

## 겨우살이 종자 발아 및 화아 배양에 의한 캘러스 형성

김석원<sup>1</sup>, 고석민<sup>2</sup>, 유장렬<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>한국생명공학연구원 생물자원센터, <sup>3</sup>식물유전체연구센터, <sup>2</sup>유진텍(주) 부설연구소

### *In vitro seed germination and callus formation on flower bud of Korean mistletoe (*Viscum album* L. var. *coloratum* [Kom.] Ohwi)*

Suk Weon Kim<sup>1</sup>, Suk Min Ko<sup>2</sup>, and Jang R. Liu<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Biological Resource Center and <sup>3</sup>Plant Genome Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIIBB), 111 Gwahangno, Yuseong-gu, Daejeon 305-806, Korea

<sup>2</sup>Laboratory of Functional Genomics for Plant Secondary Metabolism (National Research Laboratory), Eugentech Inc., 111 Gwahangno, Yuseong-gu, Daejeon 305-806, Korea

**ABSTRACT** Effects of growth regulators and culture conditions on seed germination, haustorium development, and callus formation of Korean mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum* (Kom.) Ohwi) were described. Histological examination showed that seed of *V. album* contained one or two zygotic embryos with rod shape, and actively dividing cells were mainly distributed in radicle region rather than cotyledon of zygotic embryo. The most significant factor for seed germination and haustorium development of *V. album* was the requirement of the light. Various growth regulators examined in this study failed to substitute the effect of the light on seed germination. The frequency of callus formation was highest at 27.3% when flower buds were cultured onto B5 medium containing 0.1 mg l<sup>-1</sup> IAA. Explants from other organs were recalcitrant in forming calluses. Culture conditions described in this study could be applied for production of useful metabolites and multiplication of *V. album* in future.

### 서 론

겨우살이 (*Viscum album* var. *coloratum* [Kom.] Ohwi)는 단향과(Santalaceae)에 속하는 반기생 식물로 숙주식물의 줄기에 뿌리를 내리고 살아가는 상록수이다 (Lee 1993). 단향과 식물은 세계적으로 30속 1,000여 종이 한국, 중국, 일본을 비롯한 동북 아시아 (한국, 중국, 일본)와 유럽 전체에 널리 분포하고 있다. 우리나라에서는 제주도에서 함경도까지 전국에 걸쳐서 발견되고 있으며 참나무류, 팽나무, 오리나무, 동백나무 등을 주요 숙주식물로 하여 기생생활을 하고 있다.

겨우살이는 우리나라를 비롯하여 유럽에서도 고혈압, 진통 및 항암제 등 여러 질병에 대하여 민간약제로 널리 사용되어 왔다 (Gray 1999, Bussing et al. 1998). 특히 겨우살이의 렉틴 (lectin)은 Class II ribosome-불활성화 단백질의 일종으로 (Etzler 1983, Al-Alousi et al. 1990, Soler et al. 1996, Krauspenhaar et al. 1999), 또한 비스코톡신은 thionin에 속하는 폴리펩타이드 (46개 아미노산, 분자량이 약 5 kDa)로 세포막에 작용하여 세포용해 (cytolysis)를 일으킨다 (Samuelsson 1998). 이와 같은 겨우살이의 약리적 특성이 우수함에도 불구하고 국내에서는 겨우살이의 대량증식이나 기내 배양을 위한 연구보고가 이루어진 바 없으며 숙주 식물에 대한 특이성이 있는지 여부는 아직도 논쟁 중에 있다 (Kelly et al.

\*Corresponding author Tel 042-860-4430 Fax 042-860-4608  
E-mail: jrliu@kribb.re.kr

1997, Barney et al. 1998, Zuber and Widmer 2000).

일반적으로 유용 기생식물의 대량증식을 위한 조직배양 연구는 기생식물의 생물다양성에 비추어 볼 때 매우 제한적이다. *Amyema*, *Arceuthobium* 등 Loranthaceae에 속하는 기생식물의 경우 shoot 및 체세포배발생이 가능하였다 (Johri and Bajaj 1964, Hall et al. 1987). 또한 겨우살이과의 경우 *Arceuthobium* (Bonga 1971, 1974, Deeks et al. 1999, 2001) 및 *Phoradendron* 등에서 캘러스 형성, shoot 및 체세포배발생이 가능하였다 (Calvin 1966). 그러나 *Viscum* 속 식물의 경우는 기내에서 유용물질 생산을 생산하기 위하여 캘러스 유도를 하였으나 성공하지 못하였다 (Becker and Schwarz 1971<sup>a</sup>, 1971<sup>b</sup>). 아울러 겨우살이의 종자 부착 후 숙주 식물에 침투하여 새 잎이 발달하며 종자를 맷기까지 장기간 생육이 이루어져야 하는 것으로 알려져 있으나 (Showler 1974), 종자로부터 식물 발달 과정에 대한 명확한 발생과정이 규명된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 국내 겨우살이 (*V. album* var. *coloratum* (Kom.) Ohwi)의 종자로부터 기내 대량배양체계 확립을 위한 기초 연구로 종자 발아 및 캘러스 형성에 필요한 생장조절제와 배양조건을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 식물재료 및 배양배지

겨우살이 (*Viscum album* L. var. *coloratum* [Kom.] Ohwi) 종자는 2001년 12월 전라북도 무주 적상산에서 채집한 종자를 사용하였다. 기내 발아를 위하여 채집된 종자는 과육을 제거한 다음 10% 상업용 라스로 10분간 표면살균한 다음 멸균수로 3-4회 세척 후 실험에 사용하였다. 종자 발아 및 배양에 사용된 배지는 B5 (Gamborg et al. 1968) 무기염류에 20 g/L sucrose 및 4 g/L Gelrite가 첨가된 배지를 기본배지로 사용하였으며 배양배지의 pH는 고압살균전에 1 N NaOH 용액으로 5.8로 조정하였다.

### Haustorium 발달에 미치는 배양환경 요인 영향 조사

종자의 발아 및 haustorium 발달에 미치는 광 조건의 필요 유무, 배양온도, 배지내 sucrose 농도, phenolic compounds의 영향을 조사하였다. 표면살균된 겨우살이 종자를 1 mg<sup>-1</sup> BA가 첨가된 B5 배양배지에 치상한 다음 각각 명배양(약

80 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>; 광주기 16/8시간) 및 암배양하였다 또한 적정 온도를 조사하기 위하여 표면 살균된 종자를 1 mg<sup>-1</sup> BA가 첨가된 B5 배양배지에 치상한 다음 각각 25°C, 23°C 및 20°C 항온기에서 명배양하였다. 아울러 sucrose 농도의 영향을 조사하기 위하여 표면 살균된 종자를 1 mg<sup>-1</sup> BA가 첨가된 B5 배양배지에 sucrose를 각각 0, 1, 3, 6, 9, 및 12% (v/w) 첨가하여 항온기에서 명배양하였다. 또한 haustorium 유도기능을 가지고 있는 phenolic compounds의 영향을 조사하기 위하여 ferulic acid, DMBQ (2,6-dimethoxybenzoquinone), syringic acid를 각각 0, 1, 10, 50 및 100 μM 첨가한 B5 배양배지에 치상하여 배양하였다. 각 처리구는 페트리디쉬당 20개의 종자를 치상하였으며 3개의 반복실험을 통해 4주 배양 후 치상한 종자로부터 haustorium이 발달한 종자수를 조사하여 생장조절제가 미치는 영향을 조사하였다.

### 기내 종자 발아 및 haustorium 발달에 미치는 생장조절제 영향 조사

종자의 발아 및 haustorium 발달에 미치는 생장조절제의 영향을 조사하기 위하여 표면살균된 종자를 IAA (indole-3-acetic acid), NAA (α-naphthalene acetic acid), IBA (indole-3-butyric acid), BA (6-benzyl adenine), zeatin, kinetin, TDZ (thidiazuron) 2iP (6-(γ,γ-dimethylallylamo) purine)가 각각 0, 0.1, 0.3, 1, 3 mg<sup>-1</sup> 첨가된 B5 배양배지에 치상하여 25°C 항온기에서 명배양 (약 80 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>; 광주기 16/8시간)하였다. 또한 GA<sub>3</sub> (gibberellic acid) 및 ABA (abscisic acid)가 haustorium 발달에 미치는 영향을 조사하기 위하여 각각 1 mg<sup>-1</sup> 농도로 BA와 혼용 및 단독처리된 B5 배양배지에 치상하여 배양하였으며 동시에 겨우살이 종자 발아시 광조건의 필요 여부를 조사하였다. 아울러 haustorium 발달에 미치는 ethylene의 영향을 조사하기 위하여 ethylene 생합성의 전구체인 ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) 및 ethrel (chloro-2-ethyl phosphonic acid) 그리고 ethylene 기능 저해제인 AgNO<sub>3</sub>를 각각 0, 1, 3, 10, 30 100 μM 첨가된 B5 배양배지에 치상하여 배양하였다. 각 처리구는 페트리디쉬당 20개의 종자를 치상하였으며 3개의 반복실험을 통해 4주 배양 후 치상한 종자로부터 haustorium 발달이 이루어진 종자수를 조사하여 생장조절제가 미치는 영향을 조사하였다.

### 조직학적 관찰

접합자배, 잎 및 숙주내 endophytic system의 조직관찰을

위해 채집한 종자, 잎, 및 숙주내 endophytic system를 수거하여 고정액 (formalin: ethyl alcohol: glacial acetic acid, 5:5:90, v/v)에 넣어 고정한 다음 에탄올을 이용하여 조직의 탈수반응 후 현미경 관찰용 paraplast를 준비하였다. 조직은 10  $\mu\text{m}$  두께로 절단하였으며 1% haematoxylin으로 염색한 다음 canada balsam으로 영구표본을 제작하여 광학현미경하에서 관찰하였다.

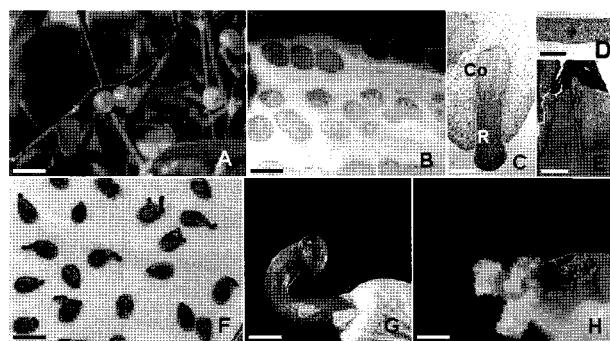
### 다양한 조직으로부터 캘러스 유도

접합자배 및 조직 (잎, 줄기, 화아<flower bud>, apical bud)으로부터 캘러스 유도를 위하여 종자 및 조직을 10% 상업용 락스로 10분간 표면살균한 다음 멸균수로 3-4회 세척 멸균여과지로 습기를 제거한 다음 20 g/L sucrose 및 4 g/L Gelrite가 첨가된 B5 배지에 각각 조직을 치상하여 25°C 암배양하였다. 생장조절제는 NAA, IAA 및 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid)를 각각 0, 0.1, 0.3, 1 및 3  $\text{mg l}^{-1}$  첨가하여 사용하였다. 잎 절편은 약 5  $\text{mm}^2$ , 줄기는 길이 약 5 mm 크기로 절단하여 사용하였으며 화분이 들어 있는 화아와 어린 잎이 들어 있는 apical bud는 채집한 식물에서 떨어지는 조직을 그대로 사용하였다. 접합자배는 살균된 종자를 무균작업대내에서 종축으로 절단하여 초록색의 접합자배를 꺼내어 배양하였다. 각 처리구는 페트리디쉬당 20개의 조직을 치상하였으며 3개의 반복실험을 통해 4주 배양 후 치상한 조직으로부터 캘러스 발달이 이루어진 조직수를 조사하여 생장조절제가 미치는 영향을 조사하였다.

### 결과 및 고찰

#### 겨우살이 조직 관찰

숙주식물에 기생하고 있는 겨우살이 (Fig. 1A)의 숙주 식물 침투과정을 조사하기 위하여 채집한 겨우살이의 종자, 잎 및 endophytic system의 조직을 관찰하였다. 종자의 종단 조직을 관찰한 결과 종자내에는 1개 또는 2개의 막대 모양의 접합자배가 존재하고 있으며 접합자배의 유근은 종자의 외부에 자엽은 종자의 내부를 향해 위치하고 있음을 알 수 있었다 (Fig. 1C). 겨우살이 접합자배는 일반 쌍자엽식물과 형태적으로 유사하나 유근과 자엽의 경계가 명확하지 않았으며 유근의 선단에 root cap이 존재하지 않았으며 유근의 표피세포는 수층분열을 하는 세포가 고밀도로 존재하며 여



**Figure 1.** Histological examination and callus formation of *V. album*. A: Mature plants; B: Cross section of endophytic system; C: Cross section of zygotic embryo; D: Cross section of leaf; E: Vertical section of endophytic system; F: Haustorium development from seeds; G: Enlarged view of germinated haustorium; H: Callus formation from flower bud. Scale bars represent 1 cm (A and F), 5 mm (B and F), 1 mm (C, D, G, and H), and 5 cm (E).

러 세포층으로 이루어져 있으며 표피층 바로 아래쪽으로 병충분열이 이루어지는 세포층과 meristematic zone이 위치하고 있다. 자엽부위에서는 양쪽으로 vascular strand가 연결되어 있으나 분열능을 가진 세포수는 크게 감소함을 알 수 있다 (Fig. 1C). 겨우살이의 잎은 외부구조상 abaxial epidermis와 adaxial epidermis의 구분이 거의 없으며 양쪽 표면에 위치한 기공의 개수도 26.3개/ $\text{mm}^2$ 로 거의 차이가 없었다 (Fig. 1D). 이는 겨우살이가 잎의 양쪽면을 모두 이용하여 광합성을 하고 있음을 보여 주는 것으로 볼 수 있다.

숙주식물에 침투한 겨우살이 endophytic system의 종단면을 조사한 결과 겨우살이 endophytic system은 숙주 식물조직내에 연이어 분포하고 있으며 (Fig. 1B), 숙주식물의 피층 (cortex), 사부 (phloem), 형성층 (cambium)을 거쳐 목질부 (xylem)까지 깊숙이 침투함을 알 수 있었다 (Fig. 1E). 특이한 점은 숙주식물의 피층에서도 endophytic system의 침투가 이루어지며 숙주식물의 목질부가 부피 생장이 이루어지는 만큼 endophytic system의 비후도 이루어지며 endophytic system의 침투로 인해 숙주식물의 조직배열 변형이 이루어짐을 알 수 있었다 (Fig. 1E).

#### 종자 발아 및 haustorium 발달에 미치는 배양환경 요인의 영향

종자의 발아 및 haustorium 발달에 미치는 배양 환경요인들의 영향을 조사하였다. 종자를 BA가 첨가된 배지에 치상한 다음 각각 명배양 및 암배양한 결과 명배양의 경우 약

35%의 발아율을 보였으나 암배양의 경우 처리된 BA의 농도와 상관없이 전혀 발아가 이루어지지 않았다 (Fig. 2A). 이 결과는 겨우살이의 경우 종자발아시 광을 절대적으로 요구하는 식물임을 나타내는 것으로 이후 겨우살이 종자의 발아 및 haustorium 발달 실험은 모두 명배양을 수행하게 되었다.

종자의 발아 적정 온도를 조사한 결과 25°C 배양구에서 약 40%의 발아율을 보여 23°C 처리구나 20°C 처리구보다 발아율이 증가함을 알 수 있었다 (Fig. 2B). B5 배양배지내 sucrose농도가 겨우살이 종자의 발아 및 haustorium 발달에 미치는 영향을 조사한 결과 6% (v/w) sucrose 처리구에서 발아율이 약 20%로 가장 높았지만 배지내 sucrose의 경우 12% 범위 내에서는 발아율에 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다 (Fig. 2C). 또한 phenolic compound의 영향을 조사한 결과 10  $\mu\text{M}$  ferulic acid 처리구에서 발아율이 30%로 가장 높았으며 대조구에 비해 발아율이 약 2배 증가하였다 (Fig. 2D).

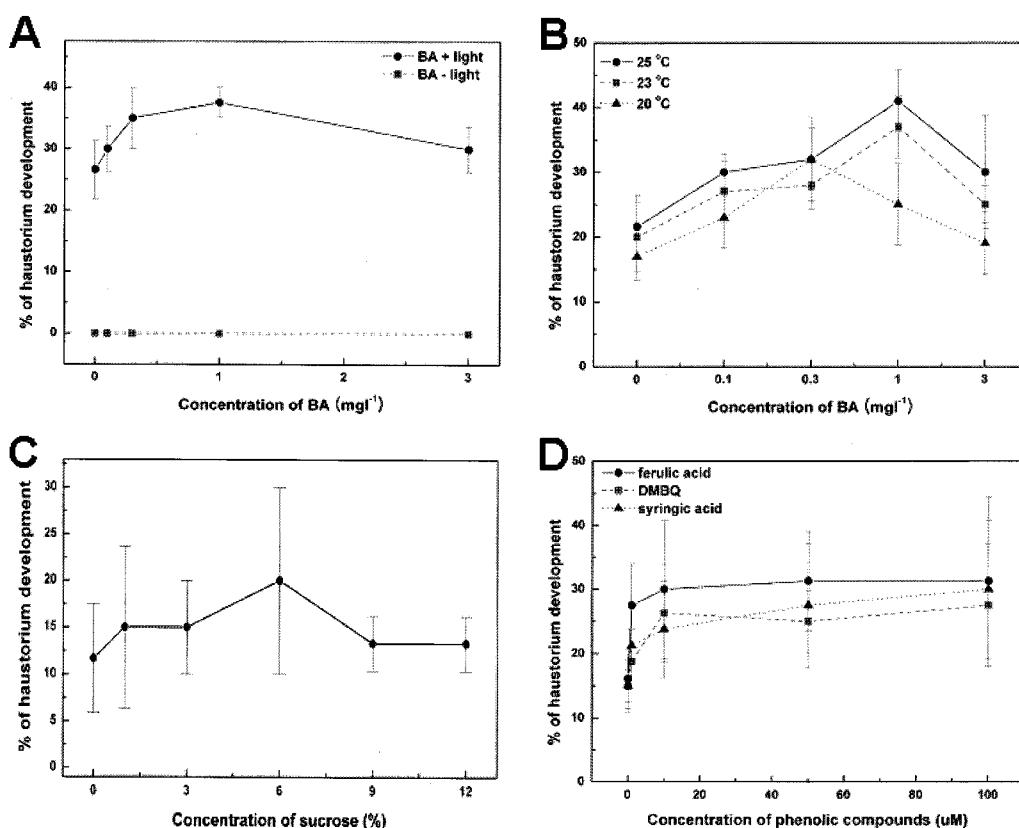
연구에 사용된 3종류의 phenolic compounds (ferulic acid, DMBQ, syringic acid) 모두 처리농도 10  $\mu\text{M}$  범위 내에서 종자의 발아 촉진 효과를 보였으며 10  $\mu\text{M}$  이상의 농도에서는

더 이상의 큰 폭의 발아율 상승 효과를 보이지는 않았다 (Fig. 2D).

#### 종자 발아 및 haustorium 발달에 미치는 생장조절제의 영향

종자의 발아 및 haustorium 발달에 미치는 생장조절제의 영향을 조사한 결과 저농도 ( $0.1 \text{ mg l}^{-1}$ ) IAA 처리구의 경우 발아율이 23.8%로 가장 높았으며 처리농도가 증가할수록 발아율은 오히려 감소하였다 (Fig. 3A). NAA 및 IBA 처리구 역시  $1 \text{ mg l}^{-1}$  이하 처리구에서 발아율 상승이 이루어지지만 고농도 처리구에서는 발아율이 감소하였다 (Fig. 3). Cytokinin의 효과는 auxin과 마찬가지로 저농도에서는 발아 촉진이 이루어지지만 고농도에서는 발아 억제가 이루어짐을 알 수 있었다 (데이터 미제시).

GA<sub>3</sub> 및 ABA가 haustorium 발달에 미치는 영향을 조사한 결과  $1 \text{ mg l}^{-1}$  GA<sub>3</sub> 처리구에서 발아율이 25%로 대조구에 비해 증가하였으며 BA와 혼용처리시 ( $1 \text{ mg l}^{-1}$  GA<sub>3</sub> +  $1 \text{ mg l}^{-1}$  BA) 발아율은 32%로 더욱 증가하여 사이토키닌과 혼용처리로



**Figure 2.** Effect of culture conditions on germination and haustorium development in *V. album*. A: Light; B: Temperature; C: Concentration of sucrose; D: Concentration of phenolic compounds.

인한 발아율 상승 효과가 있음을 알 수 있었다 (Fig. 4A). 그러나 ABA 처리구에서는 발아율이 크게 감소하여 광이 있음에도 불구하고 거의 발아가 이루어지지 않아 ABA가 발아 억제 효과를 가짐을 알 수 있었다 (Fig. 4A). GA<sub>3</sub>의 발아율 상승 효과가 광의 효과를 대체할 수 있는지 조사하기 위하여 암배양을 수행하였으나 암배양조건에서는 GA<sub>3</sub>가 첨가되어 있음에도 불구하고 전혀 발아가 이루어지지 않았다 (Fig. 4B). 이 결과는 GA<sub>3</sub>가 종자 발아과정에서 광의 효과를 대체 할 수 없음을 나타낸다고 할 수 있다.

또한 haustorium 발달에 미치는 ethylene의 영향을 조사기 위하여 ethylene 생합성의 전구체를 농도별로 처리한 결과 100 μM ACC 처리구에서의 발아율과 100 μM ethrel 처리구에서의 발아율이 각각 48.8%와 45%로서 대조구에 비해 약 3 배 증가하였음을 알 수 있었다 (Fig. 5). 그러나 ethylene 기능 저해제인 AgNO<sub>3</sub> 처리구에서는 처리 농도가 증가할수록 발아율의 감소가 이루어져 100 μM AgNO<sub>3</sub> 처리구에서 발아율은 8.3%로 대조구에 비하여 2.4배 감소하였다 (Fig. 5). 이상의 결과로 미루어볼 때 ethylene은 겨우살이 종자의 발아 및 haustorium 발달과정을 촉진하는 생장조절제임을 알 수 있다.

#### 화아로부터 캘러스 형성

겨우살이 접합자배 및 잎, 줄기, 화아, apical bud 배양을 통하여 캘러스 형성 여부를 조사한 결과 배양 2주 후부터 백색의 캘러스가 화아 말단으로부터 형성되었으며 배양 4주후 까지 캘러스 증식이 이루어졌다 (Fig. 1H). 그러나 다른 조직

에서는 캘러스 형성이 전혀 이루어지지 않았다. 화아로부터 캘러스 형성 빈도는 0.1 mg l<sup>-1</sup> IAA 처리구에서 27.3%로 가장 높았으며 0.3 mg l<sup>-1</sup> IAA 처리구에서는 10%로 감소하였다

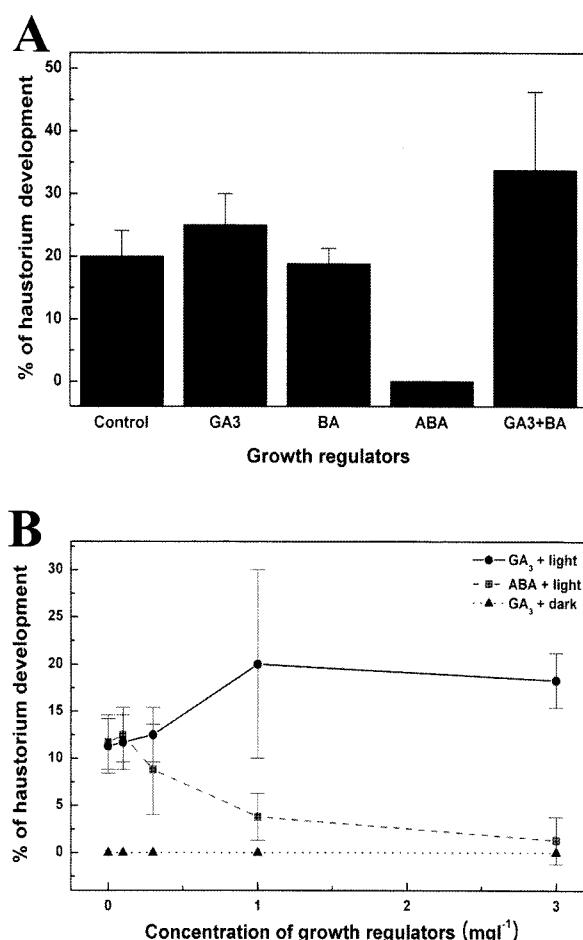


Figure 4. Effect of GA<sub>3</sub> and ABA on seed germination and haustorium development in *V. album*.

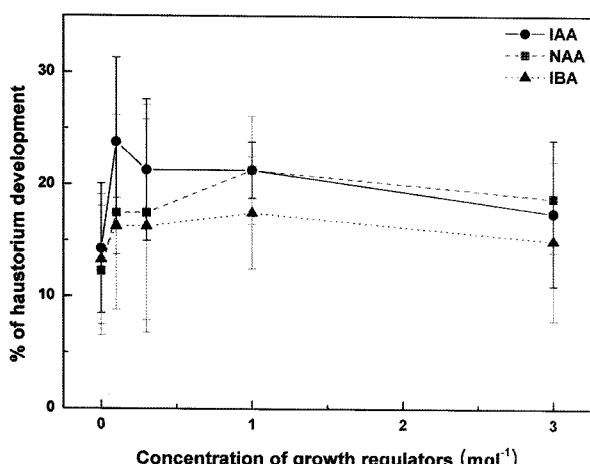


Figure 3. Effect of auxins on seed germination and haustorium development in *V. album*.

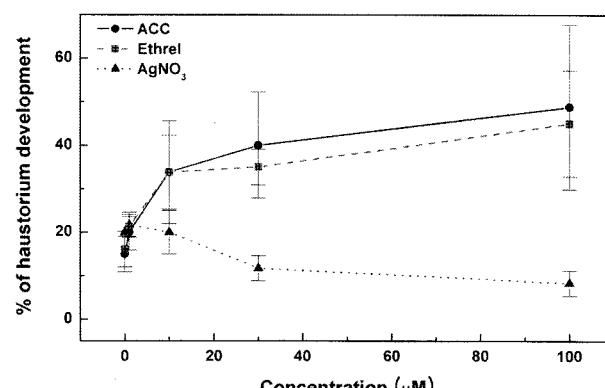


Figure 5. Effect of ethylene precursor and its inhibitor on germination and haustorium development of *V. album*.

**Table 1.** Frequency of callus formation on various explants from Korean mistletoe. All cultures were maintained at 25°C in the dark. Data were collected after 3 weeks of culture

Growth regulator	Concentration ( $\text{mg l}^{-1}$ )	Frequency of callus formation (%)				
		Zygotic embryo	Leaf	Stem	flower bud	Apical bud
NAA	0	0	0	0	0	0
	0.1	0	0	0	18.1	0
	0.3	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
IAA	0.1	0	0	0	27.3	0
	0.3	0	0	0	10	0
	1	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	0.1	0	0	0	0	0
2,4-D	0.3	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0

(Table 1).  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  NAA 처리구에서도 화아로부터 캘러스 형성이 가능하였으며 그 빈도는 18.1%이었다. 화아로부터 형성된 백색의 캘러스를 분리하여 동일조성의 배지에 계대 배양하였으나 더 이상의 생장이 이루어지지 않고 갈변 고사하였다. 이처럼 겨우살이의 다양한 조직으로부터 캘러스 형성이 이루어지지 않는 것은 기생식물인 겨우살이의 배지내 양분 흡수 특성이 일반 고등식물과 큰 차이를 보이고 있기 때문이라 사료되며 향후 반복 실험을 통하여 겨우살이 화아로부터 캘러스 배양체계 확립이 가능할 것으로 예상되며 겨우살이 기내배양체계는 겨우살이 배양세포로부터 유용물질 생산 등 다양한 응용 연구에 활용이 가능할 것이다.

이제까지 한국산 겨우살이의 기내배양 및 증식에 관한 연구보고는 없었다. 따라서 본 연구 결과는 겨우살이 유용 성분의 약리적 활용을 위한 기초 연구는 물론 겨우살이의 약리적 활용을 위한 다양한 응용 연구에 활용이 가능할 것으로 기대된다.

## 사 사

본 연구는 해양수산기술진흥원 해양 극한생물 분자유전체 연구단 사업, 과학기술부 프론티어 작물유전체기능연구 사업, 과학재단 SRC 경희대 식물대사연구센터의 지원으로 수행되었다.

## 적 요

겨우살이의 캘러스 형성 및 종자 발아와 haustorium 발달에 요구되는 환경요인 및 생장조절제의 영향을 조사하였다. 아울러 종자의 인위부착을 통한 식물체 재생 체계를 확립하였다. 겨우살이 조직관찰 결과 종자에는 1개 또는 2개의 막대모양의 접합자배가 존재하며 종자의 외부에 위치한 유근부위에 주로 세포분열이旺盛한 세포층이 존재하며 반대로 자엽은 종자 내부에 위치하며 상대적으로 분열능을 가진 세포수가 감소하였다. 겨우살이 종자 발아와 haustorium 발달에 요구되는 여러 요인 중에서 광의 요구도가 절대적 이었다. 본 실험에 조사된 다른 배양 환경요인 및 생장조절제들은 광의 효과를 대체하지 못하였으며 ethylene의 경우 발아 촉진 효과가 3배 이상 증가함을 알 수 있었다. 여러 조직 중에서 오로지 겨우살이 화아로부터 캘러스 형성이 가능하였으며 캘러스 형성빈도는  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IAA가 첨가된 B5 배지에 배양 시 27.3%로 가장 높았다. 본 연구에서 확립된 겨우살이 캘러스 배양 및 종자 인위 부착을 통한 식물체 재생체계는 겨우살이의 유용물질 생산 연구 및 대량증식 연구분야에 활용이 가능할 것으로 기대된다.

## 인용문헌

Al-Alousi M, Leathem AJ, Franz H (1990) Carbohydrate

- expression in primary breast cancer as detected by 3 different lectins isolated from mistletoe plant (*Viscum album*). J Pathology 160:173
- Barney CW, Hawksworth FG, Geils BW (1998) Hosts of *Viscum album*. Eur J Forest Pathol 28: 187-208
- Becker VH, Schwarz G (1971<sup>a</sup>) Callus culture of *Viscum album* a possible source for obtaining ingredients with therapeutic value. Plant Med 20: 357-362
- Becker VH, Schwarz G (1971<sup>b</sup>) *In vitro* culture of *Viscum album* L. Z Pflanzenphysiol 59: 273-278
- Bonga JM (1974) The formation of branching strands at the apex of radicles of *Arceuthobium pusillum* cultured *in vitro*. Can J Bot 52: 2113-2115
- Bonga JM (1971) Formation of holdfasts, callus, embryoids and haustorial cells in the *in vitro* cultures of dwarf mistletoe *Arceuthobium pusillum*. Phytomorphology 21: 140-153
- Bussing A, Suzart K, Regnery A (1998) Selective killing of CD8 (+) cells with a 'memory' phenotype (CD62L (lo)) by the N-acetyl-D-galactosamine-specific lectin from *Viscum album* L. Cell Death and Differentiation 5: 231-240
- Calvin CL (1966) Anatomy of mistletoe (*Phoradendron flavescens*) seedlings grown in culture. Bot Gaz 127: 171-183
- Deeks SJ, Shamoun SF, Punja ZK (2001) *In vitro* germination and development of western hemlock dwarf mistletoe. Plant Cell Tissue Org Cult 66: 97-105
- Deeks SJ, Shamoun SF, Punja ZK (1999) Tissue culture of parasitic flowering plants: Methods and applications in agriculture and forestry. In Vitro Cell Dev Biol Plant 35: 369-381
- Etzler M (1983) Chemical taxonomy, molecular biology, and function of plant lectins. Process in Clinical and Biological Research 138: 1-5
- Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp Cell Res 50: 151-158
- Gray AM, Flatt PR (1999) Insulin-secreting activity of the traditional antidiabetic plant *Viscum album* (mistletoe). J Endocrinol 160: 409-414
- Hall PJ, Letham DS, Barlow BA (1987) The influence of hormones on development of *Amyema* seedlings cultured *in vitro*. In: Weber HC, Forstreuter W (eds) Proceeding of the 4th international Symposium on Parasitic flowering Plants (pp 285-291)
- Johri BM, Bajaj YPS (1964) Growth of embryos of *Amyema*, *Amylotheeca* and *Scurrula* on synthetic media. Nature 204: 1220-1221
- Kelly P, Reid N, Davies I (1997) Effects of experimental burning, defoliation, and pruning on survival and vegetative resprouting in mistletoe. Int J Plant Sci 158: 856-861
- Krauspenhaar R, Eschenburg S, Perbandt M, Kornilov V, Konareva N, Mikailova I, Stoeva S, Wacker R, Maier T, Singh T, Mikhailov A, Voelter W, Betzel C (1999) Crystal structure of mistletoe lectin I from *Viscum album*. Biochem Biophys Res Comm 257: 418-424
- Lee TB (1993) Illustrated Flora of Korea. 5th ed. Hyangmoonsa, Seoul, Korea
- Showler K (1974) Raising mistletoe (*Viscum album*) from seed. J Royal Soc Hort 99: 30-37
- Soler MH, Stoeva S, Schwamborn C, Wilhelm S, Stiefel T, Voelter W (1996) Complete amino acid sequence of the A chain of mistletoe lectin I. FEBS Lett 399: 153-157
- Zuber D, Widmer A (2000). Genetic evidence for host specificity in the hemi-parasitic *Viscum album* L. (Viscaceae). Mol Ecol 9: 1069-1073

(접수일자 2008년 2월 29일, 수리일자 2008년 3월 15일)