

구기자나무의 엽절편체에서 유도된 재분화식물체의 포장생육 특성

김동찬^{*} · 정해준 · 민병훈¹ · 양덕춘² · 김수동³ · 이봉춘³

충남농업기술원 예산국화시험장*, ¹배재대학교 원예조경학부, ²한국인삼연초연구원, ³충남농업기술원 청양구기자시험장

Characteristics on the Field Growth of Plantlets Regenerated from Leaf Segment Cultures of Boxthorn (*Lycium chinense* Mill.)

KIM, Dong Chan * · CHUNG, Hae Joon · MIN, Byung Hoon¹ · YANG, Deok Chun² · KIM, Su Dong · LEE, Bong Chun³

Chrysanthemum Experiment Station ChungNam Province RDA., Yesan, 340-910, Korea

¹*Department of Horticulture, Paichai University, Daejeon, 302-735, Korea*

²*Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Daejeon, 305-345, Korea*

³*Boxthorn Experiment Station ChungNam Province RDA., Chongyang, 345-870, Korea*

ABSTRACT 194 plantlets regenerated from leaf explants of boxthorn 'Cheonyang' were cultivated to investigate their morphological characteristics in the field for 2 years. Based on the morphology of leaves, 66.1% of them had elliptical type leaf, the same as that of mother plants, while 22.2% in oval type, 7.2% in obovate type, 2.6% in long-obvate type and 2.1% in lanceolate type. They were classified to 4 groups; group A was selected with both high fruit size and fruit yield, group B with only high fruit size, group C with larger or thicker leaf, and group D with multiple brenches. In comparison of production efficiency between the selected groups and mother plants, group A (99741, 99781, 99854, 99870 and 99886) were longer (2.1 to 2.7 mm) in length of fruits and higher in fruit production (15 to 30%) as compared to mother plants. Group D (99797 and 99892) was higher in leaf production (7.2%) as compared to boxthorn 'CL1-48', which is the highest in leaf production among boxthorn varieties.

Key words: Fruit production leaf type, multiple brenches, Somaclonal variation

서 론

약용작물인 구기자나무 (*Lycium chinense* Mill.)는 다년생 낙엽관목으로 수피는 회백색으로 키는 1m 내외이며 잎은 장지에 호생하거나 단가지에 총생하고, 엽형은 난형 또는 장타원형을 띠고 있다. 우리나라에서 재배되고 있는 구기자나무는 주로 재래종들로 탄저병과 흑용애 등의 피해가 심하여 이에 대한 내병성 품종의 육성이 요구되고 있으나, 유전자원의 제한으로 교잡육종에 의한 품종의 개량이 어려운 실정이다.

식물의 세포나 조직배양 과정에서 일어나는 변이에 대해 초기의 연구자들은 비정상적인 결과로 인식하였지만 (Morel, 1971; Murashige, 1974), 그 후 이러한 변이체로부터 유용 유

전자원을 확보하여 품종개량에 이용될 수 있다고 생각하게 되었다 (Skirvin, 1978; Thomas et al. 1979; Larkin and Scowcroft, 1981b). 조직배양에서 일어나는 변이의 종류로는 캘러스로부터 유기된 변이 식물체를 callclone (Skirvin and Janick, 1976)이라 하고, 원형질체로부터 유기된 변이체를 protoclone (Shepard et al. 1980)이라고 한다. 현재는 세포나 조직배양을 통한 식물체의 재분화 과정에서 나타나는 유전적인 변이체를 somaclonal variation (Larkin and Scowcroft, 1981a)라고 통용되고 있다.

본 연구는 방사선육종으로 선발된 내병충·다수성 품종인 '청양' 구기자나무의 엽절편체에서 유도된 캘러스로부터 재분화된 식물체를 포장에서 재배하여 우량형질을 지니고 있는 somaclonal variants를 선발하고자 수행하였으며, 그 특성을 보고하는 바이다.

*Corresponding author Tel 041-333-1151 Fax 041-333-1153

E-mail dckim62@hanmail.net

재료 및 방법

재분화 식물체의 유도

포장에서 생육중인 '청양' 구기자나무의 신초 상단부 잎을 70% 에탄올에 30초, tween 20이 첨가된 0.3% NaClO에 3분간 침지처리한 후 멸균수로 5회 수세하였다. 실험에 사용된 엽절편은 중앙맥을 중심으로 0.5 cm × 0.5 cm 크기로 절단하여 0.5 mg/L NAA와 0.2 mg/L BA가 첨가된 MS (Murashige and Skoog 1962) 배지에서 캘러스를 유도하였다. 캘러스의 증식은 동일배지에서 3주 간격으로 4회 계대배양하였으며, 신초분화를 위해 0.5 g 정도의 캘러스를 0.01 mg/L NAA와 0.2 mg/L BA가 첨가된 MS 배지에 치상하여 4주 후 유식물체를 얻었다.

포장재배

재분화된 200개체의 구기자나무는 베미큘라이트와 펄라이트를 1:1 (v/v)로 혼합한 용토에서 4주 동안 순화시켰다. 순화 후 194개체의 유식물체는 포장에 정식하여 1999년부터 2000년까지 2년간 청양구기자시험장에서 실험을 수행하였다. 모든 실험의 포장조성은 이랑넓이 120 cm의 두둑을 형성한 뒤 배색비닐을 멀칭하고 포기 사이를 40 cm 간격으로 하여 4월 28일 정식하였다. 시비량은 N-P₂O₅-K₂O를 40-30-30 kg/10a으로, 질소는 기비 60%, 추비 20%씩 2회 분시하고, 칼리는 기비 70%와 추비 30%로 사용하였으며, 인산과 퇴비 3,000 kg/10a은 전량 기비로 사용하였다. 유식물체의 생육특성은 5월 하순경 1차 적심하기 전에 초형, 엽특성, 줄기특성을 농촌진흥청 농사시험연구조사 기준 (농촌진흥청 1995)에 의해 조사하였다.

우량 변이주 선발

포장에 정식한 194계통의 적심은 5월 하순, 6월 하순과 7월 하순에 3회 실시하였다. 1년차 실험에서 선발한 열매변이 계통 중 열매가 커지고 수량이 증대된 5계통과 열매만 커진 4계통, 초형변이 2계통 및 잎이 두꺼운 특징을 보인 2계통 등 13계통을 공시하였다. 선발계통들의 재배방법은 전년도에 자란 충실한 가지를 길이 15~20 cm, 직경 0.8 cm 내외의 삽수를 채취하여 본포에 직접 삽식하여 초형과 엽형을 조사하였다.

잎과 초형의 형태적 특성

잎이 두껍고 광엽인 엽형변이체와 액아에서 신초 발생이 많은 다분지성의 초형 변이체는 증식을 위해 전년도에 자란

충실한 가지를 길이 15~20 cm, 직경 0.5 cm 내외의 삽수를 채취하여 본포에 직접 삽식하여 잎과 줄기의 특성을 조사하였다.

열매 및 엽 수량의 특성

열매가 커지고 수량이 증대된 계통군의 과장과 과경은 수확시마다 중간정도 크기의 과실 10개씩 조사하였다. 100과의 건물중은 수확시마다 100개의 열매를 60°C에서 24시간 열풍건조 후 무게를 평량하였으며, 착과수는 중간 정도로 생육한 3주를 수확시마다 조사하였다. 열매수량은 수확 후 60°C에서 24시간 열풍건조한 뒤 평량하여 10 a로 환산하였다.

액아에서 신초 발생이 많은 다분지성의 초형 변이체는 '유성 2호'의 삽수에 ⁶⁰Co 3kR를 처리한 후 선발한 엽이용 선발계통인 CL1-48을 대조구로 공시하였다. 잎의 수량조사는 삽식된 식물의 줄기가 지제부에서 20 cm 생육되었을 때 1차 적심하여 고정한 다음 그 이상으로 신초가 재생장하여 10~15 cm 되었을 때마다 채취하여 생체중을 조사하였다. 건물중은 60°C에서 24시간 열풍건조하여 측정한 후 10 a로 환산하였다.

결과 및 고찰

포장재배 특성

포장에서 자란 내병충·다수성이 '청양'의 상부 잎 절편체에서 유기된 200개체의 기내유묘를 순화 후 포장에 정식하여 194개체의 생육특성을 조사하였다. 기내에서 분화된 유식물체의 잎의 형태적 특징은 포장에서 재배된 모본인 '청양'과 같은 타원형이 66.1%, 난형 22.2%, 도란형 7.2%, 장타원형 2.6% 그리고 피침형이 2.1%였다 (Table 1).

재분화된 식물체들 중에는 잎의 형태가 두툼한 타원형, 장타원형 그리고 도란형 계통들이 있었고, 줄기의 형태에서는 모본 보다 절간의 길이가 짧고 엽수가 많은 계통과 잎이 상향으로 부착된 계통 및 줄기가 부드러운 광엽의 계통 등이 있었다 (Figure 1). Barwale와 Widholm (1987)은 미숙배 배양에서 얻은 대부분의 R₁, R₂ 그리고 R₃의 개체들을 조사한 결과 엽록소 결핍, 임성, 엽형과 엽수, 왜성 그리고 다분지성의 변이 식물체를 선발하였고, 이중 일부 특성들은 후대에 안정적으로

Table 1. Leaf shapes after cultivation in field of boxthorn 'Cheong yang' plants regenerated from callus.

Plant source	Elliptic	Oval	Obovate	Longelliptic	Lanceolate
Regenerated plant ^a (%)	66.1	22.2	7.2	2.6	2.1

^a194 plants were investigated.

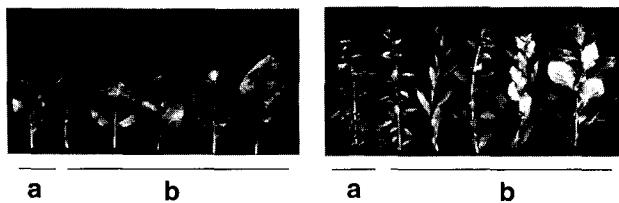


Figure 1. Leaf shapes after cultivation in field of boxthorn 'Cheongyang' plant regenerated from callus; a, Boxthorn 'Cheongyang' plant; b, Regenerated boxthorn 'Cheongyang' plant.

유전되었다고 하였다.

1차 적심 전 유식물체의 초형은 모본인 '청양'과 같이 190계통이 반직립형이었고 4계통은 직립형이었으며, 엽장은 모본이 9.6 cm였으나 재분화 식물체들은 5 cm 이하가 2.6%, 5~8 cm는 28.9%, 그리고 8~11 cm는 61.3%였고, 11 cm 이상은 7.2%였다. 엽폭은 모본 (4.1 cm)에 비해 2~3 cm는 17.5%, 3~4 cm는 50.5%, 4~5 cm는 28.9% 그리고 5 cm 이상은 1.5%였으며, 3차 적심 후 조사한 줄기수는 모본 (3.3개)에 비해 재분화 식물체들은 10개 이하가 60%, 10~20개는 30.4%였으며, 40개 이상은 1.5%가 발생되었다 (Table 2).

Baruah와 Bordoli (1989)는 *Cymbopogon martinii* Roxb.의 재분화 식물체들 중에는 형태적, 유전적인 변이가 많이 일어났으며, 기내에서 염은 식물체 중에서 표현형적인 변이의 종류로는 잎의 형태 변화, 왜성, 칙색의 부족, 그리고 꽃의 모양 변화 등을 보고하였다. Vuylsteke와 Rodomiro (1996)은 바나나의 증식방법에 따른 변이 발생률을 조사하였는데, 생장점배양에서 얻은 104개의 식물체 중 체세포 변이 발생률은 3.7%였으며, 흡지증식법에서 증식된 86개체 중 이형주 비율은 1.5%였다고 보고하였다. 본 실험에서도 엽형, 엽 크기 및 줄기 수가 모본과는 다른 변이체가 출현되었음을 알 수 있었다.

우량변이주 선발

재분화된 구기자나무의 포장검정 후 선발한 우량 변이주는 4가지 type으로 구분하였다. 열매의 크기가 커지고 수량이 증대된 type I의 5계통과 열매가 커진 type II 4계통, 잎이 두꺼운 특징을 보인 type III 2계통, 그리고 액아에서 신초가 발생되는 다분지성 초형변이인 type IV 2계통 등 13계통을 선발하였다 (Table 3). 선발된 우량변이주의 초형과 엽형은 대부분 모본인 '청양'과 같은 반직립형과 타원형이었으나, type III와

type IV에서는 도란형과 장타원형을 보이는 계통도 있었다 (Table 3).

잎과 초형의 형태적 변이

잎의 형태변이체 중에서는 99747계통과 같이 도란형의 광엽을 보이는 계통도 있었지만, 99783계통과 같이 잎이 두껍고 짙은 녹색을 띠며 밑으로 쳐지고 생육이 지연되는 등의 형태적 변화가 일어난 개체도 있었다 (Figure 2). Kang과 Richard (1996)는 교집종 사시나무인 'Cradon'과 'Hansen' 클론의 줄기마디를 MS 배지에 치상한 후 유기된 측아들 중 약 20% 정도가 잎이 두꺼운 비정상적인 형태를 보였다고 보고한 바와 같이 구기자나무에서도 비정상적인 형태를 나타내는 계통들이 있었다.

액아에서의 신초발생이 많은 type IV의 초형과 엽형은 직립형과 난형으로 대조계통의 반직립형과 피침형과는 차이가 있었으며, 엽색은 대조계통과 선발계통이 모두 연녹색이었다. 또한 초형변이 계통은 줄기에 가시가 없고 액아에서 신초가 많이 발생되는 다분지성으로 개화가 되지 않는 등의 형태적 변이가 뚜렷하였다. 본 실험의 대조계통인 CLI-48은 잎 채취 후 신초와 어린잎의 경화가 빨랐고 경화된 가지에서 가시가 많이 발생되었으나, 초형변이 계통들은 엽채취 후에도 신초생장이 왕성하였으며, 부드럽고 유연한 잎을 유지하여 엽이용 품종으로 활용하는 것이 좋을 것으로 생각되었다 (Figure 3). McPheeters와 Skirvin (1983)은 'Thornless Evergreen' (TE) blackberry (*Rubus laciniatus* Willd.)의 생장점 배양에서 유기된 식물체들은 거의 대부분 왜성이었으나, 일부 계통들은 엽병이 변형되거나 가시가 적고 직립성인 계통들도 있었다고 보고하였다. 또한 가시가 없고 왜성의 특징을 보인 TE blackberry의 표피를 배양하여 150개체의 부정신초를 얻었으며, 이들을 포장에 정식하여 초세, 초장, 잎과 꽃의 형태, 임성을 조사하여 우량한 개체들을 선발한 것 (McPheeters와 Skirvin, 1989)과 같이 본 실험에서도 구기자나무의 재분화 식물체 중에서 모본과 다른 우량한 변이계통들을 선발하였다.

열매 및 엽 수량의 특성

캘러스에서 재분화된 구기자나무를 포장에 정식하여 열매의 특성을 검정한 결과 모본보다 우량한 변이계통을 선발하

Table 2. Leaf length, leaf width and number of stems per plant after cultivation in field of boxthorn 'Cheongyang' regenerated from callus.

Plant source	Leaf length (cm)			Leaf width (cm)			No. of stem/plant							
	< 5	5 ~ 8	8 ~ 11 >	11	< 2	2 ~ 3	3 ~ 4	4 ~ 5 >	5	< 10	10 ~ 20	20 ~ 30	30 ~ 40 >	40
Regenerated plant ^a (%)	2.6	28.9	61.3	7.2	1.5	17.5	50.5	28.9	1.5	60.0	30.4	5.2	3.1	1.5

^a194 plants were investigated.

Table 3. Plant type and leaf shape after cultivation in field of boxthorn 'Cheongyang' plants regenerated from callus.

Variant types ^a	Cultivar & Lines	Plant type			Leaf shape		
		Upright	Semiupright	Elliptic	Oval	Longelliptic	
	'Cheongyang'			○	○		
Type I	99741			○	○		
	99781			○	○		
	99854			○	○		
	99870			○	○		
	99886			○	○		
Type II	99774			○			
	99831		○		○		
	99840			○	○		
	99849			○		○	
Type III	99747			○			
	99783			○	○	○	
Type IV	99797	○				○	
	99892	○				○	

^aType I variants were selected from 194 regenerated plants with high fruit size and fruit yield; type II, with high fruit size; type III, with larger or thicker leaf; type IV, with multiple branches.



Figure 2. Phenotypes of larger or thicker leaf variants (type III) after cultivation in field of boxthorn 'Cheongyang' plants regenerated from callus; A, 'Cheongyang'; B, 99747; C, 99783.



Figure 3. Phenotypes of multiple branches variants (type IV) after cultivation in field of boxthorn 'Cheongyang' plants regenerated from callus; A, CL1-48; B, 99797; C, 99892.

였다. 모본의 열매형태는 타원형이었으나 선발된 계통들은 대과로서 타원형과 장타원형으로 구분할 수 있었으며, 대과계통들의 꽃 크기는 모본보다 큰 것과 작은 것으로 구분되었다 (Figure 4). 열매의 형태가 커지고 수량이 증대된 type I의 열매의 형태가 커진 계통군에서 열매의 길이는 모든 계통에서 모본보다 긴 대과의 특성을 보였다. 그러나 과경은 99854계통만이 모본보다 길었을 뿐 나머지 계통들은 모본과 큰 차이를 보이지 않았다. 수확시마다 중간 정도 크기의 과실 100개를 건조한 후 평량한 무게는 99741, 99854, 그리고 99870계통이 18.7~19.7 g으로 모본보다 무거웠으나 99781과 99886계통은 모본과 비슷하였다. 주당 착과수는 99886계통이 729개로 가장 많았고, 99741과 99781계통은 모본 (610개)과 비슷하였으

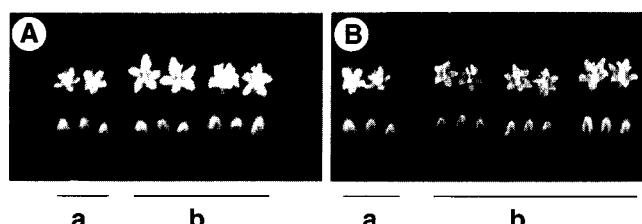


Figure 4. Fruit and flower characteristics of high fruit size and fruit yield variants (type I), and high fruit size variants (type II) after cultivation in field of boxthorn 'Cheongyang' plants regenerated from callus; A, Elliptical type's fruit and flower (a, Boxthorn 'Cheongyang' plant; b, Callus-driven plants); B, Long-elliptical type's fruit and flower (a, Boxthorn 'Cheongyang' plant; b, Callus-driven plants).

나 99854와 99870계통은 모본보다 적었다 (Table 4).

열매 및 수량이 증대된 type I의 수량은 성숙한 열매를 수확하여 60°C로 열풍 건조시킨 후 10 a당 중량으로 환산하였다. 모본인 '청양'의 10 a당 수량은 139 kg인 것에 비해 이들 계통군은 15~30% 증대되었으며, 모본에 비해 99886계통이 30%, 99741계통은 28% 그리고 99781계통은 27% 증수되었다 (Figure 5).

초형변이 계통군인 type IV의 연평균 엽채취 횟수는 6회였으며 채취된 줄기의 엽수는 99797과 99892계통이 각각 36.9 매와 38매로 모본의 35매보다 약간 증가하였다. 10개체의 식물체로부터 평균한 생엽중은 대조계통인 'CL1-48'이 23 g이었으나, 99797계통은 29.9 g으로 대조계통보다 약 7 g 더 무거웠지만, 생경중은 1.5~2.1 g가 벼쳤다. 잎과 줄기의 총 생체중도 이들 계통들은 모본보다 2.4~4.7 g 더 무거웠다. 또한 건엽중, 생경중과 잎과 줄기의 총 건물중은 이들 계통들과 대조계통과는 큰 차이가 없었다 (Table 5).

신초의 건엽과 생엽을 비교한 건물중의 비율은 대조계통이

Table 4. Fruit characteristics of high fruit size and fruit yield variants (type I) after cultivation in field of boxthorn 'Cheong yang' plants regenerated from callus.

Selected lines	Days to flowering ^z	Fruit length (mm)	Fruit diameter (mm)	Dry weight/100 fruits	No. of fruit set /plant
'Cheongyang'	72	14.2 b ^x	9.6 b	14.9 b	610 ab
99741	71	16.8 a	9.2 b	19.0 a	590 ab
99781	81	16.6 a	9.3 b	17.8 ab	640 ab
99854	68	16.6 a	10.4 a	19.7 a	542 b
99870	83	16.9 a	9.4 b	18.7 a	545 b
99886	73	16.3 a	9.3 b	17.6 ab	729 a

^zData were collected when 40% plants were flowering.

^xMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 0.05 %.

17.8%로 가장 높았으며, 99797계통은 15.1%로 가장 낮았다. 건경과 생경은 99797과 99892계통이 각각 18.7%와 19.6%로 대조계통의 17%보다 건물중의 비율이 높았다. 이러한 결과는 선발계통의 줄기수가 대조계통보다 많았으나, 줄기의 굵기가 대조계통보다 가늘었기 때문인 것으로 생각되었다 (Table 5).

10a 당 엽생산량은 생엽중인 경우 CL1-48이 2,762 kg이었으나 99797과 99892계통은 각각 2,874 kg과 3,002 kg으로 대조계통보다 증가하였다. 건물중은 99797계통이 444 kg으로 대조계통의 455 kg보다 적었으나, 99892계통은 476 kg으로 7.2%가 증수되었다 (Figure 6).

적  요

포장에서 자란 '청양'의 상부 잎 절편체 유래의 캘러스에서 200개체의 유식물체를 분화시켜 194개체를 포장에 정식한 후 2년 동안 특성을 조사하였다. 잎의 형태는 모본과 같은 타원형이 66.1%였고, 모본과 다른 난형 22.2%, 도란형 7.2%, 장타원형 2.6% 그리고 퍼침형이 2.1%였다. 또한 재분화된 구기자의 포장생육특성을 검정한 후 열매의 크기가 커지고 수량이 증대된 계통군 5계통 (99741, 99781, 99854, 99870, 99886)과 열매가 커진 계통군 4계통 (99774, 99831, 99840, 99849), 잎이 두꺼운 특징을 보인 2계통 (99747, 99783), 그리고 액아

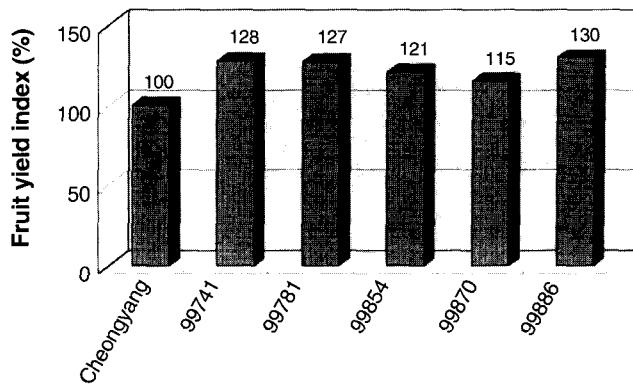


Figure 5. Fruit yield of high fruit size and fruit yield variants (type I) after cultivation in field of boxthorn 'Cheongyang' plants regenerated from callus.

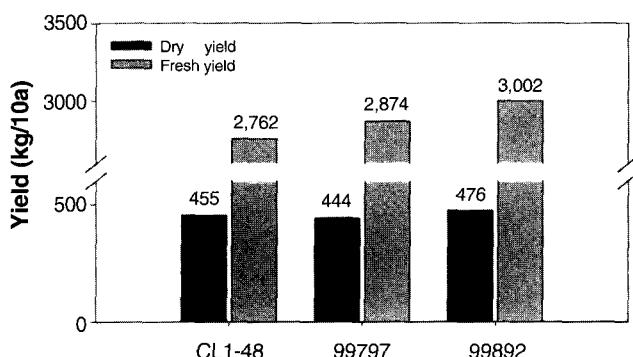


Figure 6. Leaf yield characteristics of multiple banches variants (type IV) after cultivation in field of boxthorn 'Cheongyang' plants regenerated from callus.

에서 신초가 많이 발생되는 다분지성의 초형변이 계통군 2계통 (99797, 99892) 등 13계통을 선발하였다.

열매의 변이를 나타낸 체세포 변이체간의 생산성을 비교한 결과, 대과와 다수화 계통으로 선발한 5계통들은 '청양'에 비해 과장이 2.1~2.7 mm 길었으며, 10a 당 생산량은 15~30% 가 증수되었다. 초형변이를 나타낸 개체 간의 엽수량을 비교한 결과 대조계통인 CL1-48에 비해 99892계통이 7.2% 증수되었고 가시가 발생되지 않았으며 잎이 유연한 특징을 보였다.

Table 5. Leaf and stem characteristics of multiple banches variants (type IV) after cultivation in field of boxthorn 'Cheongyang' plants regenerated from callus.

Selected lines	No. of leaf	Fresh weight (g/10 plants)			Dry weight (g/10 plants)			Dry weight ratio (%)		
		Leaf	Stem	Total	Leaf	Stem	Total	Leaf	Stem	Total
'CL1-48' ^z	35.0 b ^y	23.0 b	11.2 a	34.3 b	4.1 a	1.9 a	6.0 a	17.8 a	17.0 a	17.5 a
99797	36.9 ab	29.9 a	9.1 a	39.0 a	4.5 a	1.7 a	6.2 a	15.1 b	18.7 a	15.9 a
99892	38.0 a	27.0 ab	9.7 a	36.7 b	4.4 a	1.9 a	6.3 a	16.3 ab	19.6 a	17.2 ab

^zMutant variety selected from boxthorn 'Yusong 2' .

^yMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 0.05%.

인용문헌

- Baruah A, Bordoli DN** (1989) High frequency plant regeneration of *Cymbopogon martini* Roxb. wats by somatic embryogenesis and organogenesis. *Plant Cell Rep* **8**:483-485
- Barwale UB, Widholm JM** (1987) Somaclonal variation in plants regenerated from cultures of soybean. *Plant Cell Rep* **6**:365-368
- Carlson PS** (1975) Crop improvement through technique of plant cell and tissue cultures. *Bioscience* **25**:747-749
- Larkin PJ, Scowcroft WR** (1981a) Somaclonal variation - a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theor Appl Genet* **60**:197-214
- Larkin PJ, Scowcroft WR** (1981b) Eyespot disease of sugar cane. Host-specific toxin induction and its interaction with leaf cells. *Plant Physiol* **67**:408-414
- Morel G** (1971) The impact of plant tissue culture on plant breeding. In: F.G.H. Lupton et al.(eds), *The way ahead in plant breeding*, Cambridge, 6th Congress Eucarpia, pp 185-194
- Murashige T** (1974) Plant propagation through tissue culture. *Ann. Rev. Plant Physiol* **25**:135-166
- Murashige T, Skoog F** (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* **15**:487-497
- 농촌진흥청** (1995) 농사시험연구 조사기준. pp 586-588
- Shepard JF, Bidney D, Shahin E** (1980) Potato protoplasts in crop improvement. *Science* **208**:17-24
- Skirvin RM** (1978) Natural and induced variation in tissue culture. *Euphytica* **27**:241-266
- Skirvin RM, Janick J** (1976) Tissue culture-induced variation in scented *Pelargonium* spp. *J Amer Soc Hort Sci* **101**:281-290
- Thomas E, King PJ, Potrykus I** (1979) Improvement of crop plants via single cells in vivo - An assessment. *Z Pflanzenzuchtg.* **82**:1-30
- Vuyistek DR, Rodomiro O** (1996) Field performance of conventional vs. in vitro propagules of plantain (*Musa* spp., AAA group). *HortScience* **31**:862-865

(접수일자 2002년 4월 27일)