

멸종위기 식물 덩굴용담의 기내번식에 미치는 생장조절제 효과

문홍규^{1*} · 김선자¹ · 박소영¹ · 김용욱¹ · 이재선²

¹국립산림과학원 생물공학과, ²강원대학교 산림환경과학대학

Effect of plant growth regulators on micropropagation of a rare and endangered species, Tsuru-rindo (*Tripterospermum japonicum*)

Heung-Kyu Moon¹ · Sun-Ja Kim¹ · So-Young Park¹ · Yong-Wook Kim¹ · Jae-Seon Yi²

¹Division of Biotechnology, Korea Forest Research Institute, Suwon, Gyeonggi-do 441-350, Korea

²Division of Forest and Environmental Sciences, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

ABSTRACT Various plant growth regulators were tested for shoot proliferation of *Tripterospermum japonicum*, a rare and endangered species. Among the six different media tested, MS medium was the best for the shoot growth. Whereas BA, upto 3 mg/L, significantly increased shoot proliferation rate, it suppressed the rate at higher levels. Neither kinetin nor TDZ was so effective in proliferating shoots as BA. As for rooting, TDZ strongly inhibited it even at very low concentration though spontaneous rooting was frequently observed from the proliferated shoots during culture of lower concentration BA or kinetin. In contrast, shoot elongation was significantly promoted by GA₃. More than 90% of the proliferated plantlets could be transplanted via cuttings into pots containing artificial soil mixture where they rooted and resumed normal growth. Most of the plants bloomed to bear fruits in the following year.

서 론

덩굴용담은 용담과 (Gentianaceae)에 속하는 여러해살이풀로 율릉도 및 제주도 등지에 자생하는 다년생 초본이다. 용담과의 식물은 대부분 뿌리를 말려 한방에서 전위 및 이뇨제로 쓰기도 하고, 또한 꽃이 아름다워 관상용으로 이용되기도 한다. 이 중 덩굴용담은 40~80 cm 정도로 자라는 덩굴식물로서 잎은 대생하고 긴 난형 또는 난상 피침형으로 끝이 길게 뾰족하다. 꽃은 9~10월에 흥자색으로 피고, 장과는 흥자색으로 긴 구형이다 (Lee and Lee 1997). 국내 특산식물로 그 개체군이 적어 산림청에서 보호해야 할 희귀식물로 지정하여 보전하고 있다.

기내배양은 희귀식물의 번식에 있어 삼목과 같은 전통적인 무성번식법의 대안으로 유용한 수단이 되어 왔다 (Chen et al. 2006; Kartsonas and Papafotiou 2007). 이를 이용한 증식법은 배양목적에 따라 여러 가지로 나뉘는데 신초로부터의 줄기유도, 액아 (axillary bud) 혹은 정아 (apical bud)를 이용한 눈배양 (bud culture)이 가장 보편적으로 실시되어 왔다 (Chalupa 2003). 이밖에도 미숙종자 혹은

은 유식물의 배양절편으로부터 체세포배를 유도하여 식물체를 재분화 시키는 방법이 1990년 대 이후 새로운 증식수단으로 여러 식물에서 보고되고 있다 (Beena and Martin 2003). 국외에서 뿐만 아니라 (Beena and Martin 2003; Chen et al. 2006; Kartsonas and Papafotiou 2007; Faisal et al. 2007) 국내에서도 망개나무 (Youn et al. 1992), 산개나리 (Moon et al. 1997), 미선나무 (Moon et al. 1999), 왕자귀나무 (Park et al. 2003), 왕벚나무 (Kim et al. 1993), 피뿌리풀 (Han et al. 2004) 등 희귀식물의 기내증식에 대한 연구가 국립산림과학원을 중심으로 진행되어 최근까지 꾸준히 그 결과가 보고되고 있다.

용담과의 식물에 있어서도 몇 편의 기내배양 연구가 이루어졌다. 엽육 및 줄기배양에 의한 식물체 유도법 (Cho et al. 1992; Seong et al. 1993; Lim and Yu 2000), 기내 변이주 유도 (Lim et al. 2000) 및 유용물질 탐색 (Seong et al. 1995)의 보고가 있으며, Bang 등 (1994)은 잎 절편에서 체세포배 배발생을 통한 식물체 재생을 보고하였다. 이러한 결과들은 조직배양을 통해 용담과 식물의 번식이 가능함을 시사하는 내용이지만 아직까지 덩굴용담에 관한 기내증식은 연구된 바 없다. 최근 국립산림과학원에서는 덩굴용담의 줄기의 생장에 미치는 LEDs(light emitting diodes) 효과를 시험한 바 있다(Moon et al. 2006, 2008).

본 시험은 덩굴용담의 신초 절편을 재료로 몇 가지 생장조절제

*Corresponding author Tel 031-290-1163 Fax 031-290-1020
E-mail: jesusmhk@hanmail.net

처리에 의한 기내 번식법 개발을 목적으로 수행하였다.

재료 및 방법

표면살균

제주도 난대림연구소에서 분양 받은 덩굴용담의 종자를 60 개 정도 100 ml 삼각후라스크에 넣은 다음 Tween 20을 2~3방울 첨가 후 흔들어 주면서 30분 정도 수돗물로 세척하였다. 다음 무균상(clean bench)에서 70% 에탄올로 1분간 세척한 후 다시 2% 차아염소산나트륨(NaClO) 용액을 종자가 잡기게 붓고 Triton X-100 용액 2~3 방울 첨가하여 10분 정도 흔들어 주면서 소독하였다. 그 후 소독액은 버리고 멸균 증류수로 5회 세척한 다음 1/2 MS배지(Murashige and Skoog 1962)에 치상하였다. 배지의 탄소원으로는 3% sucrose, 경화제로는 0.3% gelrite를 사용하였다. 배지는 조제 후 $\Phi 2.5 \times 15$ cm 크기의 유리 시험관에 30 ml 정도 분주하여 상온에서 하룻밤 정도 굳힌 후 사용하였다. 배양환경은 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $40 \mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 냉백색 형광등하에서 16시간 광배양 하였고, 배양 5주 후 발아율을 조사하였다. 이하의 실험에서 배양환경은 동일하게 유지하였다.

적정 배지선정

적정배지의 선정을 목적으로 종자 유래 유식물체의 신초를 절편으로 MS 배지 (Murashige and Skoog 1962), MS 배지의 염류를 1/2로 반감시킨 1/2MS 배지, GD 배지 (Gresshoff and Doy 1972), SH 배지(Schenk and Hildebrandt 1972), WPM 배지 (Lloyd and McCown, 1980) 및 DKW 배지 (Driver and Kuniyuki 1984)를 사용하여 줄기의 증식효과를 비교하였다. 배지의 탄소원으로는 3% sucrose를, 경화제로는 0.3% gelrite를 사용하였다.

증식 및 발근유도

배지 시험을 통해 MS 배지를 덩굴용담의 기내배양 적정배지로 선정하였다. MS 배지를 기본으로 줄기 증식에 미치는 BA, kinetin 및 thidiazuron (TDZ) 농도별 효과를 조사하였다 (Table 2, 3; Figure 1). 줄기의 신장을 촉진시키기 위하여 gibberellic acid (GA3)의 농도별 (0, 0.5, 2.0, 5.0, 7.0 및 10.0 mg/L)로 배지내 처리하였다 (Figure 2). 줄기의 증식과정 중 특별한 처리 없이도 발근이 잘 되기 때문에 기내 발근시험은 필요치 않았다. 다만, 토양이식 등 배양과정의 성격화를 위해 기와삽목을 실시하였다. 기와삽목은 3~5 cm으로 자란 줄기를 택하여 기부에 100 ppm IBA를 탈크 (Talc)에 섞어 반죽의 형태로 기부에 처리하고, 인공상토 (peatmoss + perlite 1:1, v/v)에 삽목 하였다. 삽목 후 충분히 관수하고 배양실에서 6주 간 순화하였다. 배양실은 온도 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 와 광도 $20 \mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (16시간 명배양)로 유지하였다.

결과 및 고찰

적정배지 선정

배지 시험결과 잎의 상태, 생장, 발근을 고려해 볼 때 MS와 DKW 배지에서 기내생장이 비교적 양호하게 나타났으며, 최종적으로 MS 배지를 덩굴용담의 기내배양 적정배지로 선정하였다 (Table 1). 생장과정에서 관찰되는 특징으로는 어느 배지에서나 발근이 이루어지고 뿌리의 형태는 세근이 없는 직근 형태로만 자라는 것이다 (Fig. 3 A). 한편, 어느 배지에서나 잎의 황화 현상이 나타났는데 이러한 현상은 잎의 선단부터 생기며 특히 SH 배지에서는 얼룩덜룩한 모자이크 상태로 황화가 관찰되었다. 줄기의 생장과 발근에 있어서도 배지에 따른 특징이 나타났다. MS 배지에서는 다른 배지보다 절간생장이 좋고 연녹색의 비교적 작은 잎으로 생장하였고, 특히 발근이 잘되는 것으로 나타났다. DKW 배지에서는 연녹색의 큰 잎이 달리고 줄기가 굽게 생장하였다. WPM 배지에서는 줄기의 생장이 MS 배지와 비슷하나 잎이 비교적 작고 줄기의 생장이 다소 저조하게 나타났다. GD 배지에서는 잎의 황화가 심하게 나타나고 생장이 대체로 저조하여 덩굴용담의 기내 생장이 가장 저조한 것으로 관찰되었다. SH 배지에서는 줄기의 상태는 GD 배지보다 양호하나 잎의 황화가 많이 나타나 정상적인 줄기 생장이 어려운 것으로 나타났다. 황화가 나타나는 빈도는 GD > SH > WPM > 1/2MS > DKW > MS 배지의 순으로 나타났다. 따라서 줄기, 잎 그리고 발근의 상태를 고려하여 MS 배지를 덩굴용담 기내배양에 적합한 배지로 선정할 수 있었다. MS 배지는 기내배양시 가장 일반적으로 사용하는 배지 인데 식물종이나 배양목적에 따라 다양한 형태의 배지 혹은 수정된 배지가 사용될 수 있다 (George 2003). 한편 목본류의 액아배양에서는 WPM 배지가 일반적으로 쓰이고 있고 (George 2003), DKW 배지는 호두나무의 배양을 목적으로 개발된 배지(Driver and Kuniyuki 1984)로 활엽수종의 기내배양에서 다양하게 사용되고 있다.

증식에 미치는 생장조절제 효과

배지의 시험결과 덩굴용담의 기내배양은 MS + 3% sucrose, 0.3% gelrite 배지를 기본배지로 선정할 수 있었다. 따라서 이하의 실험에서는 MS 배지를 기본으로 BA, Kinetin 및 TDZ의 처리효과를 비교하고, 줄기의 생장촉진을 위해 GA₃의 농도별 효과를 시험하였다.

줄기증식에 미치는 BA의 효과는 Table 2와 같다. 생장조절제 무처리인 대조구에서는 대부분 정아우세 현상이 강하게 나타나 우세 줄기가 1개로 자랐고, 기부에서는 1-2개 액아가 줄기로 유도되어 자랐다. BA 농도 증가에 따라 다경유도 효과가 다소 있으나 유의성은 없었다. 줄기생장은 BA의 농도에 따른 확연한 차이는 없었고, 발근율은 처리농도에 따라 감소되는 경향을 보였다. 뿌리는 기본 배지에서 왕성하게 유도되고, BA 처리시 2개 정도 뿌리가 유도되었다 (Figure 3 A2). 잎은 연녹색을 띠며 발근시 기부에 캘러스가

형성되지 않았다. BA 처리 하에서도 자발적인 발근이 이루어지는 것을 볼 때 덩굴용담은 내생 오وك신의 함량이 높은 수종으로 추정되었다.

Kinetin의 처리는 BA 보다 증식효과가 적은 것으로 나타났다 (Table 3). 증식효과는 고농도인 3.0-5.0 mg/L 수준에서 관찰되었다. 절편에 따라 생장이나 다경유도에 다른 차이가 관찰되었는데 줄기의 유도와 생장은 정아가 있는 절편에서 다소 양호하게 나타나고, 반면 발근은 전반적으로 액아유래의 줄기에서 다소 양호하게 나타났다. 줄기의 생장 및 발근은 기본배지에서 가장 좋아서 kinetin 처리는

Table 1 Comparison of various media on *in vitro* shoot growth of *T. japonicum*

Media*	No of shoots (per explant)	Shoot length (cm)	Rooting (%)	No of roots (per explant)
MS	2.2±0.9	1.0±0.6	95.0	3.1±1.6
1/2MS	1.9±0.7	0.8±0.4	97.5	3.2±1.2
GD	1.5±0.7	0.7±0.3	82.5	1.9±1.2
SH	1.6±0.6	0.8±0.4	77.5	1.9±1.4
WPM	1.3±0.5	0.9±0.4	100	3.1±1.0
DKW	2.3±1.0	1.0±0.6	95.0	2.8±1.5

*Each medium supplemented with 3% sucrose and 0.3% gelrite

Table 2 Effect of BA concentration on shoot proliferation and rooting of *T. japonicum*

BA (mg/L)	No of shoots (per explant)	Shoot length (cm)	Rooting (%)	No of roots (per explant)
0.0	2.7±1.1	1.0±0.6	100.0	7.9±2.5
0.2	3.1±0.7	1.0±0.7	64.7	1.8±0.7
0.5	3.3±0.8	0.8±0.5	47.1	2.1±1.7
1.0	3.7±0.8	1.0±0.7	35.3	2.3±0.7
3.0	4.4±0.8	1.3±0.5	31.3	1.8±1.1
5.0	2.0±0.4	1.5±1.0	0.0	-

*Each medium supplemented with 3% sucrose and 0.3% gelrite

Table 3 Effect of kinetin on shoot proliferation and rooting of *T. japonicum*

Kinetin (mg/L)	No of shoots (per explant)	Shoot length (cm)	Rooting (%)	No of roots (per explant)
0.0	1.8±0.7	1.0±0.5	100.0	3.3±1.2
0.2	1.8±0.7	1.0±0.5	57.1	1.6±1.1
0.5	1.2±0.4	1.3±0.5	18.8	2.3±1.2
1.0	1.8±0.9	1.3±0.6	46.2	2.7±1.2
3.0	1.9±1.5	1.0±0.6	14.3	1.5±0.5
5.0	1.9±0.6	0.9±0.4	6.7	1.0±0.2
7.0	1.6±0.7	0.9±0.5	6.7	1.0±0.2

*Each medium supplemented with 3% sucrose and 0.3% gelrite

리가 오히려 줄기생장 및 발근을 억제하는 것으로 나타났다. 절편에 따라서는 액아에서 줄기가 전혀 안나오는 것도 있으며, 일부의 절편은 잎이 황화되고 위조가 나타났으나 전반적으로 줄기의 생장은 가능하였다. 발근은 줄기의 기부에서 직접내리는 뿌리형태이고 곧게 자라며 세근은 형성되지 않았다.

TDZ은 처리 농도가 증가함에 따라 신초의 수가 증가되는 경향이지만 절편에 따라 차이가 크게 나타났다 (Figure 1). 절편의 기부는 캘러스의 형성 없이 약간 부풀어 오르는 형태를 보였고, 발근은 TDZ에 의해 억제되었다. 그러나 절편에 따라서 일부 발근이 이루어지는 것이 관찰되었고, 발생 된 뿌리는 BA 처리구와 마찬가지로 직근 형태였으며 세근 발달은 없었다. 처리농도가 다르기 때문에 BA 혹은 kinetin과의 직접적인 비교는 어려우나 전반적으로 TDZ의 처리는 덩굴용담의 줄기증식에 효과적이지 못한 것으로 나타났다. 한편 큰용담의 절편에 따른 기내증식 시험 (Cho et al. 1992)에서는 MS 배지에 BA와 NAA의 공조처리로 절간마디로부터 가장 좋은 생장결과를 얻었는데, 본 실험에서는 싸이토카inin의 단독처리로 농도별 증식효과를 조사하였기 때문에 두 가지 생장조절제의 공조처리효과는 차후 검토가 필요하다.

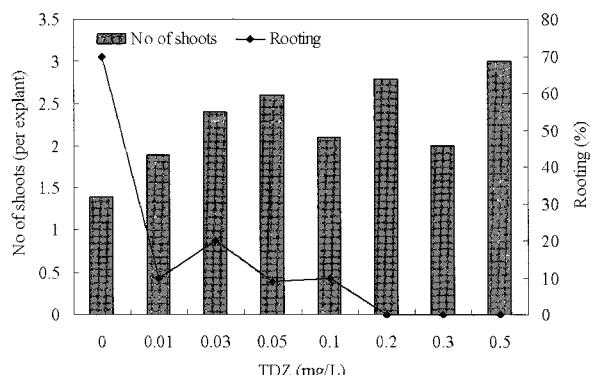


Figure 1. Effect of thidiazuron (TDZ) on shoot proliferation and rooting. MS medium was used supplemented with 3% sucrose and 0.3% gelrite

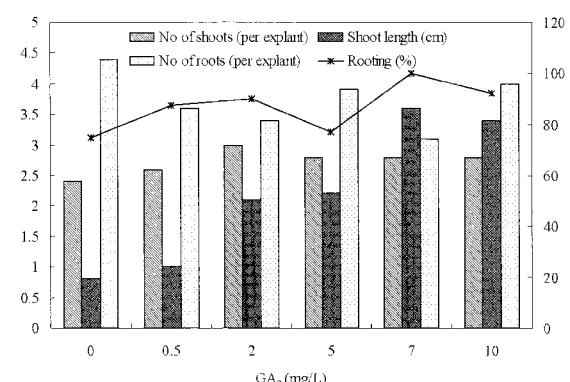


Figure 2. Effect of GA₃ on shoot proliferation, elongation and rooting. MS medium was used supplemented with 3% sucrose and 0.3% gelrite

줄기신장

다경으로 유도된 줄기를 신장시키기 위해 GA₃의 처리효과를 시험하였다 (Figure 2). GA₃의 농도에 따라 줄기의 증식에는 큰 차이가 없었으나, 고농도(7.0 및 10.0 mg/L)에서는 증식효과도 있고 줄기의 신장도 이루어져 절간 마디를 이용할 경우 단마디 배양을 통해 연속적인 증식이 가능한 것으로 나타났다. 줄기는 다소 가늘고 연녹색의 잎으로 자랐다. 발근율은 처리농도에 따라 차이가 있으나 농도별 경향은 없고, 뿌리 수에 있어서도 차이를 보이지 않았다. 발근은 절단부에 캘러스 형성 없이 바로 직근이 발생하였다 (Figure 3D).

발근유도

이상의 줄기증식 시험에서 관찰된 것처럼 덩굴용담의 발근은 생장조절제-무첨가배지에서 혹은 저농도의 싸이토ки닌 처리 하에서 가능한 것으로 나타났다. 이와 같이 덩굴용담의 발근이 매우 용이한 것으로 밝혀져 본 시험에서는 배양과정의 단순화를 꾀하기 위해 기내발근 과정을 생략하고 증식된 줄기를 기외삽목하여 기외발근을 유도하였다. 기외삽목은 줄기길이 3~5 cm으로 생장된 기내줄기를 택하여 줄기의 기부에 100 ppm IBA를 탈크(Talc)에 섞어 반죽한 다음 기부에 처리하였다 (Figure 3C). 기외삽목 4주 후 총 140개체 중 126개체에서 발근이 확인되어 90%의 발근율을 보였다. 기외삽목은 기내에서 발근이 어렵거나 (Liesebach and Naujoks 2004; Sanjaya et al. 2006), 혹은 발근이 매우 용이한 경우 발근과 순화 과정을 동시에 함으로서 배양기간 단축을 할 수 있는 유용한 방법이다. 덩굴용담은 후자에 속하는데 본 시험에서 순화과정과 동시에 기내발근을 유도함으로서 배양기간과 단계를 단축 할 수 있었다. 순화 된 덩굴용담은 온실의 상토에 이식하여 1년 후 개화하고 정상적으로 열매를 맺는 것을 관찰하였다 (Figure 3E, F).

적 요

멸종위기 식물 덩굴용담의 기내증식법 개발을 위하여 기내증식에 미치는 생장조절제의 효과를 시험하였다. 6가지의 기본배지 시험에서 MS 배지가 줄기증식에 가장 적합한 것으로 나타났다. 싸이토ки닌 가운데 BA 처리는 3.0 mg/L 농도까지 증식에 유의적인 증식효과를 보였고, 그 이상 농도에서는 증식이 억제되었다. Kinetin과 TDZ는 BA 만큼 증식에 효과적이지 못했다. 발근에 있어 TDZ는 저농도에서도 발근을 현저히 억제하였으나, BA와 kinetin은 저농도 처리 조건에서 자발적인 발근이 이루어 졌다. 한편 지베렐리산 (GA₃)의 처리는 줄기신장의 유의적인 효과가 있었다. 증식중인 줄기는 인공상토에 기외삽목하여 90% 이상 발근이 가능하고 정상적인 생장이 이루어졌다. 대부분의 식물체는 토양이식 다음해에 개화되고 과실을 맺었다.

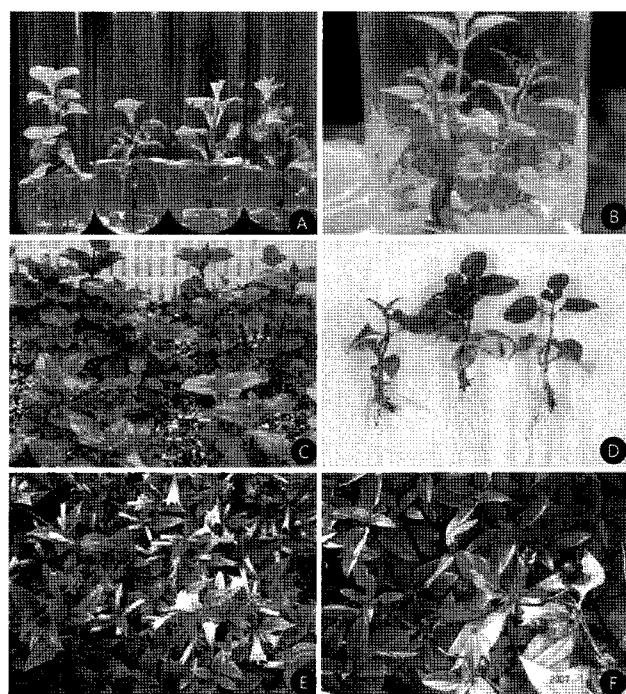


Figure 3. Micropropagation via shoot apices cultures of a rare and endangered species, *T. japonicum*

A - Shoot induction and multiplication from shoot apices explant;
B - Shoot multiplication and elongation in GA₃ treated medium;
C - Acclimatized plants after ex vitro cuttings; D - Rooted plants ;
E - One year old flowered plants ; F- In vitro raised plants showing normally beared fruits

인용문헌

- Bang JW, Lee MK, Chung SH (1994) Somatic embryogenesis and plant regeneration in leaf explant cultures of *Gentiana scabra* var. *buergeri*. Korean J Plant Tiss Cult 21(4):233-237
Beena MR, Martin KP (2003) *In vitro* propagation of the rare medicinal plant *Ceropegia candelabrum* L. through somatic embryogenesis. In Vitro Cell Dev Biol-Plant 39:510-513
Chalupa V (2003) European hardwoods. In: Bonga et al. (eds.), Cell and Tissue Culture in Forestry. Vol 3, Martinus Nijhoff Pub. pp 224-246
Chen UC, Hsia CN, Yeh MS, Agrawal DC, Rsay HS (2006) *In vitro* micropropagation and ex vitro acclimation of *Bupleurum kaoi* - an endangered medicinal plant native to Taiwan. In Vitro Cell Dev Biol-Plant 42:128-133
Cho MS, Chang JJ, Kwon ST (1992) Effects of cultures conditions on micropropagation of *Gentiana axillaris* var. *coreana*. Korean J Plant Tissue Culture 19(6):357-362
Driver JA, Kuniyuki AH (1984) *In vitro* propagation of paradox walnut rootstock. HortSci 19:507-509
Faisal M, Ahmad N, Anis M (2007) An efficient micropropagation system for *Tylophora indica*, an endangered, medicinally important plant. Plant Biotechnol Rep 1:155-161

- George EF (1993) Plant Propagation by Tissue Culture. Part 1. The Technology. Exegetics Ltd. pp 574
- Gresshoff PM, Doy CH (1972) Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum* (tomato). *Planta* 107:161-170
- Han MS, Moon HK, Kang YJ, Kim WW, Kang BS, Byun KO (2004) Micropropagation of an endangered species, *Stellera rosea* N. by tissue culture. *Korean J Plant Biotechnol* 31(1):31-35
- Kartsonas E, Papafotiou M (2007) Mother plant age and seasonal influence on *in vitro* propagation of *Quercus euboica* Pap., an endemic, rare and endangered oak species of Greece. *Plant Cell Tiss Org Cult* 90:111-116
- Kim CS, Koh JG, Cho RM (1993) Effects of media growth regulators and dark treatment on *in vitro* propagation using vegetative buds of *Prunus yedoensis* M. *Korean J Plant Tiss Cult* 20(4): 213-219
- Lee YM, Lee WR (1997) Illustrated rare and endangered species in Korea. Korea Forest Research Institute, Jungbu Forest Experimental Station, pp 255
- Liesebach M, Naujoks G (2004) Approaches on vegetative propagation of difficult-to-root *Salix caprea*. *Plant Cell Tiss Org Cult* 79:239-247
- Lim JD, Yu CY (2000) Multiple shoot formation of *Gentiana axillaris* flora leveille by *in vitro* culture. *Korean J Medicinal Crop Sci* 8 (1):41-48
- Lim JD, Kim MJ, Yu CY (2000) Induction and RAPD analysis of mutant plants by chemical mutagens in *Gentiana axillaris* flora Leveille. *Korean J Plant Tissue Culture* 27(2):89-94
- Lloyd G, McCown BH (1980) Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. *Comb Proc Intl Plant Prop Soc* 30:421-427
- Moon HK, Suk GY, Kim SC (1997) Micropropagation of a rare species, *Forsythia saxatilis* N. through tissue culture. *J Korean For Soc* 86(4): 430-434
- Moon HK, Suk GY, Kwon YJ, Son SH (1999) Micropropagation of a rare species, *Abeliophyllum distichum* Nakai. via axillary bud culture. *Korean J Plant Tiss Cult* 26(2):133-136
- Moon HK, Park SY, Kim YW and Kim CS. 2006. Growth of Tsuru-rindo (*Tripterospermum japonicum*) cultured *in vitro* under various sources of light-emitting diode (LED) irradiation. *J Plant Biol.* 49(2):174-179
- Moon HK, Park SY (2008) Effect of different light sources and ventilation on *in vitro* shoot growth and rooting of a rare and endangered species, Tsuru-rindo (*Tripterospermum japonicum*). *J Plant Biotechnol* 35(3):215-221
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-479
- Park SY, Ahn JK, Lee WY (2003) High frequency shoot induction from root segments of *Albizia coreana*. *J Korean For Soc* 92(6): 626-631
- Sanjaya, Muthan B, Rathore TS, Rai VR (2006) Micropropagation of an endangered Indian sandalwood (*Santalum album* L.). *J For Res* 11:203-209
- Schenk RC, Hildebrandt AC (1972) Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can J Bot* 50:199-204
- Seong NS, Park CH, Lee ST, Kim SM (1993) Plant regeneration and multiplication of *Gentiana scabrabunge* through leaf and stem culture. *Korean J Medicinal Crop Sci* 1(2):129-136
- Seong NS, Park CH, Kim KS, Lee ST, Chang YH (1995) *In vitro* variant induction and its content of gentiopicroside of *Gentiana scabra* Bunge. *Korean J Medicinal Crop Sci* 3(1):40-44
- Youn Y, Lee SK, Park JI (1992) *In vitro* propagation of a rare species-*Berchemia berchemiaeefolia*. *Res Rep For Gen Res Inst Korea* 28:63-67

(접수일자 2008년 12월 12일, 수리일자 2008년 12월 30일)