

용담의 기내 개화 및 증식에 관한 연구

손병구[†] · 최영환 · 안종길 · 조 동 · 권오창* · 박정기*

[†] 밀양산업대학교 원예학과
동아대학교 원예학과*

Effect of Plant Growth Regulators on Flowering and Micropropagation of *Gentiana scabra* Bunge *In Vitro*.

Beung-Gu Son[†], Young-Whan Choi, Chong-Kil Ahn, Dong Cho,
Oh-Chang Kwon*, Jung-Ki Park*

Department of horticulture Miryang National University, Miryang 627-130, Korea
*Department of Horticulture Dong-A University, Pusan 604-714, Korea**

Abstract

Experiments were conducted to determine the effects of plant growth regulators on *in vitro* flowering and micropropagation of *Gentiana scabra* Bunge which had been used the cut flower, pot flower ornamental and medicinal plants.

Flower bud formation was affected by GA₃ and kinetin. The optimum concentrations for flower bud formation was observed at 0.5 mg/l kinetin and GA₃, while kinetin was favorable. More flowerings result from the interaction of GA₃ and kinetin at in a combination of 0.1 mg/l kinetin+0.1 mg/l GA₃, but the optimum concentration of GA₃ and kinetin was decreased. All concentrations of kinetin with 0.1 mg/l GA₃ or 0 mg/l GA₃+0.5 mg/l kinetin reduced T₅₀(weeks needed for 50% plantlets). The plantlet growth was affected by GA₃ and kinetin during plantlet culture. More lateral shoots and better shoot length per plantlet were obtained as GA₃ and kinetin concentration were increased up to 1.0 mg/l. The number of per plantlet was greater increased in MS medium containing GA₃ than kinetin. Interaction was exhibited at lower concentration with 0.5 mg/l GA₃ and kinetin, but not in higher concentration with 1.0 mg/l GA₃ and kinetin.

Higher pod diameter increased seed germination, while lower pod diameter was obtained from abnormal plantlet. MS medium containing 0.5 mg/l GA₃ significantly increased germination without regard to pod diameter.

Key words : *Gentiana Scabra* Bunge, *in vitro*, flowering, GA₃, kinetin, seed germination

[†] Corresponding author

서 론

자생식물인 용담은 다년생 숙근초로서 청자색의 꽃이 아름다워 절화용으로서 이용 가치가 높을 뿐아니라, 뿌리는 건위, 설사, 계소, 간질, 경풍, 회충, 심장염 및 습진 등의 한방제로 이용되고 있다. 그러나 용담은 화훼용으로서 이용 및 번식에 관한 연구가 거의 이루어져 있지 않으며, 번식시 많은 문제점이 있다. 실생법은 과중하여 개화하기 까지 2년 이상이 소요되며 변이체가 많이 발생하여 상품가치가 떨어지고, 삽목과 분주법은 단기간에 대량증식이 어려우므로¹⁾ 새로운 대량증식법의 개발이 절실히 요구 된다. 조직배양에 의한 증식법의 장점은 유전적으로 안정된 식물체를 단기간 내 대량생산 가능, 균일한 생육 및 개화기 등이 일정하여 계획적인 재배관리나 출하 가능, 단위면적당 수량 증가, 상품의 품질 향상, 시장가치 증가 등의 장점이 있다.

식물체의 기내개화는 광주기, 온도, 영양상태 및 생장조절제에 의해서 조절되는데^{2, 3)}, 이러한 환경요인에 의한 내생의 생장조절제 즉 사이토키닌, 오옥신, GAs, 에틸렌 및 ABA 등의 상호작용에 의해서⁴⁻⁶⁾ 이루어진다고 하였다. 개화에 영향을 미치는 식물생장조절제의 단일 효과는 사이토키닌은 개화를 촉진시키고⁷⁻¹³⁾, 오옥신은 억제^{5, 14, 15)}, GAs는 종에 따라 개화 촉진¹⁶⁾ 또는 억제¹⁷⁾, 그 외 촉진시키는 물질로는 당질^{18, 19)}, coumarin²⁰⁾, 아미노산, 이노시톨¹¹⁾ 등이 있다.

따라서 본 시험에서는 자생식물로서 꽃이 아름답기 때문에 실내분화, 절화 및 화단용으로서 뿐만 아니라 한약으로서 이용 가치가 높은 용담의 기내개화 생리 연구, 기내 종자발아 등의 연구에 의한 기내개화 및 대량증식체계를 위한 기초 자료를 얻기 위하여 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

공시 재료의 무균발아

용담(*Gentiana scabra Bunge*) 종자는 밀양시 사자평의 야산에서 채취하여 시험에 사용하였다. 꼬투리의 직경을 5 mm이하, 5-8 mm, 8 mm 이상으로 분류하여 증류수로 깨끗이 세척하고, 70% 에탄올에 1분, 15%의 락스(유한양행)에 10분간 멸균 처리하여 멸균수로 5회 수세 후, 30g sucrose, 8% agar와 0.5 mg/l GA₃ 첨가 혹은 무첨가된 MS21) 배지위에 종자를 치상하여 30일 동안 발아시켰다.

전체 실험을 통하여 특별한 언급이 없는 한 배지는 10cm 플라스틱 페트리디쉬에 20ml를 부어서 배양하였다. 환경조건은 22±2°C, 2,000lux, 16시간의 광, 8시간의 암하에서 배양하였다.

기내개화

기내 개화 유도 및 식물체의 생육을 위하여 0.0, 0.1, 0.5, 1.0mg/l BAP와 GA₃를 조합하여 첨가한 MS배지를 10 cm 시험관에 10ml를 부은 후 1cm 길이의 마디를 치상하여 18주간 개화 및 생육을 조사하였다. 화뢰형성의 판정은 화뢰의 직경이 2mm 이상되는 것을 화뢰가 형성된 것으로, 꽃잎이 전개된 것을 개화로 간주하였다.

결과 및 고찰

식물생장조절제 처리에 의한 기내 개화 유도

용담의 기내 개화를 유도하기 위하여 GA₃와 kinetin을 농도별로 조합처리하여 18주 동안 화뢰의 출현시기(그림 2) 및 개화기를 조사한 결과는 Table 1에 나타내었다. 꽃은 기내에서 개화한 것과 야산에서 개화한 것간의 차이는 없었으며, 기내개화 꽃의 관상가치가 충분히 있는 것으로 사료되었다(그림 1). 화뢰의 출현율은 0.5mg/l kinetin을 첨가하였을 때 가장 높았다. 화뢰형성이 가장 잘되었던 0.5 mg/l kinetin처리구에 GA₃를 첨가하였을 경우에는 GA₃의 농도가 높을 수록 화뢰형성율이 감소하였으나, 0.1mg/l kinetin처리구에 GA₃를 첨가하였을 경우에는 화뢰형성이 오히려 촉진 되어 상승효과를 나타내는 경우도 있었다. 이러한 원인은 화뢰형성이 충분하지 못할 경우에는 두 생장조절제간의 상호작용의 효과 때문일 것으로 사료된다. GA₃ 단독 처리 역시 0.5 mg/ 까지 농도가 높을 수록 화뢰형성율을 증가시켰으나, kinetin과 GA₃ 모두 1.0mg/l 이상의 고농도일 경우에는 오히려 화뢰형성을 억제시키는 경향이 있었다. 개화율은 0.1mg/l GA₃를 첨가하였을 경우에 kinetin 농도에 관계없이 가장 높으며, kinetin처리에 의한 개화 촉진 효과는 0.5 mg/l을 첨가시켰을 때 촉진 효과가 있었다. 화뢰가 50% 형성되는데 걸리는 주수(T₅₀)는 0.1mg/l GA₃를 첨가하였을 때 kinetin의 농도에 관계없이 11~14주 이었으며, 화뢰 형성율이 가장 높았던 0.1mg/l kinetin첨가를 제외한 다른 처리구에서는 50% 이상 화뢰가 형성되지 않았다.

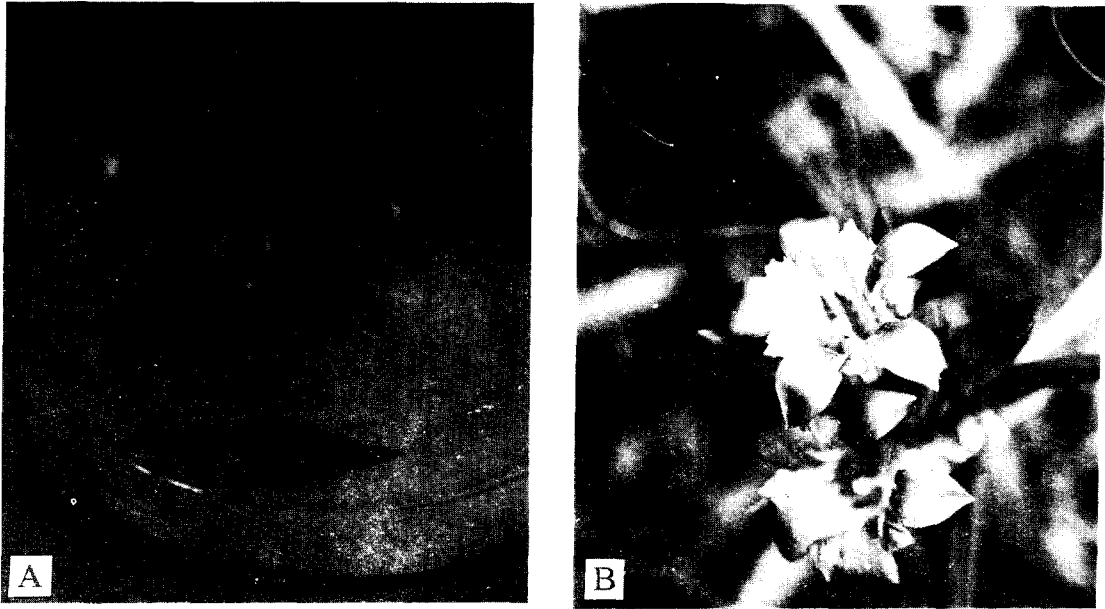


Fig. 1. Comparison with *in vitro* (A) and *in vivo* (B) flower.

사이토키닌은 여러 종류의 식물체 기내개화에 필요로 하는 물질^{7, 9, 10, 12, 13)}이라고 하였는데, 본 시험의 경우에도 kinetin은 개화를 촉진시켜 이들의 보고와 일치하는 경향이 있었다.

GAs는 침엽수의 경우 유년기에서 개화상태로 변화를 유도하나⁶⁾, 피자식물의 경우에는 개화하지 않게하거나 유년상으로 전환시킨다^{17, 22)}고하여 식물의 종에 따라 개화를 촉진 또는 억제시킨다²⁾고 하였다. 용담의 경우에는 침엽수와 마찬가지로 GA₃의 처리가 화퇴형성을 촉진시켰다.

식물체의 개화는 환경요인과 영양물질의 자극에 의해서 합성된 내생의 개화촉진 혹은 억제 호르몬 단독이나 상호작용에 의해서 결정된다⁴⁻⁶⁾. 본 실험의 경우에도 화퇴형성은 GA₃를 처리하였을 경우에 효과가 가장 좋았으며, kinetin도 약간의 효과가 있었으나, 화퇴형성이 가장 잘되었던 농도에서는 혼용을 함으로써 오히려 감소하는 경향이 있었다. 이러한 결과는 사이토키닌은 기내개화에 중요한 영향을 미치며, 그 작용은 유년기의 조직으로부터 개화를 유발하기 위하여 개화촉진 구성원소로서 사이토키닌을 포함한 다수요인 개화촉진물질 (multi-factored flowering stimulus)이 존재할 것이라고 한^{5, 6, 13, 23)} 결과와는 차이가 있었으며,

용담의 경우 두 생장조절제간의 개화촉진 상승효과는 없었다. 또한 화퇴형성을 위한 최적농도에서 개화 촉진을 위한 개화촉진 원소로서 GA₃와 kinetin이 각각 필요로 하는 다수요인은 아니었다. 그러나 최적농도 이하의 농도에서는 두가지 생장조절제간에 상호작용이 인정되었다.

생장조절제 처리가 기내유식물체 생육에 미치는 영향

GA₃ 및 kinetin처리가 식물체의 생육에 미치는 영향을 검토한 결과 (Table 2), 절편체당 측지수에 대한 GA₃의 효과는 kinetin첨가 농도에 관계없이 농도가 높을 수록 많았다. Kinetin처리 효과는 GA₃와 혼용하지 않은 단독처리에서는 효과가 없었고, 0.1과 0.5mg/l GA₃를 혼용하였을 경우에는 농도가 높을 수록 측지수가 많아지는 경향이 있었다.

또한 측지수는 GA₃를 첨가한 것이 kinetin처리하는 것 보다는 많았으며, 각 생장조절제의 농도 및 상호간의 효과는 GA₃와 kinetin처리시에는 고도의 유의차가 인정되었으나 두 생장조절제간의 상호간 유의차는 인정되지 않았다. 신훈의 길이는 1.0mg/l GA₃+0.5mg/l kinetin처리구에서 가장 길었으나, 0.5mg/l GA₃를 첨가하였을 경우에는 저 농도에서 보다 억제되는 경향이 있었다. 신훈의 길이생장은

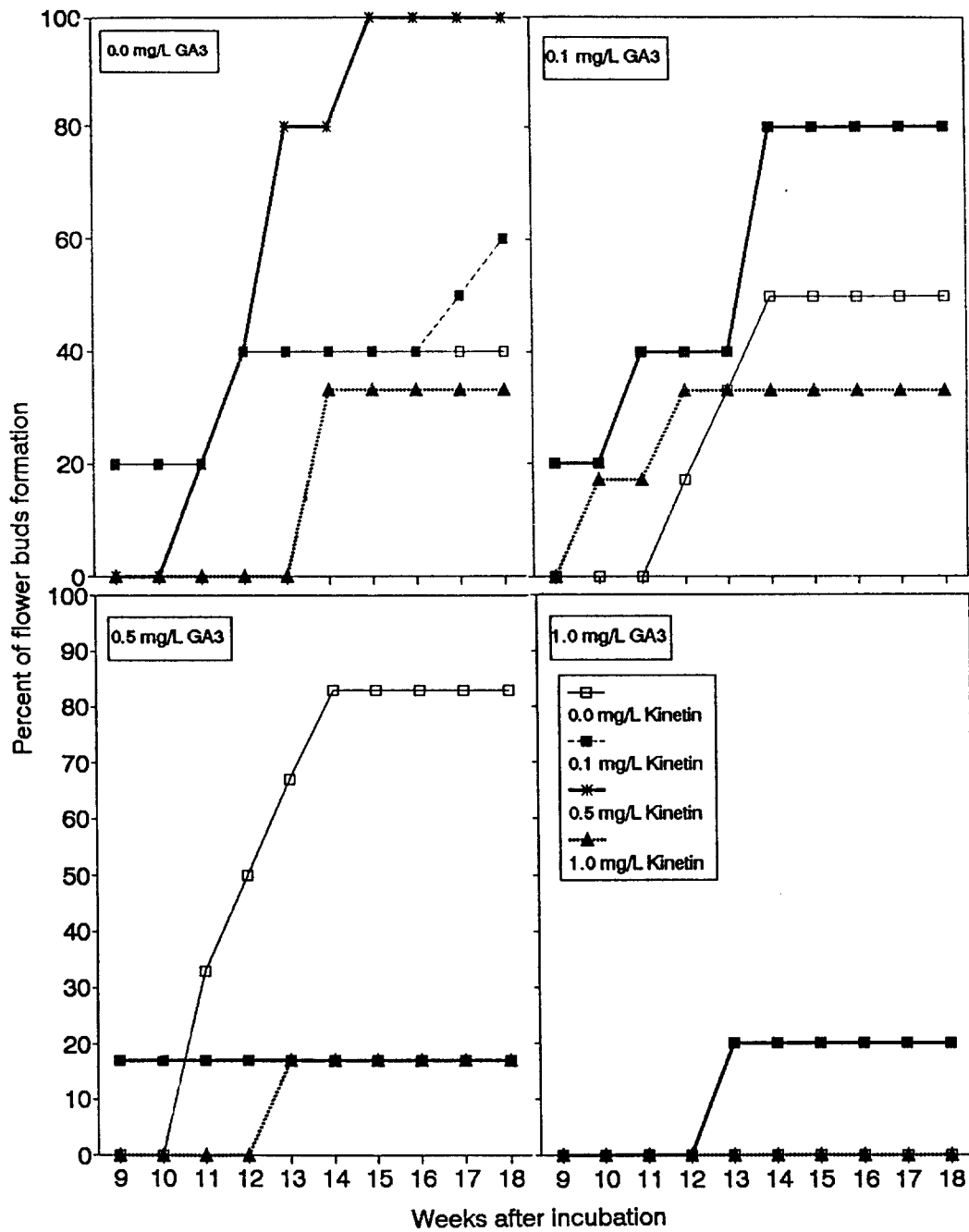


Fig. 2. Effect of GA₃ and kinetin on percent of flower bud formation per plantlet. Shoot segments were cultured for 18 weeks on MS basal medium containing various concentrations of GA₃ and kinetin in the 16 hours day-length at 22°C.

Table 1. Effects of GA₃ and kinetin on number of flower buds, flowering and T₅₀ of *Gentiana scabra* Bunge.

Plant growth regulators (mg/ℓ)		Number of flower buds(≥ 2 mm) per plantlets ^{z)}	Number of flowering per plantlets	T ₅₀ (weeks) ^{y)}
GA ₃	Kinetin			
0.0	0.0	0.60	0.40	—
0.0	0.1	0.75	0.33	—
0.0	0.5	1.00	0.40	13
0.0	1.0	0.50	0.00	—
0.1	0.0	1.00	0.80	14
0.1	0.1	1.40	0.60	14
0.1	0.5	1.00	0.25	11
0.1	1.0	0.50	0.33	12
0.5	0.0	1.00	0.17	—
0.5	0.1	0.33	0.00	—
0.5	0.5	0.42	0.00	—
0.5	1.0	0.17	0.00	—
1.0	0.0	0.00	0.00	—
1.0	0.1	0.42	0.20	—
1.0	0.5	0.50	0.00	—
1.0	1.0	0.00	0.00	—
LSD	(0.05)	0.41	0.23	
Significance		Values of F		
GA ₃		* ^{x)}	**	—
Kinetin		NS	NS	—
GA ₃ * Kinetin		NS	NS	—

z), Plantlets cultured on MS basal medium containing each concentrations of GA₃ and kinetin at 22°C with 16 hours day-length for 18 weeks.

y), T₅₀ : Weeks needed for 50% plantlets to flower bud formation.

x), Nonsignificant (NS) or significant at the 5% (*) and 1% (**).

GA₃의 농도 및 GA₃와 kinetin 상호간에는 고도의 유의차가 인정되었으나 kinetin의 농도간에는 유의차가 인정되지 않았다. 절편체당 생체중은 신초의 발생수가 가장 많은 고 농도의 GA₃처리구에서 가장 높았으나, kinetin의 농도가 증가할 경우에는 오히려 감소하였다. 각각의 생장조절제 농도 간 유의차는 인정되지 않았으나 상호간의 유의차는 인정되었다. 절편체당 뿌리의 발생수는 GA₃의 농도가 높을 수록

적었고, kinetin의 첨가 효과는 0.0 또는 0.1mg/ℓ의 저농도의 GA₃를 첨가하였을 경우에는 0.5mg/ℓ kinetin을 첨가하였을 때 가장 많았고, 0.5mg/ℓ GA₃ 이상의 고 농도에서는 오히려 억제하는 경향이였다. 뿌리의 생체중도 뿌리 수와 비슷한 경향을 나타내었으며 뿌리수와 생체중에 대한 통계처리 결과는 GA₃농도간에는 유의차가 인정되었으나 kinetin 또는 상호작용간에는 차이가 없었다. 생육에 대한

Table 2. Effects of GA₃ and Kinetin on axillary branch number, shoot length (cm) and weight (mg/explant) and root number and weight (mg) of *Gentiana scabra* Bunge.

Plant Growth regulators(mg/ℓ)		Lateral shoot number per plantlet ^{z)}	Shoot		Root	
GA ₃	Kinetin		length(cm)	weight(mg)	Number	weight(mg)
0.0	0.0	3.4	12.50	254	10.0	86
0.0	0.1	2.3	9.95	153	7.0	78
0.0	0.5	3.6	9.80	227	12.8	124
0.0	1.0	4.7	11.38	214	10.7	78
0.1	0.0	4.8	10.77	167	2.8	31
0.1	0.1	6.8	9.40	228	6.2	28
0.1	0.5	8.0	11.55	236	10.0	99
0.1	1.0	8.7	9.80	212	4.3	25
0.5	0.0	8.8	7.77	194	6.2	47
0.5	0.1	9.5	6.25	231	8.8	58
0.5	0.5	12.4	7.00	216	8.0	51
0.5	1.0	20.7	10.38	378	6.2	36
1.0	0.1	26.5	11.12	366	9.3	36
1.0	0.1	22.4	14.10	227	9.6	37
1.0	0.5	20.7	15.00	262	6.0	25
1.0	1.0	31.8	10.33	136	5.2	31
LSD	(0.05)	3.3	1.74	63	3.0	26
Significance		Values of F				
GA ₃		** ^{y)}	**	NS	*	**
Kinetin		*	NS	NS	NS	NS
GA ₃ *kinetin		NS	*	*	NS	NS

z), Plantlets cultured on IS basal medium containing each concentrations of GA₃ and kinetin at 22°C with 16 hours day-length for 18 weeks.

y), Nonsignificant (NS) or significant at the 5% (*) and 1% (**).

결과를 얻기 위해서는 전체 측지수와 신초길이 등이 고려되어야 할 것이다.

기내배양에 의한 신초의 생장에 관한 연구가 많이 보고되어 있는데, *Cephaelis*의 줄기 신초생장²⁴⁾과 줄기마디²⁵⁾는 BAP와 NAA 조합처리에서 신초가 많아 증가한다고 하였다. 또한 *Camellia*는 BAP의 농도가 증가하면 신초 형성율은 높고, 반대로 NAA의 농도가 증가하면 낮다고 하였다²⁶⁾.

본 실험에서는 GA₃와 kinetin의 농도가 1.0mg/ℓ까지

높을수록 절편체당 신초수가 많았고, 사이토키닌류 보다는 GA₃의 효과가 좋았는데, 1.0mg/ℓ GA₃첨가의 경우 25.5개, 1.0mg/ℓ kinetin 첨가의 경우 4.7개로서 동일한 농도에서 GA₃가 kinetin보다는 측지의 발생을 촉진시키는 것으로 나타났다. Kinetin을 단독으로 처리하는 것보다는 0.5 mg/ℓ GA₃를 혼용하였을 때 그 효과가 높아 두 생장조절제간에 상호작용이 있는 것으로 나타났다. 그러나 고 농도에서는 그 효과가 없었으며, 투명화묘가 발생하여 건전묘의

Table 3. Effect of size of pod and GA₃ on germination of *Gentiana scabra* Bunge.

Pod diameter(cm)	Concentration of GA ₃ (mg/ℓ) in M basal medium	Percent of germination after 1 months
Pod<0.5	0.0	8.3
	0.5	17.7
0.5<Pod≤0.8	0.0	12.0
	0.5	25.3
Pod>0.8	0.0	15.3
	0.5	52.3
LSD	(0.05)	6.5
Significance		
Pod diameter		** ^{z)}
GA ₃		**
Pod diameter * GA ₃		**

z), Nonsignificant (NS) or significant at the 5% (*) and 1% (**).

생산이 어려웠다. 뿌리의 발생은 저농도의 NAA가 함유된 배지에서 촉진되나²⁷⁾ 용담의 경우 사이토키닌류가 뿌리의 발생을 촉진시켰으며, GA₃는 억제하였다.

종자의 발아

용담 종자의 기내발아율을 향상시키기 위하여 꼬투리의 크기 및 기내 생장조절제의 첨가효과는 표 1에서 보는 바와 같다.

꼬투리의 크기, GA₃의 첨가 처리구간에는 고도의 유의차가 인정되었다. 꼬투리의 크기가 0.5에서 0.8cm까지 크면 클수록 발아율이 높았으며, MS배지에 0.5mg/ℓ GA₃ 첨가는 발아력을 현저히 증가시켰다. 또한 꼬투리가 작을 수록 발아율이 감소하였음은 물론 발아된 유식물체는 본엽이 비정상적으로 전개되어 일정기간 기내에서 생육한 후에도 정상적인 식물체로 성장하지 못하였다. 일반적으로 용담의 발아는 GA₃ 10ppm 용액에 3일간 침지시킨 후 발아를 시킨다¹⁾. 그러나 본 시험의 결과 GA₃를 배지에 첨가하였을 경우 발아력을 현저히 증가시켰다. 종자를 GA₃에 침지하였을 경우에 발아한 유식물체는 기내에서 도장하였으며, 뿌리의 발육이 좋지 않았으나, 배지에 GA₃를 0.5mg/ℓ 첨가하였을 경우에는 도장하지 않았고 뿌리의 발육 또한 좋았다.

요 약

자생식물 중 실내분화용, 절화 및 화단용으로 가치가

높고, 한약으로서 이용 가능한 용담의 기내개화 및 대량증식 체계를 확립하기 위하여 식물체의 부위 및 생장조절제의 효과를 시험한 결과는 다음과 같다. 화뢰의 출현은 0.5mg/ℓ kinetin과 GA₃를 첨가하였을 때 가장 많았으나 그 효과는 kinetin이 더 좋았다. 최적의 GA₃나 kinetin 농도일 때 두가지 생장조절제를 혼용하면 오히려 화뢰형성수가 감소되었고, 저농도에서는 상호작용의 효과가 있었다. 화뢰가 50% 형성되는데 걸리는 주수 (T₅₀)는 0.1mg/ℓ GA₃가 첨가되었을 때 kinetin의 농도에 관계없이 11-14주이었다. 측지 발생은 GA₃의 효과가 kinetin보다 좋았고, 농도는 모두 1.0mg/ℓ 까지 높을 수록 좋았다. 중간정도의 농도 (0.5mg/ℓ)에서 두 생장조절제간의 상호작용이 인정되었다. 뿌리의 형성은 GA₃의 농도가 높을 수록 감소하였다. 꼬투리의 크기가 8mm까지 클수록 발아력이 높았으며, 꼬투리의 크기가 작을 수록 비정상적인 식물체가 많았다. 배지에 GA₃ 0.5mg/ℓ 첨가는 발아력을 현저히 증가시켰다.

감사의 글

이 연구는 밀양산업대학교 교내연구비의 일부지원에 의해 이루어졌으며 이를 감사드립니다.

참고문헌

1. 김영진, 임진희, 최주건, 홍영표, 한인송 : 조직배양에

- 의한 큰용담 대량증식에 관한 연구. 한국원예학회지 발표요지 9, 134 (1990)
2. Evans, L. T. : Flower induction and florigen concept. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 22, 365 (1971)
 3. Salisbury, F. B. : Photoperiodism and the flowering process. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 12, 293 (1961)
 4. Bernier, G., Kinet, J., Jacquard, A., Havellange, A. and Bodson, M. : Cytokinin as a possible component of the floral stimulus in *Sinapsis alba*. *Plant Physiol.* 60, 282 (1977)
 5. Raghavan, V. and Jacobs, W. P. : Studies on the floral histogenesis and physiology of *Perilla* II. Floral induction in cultured apical buds of *P. frutescens*. *Amer. j. Bot.* 48, 751 (1961)
 6. Wellensiek, S. J. : Principles of flower formation. *Acta Hort.* 68, 17 (1977)
 7. Chailakhyan, M. Kh. and Butenko, R. : The effect of adenine and kinetin on the differentiation of flower buds in *Perilla* stem tips. (English translation) *Dokl. Akad. Nauk SSSR* 129, 293 (1959)
 8. Ganapathy, P. S. : Floral morphogenesis and flowering in aseptic cultures of *Browallia demissa* L. *Biol. Plant* 11, 165 (1969)
 9. Gupta, S and Maheshwari, S. C. : Induction of flowering by cytokinins in a short-day plant, *Lemna paucicostata*. *Plant Cell Physiol.* 10, 231 (1969)
 10. Maheshwari, S. C. and Venkataraman, I. I. : Induction of flowering in a duckweed *Wolffia microscopica* by a new kinin zeatin. *Planta (Berl.)* 70, 304 (1966)
 11. Margara, J. and Touraud, G. : Experimental research in vitro on neoformation of inflorescence or vegetative buds from explants of *Cichorium intybus* L. IV. Variation in the effects of certain organic compounds according to the conditions of the medium. *Ann. physiol. Veg.* 9, 339 (1967)
 12. Nitsch, C. and Nitsch, J. P. : The induction of flowering in vitro in stem segments of *Plumbago indica* L. II. The production of reproductive buds. *Planta* 72, 371 (1967)
 13. Scorza, R. and Janick, J. : In vitro flowering of *Passiflora suberosa*. *J. Amer. Soc. Hort. sci.* 105, 892 (1980)
 14. Wardell, W. L. and Skoog, F. : Flower formation in excised tobacco stem segments. §. Methodology and effects of plant hormones. *Plant Physiol.* 44, 1402 (1969)
 15. Wardell, W. L. and Skoog, F. : Flower formation in excised tobacco stem segments. III. Deoxyribonucleic acid content in stem tissue of vegetative and flowering tobacco plants. *Plant Physiol.* 52, 215 (1973)
 16. Pharis, R. P., Ross, S. D., Wample, R. L. and Owens, J. N. : Promotion of flowering in conifers of *Pinaceae* by certain of the gibberellins. *Acta Hort.*, 56, 155 (1976)
 17. Rogler, C. E. and Hackett, W. P. : Phase change in *Hedera helix* : induction of the mature to juvenile phase change by gibberellin A₃. *Physiol. Plant.* 34, 141 (1975)
 18. Margara, J. and Touraud, G. : Experimental research in vitro on neoformation of inflorescence or vegetative buds from explants of *Cichorium intybus* L. V. Photoperiodical induction. *Ann. Physiol. Veg.* 10, 41 (1968)
 19. Handro, W. : Structural aspects of the neo-formation of floral buds on leaf discs of *Streptocarpus nobilis* cultured in vitro. *Ann. Bot.* 41, 303 (1977)
 20. Paulet, P. and Nitsch, J. P. : La neoformation sur fleurs sur cultures in vitro de racines de *Cichorium intybus* L. Etude physiologique. *Ann. Physiol. Veg.* 6, 333 (1964)
 21. Murashige, T. and Skoog, F. : A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15, 473 (1962)
 22. Robbins, W. J. : Gibberellic acid and the reversion of adult *Hedera* to a juvenile state. *Amer. J. Bot.* 44, 743 (1957)
 23. Wardell, W. L. and Skoog, F. : Flower formation in excised tobacco stem segments. II. Reversible removal of IAA inhibition by RNA base analogues. *Plant Physiol.* 44, 1407 (1969)
 24. Kayo, I., Daisuke, T., Toshinobu, A., Motoyoshi and Koichiro S. : Clonal propagation of *Cephaelis ipecacuanha* Rich. *Plant Cell Reports* 7, 288 (1988)
 25. Jha, S. and Jha, T. B. : Micropropagation of *Cephaelis ipecacuanha* Rich. *Plant Cell Reports* 8, 437 (1988)
 26. Kenneth, C. T., and Jacqueline, A. C. : Shoot and root organogenesis of *Camellia sasanqua*. *Plant Cell Reports* 5, 381 (1986)
 27. Thomas, C. M. : Biochemistry and physiology of plant hormones. pp. 158-195 2nd ed. Spring-Verlag (1989)