

# 실고사리(*Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw.) 포자발아와 전엽체 발달조건

권혁준, 신소림, 임윤경, 김수영\*  
국립생물자원관

## Spore Germination and Prothallium Development Conditions of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw.

Hyuk Joon Kwon, So Lim Shin, Yun Kyung Lim and Soo-Young Kim\*

National Institute of Biological Resources, Incheon 22689, Korea

**Abstract** - This study was conducted to determine the optimal conditions of growth medium, temperature, and light quality for efficient propagation of *Lygodium japonicum* spores. The rate of spore germination and prothallium development was high in Knop and 1/8MS and 1/4MS media, which had low mineral content; in particular, the germination rate exceeded 74%, and the germinated spores developed into heart-shaped prothallia. However, in Knop's medium with the lowest mineral content, a rapid prothallium senescence was observed; in 1/4MS medium, prothallium development was delayed. Germination rate increased with the increase in temperature and reached its maximum, 86.7%, at 30°C; however, at this temperature, the prothallia were thinner and abnormal development of rhizoids was observed compared to normally developed prothallia and rhizoids at 25°C. Therefore, the results suggested that the optimal temperature for *L. japonicum* spore germination was 25°C. The rate of germination was also measured under different light conditions, and the highest rate of 90.6% was observed under LED red light compared to fluorescent (77.2%) or LED blue (5.4%) lights. The germinated spores developed into heart-shaped prothallia under LED red light; however, 15 days after seeding, prothallium development decreased and the became elongated. In contrast, a normal and continuous development of heart-shaped prothallia was observed under fluorescent light.

**Key words** - Fern, Gametophyte, LED, Propagation, Prothallium

### 서 언

양치식물은 관상용, 약용, 식용 등 다양한 목적으로 사용되어 왔고 최근에도 향산화활성, 항당뇨 효과와 유해균 억제에 대한 새로운 생리활성과 유용 물질이 규명되면서 천연물 소재로 개발 가치가 매우 높은 식물로 보고된바 있다(Jeong *et al.*, 2007; Shin and Lee, 2010; Kim *et al.*, 2013). 양치식물은 전세계적으로 약 12,000여종이 분포하고 있으며(Sun *et al.*, 2003), 국내에는 33과 70속 256종 1아종 12변종 278분류군이 자생하는 것으로 알려져 있다(NIBR, 2011). 최근에도 미기록종이

지속적으로 발견되고 있어 약 350여종이 국내에 자생하는 것으로 추정되고 있다(Park, 1961; KFS, 2005). 이 중 식용이 가능한 양치식물은 79분류군이며, 약용이 가능한 양치식물은 133분류군으로 포자, 근경, 엽상체 등의 다양한 부위가 사용되고 있다(Nam and Lee, 2005).

본 연구의 실고사리(*Lygodium japonicum*)는 꼬리고사리과 실고사리속으로 아시아 열대지방에 분포하는 반지중식물(Hemicyptophytes)로, 우리나라에는 남부지역과 제주도에 주로 서식하는 유일한 덩굴성 양치식물이다(KFS, 2005; Kang and Jung, 2012). 특히 전초(海金沙草), 포자(海金沙) 및 뿌리줄기(海金沙根)는 한의학에서 피부습진, 장염에 의한 설사, 신장염, 이노작용과 전염병 등의 치료에 이용되었다(Subat-

\*교신저자: sy7540@korea.kr

Tel. +82-32-590-7479

Dezulovic *et al.*, 2002; Wynne *et al.*, 1998). 실고사리의 포자와 뿌리는 배뇨장애, 요로감염 및 요로결석에 대한 치료효과가 규명되었고(Li, 1992; Tang, 1992), 다양한 플라보노이드, 페놀 화합물과 sterosides 및 ecysterostide 화합물을 가지고 있는 것으로 보고된바 있다(Zhang *et al.*, 2006, 2006a; Ye *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2009). 또한 전립선비대증 치료제로도 이용 가치가 높은 식물로 알려져 있다(Lee, 2010).

양치식물의 일반적인 번식은 토양에 포자를 뿌려 포자체를 얻는 유성번식과 지하경 또는 근경을 잘라 분주하는 무성번식 방법이 주로 이용되고 있다(Lee, 2004). 그러나 환경조건에 따라 증식정도가 다르고 제한적이며, 오래 걸리는 단점이 있다(Lee, 2004; Shin, 2007). 반면 조직배양을 이용한 포자발아와 전엽체 증식은 양치식물 번식률을 높여 대량증식과 연중생산이 가능하다(Higuchi *et al.*, 1987; Higuchi and Amaki, 1989; Fernandez *et al.*, 1997a, 1997b, 1999; Lee and Jin, 1999; Bertrand *et al.*, 1999). 자생 양치식물인 고사리, 고비, 꼬리고사리의 전엽체 증식배지는 각 2MS, 1/8MS, MS 배지이며(Jeong and Lee, 2006; Shin and Lee, 2009; Shin *et al.*, 2009), 개고사리 포자체 재생을 위한 배지는 1/2MS 배지로 보고된바 있다(Shin and Lee, 2011). 그러나 양치식물의 전엽체 증식용 배지는 포자발아 조건에 비해 많은 영양분이 필요하고, 기내 증식을 위한 조건은 양치식물의 종과 생활환 단계에 따라 다른 것으로 보고된바 있다(Cox *et al.*, 2003; Menendez *et al.*, 2011). 따라서 양치식물의 기내 증식조건을 규명하기 위해서는 생활환을 고려한 종별 배지종류, 배양온도, 광 조건 등의 복합적인 연구가 매우 중요하다(Fernandez and Revilla, 2003). 그러나 약용 및 관상용으로 활용 가치가 높은 실고사리에 대한 포자발아 및 전엽체 증식연구는 전무한 실정으로 관련 연구가 매우 시급하다.

따라서 본 연구는 실고사리 포자발아와 전엽체 증식을 위해 배지종류, 온도 및 광질 조건을 달리하여 발아율과 전엽체 발달을 위한 최적 배양조건을 규명함으로써 효율적인 기내 증식방법을 마련을 통해 대량증식 기반을 마련하고자 수행되었다.

## 재료 및 방법

실험에 사용된 포자는 2015년 2월에 제주도 서귀포시 안덕면 감산리 일대에서 성숙한 포자엽을 채집하여 종이상자에 넣어 건조실(15°C, RH 15%)에서 3일간 건조하였다. 건조된 포자엽에서 포자를 분리하여 표준체(100  $\mu$ m)로 불순물을 제거한 다음 국

가야생식물종자은행(암조건, 4°C, RH 40%)에 보관하면서 연구용 재료(NIBRGR0000184897)로 사용하였다.

무균 기내 배양을 위해 포자소독은 포자를 50 mg을 정량하여 15 ml conical tube에 넣고 증류수 10 ml를 첨가하여 침지하였다. 상온에서 24시간 침지시킨 다음 2,000 rpm에서 3분 동안 원심분리(MF-80, HANIL Sci. Inc., Korea)하여 상층액을 제거하고 sodium hypochlorite(1.4%) 10 ml를 첨가하여 13분간 살균하였다. 살균 후 다시 원심분리하고 sodium hypochlorite를 제거한 뒤 무균배양대에서 멸균수로 3회 세척한 후 멸균수를 첨가하여 부피를 40 ml로 조절하여 파종을 위한 포자용액을 준비하였다.

모든 실험은 4반복을 수행하였으며, 포자 파종은 배지를 20 ml 첨가한 petri dish (D 90 × H 15 mm)에 준비된 포자용액과 멸균수를 각각 1 ml를 pasteur pipettes (150 mm, Hilgenberg, Germany)을 이용하여 분주하였다.

다양한 배지조성에 관한 실험을 위해 배지종류 실험은 sucrose 1%, agar 0.8%, pH 5.8로 조절된 Knop 배지(Knop, 1865)와 무기물과 비타민 농도를 1/8, 1/4, 1/2, 1, 2배로 각각 조절된 MS 배지(Murashige and Skoog, 1962)를 사용하였다. 배양온도와 광질조건 연구는 Knop 배지를 사용하였으며, 배양온도 실험은 온도를 15, 20, 25, 30°C로 조절된 성장상(WIM-RL4, DAIHAN Sci., Korea)에서 광도 40  $\mu$ mol  $\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 전광조건하에서 연구를 수행하였다. 광질조건 연구는 형광등, LED-red (660 nm), LED-blue (450 nm)로 조절된 LED 배양기(SJ-103S, Sejong Sci. Co., Korea)에 수행하였고, LED 광원은 petri dish에서 약 30 cm 높이에 설치하여 온도 25°C, 전광 처리하였다.

각 처리에 따른 포자 발아율은 광학현미경(Ni-U, Nikon, Japan)을 이용하여 2일 간격으로 조사 및 확인하였고, 전엽체 발달은 실체현미경(SMZ-1500, Nikon, Japan)으로 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

### 배지종류에 따른 포자 발아율과 전엽체 발달

배지조성을 달리하여 30일간 배양한 결과, 포자 발아율은 무기물 함량이 낮은 Knop 배지와 1/8MS, 1/4MS에서 74% 이상이었으나, 1/2MS 배지 이상의 농도에서는 40% 이하로 감소하였다(Fig. 1). 발아는 Knop 배지에서 파종 5일후 가장 빠르게 시작하여 25일 후에는 심장형 전엽체로 성장하였다(Fig. 2). MS계통 배지에서는 영양분의 농도가 높아질수록 발아시작이 늦었고

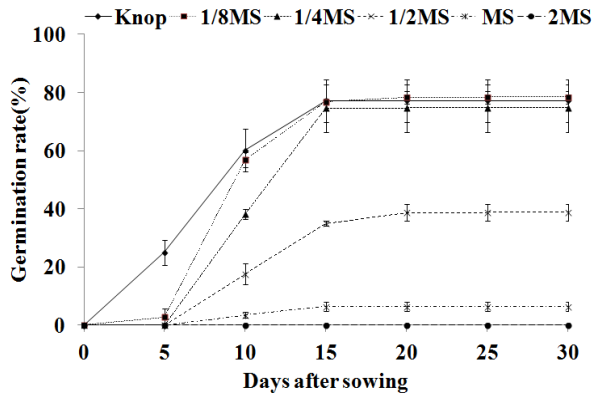


Fig. 1. The medium types condition on *in vitro* spore germination of *Lygodium japonicum*.

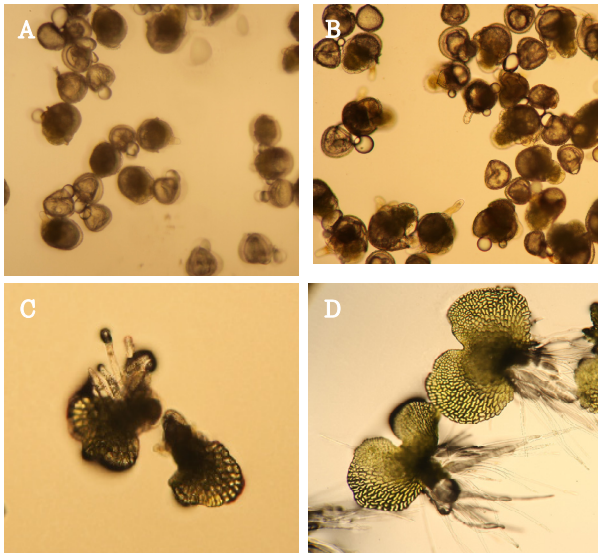


Fig. 2. Spore germination and gametophyte development of *Lygodium japonicum* at Knop medium. (A) Spore germinated with lipid bubble (10 day after sowing); (B) Spore germinated with a root and lipid bubble (15 day after sowing); (C) Lamellar gametophyte (20 day after sowing); (D) Cordate gametophyte (25 day after sowing).

농도가 가장 높은 2MS 배지에서는 발아율이 매우 낮았다. 전엽체 발달은 발아율이 높았던 Knop 배지와 1/8, 1/4MS 배지에서 심장형 전엽체로 발달되었으며, 배지의 영양분 농도가 높아질수록 가근이 두꺼워지는 경향을 보였다(Fig. 3). 1/2MS 배지에서 발아한 포자는 심장형 전엽체로 발달하지 못하고 환형 전엽체로 형성되었으며, 1MS 배지에서는 전엽체로 발달하지 못했다.

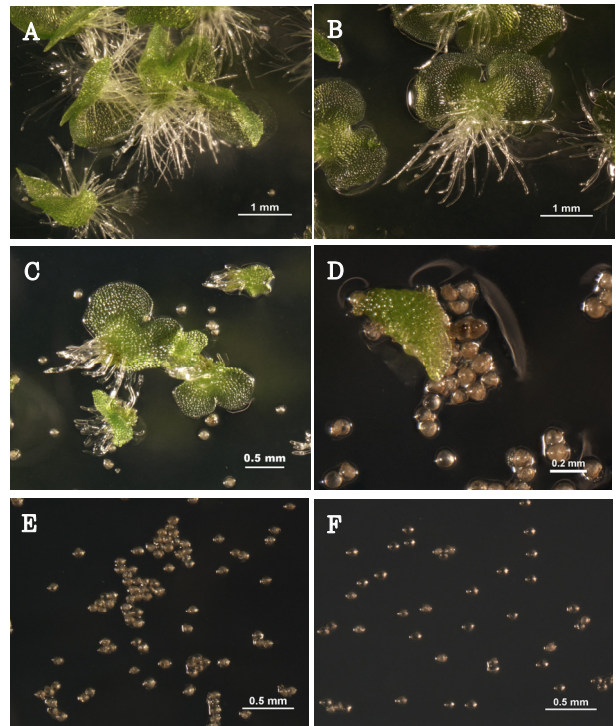


Fig. 3. Comparison of gametophyte development for the different medium types after 30 days of sowing. (A) Knop; (B) 1/8MS; (C) 1/4MS; (D) 1/2MS; (E) 1MS; (F) 2MS.

양치식물 포자는 종자와 유사하게 발아 후 초기 생육에 필요한 영양분을 대부분 포함하고 있어, 포자발아와 초기 전엽체 발달에는 영양분이 적은 Knop 배지(Knop, 1865), Knudson 배지(Knudson, 1946) 및 농도를 희석시킨 MS 배지(Murashige and Skoog, 1962)가 적합한 것으로 보고되었다(Cox *et al.*, 2003; Menendez *et al.*, 2011). 본 연구에서 실고사리 포자도 유사한 양상을 보였고 영양분이 적은 배지에서 포자발아가 우수하였다. 반면 영양분이 가장 적은 Knop 배지에서는 전엽체 노화가 빠르게 진행되었다. *Asplenium*, *Athyrium*, *Blechnum*, *Dryopteris*, *Pteris*, *Pyrrhosia* 속 등 다수의 양치식물 전엽체에서도 본 연구와 유사하게 영양분이 적은 배지에서 전엽체 노화 진행속도가 빠르고, 대다수의 양치식물 전엽체 증식을 위한 배지는 포자발아와 초기 전엽체 증식을 위한 배지에 비해 영양분이 풍부한 배지에서 우수하다고 보고된바 있다(Fernandez *et al.*, 1993; 1996; 1997b; 1997c; Lee and Jin, 1999; Jeong and Lee, 2006; Shin *et al.*, 2009).

이상의 연구결과, 실고사리 포자발아와 초기 전엽체 발달은 다른 처리구에 비해 Knop, 1/4MS 배지와 1/8MS 배지에서 우수하였으나, Knop 배지에서는 전엽체 노화가 진행되었고 1/4MS

배지에서는 전엽체 증식이 감소하여 포자체 형성이 Knop과 1/8MS 배지에 비해 빨랐다. 포자에서 발아한 어린 전엽체 증식은 6~8주 이상의 배양기간이 필요하며, 기내에서 전엽체 증식과 관리를 위해서는 포자체 형성이 적을수록 유리한 것으로 보고된바 있다(Shin, 2007). 따라서 실고사리 포자발아와 초기 전엽체 발달을 위한 최적 배지는 1/8MS 배지로 사료되었다.

### 배양온도에 따른 포자 발아율과 전엽체 발달

실고사리 포자의 적정 배양온도 조건을 규명하기 위해 온도에 따른 발아연구를 수행한 결과, 발아율은 배양온도가 증가할수록 높아져 고온(30°C)에서 86.7%로 가장 높았고 20°C 이하에서는 발아율이 크게 감소하였으며 저온(15°C)에서는 전혀 발아되지 않았다(Fig. 4). 포자 파종 후 30일을 배양한 실고사리 포자의 전엽체 발달은 25°C와 30°C에서 모두 심장형 전엽체로 발달되었으나, 20°C에서는 판형 전엽체로 관찰되었다(Fig. 5). 그러나 30°C에서는 25°C에 비해 전엽체 두께가 얇고 노화가 빠르게 진행되었고 비정상적 가근이 많이 관찰되어 실고사리의 발아적온은 25°C로 판단되었다.

배양온도는 양치식물의 포자 휴면을 결정짓는 중요한 요인으로 포자발아 시작과 연관성이 매우 높고 종에 따른 발아조건에 차이가 있다(Bhardwaja and Sen, 1966; Raghavan, 1989; Galán and Prada, 2011). *Jamesonia* 속의 경우 종에 따라 발아적온이 현저하게 차이를 보이고 발아적온이 아닐 경우에는 발아가 진행되지 않거나 발아소요일이 길어지며, 전엽체 발달도 늦어진다고 보고되었다(Galán *et al.*, 2011). *J. imbricata*의 발아적온은 15°C로 발아소요일은 18일이었고, *J. scammaniae*와 *J. rotundifolia*의 발아적온은 20°C로 발아시작일은 파종 후 24

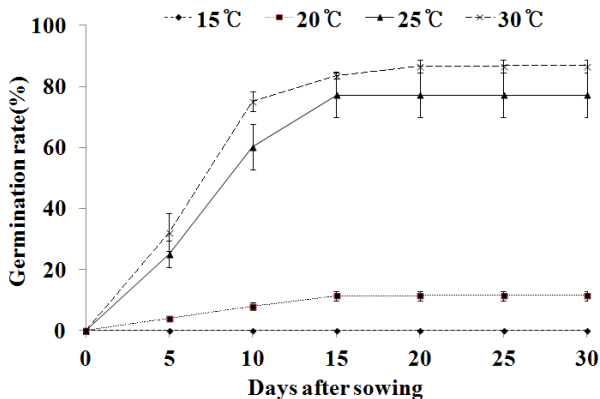


Fig. 4. The temperature condition on *in vitro* spore germination of *Lygodium japonicum*.

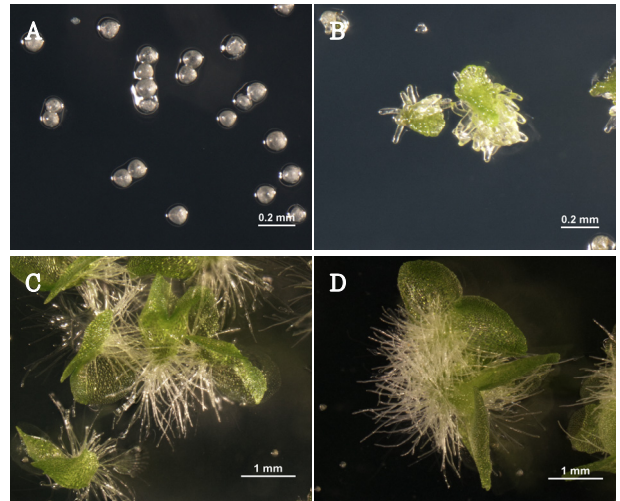


Fig. 5. Comparison of gametophyte development for the different temperature conditions after 30 days of sowing. A. 15°C; B. 20°C; C. 25°C; D. 30°C.

일이었으나 15°C에서는 발아시작 소요일이 50일 이상으로 매우 길었다. 본 연구결과에서도 실고사리는 25°C의 발아적온을 벗어날 경우 포자 발아율이 감소하고 발아속도와 전엽체 발달도 늦어지는 경향을 보였다. 따라서 실고사리의 포자발아와 배양온도는 발아율과 전엽체 형태형성을 결정짓는 중요한 요인임을 확인하였다.

### 광질에 따른 포자 발아율과 전엽체 발달

기내 배양을 통한 실고사리의 최적 포자 발아와 전엽체 발달 조건을 규명하기 위해 광질의 종류를 달리하여 배양한 결과, 실고사리 포자의 발아율은 LED red에서 90.6%로 가장 높았고, 파종 5일 만에 61.4%, 10일 후에는 88.3%로 발아를 종료하고 전엽체로 발달하였다(Fig. 6). 전엽체는 형광등과 LED red에서 모두 심장형으로 발달되었으나 LED blue에서는 발아율이 낮고 포자는 발아했으나 전엽체로 발달하지 못했다(Fig. 7). LED red에서는 파종 10일 만에 대부분 발아가 종료되고 심장형 전엽체로 발달이 완료되었으나 이후 비정상적으로 전엽체가 길어지고 파종 15일 후에는 가근 발달이 감소되었다.

종자는 땅속이나 잎에 덮여도 광자속(photon flux)과 광질(light quality)에 영향을 받은 phytochrome 또는 광수용체에 의해 휴면과 발아가 진행된다(Smith, 1995; 2000; Furuya, 1985). 고사리삼속과 나도고사리삼속 등 일부 양치식물 포자는 암조건에서 발아하는 것으로 알려져 있으나(Whittier, 1973; 2006; Hauffer and Welling, 1994), 대다수의 양치식물에서 빛은 포자

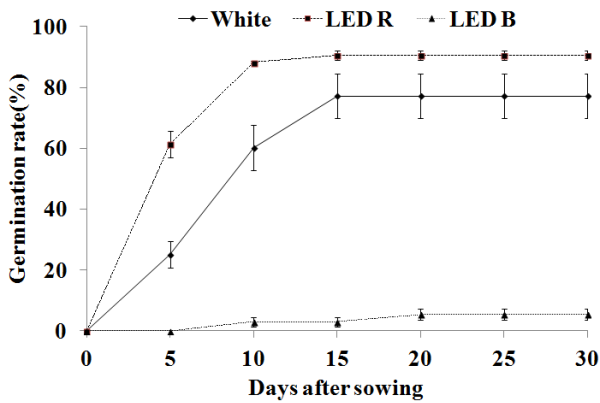


Fig. 6. The light quality condition on *in vitro* spore germination of *Lygodium japonicum*.

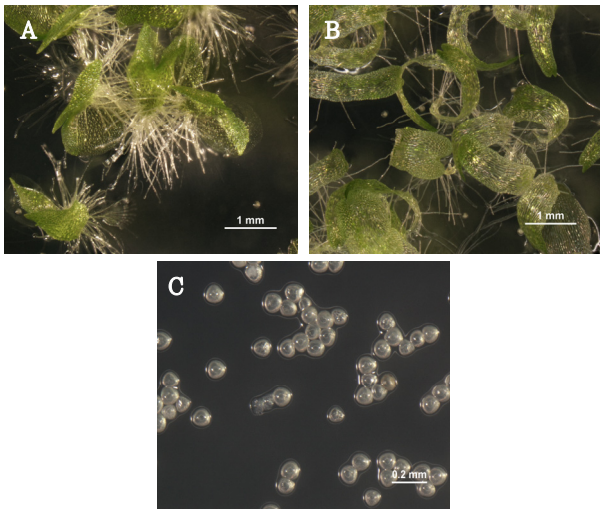


Fig. 7. Comparison of gametophyte development for the different light quality treatments after 30 days of sowing. (A) Fluorescent lamp (white); (B) LED red (660 nm); (C) LED blue (450 nm).

발아를 진행시키고(Wada, 2007), 전엽체 형태형성에도 중요한 역할을 한다고 보고되었다(Suetsugu and Wada, 2003). 실고사리 전엽체 형태형성은 광조건에 따라 달라지고 LED blue에 비해 LED red 조건에서 전엽체 증식이 우수하다고 보고된바 있다(Swami and Raghavan, 1980). 본 연구도 동일하게 LED blue에 비해 LED red에서 실고사리 포자 발아와 전엽체 발달이 빨랐다.

그러나 LED red에서 발달한 실고사리 전엽체는 배양 20일 이후부터 길어지고 비정상적인 전엽체 형태로 발달되었다. *Drynaria fortunei*의 전엽체에서도 LED red에서 발아율은 향상되었으나 전엽체의 세포 분열에 영향을 주어 필라멘트형 전

엽체로 발달된다고 보고된바 있다(Chang *et al.*, 2007). 따라서 무균 포자발아를 통한 실고사리 전엽체의 효과적인 증식을 위해서는 LED red에서 발아가 대부분 종료되는 10일 이후에 광조건을 형광등으로 변경하는 것이 전엽체 발달에 효과적인 것으로 판단되었다.

이상의 연구결과, 실고사리 포자발아와 전엽체 발달을 위한 적정 기내 증식방법은 1/8MS 배지에 포자를 파종한 후 온도 25°C, LED red 조건에서 발아하고, 파종 10일 후에 광조건을 형광등으로 변경하여 전엽체를 배양하는 것이 가장 효과적일 것으로 규명하였다.

## 적 요

본 연구는 실고사리 포자를 이용한 효율적인 증식방법을 마련하기 위해 배지종류, 배양온도, 광질 조건 등 배양환경을 규명하고자 수행되었다. 포자 발아율과 전엽체 발달은 무기물 함량이 낮은 Knop 배지와 1/8MS, 1/4MS 배지에서 74% 이상으로 높고, 심장형 전엽체로 발달되었다. 그러나 무기물 함량이 가장 적은 Knop 배지에서는 전엽체 노화가 빠르게 진행되었고 1/4MS 배지에서는 전엽체 증식이 다소 느렸다. 온도에 따른 발아율은 배양온도가 증가할수록 높아져 30°C에서 86.7%로 가장 우수하였으나, 25°C에 비해 전엽체가 얇고, 가근이 비정상적으로 발달되어 실고사리 포자의 발아적온은 25°C로 규명되었다. 광질에 의한 발아율은 LED red에서 90.6%로 형광등(77.2%)과 LED blue (5.4%)에 비해 높았고, 심장형 전엽체로 발달이 진행되었으나 파종 15일 후에는 전엽체 발달이 감소하고 길어졌다. 반면 형광등에서는 정상적인 심장형 전엽체 발달이 진행되었다.

## 사 사

본 연구는 국립생물자원관 “식물자원의 보존과 활용성 증대를 위한 국가야생식물종자은행 운영(NIBR201619101)”사업의 지원을 받아 수행되었습니다.

## References

Ahn, D.K. 2003. Illustrated Book of Korean Medical Herbs. Gyohaksa, Seoul, Korea.  
 Bhardwaja, T.N. and S. Sen. 1966. Effect of temperature on the

- viability of spores of the water fern Marsilea. Sci. Cult. 32:47-48.
- Bertrand, A.M., M.A. Albuérne, H. Fernandez, A. Gonzalez and R. Sanchez-Tames. 1999. *In vitro* organogenesis of *Polypodium cambricum*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 57:65-69.
- Chang, H.C., D.C. Agrawal, C.L. Kuo, J.L. Wen, C.C. Chen and H.S. Tsay. 2007. *In vitro* culture of *Drynaria fortunei*, a fern species source of Chinese medicine “Gu-Sui-Bu”. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 43:133-139.
- Cox, J., P. Bhatia and N. Ashwath. 2003. *In vitro* spore germination of the fern *Schizaea dichotoma*. Sci. Hort. 97:369-378.
- Fernandez, H., A.M. Bertrand and R. Sanchez-Tames. 1993. *In vitro* regeneration of *Asplenium nidus* L. from gametophytic and sporophytic tissue. Sci. Hort. 56:71-77.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 1996. Influence of tissue culture conditions on apogamy in *Dropteris affinis* sp. *affinis*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 45:93-97.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 1997a. Gemmation in *Osmunda regalis* L. gametophyte culture *in vitro*. Plant Cell Rep. 16:358-362.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 1997b. Plantlet regeneration in *Asplenium nidus* L. and *Pteris ensiformis* L. by homogenization of BA treated rhizomes. Sci. Hort. 68:234-247.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 1999. Biological and nutritional aspects in fern multiplication. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 56:211-214.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, I. Feito and R. Sanchez-Tames. 1997c. Gametophyte culture *in vitro* and antheridiogen activity in *Blenchum spicant*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 50:71-74.
- \_\_\_\_\_ and M.A. Revilla. 2003. *In vitro* culture of ornamental ferns. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 73:1-13.
- Furuya, M., 1985. Photocontrol of spore germination and elementary processes of development in fern gametophytes. Proc. R. Soc. Edinb. B. 86:13-19.
- Galán, J.M.G. and C. Prada. 2011. Pteridophyte spores viability: In Fernandez, H., A. Kumar and A. Revilla (eds.), Working with Ferns: issues and applications, Springer, New York, USA. pp. 193-205.
- \_\_\_\_\_, G. Migliaro and R. Lahoz-Beltra. 2011. Effect of temperature and dark pretreatment on the germination of three species of *Jamesonia* (Pteridaceae, Polypodiopsida). Plant Species Biology 26:254-258.
- Haufler, C.H. and C.B. Welling. 1994. Antheridiogen, dark spore germination, and outcrossing mechanisms in *Bommeria* (Adiantaceae). American J. Bot. 81:616-621.
- Higuchi, H. and W. Amaki. 1989. Effect of 6-benzylaminopurine on the organogenesis of *Asplenium nidus* L. through *in vitro* propagation. Sci. Hort. 37:351-359.
- \_\_\_\_\_, W. Amaki and S. Suzuki. 1987. *In vitro* propagation of *Nephrolepis cordifolia* Prsel. Sci. Hort. 32:105-113.
- Jeong, J.A. and C.H. Lee. 2006. Effect of medium composition on *in vitro* prothallus culture of 3 fern species in the family Aspleniaceae. Korean J. Plant Res. 19:259-264 (in Korean).
- \_\_\_\_\_, S.H. Kwon and C.H. Lee. 2007. Screening for antioxidative activities of extracts from aerial and underground parts of some edible and medicinal ferns. Korean J. Plant Res. 20:185-192 (in Korean).
- Kang, U.C. and S.S. Jung. 2012. Composition of Pteridophyta' life-form spectra in Korea. Korean J. Plant Res. 25:433-446 (in Korean).
- Kim, N.R. L.W. Chi and C.H. Lee. 2013. Alpha-glucosidase inhibition activity of methanol extracts obtained from nine Pteridophyte species native to Korea. Korean J. Plant Res. 26:411-416 (in Korean).
- Knop, W. 1865. Quantitative untersuchungen uber die ernahrungsprozesse der pflanzen. Landwirsch Vers Stn. 7:93-107.
- Knudson, L. 1946. A nutrient solution for the germination of orchid seed. Bull. American Orchid Soc. 15:214-217.
- Kor. Fern Soc. (KFS). 2005. Illustrated Fern Native to Korea. Geobook, Seoul, Korea.
- Lee, C.H. 2004. Propagation and technique of masspropagation of Pteridophyta native to Korea. Korean Wild Res. Assn. 3:91-96.
- \_\_\_\_\_ and Y.H. Jin. 1999. Masspropagation of *Pteris multifida* by spore culture *in vitro*. Korean J. Hort. Sci. Technol. 17:272 (in Korean).
- Lee, D.H. 2010. The effect of *Lygodium japonicum* on experimental rat model of benign prostatic hyperplasia. M.S. Thesis, Dongshin Univ., Korea (in Korean).
- Li, S. 1992, Bencao-gangmu. Orient Publishing Co. Ltd., Osaka, Japan.
- Menendez, V., R. Arbesu, M. Somer, M.A. Revilla and H. Fernandez. 2011. From spore to sporophyte: How to proceed *in vitro*: In Fernandez, H., A. Kumar and A. Revilla (eds.), Working with Ferns: issues and applications, Springer, New York, USA. pp. 97-110.
- Subat-Dezulovic, M., I. Slavic, V. Rozmanic, M. Persic, B. Medjimurec and M. Scukanec-Spoljar. 2002. Drug-induced acute tubulointerstitial nephritis: A case with elevated urinary cadmium. Pediatr. Nephrol. 17:382-385.

- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15:473-497.
- Nam, K.H. and Y.M. Lee. 2005. Edible ferns of Korea. *J. Korean Ferns Soc.* 9:23-30.
- National Institute of Biological Resources (NIBR). 2011. National list of species of Korea (Vascular Plants). National Institute of Biological Resources, Incheon, Korea. p. 633 (in Korean).
- Park, M.K. 1961. Flora of Korean Pteridophyta. Kyohakdos Co., Seoul, Korea (in Korean).
- Raghavan, V. 1989. Developmental Biology of Fern Gametophytes. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Shin, S.L. 2007. Several factors affecting *in vitro* masspropagation of eight fern species. M.S. Thesis, Chungbuk Nat'l. Univ., Korea.
- \_\_\_\_\_ and C.H. Lee. 2009. *In vitro* medium composition and culture method affecting masspropagation of *Osmunda japonica* Thunb. prothalli. *J. Hort. Sci. Technol.* 27:299-304 (in Korean).
- \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 2010. Antioxidant effects of the methanol extracts obtained from aerial part and rhizomes of ferns native to Korea. *Korean J. Plant Res.* 23:38-46 (in Korean).
- \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 2011. Effect of medium components and culture methods on shoots regeneration from *Athyrium niponicum*. *Korean J. Plant Res.* 24:113-120 (in Korean).
- \_\_\_\_\_, M.Y. Lee, J.S. Choi and C.H. Lee. 2009. Effect of medium components and culture methods on prothallus propagation of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* (Desv.) Underw. ex Hell. *Korean J. Plant Res.* 22:337-342 (in Korean).
- Smith, H. 1995. Physiological and ecological function within the phytochrome family. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 46:289-315.
- \_\_\_\_\_. 2000. Phytochromes and light signal perception by plant emerging synthesis. *Nature* 407:585-591.
- Suetsugu, N. and M. Wada. 2003. Cryptogam blue-light photoreceptors. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6:91-96.
- Sun, X., Y. Luo, F. Huang, J. Tian and P. Wang. 2003. Deep-sea pollen from the south China sea: pleistocene indicators of east asian monsoon marine. *Marine Geology* 201:97-118.
- Swami, P. and V. Raghavan 1980. Control of morphogenesis in the gametophyte of a fern by light and growth hormones. *Canadian J. Bot.* 58:1464-1473.
- Tang, S. 1992. Jingshizhenglei-beiji-bencao. Orient Publishing Co. Ltd., Osaka, Japan.
- Wada, M., A. Kadota and M. Furuya. 1983. Intracellular-localization and dichroic orientation of phytochrome in plasma-membrane and or ectoplasm of a centrifuged protonema of fern *Adiantum capillus-veneris* L. *Plant Cell Physiol.* 24:1441-1447.
- Whittier, D.P. 1973. The effect of light and other factors on spore germination in *Botrychium dissectum*. *Canadian J. Bot.* 51:1791-1794.
- Wynne, G.M., L.N. Mander, N. Oyama, N. Murofushi and H. Yamane. 1998. An antheridiogen, 13-hydroxy-GA<sub>73</sub> methyl ester (GA<sub>109</sub>), from the fern *Lygodium circinnatum*. *Phytochem.* 47:1177-1182.
- Ye, W.C., C.L. Fan, L.H. Zhang, Z.Q. Yin and S.X. Zhao. 2007. A new phenolic glycoside from the roots of *Lygodium japonicum*. *Fitoterapia* 78:600-601.
- Zhang, L.H., C.L. Fan, X.T. Zhang, Z.Q. Yin and W.C. Ye. 2006a. A new steroidal glycoside from *Lygodium japonicum*. *J. China Pharm. Univ.* 37:491-493.
- \_\_\_\_\_, Z.Q. Yin and W.C. Ye. 2006. Flavonoids from *Lygodium japonicum*. *Biochem. Syst. Ecol.* 34: 885-886.
- Zhu, L., G. Zhang and L. Chen. 2009. A new ecdysteroid from *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. *Nat. Product. Res.* 63:215-219.

(Received 27 April 2016 ; Revised 26 May 2016 ; Accepted 20 June 2016)