

## 山茱萸(*Cornus officinalis*)의 器內增殖에 관한 研究

### I. 腋芽培養에 의한 Callus 誘起, Shoot 增殖 및 뿌리 分化

朴忠獻\* · 成洛成\* · 李承宅\* · 延圭復\* · 孫瑞圭\*\*

## Studies on Multiplication of *Cornus officinalis* by *in vitro* Culture

### I. Callus Induction, Shoot Propagation and Root Differentiation through Bud Culture

Chung-Heon Park\*, Nak-Sul Seong\*, Seung-Tack Lee\*,  
Kyu-Bok Youn\*, Su-Gyu Son\*\*

**ABSTRACT** : Present experiment were attempted to examine *in vitro* multiplication through bud culture of *Cornus officinalis*. Bud derived shoot formation was established successfully on Murashige and Skoog's medium supplemented with 0.5mg / ℓ BAP(N-benzyl amino purine). The shoot proliferation increased on the Driver Kuniyuki Walnut medium containing 0.5mg / ℓ NAA (Naphthalene acetic acid) and 0.5mg / ℓ BAP. Addition of 2,4-D(2,4-Dichlorophenoxy acetic acid) to the media produced excessive callus inducton. IAA(Indole-3-acetic acid) and IBA (Indole-3-butyric acid) enhanced multiple shooting, and NAA showed callus induction and multiple shooting. Shoot growth was enhanced supplemented with 3% sucrose, 2g / ℓ activated charcoal, and 1 / 4MS in organic salts. However, root formation of proliferated shoots was low about 5%

최근 천연물인 생약의 중요성이 재인식되면서 생약의 수요와 함께 약용작물의 재배도 급속히 증가하고 있는 추세로 '92년 약용작물 재배면적은 11,816ha에 이르고 있다. 목본 약용작물중 구기자, 오미자 등과 더불어 가장 중요한 위치에 있는 산수유(*Cornus officinalis*)는 층층나무과에 속하는 낙엽활엽 교목으로 높이는 3~7m 정도이며 산형화로서 3~4월에 개화하여 10월에 진한 적자색으로 과실이 익는데 과실은 핵과이고 장질이다<sup>20)</sup>.

원산지는 중국과 우리나라로 국내에서는 중부이남지역에 주로 분포하여 전남 구례에 66ha, 경기 양평에 13ha가 재배되고 있다. 재배면적도 빠르게

신장되어 '85년 51ha이던 것이 '92년에는 180ha로 확대되어 3.5배로 늘어났으며 수출량도 122.5M / T에 이르러 소득성 높은 약용작물로 기반을 굳혀가고 있다.<sup>8,16)</sup>

산수유 중 생약재로 이용되는 부분은 종자(核)를 제거한 과육을 건조한 것으로 여기에는 morroniside, loganin 등의 iridoid계 배당체 물질을 비롯한 cornin, gallic acid, tartaric acid, malic acid 등의 주요 성분이 함유되어 있고<sup>20,31)</sup>, 생약학적 효능으로는 자양강장, 수렴(부기를 가라앉힘) 작용 및 항(진)균 작용의 약효가 있어 한방약재로 사용되며 민간에서는 술과 차로 이용하기도 한다.

\* 作物試驗場 藥用作物科(Medicinal Crop Division, Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100 Korea)

\*\* 江原道 農村振興院(Kang Won Provincial R.D.A. Chun Cheon 200-150 Korea) <1993. 1. 12. 接受>

산수유의 번식에는 삼목이나 접목법 등의 영양 생식이 가능하지만 발근율이 0.5%미만으로 매우 낮고, 활착율도 저조하여 실용화되지는 못하고 있는 실정으로 실생을 주로하고 있다.

하지만 실생번식의 경우<sup>21,22)</sup>에도 40%까지 발아율을 높일 수 있지만 종피에 의한 기계적인 휴면과 배의 미숙에 의한 복합휴면으로 발아에 어려움이 있다.

따라서 산수유의 증식 효율은 매우 낮아 대량번식이 매우 어려운 실정이어서 이에 대한 체계적인 연구가 시급히 요청되고 있다.

식물조직배양 기술은 영양번식작물 혹은 종자번식이 어려운 작물에서 캘러스와 체세포배를 이용하여 대량의 종묘생산과 우량변이체 대량증식 및 바이러스 무병주 생산등을 실용화 함으로써 작물 육종의 새로운 방법으로 이용되고 있다.<sup>3,11,12,26,30)</sup>

목본의 경우 뉴질랜드에서는 라디아소나무 秀型木<sup>1)</sup>을 선발하여 우수한 유전형질을 지닌 묘를 조직 배양을 통하여 대량증식시켜 조림에 이용하고 있으며 양향철<sup>23)</sup>은 경정배양을 통하여 한본의 모본에서 1년간에 수만본의 개체를 증식시키는 방법이 보고된바 있다. 또 피나무<sup>10)</sup> 및 호도나무<sup>14)</sup>, 대추나무<sup>9)</sup>, 사과나무<sup>15)</sup>에서도 기내 대량증식에 관한 보고가 있다.

본 실험은 산수유 기내육종을 위한 기초 연구로 액아배양에서의 Shoot 형성 및 기내 대량증식 가능성과 발근유도에 관한 실험을 수행하여 얻어진 몇가지 결과를 보고하는 바이다.

## 材料 및 方法

본 시험에 사용한 공시재료는 작물시험장 약용작물 유전자원 보존 포장에서 식재되어 있는 산수유(*Cornus officinalis*)의 액아를 '92년 4월 상순에 채취하여 배양재료로 사용하였다.

재료의 멸균은 채취한 시료를 75% ethanol에 3분간 침적한 후 수세하고 10% 유한락스액에 10분간 표면 살균한 다음 멸균수로 4회 수세하고 해부현미경하에서 액아를 적출하여 배양하였다.

배지의 조제는 처리별로 성분량을 넣은 다음 pH를 5.8로 조정하고 121℃에서 10분간 고압증기 멸균하였다.

배양조건은 형광등으로 1,500lux 광도와 16시간의 명조건 그리고 온도조건은 25 ± 1℃로 유지 되도록 조절하였다.

액아 배양으로부터 Shoot 분화에 적합한 배지를

구명하기 위하여 생장조정물질인 BA(6-benzyladenine) 0.5 mg/ℓ를 첨가한 MS(Murashige and Skoog, 1962)<sup>18)</sup>, GD(Gresshoff and Doys, 1972)<sup>7)</sup>, WPM(McCown and Lloyd, 1980)<sup>17)</sup> 및 DKW(Driver and Kuniyuki-Walnut, 1984)<sup>4)</sup> 등 4종류의 배지에서 신초 형성율을 조사하였다.

액아 배양을 통하여 얻어진 Shoot의 기내 증식에 적합한 배지를 탐색하고자 B5(Gamborg et al, 1968)<sup>6)</sup> DKW, GD, WPM, MS 등 5종류의 배지에 NAA(1-Naphthalene acetic acid)와 BA를 각각 0.5mg/ℓ 넣어 배양하였고 또한 배지내 생장조정물질의 종류 및 농도가 기내 배양에 미치는 영향을 알아보기로 MS배지를 공시하여 BA 0.5mg/ℓ에 2,4-D(2,4-Dichlorophenoxy acetic acid), IAA(Indole-3-acetic acid), IBA(Indole-3-butyric acid) 및 NAA를 각각 0.1, 0.5, 1.0 및 2.0mg/ℓ의 농도로 혼합첨가하여 기내생육을 조사하였다.

그리고 Shoot의 원활한 생육을 위하여 배지내 탄소원의 적정농도를 찾고자 sucrose 농도를 3, 6, 9 및 12%로 조절하였고 활성탄은 0.1, 0.5, 1.0 및 2.0g/ℓ로 첨가하였으며 MS 배지에 무기염의 농도를 1/4, 1/2, 1 및 2배량으로 조절하여 Shoot의 기내생육을 관찰하였다.

액아유래 Shoot의 기내 발근 유도를 위하여 MS 배지에 BA 0.5mg/ℓ를 넣고 NAA 0.1, 0.5, 1.0 및 2.0mg/ℓ 농도를 첨가하여 발근율을 조사하였다.

## 結果 및 考察

### 1. 액아배양에서의 Shoot 형성

산수유 액아를 배양하여 Shoot를 형성하는데 적합한 배지를 선발하고자 MS 등 4종류의 배지를 공시한 결과는 표 1과 같다.

기내 Shoot형성에 가장 우수한 배지는 MS배지로 배양한 126개 액아중에서 96개의 Shoot가 분화되어 77%의 Shoot 형성율을 보였으며 그 다음은 DKW배지가 76%로 MS배지와 유사하게 조사되었고 Shoot 형성율이 가장 저조한 것은 WPM 배지로 60%였다.

DKW 배지는 *Juglans regia* × *Juglans hindsii*의 조직 배양을 위하여 WPM배지를 수정한 배지로 호도나무류의 기내배양에 사용되었는데<sup>14)</sup> 목본약용식물인 산수유의 액아배양에도 비교적 양호한 Shoot형성율을 보였다.

Table 1. Shoot formation rate from the bud culture according to the media in *Cornus officinalis*.

Medium	No. of cultured bud	No. of shoot formation	Shoot formation rate(%)
MS	126	96	77
DKW	158	120	76
GD	148	108	73
WPM	153	91	60

\* : Growth regulator addition to the media was 0.5mg / ℓ BAP.

또한 감나무의 액아배양에서<sup>9)</sup> Shoot의 형성은 ACM 등의 배지보다 MS배지가 좋은 생장을 나타냈다고 하였다.

따라서 산수유 액아배양에서의 Shoot 형성에는 MS 혹은 DKW배지를 사용하는 것이 효과적 이었는데 MS와 DKW배지는 다른 배지에 비하여 배지 내 총질소 함량이 60mM 정도로 높았는데 액아에서의 Shoot 분화에는 질소원이 중요한 역할을 하는것으로 생각된다.

## 2. 액아유래 Shoot의 기내증식과 생육

액아배양에서 얻어진 Shoot를 기내증식시킬 경우 적합한 배지를 탐색하고자 DKW배지 등 5종류의 배지에 NAA 0.5mg / ℓ 와 BA 0.5mg / ℓ 를 첨가하여 배양한 결과는 표 2와 같다.

Shoot를 배양한 후 약 30일 경에 증식된 Shoot수는 DKW배지에서 6.8개로 가장 많았고, B5배지가 4.3개로 그 다음이었으며 그 외의 배지에서는 6-2.8개로 저조하였다.

그리고 엽장과 엽수등의 기내생육 비교에서도 DKW와 B5 배지가 가장 양호하였고 GD와 MS는 중간정도였으며 WPM은 가장 저조하였다.

감나무 조직배양<sup>27)</sup>에서 줄기증식에는 MS배지나 WPM배지에서 양호한 생장을 보였다고 하였고, 관상죽<sup>12)</sup>마디 절편을 재료로 한 대량증식에는 MS배지가 Shoot의 생장과 발근율에 적당하다고 하였는데 MS와 DKW배지는 다른 배지에 비해 질소의 함량이 매우 높으며 암모니아태 질소와 질산태 질소를 합하여 60mM의 질소를 포함하며 B5는 40mM, GD는 20mM, WPM은 10mM을 포함한다.<sup>4,6,7,17,18)</sup>

일반적으로 배지내 암모니아태 질소와 질산태 질소의 비율은 Shoot 및 뿌리의 형성과 생육에 중요한 역할을 하며 암모니아태 질소는 배형성과 기

Table 2. Effect of five different media on the shoot propagation in *Cornus officinalis*

Medium	No. of shoots	Mean shoot length(cm)	No. of leaves	growth
DKW	6.8	4.5	10.8	++++
GD	2.8	3.7	5.5	+++
WPM	2.6	2.1	1.6	+
MS	2.7	3.2	2.7	++
B5	4.3	3.5	8.7	++++

\* symbols + : poor, ++ : moderate, +++ : good, ++++ : excellent

\* DKW : Driver-Kuniyu Ki-Walnut(1984)<sup>4)</sup>

GD : Gresshoff and Doy's(1972)<sup>7)</sup>

WPM : McCown and Lloyd(1980)<sup>17)</sup>

MS : Murashige and Skooge(1962)<sup>18)</sup>

B5 : Gamborg et al(1968)<sup>6)</sup>

Table 3. Effect of sucrose concentration on the shoot growth in *Cornus officinalis*.

Sucrose conc. (%)	Shoot length(cm)	No. of leaves	Growth
3.0	2.6	3.1	+++
6.0	2.5	3.0	++
9.0	2.3	2.5	+
12.0	1.9	1.6	-

\* Symbols - : yellows, + : poor, ++ : moderate, +++ : good

\* Basal medium : MS+NAA 0.5mg / ℓ , BA 0.5mg ℓ

관발생을 촉진시키고 질산태 질소는 세포생장에 효과적이라고 알려져 있다.

이상의 결과에서 산수유의 경우 기내증식에 가장 적합한 배지는 DKW배지이고 B5도 양호하게 조사되어 배지내 질소원을 암모니아태 보다 질산태질소의 함량을 높이는 것이 효과적이라 생각되었다.

표 3은 액아유래 Shoot의 기내생장에 미치는 Sucrose의 농도영향을 조사한 것이다. Sucrose의 농도가 9%까지 높아질수록 초장, 엽수 등의 생육이 감소하는 경향이었고, 12% 첨가에서는 Shoot가 노랗게 고사되었다.

마늘의 생장점배양<sup>30)</sup>에서 Sucrose 농도가 3-4%일때 영양생장이 가장 왕성한 반면 9%까지 높아질수록 영양생장은 둔화되고 기내구의 비대시키는 빨라진다고 하였으며, Tulip<sup>17)</sup>의 기내배양에서는 Sucrose의 농도가 6%일때 구의 크기가 증가하는 경향을 보인다고 하였는데 본실험에서 산수유

Table 4. Effect of activated charcoal on the shoot growth in *Cornus officinalis*.

Activated charcoal(mg / ℓ)	Shoot length(cm)	No. of leaves	growth
0	2.6	3.1	++
100	2.9	4.0	++
500	3.0	4.3	+++
1,000	3.6	3.8	+++
2,000	4.1	4.3	++++

\* Symbols ++ : moderate, +++ : good, ++++ : excellent

Table 5. Effect of inorganic salts concentration on the shoot growth in *Cornus officinalis*.

Inorganic salts conc.	Shoot length(cm)	No. of leaves	growth
1/4 MS	2.5	3.2	+++
1/2 MS	2.4	3.5	++
1 MS	2.2	2.8	++
2 MS	2.2	2.6	+

\* Symbols + : poor, ++ : moderate, +++ : good

Shoot의 생육은 Sucrose 3%인 경우가 가장 양호하였고 그 이상의 농도에서 영양생장이 감퇴하는 것은 Osmoticum등의 영향인 것으로 생각된다.

조직배양의 경우 배지에 활성탄을 첨가하여 유해대사 물질을 흡수하므로써 배양식물체의 생육을 촉진시키거나 Callus 형성을 촉진하며 뿌리의 발생과 생육에 현저한 증가효과가 있다는 보고가 있어<sup>25,29)</sup> 산수유 Shoot의 기내생육에 미치는 활성탄의 영향을 표4와같이 검토한 결과 배지내 활성탄의 농도가 2g / ℓ 까지 증가할 수록 기내생육은 양호하여 Shoot 길이가 4.1cm, 평균엽수가 4.3매였다.

*Beta vulgaris*의 기내발근<sup>19)</sup>에서는 활성탄소의 농도가 0.1-0.5%인 경우 전반적으로 무첨가 배지에 비해 발근율이 낮았다고 하였는데 산수유에서는 활성탄을 첨가했을때 단일개체의 생육은 뚜렷하게 좋은 반면, 증식에 필요한 성장조정물질을 넣어준 경우에도 Shoot의 증식은 이루어지지 않는 결과를 보였는데 이는 활성탄이 유해물질 이외에도 성장조정물질까지 과잉흡착하기 때문인 것으로 생각된다.

한편 MS배지의 조성시 첨가되는 염류의 농도를 달리하였을 경우, Shoot의 기내생육 차이는 표 5와 같다. 배양 후 약 30일경의 생육은 1/4MS에서 Shoot 길이가 2.5cm, 평균 엽수가 3.2매로 비교

Table 6. Effect of growth regulator on the shoot propagation in *Cornus officinalis*.

Growth regulators (mg / ℓ)	No. of cultured shoots	Callus induction		Shoot growth		
		No. of callus(%)	Growth	No. of shoots(%)	Growth	
2,4-D	0.1	51	46(90.2)	++++	28(54.9)	+
	0.5	48	45(93.8)	++++	6(12.5)	+
	1.0	51	42(82.4)	++	-	-
	2.0	36	5(13.9)	+	-	-
IAA	0.1	36	-	-	22(61.1)	++
	0.5	44	-	-	34(77.3)	++++
	1.0	54	-	-	34(60.3)	+++
	2.0	48	-	-	29(60.4)	+
IBA	0.1	82	-	-	41(50.0)	++
	0.5	81	-	-	43(53.0)	+++
	1.0	84	-	-	36(42.9)	++
	2.0	78	-	-	27(34.6)	+
NAA	0.1	81	16(19.8)	+	45(55.6)	+++
	0.5	78	35(44.9)	+	28(35.9)	++
	1.0	83	46(55.4)	+	43(51.8)	++
	2.0	87	57(65.2)	++	47(54.0)	+

\* Symbols - : none, + : poor, ++ : moderate, +++ : good, ++++ : excellent

\* In addition to the MS medium was 0.5mg / ℓ BA.

적 생장이 좋았는데, 무기염류의 농도가 1/4까지 낮아질수록 Shoot의 길이가 길고 엽수가 많아 생장이 양호하였다.

바나나<sup>13)</sup>의 기내배양에서 염류의 농도가 낮아질수록 Shoot의 생육은 불량하였지만 뿌리의 생육은 양호하였다고 하였으며 또한 *Beta vulgaris*<sup>19)</sup>의 기내배양에서 발근율은 무기물의 농도에 크게 영향을 받아 성장조정물질의 첨가없이도 0.75배의 MS 배지에 최대의 발근율을 나타냈고 이보다 농도가 낮아지면 발근율은 감소한다고 하였다.

표 6은 Shoot의 기내증식에 미치는 auxin의 영

향을 검토한 결과인데 2,4-D를 배지에 첨가한 경우 Shoot의 기부로부터 Callus의 형성이 왕성하게 이루어졌는데 2,4-D 0.1, 0.5mg/ℓ 첨가에서는 Callus 유기율이 90%이상인 반면 Shoot의 증식은 전혀 이루어 지지 않았다.

한편 IAA와 IBA를 첨가한 경우에는 두 처리 모두 Callus 형성을 전혀 이루어지지 않는 반면 0.5mg/ℓ 첨가했을 때 IAA는 77%, IBA는 53%의 multiple shoot를 관찰할 수 있었다. 또한 NAA에서는 Callus의 형성과 Multiple Shoot에 의한 Shoot의 증식이 동시에 이루어 졌는데 낮은 농도인 0.1, 0.5mg/ℓ에서 multiple Shoot의 형성이 이루어졌고 1.0, 2.0mg/ℓ에서는 Callus가 유기되었다(Photo 1).

액아유래 Shoot를 기내배양으로 증식한 다음 기내에서의 발근유도를 위하여 MS배지에 BA 0.5mg/ℓ를 첨가한 다음 NAA를 0.5mg/ℓ 첨가한 경우에 5%의 발근율을 보여 아주 저조하였는데 일반적으로 목본식물의 발근 촉진제로 IBA가 많이 사용되고 있는데 특히 기내배양에서의 발근촉진 효과는 복숭아<sup>5)</sup>, 밤나무<sup>2)</sup> 등의 과수에서 보고되고 있다.

한편 감나무에서는 IBA보다 NAA첨가 효과가 좋은 것으로 나타나고 있는데 금후 산수유의 발근을 향상을 위한 배지내 호르몬 조절 및 배양조건 향상에 대한 더 많은 검토가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

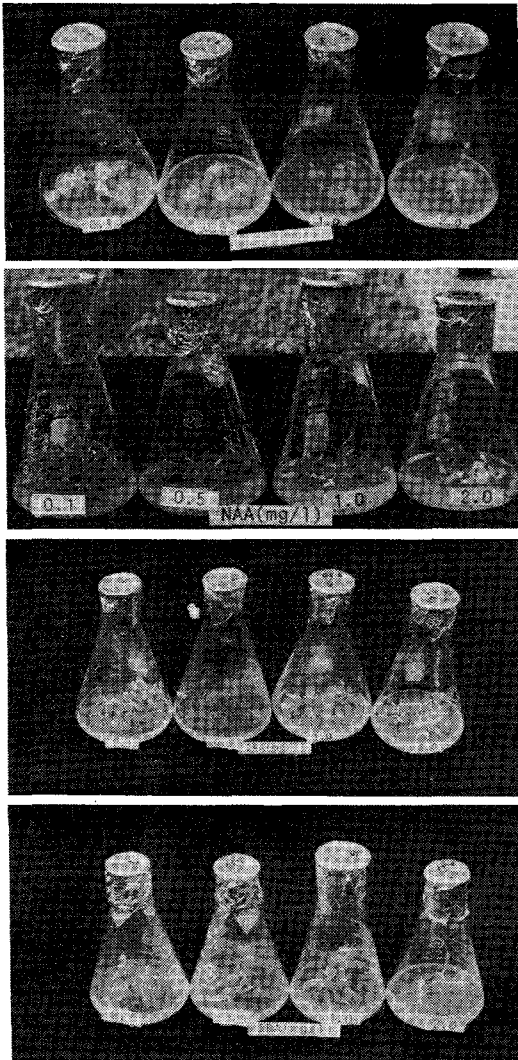


Photo 1. auxin의 종류 및 농도에 따른 shoot의 생육

Table 7. *In vitro* root differentiation from the bud derived shoot.

NAA (mg/ℓ)	No. of cultured shoot	No. of root formatoin (%)	Root type
0	20	— (0)	—
0.1	20	— (0)	—
0.5	20	1 (5)	shoot derived normal
1.0	20	3 (15)	callus derived adventitious
2.0	20	7 (35)	callus derived adventitious

\* In addition to the MS medium was 0.5mg/ℓ BA.

## 摘 要

약용으로 널리 이용되는 산수유(*Cornus officinalis*)의 기내육종을 위한 기초 연구로 액아배양을 통한 기내 대량증식 가능성을 검토한 결과,

1) 액아 배양에 적합한 배지로는 MS 배지와

- DKW 배지가 77%의 신초형성을 보여 가장 양호하였고 WPM과 GD배지는 다소 저조하였다.
- 2) 얻어진 기내 Shoot의 증식에는 DKW가 6.8개의 신초를 형성하고 신초장이 4.5cm, 엽수도 10.8개로 가장 우수하였고 B5 > GD > MS > WPM의 순이었다.
  - 3) Shoot 증식에 적합한 sucrose의 농도는 MS 배지의 경우 3%가 좋았으며, 농도가 높아질수록 신초의 기내 생육에 제한적이었으며, 활성탄의 영향으로는 배지내 농도가 2g / l 까지 증가할 수록 개체의 생육이 양호한 경향이었다.
  - 4) MS배지의 경우 무기염류의 농도는 2MS에 비하여 1/4MS까지 낮아질수록 기내 생육에 적합하였다.
  - 5) Shoot 증식을 위하여 BA 0.5mg / l 에 auxin을 종류별로 혼합 첨가한 결과 2,4-D 첨가구의 경우 Callus의 생장이 가장 왕성하였으나 Shoot 증식에는 극히 제한적이었고, IAA와 IBA 처리는 Callus가 전혀 유기되지 않는 반면 multiple shoot가 형성되었으며, NAA에서는 Callus형성과 Shoot증식이 모두 이루어졌다.
  - 6) 신초의 기내 발근유도 시험에서는 MS배지에 NAA 0.5mg / l 와 BA 0.5mg / l 를 첨가한 처리에서 신초로부터 정상근이 분화 되었으나 5% 비율로 낮았다.

## 引用文獻

1. Aitken-Christie, J. and J. A. Gleed. 1984. Use for micropropagation of juvenile radiata pine in New Zealand. Proceeding International Symposium of Recent Advances in Forest Biotechnology. June 10-14. Michigan pp. 47-55.
2. Chevre, A. M. S.S.Gill, A. Mouras and Salesses. 1983. *In vitro* vegetative multiplication of Chestnut. Jour. Hort. Sci. 58 : 23-29.
3. Drew, R. L. K. 1979. Effect of activated charcoal on embryogenesis and regeneration of plantlets from suspension culture of carrot (*Daucus carota* L). Ann. Bot. 44 : 387-389.
4. Driver, J. A. and A. H. Kuniyuki. 1984. *In vitro* propagation of paradox walnut root stock. Hort. Science 19 : 507-509.
5. Feliciano, A. J. and M. de Assis. 1983. *In vitro* rooting of shoot from embryo cultured peach seedlings. Hort Science 18 : 705-706.
6. Gamborg, O.L., R.A.Miller and Ojima K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res. 50 : 151-158.
7. Gresshoff, P.M. and C.H.Doy. 1972. Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculantum* (tomato). Planta 107 : 161-170.
8. 한국약품수출입 협회. '92 의약품 수출입 실적.
9. 金愼植, 李世均. 1988. 液芽培養에 의한 新品種 대추나무의 實用的 大量繁殖에 관한 연구. 韓國林學會誌 77 : 445-452.
10. Kim, J. H, H. Moon, J. Park and B. Lee. 1987. Somatic embryogenesis and plant regeneration in callus from hypocotyl segments of *Tilia amurensis*. Genetic Manipulation of Woody Plants. Ed. by J. W. Harnover & D. E. Keathley. Plenum Press, New York and London, p 473.
11. 金貞姬, 朴龍永. 1990. 器內培養에 의한 감나무의 大量增殖. 植物組織培養誌 17(1) : 9-15.
12. 金貞姬, 尹基植, 崔在植, 尹相臺. 1991. 器內培養에 의한 觀賞竹 (*Arundo domx* var. *versicolor*) 의 大量增殖. 植物組織培養學會誌 18(5) : 291-296.
13. 李宗錫, 韓海龍, 文斗吉, 姜榮吉. 1990. 바나나의 器內繁殖에 미치는 培地の 種類, 添加物質, 溫度 및 光度의 效果와 繼代 培養이 變異個體發生에 미치는 影響. 植物組織培養學會誌 17(2) : 77-85.
14. 李文鎬, 安昌永, 朴致善. 1986. 芽培養에 의한 호도나무 器內增殖. 林木育種研究所報 22 : 159-163.
15. Lundergan, C. A. and J. Janick. 1980. Regulation of apple shoot proliferation and growth *in vitro*. Hort. Res. 20 : 19-24.
16. 농림수산부. 1992. '92 특용작물 생산실적
17. McCown, B.H., G.E.Lloyd. 1980. Influence of light and temperature in callus

- culture. Amer. J. Bot. 57 : 148-152.
18. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant* 15 : 473-497.
  19. 白基燁, 金注東, 康像俊. 1987. 사탕무우(*Beta vulgaris* L.)頂端培養時 Sodium sulfate가 生長에 미치는 영향. *植物組織培養誌* 14(1) : 1-10.
  20. 朴仁鉉, 李相來, 安相得, 宋沅變. 1990. 增補藥用植物栽培. 先進文化社 123-131.
  21. 朴仁珍, 朴圭哲, 崔鎮景, 李運植, 1989. 生長調整劑에 의한 山茱萸 無核果 誘起 및 熟枚插 發根推進劑 選拔試驗. 全南農振院 試驗研究報告 194-202.
  22. 朴圭哲, 南昌助, 李運植. 1990. 山茱萸 着果率 및 果實肥大 向上試驗. 全南農振院 試驗研究報告 164-165.
  23. Park, Y. G and S. H. Son. 1988. Regeneration of plantlets from cell suspension culture derived callus of *Populus alba*. *Plant Cell Report* 7 : 568-571.
  24. Pierik, R. L. M., and B. J. Ippel. 1977. Plantlet formation from excised bulb scale segments of nerine. *Acta Horticulture* 78 : 197-202.
  25. Rahbar, K. 1982. Influence of organic compounds and activated charcoal on callusing of protonema in the moss *Hyophila involuta* Z. *Pflanzenphysiol.* 106 : 469-473.
  26. 宋沅變, 金鎮洙, 殷鐘族, 劉成吾. 1990. 柚子의 器內不正胚 發生에 관한 연구 I. 胚珠培養에 의한 體細胞胚 發生. *植物組織培養誌* 17(4) : 255-265.
  27. Sugiura, A., R. Tao., H. Murayama and T. Tomana. 1986. *In vitro* propagation of Japanese persimon. *Hort Science* 21 : 1205-1207.
  28. Trigiano, R. N., R. M. Beaty, and J. T. Dietrich. 1989. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration in *Cornus florida*.
  29. Wang, P. J and L. C. Huang. 1976. Beneficial effects of activated charcoal on plant tissue and organ cultures. *In vitro* 12 (3) : 260-262
  30. 황재문, 안인옥. 1982. 마늘 무병종구 생산 및 증식방법에 관한 시험. 원예시험장 시험연구보고 512-529.
  31. Yazaki, K. and T. Okuda. 1989. Gallotannin production in cell cultures of *Cornus officinalis*. *Plant Cell Reports* 8 : 346-349.