

# 배지내 몇가지 첨가물질이 온대산 *Cymbidium*속 유묘배양시 배지산화 및 생육에 미치는 영향

정재동<sup>1\*</sup> · 이지희<sup>1</sup> · 지선옥<sup>2</sup> · 김창길<sup>3</sup>

<sup>1</sup>경북대학교 원예학과, <sup>2</sup>중부대학교 원예학과, <sup>3</sup>경상북도 농촌진흥원

## Effect of Several Additives on Medium Browning and Mericlone Growth of Temperate *Cymbidium* Species

Chung, Jae-Dong<sup>1\*</sup> · Lee, Jee-Hee<sup>1</sup> · Jee, Sun-Ok<sup>2</sup> · Kim, Chang-Kil<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Horticulture, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Horticulture, Joongbu University, Kumsan 312-940, Korea

<sup>3</sup>Kyungbuk Provincial RDA, Taegu 702-320, Korea

\*corresponding author

**ABSTRACT** The experiments were carried out to improve culture efficiency of rhizome and mericlone propagation through settlement of problems occurring during culture period of temperate *Cymbidium* species. Shooting efficiency from rhizome of *C. forrestii* 'Nokwoon' was improved, when cultured in H<sub>3</sub>P<sub>4</sub> medium (Hyponex 3+peptone 4g/L) supplemented with 170mg/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O and 0.4mg/L Thiamine · HCl, but the other varieties were not influenced to shooting efficiency by additives. Medium in which rhizome of *C. nishiuchianum* 'Hoduckjiwha' was cultured became less browned in H<sub>3</sub>P<sub>4</sub> medium added with 150mg/L PVP, but the other treatments of antioxidants was failed to prevent the medium browning. Re-formation of rhizome from young shoots of *C. forrestii* 'Sojub', 5.5cm in length occurred in H<sub>3</sub>P<sub>4</sub> enriched with 2.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L BA under darkness, but axillary buds were elongated in the medium with 1.0 mg/L NAA and 3.0 mg/L BA under light condition. On the other hand, rhizomes from young shoot of *C. forrestii* 'Seosinmae' and 'Songmae', 5.5cm and 2.5cm in length respectively were reformed in 2.0 mg/L NAA and 5.0mg/L kinetin under darkness, but multishoot from young shoot were emerged in 2.0mg/L NAA and 3.0mg/L BA.

**Additional key words:** *Cymbidium forrestii*, PVP, multiple shooting

### 서 언

### 재료 및 방법

온대산 *Cymbidium*속의 성장점 배양은 조직을 채취해서 배양했을때 갈변현상에 의해서 고사하는 등 초기배양(S<sub>1</sub> stage)에 어려움이 있다(최와 정, 1993). 비록 초기배양 단계인 성장점 배양에 성공하여 근경이 형성되었다 하더라도 근경의 계대배양 과정에서 종에 따라 계속적으로 갈변현상이 일어나 근경 증식 능력이 떨어지는 경향이 있다(정 등, 1995). 한편 근경으로부터 재분화를 유도할때 벤질 아데닌의 첨가에 의한 갈변현상이 나타나거나 Hyponex의 단용에 의해 초기배양시 나타날수 있는 비타민을 위시한 영양물질의 결핍이 초래될 가능성이 있다. 또한 근경으로부터 재분화된 유묘를 신장시키기 위하여 계대배양할때 한측으로 자라는 것 보다는 축의 기부에서 신아가 발생하면서 신장이 이루어질 수 있다면 기내 육묘 기간중 유묘증식도 가능하게 되어 증식 효율이 높아질 것으로 생각되었다(정 등, 1998).

이런 문제점을 해결함으로써 온대산 *Cymbidium*의 기내배양을 통한 유묘증식을 촉진시킬수 있을 것으로 판단된다. 이와 같은 관점에서 온대산 *Cymbidium*의 근경 또는 유묘의 계대배양기간중 문제점으로 관찰되었던 몇가지 품종을 공시하여 실시한 실험 결과를 보고하고자 한다.

Hyponex배지 사용시 혹시 결핍될수도 있는 물질의 첨가 효과를 검정하기 위해서 중국춘란인 '素蝶', '綠雲', '張荷素' 및 춘란인 '浩德之花'의 유묘 증식과 생육에 가장 양호하였던 각 품종별 적정 배지(Chung et al, 1998)에 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 170 mg/L, thiamine · HCl 0.4 mg/L, 및 *i*-inositol 100 mg/L를 각각 단용 또는 혼용 첨가한 다음, 근경의 선단부가 포함된 1cm 크기의 근경을 100mL

삼각 flask당 4개씩, 각 품종별로 배지당 5개의 flask에 치상하여 명배양(16시간 일장) 8주 후 근경당 축수를 조사하였다.

동양란 근경으로부터 multiple shooting 시 갈변을 방지하기 위하여 춘란란 '浩德之花' 1.5cm 크기의 근경을 Hyponex 3g/L에 peptone 4g/L(이하 H<sub>3</sub>P<sub>4</sub>) 배지에 NAA 2.0 mg/L와 BA 3.0 mg/L를 혼용한 다음 활성탄 1 g/L, PVP 150 mg/L, MBT 80 mg/L를 첨가하거나 citric acid 150 mg/L 용액 또는 citric acid와 ascorbic acid를 각각 150 mg/L씩 혼합한 용액에 1시간 동안 침지 후 배양을 시작한 8주 후 유묘의 생육상태를 조사하였다.

근경으로부터 얻은 유묘를 계대배양에 의해 2차증식을 유도코자 중국춘란인 '素蝶', '西神梅', '宋梅'의 초장이 2.5cm와 5.5cm되는 유묘를 H<sub>3</sub>P<sub>4</sub> 배지에 NAA 1.0 또는 2.0 mg/L에 kinetin 1.0 mg/L 또는 BA 1.0, 3.0 mg/L가 함유된 배지에 이식하여 명(16시간 일장) 또는 암 배양한 16주 후 유묘의 성장반응을 조사하였다.

### 결과 및 고찰

Hyponex배지에 첨가되는 무기염류, 비타민 등의 단용 및 혼용첨가가 유묘의 증식에 미치는 영향을 보면 표 1과 같다. 중국춘란인 '素蝶'과 '張荷素' 및 춘란란인 '浩德之花'의 경우는 대조구에 비해 이들 물질을 추가로 첨가한 배지에서 근경당 축수에 뚜렷한 차이가 없었다. 그러나 중국춘란 '綠雲'의 경우는 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O를 첨가한 배지에서 근경당 축수가 7.2개로 가장 많았고, thiamine · HCl과 혼용한 배지에서도 근경당 축수가 6.9개로 많았다. *Cymbidium*속의 조직배양시 바나나(Wither, 1943), 사과즙(정 등, 1985) coconut water(Hasegawa and Goi, 1987)와 같은 천연산물이 기관형성이나 생장에 효과적이라고 알려져 왔고, 정 등(1985)은 춘란의 근경배양시 yeast extract를 배지에 첨가하였을 때 기관분화에 효과적이라 하였다. 한편 여러가지 식물의 clonal multiplication을 위하여 MS 무기물배지에 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, thiamine · HCl 및 *i*-inositol을 공통적으로 첨가한 배지를 사용하였으므로(Murashige, 1962) 본 실험에서 MS 무기염이 아닌

**Table 1.** The number of shoot from rhizome culture of *Cymbidium* species at various kinds of additives supplemented with 3 g/L Hyponex and 4 g/L peptone.

Additive <sup>z</sup> (mg/L)	Number of shoots/rhizome			
	Sojub <sup>y</sup>	Nokwoon <sup>y</sup>	Changhaso <sup>x</sup>	Hoduckjiwha <sup>w</sup>
Control	4.7	6.0	2.6	3.3
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O(170)	4.5	7.2	2.2	2.6
Thiamine · HCl(0.4)	4.8	4.9	2.0	3.2
Inositol(100)	4.4	6.2	2.3	3.0
C+N+T	4.9	6.9	2.2	3.4
C+N+I	4.3	5.0	2.0	2.3
C+T+I	5.0	4.0	2.8	2.7
C+N+T+I	4.8	5.0	2.9	2.6

<sup>z</sup>N: NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, T: Thiamine · HCl, I: Inositol.

<sup>y</sup>3 g/L Hyponex and 4 g/L peptone enriched with 1.0 mg/L NAA and 3.0 mg/L BA.

<sup>x</sup>3 g/L Hyponex and 4 g/L peptone enriched with 1.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L BA.

<sup>w</sup>3 g/L Hyponex and 4g/L peptone enriched with 2.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L BA.

The number of shoots per rhizome was investigated, 2 months after transplanting of rhizomes.

**Table 2.** Effect of anti-oxidants on browning of medium and growth of rhizome and shoot of *Cymbidium* 'Hoduckjiwha' in multiple shooting medium.

Treatments <sup>z</sup>	Browning <sup>y</sup>	No. of shoots /rhizome	Shoot length (mm)	No. of leaves	Root length (mm)	No. of roots	Fresh weight (g)	
							Rhizome	Plantlet
Control	++++	2.8	27.8	3.1	2.3	0.3	0.1	0.47
AC 1 g/L	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0
PVP 150 mg/L	+	3.3	30.8	3.2	8.4	0.8	0.1	0.9
MBT 80 mg/L	++	2.7	23.3	3.4	0.4	0.0	0.2	0.3
CA 150 mg/L	++	2.5	31.6	3.8	10.3	0.9	0.1	0.7
CA 150 mg/L + AA 150 mg/L	+++	2.5	37.5	3.6	10.3	0.8	0.1	0.5

<sup>z</sup>PVP: polyvinylpyrrolidone; MBT: mercaptobenzothiazol; CA: citric acid; AA: ascorbic acid. Ascorbic acid and citric acid were filter sterilized and rhizomes were soaked in solution for 1 hour. Basal medium: 3 g/L Hyponex, 4 g/L peptone with 2.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L BA. Investigations were conducted 2 months after transplanting of rhizomes.

<sup>y</sup> -: no browning; +: a little; ++: more; +++: severe; ++++: very severe.

Hyponex 3g/L에 peptone 4 g/L 첨가된 배지에 몇가지 물질을 첨가한 결과, '素蝶', '張荷素', '浩德之花'의 품종에서는 대조구와 별다른 차이를 보이지 않았으나, 비교적 번식이 어려웠던 '綠雲'의 유묘증식은  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 의 단용이나 thiamine·HCl과 혼용하는 것이 효과적이었는데, 이것은 '綠雲'이 다른 품종에 비해 인산의 요구도가 높거나, 식물조직배양시 필수적인 비타민인 thiamine·HCl의 부가적 요구도가 큰 식물로 생각된다(Rayns와 Fowler, 1994).

몇가지 첨가물질이 배양조각과 배지의 산화방지에 미치는 영향에 관해 검토한 결과는 표 2와 같다. 배지의 산화가 가장 심하였던 대조구에 비해 활성탄 1 g/L가 첨가된 배지에서는 배지 산화현상은 없었으나 근경으로부터 전혀 신초가 형성되지 않고 근경만 증식된 반면, 이 외의 모든 배지에서는 근경당 축수가 2~3개로 큰 차이가 없었다. 근경당 축수의 분화와 유식물체의 생체중은 PVP 첨가배지에서 가장 양호하였고, 초장과 근장은 citric acid와 ascorbic acid를 혼합한 용액에서 근경을 1시간 침지 후 배양했을 때 양호하였다. 이와같이 배지내에 PVP 150mg/L 첨가하거나 citric acid 단용 또는 ascorbic acid를 혼용 처리한 배지에 근경을 1시간 동안 침지 후 배양하는 방법을 적용함으로써 배지 또는 배양조각의 갈변을 방지함은 물론 유묘의 증식과 생육을 개선시킬 수 있었다. *Phalaenopsis*의 유묘 배양시에 활성탄 2 g/L를 첨가하거나(Fu, 1984), *Cattleya*의 경정배양시 ascorbic acid를 첨가하여 산화방지를 시도하였는데 이는 polyphenoloxidase의 활성이 억제되기 때문인 것으로 판단된다고 하였다(市橋와 加古, 1977). *Cymbidium*속의 경정배양시 citric acid와 ascorbic acid를 혼합한 용액에서 절편을 침지하였을 때 산화방지에 효과가 있다고 하여(Morel, 1960; Anderson, 1984) 본 실험의 결과와 일치하였다. 한편, *Fuschia*의 절편 끝에 나오는 자주색 물질의 발생은 0.01% PVP에 의해서 억제되었다고 하였는데(Stevenson 과 Harris, 1984), 본 실험에서도 유묘의 증식시 발생하는 배지의 갈변현상이 억제 되었다. 특히 활성탄 첨가시 분화력이 떨어진 것은 배지의 산화방지는 가능하였으나 오옥신과 사이토키닌의 흡착에 의한 활력감소가 주원인이 된 것으로 생각된다.

유묘증식배지에서 생육한 신초를 이식했

을 때 액아로부터 신아 출현이 가능한지를 알아보기 위하여 중국출란 '素蝶', '西神梅' 및 '宋梅'의 유묘를 크기별로 명·암배양 및 배지조성에 따른 성장반응을 조사한 결과는 표 3과 같다. 중국출란 '素蝶'의 신아로부터 근경 형성은 초장이 5.5cm인 유묘를 NAA 2.0 mg/L와 kinetin 1.0 mg/L첨가배지에 암배양시, 유묘의 증식은 초장이 5.5 cm인 유묘를 NAA 1.0 mg/L와 BA 3.0 mg/L 첨가배지에 명배양시 양호하였다. '西神梅'의 신아로부터 근경형성은 초장이 5.5cm인 유묘를 NAA 2.0 mg/L와 kinetin 1.0 mg/L와 BA 3.0 mg/L 첨가배지에서 명배양시 양호하였다. '宋梅'의 NAA 2.0 mg/L와 kinetin 1.0 mg/L 첨가배지에서, 유묘의 증식은 NAA 1.0 mg/L와 BA 1.0 mg/L 첨가배지에서 초장 2.5cm인 유묘를 명배양하였을 때 가장 양호하였다. 정 등(1985)은 건란의 유묘를 암배양하면 생장점으로부터 근경이 재형성된다고 하였으며, 한란의 모본에 고농도의 auxin을 처리하면 근경형성이, BA를 처리하면 branching현상이 일어난다고 하였고(上本과 島崎 1984), 반입 육화는 NAA 2.0 mg/L와 kinetin 또는 BA를 각각 1.0 mg/L 함유한 배지에서 배양한 2cm 정도의 어린 유묘를 암배양 하였을 때만 근경이 형성되었다(최, 1990). 본 실험의 경우 BA첨가배지에서는 액아의 신장이 이루어져 유묘를 이용한 기내증식이 가능하였고 kinetin 첨가배지에서 근경의 재형성이 가능하여 기내에서도 새로운 근경을 얻을 수 있음을 제시하였는데, 이와 같은 반응은 유묘의 크기에 의해서라기보다는 배지에 첨가되는 성장조절물질의 종류와 농도에 기인하는 것으로 판단되며, 명배양시는 신아가, 암배양시는 근경이 형성되는 것은 광형태형성과도 밀접한 관련성을 가지고 있는 것으로 생각된다(정 등 1985).

## 초 록

온대산 *Cymbidium*속의 성장점으로부터 근경이나 유묘를 증식시키고자 할 때 문제가 되고 있는 몇가지 요인을 검토하여 근경 및 유묘증식 효율을 제고하기 위하여 실험을 수행한 결과를 요약하면 다음과 같다. Hyponex 배지에 몇가지 물질을 첨가한 실험에서 '綠雲'은  $\text{H}_3\text{P}_4$  배지에  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  170 mg/L 단용이나 thiamine·HCl 0.4 mg/L와의 혼용시 대조구에 비해 많은 유묘가 증식되었으나

이외의 품종은 거의 효과가 없었다. 갈변 방지 실험에서 춘한란 '浩德之花'의 근경을 PVP 150 mg/L를 첨가한 배지에 배양했을 때 갈변 방지에 가장 효과적이었다. 유묘로부터 근경재형성 또는 유묘 증식시, '素蝶' 유묘로부터의 근경 재형성은 초장이 5.5cm인 유묘를 NAA 2.0mg/L와 BA 1.0mg/L첨가배지에 암배양시, 유묘의 증식은 NAA 1.0mg/L와 BA 3.0mg/L첨가배지에서 명배양시 양호하였다. '西神梅'와 '宋梅'의 근경 재형성은 초장이 각각 5.5cm와 2.5cm인 유묘를 NAA 2.0mg/L과 kinetin 1.0mg/L 첨가 배지에서 암배양시, 유묘의 증식은 NAA 2.0mg/L와 BA 3.0mg/L 첨가배지에서 명배양시 양호하였다.

추가주요어 : *Cymbidium forrestii*, PVP, 대량 증식

## 인 용 문 헌

- Anderson W. C. 1984. Practices and problems. p.338. In: Plant propagation by tissue culture. E.F. George and P.D. Sherrington (eds). Exegetics Limited England.
- 최수옥, 정재동. 1993. 온대산 *Cymbidium*의 경정조직으로부터 근경형성에 미치는 제요인. 한국식물조직배양학회지. 20(5): 247-254.
- 최수옥, 1990. 온대계 *Cymbidium*속 종자의 무균발아 및 경정배양(莖頂培養)에 의한 유묘의 (幼苗) 증식체계 확립과 번이체의 선발. 경북대 박사학위논문.
- 최수옥, 정재동, 이지희. 1995. 온대산 *Cymbidium*의 경정배양에 의한 근경의 형성 및 증식에 미치는 배지의 효과. 한국식물조직배양학회지. 22(3): 167-172.
- 정재동, 전재기, 김성수, 이종석. 1985. 자생한란 (*Cymbidium kanran*)의 Rhizome 성장과 기관분화. 한원지 26(3): 281-288.
- 정재동, 전재기, 최수옥. 1985. 建蘭 (*Cymbidium ensifolium*) 종자의 無菌培養(II)-배지내 몇 종의 첨가물 및 pH, 명 또는 암배양기간이 Rhizome의 성장과 기관분화에 미치는 영향. 한원지. 26(2): 186-192.
- 정재동, 이지희, 지선옥, 김창길. 1998. 온대산 *Cymbidium*속의 경정배양 유래의 근경으로부터 유묘 증식 및 생육에 미치는 배지의 영향. 한원지(투고중).
- Fu, M.L. 1984. Practices and problems.

**Table 3.** Effect of plant growth regulators and light condition on rhizome re-formation and multiple branching from in vitro cultured mericlones of *Cymbidium* species

Variety (Shoot length)	Treatments		SD <sup>y</sup>	Fresh weight of rhizome <sup>x</sup> (mg/L)	No. of branching /shoot	Shoot length (cm)	No. of leaves	Root length (cm)	No. of roots	
	Plant growth regulator (mg/L)	Culture condition <sup>z</sup>								
Sojub (2.5cm)	NAA 2.0+Kin 1.0	L	S	350.4	0	-	-	98.0	1.4	
		D	D	159.1	0	-	-	98.7	1.9	
	NAA 2.0+BA 1.0	L	S	375.6	0.8	55.0	5.4	40.7	3.3	
		D	D	154.6	1.2	54.9	4.4	0	-	
	NAA 1.0+BA 1.0	L	S	400.7	0.8	35.6	4.7	36.4	2.7	
		D	D	109.1	1.0	87.4	4.4	5.0	0.5	
	NAA 1.0+BA 3.0	L	S	0	1.0	66.4	5.6	22.7	2.1	
		D	S	0	1.6	49.4	4.4	0.4	-	
	(5.5cm)	NAA 2.0+Kin 1.0	L	S	501.4	0	-	-	111.0	2.3
			D	S	290.9	0	-	-	71.0	2.1
NAA 2.0+BA 1.0		L	S	109.1	1.0	70.0	6.8	57.8	3.9	
		D	D	800.9	1.2	57.8	4.0	0	-	
NAA 1.0+BA 1.0		L	S	411.8	1.2	57.2	6.0	35.0	4.1	
		D	D	200.5	1.7	67.3	4.7	0.9	0.3	
NAA 1.0+BA 3.0		L	S	0	2.5	71.6	6.5	31.4	2.8	
		D	S	0	2.9	46.9	4.7	0	-	
Seosinmae (2.5cm)		NAA 2.0+Kin 1.0	L	S	200.0	0	0	-	78.4	4.0
			D	D	285.7	0	0	-	79.7	0.9
	NAA 2.0+BA 1.0	L	S	0	0.5	89.9	4.6	33.3	3.4	
		D	D	0	1.0	93.5	4.0	6.7	0.3	
	NAA 1.0+BA 1.0	L	S	0	1.0	111.8	4.8	30.9	2.2	
		D	D	0	0.7	78.7	4.5	0	-	
	NAA 1.0+BA 3.0	L	S	0	1.0	88.9	4.5	2.9	0.6	
		D	S	0	1.8	48.5	3.3	0	-	
	(5.5cm)	NAA 2.0+Kin 1.0	L	S	500.0	0	0	-	93.0	3.4
			D	S	171.4	0	0	-	77.3	1.4
NAA 2.0+BA 1.0		L	S	0	0.6	105.1	4.9	45.7	5.6	
		D	D	0	1.3	123.8	4.8	0.8	0.2	
NAA 1.0+BA 1.0		L	S	0	1.6	92.4	4.7	18.4	2.1	
		D	D	0	1.0	116.2	4.7	0	-	
NAA 1.0+BA 3.0		L	S	0	1.9	83.9	4.7	3.1	0.6	
		D	S	0	1.6	69.2	4.3	0	-	
Songmae (2.5cm)		NAA 2.0+Kin 1.0	L	S	777.9	0	0	-	111.7	1.6
			D	D	328.6	0	0	-	49.0	0.9
	NAA 2.0+BA 1.0	L	S	0	1.8	67.9	6.5	41.0	4.8	
		D	D	128.6	2.0	49.1	3.6	0	-	
	NAA 1.0+BA 1.0	L	S	0	2.0	56.7	6.7	37.1	4.6	
		D	S	0	2.9	48.4	4.7	0	-	
	NAA 1.0+BA 3.0	L	S	0	1.0	68.2	6.6	52.2	4.0	
		D	S	0	3.0	42.9	3.6	0	-	
	(5.5cm)	NAA 2.0+Kin 1.0	L	S	394.4	0	0	-	126.4	3.7
			D	D	200.5	0	0	-	91.0	1.4
NAA 2.0+BA 1.0		L	S	0	0.9	72.6	5.9	54.8	4.6	
		D	D	366.7	2.0	69.0	4.9	3.1	0.5	
NAA 1.0+BA 1.0		L	S	0	1.3	54.6	5.9	42.1	4.8	
		D	S	0	3.0	59.0	4.5	0	-	
NAA 1.0+BA 3.0		L	S	0	1.9	49.1	5.7	31.9	2.8	
		D	S	0	4.0	52.6	4.2	0	-	

<sup>z</sup>L:16hr light/ 8hr dark photoperiod; D: continuous dark.

<sup>y</sup>S: survival; D:withered to death.

<sup>x</sup>Rhizome re-formation from shoot tip.

Data are mean value of 10 plants. Investigation of response at each treatment was conducted at 5 months after transplanting.

- p. 336. In: E. F. George and P. D. Sherrington (eds). Plant propagation by tissue culture. Exegetics Limited, England.
- Hasegawa, A and M. Goi. 1987. Rhizome formation in *Cymbidium goeringii* Reichenbach fil. and *Cymbidium kanran* Makino in shoot tip culture. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 56(1):70-78.
- Morel, G.M. 1960. Producing virus-free *Cymbidiums*. Amer. Orchid. Soc. Bull. 29:495-497.
- Murashige, G.M. 1962. Producing virus-free *Cymbidiums*. Amer. Orchid. Soc. Bull. 29:495-497.
- Rayns, F. W. and M. R. Fowler. 1994. Media design and use. p.43-64. In: James, D. J. et al (eds). In vitro cultivation of plant cells. Butterworth-Heinemann UK.
- Stevenson, J. H, and R. E. Harris. 1984. Practices and problems. p.337. In: George, E. F. and P.D. Sherrington (eds.). Plant propagation by tissue culture. Exegetics Limited England.
- 市橋正一, 加古舞治. 1977. カイレヤの莖頂培養による營養繁殖法に関する研究. (第2報) カイレヤのかつ變現象について. 日園學雜 46(3):325-330.
- 上本後平, 島崎一. 1984. カンカンの組織培養. p. 162-167. In: 四國/紀洲のカンラン 成文堂新光社, 東京.
- Whither, C.L. 1943. Ovule culture. A new method for starting orchid seedling. Amer. Orchid. Soc. Bull. 11:261-263.