

용담(*Gentiana scabra* Bunge.)의 葉肉 및 줄기배양에 의한 식물체 재분화와 增殖

성낙술*, 박충헌*, 이승택*, 김성민**

Plant Regeneration and Multiplication of *Gentiana scabra* Bunge. through Leaf and Stem Culture

Nak-Sul Seong*, Chung-Heon Park*, Seoung-Tack Lee*, and Seong-Min Kim**

ABSTRACT : For the clonal proliferation of *Gentiana scabra* Bunge, which is one of the medicinal and ornamental plant, establishment multiplication of shoot through tissue culture technique and transplanted into soil were carried out.

The shoot proliferation increased on the MS medium containing 0.5mg / ℓ NAA and 0.5mg / ℓ BAP. Optimum pH for shoot growth was pH 5.9, consequently MS medium supplemented with 2g / ℓ activated charcoal was most effective for plant growth.

There are two types of somaclonal variants, tall type was 63% and dwarf type was 37%.

용담과(*Gentianaceae*)에 속하는 용담(*Gentiana scabra* Bunge.)은 우리나라 전역에 자생하는 식물로서 뿌리에 gentiopicroside, gentisin 등의 약효 성분을 함유하고 있어 한방에서는 소화불량, 식욕 부진등에 고미건위약으로 처방된다. 또한 8~10월에 개화하는 청자색의 꽃은 매우 아름다워 절화용 자생 화훼로서도 높은 가치가 인정되고 있다.^{5,15,34)}

용담의 근연식물로는 산용담(*G.algida*), 칼잎용담(*G.uchiyamana*), 큰용담(*G.axillariflora* var. *coreana*), 남풀(*G.triflora*)과 진퍼리용담(*G.stenophylla.hylla*)등이 있다.

용담은 국내 수요 전량을 야생채취에 의존해 왔으나 자생채취에 의한 공급의 절대부족으로 '92년에는 46,183kg을 수입하여 사용하고 있다.^{12,29)} 최근에 들어서는 건강드링크제의 원료로서 그 수요가 매년 크게 증가하는 추세로 작물학적 연구가 시급히 요구되고 있다.

용담의 번식은 실생과 분주에 의한 번식이 모두 가능하지만 실생번식의 경우 초기생육이 극히 부

진하여 잡초경합이 문제시되어 아직 국내에서는 이 식물의 작물화 연구를 착수치 못하고 있는 실정이다.

식물조직배양 기술은 영양번식작물 혹은 종자번식이 어려운 작물에서 캘러스와 체세포배를 이용하여 대량의 종묘생산과 우량변이체 탐색 및 바이러스 무병주 생산등을 실용화하기 위한 작물육종의 새로운 방법으로 이용되고 있다.^{1,2,4,8,16,18,21,30)}

본고는 용담의 작물화연구를 위한 첫단계로 종묘의 대량증식 및 기내에서의 초기 생육촉진 기술을 확립하고자 조직배양에서의 식물체 재분화 및 대량증식 가능성을 검토하고 기내변이주를 선발하는 실험을 수행하여 얻어진 몇가지 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

본 시험에 사용한 공시재료는 작물시험장 약용작물 유전자원 보존포장에 식재 되어 있는 용담

* 작물시험장 약용작물과(Medicinal Crop Division, Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100, Korea) <'93. 5. 24 接受>

** 공주대학교 산업대학(Industrial College, Kongju Nat'l Univ., Yesan 340-800, Korea)

(*Gentiana scabra* Bunge.)의 엽육 및 줄기조직을 '92년 7월에 채취하여 10% Lax액에 10분간 침적하여 표면살균하고 멸균수로 3회 수세하여 배양하였다.

배지의 조제는 처리별로 성분량과 0.8% 한천을 넣은 후 pH 5.8로 조정하고 121°C에서 10분간 고압 멸균하였다.

배양조건은 처음 1개월은 암배양하였고 그 후에는 형광등 1,500lux 광도로 1일 16시간의 광조건으로 배양실의 온도는 25±1°C로 유지되도록 조절하였다.

배양조직으로부터 식물체 재분화를 유도하기 위하여 MS(Murashige and Skoog, 1962)배지에²⁷⁾ BA(6-benzyladenine) 0.2mg/ℓ에 2,4-D(2,4-Dichlorophenoxy acetic acid)를 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 및 1.0mg/ℓ의 농도로 혼합첨가하여 callus 형성 및 식물체 재분화율을 조사하였다.

조직배양을 통하여 얻어진 shoot의 기내증식에 적합한 배지를 탐색하고자 MS, GD(Gresshof and Doys, 1972)¹⁰⁾, WPM(McCown and Lloyd, 1980)²⁶⁾, DKW(Driver and Kuniyuki-Walnut, 1984)⁷⁾ 및 B5(Gamborg et al, 1968)⁹⁾ 등 5종류의 배지에 NAA(1-Naphthalene acetic acid)와 BA를 각각 0.5mg/ℓ 넣어 배양하였고 shoot의 원활한 생육을 위하여 배지내 적정 pH를 탐색하고자 5.0, 5.3, 5.6, 5.9 및 6.2로 조절하였으며 활성탄의

영향을 검토하고자 0.1, 0.5, 1.0 및 2.0g/ℓ를 첨가하여 배양하였다.

또한 체세포 영양계 변이의 유도를 위하여는 MS배지에 2,4-D 1.0~2.0mg/ℓ를 첨가하였고 유식물체의 토양이식은 버미큐라이트와 질석 그리고 모래를 1:1:1로 혼합한 상태에서 순화하고 초기 생육을 조사하였다.

結果 및 考察

○ 조직배양에서의 shoot 형성

용담의 엽육 및 줄기조직을 배양하여 shoot를 형성하는데 적합한 식물생장조정물질의 농도를 탐색하고자 MS배지에 BA 0.2mg를 넣고, 2,4-D를 0.1~1.0mg/ℓ로 첨가하였을때의 결과는 표 1과 2와 같다.

엽육조직에서의 callus 형성은 NAA 0.1mg/ℓ에 BA 0.2mg/ℓ를 첨가할 경우 16%였다(사진 1).

기내 shoot의 형성은 배양조직에 따라 차이를 보였는데, 엽육조직은 2,4-D 0.5mg/ℓ와 BA 0.2mg/ℓ에서만 8% 이루어졌고(사진 4), 줄기조직에서는 전 조합에서 shoot가 형성되었으나, 2,4-D 0.1mg/ℓ와 BA 0.2mg/ℓ에서 가장 양호하여 24%를 보였다(사진 2).

배양조직에서 뿌리의 발생은 엽육조직에서는 대

Table 1. Effect of growth regulators on leaf tissue culture in *Gentiana scabra* Bunge.

Growth regulators(mg/ℓ)		No. of cultured leaves	No. of calli(%) induction	No. of shoots(%) regeneration	No. of roots(%) differentiation
2,4-D	BA				
0	0.2	50	2 (4)	0 (-)	4 (8)
0.1	0.2	50	8 (16)	0 (-)	6 (12)
0.3	0.2	50	2 (4)	0 (-)	0 (-)
0.5	0.2	50	6 (12)	4 (8)	4 (8)
0.7	0.2	50	6 (12)	0 (-)	4 (8)
1.0	0.2	50	2 (4)	0 (-)	0 (-)

Table 2. Effect of growth regulators on stem tissue culture in *Gentiana scabra* Bunge.

Growth regulators(mg/ℓ)		No. of cultured stems	No. of calli(%) induction	No. of shoots(%) regeneration	No. of roots(%) differentiation
2,4-D	BA				
0	0.2	50	2 (4)	6 (12)	0 (-)
0.1	0.2	50	4 (8)	12 (24)	0 (-)
0.3	0.2	50	8 (16)	4 (8)	0 (-)
0.5	0.2	50	8 (16)	6 (12)	0 (-)
0.7	0.2	50	0 (-)	2 (4)	0 (12)
1.0	0.2	50	6 (12)	4 (8)	0 (12)

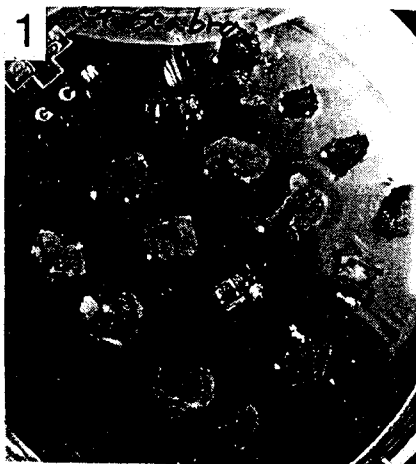


photo. 1. Callus induction from the leaf segment culture.

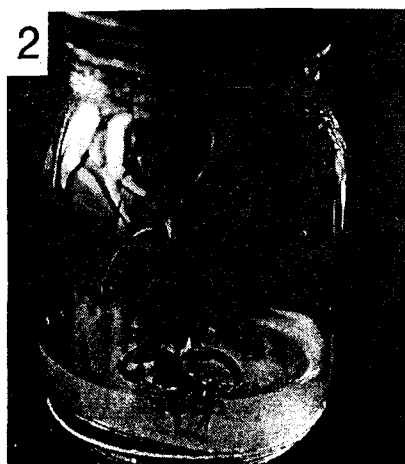


photo. 2. Regenerated plantlet from the stem segment culture.



photo. 3. Culture medium selection for *in vitro* propagation.



photo. 4. Regenerated plantlet from the leaf segment culture.

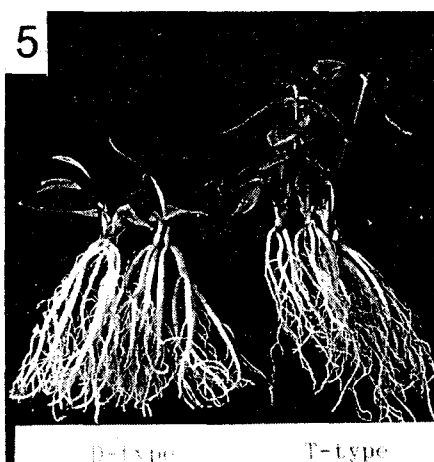


photo. 5. Morphological variations are exhibited in plant length and leaf shape.

부분의 처리에서 8~12%가 이루어졌으나 엽육조직에서 직접 분화하는 부정근이었으며, 줄기조직에서는 2,4-D 0.5mg/ℓ 까지인 저농도에서는 전혀 발생하지 않았고 0.7mg/ℓ 와 1.0mg/ℓ 첨가에서만 12%의 뿌리 분화율을 보였으나 shoot로부터 발생되는 정상근이었다.

어떤 종류의 조직배양에도 식물생장조정물질의 첨가는 필수적인 것으로 되어 있으나 식물의 종류와 배양부위 및 시기등에 따라 반응은 다르게 나타나며 배지에 성장조정물질을 넣어 배양효율을 증진시켰다는 보고는 많다.^{11,16,20,24,26)}

달래 성장점배양에서 callus 형성은 2,4-D 1.0mg/ℓ 첨가에 양호한 반면 식물체 분화에는 제한적으로 작용하였고, kinetin 2mg/ℓ 첨가에서 식물체 분화가 효과적이라고 하였다.^{22,23)}

산수유 액아유래 shoot의 기내증식에는 BA 0.5mg/ℓ 에 auxin을 첨가한 결과 2,4-D에서는 callus의 형성이 가장 왕성하였으나 shoot의 증식은 전혀 이루어지지 않았고, IAA와 IBA는 callus가 전혀 유도되지 않는 반면 multiple shoot형성이 양호하였으며 NAA에서는 callus형성과 shoot의 증식이 모두 이루어졌다고 보고하고 있다.³¹⁾

배양조직에서 callus 유도에는 2,4-D, NAA같은 auxin류가 단독으로 쓰이거나 cytokinin와의 혼용이 이용되고 있는데 식물의 종류에 따라 다양하게 사용되고 있다.²⁷⁾

큰용담의 조직배양에서 캘러스의 생체중은 NAA와 BA를 조합하여 첨가하였을 때 줄기절편보다 위에서 높다고 하였는데⁵⁾ 용담에서 배양조직별 Callus 형성율이 2,4-D와 BA를 혼용했을 때 잎과 줄기절편 모두 12~16%로 비슷하게 조사되었다.

한편, shoot의 형성은 배양조직에 따라 차이를

보여 엽에서 4개를 얻었고 줄기절편에서는 28개의 식물체를 획득하였는데 캘러스를 형성하지 않고 직접 식물체를 분화하였다(사진 2).

큰용담에서는 유도한 캘러스를 분화배지에 옮겨 재분화식물체를 얻고자 하였을 때 옆 유래 캘러스에서는 전혀 얻을 수 없었고, 줄기캘러스에서 2개, 줄기마디에서 82개의 식물체를 얻을 수 있었다고 하였는데⁵⁾ 배양조직에 따른 식물체 재분화는 용담, 큰용담 모두 옆조직에 비하여 줄기조직에서 양호함을 알 수 있었다.

○ 재분화 식물체의 기내 증식과 생육

조직배양에서 얻어진 shoot를 기내증식시킬 경우 적합한 배지를 탐색하고자 DKW배지등 5종류의 배지에 NAA 0.5mg/ℓ 를 첨가하여 배양한 결과는 표 3과 같다.

식물체를 배양하여 약 60일경에 증식된 식물체 수는 MS배지에서 5.0개로 가장 많았고 B5배지가 3.0개, GD배지가 2.3개였으며 DKW와 WPM은 1.8로 저조하였다(사진 3).

하지만 식물체 생육은 GD배지에서 양호하여 초장 7.9cm, 엽수 9.2매로 식물체의 증식은 MS배지보다 약간 떨어졌지만 개체생육은 건실하였다.

호도나무류와 산수유의 기내 배양에서 WPM배지를 수정한 DKW배지가 양호한 생장을 보이고,³³⁾ 관상죽 절편 배양에서는 MS배지에서 shoot의 생육과 발근율이 적당하다고 하였는데,¹⁶⁾ MS배지와 DKW배지는 암모니아태질소와 질산태질소를 합하여 60mM의 질소를 포함하며 B5배지는 40mM, GD배지는 20mM 그리고 WPM배지는 10mM을 함유하고 있다.^{7,9,10,26,27)}

배지내 암모니아태질소와 질산태질소의 비율은

Table 3. Effect of five different media on the plant propagation in *Gentiana scabra* Bunge.

Medium	No. of propagated plants	plant length(cm)	No. of leaves	Growth
GD	2.3	7.9	9.2	excellent
B5	3.0	6.9	8.0	good
MS	5.0	5.8	8.5	excellent
DKW	1.4	2.7	5.7	good
WPM	1.8	2.6	4.2	moderate

※ GD : Gresshoff and Doy's (1972)

B5 : Gamborg et al (1968)

MS : Murashige and Skoog (1962)

DKW : Driver and Kuniyuki-Walnut (1984)

WPM : McCown and Lloyd (1980)

※ In addition to the MS medium was 0.5mg/ℓ NAA and 0.5mg/ℓ BA.

shoot 및 뿌리의 형성과 생육에 중요한 역할을 하며 암모니아태질소는 세포생장에 효과적이라고 알려져 있다.

이상의 결과에서 용담의 경우 기내증식에 가장 적합한 배지는 MS배지이고, GD배지는 기내생육에 양호한 배지로 조사되어 기내배양에 의한 식물체 번식에는 질소함량과 무기이온의 농도를 높여 주는 것이 효과적이라고 생각된다.

기내배양에서 활성탄소의 첨가는 생장을 억제하는 phenylacetic acid, P-OH benzoic acid의 수준을 낮추고 배지를 antoclaving할 때 생성되는 억제물질인 5-hydroxymethylfurfural과 기타 배지에 첨가된 auxin과 cytokinin 등도 흡수하는 것으로 알려져 있다.^{3,6,11,24)}

표 4는 용담의 기내배양에 미치는 활성탄소의 영향을 조사한 것인데 배지내 활성탄의 첨가농도가 증가할수록 기내생육은 양호하여 0.1g/ℓ에서는 3.3개인데 비하여 고농도인 2.0g/ℓ에서는 2.8개로 감소되었다. 기내에서 무균 발아한 *Dendrobium*의 shoot는 활성탄소의 농도가 1g까지 증가할수록 기내생장이 촉진되고 뿌리형성도 양호하다고 하였고,¹⁸⁾ 바나나의 기내 번식에서도 배지내 활성탄 1~2g을 함유한 경우에 뿌리의 발생수가 증가하고 뿌리의 길이도 길어지며 발근 기간도 단축되는 효과가 있다고 하였다.¹⁷⁾

한편, *Beta vulgaris*의 정단배양에서는 활성탄 1~0.5% 첨가처리는 전반적으로 무첨가 배지에 비해 발근율이 낮아 효과가 인정되지 않는다고 하였는데,³²⁾ 이와 같이 활성탄소는 배양식물체의 생육을 저해하는 유해물질을 흡수하기도하고 생육을 촉진시키는 성장조정물질까지 과잉흡착하여 그 작용을 경감하기도 하는데, 용담의 기내배양에서는 활성탄은 저농도로 조절한 경우에는 shoot의 증식이 많았고 1~2g/ℓ 첨가한 배지에서는 shoot의 증식수는 약간 감소 되었으나 초장, 엽수 등의 개체생육은 현저하게 양호하였는데 1g/ℓ 이상에서

Table 4. Effect of activated charcoal on the shoot growth in *Gentiana scabra* Bunge.

Activated charcoal (g/ℓ)	No. of propagated shoots	Shoot length (cm)	No. of leaves
0.1	3.3	3.2	7.6
0.5	3.5	3.2	9.7
1.0	2.9	3.3	9.7
2.0	2.8	4.1	7.1

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

는 활성탄이 배양중에 유해물질 이외에 성장조정물질까지 흡착하기 때문이라고 생각된다.

표 5는 shoot의 기내 생장에 미치는 수소이온 농도(pH)의 영향을 조사한 것이다. shoot 증식수는 pH 5.0에서 1.1개인데 비하여 pH 6.2에서 2.1개로 pH가 높아질수록 증가하는 경향이되나 6.2에서 엽수가 감소되며 엽색도 노랗게 황화되어 생육이 부진하였다.

일반적으로 배지의 초기 pH는 절편체의 생존율이나 생장에 영향을 미치며 배양기간이 경과함에 따라 pH는 변화하는데 성장속도가 빠를수록 배지의 pH가 급격하게 산성쪽으로 기울어진다고 한다.^{3,11,17,31)}

배양기내의 적정 수소이온농도(pH)는 5.0~6.0 범위로 알려져 있으나 cymbidium의 protocorm 증식은 pH 4.0에서 기관 발생이 양호하였고,³¹⁾ 달래의 callus 배양에서는 pH로 조절한 배지에서 callus유도가 가장 우수하였다고 하였다.^{22,23)}

따라서 조직배양시 배지의 적정 pH는 식물에 따라 다르다는 것을 재확인 할 수 있었고 용담의 기내증식과 생육에는 pH 5.9 범위가 가장 적합한 것으로 생각되었다.

Table 5. Effect of pH on the shoot growth in *Gentiana scabra*. Bunge.

pH	No. of propagated shoots	shoot length(cm)	No. of leaves	Growth
5.0	1.1	2.4	6.3	poor
5.3	1.2	2.6	6.2	moderate
5.6	1.5	2.6	6.4	good
5.9	1.7	2.5	7.2	excellent
6.2	2.1	3.2	4.8	moderate

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

Table 6. Comparison of plant growth on the two somaclones in *Gentiana scabra* Bunge.

Plant type	No. of plant (%)	Plant length (cm)	No. of leaves (cm)	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	No. of roots (cm)	Root length
Tall	24 (63)	5.9	8.3	1.9	0.9	4.9	5.7
Dwarf	14 (37)	3.6	4.6	2.4	2.2	5.2	5.1

※ In addition to the MS medium was 1.0~2.0mg / ℓ 2,4-D and 0.2mg / ℓ BA.

○ 체세포 영양계 변이의 유도

용담 줄기조직을 MS배지에 BA 0.2mg / ℓ 과 2,4-D 1~2mg / ℓ를 첨가하여 재분화된 식물체를 90일간 기내배양하고, 퍼라이트와 질석 그리고 모래를 1:1:1로 혼합한 상태에 순화하고 90일후에 식물체의 초기생육을 조사한 결과는 표 6에 나타나 있다.

조사한 순화식물체 38개 중에서 식물체의 초형은 2가지로 구분되었는데 키가 크고 엽이 작은 신장형이 63%였고, 키가 작고 엽이 넓은 특성을 지닌 위축형이 37%였다.

신장형은 초장이 5.9cm로 길었지만 위축형은 3.6cm로 작았고 엽폭은 신장형이 9mm로 좁은 반면 위축형은 22mm로 매우 넓었다(사진 5).

하지만 뿌리의 생육은 큰 차이가 없었다.

조직배양을 통해 재분화된 식물체에서 여러가지 표현형적인 형질변이가 나타남이 보고되는데 이러한 변이중 작물개량에 적합한 형질들은 재분화식물체의 선발을 통해 계속 개발중에 있다.^{2,8,13,14,25)}

담배에서는 잎의 생산량, 잎의 수, 잎의 길이 및 폭, 당분함량 등에서 차이를 나타내는 somaclone이 선발된바 있으며²⁵⁾ 토마토에서는 과육이 단단한 형질을 나타내는 변종과 질병에 내성을 가지는 계통이 선발된바 있다.⁸⁾

무릇(*Scillia scilloides* complex) 재분화 개체에서도 엽형과 엽수등의 변이체를 보고하고 있다.

체세포변이의 기원은 아직 확실하게 밝혀지지 않고 있는 실정이지만 배양세포의 염색체 불안정성의 요인은 배양조직에 따른 차이를 보이므로 변이성이 세포내에 내재되어 있거나, 배지내의 성장조정물질이 돌연변이원으로 작용한 경우, callus단계가 stress조건이 된경우 등으로 추정하고 있다.^{13, 14)}

용담 기내배양에서 얻어진 체세포변이주는 배지내 성장조정물질로 2,4-D를 1~2mg / ℓ를 첨가하여 주었으므로 2,4-D가 돌연변이 유발원으로 작용하여 발생한 것으로 생각된다.

摘 要

용담은 뿌리에 Gentiopicroside 등의 성분을 함유하고 있어 한방에서 고미진위약으로 이용되는데 수요전량을 야생채취에 의존해왔으나 공급의 절대 부족으로 '92년에는 46,183kg을 수입, 매년 그 양이 증가하고 있는 실정이나 실생에 의한 증식이 곤란하여 아직까지 재배화 되지 못하고 있는바, 종묘 생산을 위한 기내 대량증식 가능성을 검토하였다.

1. 엽육 조직배양시 MS 배지에서의 callus 형성율은 2,4-D 0.1mg / ℓ에 BA 0.2mg / ℓ 첨가에서 16%를 보였고 shoot의 형성은 2,4-D 0.5mg / ℓ에 BA 0.2mg / ℓ에서만 8% 이루어졌으며
2. 경편배양에서 shoot의 형성은 2,4-D 0.1mg / ℓ에 BA 0.2mg / ℓ 첨가에서 24% 이루어졌고 식물체 기내 생육은 2,4-D 0.5mg / ℓ에 BA 0.2mg / ℓ 처리가 가장 양호하였다.
3. 배지의 종류에 따른 shoot의 길이와 평균엽수는 GD배지에서 7.9cm와 9.2매로 가장 좋았으나 shoot의 증식수는 MS배지가 5.0로 가장 많았고 B5>GD>WPM>DKW 배지의 순으로 좋았으며
4. 배지의 pH별 시험에서는 5.0에서 6.2까지 높아질수록 shoot 길이와 증식수가 증가하는 경향이 있었지만 식물체의 정상적 생육은 pH 5.9에서 가장 양호하였으며, 배지내 활성탄의 첨가농도가 2g까지 높아질수록 shoot 길이가 증가하여 개체의 생육은 건전하였으나 shoot 증식은 감소되는 경향이였다.
5. MS 배지에 2,4-D 1.0~2.0mg / ℓ 처리에서 유도한 체세포 돌연변이주는 키가 큰 신장형이 63%였고, 작은키의 위축형은 37%였다.

引用 文 獻

1. Bajaj Y.P.S., Furmanowa M, Olszowska O. 1988. Biotechnology of the micropro-

- pagation of medicinal and aromatic plants In agriculture and forestry, vol 4. Medicinal and aromatic plants I 60-103.
2. Bang, J.W. and H.W. Choi. 1991. Somaclonal variation in Tissue Culture of *Scilla scilloides* complex. Abstracts, 3rd ISPMB, Tucson AZ, USA.
 3. C.Harn. 1987. Somatic embryogenesis and its use in the plant breeding. Korean J. Plant tissue culture 14 : supplement p248.
 4. Chevre, A.M.S.S.Gill, A. Mouras and Salesses 1983. *In vitro* vegetative multiplication of Chestnut. Jour. Hort. Sci. 58 : 23-29.
 5. 조문수, 장정자, 권순태. 1992. 큰용담(*Gentiana axillariflora* var *coreana*)의 기내증식을 위한 절편체 종류별 배양조건 구명. 식물조직배양학회지 19(6) : 357~362.
 6. 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.
 7. Driver, J. A. and A. H. Kuniyuki. 1984. *In vitro* propagation of paradox walnut rootstock. Hort. Science 19 : 507-509.
 8. Evans, D.A. 1989. Somaclonal variation : Genetic basis and breeding application. Trends in Genet. 5 : 46~50.
 9. 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.
 10. Gresshoff, P.M. and C.H.Doy. 1972. Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculantum*(tomato).
 11. 한창열, 이세영. 1985. 유전공학(농업적 이용) 일조각
 12. 한국 의약품 수출입 협회. 1992. '92 의약품등 수출입 실적표. p591.
 13. Karp, A. 1988. Origins and causes of chromosome instability in plant tissue culture and regeneration. Kew Chromosome Conference III. HMSO : 185~191.
 14. Karp, A. and S.W.J. Bright. 1985. On the causes and origins of somaclonal variation. Oxford survey of plant molecular and cell biology vol(2) B.J.Meflin : 199~234. Oxford Univ. Press.
 15. 김재길, 신영철. 1992. 약용식물 재배학. 남산당.
 16. 김정희, 윤기식, 최재식, 윤상태. 1991. 기내배양에 의한 관상죽(*Arundo domax* var *versicolor*)의 대량증식. 식물조직배양 18(5) : 291~296.
 17. 김규원, 백기엽, 정근식, 정재동, 최광태. 1987. 식물조직배양기술, 향문사 p.369
 18. 이철희, 심걸보, 백기엽, 최주건. 1985. 난과식물 유묘배양시 몇가지 첨가 물질이 부정아 및 부정근 발생에 미치는 영향. 식물조직배양학회지. 12(2) : 9~16.
 19. 이정일, 이승택, 성낙술, 박래경. 1991. 국내 약용작물 연구 현황과 금후 연구방향. 약용식물의 안정생산과 연구방향 : 6~23.
 20. 이정일, 성낙술, 장영선, 채영암, 김길용. 1992. 약초류 조직배양 기술배양 및 이용연구 농촌진흥청 특정연구 보고서 : 1~53.
 21. 이중호, 한창열, 이병기, 이만상. 1981. 마늘의 callus 유기, 식물체재분화 및 callus 이용에 관한연구. 원대농대농문집 (4) : 3~22.
 22. 이중호, 한창열, 이영렬. 1979. 달래(*Allium monanthum*)의 callus유기에 관한 연구. 식물조직배양학회지. 2(1) : 13~16.
 23. 이만상, 이중호, 방극수. 1986. 달래(*Allium monanthum*)의 조직배양에 관한 연구 식물조직배양학회지 13(1) : 29~36.
 24. 이승엽, 김태수, 김현순, 이영태. 1988. 시호(*Bupleurum falcatum* L)의 체세포 발생연구. I. 생장조정물질, Glutamine 및 활성탄의 영향. 한육지 20(3) : 15~22.
 25. Mantell, S. H. J. A. Matthews, and R.A. Mckee. 1985. Principles of plant biotechnology. 99 : 168~171. Blackwell Scientific Publications.
 26. McCown, B.H G.E.Lloyd. 1980. Influence of light and temprature in callus culture. Amer. J. Bot. 57 : 148~152.
 27. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15 : 473~497.
 28. Nishioka, I. 1988. Clonal multiplication of medicinal plant by tissue culture. Shoyakugaku Zasshi 42(1) : 1~11.

29. 농림수산부. 1992. '92 특용작물 생산실적.
30. 오성도, 송원섭, 김진수, 박인현. 1991. 유자나무(*Citrus junos*)의 기내증식에 관한연구. I. 신초정단에서 유기된 callus로 부터 식물체재분화. 한원지 32(1) : 87~96.
31. 백기엽, 김재기. 1985. Cymbidium Protocom 배양시 배지의 pH가 기관발생과 무기물 흡수에 미치는 영향. 식물조직배양학회지 12(2) : 1~8.
32. 백기엽, 김주동, 강상준. 1987. 사탕무우(*Beta vulgaris* L.) 정단배양시 Sodium sulfate가 생장에 미치는 영향. 식물조직배양지 14(1) : 1-10.
33. 박충현, 성낙술, 이승택, 연규복, 손서규. 1993. 산수유(*Cronus officinalis*)의 기내증식에 관한 연구. I. 액아배양에 의한 callus유도, shoot증식 및 뿌리분화. 약작지 1(1) : 63~69.
34. 박인현, 이상태, 안상득, 송원섭. 1990. 약용식물재배. 선진문화사.
35. 박교수, 박시원, 정대영. 1990. 호도의 배양에 미치는 배지 조성과 식물성장조정제의 영향. 식물조직배양 17(2) : 109~118.