

품종별 대두 (*Glycine max* L.) 자엽에서의 부정근 형성

하건수 · 한태진^{1*}

강원도농업기술원, ¹한림대학교 생명과학부

Adventitious Root Formation from Cotyledon in Soybean (*Glycine max* L.) Cultivars

HA, Keon Soo · HAN, Tae Jin^{1*}

Kangwon Province Agricultural Research & Extension Services, Chuncheon, 200-150, Korea

¹Division of Life science, Hallym University, Chuncheon, 200-702, Korea

ABSTRACT The patterns of adventitious root formation from cotyledons for each cultivar of soybeans were compared. The results of adventitious root formation in cultivars are classified as two groups; the first group showed the direct adventitious root formation, and the second group resulted in the callus and adventitious root formation. The cultivars that have much callus formation had less the adventitious root formation. The adventitious root formation in the cotyledonary explants was occurred only at the inoculation of adaxial side. When adaxial and abaxial side was inoculated simultaneously, the adventitious roots were formed at the adaxial side. Thus, it suggests that there must be direction to some extent. Starch in the cotyledonary explants were more abundant at the 4 days after induction than at the early stage of the adventitious root formation, but the starch was not observed after 7 days, that the growth stage of adventitious roots.

Key words: Adventitious root, cultivar, soybean

서 론

식물의 기관분화는 조직학적, 생리학적 및 분자생물학적인 많은 요인들이 관여한다. 부정근 형성에 관한 연구도 식물호르몬, 질소원, 탄수화물 및 phenolic compound 등에 관한 연구가 있었으나 (Welandar 1976; Chibbar et al. 1979; Cohen and Bandurski 1982; Huber 1983), 부정근 형성시 auxin의 촉진효과와 조직 내 내생 cytokinin 및 배지에 첨가한 cytokinin의 농도와 비율과의 관련성 등 호르몬 관련 연구가 대부분이다 (Eliasson and Arebled 1984; Pluss et al. 1989). 특히 auxin과 cytokinin 조성비가 기관 분화에 결정적인 요인으로 관여하는 것으로 알려져 있으며 (Skoog and Miller 1957), Trewavas (1983)에 의하면 이미 신초나 부정근 형성

세포로 결정된 세포가 호르몬이나 질소원의 영향에 의해 분화되는 것이라고 하였다. 또한 부정근 형성시 조직절편에 따른 부정근 형성 시간이 특징적으로 매우 상이하며 부정근 형성시 절편 내의 탄수화물은 외부에서 공급되는 질소원과 더불어 그 축적 정도 및 절편 내의 탄수화물 상태가 부정근 형성에 영향을 미친다고 알려져 있다 (Hassig 1984).

대두 자엽의 경우 부정근 형성시 polyamine (Han et al. 1994), ethylene (Jo et al. 1994), determination time 및 특이 단백질 등에 관한 연구 (Han 1994)가 수행된 바 있으며, 부정근 형성시 성장조절물질 및 질소원의 영향에 관한 연구 (Ha et al. 1991)도 수행되었으나, 부정근 형성양상 및 절편내의 탄수화물 분포나 determination time의 조직학적 근거 등은 미흡하며, 또한 식물의 기관 분화시 알려져 있는 종 및 조직절편에 따른 반응 차이 등도 구명되어야 할 것이다.

식물 세포의 재분화능의 차이는 부정근 형성시에도 나타나며 이것은 유전적인 차이가 있다 (Thrope 1980). 이것은 특이

*Corresponding author. Tel 033-258-5724 Fax 033-240-1436
E-mail tjhan@hallym.ac.kr

유전자의 존재에 의한 차이이며, 유전형에 따라 부정근 형성능의 차이가 있다는 보고도 있으나, 일치된 결론을 내리기에 아직 미흡하다 (Haissig 1974; Hardwick 1979; Keyes et al. 1980; Locy 1983). 식물의 부정근 형성은 신초 분화와 더불어 기관분화의 대표적인 과정이며, 이에 대한 많은 연구가 수행되었다. 그러나 밝혀진 많은 결과들은 단백질과 핵산을 비롯한 물질 관련 연구시 대사 억제물질을 이용하는 것과 같이 부정근이 형성되는 주변 조직을 포함하는 부정근 형성 부위에서의 생화학적이거나 분자생물학적인 증거들로서 간접적일 수밖에 없다 (Haissig 1974; Fowler 1975; Lewis 1980). 그러므로 부정근 형성 연구에 사용되는 조직절편의 상태나 특성이 중요한데, 부정근이 형성되는 세포들이나 주변조직의 관련성에 대한 연구와 실험체계에 관한 연구가 필요하다. 따라서 본 연구에서는 대두 자엽 절편을 이용하여 절편의 치상 방법에 따른 자엽의 부정근 형성의 극성과 품종에 따른 부정근 형성 양상을 구명하고, 부정근 형성시 절편 내 전분 분포와 부정근 형성과의 연관성을 조직화학적 방법으로 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

품종에 따른 부정근 형성 양상

‘흑청콩’ 등 국내 장려품종 27품종을 사용하였으며, 연속 암소의 27°C 항온조건에서 4일간 발아시킨 유묘에서 자엽을 절제하여 3 mm 두께로 절편을 만들어 사용하였다. 자엽 절편에서의 부정근 형성은 Evans (Evans et al 1976) 기본배지에 2 mg/L NAA, 0.01 mg/L kinetin, 20 g/L sucrose, 8 g/L agar 및 질소원으로 2.88 g/L KNO₃가 첨가된 부정근 형성배지 (Ha et al 1991)를 이용하여 연속암소의 27°C 항온조건에서 품종별로 자엽의 향측면을 치상하고 배양 14일 후 부정근 형성 양상을 경시적으로 조사하였다. 직접적으로 부정근이 형성되는 것과 callus 형성과 함께 부정근이 형성되는 품종을 구분하였다.

치상방법에 따른 부정근 형성 양상

자엽에서 부정근 형성시 배복성과 축성을 조사하기 위하여 자엽 절편의 치상면을 달리하였다. 사용한 품종은 ‘장엽콩’이었으며, 부정근 형성배지 (Ha et al 1991)를 이용하여 연속암소의 27°C 항온조건에서 이루어졌다. 치상되는 조직절편의 배복성을 알아보기 위하여 절편을 3 mm 두께로 절제하여 향측면 치상, 배측면 치상 및 향측면과 배측면이 동시에 치상되도록 절제면 치상 등으로 구분하였고, 배측이 있는 방향의 축성을 알아보기 위하여 배측이 있었던 부위를 기준으로 자엽의 중간부위를 7 mm 두께의 조직절편을 만들어 향측면을 치상

하였다. 그리고 그 결과들을 배양 7일 후 부정근이 형성되는 조직 부위를 경시적으로 관찰 하였다.

부정근 형성시 자엽내 전분의 분포와 변화

부정근 형성시 형성 기간 동안 자엽 절편 내 전분 분포와 변화를 알아보기 위하여 부정근 형성 유도 후 배양기간별로 자엽 절편 내 전분을 조직화학적으로 관찰하였다. 배양기간별 자엽 절편을 37% formaldehyde : glacial acetic acid : 70% ethanol (FAA) 고정용액을 5 : 5 : 90의 비율로 조성하여 고정하였으며, 탈수과정을 거치고 paraffin에 포매하여 고정한 후 로타리 마이크로톰으로 8 μm 절편을 만들어 표본을 만들었다. haematoxylin에 1분간 염색하고 세포 내의 전분분포를 관찰하기 위하여 periodic-acid Schiff's (PAS) 반응 결과를 광학 현미경으로 관찰하였다 (O'Brien and McCully 1981).

결 과

품종에 따른 부정근 형성 양상

대두의 품종별로 자엽 절편에서의 부정근 형성을 비교하였다 (Figure 1, Table 1). 품종에 따른 부정근 형성 양상은 매우 상이하여 절편당 40개 이상의 부정근이 형성된 품종은 장엽콩 등 16품종이었고, 단백콩 등 11품종에서는 절편당 부정근 형성수가 적었다.

대두 품종에 따른 부정근 형성은 형성된 부정근 수에도 차이가 있으나, 그 양상 또한 매우 상이하였다. 부정근 형성 양상은 자엽 절편의 절제면에서 직접적으로 부정근이 형성되는 품종들과 자엽 절편의 절제면에서 callus가 형성되며 부정근이 형성되는 품종들로 구분되었다. ‘장엽콩’ 등 16품종에서는 직접적으로 부정근이 형성되었고, ‘단백콩’ 등 11품종에서는 callus 형성과 동시에 부정근이 형성되었다. Callus 형성이 동시에 이루어지는 경우에는 형성된 부정근의 수도 적었다.

치상방법에 따른 부정근 형성 양상

대두의 자엽 절편을 이용하여 부정근 형성시 배지에 치상되는 절편 면에 따른 반응을 비교하였다 (Figure 2). 배복성을 알아보기 위하여 치상한 자엽 절편은 자엽의 중간 부분에서 두께 3 mm로 절제한 것이며, 축성에 따른 방향성을 알아보기 위한 것은 두께 7 mm 절편이었다. 치상면에 대한 부정근 형성 반응은 매우 상이하여 향측면이 치상되는 경우 정상적으로 부정근이 형성되었으나 (Figure 2B), 배측면이 치상되는 경우에는 부정근 형성이 전혀 없이 조직이 팽창되었다 (Figure 2D). 또한 자엽 절편의 절제면을 치상하여 자엽의 향측면과 배측면이 동시에 배지에 치상된 경우에도 향측면에서

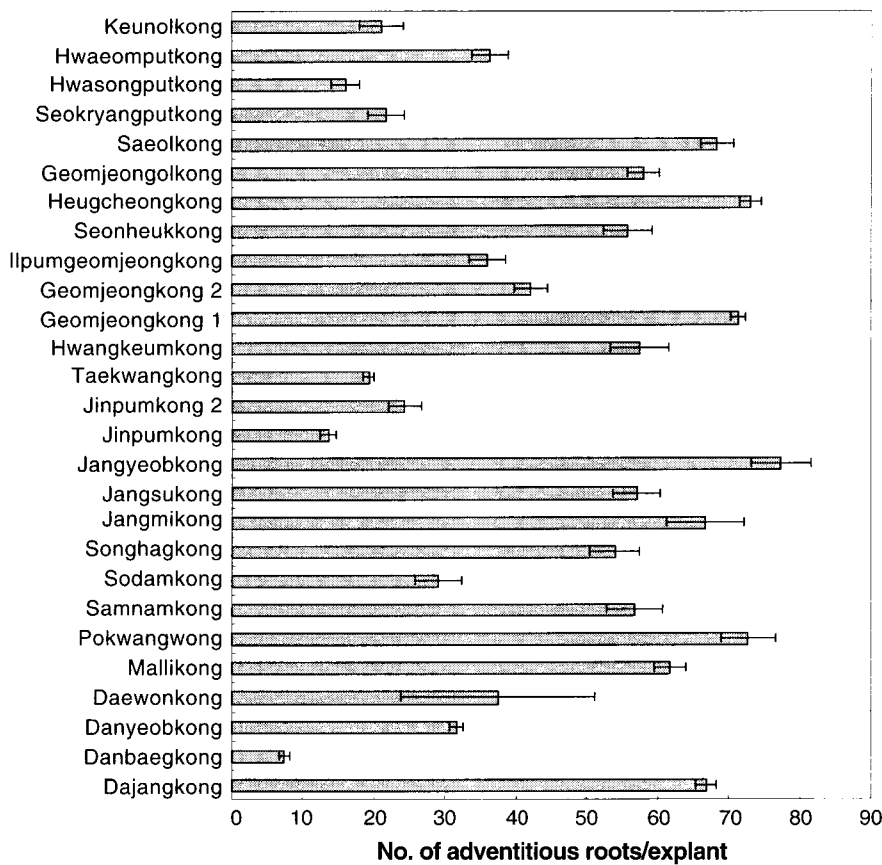


Figure 1. Comparison of adventitious root formation from cotyledonary explants of soybean cultivars. Each bar represent the means \pm standard error.

Table 1. Adventitious root formation pattern from cotyledonary explants of soybean cutivars.

Cultivars	Adventitious root formation pattern ^a
Dajangkong	R
Danbaegkong	C/R
Danyeobkong	C/R
Daewonkong	R
Mallikong	R
Pokwangwong	R
Samnamkong	R
Sodamkong	C/R
Songhagkong	R
Jangmikong	R
Jangsukong	R
Jangyeobkong	R
Jinpumkong	C/R
Jinpumkong 2	C/R
Taekwangkong	C/R
Hwangkeumkong	R
Geomjeongkong 1	R
Geomjeongkong 2	C/R
Ilpumgeomjeongkong	C/R
Seonheukkong	R
Heugcheongkong	R
Geomjeongolkong	R
Saeolkong	R
Seokryangputkong	C/R
Hwasongputkong	C/R
Hwaeomputkong	R
Keunolkong	C/R

^aC, Callus formation; R, Direct root formation; C/R, callus and root formation.

만 부정근이 형성되었고, 배측면에서는 부정근 형성이 없었다 (Figure 2C). 자엽에서 부정근이 형성될 때 배측이 있는 방향과의 연관성을 알아보기 위하여 자엽 절편을 향측면을 치상한 경우 배측이 있는 방향에서만 부정근이 형성되었다 (Figure 2A).

부정근 형성시 자엽 내 전분의 분포와 변화

대두의 자엽 절편에서 부정근이 형성되는 기간 동안 절편 내의 전분 분포와 변화 양상을 관찰하였다 (Figure 3). 부정근 형성을 위한 자엽 절편은 배양 4일에는 향측면에서 부정근이 형성되었고 (Figure 3B-1), 배양 7일에는 형성된 부정근이 생장하는 것을 확인할 수 있었다 (Figure 3C-1). 절편을 구성하는 세포는 부정근 형성이 이루어지는 향측 방향의 세포는 작고 조밀하게 구성되고 (Figure 3A-1), 부정근 형성이 없는 배측 방향 세포는 상대적으로 크고 느슨하게 구성되었다 (Figure 3A-2). 절편 내 전분 분포는 부정근이 형성되는 배양 4일에 가장 많이 분포하는 것을 확인할 수 있었는데 (Figure 3D), 치상시인 배양 0일에는 향측면의 책상 유조직 구성세포에서 배측면 방향의 유조직 세포에 비하여 전분이 많이 분포하고 있었으나, 배양 4일에는 자엽내 모든 조직에서 전분이 관찰되었다. 그러나 부정근 생장 단계인 배양 7일에는 절편의

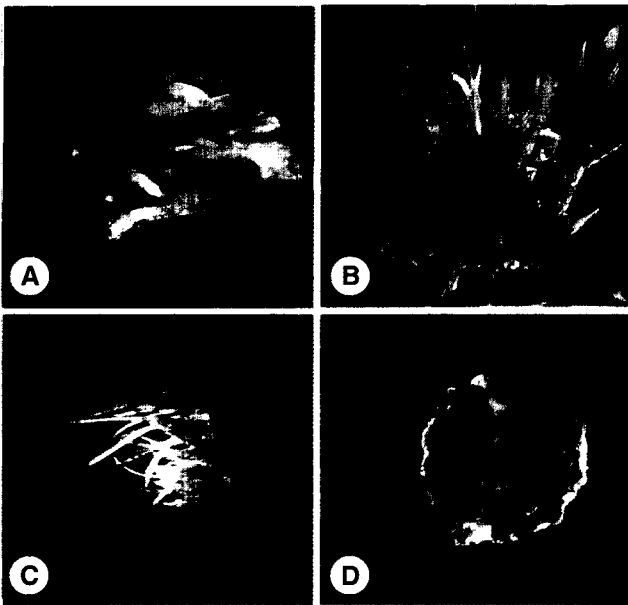


Figure 2. Different response of soybean cotyledonary explants to inoculated side on medium for adventitious root induction. A, Region of adventitious root formation on adaxial side inoculation. Arrow indicates embryonic axis portion; B, Adaxial side inoculation; C, Cutting side inoculation contained adaxial and abaxial side; D, Abaxial side inoculation.

세포 내의 전분이 없어졌으며 (Figure 3D-2), 유관속 주변 세포에서만 전분이 분포하고 있는 것을 확인할 수 있었다 (Figure 3D-1).

고 찰

식물의 조직절편에서의 부정근 형성은 생화학적 및 분자생물학적으로 관련된 많은 기작을 수반하게 되며, 부정근 형성에는 많은 요인들이 영향을 미치는 것이 밝혀져 왔다. 부정근 형성시 알려져 있는 주요 물질로는 polyamine (Liu et al. 1998), peroxidase (Pressey 1990), polyphenol oxidase (Wilson and van Staden 1990), flavonoids (Curir et al. 1990), growth regulators (Moncousin et al. 1989) 및 탄수화물 (Haissig 1984)들이며, 이들 물질들의 역할이 부정근 형성시 초기 기작에 관여하는지 또는 형성과정에 관여하는지에 관하여는 아직 논란의 여지가 있다.

부정근 형성은 유전적 차이에 따라서도 상이하다는 보고 (Hardwick 1979; Locy 1983)가 있는데, Keyes 등 (1980)은 특히 유전자의 존재에 의한 차이라고 하였으며, Han (1994)은 대두 자엽에서 부정근 형성시 특히 단백질의 발현이 관여한다고 하였다. 본 연구에서는 품종 간 부정근 형성 양상이 직접적으로 부정근이 형성되는 품종과 callus 형성과 함께 부정근이 형성되는 품종으로 구분되었고, 단백질의 경우는 매우 적은 부정근 수와 함께 callus 형성이 가장 많은 품종으로 나타나는 등 부정근을 형성하기 위한 배지 내 요소들에 대한 반응이 품종마다 상이함을 알 수 있었다.

또한, 식물의 기관형성시 극성에 대하여는 내재 호르몬 관련 연구 등 다수 있어 왔고 (Jang and Finer 1996), 목본식물 등에서 신초 형성이나 대두 체세포배 형성 등 기관형성시 절

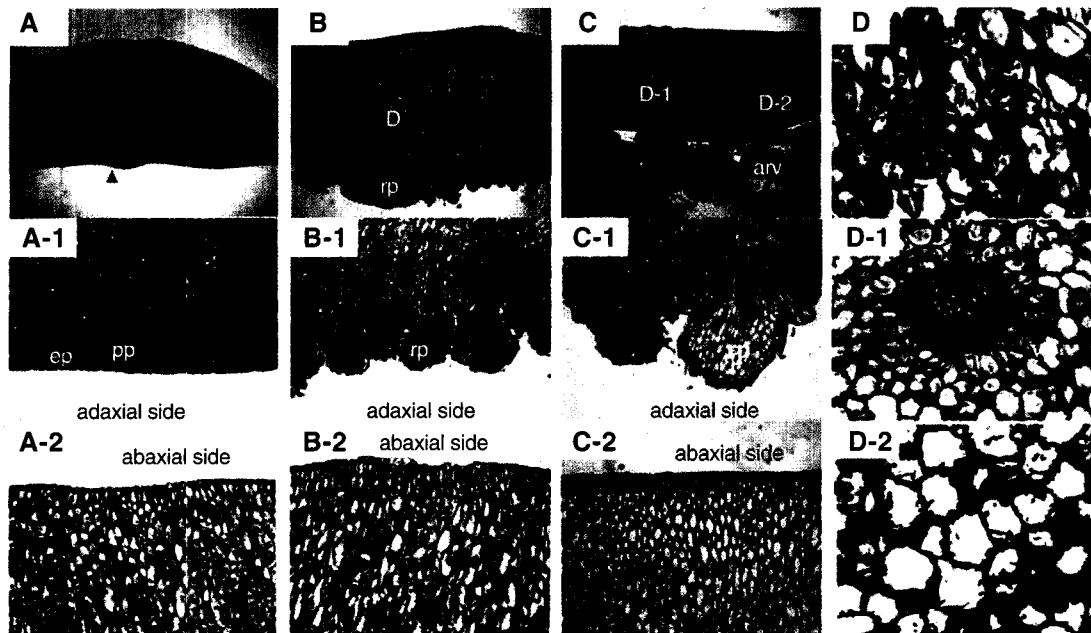


Figure 3. Light microscopic histochemistry of 8 μ m paraffin sections, showing the PAS reaction in soybean cotyledons during adventitious root formation. A, 0 day ($\times 100$); A-1 and A-2, 0 day ($\times 200$); B, 4 days ($\times 100$); B-1 and B-2, 4 days ($\times 200$); C, 7 days ($\times 100$); C-1 and C-2, 7 days ($\times 200$); D, 4 days ($\times 400$); D-1 and D-2, 7 days ($\times 400$). Arrows indicates starch granules and arrowhead indicate adaxial side (arv, adventitious root vascular tissue; ep, epidermis; pp, palisade parenchyma; rp, root primodium; vb, vascular bundle).

편의 치상 방향에 영향을 받는 것으로 알려져 있으나 (McClelland and Smith 1990), 부정근 형성시 극성에 대하여는 아직까지 분명하지 않다. 본 연구에서 대두 자엽을 이용한 부정근 형성시 배복성을 알아 본 결과 절편이 배지에 치상되는 면이 배측면인 경우에는 부정근이 형성되지 않고 향측면이 치상되었을 경우에만 부정근이 형성되는 극성을 나타내었으며, 배측이 있는 방향의 축성을 알아 본 결과 배측 방향으로의 축성이 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 콩의 자엽 절편에서의 부정근 형성은 절편의 향측면과 배측 방향에서 부정근이 형성되는 일정한 방향성이 있는 극성을 나타내었다. 치상 방법에 따른 조직학적 관찰은 하지 않았으나 향측면 치상으로 부정근이 정상적으로 형성되는 조직의 조직학적 관찰 결과 배측면의 유조직은 세포가 신장하고 세포 간 밀도가 향측면의 세포에 비하여 낮은 것을 관찰할 수 있었다. 이것은 절편 내에서 식물호르몬 등이 부정근 형성을 위한 배지에 치상되기 전에 이미 기관형성을 위한 방향성을 갖는 것으로 생각되나 대두 자엽 절편에서의 부정근 형성시 극성에 관하여는 내재되어 있는 물질 등의 깊이 있는 연구가 더 필요할 것이다.

한편, 대두 자엽 절편에서의 부정근 형성에 관하여는 질소원 및 auxin의 영향 (Ha et al. 1991), ethylene (Jo et al. 1994), polyamine (Han et al. 1994) 및 특히 단백질 (Han 1994)에 관한 연구가 수행된 바 있다. 식물의 조직절편에서 부정근 형성은 생장조절물질 등에 의해 조직의 탈분화가 선행되어야 하고 이후 기관형성이 결정되기까지의 시간이 필요하며 이때의 시간을 determination time이라고 하는데 (Christianson and Warnick 1983), 이 시간은 Arabidopsis의 잎에서 부정근, 캘러스 및 trichome 형성에 따라 상이하게 알려져 있다 (Han et al. 1999). 본 연구에서 대두 자엽 절편의 부정근 형성시 배양 기간별 조직화학적 관찰 결과 배양 4일에 표피세포를 포함하는 우조직에서 callus 형성 없이 직접적으로 부정근이 형성되는 것을 확인할 수 있었는데, 이것은 Han 등 (1994)의 결과와 일치하는 것으로 대두 자엽 절편에서의 부정근 형성시에 일정한 determination time이 존재함을 알 수 있다. 또한 부정근 형성은 특정 탄수화물에 의하여 촉진된다고 하며 (Haissig 1982), 대두 자엽에서 부정근 형성시 당의 종류에 따른 정량적 변화에 대한 연구가 선행되었으나 (Lee et al. 1994), 당류로 전환되는 기본 물질인 전분의 부정근 형성 기간 중 조직 내 변화에 대한 조직화학적 검증이 필요하다. 따라서 대두 자엽 절편에서의 부정근 형성 기간 동안 자엽 내 전분 분포를 살펴 본 결과 부정근 형성이 시작되는 배양 4일에 자엽 내 전분이 가장 많이 관찰되었고 부정근이 성장하는 배양 7일에는 유관속 주변의 세포들을 제외한 저장조직에서 전분이 관찰되지 않았다. 이것은 *Cymbidium*의 protocorm에서 신초 분화시 전분이 축적될 때는 protocorm이 증식되고 전분이 분해될 때에 신초가 분화한다는 보고 (Han et al. 1988)와 같이 부정근 형성 직전에 전분이 가장 많이 관찰되

고 부정근이 성장하는 시기에는 전분이 관찰되지 않음으로써 부정근 형성시 전분의 관련성이 조직화학적 관찰에서도 일치하였다.

이상의 결과에 따라 대두 자엽을 이용한 부정근 형성 체계는 품종에 따라 부정근 형성이 상이하며, 부정근 유기 후 4일이라는 determination time과 조직학적 근거와 함께, 치상 방법에 따른 부정근 형성 양상의 방향성이 존재하는 것을 확인 하므로서 내부적으로 배복성과 축성 연구 등의 실험체계를 제공할 것으로 사료되며, 자엽 내 전분 분포의 부정근 형성 시기에 따른 변화 양상은 당의 종류별 변화와 함께 구체적인 탄수화물 관련 연구의 필요성이 있음을 시사한다.

적 요

대두의 자엽 절편을 이용한 부정근 형성과 품종 반응을 비교하였다. 품종별 부정근 형성 양상은 직접적인 부정근 형성 품종과 callus 형성이 동시에 이루어지는 품종들로 구분되었으며, callus 형성이 많은 품종에서는 부정근 형성수가 적었다. 자엽 절편에서의 부정근 형성은 절편의 향측면 치상시에만 부정근이 형성되었고, 배측면과 향측면이 동시에 치상될 경우에도 향측면에서만 부정근이 형성되며, 절편의 배측이 존재하였던 방향에서만 부정근이 형성되는 방향성이 존재하였다. 부정근 형성시 자엽 절편 내 탄수화물은 형성초기보다 형성이 가장 많은 유기 4일에 가장 많이 관찰되었으며, 형성된 부정근의 생장이 이루어지는 7일 이후에는 관찰되지 않았다.

인용문헌

- Chibbar RN, Gurumurti K, Nanda KK (1979) Changes in IAA oxidase activity in rooting hypocotyl cuttings of *Phaseolus mungo* L. *Experientia* **35**:202-203
- Christianson ML, Warnick DA (1983) Competence and determination in the process of in vitro shoot organogenesis. *Dev Biol* **95**:288-293
- Cohen JD, Bandurski RS (1982) Chemistry and physiology of the bound auxins. *Ann Rev Plant Physiol* **33**:403-430
- Curir P, van Sumere CF, Termini A, Barthe P, Marchesini A, Dolci M (1990) Flavonoid accumulation is correlated with adventitious root formation in *Eucalytus gunni* Hook micropropagated through axillary bud stimulation. *Plant Physiol* **92**:1148
- Eliasson L, Arebled K (1984) Auxin effects on rooting in Pea cuttings. *Physiol Plant* **61**:293-297
- Evans DA, Sharp WR, Paddock EF (1976) Variation in callus proliferation and root morphogenesis in leaf tissue cultures of *Glycine max.* strain T 219. *Phytomorphology* **26**:379-384
- Fowler MW (1975) Carbohydrate metabolism and differentiation in

- seedling roots. *The New Physiologist* **75**:461-478
- Ha KS, Han TJ, Jo SH** (1991) Effects of nitrogen sources and auxins on the formation of adventitious root and callus in soybean (*Glycine max* L.) tissue culture. *Kor J Plant Tiss Cult* **18**:33-37
- Haissig BE** (1974) Metabolism during adventitious root primodium initiation and development. *New Zealand J Forest Sci* **4**:324-337
- Haissig BE** (1982) Carbohydrate and amino acid concentrations during adventitious root primodium development in *Pinus banksiana* Lamb. cuttings. *Forest Sci* **28**:813-821
- Haissig BE** (1984) Carbohydrate accumulation and partitioning in *Pinus banksiana* seedling and seedling cuttings. *Physiol Plant* **61**: 13-19
- Han TJ** (1994) Changes in specific protein profiles during initiation of adventitious roots in soybean (*Glycine max* L.) cotyledon. *Kor J Plant Tiss Cult* **21**:123-129
- Han TJ, Kang YH, Kim ES** (1988) Effects of GA₃ and ABA on endogenous starch content during shoot differentiation in *Cymbidium* spp. protocorm. *Kor J Bot* **31**:249-258
- Han TJ, Kim IH, Kim SL, Kim JC, Jin CD** (1999) Organ formation-The formation of adventitious roots, trichomes and calli from leaf segments of *Arabidopsis thaliana* by naphthalene acetic acid concentrations, and their determination times. *Kor J Plant Tiss Cult* **26**:211-217
- Han TJ, Lee DW, Lee SH** (1994) Effects of polyamine inhibitors and polyamines on the adventitious root formation from soybean cotyledons. *Korean J Plant Tiss Cult* **21**:105-110
- Hardwick RC** (1979) Leaf abscission in varieties of *Phaseolus vulgaris* (L.) and *Glycine max* (L.) Merrill-acorrelation with propensity to produce adventitious roots. *J Exper Bot* **30**:795-804
- Huber SC** (1983) Relation between photosynthetic starch formation and dry-weight partitioning between the shoot and root. *Can J Bot* **61**:2709-2716
- Jang GW, Finer JJ** (1996) Effects of orientation, pH, Solidifying agent, wounding, and ethylene modulators on somatic embryo formation of soybean. *Kor J Plant Tiss Cult* **23**:339-344
- Jo HI, Han TJ, Ha KS, Lee SH, Kim ES** (1994) Effects of methylglyoxal-bis(guanylhydrazone) and ethylene synthesis inhibitors on adventitious root formation from soybean cotyledon. *Kor J Plant Tiss Cult* **21**:327-332
- Keyes GJ, Collins GB, Taylor NL** (1980) Genetic variation in tissue cultures of red clover. *Theor Appl Gent* **58**:265-271
- Lee DW, Ha KS, Lee SH, Han TJ** (1994) Effects of methylglyoxal bis-(guanylhydrazone) and polyamines on carbohydrate metabolism during adventitious root formation in soybean cotyledons. *J Plant Biol* **37**:195-201
- Lewis DH** (1980) Boron, lignification and the origin of vascular olants-a unified hypothesis. *The New Physiologist* **84**:209-229
- Liu ZH, Wang WC, Yen YS** (1998) Effect of hormone treatment on root formation and endogenous indol-3-acetic acid and polyamine levels of *Glycine max* cultivated *in vitro*. *Bot Bull Acad Sin* **39**:113-118
- Locy RD** (1983) Callus formation and organogenesis by explants of six *Lycopersicon* species. *Can J Bot* **61**: 1072-1079
- McClelland MT, Smith MAL** (1990) Vessel type, closure and explant orientation influence *in vitro* performance of five woody species. *Hortscience* **25**:797-800
- Moncousin C, Favre JM, Gaspar T** (1989) Early change in auxin and ethylene production in vine cuttings before adventitious rooting. *Plant Cell Tiss Org Cult* **19**:235
- O'Brien TP, McCully ME** (1981) The study of plant structure: principles and selected methods. *Termarcarphi Pty. Ltd., Melbourne*, pp 344
- Pluss R, Jenny T, Meier H** (1989) IAA induced adventitious root formation in greenwood cuttings of *Populus tremula* and formation of 2-indolone-3- acetylaspatic acid, a new metabolite of exogenously applied indole-3-acetic acid. *Physiol Plant* **75**:89-96
- Pressey R** (1990) Anions activate the oxidation of indoleacetic acid by peroxidases from tomato and other sources. *Plant Physiol* **93**: 798
- Skoog F, Miller CO** (1957) Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. *Symp Soc Exp Biol* **11**: 118-130
- Thrope TA** (1980) Organogenesis in vitro: structural, physiological and biochemical aspects. In: Vasil IK (ed), *International Review of Cytology*, Supplement 11A, Academic Press, London, New York, San Fransisco. pp 71-111
- Trewavas AJ** (1983) Nitrate as a plant hormone. *Brit Plant Growth Regul Group, Monogr.* **9**:97-110
- Welander T** (1976) Effects of nitrogen, sucrose, IAA and kinetin on explants of *Beta vulgaris* grown *in vitro*. *Physiol Plant* **36**:7-10
- Wilson PJ, van Staden J** (1990) Rhizocalin, rooting co-factors and the concept of promoters and inhibitors of adventitious rooting- a review. *Ann Bot* **66**:479