

고구마의腋芽培養에서生長調節物質이 器官分化 및生長에 미치는影響

張炳皓*

Effect of Growth Regulators on the Organ Differentiation and the Growth from the Axillary Bud of Sweetpotatoes in Vitro Culture

Byong Ho Chang*

ABSTRACT

This study was conducted to determine the optimum concentrations of growth regulators and their responses on the clonal propagation in axillary bud culture. Cultivars, Hongmi and Shinmi, responded differently to the levels of growth regulators, proliferation rate and shoot growth. The shoot and root of Hongmi cultivar in axillary bud culture were conspicuously induced by combination of NAA(0.1mg/l) and Kinetin(1mg/l) while Shinmi cultivar were affected by the single concentration of Kinetin(1mg/l) and BA(0.1mg/l), and also by the combination of NAA(0.1mg/l) and Kinetin(1mg/l). Better shoot growth and root initiation were obtained in the combination of NAA(0.1mg/l) and Kinetin(1mg/l) regardless of cultivars used when 5mm axillary buds were cultured. The shoots regenerated at the high levels of BA(1-5mg/l) were abnormally thicker and narrower leaves than normal plants and short in shoot height. Frequencies of abnormal plants were higher than that of the low level (0.1mg/l) of BA.

緒言

最近細胞 및 組織의 器內培養에 따른 植物의 生理 및 生化學的 特性分析 및 作物의 育種, 大量增殖에 利用하려는 研究가 활발히 進行되고 있으며 특히 meristen 이나 shoot tip 培養으로 植物體를 分化시키는 것은 광범위하게 利用되고 있다.^{11, 15, 16, 19)}

고구마는 예로부터 塊根에서 나오는 싹을 잘라서 插植하여 繁殖시키고 있으나 現在 우리나라에서는 고구마의 virus나 病蟲害에 대한 研究가 거의 이루어지지 않고 있으며 이와 關連된 器內培養의 利用에 관한 研究는 報告가 안되고 있다. 그러나 이스라엘¹³⁾

이나 美國^{17, 18)} 및 기타지역^{3, 8)}에서는 많은 研究者들이 고구마의 virus에 대한 많은 研究가 이루어지고 있으며 고구마를 tip cutting^{5, 6, 8)}, 器內培養^{1, 8, 13, 17, 18)} 같은 手段을 통하여 無病個體를 얻을 수 있다고 報告하고 있다. 한편 Litz 등¹⁴⁾은 1978年 고구마의 腋芽를 3mm 크기로 切斷하여 BA 1mg/l이 첨가된 MS培地에서 培養한 結果 變異에 의한 育種手段의 可能性을 提示하였다. 器內培養을 增殖이나 育種에 利用하고자 할 때에는 器內培養時 器官分化 및 生長에 影響을 미치는 要因들이 究明되어야 한다. 따라서 본 實驗은 우리나라에서 獎勵品種인 紅美와 新美를 腋芽培養할 경우 器官分化和 生長에 影響을 미치는 auxin系 및 cytokinin系의 生長調節物質인

* 江原大學校 農科大學 (Department of Agronomy, College of Agriculture Kang Weon National University, Chuncheon 200, Korea) <1984. 9. 20 接受>

NAA, kinetin, BA의 효과를 究明하고 大量增殖에 適合한 培地の 造成을 알고져 실시하였다.

材料 및 方法

變動品種인 紅美와 新美를 20cm pot에 栽培하여 자료를 양성하였다.

材料의 消毒은 3~4 個의 腋芽를 가진 줄기에서 잎을 除去하고 70% ethanol에 1분동안 담근 후에 멸균수로 2회 세척하고 10% sodium hypochlorite 용액(5% Cl)에 넣어 10분간 회전 殺菌시킨 다음 殺菌수로 3회 세척하였다. 所得된 材料의 腋芽 分裂組織을 2mm, 5mm 크기가 되게 切斷하여 培地는 MS 培地の 무기영양물질에 thiamin HCl 0.1mg/ℓ, glycine 20mg/ℓ, 1-inositol 100mg/ℓ, sucrose 30g/ℓ을 넣고 agar 8g/ℓ을 첨가한 培地를 基本培地로 하고 여기에 NAA와 kinetin, BA를

단독 또는 조합처리하였다. 培地의 pH는 5.8로 調節하였고 120℃에서 20분간 고압멸균을 하였다. 培養室은 28℃에서 2,000 lux 광도로 24시간의 日長을 주었으며 培養 4주 후에 shoot의 길이, 마디수, 葉數, 뿌리수 및 뿌리길이를 調査하였다.

結果 및 考察

腋芽培養時 NAA, BA, kinetin이 腋芽로부터 shoot의 分化 및 生長에 미치는 效果는 表 1과 表 2에 나타내었다. 5mm되는 explant의 培養(表 1)에서 shoot의 길이는 紅美와 新美에서 차이가 없었으며 0.1mg/ℓ NAA와 1mg/ℓ kinetin을 組合處理時 紅美가 4.6cm, 新美가 4.0cm이었고, 1mg/ℓ kinetin을 單獨處理時 紅美가 3.6cm, 新美가 4.0cm로 이 두 處理가 가장 좋은 結果를 나타냈다.

NAA의 1mg/ℓ과 kinetin 1mg/ℓ의 組合에서

Table 1. The effects of growth regulators on the growth of shoot derived from axillary bud of sweetpotato cultivars after 4 weeks.

Hormones(mg/ℓ)	Cultivar	Shoot height (cm)	No. of node	No. of leaf
NAA 0.1 + Kinetin 1	H	4.6	7.2	9.3(3.7)*
	S	4.0	5.2	7.1(3.0)
NAA 1 + Kinetin 1	H	0.7	2.1	2.6(0.6)
	S	1.2	2.7	3.0(1.2)
Kinetin 1	H	3.6	6.0	7.0(2.2)
	S	4.0	6.2	7.4(2.6)
Benzyl adenine 0.1	H	2.4	5.3	7.7(1.0)
	S	3.0	5.7	7.0(2.1)
Benzyl adenine 1	H	1.1	3.3	6.7(1.0)
	S	0.7	2.1	5.1(1.2)
L S D	H 5% 1%	1.16	1.30	2.29
		1.57	1.76	3.10
L S D	S 5% 1%	0.55	1.16	1.37
		0.78	1.65	1.94

Axillary buds of 5mm length were cultured

H: Hong mi S: Shin mi *: fully expanded leaves.

는 shoot의 길이 가 짧아졌으며 BA의 濃度가 增加하였을 때 같은 傾向이었다. NAA 및 BA의 濃度가 增加함에 따라 explant가 심하게 callus 化하는 傾向이었는데 이와 같이 explant로부터 심한 callus 形成이 shoot의 生長을 抑制하는 것으로 생각되며 鄭 등²⁾은 땅콩에서 BA濃度의 增加가 shoot의 伸張을 抑制하였다는 報告와 본 實驗의 結果가 같은 結果를 보였다. 반면 金 등¹²⁾은 BA의 濃度가 增加

함에 따라 줄기 의 伸張을 促進하는 效果를 나타냈다고 하여 본 實驗의 結果와는 相異하였다. 2mm되는 explant의 培養(表 2)에서 shoot의 길이는 紅美, 新美 모두 0.1mg/ℓ NAA와 1mg/ℓ kinetin이 組合處理時 가장 길었으며, kinetin 및 BA가 單獨處理될 때는 濃度간 큰 差異없이 짧아졌다. 培養한 explant의 크기에 따라 shoot의 길이는 현저한 差異를 보여 0.1mg/ℓ NAA와 1mg/ℓ kinetin이

Table 2. The effects of growth regulators on the growth of shoot derived from axillary bud (2mm length) of sweetpotato cultivars after 4 weeks.

Hormones (mg/ℓ)	Cultivar	Shoot height (cm)	No. of node	No. of leaf
NAA 0.1 + Kinetin 1	H	1.7	2.8	5.7
	S	1.5	3.1	6.1
NAA 1 + Kinetin 1	H	0.3	0.4	1.0
	S	0.1	0.2	0.6
Kinetin 0.5	H	0.3	0.4	1.0
	S	0.5	3.4	4.4 (0.6) ^c
Kinetin 1	H	0.7	1.2	2.2 (0.4)
	S	0.6	2.0	3.2 (0.2)
Kinetin 5	H	0.2	1.2	2.0
	S	0.4	1.7	2.7
Benzyl adenine 0.1	H	0.3	0.5	1.0
	S	0.4	1.6	2.8 (0.6)
Benzyl adenine 1	H	0.9	1.0	4.0
	S	0.4	2.0	3.0
Benzyl adenine 5	H	0.6	*	*
	S	0.3	*	*
L S D	H 5% 1%	0.37 0.51	0.51 0.69	1.06 1.43
	S 5% 1%	0.37 0.52	1.25 1.69	1.26 1.71

* : abnormal plants H : Hong mi S : Shin mi c : fully expanded leaves

첨가된 배지에서 5mm의 explant의 경우 紅美가 4.6cm, 新美가 4.0cm인 반면 2mm explant의 경

우는 紅美가 1.7cm, 新美가 1.5cm로 생장이 둔화되었다.

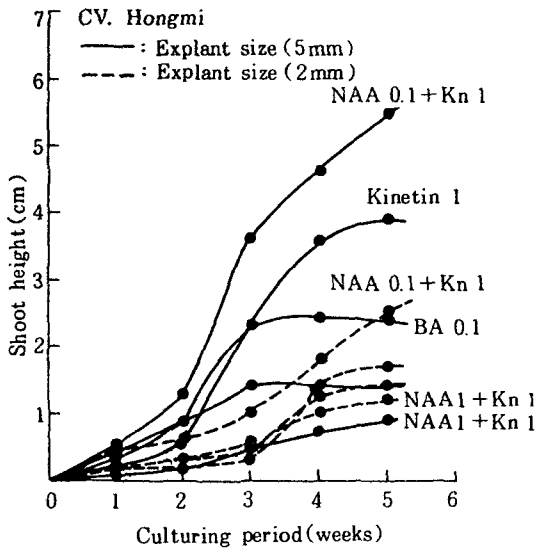


Fig. 1. Effects of different concentrations of growth regulators on shoot growth from axillary bud culture of sweetpotato.

5mm의 배양 explant에서 分化된 植物體의 마디수는 0.1mg/ℓ NAA+1mg/ℓ kinetin, 1mg/ℓ kinetin, 0.1mg/ℓ BA가 첨가된 경우 많았으며, 2mm의 배양 explant에서 마디수는 紅美의 경우 0.1mg/ℓ NAA와 1mg/ℓ kinetin이 組合處理時 2.8개였고, 新美는 0.5mg/ℓ kinetin에서 3.4개였으며, 0.1mg/ℓ NAA와 1mg/ℓ kinetin이 組合處理時 3.1개였다. 葉數도 shoot의 길이와 마디수의 생장에 效果의인 結果를 보인 배지에서 좋은 結果를 나타내었다.

그림 1은 explant의 크기와 生長調節物質의 種類 및 濃度에 따른 shoot 길이의 生長을 5주일동안 1주일 간격으로 調査한 結果인데 explant의 크기가 클수록 shoot가 分化하는데 必要되는 期間이 짧았으며, 分化후의 生長이 양호하였다. 또한 0.1mg/ℓ NAA와 1mg/ℓ kinetin이 組合處理에서 4주일 후에는 현저한 shoot 길이의 增加를 보였으나 다른 處理에선 4주일 후에도 shoot의 길이가 完滿히 增加하던가 또는 停止되는 傾向을 보였으므로 4주

Table 3. Effects of growth regulators on the rooting of shoots derived from axillary bud of sweetpotatoes after 4 weeks.

Hormones (mg/ℓ)	Cultivar	Explant (5mm length)		Explant (2mm length)		
		No. of root	Root length (cm)	No. of root	Root length (cm)	
NAA 0.1 + Kinetin 1	H	4.8	5.3	3.1	1.4	
	S	4.2	4.4	2.8	1.3	
NAA 1 + Kinetin 1	H	1.6	1.7	3.0	0.3	
	S	0.7	1.2	0.8	0.3	
Kinetin 0.5	H	2.4	3.7	0.8	0.3	
	S	3.0	3.6	1.4	0.5	
Benzyl adenine 0.1	H	1.3	2.7	0.5	0.2	
	S	1.0	2.5	0.4	0.2	
Benzyl adenine 1	H	3.0	3.2	0.5	0.1	
	S	2.2	2.7	0.0	0.0	
Benzyl adenine 5	H	0.0	0.0	0.0	0.0	
	S	0.0	0.0	0.0	0.0	
L S D	H 5%	1%	1.21	1.02	0.72	0.30
		1%	1.97	1.74	0.98	0.40
L S D	S 5%	1%	0.98	1.16	0.78	0.28
		1%	1.39	1.65	1.06	0.38

H : Hong mi S : Shin mi

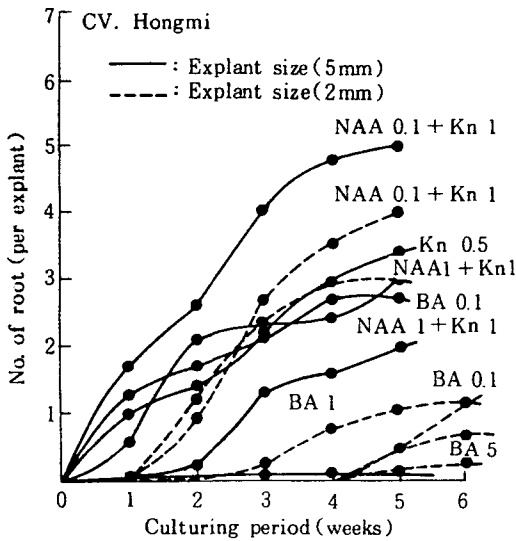


Fig. 2. No. of root differentiated on different concentrations of growth regulators according to culturing period in axillary bud culture.

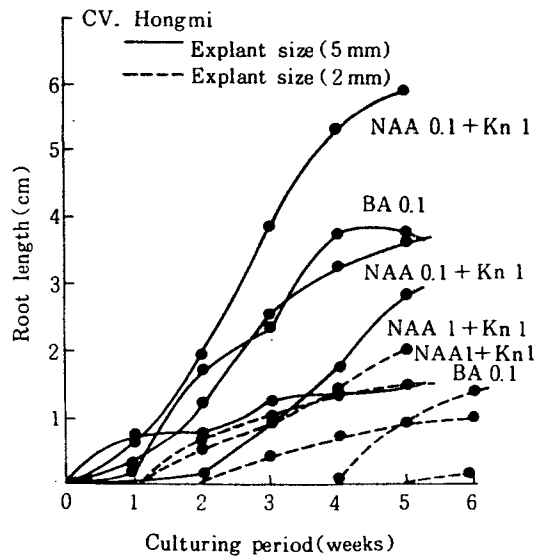


Fig. 3. Effects of different culturing period on root length differentiated from axillary bud culture.

일의 培養期間이 適當하였으며 explant의 크기가 작을수록 增殖에 利用할 만큼의 植物體를 얻는데는 더 긴 培養期間이 必要한 것으로 생각된다.

뿌리의 分化(表 3)는 紅美와 新美가 비슷한 傾向

을 보여 0.1 mg/ℓ NAA와 1 mg/ℓ kinetin의 組合處理된 培地에서 增加하였으며 NAA의 濃度가 增加함에 따라 2mm explant 培養時 紅美의 경우를 除外하고는 뿌리數와 길이가 抑制하였고, 특히 5mg

Table 4. Numbers of normal and abnormal plants formed from axillary buds of sweetpotato cultivars in 4 weeks in Murashige and Skoog medium with various concentrations of growth regulators.

Cultivar	No. of plant									
	NAA 0.1+Kn 1		NAA 1+Kn 1		BA 0.1		BA 1		BA 5*	
	N	AN	N	AN	N	AN	N	AN	N	AN
Hongmi	19	0	20	0	19	0	16	4	10	10
Sinmi	18	0	20	0	18	0	15	5	12	8

N : Normal plants, AN : abnormal plants, * : mg/ℓ Kn : kinetin

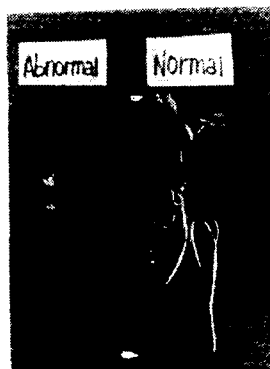


Plate 1. Abnormal plants were observed at high concentrations of BA in 1st generation culture.

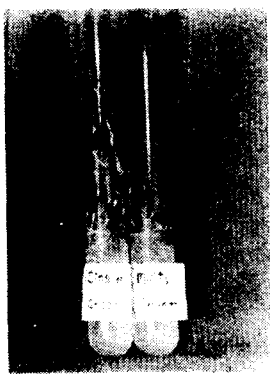


Plate 2. Multiple shoots were developed after transferred to on medium with the high level of growth regulators.

ℓ의 고濃度の BA는 뿌리의 분화를 완전히 抑制하였다. 이와 같이 cytokinin 系의 홀몬은 뿌리의 분화 및 伸張을 抑制하는 것으로 報告되고 있으며, Skoog 등²⁰⁾은 담배 줄기培養에서 뿌리의 분화를 抑制하는 것을 報告하였다.

培養期間에 따른 뿌리分化(그림 2, 3)에서 5 mm

explant는 分化에 요구되는 기일이 짧았고 伸張도 급격히 增加하였으나 2mm explant는 뿌리分化에 요구되는 기일이 길었으며 分化後 伸張도 完滿하였다 (그림 2, 3).

BA의 濃도가 增加함에 따라 비정상적인 모양을 한 植物體의 出現이 많았다(表 4, 사진 1). 비정상적인 植物體는 잎이 완전히 展開되지 않고 줄기모양을 하여 길고 두터웠으며, shoot의 길이는 짧고 分化後에 生育을 계속 못하고 枯死하는 傾向이었다.

Alconero 등¹⁾도 고구마의 shoot tip을 IAA와 kinetin을 組合處理하여 培養을 하였는데 IAA와 組合處理되는 kinetin의 濃도가 5mg/ℓ 以上이었을 때 비정상 植物體의 出現率이 높았고, 비정상 植物體는 生長을 못하고 枯死하였다고 報告하였으며, Yu 등²²⁾도 스테비아의 腋芽培養時 10mg/ℓ의 kinetin이 낮은 濃度(0.01~0.5 mg/ℓ)의 NAA와 組合處理時 비정상적인 植物體의 出現率이 높음을 보고하였다. 본 實驗에서 BA의 濃도가 增加함에 따라 kinetin과 같이 비정상體의 出現을 增加시켰으며 器內培養을 增殖에 利用할 경우에는 비정상 植物體의 出現을 抑制하도록 cytokinin 系의 生長調節物質의 濃도가 낮은 범위에서 植物體를 分化시키는 것이 바람직하다고 생각된다.

一次腋芽培養으로부터 分化된 shoot에서 切斷된 explant를 一次培養에서 사용된 培地와 같은 造成을 가지는 培地에 二次繼代培養을 하여 一次培養과 shoot의 生長 및 뿌리의 分化를 비교 調査하였는데(表 5, 6), 二次繼代培養에서 分化된 shoot의 生長은 一次培養에서 分化된 shoot의 生長보다 둔화되는 結果를 보였으며, shoot 길이, 마디수, 葉數 등이 모두 감소하는 傾向이었고, 二次培養時 shoot의 길이는 一次培養時와 같이 0.1mg/ℓ NAA와 1mg/ℓ kinetin이 組合處理된 培地에서 4.3cm였고, 二次培養時 마디수도 0.1mg/ℓ NAA+1mg/ℓ kinetin, 0.1mg/ℓ BA, 1mg/ℓ BA에서 각각 2.4, 3.7,

Table 5. The effects of growth regulators on growth of shoots differentiated from axillary buds in sweetpotato after 4 weeks.

Hormones (mg/ℓ)	1st generation			2nd generation			
	Shoot height (cm)	No. of node	No. of leave	Shoot height	No. of node	No. of leave	
NAA 0.1 + Kn 1	4.6	7.2	9.3	4.3	2.4	3.7	
NAA 1 + Kn 1	0.7	2.1	2.6	0.4	0.4	0.5	
BA 0.1	3.6	6.0	7.0	1.8	3.7	4.5	
BA 1	2.4	5.3	7.7	0.7	3.3	6.4	
BA 5	1.1	3.3	5.1	1.1	4.2	7.7	
L S D	5%	1.16	1.30	2.29	0.50	1.52	1.47
	1%	1.57	1.76	3.10	0.68	2.10	2.03

Kn : kinetin

Table 6. The effects of NAA, Kinetin and BA on growth of root initiated from axillary buds in sweetpotato after 4 weeks.

Hormones (mg/ℓ)	1st generation		2nd generation	
	No. of root	Root length	No. of root	Root length
NAA 0.1 + Kn 1	4.8	5.3	2.2	1.6
NAA 1 + Kn 1	1.6	1.7	2.1	1.9
BA 0.1	1.3	2.7	3.4	2.4
BA 1	3.0	3.2	0.1	0.1
BA 5	0.0	0.0	0.0	0.0
L S D	5%	1.29	1.02	0.90
	1%	2.10	1.74	1.24

3.3개였다. BA 5mg/ℓ 이 첨가된 培地에서 二次繼代培養時 마디수와 葉數가 增加하는 傾向이었는데 이러한 結果는 1개의 explant에서 分化하는 shoot 數 增加에 따른 전체마디수 및 葉數의 많아진 結果로 보인다(表 5. 6).

繼代培養의 뿌리分化(表 6)는 0.1mg/ℓ BA가 첨가된 培地에서 뿌리수와 뿌리길이 가장 길었으나, 一次培養에서 0.1mg/ℓ NAA와 1mg/ℓ kinetin 組合處理時 가장 效果的인 結果를 나타내 뿌리수가 4.8개, 뿌리길이 5.3cm였다. 따라서 一次培養과 二次繼代培養의 뿌리分化에 要求되는 ฮอร์โมน의 量이 다른 것으로 推定되며 繼代培養時 濃度を 달리하는 것이 效果的으로 생각된다.

培養된 1개의 explant로부터 分化되는 shoot 數 및 뿌리數(表 7)는 ฮอร์โมน과 濃度에 따라 差異를 보였

으며 반면에 뿌리數는 적어졌고, 특히 BA 5mg/ℓ 이 첨가된 培地에서는 뿌리의 分化가 전혀 없었다. BA 1mg/ℓ, NAA 0.1mg/ℓ + kinetin 1mg/ℓ NAA 1mg/ℓ + kinetin 1mg/ℓ에서는 1개의 explant의 1개의 shoot가 分化되었고 shoot의 길이가 길었으나 높은 濃度の BA(1-5mg/ℓ)에서는 1개의 explant에서 여러개의 shoot가 分化되었으며 shoot의 길이는 짧았고 비정상植物體의 出現이 많았다. 또한 BA의 濃度가 增加함에 심한 callus 形成이 많았다.

Callus로부터 再分化된 植物體는 기형식물과 變異植物體의 出現이 높다는 結果가 사탕수수⁷⁾, 국화⁴⁾, 담배¹⁰⁾, 카네이션⁹⁾ 등 여러 作物에서 報告되고 있다.

반면에 Yang²¹⁾ 등은 아스파라가스를 callus 상태를 피하고 分化시킴으로 母本과 均一한 植物體를 얻

Table 7. The effects of NAA, Kinetin and BA on the shoot differentiation from axillary bud in sweetpotato after 4 weeks.

Hormones (mg/ℓ)	NAA 0.1 + Kn 1	NAA 1 + Kn 1	BA 0.1	BA 1	BA 5
No. of shoot	1.0	1.0	1.0	2.1	3.2
No. of shoot	2.2	2.1	3.4	0.1	0.0

있으며, Litz 등¹⁴⁾은 고구마 腋芽培養에서 BA 1mg/ℓ을 MS培地에 첨가할 때 shoot를 分化시키고 심한 callus 形成을 抑制하기 위하여 10g/ℓ의 charcoal을 넣었다. 따라서 增殖利用을 위한 植物體의 分化는 callus 形成을 最大限 抑制하면서 植物體를 얻는 것이 바람직하다.

摘 要

우리나라에서 고구마 奨勳品種인 紅美와 新美를 腋芽培養時 explant의 크기 NAA, BA 및 kinetin의 濃度가 器官分化和 生育에 미치는 影響을 究明하고자 본 實驗을 實施하였으며 實驗結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 5mm 되는 explant 培養이 2mm explant 培養보다 器官分化和 生育이 좋았으며 紅美는 MS培地에 NAA 0.1mg/ℓ와 kinetin 1mg/ℓ을 組合處理할 때 新美는 MS培地에 NAA 0.1mg/ℓ와 kinetin 1mg/ℓ을 組合處理할 때와 kinetin 1mg/ℓ, BA 0.1mg/ℓ을 單獨處理할 때 shoot의 分化가 좋았다.

2. 뿌리分化的 紅美와 新美가 비슷한 結果를 보였으며 NAA 0.1mg/ℓ와 kinetin 1mg/ℓ을 組合處理한 培地에서 뿌리數와 뿌리길이 增加하였다.

3. BA의 濃度가 增加함에 따라 비정상植物體의 出現이 많았으며 한 개의 explant에서 여러개의 shoot의 길이가 짧았다.

4. 二次繼代培養에서 shoot의 分化 및 生長은 NAA 0.1mg/ℓ와 kinetin 1mg/ℓ가 첨가된 培地에서 좋은 結果를 보였고 뿌리의 分化는 0.1mg/ℓ BA에 첨가된 培地에서 가장 效果的이었다.

引 用 文 獻

1. Alconero, R., G. S. Alma., M. Francisco. and F. Rodrigaez. 1975. Meristem tip culture and virus indexing of Sweetpotatoes. *Phytopatology* 65:769-773.
2. Cheong, H. W. and Y. A. Chae. 1984. Effects of NAA and BA on the organogenesis and the growth of Peanut(*Arachis hypogaea*) in *In vitro* culture. *K. J. Breeding society* 16: 197-203.
3. Elmer, O. H. 1960. Etiology and characteristics

- of Sweetpotato Mosaic. *Phytopatology* 50: 744-749.
4. Earle, E. D. and R. W. Langhaas. 1974. Propagation of *Chrysanthemum in vitro*. II. Production, Growth and Flowering of plantlets from tissue cultures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99(4): 352-358.
5. Hildebrand, E. M. 1957. Breeding Sweetpotato varieties from cork virus by propagation with tip cuttings. *Phytopatology* 47:452(abstract).
6. Holmes, F. O. 1956. Elimination of foliage spotting from Sweetpotatoes. *Phytopatology* 46: 502-504.
7. Heinz, O. Z. and G. W. P. Mee. 1971. Morphologic, cytogenetic, and enzymatic variation in *Saccharum spesies* hybrid clones derived from callus culture. *Amer. J. Bot.* 58:257-262.
8. Hildebrand, E. M. 1959. Dissemination of Sweetpotato cork virus in nature. *Phytopatology* 47:452 (abstract)
9. Hasegawa, P. M., T. Murashige and F. H. Takatori. 1973. Propagation of *Asparagus* through shoot apex culture. II. Light and temperature requirement, transplantability of plants, and cyto-histological characteristics. *J. Ame. S. Hort. Sci.* 98: 143-148.
10. Kasperbauer, M. J., T. G. Sutton., R. A. Anderson and C. L. Gupton. 1981. Tissue culture of plants from a chimeral mutation of Tobacco. *Crop Sci.* 22:546-550.
11. Kartha, K. K. 1981. Meristem culture and cryopreservation method and application in agriculture. *Academic press. N. Y.* PP181-211.
12. Kim, C. S., J. S. Jo and C. Y. Choi. 1981. Effects of the phytohormones on the organ differentiation and the callus induction from the meristem tip and the segments of the leaf and stem of potato by *in vitro* culture. *K. J. Crop. Sci.* 26: 344-349.
13. Loebestein, G. and I. Harpaz. 1960. Virus disease of Sweetpotatoes in Israel. *Phytopatology* 50: 100-104.
14. Litz, R. E. and R. A. Conover. 1978. *In vitro* propagation of Sweetpotato. *Hortscience* 13(6):

- 659-660.
15. Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 25: 135-166.
 16. Nickell, L. G. 1975. Theoretical and practical uses of plant cell and tissue culture. *Science*, 187: 457-458.
 17. Nielsen, L. W. 1952. Effect of temperature on the development of internal cork lesions in sweetpotato roots. *Phytopatology* 42:625-627.
 18. Nielsen, L. W. 1960. Elimination of the internal cork virus by culturing apical meristems of infected Sweetpotatoes. *Phytopatology* 50: 841-842.
 19. Robert, W., R. Langhans, H. Kenneth and E. D. Earle. 1977. Disease free plants via tissue culture propagation. *Hortscience* 12(2):149-150.
 20. Skkog, F. and C. Tsui. 1948. Chemical control of growth and bud formation in tobacco stem segment and callus cultured in vitro. *Amer. J. Bot.* 35: 782-784.
 21. Yang, H. J. and W. J. Clore. 1976. Obtaining virus free plants of *Asparagus officinalis* L. by culturing shoot tips and apical meristems. *Hortscience* 11(5): 474-475.
 22. Yu, C. Y. and Y. A. Chae. 1984. In vitro propagation of *Stevia rebaudiana* B. K. J. *Crop Sci.* 29: 102-107.