식물생명공학회지 제34권 제1호
J Plant Biotechnol
Vol. 34, No. 1, 1-6 (2007)

고추냉이 정단배양에 있어서 BA 농도 및 배양방법에 따른 기내증식 효과

박윤영[1*], 조문수[1], 이영득[1], 정종배[1], 박 신[1], 정병룡[1], 박상규[1]
[1]대구대학교 생명환경대학

Effect of BA Concentrations and Culture Methods on *in Vitro* Plant Multiplication from Shoot-Tip Culture of *Wasabia japonica*

Yun Young Park[1*], Moon Soo Cho[1], Young Deuk Lee[1], Jong Bae Chung[1], Shin Park[1], Byeong Ryong Jeong[1], and Sang Gyu Park[1]
[1]College of Life & Environment, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Korea

ABSTRACT Effect of BA concentrations and culture methods on *in vitro* plant multiplication from shoot-tip cultures of *Wasabia japonica* was studied. Shoot-tips with leaf primordia and apical meristem were cultured on MS basal medium for all the experiments. Liquid medium for 2 weeks followed by semi-solid medium for 4 weeks containing 1.0 mg/L BA was the best to number of shoots (22.8) and shoot length (3.5 cm). Shoots proliferated could be divided into ca. 5 to 11 of cultures for the multiplication of plantlets. Divided plantlets showed root formation (90%) well onto MS basal medium without growth regulators like IBA and NAA. After rooting, all the plantlets transferred into the pots containing composed soil (bio-media Co., peatmoss 8~10%, coir dust 66~70%, zeolite 13~17%, vermiculite 3~7%, perlite 2~4%) and grown well into whole plants with multiple shoots.

서 론

일명 와사비라고 불리는 고추냉이 (*Wasabia koreana, Wasabia japonica*)는 맑은 물이 흐르는 산간계곡의 반음지에서 잘 자라며 15℃ 내외의 서늘한 곳을 좋아하는 십자화과의 다년생 향신료 식물이다 (Byeon et al. 2003). 원산지인 일본 (*Wasabia japonica*)에서는 전국적으로 분포하고 있으나 우리나라는 울릉도 (*Wasabia koreana*)에서만 자생하는 것으로 알려져 있다. 주로 이용되는 근경 및 잎은 풍미, 향미, 신미를 지니고 있어 식생활에 많이 이용되고 있다. 매운맛을 내는 주요성분인 sinigrin 및 allyl isothiocyanate는 소화촉진, 비타민 B_1의 합성촉진 그리고 비타민 C의 산화억제 뿐만 아니라 살균, 살충, 항암성 및 성인병 예방에 효과가 있다고 보고된 바 있다 (Fuke 1994, Hitomi 1994, Kawakishi 1985). 고추냉이는 전 세계적인 건강식품으로 인정을 받고 있고 경제성이 뛰어난 작물임에도 불구하고 환경에 아주 민감하며 생육범위가 상당히 좁아 적지재배지가 한정되어 있으며 번식과 재배가 힘든 상황이어서 생산량 및 생산시기가 매우 제한되어 있다.

고추냉이 재배에 있어서 대부분 농가에서는 비싼 일본종자를 들여와 파종한 후 영양번식을 통해 개체를 증식시키고 있으나 바이러스 및 병해에 쉽게 전염되기 때문에 품질을 높이기 위해서는 조직배양기법을 이용한 무병주 육성 및 대량증식을 통한 생산체계가 시급한 실정이다 (Eun et al. 1997). Takashi 등 (1986)과 Hisao (1988)는 경정배양을 통해 대량증식을 연구한 바 있으며, Eun 등 (1997)은 정단분열조직에 의한 미세증식을 연구한 바 있으나 모두 반고체배지를 이용한 배양방법의 연구가 행하여졌으며 깨끗하고 건전한 묘를 이용함에도 불구하고 오염율이 매우 높고 신초 증식율이 매우 낮은 것으로 보고되어 있다. 식물체의 증식효율을 증가시키기 위해 shoot-tip 배양시 cytokinin류의 종류 및 농도를 달리하는데 이는 일반적으로 지하부의 발육을 억제하고 지상부의 생육을 촉진한다고 알려져 있으며 (Pennazio 1975) 그 중에서 BA는 특히 다른 cytokinin 보다 활성이 높아 많은 식물

*Corresponding author Tel 053-850-6714 Fax 053-850-6719
E-mail: young5801@hanmail.net

의 기내 신초증식에 사용되고 있다 (Earle and Langhans 1974, Takayama and Misawa 1982, Han et al. 1997, Han et al. 2004).

따라서 본 실험은 오염을 줄이기 위하여 기내에서 종자로부터 발아된 정단을 이용하여 BA의 농도 및 배양방법을 달리하여 고추냉이의 신초를 기내에서 대량증식 할 수 있는 최적 배양조건을 확립하고자 하였으며 향후 원활한 식물재료의 공급을 통하여 고추냉이의 유용성분을 이용한 연구에 도움이 되고자 하였다.

재료 및 방법

강원도 평창에 소재하고 있는 개인농장 (원복수산)에서 구입한 고추냉이 (*Wasabia japonica*) '도근' 품종의 종자를 풍건 건조시킨 후 2℃에 냉장보관 하여 실험에 사용하였다. 종자를 70% 에탄올에 30초간 표면 살균한 다음 2% sodium hypochlorite 수용액 (v/v)으로 20분간 소독 후 멸균된 증류수를 이용하여 3회 세척하였다. 휴면을 타파시키기 위해 2℃에서 100 ppm의 GA_3 용액에 10일간 침적시킨 후 위와 같은 방법으로 2차 소독과 세척한 다음 배지에 치상하였다. 0.6% agar를 함유한 MS 기본배지 (Murashige and Skoog 1962)에 파종하여 기내에서 발아시킨 다음 본 엽이 2～3매 출현했을 때 생장점 및 엽원기 1매가 포함된 shoot-tip을 절취하여 실험재료로 사용하였다.

신초유도

신초를 유도하기 위해 sucrose 30 g/L가 첨가된 MS 기본배지를 사용하였으며 BA (6-Benzyladenine) 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 mg/L의 농도로 단용 처리하였다. 반고체배지, filter paper bridge 그리고 액체진탕배양 등으로 배양방법을 달리하였으며 반고체배지의 경우 0.6% agar가 첨가된 기본배지를 test tube (2.2×15 cm)에 15 mL씩 분주하여 사용하였으며 filter paper bridge의 경우는 filter paper로 bridge를 만들어 test tube (2.2×15 cm)에 넣은 다음 agar가 들어 있지 않은 기본 액체배지를 15 mL씩 분주하였다. 그리고 액체진탕배양은 100 mL 삼각플라스크에 30 mL의 기본 액체배지를 분주하여 130 rpm으로 진탕배양시켰다. 모든 배지는 pH를 5.7로 조정한 다음 고온고압멸균기에서 121℃로 15분간 멸균 후 사용하였다. 배양환경은 온도 20±1℃, 40 μmol/m^2/s^1의 광도 하에서 16시간, 암상태 8시간의 광주기로 하였으며 모든 처리는 개체 당 30반복으로 수행하였다. 각각의 처리에서 유도된 multi-shoot은 분할하여 필터가 부착된 유리 배양병 (9×11×17 cm)에 1.0 mg/L BA가 함유된 MS 반고체배지에서 계대배양 하였다.

발근유도 및 기외순화

발근유도를 위한 실험재료는 shoot-tip을 BA 1.0 mg/L가 첨가된 MS배지에서 액체진탕배양 2주와 반고체배지배양 4주를 거친 multi-shoot을 분할하여 일회 계대배양 한 후 액아를 포함하여 잎이 4～5매 되게 균일하게 분리한 후 사용하였다. 배지는 0.6% agar를 함유한 MS 기본배지를 사용하였으며 생장조절물질이 첨가되지 않은 무처리와 IBA (Indolebutyric acid) 및 NAA (Naphthaleneacetic acid)를 각각 단용으로 0.01, 0.1, 1.0 mg/L로 첨가한 배지에 처리하여 배양병 (9×11×17 cm)당 각 6개씩 5반복으로 치상하여 온도 20±1℃, 40 μmol/m^2/s^1의 광도에서 16시간, 암상태 8시간의 광주기하에서 배양하였으며 9주 후 부정근 형성율, 발근 수 및 뿌리의 길이를 조사하였다. 기외순화를 위해 재분화된 유묘를 원예용 상토 (bio-media Co., peatmoss 8～10%, coir dust 66～70%, zeolite 13～17%, vermiculite 3～7%, perlite 2～4%)가 들어 있는 7×11 cm 크기의 포트에 한 개체씩 식재한 후 2주간 습도를 높게 유지시킨 뒤 육묘온실에서 20±5℃ 하에서 관리하였다.

결과 및 고찰

고추냉이의 shoot-tip 배양을 위해 온실에서 재배한 묘와 기내에서 종자로부터 발아된 유묘에서 절취한 shoot-tip을 이용하여 예비실험 한 결과 온실 재배묘에 있어서 기내 오염율은 상당히 높게 나타났으며 80% 이상이 배양 1주일 이내에 오염되었다 (데이터 미제시). 특히 액체진탕배양에서는 수차례의 반복 실험에도 불구하고 100% 오염되었다. 그러나 기내에서 종자로부터 발아된 유묘의 shoot-tip을 실험재료로 사용했을 경우 거의 오염되지 않았다. Hidetaka (1986)는 온실 재배묘의 오염이 심한 것은 고추냉이의 경정부가 많은 엽원기로 덮여있지 않기 때문이며, 경정부에 젤리상의 물질이 존재하기 때문일 것이라고 보고하였다. 따라서 온실 재배묘를 가지고 기내 배양한다는 것은 비현실적이어서 기내에서 무균적으로 발아시킨 유묘에서 shoot-tip을 절취하여 배양하는 것이 가장 바람직한 것으로 보였다.

BA 농도 및 배양방법에 따른 신초유도

고추냉이의 신초를 유도하기 위해 배양방법에 따라 MS 기본배지에 BA를 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 mg/L의 농도로 단용 처리하여 2주간 배양하였다 (Table 1). 반고체배지와 filter paper bridge에서 배양한 경우 실험 2주 후 신초의 수는 1.0～1.7개, 신초의 길이는 0.5～1.3 cm로 조사되었으며 처리간의 BA 농도에 따른 신초의 수 및 길이는 통계적으로 유의차가 없는 것

으로 나타났다. 반면 액체진탕배양에서는 0.1, 1.0 mg/L BA에서 각각 2.5 및 2.9개로 다른 처리에 비해 신초의 수가 가장 높았으며 신초의 길이 또한 각각 2.9 및 3.2 cm로 다른 처리구들에 비해 빠른 증식과 신장을 나타내었다. BA의 농도가 낮을수록 신초의 수와 길이가 증가하는 경향을 보였으며 높은 농도의 BA에서는 신초의 수가 적고, 길이가 짧았으며 신초의 색이 검게 변하다가 고사하였다. 위의 결과는 고농도의 BA가 줄기신장을 억제한다는 많은 연구 보고들의 결과와 유사하였다 (Saito and Ide 1985, Shim and Ha 1997). 결과적으로 신초의 길이는 비교적 길게 신장하였으나 신초의 수는 단지 2~3개 밖에 분화되지 않아 배양 2주 만으로는 급속하게 대량증식을 할 수 있는 만족한 결과를 얻지 못하였다.

반고체배지와 filter paper bridge 배양에서 배양 기간을 늘려 조사한 결과는 Table 2와 같다. 두 배양 모두에서 BA 농도간의 통계적인 유의차는 거의 없는 것으로 나타났으나 반고체배지에서는 5.0 mg/L BA에서 신초의 수가 7.3개, 길이가 2.7 cm로 가장 양호하였으며 filter paper bridge 배양의 경우 2.0 mg/L BA에서 신초의 수가 6.7개, 신초의 길이가 2.8 cm로 양호한 것으로 판단하였다. Eun 등 (1997)은 고체배지를 이용한 배양방법을 통하여 1.0 mg/L BA에서 배양 30일 후에 4~7매의 본엽을 가진 신초로 증식되고, 60일 후에는 액아가 증식된 multi-shoot를 형성하여 2개체의 분할묘 증식을 보여 처리 중에 가장 양호하였다고 하였으나 본 실험의 경우 5.0 mg/L BA에서 신초가 7.3개로 가장 높게 나타나 상이한 결과를 나타내었다. 이는 BA의 농도에 대한 신초형성 정도가 고추냉이의 품종 및 실험재료의 재배환경에 따른 차이에서 기

Table 1. Effect of BA concentrations and culture methods on adventitious shoot multiplication from shoot-tip of *Wasabia japonica* after 2 weeks of culture.

Culture methods	BA conc. (mg/L)	No. of shoots	Shoot length (cm)
Semi-solid medium	0.1	1.5 abc[z]	0.9 d
	1.0	1.0 bc	0.9 d
	2.0	1.5 abc	1.2 cd
	5.0	1.5 abc	1.0 d
	10.0	1.3 bc	0.7 d
Filter paper bridge	0.1	1.0 bc	0.9 d
	1.0	1.0 bc	1.2 cd
	2.0	1.0 bc	1.3 cd
	5.0	1.7 abc	0.5 d
	10.0	1.0 bc	0.7 d
Liquid medium	0.1	2.5 ab	3.2 a
	1.0	2.9 a	2.9 ab
	2.0	1.8 abc	2.6 abc
	5.0	1.5 abc	1.6 bcd
	10.0	0.7 c	0.8 d

[z]mean seperation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

Table 2. Effect of BA concentrations and culture methods on adventitious shoot multiplication from shoot-tip of *Wasabia japonica* after 9 weeks of culture.

Culture methods	BA conc. (mg/L)	No. of shoots	Shoot length (cm)
Semi-solid medium	0.1	5.0 abc[z]	2.7 ab
	1.0	4.1 abc	2.4 ab
	2.0	2.8 bc	2.5 ab
	5.0	7.3 a	2.7 ab
	10.0	2.2 c	2.0 b
Filter paper bridge	0.1	3.6 abc	2.7 ab
	1.0	4.5 abc	3.1 a
	2.0	6.7 ab	2.8 a
	5.0	4.4 abc	2.6 ab
	10.0	3.1 bc	3.0 a

[z]mean seperation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

인된다고 생각된다.

액체진탕배양에서 2주 동안 배양한 shoot-tip을 반고체배지로 옮겨 4주 동안 배양 한 결과 다음과 같았다 (Table 3). 액체진탕배양 방법으로 2주 이상 배양했을 경우 처음 출현하는 신초는 지나치게 비대해지고 길이도 빠르게 신장하였으나 배양기간이 길어질수록 신초가 유리화되어 반고체배지로 옮기게 되었다. 배양 6주 후 1.0 mg/L BA에서 신초의 수가 22.8개, 길이가 3.5 cm로 상당히 빠른 증식과 길이 신장을 나타내어 만족할 만한 결과를 얻었다. 1.0 mg/L의 BA 농도보다 높은 농도에서는 신초의 생장이 더욱 감소하는 경향을 보여 낮은 농도의 BA 처리가 고추냉이의 신초생장에 효과적이라는 것을 알 수 있었다. Eun 등 (1997)은 정단분열조직으로부터 1.0 mg/L BA에서 배양 90일 후에 3～7개체의 분할묘를 획득할 수 있다 하였고, Takashi 등 (1986)은 shoot-tip으로부터 0.1 mg/L BA에서 배양 111일째 평균 3주의 분할묘를 획득하였으며 Hisao (1988)는 shoot-tip으로부터 0.2 mg/L IAA + 1～2 mg/L BA 처리에서 배양 3개월째에 4～5개의 액아가 신장한다고 보고한 바 있다. 이는 모두 반고체배지에서 이루어진 결과들이며 액체진탕배양 방법 후 반고체배지로의 배양방법은 배양기간이 6주로 단축되었을 뿐만 아니라 신초의 수도 22.8개로 5～11개의 분할묘를 획득할 수 있었다. 따라서 위의 방법은 배양기간을 단축할 수가 있었고 신초증식률도 매우 높게 나타나 고추냉이 대량증식에 가장 적합한 방법이라고 판단된다. 이후 증식된 multi-shoot은 액아를 포함하여 분할하여 계대배양 하였다 (Figure 1). 반고체배지와 filter paper bridge 배양에서는 캘러스 유도 없이 절편체의 기부 부분이 약간 비대된 후 직접 신초로 분화되었으며 다시 액아가 분화되면서 multi-shoot로 분화되어 분할할 수 있는 기간이 길었으나 액체진탕배양에서는 배양 2주 안에 절편체의 기부에서 multi-shoot가 형성되어 분할묘로 이용할 수 있는 기간을 상당히 단축할 수 있었다.

Table 3. Effect of BA concentrations on adventitious shoot multiplication from shoot-tip of *Wasabia japonica*. The shoot-tip was cultured in liquid medium for 2 weeks and subcultured in semi-solid medium with BA 1.0 mg/L for 4 weeks.

Culture methods	BA conc. (mg/L)	No. of shoots	Shoot length (cm)
Liquid medium followed by semi-solid medium	0.1	9.7 b[z]	3.2 a
	1.0	22.8 a	3.5 a
	2.0	6.2 b	2.8 a
	5.0	0.4 c	0.2 b
	10.0	0.2 c	0.2 b

[z]mean seperation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

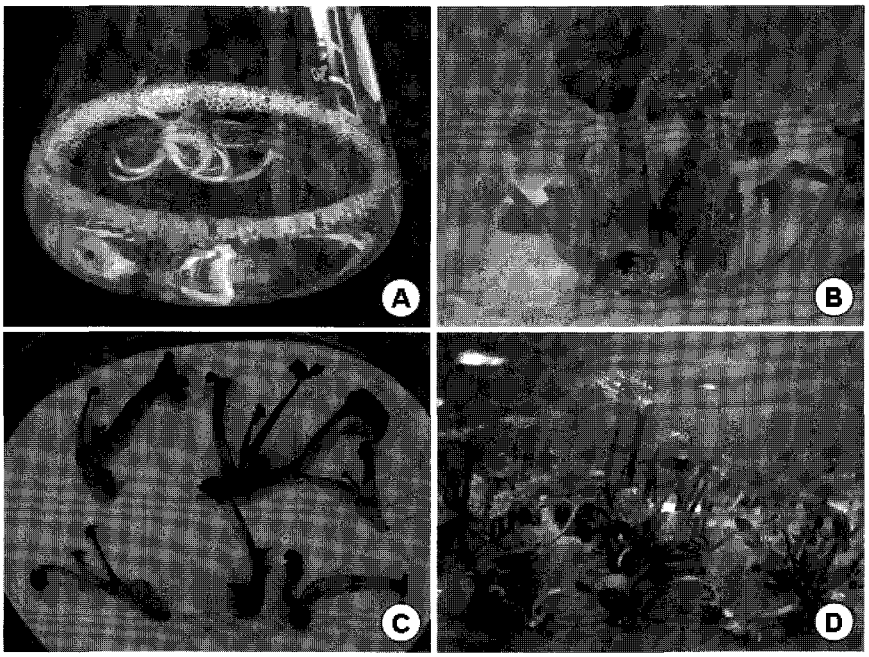

Figure. 1. Adventitious shoot formation from shoot-tip of *Wasabia japonica* onto MS medium with BA 1.0 mg/L. A: After 2 weeks in liquid medium. B: After 4 weeks of subculture in semi-solid medium. C: Excised shoots. D: After 9 weeks of second subculture using the excised shoots from plate C.

발근유도 및 기외순화

완전한 재분화묘를 획득하기 위하여 액체진탕배양에서 2주 동안 배양한 다음 shoot-tip을 반고체배지로 옮겨 4주 동안 배양하여 증식된 multi-shoot을 분할하여 일회 반고체배지에서 계대배양 후 발근을 유도하기 위해 MS 기본배지에 생장조절물질이 첨가되지 않은 처리와 IBA, NAA를 각각 0.01, 0.1, 1.0 mg/L로 단용으로 처리한 배지에서 9주간 배양한 결과 다음과 같았다 (Table 4). 뿌리의 형성율은 무처리에서 90.0%로 가장 높게 나타났으며 뿌리의 수는 25.4개와 뿌리의 길이는 6.8 cm로 처리 중에서 가장 양호한 것으로 나타났다. IBA가 NAA 보다 뿌리형성에 다소 효과적인 것으로 나타났으며 농도가 높아질수록 특히 1.0 mg/L의 농도에서는 전혀 뿌리가 형성되지 않았다. 결과적으로 본 실험에서는 뿌리 형성에 효과적이라는 IBA 및 NAA 처리가 오히려 뿌리의 생장을 억제하는 것으로 나타났다.

기내배양에서 발근유도에 사용되는 IBA 와 NAA는 IAA의 유사 합성물로 IAA 보다 안정되고 순화에 대한 내성이 강하여 주로 0.05～1.0 mg/L의 농도 범위에서 널리 적용되고 있다 (Chalupa 1981; 1983, Murashige 1974). Kang 등 (2005)은 산호수의 정단 배양에서 IBA 와 NAA 첨가배지 모두에서 신초 생육 및 발근이 양호하였다고 하고, Eun 등 (1997)은 고추냉이에 있어서 0.01 mg/L IBA 처리에서 93.3%의 뿌리 형성율을 보였으며 대부분 뿌리형성은 30일 이전에 형성되었다고 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 배양 4주째부터 뿌리가 출현하기 시작하였으며 9주가 경과해야 뿌리의 수나 길이에 있어서 양호한 것으로 나타났다. 0.01 mg/L IBA에서 부정근 형성율이 63.3%로 조금 높게 나타나 Eun 등 (1997)의 결과와 다소 유사한 결과를 보였으나 생장조절물질을 첨가하지 않은 배지에서 뿌리 형성율이 0%였다는 결과와는 상이하게 본 실험에서는 생장조절물질을 첨가하지 않은 배지에서 90.0%로 가장 좋았다. 이는 식물체에 따라 내생 옥신의 함량이 높아 IBA를 처리하지 않은 무처리가 효과적이라는 보고 (Shim et al. 1994)가 있듯이 식물재료의 품종 및 재배환경의 차이로 기인된다고 생각된다. 재분화된 묘는 원예용 상토 (bio-media Co., peatmoss 8～10%, coir dust 66～70%, zeolite 13～17%, vermiculite 3～7%, perlite 2～4%)에 심어 2주간 습도를 높게 유지시킨 뒤 육묘온실에서 20±5℃ 하에서 관리한 결과 건전한 묘로 성장하였다 (Figure. 2).

이상의 실험 결과로부터 액체진탕배양 후 고체배지로의 전환은 액아의 출현을 빠르게 할 수 있을 뿐만 아니라 계대배양을 통하여 식물체를 급속하게 증식시킬 수 있기 때문에 향

Table 4. Effect of IBA and NAA on root formation from shoots of *Wasabia japonica* after 9 weeks of culture.

Treatments (mg/L)		% of root formation	No. of root	Root length (cm)
IBA	NAA			
0	0	90.0 a[z]	25.4 a	6.8 a
0.01		63.3 b	31.2 a	5.7 a
0.1		13.3 c	18.6 ab	2.5 b
1.0		0.0 d	0.0 c	0.0 c
	0.01	6.7 cd	5.6 bc	1.3 bc
	0.1	0.0 d	0.0 c	0.0 c
	1.0	0.0 d	0.0 c	0.0 c

[z]mean seperation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

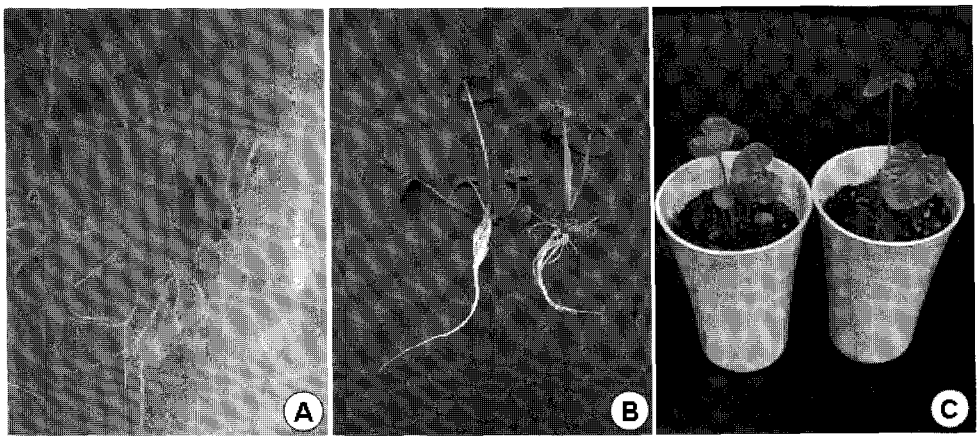

Figure. 2. Plant regeneration of *Wasabia japonica*. A: Root formation from adventitious shoot onto MS medium after 9 weeks of culture. B: Regeneration of plantlets. C: Acclimatization at 2 weeks.

후 고추냉이의 유용성분인 allyl isothiocyanate의 대량생산 연구에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

적 요

고추냉이 (*Wasabia japonica*) 종자로부터 기내 무균상태 하에서 발아된 유묘에서 절취한 shoot-tip을 이용하여 대량증식 방법을 구명하기 위해 MS 기본배지에 BA 농도 및 반고체배지, filter paper bridge, 액체진탕배양 등의 배양방법을 달리하여 multi-shoot을 유도하였다. 1.0 mg/L BA가 들어있는 액체진탕배양에서 2주 동안 배양한 후 반고체배지에서 4주 동안 배양한 방법이 신초 수가 22.8개 그리고 신초의 길이가 3.5 cm로 가장 양호한 결과를 보였으며 한 개의 shoot-tip으로부터 약 5～11개의 분할묘를 얻을 수 있었다. 또한 부정근을 유도하고자 여러 가지 농도의 IBA 및 NAA가 함유된 반고체배지에서 9주간 배양한 결과 배양 4주 이후부터 부정근이 출현하기 시작하였다. IBA (0.01 mg/L)가 NAA처리 보다는 부정근 형성에 효과가 있었으나 위의 두 생장조절물질이 전혀 첨가되지 않은 배지가 90.0%의 부정근 형성율을 보이면서 가장 양호한 것으로 나타났다. 잎과 뿌리가 잘 발달된 재분화묘를 원예용상토 (bio-media Co., peatmoss 8～10%, coir dust 66～70%, zeolite 13～17%, vermiculite 3～7%, perlite 2～4%)에 넣어 2주간 습도를 높게 유지시킨 후 육묘온실에서 순화시킨 결과 모든 개체가 정상적인 형태로 성장하였다.

사 사

본 연구는 산업자원부 지정 지역혁신센터 (RIC)사업인 대구대학교 농산물 저장·가공 및 산업화연구센터의 지원에 의한 것입니다.

인용문헌

Byeon HS, Lim SJ, Seo JS, Heo SJ (2003) Changes of allylisothiocyanate content and hardness of rhizome by monthus after planting in *Wasabia japonica* Matsum. Kor J Medi Crop Sci 11(3): 186-189

Chapupa V (1981) Clonal propagation of broad-leaved forest trees *in vitro*. Comm Ins For Cech 12: 255-271

Chalupa V (1983) Micropropagation of conifer and broad-leaved forest trees. Comm Ins For Cech 13: 7-39

Earle ED, Langhans RW (1974) Propagation of *Chrysanthemum in vitro*. I. Multiple plantlets from shoot tips and the establishment of tissue culture. J Amer Soc Hort Sci 99: 128-132

Eun JS, Ko JA, Kim YS, Kim MJ (1997) Micropropagation by apical meristem culture of *Wasabia japonica* Matsum. Kor J Plant Tiss Cult 24(1): 43-48

Fuke Y, Ohishi Y, Iwashita K, Ono H, Shinohara K (1994) Growth suppression of MKT-28 Human stomach cancer cells by Wasabi. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 41 (10): 709-711

Han BH, Joung HY, Ko JY (1997) *In vitro* propagation of *Ficus benjamina* by shoot tip culture. J Kor Soc Hort Sci 38: 315-319

Han BH, Yae BW, Goo DH, Yu HJ (2004) Micropropagation of *philodendron wend-imbe* through adventitious multi-bud cluster formation. Kor J Plant Biotech 31(2): 115-119

Hidetaka M (1986) Multiplication of wasabi seedlings by tissue culture. plant biotechnology Tokyo Chemist Group, Tokyo 118-123

Hitomi K, Naoki K, Taiichiro S, Hidetoshi S, Kenji I, Toyohiko A (1994) Analysis of volatile components in essential oil of upland Wasabi and their inhibitory effects on platelet aggregation. Biosci Biotech Biochem 58(12): 2131-2135

Hisao O (1988) Method of wasabi tissue culture. Agri and Hort 63(1): 185-189

Kang GH, Oh OS, Goo DH, Eun JS, Kim HM (2005) *In vitro* mass propagation of Ardisia pusilla DC. Kor J Plant Biotec 32(4): 281-285

Kawakishi S (1985) Glucosinolates-Ther enzymatic degradation and reactivity and toxicity of degration products. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 32(11): 836-846

Murashige T (1974) Plant propagation through tissue cultures. Ann Rev Plant Physiol 25: 135-166

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays in tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15: 473-479

Pennazio S (1975) Effect of adenin and kinetin on development of carnation tips cultured *in vitro*. J Hort Sci 50: 161-164

Saito A, Ide Y (1985) *In vitro* plantlet regeneration from adventitious buds on induced cuttings of peeled twigs of Japanese white birch. J Jpn For Soc 67: 282-284

Shim KK, Ha YM, Lee SK (1994) A study on the new yellow variegated cultivar of *Korean Forsythia* II. Mass propagation through tissue culture. J Kor Soc Hort Sci 35(3): 279-287

Shim KK, Ha YM (1997) Mass propagation of korean native *Styrax japonicus* through axillary bud culture. J Kor Soc Hort Sci 38(5): 575-580

Takashi H, Kazumi T, Morihiko H, Mitsuhiro S (1986) Multiplication of wasabi by tissue culture. Agri and Hort 61(8): 995-996

Takayama S, Misawa M (1982) Regulation of organ formation by cytokinin and auxin in Lilium bulbscales grown *in vitro*. Plant Cell Physiol 23: 67-74

(접수일자 2007년 2월 14일, 수리일자 2007년 3월 6일)