에서는 배양기간이 경과해도 CO₂ 농도가 증가하지 않았으나 immersion에서는 배양 기간이 경과됨에 따라 CO₂ 농도가 점차 증가되어 배양 4주후에는 raft에 비해 약 1.6배 높은 농도

**Fig. 3.** Changes in CO₂ concentration during the culture period in a bioreactor as affected by medium supply.

를 보였다(Fig. 3). 이는 raft 방식으로 배양된 식물체는 배양기간 동안 CO₂를 광합성에 이용한 반면, immersion 방식에서는 식물체가 배지 내에 침지되어 엽의 과수화에 따른 기공 이상과 생리 장애로 CO₂를 흡수하지 못한 것으로 해석되며 이와 유사한 결과가 국화 shoot의 생물반응기 실험에서도 보고되었다(Kim, 2001).

주사전자현미경으로 잎의 표면을 관찰 하였을 때 기공 역시 배양 방식에 따라 서로 다른 특징을 보였다(Fig. 4)(Table 3). Immersion 방식의 경우, 기공의 밀도는 낮았고 크기는 증가하였는데 생물반응기내 높은 CO₂ 함량과 조직의 과수화 때문으로 생각되었다. 반대로 ebb & flood 방식에서는 기공의 밀도가 높고, 크기가 작았는데, 묘의 성장 저하로 엽면적이 감소하였기 때문으로 생각되었다. Olmos 와 Hellin(1998)은 카네이션의 과수화 된 잎에서 기공밀도가 낮게 나타난 것은 정상 잎보다 2배 이상 커진 표피세포 때문이라고 보고하였다. Kang (2004) 등도 Peace 포플러의 과수화 된 잎의 기공은 정상 잎에 비해 크고 그 주변을 둘러싸고 있는 세포는 비대하였으며 기공은 그 주변세포의 구조적 변형으로 정상적 기능을 수행하지 못하여 항상 열려 있다고 보고하였다.

형태적 차이에 영향을 미치는 조직학적 변화를 관찰하기 위해 immersion 방식의 과수화된 식물과 raft 방식의 정상 식물체의 잎을 광학현미경 하에서 관찰하였다. Raft 방식에서 배양된 잎에서 표피층 세포들이 일정한 크기로 배열되어 있는 것과 달리 immersion 방식의 잎은 얇고 비정상적인 형태의 세포들로 불규칙하게 배열되어 있었다. 엽육 조직도 raft

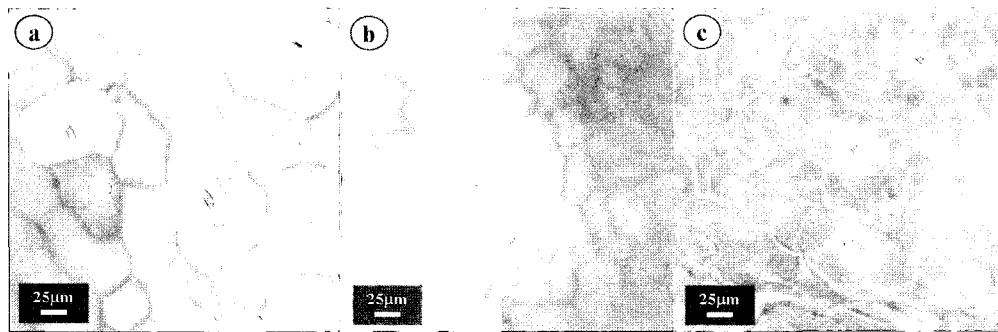
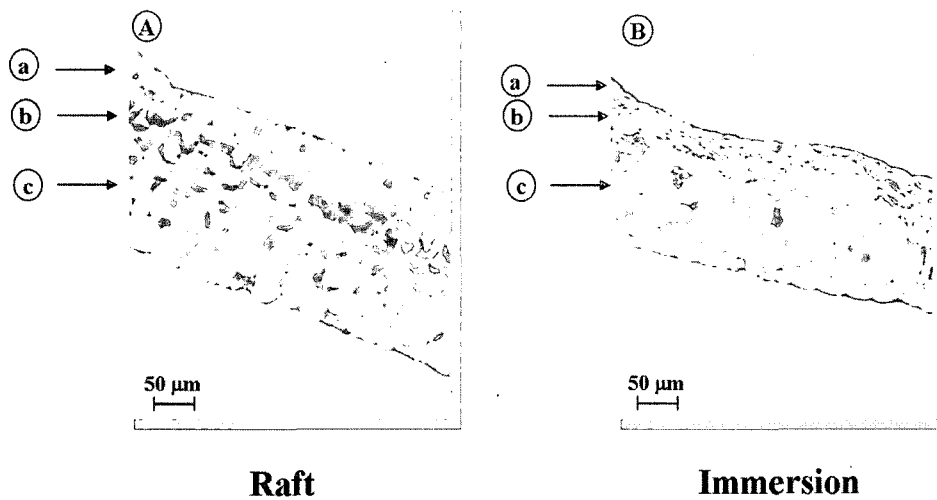


Fig. 4. Confocal Laser Scanning micrographs of *Alocasia* leaves cultured in bioreactors as affected by medium supply. a: raft, b: immersion, c: ebb & flood. ($\times 400$). Bar : $25\mu\text{m}$.



Raft

Immersion

Fig. 5. Plastic section of *Alocasia* leaves cultured in bioreactors with three different medium supply methods. (A) raft (B) immersion (a) Epidermal layer (b) Mesophyll palisade layer (c) Mesophyll spongy layer.

방식에서는 6 개의 층으로 구성되어 있으며 세포들은 간극 없이 치밀하게 배열되어 있었으나 immersion 방식에서는 4개의 층으로 줄어들었고 세포간극이 컸으며 세포크기도 컸다 (Fig. 5). Kang 등(2004)과 Olmos와 Hellin(1998)은 과수화된 잎에서의 엽육 세포들의 크기 및 세포 간극의 증가로 인해 전체적인 잎의 두께가 정상 잎에 비해 두꺼웠다고 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 immersion 방식에서 배양된 식물체의 잎이 더 얇았는데 이는 표피세포의 이상적 발달에 의해 정상적인 잎보다 얇았기 때문이라 생각된다. Chartzoulakis 등 (2002)은 식물이 스트레스를 받으면 잎 조직의 두께가 감소한다고 하였다. ebb & flood 방식에서 자란 잎 조직은 raft 방식에서 자란 잎 조직과 유사하였지만 세포들이 좀 더 치밀하게 배열되어 있었고 세포의 크기도 매우 작았는데(Data not shown), 이는 엽면적 감소로 인한 세포들의 성장 저하 때문이라 생각된다. 기내 배양 시 이러한 잎의 형태적, 물리적 성질의 변화는 순화에도 영향을 주어 기외 순화와 생장에 영향을 미치는 원인이 되기 때문에 기내 배양 기간 동안 식물체가 생리적, 형태적으로 정상적인 성장을 유지할 수 있는 환경 조성이 반드시 필요하다.

사 사

이 논문은 2006학년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비지원에 의하여 연구되었음.

인용문헌

Chartzoulakis K, Patakas A, Kofidis G, Bosbalidis A, Nastou A (2002) Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. *Scientia Hort* 95: 39-50
 Hahn EJ, Paek KY (2005) Multiplication of Chrysanthemum shoots in bioreactors as affected by culture method and inoculation density of single node stems. *Plant Cell Tiss Org Cult* 81: 301-306
 Kadleček P, Tichá I, Haisel D, Čapková V, Schäfer C (2001) Importance of in vitro pretreatment for ex vitro acclimatization and growth. *plant Sci* 161: 695-701
 Kang HJ, Moon HK, Park SY, Kim PG (2004) Anatomical characteristics of hyperhydric shoots occurring in in vitro culture of Peace Poplar. *Kor J Plant Biotech* 31:145-149
 Kim SJ (2001) Effects of environmental conditions on gro-

- with and quality of chrysanthemum plantlets in bioreactor culture. MS Diss, Chungbuk National Univ, Cheongju
- Lian ML, Chakrabarty D, Paek KY (2003) Growth of *Lilium* Oriental Hybrid 'Casablanca' bulblet using bioreactor culture. *Scientia Hort* 97: 41-48
- Lian ML, Piao XP, Paek KY (2002) Effect of air temperature and DIF on the bulblet formation and growth of *lilium* in vitro. *J Kor Soc Hort Sci* 43: 64-68
- Lichtenthaler HK (1987) Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. 148: 350-382
- Liu CZ, Guo C, Wang YC, Ouyang F (2003) Comparison of various bioreactors on growth and artemisinin biosynthesis of *Artemisia annua* L. shoot cultures. *Process Biochemistry* 39: 45-49
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15:473-497
- Olmos E, Hellín E (1998) Ultrastructural differences of hyperhydric and normal leaves from regenerated carnation plants. *Scientia Hort* 75: 91-101
- Paek KY, Hahn EJ, Son SH (2001) Application of bioreactors for large-scale micropropagation systems of plants. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant* 37: 149-157
- Park SY, Murthy HN, Paek KY (2000) Mass multiplication of protorm-like bodies using bioreactor system and subsequent plant regeneration in *Phalaenopsis*. *Plant Cell Tiss Org Cult* 63: 67-72
- Park SW, Jeon JH, Kim HS, Park YM, Aswath C, Joung H (2004) Effect of sealed and vented gaseous micro environments on the hyperhydricity of potato shoots in vitro. *Scientia Hort* 99: 199-205
- Piao KC, Chakrabarty D, Hahn EJ, Paek KY (2002) A simple method for mass production of potato microtubers using a bioreactor system. *Current science* 84: 1129-1132
- Pospišilová J, Čatský J, Šesták Z (1997) Photosynthesis in plants cultivated in vitro, In: M. Pessarakli (Ed.), *Handbook of Photosynthesis*, Marcel Dekker, New York. pp. 525-540
- Shim S W, Hahn EJ, Paek KY (2004) Production of grapevine rootstock '5BB' plants as influenced by bioreactor culture method, and pH and EC of nutrient solution. *J Kor Soc Hort Sci* 45: 49-53
- Shohael AM, Chakrabarty D, Yu KW, Hahn EJ, Paek KY (2005) Application of bioreactor system for large-scale production of *Eleutherococcus sessiliflorus* somatic embryos in an airlift bioreactor and production of eleutherosides. *J Biotech* 120: 228-236
- Takayama S, Misawa M (1981) Mass propagation of *Begonia* × *hiemalis* plantlets by shake culture. *Plant Cell Physiol* 22: 261-467
- Thao NTP, Ureshino K, Miyajima I, Ozaki Y, Okubo H (2003) Introduction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicine and oryzalin treatments. *Plant Cell Tiss Org Cult* 72: 19-25
- Yu, KW, Hahn, EJ, Paek KY (2000) Production of adventitious ginseng roots using bioreactors. *J Kor Plant Tiss Cult* 27: 309-315
- Ziv M (1991) Vitrification: Morphological and physiological disorders of in vitro plants. In: Debergh P. C., Zimmeman R.H. (eds) *Micropropagation: technology and application*. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands. pp 45-69

(접수일자 2006년 7월 13일, 수리일자 2006년 8월 1일)