藥作誌 (Korean J. Medicinal Crop Sci.) 8(1) : 41 - 48 (2000)

큰용담의 기내증식에서 multiple shoot의 유기

임정대·유창연*

Multiple Shoot Formation of *Gentiana axillariflora* Leveille by *in Vitro* Culture

Lim Jung Dae and Chang Yeon Yu*

ABSTRACT : This study was aimed to proliferate *Gentiana axillariflora* Leveille which is one of the important medicinal and ornamental plants, by establishment of multiple shoot formation and embryogenesis through tissue culture technique. Callus was formed on MS (Murashige and Skoog) medium supplemented with 2, 4-D, CPA, but not formed with BAP. The addition of 2, 4-D 2 ㎎/ℓ into the medium was effective for callus formation and the rate of callus formation was about 90%. Somatic embryos were obtained on MS medium for two months. When callus was cultured on MS medium with combination treatment of 2, 4-D 0.5 ㎎/ℓ and BAP 0.5 ㎎/ℓ, the number of embryo formed was better than that of other single or combination treatments and the total numbers of embryo were 18.8 (number of total embryo/number of explants incubated = 753/40) at mean. Callus induction from stem and node explants was increased by addition of TDZ 2 ㎎/ℓ in the presence of 2, 4-D 2 ㎎/ℓ, respectively. The best result about the differentiation of shoots was obtained on MS medium added BAP 2 ㎎/ℓ from node culture. Multiple shoots from shoot apex were induced on MS medium containing BAP 1 ㎎/ℓ and TDZ 1 ㎎/ℓ, BAP 2 ㎎/ℓ and TDZ 1 ㎎/ℓ. The number of multiple shoots per one explant was above seventy plants. It was the most effective regeneration system for rapid multiplication of *Gentiana axillariflora* Leveille.

Key words : *Gentiana axillariflora* Leveille, embryogenesis, multiple shoots.

서 언

큰용담 (*Gentiana axillariflora* Leveille.) 은 용담과에 속하는 숙근성 다년초로서 우리나라, 일본에 자생하며 유럽 중남부, 중국 등에서 苦味健胃藥으로 이용하고 있으며 꽃은 절화로써 이용가치가 높아서 관상용으로 화단 등에 식재하기도 한다 (정. 1990.). 뿌리에 유용성분인 gentiopicroside를 함유하고 있어 배탈과 설사를 멈추게 하는 작용을 하며 한방음료로 이용하여 수요가 급증하고 있으나 공급이 거의 야생의 것을 채취하여 충당하고 있기

* 강원대학교 농업생명과학대학 식물응용과학부 (Division of Applied Plant Science, College of Agriculture and Life Science, Kangwon National University, Chunchon 200 - 701)
〈 2000. 1. 7 접수 〉

때문에 식물자원의 고갈과 함께 종의 절멸을 예고하고 있다(Sharma et al., 1993). 용담은 생육지역에 따라 gentiopicroside 함량의 차이가 나타나는 것으로 보고되어져 있으며(Hayshi 1976, Yamada et al., 1991) 야생과 재배 용담을 재료로 PCR을 이용한 RAPD를 통해 지역과 계통에 따른 유전적 유사도를 분석한 결과가 보고(Lee et al., 1996) 되어져 있다. 이러한 유용한 약용식물의 재배화를 위한 발아번식과 재배법 체계개발 등의 연구가 진행되고 있으나 실생번식의 경우 종자가 미세하여 재배초기에 생육이 부진하고 잡초와의 경합이 약하여 경작의 어려움이 있으며(Bang et al., 1994) 또한 야생에 자생하는 것을 경작지에 작물로 재배할 경우 여러 가지 환경적인 스트레스에 노출될 뿐만 아니라 특히 병원체의 감염이 심각한 실정이다. 큰용담의 병해는 현재 fungus로는 *Chytridiomycetes, Ascomycotina, Basidiomycotina* 등이 보고되고 있으며 virus는 CaMV, BBWV, BYMV, TRV 등이 보고되고 있다(Plant Viruses Online Descriptions and Lists). 따라서 본 연구는 바이러스 병이 심각한 피해를 주고 있는 큰용담을 대상으로 번식의 어려움을 극복하고 바이러스 free 종묘를 육성하며 식물자원의 보존과 함께 증가하는 수요의 공급확대를 위한 대량생산체계를 확립하고자 실시한 체세포배의 형성, 재분화 체계의 확립 및 multiple shoot의 형성 등의 대량증식에 관한 일련의 적정조건을 구명하고져 실시하였다.

재료 및 방법

온실에 파종 후 발아된 식물체의 잎, 줄기, 줄기마디, 정아를 채취하여 각각 2%, 2.5%, 5%의 Sodium hypochlorite 용액에 15분간 표면살균 후 멸균수로 2~3회 수세하여 배양하였다. 잎절편배양에서는 배지로 MS(Murashige & Skoog, 1962)배지를 기본으로 하여 3%의 sucrose를 첨가하여 완전히 용해시키고 2, 4-D (2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid), BAP (6-benzylaminopurine), CPA (p-chlorophenoxyacetic acid)를 0.5, 2, 4 ㎎/ℓ의 농도로 단독처리 하였으며 2, 4-D와 BAP를 0.5, 2 ㎎/ℓ의 농도로 혼합처리 하였다. 배양조건은 온도 23℃, 16시간 광조건하에서 실시하였다. 또 조직부위에 따른 캘러스 형성율 및 재분화 정도를 알아보기 위하여 MS배지에 3%의 sucrose를 첨가하고 2, 4-D, BAP, TDZ (thidiazuron), NAA (1-naphtalene acetic acid)를 0.01, 0.1, 2 ㎎/ℓ의 농도로 단독처리 하였으며 2, 4-D와 TDZ를 0.01, 0.1, 2 ㎎/ℓ의 농도로 혼합처리한 후 동일한 조건 하에서 60일 동안 배양을 수행하였다.

조직배양을 통하여 얻어진 신초의 기내 증식에서 적합한 생장조절제의 종류와 농도를 구명하기 위하여 유도된 신초의 정아를 사용하여 MS배지에 2, 4-D를 0.1, 1㎎/ℓ로, BAP를 0.01, 0.1, 1, 2 ㎎/ℓ로, NAA (1-naphtalene acetic acid)를 0.01, 1, 2 ㎎/ℓ를 사용하였으며 TDZ를 0.1, 1, 2 ㎎/ℓ의 농도로 각각 혼합처리한 후 형성되는 신초 수와 신초 길이를 조사하였다.

형성된 multiple shoot에서 절간의 신장과 배양된 식물체로부터 눈을 유도하기 위하여 GA3 0.5 ㎎/ℓ를 첨가하였고 뿌리의 유도를 위하여 NAA 0.1 ㎎/ℓ를 첨가하여 증식시켰다.

결과 및 요약

1. 큰용담 잎조직으로부터 캘러스형성

큰용담의 잎절편을 식물생장조절물질 2, 4-D, CPA, BAP가 첨가된 MS 배지에 배양하여 60일 경과 후 캘러스 생성율과 배발생 캘러스를 조사한 결과는 Table 1과 같다. 2, 4-D 2㎎/ℓ에서 callus형성율이 90%로 가장 높았고 2, 4-D 0.5㎎/ℓ와 2, 4-D 4㎎/ℓ의 단독처리에서도 캘러스의 형성율이 80% 이상으로 양호하였으나 BAP를 처리하였을 때에는 캘러스가 전혀 생성되지 않았다. 그리고, CPA의 처리도 캘러스 형성에 영향을 끼쳤다. 따라서, 전반적으로 캘러스 생성율은 2, 4-D 처리시 양호한 결과를 보였으며 이러한 결과는 용담에 2, 4-D 처리시 캘러스 유도에 효과를 보이지 않았다는 보고(Bang et al., 1994)와는 상이하게 나타났다.

2, 4-D 와 BAP를 조합처리 하여 60일간 배양한 결과 캘러스의 형성율은 대체적으로 40%를 보였으며 2, 4-D 2㎎/ℓ와 BAP 0.5㎎/ℓ 조합처리에서 45%로 가장 높은 캘러스의 형성율을 보였다. 그러

나, 2,4-D를 단독처리시 나타난 캘러스 형성율보다 저조한 경향을 보였으며, 조합처리에서도 BAP의 처리는 캘러스의 형성에 영향을 끼치지 못했다. 이러한 결과는 조(1992) 등의 큰용담 잎절편체 배양시 NAA와 BAP가 조합처리시 캘러스 유도가 잘 되었다는 결과(Cho et al., 1992)와는 상이한 결과를 보였다. 따라서 용담 잎조직으로부터 캘러스를 유기시키기 위하여는 2,4-D단독처리가 효과적이었다.

2. 큰용담 잎조직으로부터 배발생(embryogenic) 캘러스 형성

식물생장조절물질 2,4-D, CPA, BAP가 첨가된 MS 배지에 배양하여 60일 경과 후 형성된 callus에서 embryogenic callus 형성율과 처리구 당 형성된 embryo의 수를 조사한 결과(Table 1, Fig. 1), 2,

Table 1. Effect of growth regulators on callus formation from leaf tissues of *Gentiana axillariflora* Leveille

Growth regulators (mg/ *l*)	No. of explants incubated	No. of callus formed (%)	No. of embryogenic callus (%)	No. of total embryos (mean)
2,4-D 0.5	50	44 (88)	19 (38)	589 (11.8)
2	50	45 (90)	35 (70)	895 (17.9)
4	50	42 (84)	31 (62)	677 (13.5)
CPA 0.5	50	21 (42)	13 (26)	247 (4.9)
2	50	15 (30)	8 (16)	247 (4.9)
4	50	19 (38)	9 (18)	394 (7.9)
BAP 0.5	50	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2	50	0 (0)	0 (0)	0 (0)
4	50	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2,4-D 0.5 + BAP 0.5	40	15 (38)	12 (30)	753 (18.8)
2,4-D 0.5 + BAP 2	40	17 (43)	7 (18)	483 (12.1)
2,4-D 2 + BAP 0.5	40	18 (45)	10 (25)	295 (7.4)
2,4-D 2 + BAP 2	40	16 (40)	13 (33)	696 (17.4)

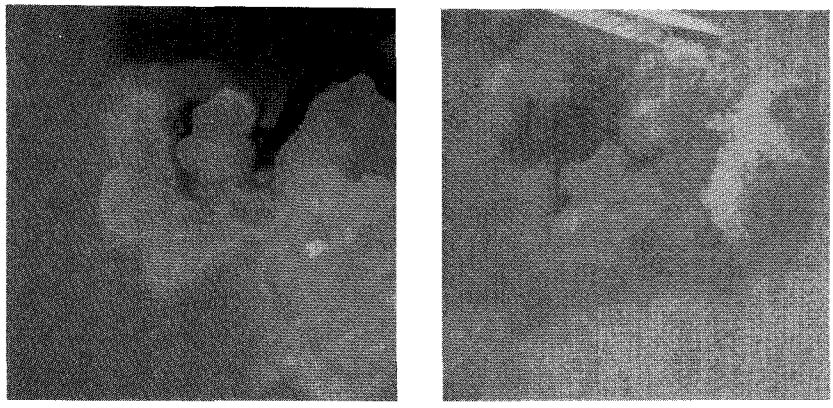

Fig. 1. Embryogenic callus from the leaf culture of *Gentiana axillariflora* Leveille.
(a) Embryogenic callus on 2, 4-D 2mg/l+BAP 0.5mg/l (globular stage)
(b) Embryogenic callus on 2, 4-D 2mg/l (heart stage)

4-D 처리시 2㎎/ℓ에서 70%의 embryogenic callus 형성율로 가장 높게 나타났고 CPA 처리시에는 0.5㎎/ℓ에서 26%의 embryogenic callus 형성율로 양호하게 나타났으며 2,4-D 0.5㎎/ℓ + BAP 0.5㎎/ℓ, 2,4-D 2㎎/ℓ + BAP 2㎎/ℓ 조합처리시에 양호한 embryogenic callus 형성율을 나타냈다. 배발생 캘러스로부터 체세포배의 발생 숫자를 조사하였을 때 2,4-D나 CPA의 단독처리시 보다 2,4-D 0.5㎎/ℓ 와 BAP 0.5㎎/ℓ 이 조합처리 시 잎 절편체 당 18.8개의 높은 체세포배가 형성되었다.

3. 큰용담 줄기 및 줄기마디 조직으로부터 신초의 유도

큰용담의 줄기와 마디를 배양한 결과 캘러스의 형성은 전반적으로 마디를 이용하는 것이 더 좋은 결과를 나타내었으며 단독처리시 2,4-D 0.1mg/ℓ를 처리하였을 경우 줄기마디에서는 26%, 줄기에서는 30%의 비교적 높은 캘러스 형성율을 보였지만 잎조직을 사용하는 것 보다는 낮은 경향을 나타내었다. 고농도의 2,4-D를 단독처리한 경우에서는 각 절편체는 비후하다가 30일 경과 후 갈변하여 고사하는 특성을 나타내었다. 2,4-D와 TDZ을 조합처리한 경우 줄기 마디와 줄기 모두에서 단독처리한 것 보다 양호한 캘러스 형성율을 나타내었으며 고농도의 2,4-D에 TDZ를 조합처리하여 줄기마디를 배양한 경우 50%이상의 우수한 캘러스 형성이 이루어지는 것으로 나타났다(Table 3).

식물체의 줄기와 줄기마디 절편을 배양한 결과

Table 2. The effect of single treatments of growth regulators on node and stem tissue culture in *Gentiana axillariflora* Leveille after 60 days

Growth regulator (mg/ℓ)		No. of node/stem incubated	No. of callus(%)		No. of shoots(%)	
			Node	Stem	Node	Stem
2,4-D	0.01	20/19	1 (5)	0 (-)	3 (15)	0 (-)
	0.1	19/20	5 (26)	7 (30)	2 (11)	0 (-)
	2	18/16	1 (6)	1 (6)	0 (-)	0 (-)
TDZ	0.01	18/18	0 (-)	0 (-)	5 (28)	2 (11)
	0.1	18/20	0 (-)	0 (-)	2 (11)	0 (-)
	2	17/16	0 (-)	0 (-)	1 (6)	2 (13)
NAA	0.01	16/18	0 (-)	0 (-)	2 (13)	0 (-)
	0.1	17/18	1 (6)	0 (-)	2 (12)	2 (11)
	2	19/19	2 (11)	1 (5)	1 (5)	2 (11)
BAP	0.01	18/18	1 (6)	2 (11)	1 (6)	0 (-)
	0.1	17/18	0 (-)	0 (-)	3 (18)	0 (-)
	2	18/17	1 (6)	0 (-)	7 (39)	0 (-)

Table 3. The effect of the combination conditions of growth regulators on node and stem tissue culture in *Gentiana axillariflora* Leveille after 60 days

Growth regulator (mg/ℓ)		No. of node/stem incubated	No. of callus(%)		No. of shoot(%)	
2,4-D	TDZ		Node	Stem	Node	Stem
0.01	0.01	20/19	5 (25)	1 (5)	5 (25)	0 (-)
	2	16/18	2 (13)	0 (-)	5 (31)	0 (-)
0.1	0.1	19/19	4 (21)	4 (21)	1 (5)	0 (-)
2	0.01	19/18	10 (53)	4 (22)	0 (-)	0 (-)
	2	18/18	13 (72)	8 (44)	0 (-)	0 (-)

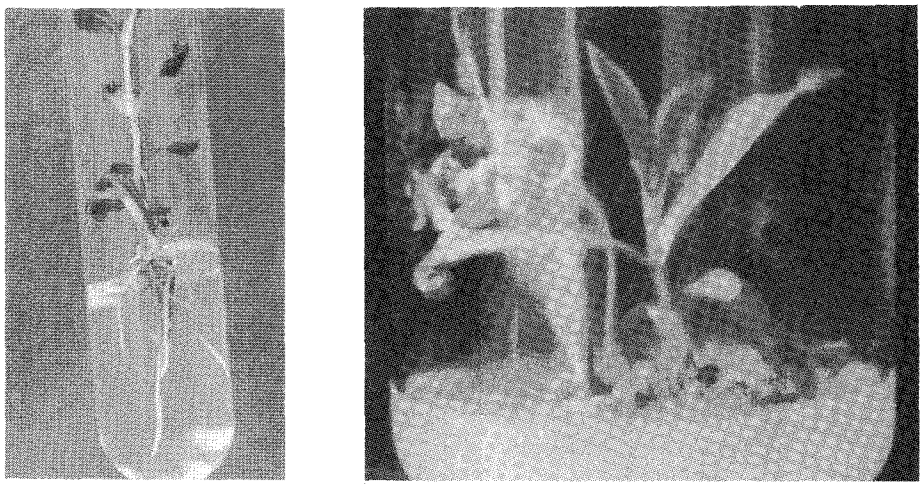

Fig. 2. Plantlet regenerated from the node segment culture.

재분화 식물체는 단독처리에서 MS medium에 BAP 2 ㎎/ℓ 처리한 줄기마디 배양에서 7개의 재분화 식물체를 얻음으로 해서 가장 높은 shoot 분화율을 나타내었고 줄기를 배양한 경우에는 TDZ과 NAA를 처리한 경우에 양호한 shoot 분화를 나타내었다. 조합처리의 경우에는 각각 0.01 ㎎/ℓ로 저농도의 2,4-D와 고농도의 TDZ를 조합처리한 줄기마디배양의 경우 5개의 shoot분화를 보임으로 양호한 결과를 나타내었다(Table 2, Fig. 2). 본 실험에서와 같이 저농도의 오옥신 계통과 TDZ가 조합 처리시 식물체 분화에 효과적이 었다는 보고는 Solanum spp. (Yu et al., 1994), Phaseolus lunatus L. (Mok et al., 1979) 등 많은 식물종에서 보고되었다.

4. 큰용담 정아로부터 multiple shoot의 유도

조직 배양을 통한 신초의 기내 증식을 위한 정아 배양에서는 2,4-D 0.1 ㎎/ℓ 와 BAP 2 ㎎/ℓ 처리에서 줄기길이가 8.9cm로 좋은 길이 생장을 보이고 신초의 수는 2,4-D 0.1 ㎎/ℓ 와 BAP 0.1 ㎎/ℓ 처리에서 38개의 재분화 식물체를 얻음으로 해서 가장 많은 신초 형성을 나타내었다(Table 4). BAP와 NAA를 조합처리한 경우에는 BAP의 농도가 증가함에 따라 오히려 신초의 형성수가 감소하였으며 NAA 농도의 증가는 줄기의 길이 신장을 감소시키는 경향을 나타내었으며 이것은 NAA와 BAP를 조합처리한 경우 캘러스의 생체중이 증가한다는 보고(Cho et al., 1992) 처럼 신초의 형성에 수반되는 캘러스의 형성 때문이라고 판단된다.

용담에서는 TDZ, BAP를 조합처리한 결과 TDZ, 1 ㎎/ℓ 와 BAP 1 ㎎/ℓ 조합처리한 것에서 multiple shoot를 형성하였으며(Fig. 3) explant 당 70~80개의 식물체가 분화되었다.

형성된 multiple shoot에 NAA 0.1 ㎎/ℓ 를 첨가함으로써 뿌리가 유도되었으며 GA3 0.5 ㎎/ℓ 의 처리에 의하여 새롭게 형성되는 정아가 관찰되고 배양 8주 후에 개화하였다.

식물체의 각 치상조직을 배양한 결과 정아 마디 줄기 순으로 식물체가 많이 유도되는 것으로 나타났으며 잎조직에서는 새로운 신초는 유도되지 않았다. 이러한 것은 용담의 엽조직 유래 캘러스로부터 신초가 유기되지 않는다는 보고(Seong et al., 1993)와 유사하며 이것은 이들 잎에서 형성된 캘러스들이 생리적이고 일시적인 변화 때문에 전체형성능이 소실된 것인지 아니면 유전적인 변화에 기인한 근본적인 전능성의 상실이 원인인지는 확실하지 않지만 식물의 모든 세포는 한 식물체를 만드는데 필요한 full set의 genome을 가지고 있으며 각각의 세포들이 각기 다양한 특성과 기능을 나타내는 것은 필요한 특정 유전자의 선택적 발현조절에

Table 4. The effect of plant growth regulators on the regeneration of shoots from the shoot apex culture of *Gentiana axillariflora* Leveille after 30 days

Growth regulator (mg/ *l*)				MS medium		
2, 4-D	BAP	NAA	TDZ	No. of explant incubated	No. of shoot	Shoot length
0.1	0.1			20	38	7.9±0.6
0.1	2			17	29	8.9±1.3
1	0.1			12	18	6.1±0.2
1	2			18	21	7.0±0.3
	0.01	2		27	20	2.0±0.3
	0.01	1		17	19	4.0±0.2
	1	0.01		19	11	6.8±0.1
	2	0.01		20	9	5.8±0.1
	0.1		0.1	12	26	4.4±0.6
	1		0.1	11	29	4.8±0.3
	2		0.1	10	28	5.2±0.7
	0.1		1	13	21	4.0±0.3
	1		1	9	M	6.3±0.1
	2		1	10	M	6.0±0.9
	0.1		2	11	25	4.0±0.2
	1		2	7	19	5.1±0.7
	2		2	9	12	5.3±1.3

M : Multiple shoots (70~80 shoots/explant)

Fig. 3. Multiple shoots from the shoot apex culture of *Gentiana axillariflora* Leveille.

기인한 것이라는 것을 고려하여 볼 때 (Kimball, 1983) 배발생 캘러스를 유도하고 분화능을 유지하면서 이것을 현탁배양함으로써 배발생 캘러스로부터 신초를 유기할 수 있을 것이라고 판단된다. 더불어 뿌리를 배양한 경우에서는 하나의 shoot가 유기되었으며 (자료 미제시) 이러한 신초가 GA_3 0.5 ㎎/*l* 을 첨가한 배지에서 유도되었음을 연관하여

Table 5. Effect of plant explants on regeneration of *Gtiana axillariflora* Leveille after 30 days and 60days

Explant	No. of regeneration / No. of explant incubated	
	30days	60days
Leaf	–	–
Stem	3/310	8/310
Node	20/307	40/307
Root	–	1/288
Shoot apex	163/140	485/140

볼 때 이에 대한 연구고찰이 필요하다고 생각된다. 체세포배는 잎을 배양한 경우에서만이 나타났다 (Table 1). 배양기간에서 대한 차이는 배양한지 30일 경과 후보다 60일이 경과한 것에서 거의 모든 조직에서 2배이상의 신초형성을 보임으로해서 큰 용담을 조직배양하는 경우에는 60일 이상의 배양 기간이 요구되어진다고 판단된다.

용담의 대량증식시에는 정아나 마디를 이용하여 한 개의 치상조직으로부터 70개 이상의 식물체를 유기시켜 대량배양시키던가 잎절편에서 형성된 체세포배를 현탁배양 또는 생물반응기에서 배양함으로서 가능하리라 사료되며 배양중에 나타나는 변이는 꽃을 상품화의 목적으로 하는 자생화에서는 귀중한 육종자료가 되리라 사료된다.

적 요

큰용담을 대상으로 실시한 체세포배의 형성, 재분화 체계의 확립 및 multiple shoot의 형성 등의 대량증식에 관한 일련의 실험의 결과는 다음 몇 가지로 요약된다.

큰용담의 잎절편을 2, 4-D 2㎎/ℓ 에 배양한 경우 callus형성율이 90%, embryogenic callus 형성율이 70%로 높은 형성율을 나타내었으나 실제 형성되는 체세포배의 발생 숫자를 조사하였을 때 2, 4-D 단독처리시 보다 2, 4-D 0.5㎎/ℓ 와 BAP 0.5㎎/ℓ 이 조합처리 시 잎절편체 당 18.8개의 높은 체세포배가 형성되었다.

큰용담의 줄기와 마디를 배양한 결과 캘러스의 형성은 단독처리시 20~30%의 캘러스 형성율을 보인 반면 고농도의 2, 4-D에 TDZ를 조합처리하여 줄기마디를 배양한 경우 50%이상의 우수한 캘러스 형성이 이루어지는 것으로 나타났으며 재분화 식물체는 단독처리에서 MS medium에 BAP 2 ㎎/ℓ 처리한 줄기마디 배양에서 7개의 재분화 식물체를 얻음으로 해서 가장 높은 shoot 분화율을 나타내었다.

큰용담에서는 TDZ, BAP를 조합처리한 결과 TDZ 1 ㎎/ℓ 와 BAP 1 ㎎/ℓ 조합처리하였을 경우 multiple shoot를 형성하였으며 explant 당 70~80개의 식물체가 분화되었다. 식물체의 각 치상조직을 배양한 결과 정아 마디 줄기 순으로 식물체 많이 유도되는 것으로 나타났으며 잎조직에서는 새로운 신초는 유도되지 않았다. 배양기간에서 대한 차이는 배양한지 30일 경과한것 보다 60일이 경과한 것에서 거의 모든 조직에서 2배이상의 신초형성을 보였다.

LITERATURE CITED

Bang, J. W., M. K. Lee and S. H. Chung. 1994. Somatic embryogenesis and plant regeneration in leaf explant cultures of *Gentiana scabra* var. bungeri. K. J. Plant Tissue Culture 21(4) : 233-237

Cho, M. S., J. J. Chang and S. I. Kwon. 1992. Effects of culture condition on micropropagation of *Gentiana axillariflora* var. coreana. K. J. Plant Tissue Culture 19(6) : 357-362

Hayshi, T. 1976. Studies on crude drugs origi nated from Gentianaceous plants. I. Determination of gentiopicroside, the bitter principle of *Gentianae radix* and *Gentianae scabra* Radix. Yakugaku Zasshi 96 : 356-361

Kimball, J. W. 1983. Biology. Ed 5. Addison Wesley Press. Massachusetts. pp 362-365

Lee H. K., M. K. Lee, C. S. Moon and J. W. Bang. 1996. Aanlysis genetic similarity of *Gentiana scabra* var. bungeri by randomly amplified polymorphic DNA. K. J. Med. Crop Sci. 4(3) : 224-497

Mok, M. C., S. C. Kim, D. J. Amstrong and D. W. Mok. 1979. Induction of cytokinin anatomy by N, N-diphenylurea in tissue culture of *Phaseolus lunatus* L. Proc, Natl Acad. Sci. 76 : 3880-3884

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for tobacco tissue culture. Physiol Plant 15 : 473-497

Plant Viruses Online Descriptions and Lists from the VIDE Database : Gentiana virus.

Seong, N. S., C. H. Park, S. T. Lee and S. M. Kim 1993. Plant regeneration and multiplication of *Gentiana scabra* Bunge through leaf and stem culture. Korean J. Medicinal Crop Sci. 1 : 129-136

Sharma, N., K. P. S. Chandel and P. Anderson. 1993. In vitro propagation of *Gentiana Kurro*-an indigenous threatened plant of medicinal importance. Plant Cell Tissue Organ Culture 34 : 307 - 309

Yamada, Y., Y. Shoyama, I. Nishioka, H. Kodha, A. Namera and T. Okamota. 1991. Clonal micropropagation of *Gentiana scabra* var buergeri Maxim and examination of the homogeneity concerning the gentiopicroside content. Chem Pharm Bull 39 : 204 - 206

Yu, C. Y., Y. A. Chae, S. D. Ahn, and D. H. Cho. 1994. Effect of thidiazuron on regeneration from Long - term cultured callus of *solanum* spp. K. J. Med. Crop Sci. 2(1) : 38 - 43

정연권. 1990. 재배가치 높은 자생 자생화초 용담재배. 농촌진흥청 연구와 지도 하계호. p. 20~21.