

병풍쌈의 엽병 조직 절편으로부터 식물체 재분화

최수완, 임 순, 박완근, 최용의*

강원대학교 산림환경과학대학 산림자원학과

Plant Regeneration from the Segments of Petioles of *Cacalia firma*

Soo Wan Choi, Soon Lim, Wan Geun Park and Yong Eui Choi*

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

Abstract - *Cacalia firma* recently has been used increasingly as leaf vegetables but endangered in natural forest. In this work, we established the plant regeneration via adventitious shoot formation from petiole segments of seedling and *in vitro* plantlets. Wounding of seed coats and GA₃ treatments were effective to induce *in vitro* germination of seeds, whereas, seed did not germinate at all without these treatment. When cotyledon, leaf, petiole, and root segments of seedling were cultured on medium with 2 mg·L⁻¹ benzyl adenine (BA) and 0.5 mg·L⁻¹ naphthaleneacetic acid (NAA), petiole segments showed highest number of shoots per explant among the other segments. Among the various kinds of cytokinins, BA, isopentyl adenine (2-ip), kinetin, zeatin, thidiazuron (TDZ), TDZ and BA treatments were effective to induce high frequency of adventitious shoot formation from petiole segments of *in vitro* propagated plants. NAA stimulated the frequency of adventitious shoot formation but not for number of adventitious shoots per explants compared to TDZ or BA treatment alone. Most of adventitious shoots were developed directly from surfaces of explants. Adventitious shoots were transferred on medium with IBA for root formation, thereafter the plantlets were successfully transferred to soil.

Key words - Adventitious shoot, *Cacalia firma*, Plant regeneration

서 언

병풍쌈은 *Cacalia firma* Komar. 또는 *Parasenecio firmus* (Kom.) Y. L. Chen로 불리우고 있으며, 국화과 다년생 식물로 박쥐나물속(*Parasenecio*)에 속하며 한국과 중국의 동북부 깊은 산속에서 자생하고, 높이 1~2 m의 크기로 자란다(Jin and Ahn, 2010; Koyama, 1979; Chung *et al.* 2006).

이 식물에는 독특한 향기가 있으며 어린 식물체는 나물 및 쌈재료로 이용되어 오는데, 병풍쌈에서 이러한 특징은 caffeoylquinic acids 성분에 의한 것으로 알려져 있다(Park *et al.*, 2009). 병풍쌈 추출물의 peroxynitrite는 높은 소거 효과를 갖는다고 보고되어 있는데(Park *et al.*, 2009), 이는 peroxynitrite가 superoxide와 nitric oxide와 반응하여 지질과 단백질의 과산화물을 초래하고, 세포독성 및 급속

한 신경독성을 초래하여 생긴 결과라 보고되어 있다(Pacher *et al.*, 2007). 또한 peroxynitrite가 과량 생성될 경우 고콜레스테롤혈증, 동맥경화, 비만과 당뇨병 같은 여러 질환을 일으키는 것으로도 알려져 있다(Pacher *et al.*, 2007).

최근에는 자연 식품에 대한 기호도가 높아져 병풍쌈은 산나물(쌈채소)로서의 가치가 높아지고 있어서 산림에서 병풍쌈의 자생지가 파괴되고 있다. 병풍쌈의 경우는 환경부지정 희귀식물 후보종으로 지정되어 있다. 특히 어리병풍(*P. pseudotaimingasa*)은 국내에만 자생하는 특산 식물로 병풍취로도 불리며 환경부에서 희귀종으로 지정하여 보호하고 있다. 따라서 병풍쌈의 자생지 보전은 물론 인공 재배를 위한 번식 기술의 개발이 필요하다.

식물의 번식방법은 종자 및 영양번식 등 다양한 방법이 있다. 일반적으로 병풍쌈을 비롯한 *Cacalia* 속 식물은 종자 번식을 이용하는 것이 일반적인 방법이지만 종자의 결실율이 매우 낮고, 발아율 또한 매우 낮다(Greene, 1948).

*교신저자(E-mail) : yechoi@kangwon.ac.kr

이렇게 번식효율이 낮은 식물의 경우 기내 번식 기술은 연 중 번식을 할 수 있다는 것이 장점 때문에 효율적인 방법으로 사용되기도 한다(Bajaj *et al.*, 1988). 그러나 식물 종에 따른 기내 증식 효율의 차이가 높게 나타나기 때문에 학술적 연구가 필요하고, 특히 병풍쌈을 비롯하여 동속 식물의 기내 번식의 연구는 국내외적으로 전혀 이루어진 바 없기 때문에 종 보존 방법으로 기내 증식 연구가 절실한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 병풍쌈의 기내 번식 기술을 개발하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

병풍쌈의 종자 발아

병풍쌈(*Parasenecio firmus*(Kom.) Y.L. Chen) 종자는 강원도 홍천군에 소재한 오대산에서 채취한 것을 사용하였다. 충실 종자만을 선별한 다음 70% EtOH에 30초, 2% sodium hypochlorite에 20분간 소독한 후 소독한 후 멸균수로 3회 세척하여 발아 배지에 치상하였다. 발아 배지는 1/2 Murashige and Skoog(1962) 배지에 2% sucrose, 0.3% gerlite를 첨가하여 제조하였다. 발아에 미치는 종자의 절단효과를 알아보기 위하여 종자 살균 후 종자를 그대로 배양하거나 1/2로 절단하여 배양하였다. 한편 종자의 발아에 미치는 GA₃의 영향을 알아보기 위하여 배지에 5 mg·L⁻¹ GA₃를 첨가하기도 하였다. Petri dish(15×100 mm) 당 각각 10개의 종자를 치상하여 발아를 유도하였다. 배지는 pH 5.7로 조절하고 100×15 mm Petri dish에 20 mL씩 분주 하였으며, 16시간 광주기 조건하에서(40 μmol m⁻² s⁻¹ 백색 형광등), 25 ± 2°C로 조절되는 배양실에서 배양하였다.

배양재료 부위별 부정아 형성

기내에서 발아된 병풍쌈 식물체의 부위에 따른 부정아의 발생율을 조사하기 위하여 각 부분(자엽, 잎, 줄기, 및 뿌리)을 약 1 cm 크기로 절단 한 후 배양재료로 사용하였다. 이때 배지의 조성은 MS 배지에 30 mg·L⁻¹의 sucrose, 0.3%의 gelrite, pH 5.7로 조정하였으며 120°C에서 15분간 멸균시킨 후 Petri dish에 분주하였다. 생장조절제로서 BA와 NAA의 농도를 각각 2.0 mg·L⁻¹와 0.5 mg·L⁻¹로 달리하여 단독 및 조합 처리하였다. 각 Petri dish 당 절편은 16개씩 치상하였으며, 4반복으로 수행하였다. 배양은 25 ± 2°C로 조절되는 배양실에서 16시간 조명(40 μmol m⁻² s⁻¹

백색 형광등)으로 조절되는 배양실에서 수행하였다. 치상 5주후 부정아의 형성 빈도, 절편 당 줄기수와 캘러스 크기 정도를 조사하였다.

Cytokinin의 종류에 따른 엽병절편으로부터 부정아 형성

Cytokinin 종류에 따른 부정아 형성율을 조사하기 위하여 기내에서 번식된 병풍쌈 유식물체의 엽병을 5 mm 길이로 절단하여 배양 재료로 사용하였다. 부정아 유도 배지는 MS기본배지에 5종류의 cytokinin(2-iP, kinetin, zeatin, TDZ, 및 BA)을 각각 2.0 mg·L⁻¹씩 단독 또는 각 cytokinin 과 옥옥신(NAA 0.5 mg·L⁻¹)을 조합한 후 30 g/L sucrose, 3% gelrite를 첨가하여 pH 5.7로 조정하여 배지를 제조하였다. 모든 배지는 멸균전 pH 5.5로 조정하였다. 각 Petri dish 당 절편은 15개씩 접종하였으며, 3반복으로 수행하였다. 배양은 25 ± 2°C로 조절되는 배양실에서 16시간 광주기 조건 하에서(40 μmol m⁻² s⁻¹ 백색 형광등)으로 수행하였다. 접종 8주후 cytokinin 종류별 부정아 유도율 및 절편당 유도된 부정아의 수를 조사하였다.

옥옥신 농도에 따른 부정근 유도

배양된 절편으로부터 유도된 부정아로부터 줄기의 생장 및 뿌리분화를 유도하기위하여 부정아를 옥옥신인 IBA 농도를 0, 0.2, 0.5, 및 1.0 mg·L⁻¹로 달리한 1/2 MS 배지에 배양 하였다. 어린 줄기는 마젠타 박스(65×65×100 mm)에 3개체씩 총 10개에 접종하여 배양 하였다. 배양 6주후에 부정근의 유도율 및 개체당 부정근의 수를 조사하였다.

식물체의 생장유도

부정근을 갖는 어린식물체는 1/2 MS에 0.8% 설탕이 첨가된 반고체배지(0.25% gelrite)에 옮겨서 식물체의 생장을 유도하였다. 기내에서 잘 자란 식물체를 토양으로 순화하기 위하여 평균초장이 6~10 cm 내외, 근장 2.5 cm로 성장한 유식물체를 사용하였다. 식물체를 원형통의 플라스틱 포트(10×18 cm)에 피트모스와 펄라이트를(3:1, v:v)를 혼합한 인공토양에 옮겨준 다음 처음 1주간은 polyvinyl bag으로 밀봉하여 주었다. 1주후 부터는 polyvinyl bag을 제거한 다음 배양실 조건에 노출시켰고, 2달 후에 토양의 생존률을 조사 하였다.

결과 및 고찰

종자의 발아

멸균된 병풍쌈 종자를 절단하지 않고 그대로 1/2 MS 배지에 배양한 경우에 발아가 전혀 이루어지지 않았다. 이러한 원인은 수확 후 종자는 휴면상태 있다고 판단되며 특별한 처리가 필요하다고 생각되었다. 반면 종자를 황으로 1/2 절단하여 배양한 경우 접합자배가 있는 종자의 36%가 발아되었다(Table 1). 특히 전형적인 발아 촉진제로 사용되고 있는 GA_3 효과를 조사하기 위하여 배지에 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3 를 첨가하였다. 이 경우 종자를 그대로 배양한 경우(12.4%) 보다 절단하였을 경우가 57.8%로 높았다.

일반적으로 식물 종자의 휴면은 종피가 수분을 잘 통과시키지 못하거나, 종피 및 내부에 억제물질이 축적되어 발아를 억제하기도하고, 종자의 접합자배가 근본적인 생리적 휴면이 있는 원인이 있기도 한다(Webb and Dumbroff, 1969). 전자의 경우는 종자에서 배를 적출하여 주면 발아가 되는데, 후자의 경우는 종자를 적출하여도 발아가 잘되지 않기 때문에 별도의 휴면타파인 저온처리 또는 GA_3 가 효과적인 경우가 있다(Ross and Bradbeer, 1968). 본 연구에서도 병풍쌈 종자를 절단 하였을 경우 발아율이 크게 증가된 것은 병풍쌈 종자의 종피에는 발아를 억제하는 물질이 있거나 종피로 인하여 발아가 될 수 있도록 배지의 흡수가 용이하지 않은 점이 있다고 판단되기 때문에 병풍쌈 종자의 발아율을 높이기 위해서는 상처나 발아촉진제인 GA_3 와 같은 물리화학적 처리가 필수적인 것으로 사료된다.

배양 절편에 따른 부정아 유도

일반적으로 부정아 유도에 있어서 cytokinin으로 BA를 가장 널리 사용하고 있고(Hick 1994), 옥신의 첨가가 효과적이라는 보고가 있다(Hick, 1994). 본 연구에서도 발아

Table 1. Effect of excision and GA_3 treatment on the germination of seeds of *Cacalia firma*

Medium	Germination rate (%)	
	Intact seed	Excised seed
1/2 MS	0	36.6 ± 3.78
1/2 MS + $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3	12.4 ± 2.37	57.8 ± 8.64

For excision, one side of seeds was wounded by razor blade to remove some part seed coat but not excised the zygotic embryos.

*Data are the means \pm SD, of three experiments (n=15).

된 유식물체의 자엽, 엽병, 잎 및 뿌리 절편을 MS배지에 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA 및 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA를 조합 첨가한 배지에 6주 동안 배양한 결과 자엽의 경우 33.6%로 가장 높았으며, 엽병 절편(28.7%), 잎 절편(19.5%)순이었다(Table 2, Figure 1). 그러나 각 배양절편 당 부정아 수는 자엽절편보다(1.75) 엽병절편(2.76)의 경우 가장 많았다. 반면 뿌리에 경우는 부정아가 발생되지 않았으며, 주로 부정근이 유도되었다(Figure 1D). 이 결과는 부정아 형성율을 기준으로 보면 배양재료로 자엽절편이 가장 양호한 것으로 확인할 수 있었으나 자엽의 경우 발아된 직후의 유식물체만을 사용해야 하는 단점이 있기 때문에 엽병절편이 배양재료로서 바람직하다고 본다.

Table 2. Frequency of adventitious shoot formation from different explants of *Cacalia firma* seedling on MS medium with $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA and $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA

Explants	Frequency of adventitious shoot formation (%)	Number of adventitious shoot per explant
Cotyledon	33.6 ± 1.27	1.75 ± 0.27
Leaf	19.5 ± 2.31	0.84 ± 0.13
Petiole	28.7 ± 2.86	2.76 ± 0.34
Root	0	0

*Data are the means \pm SD, of three experiments (n=15).

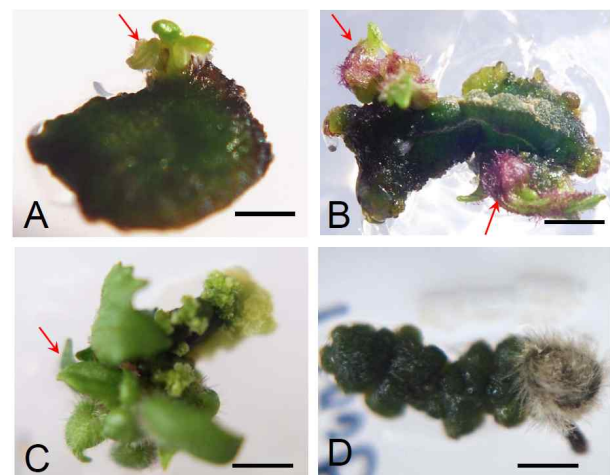


Fig. 1. Adventitious shoot formation (arrows) from various explants of *Cacalia firma* on MS medium with $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA + $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA after 6 weeks of culture. A: Cotyledon (bar= 2 mm), B: Leaf(bar= 2 mm), C: Petiole(bar= 2 mm), D: Root(bar= 2 mm).

Cytokinin 종류에 따른 부정아 유도

부정아의 유도는 성장조절제, 특히 cytokinin의 종류 따라서 영향을 크게 받는다고 알려져 있다(Gaba, 2005). 병풍쌈의 종자는 충실률이 매우 낮다(자료 미제시). 따라서 실험에 필요한 발아된 유식물체의 확보가 어려워 기내에서 번식된 식물체의 엽병을 가지고 다음과 같은 실험을 수행하였다. 식물체의 엽병 절편을 5가지 cytokinin(BA, 2-iP, kinetin, zeatin, 및 TDZ) 단독 및 옥신(0.5 mg·L⁻¹ NAA)을 혼합한 1/2 MS 배지에서 8주간 배양한 결과 부정아 형성율은 cytokinin 단독 배지보다는 옥신을 혼합한 배지에서 높았고, 반면 배양 절편당 부정아의 수는 cytokinin 단독배지에서 더 높게 나타났다(Table 3). 따라서 부정아의 유도를 위해서는 cytokinin 단독배지가 효과적인 것으로 보인다(Table 3). Cytokinin 종류별 부정아 유도율을 조사한 결과 BA처리시 부정아 유도율이 가장 높았으며 그 다음이 TDZ, kinetin의 처리는 10%이하의 유도율을 보였고, 2-iP와 zeatin의 처리는 배양재료가 급격히 갈변되면서 부정아가 전혀 유도되지 않았다(Table 3).

배양 절편당 부정아 수는 2 mg·L⁻¹ BA 단독 첨가 배지에서 4.1개가, 0.5 mg·L⁻¹ NAA 혼합 배지에서 2.5개, 2 mg·L⁻¹ TDZ 단독 첨가 배지에서 3.6개, 0.5 mg·L⁻¹ NAA 혼합 배지에서 2.0개가 각각 형성되었다(Table 3). 옥신을 조합 처리하는 경우는 부분적으로 캘러스가 활발하게 형성되어서 오히려 절편 당 부정아의 발생률을 떨어뜨린 것으

Table 3. Frequency of adventitious shoot formation from petiole segments of *in vitro* plantlets on different kinds of cytokinin in combination with or without NAA

Growth regulator (mg·L ⁻¹)		Frequency of adventitious shoot formation(%)		No. of shoot per explant
2-iP	2 NAA	0	0	0
	0.5	0	0	0
Kinetin	2 NAA	0	0	0
	0.5	10.0 ± 4.14	1.2 ± 0.21	
Zeatin	2 NAA	0	0	0
	0.5	0	0	0
TDZ	2 NAA	32.3 ± 7.64	3.6 ± 1.78	
	0.5	33.3 ± 7.43	2.0 ± 1.15	
BA	2 NAA	43.3 ± 10.04	4.1 ± 1.85	
	0.5	54.3 ± 5.93	2.5 ± 1.60	

*Data are the means ± SD, of three experiments (n=15).

로 판단된다. 식물의 조직배양에서 대부분의 경우 부정아를 유도하기 위해서는 cytokinin이 효과적이며, 식물종에 따라서 cytokinin류 내에 특정 성장조절제가 특별한 효과를 지니기도 한다. 본 연구에서는 BA처리가 가장 양호하였으며, TDZ 또한 비교적 양호하였다. 그러나 나머지 kinetin, 2-iP 및 zeatin은 효과적이지 않았다. 따라서 이러한 결과는 다른 식물에서도 cytokinin중 BA 처리 결과가 부정아 유도에 양호한 결과와(Gaba, 2005; Miller *et al.*, 1991) 일치하는 것으로 판단된다.

병풍쌈 엽병절편으로부터 부정아가 유도되는 형태를 관찰한 결과, 배양 2 주후에 절편체 절단부에서 캘러스를 형성 후 부정아가 유도되기 보다는 배양재료에서 직접 다수의 부정아가 형성되었다(Fig. 2). 형성된 부정아는 녹색을 띄었으며, 특히 녹색 주변에 붉은색의 많은 모용이 형성되기도 하였다(Figure 2B-C). 부정아는 식물재료 절편에서 직접 발달되기도 하고, 캘러스 증식 후 유도되기도 하는데(Attfield and Evans, 1991) 본 연구에서는 전자의 경우가 대부분이었다. 캘러스 유래 식물체의 경우 배양환경에 따

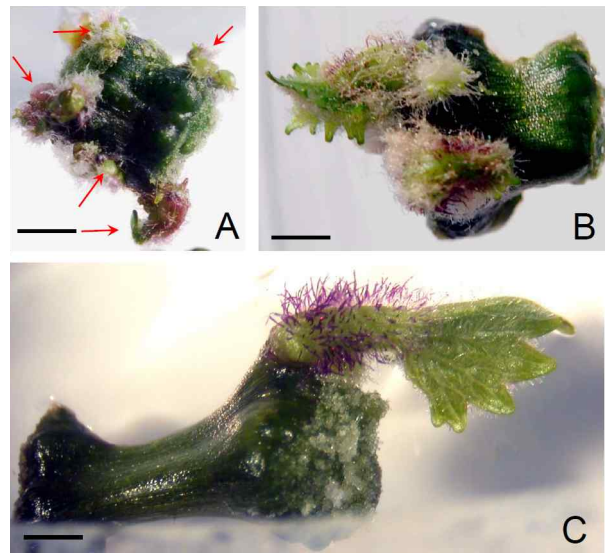


Fig. 2. Development of adventitious shoots formed from petiole segments of *Cacalia firma* on MS medium with 2 mg·L⁻¹ BA during 4 weeks of culture. A: Early adventitious shoot primordia were developed on the surfaces of petiole segments after 2 weeks of culture (arrows indicate shoot primordia) (bar=2 mm), B: Adventitious shoots with small leaves covered with trichomes after 3 weeks of culture (bar=4 mm), C: Adventitious shoot with petiole after 4 weeks of culture (bar=2 mm).

라서 도중에 변이체의 발생율이 높은 경향이 있기 때문에 식물체의 유전적인 변이를 최소화하기 위해서는 배양재료에서 직접 부정아를 유도하는 것이 바람직하다고 본다.

뿌리유도 및 식물체의 생장

기내에서 유도된 부정아(Figure 3A)를 오옥신의 일종인 IBA가 함유된 배지 또는 IBA와 GA₃가 조합된 1/2 MS 배지에 옮겨서 부정아로부터 부정근의 유도를 조사하였다. 부정아를 옮긴 후 약 1달이 경과되었을 때 오옥신을 첨가하지 않은 배지보다 IBA를 첨가한 경우 부정근의 유도율 및 수가 현저히 증가되었다(Table 4). 특히 낮은 농도의 IBA 보다는 1.0 mg·L⁻¹ IBA가 첨가된 배지에서 높은 비율의 부정근 유도율을 보였다. 개체당 부정근의 수도 IBA의 농도가 높아질수록 많아지는 경향을 보였다.

부정근이 유도된 식물체는 어린 식물체는 다시 새로운 1/2 MS 배지에 옮겨서 식물체의 생장을 유도하였다(Figure

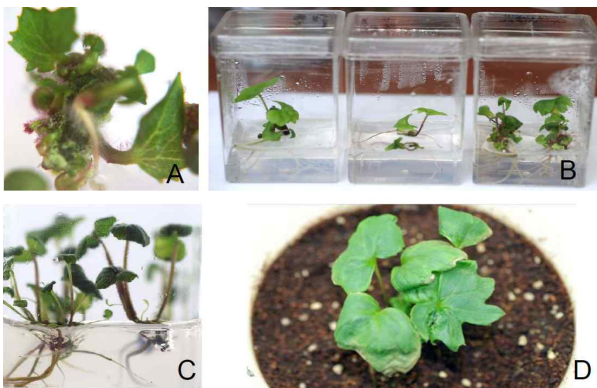


Fig. 3. Plant regeneration via adventitious shoot formation and soil transfer in *Cacalia firma*. A: Adventitious shoots formed from petiole segments, B-C: Growth of shoot and adventitious root formation from shoots on medium with 1.0 mg·L⁻¹ IBA, D: Soil transferred *Cacalia firma*.

Table 4. Effect of auxin and GA₃ on the formation of adventitious roots from adventitious shoots in *Cacalia firma*

Growth regulator (mg·L ⁻¹)	Frequency of adventitious root formation (%)	Number of adventitious root per explant
Hormone-free	33.2 ± 2.7	1.7 ± 0.12
0.2 IBA	76.3 ± 5.4	2.4 ± 0.45
0.5 IBA	88.9 ± 7.2	3.1 ± 0.43
1.0 IBA	95.7 ± 8.3	3.8 ± 0.18

*Data are the means ± SD, of three experiments (n=15).

3 B-C). 잎이 잘 전개된 10 cm 크기의 건강한 식물체를 토양에 순화시킨 다음 병풍쌈 특유의 넓은 잎을 지닌 식물체로 생장되었다(Figure 3D).

결론적으로 병풍쌈 종자의 기내 발아를 위해서는 종자를 절단하여 주거나, GA₃를 처리하는 경우가 발아에 효과적이었다. 엽병 절편으로부터 부정아 형성은 여러 가지 cytokinin 중 BA처리가 가장 양호한 부정아 형성을 보였으며 오옥신과 조합 첨가는 그다지 효과적이지 않았다. 부정아는 오옥신이 첨가된 배지에서 식물체로 생장하였으며, 성공적으로 토양에 순화될 수 있어서 본 연구결과는 병풍쌈의 기내번식 기술로 이용될 것으로 기대된다.

적 요

본 연구는 쌈채소로 각광받고 있지만 산림에서는 희귀한 식물이며 번식이 까다로운 병풍쌈(*Cacalia firma*)을 기내 번식을 통한 식물체 번식을 위하여 진행되었다. 병풍쌈의 기내 종자발아를 위해서는 종자의 절단 및 GA₃처리가 효과적이었다. 종자유래 유식물체의 자엽, 잎, 엽병 및 뿌리절편을 BA가 첨가된 배지에 배양한 결과 엽병 절편당 2.76개로 가장 양호하였다. 부정아 유래 식물체의 엽병 절편을 다양한 종류의 cytokinin(2-iP, kinetin, zeatin, TDZ, 및 BA)를 각각 2 mg·L⁻¹씩 단독 첨가한 배지와, 오옥신으로 NAA 0.5 mg·L⁻¹을 혼합 첨가한 배지에 접종하였다. 그 결과 TDZ와 BA에서 높은 부정아 유도율을 나타냈고, kinetin에선 낮은 부정아 유도율을 보였으며, 2-iP와 zeatin에서는 부정아가 형성되지 않았다. NAA를 혼합한 배지는 단독 처리 배지보다 높은 유도율을 나타냈지만 배양절편당 부정아의 수는 오히려 줄어들었다. 대부분의 부정아는 cytokinin 단독 처리시 배양절편으로부터 직접부정아가 발생되었으며, cytokinin과 NAA 혼합된 배지에서는 일부 캘러스화된 부분에서 부정아가 발생되었다. 이들 부정아는 IBA가 첨가된 배지에 옮겨준 경우 뿌리가 발생되어 식물체로 재생되었다. 재생된 식물체는 토양에 성공적으로 순화되었다.

사 사

본 연구는 농림부 농림기술개발사업(과제번호: 109086-03-1-CG000)의 지원으로 이루어졌고 산림청 산림과학 기초연구 지원사업(Project No. S211010L20130)에서도 일부 지원되었음.

인용문헌

- Attfield, E.M. and P.K. Evans. 1991. Developmental pattern of root and shoot organogenesis in cultured leaf explants of *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi nc. J. Exp. Bot. 42:51-57.
- Bajaj, Y.P.S., M. Furmonowa and O. Olszowska. 1988. Biotechnology of the micropropagation of medicinal and aromatic plants. In Bajaj, Y.P.S. (ed.). Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol 4, Medicinal and Aromatic Plants I. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg. Germany. pp. 60-103.
- Chung, G.Y., G.H. Nam, M.S. Park and H.J. Jeong. 2006. Taxonomic study on the genus *Parasenecio* (Compositae) of Korea by the morphology and somatic chromosome numbers. Korean J. Plant Res. 19:323-330.
- Gaba, V.P. 2005. Plant growth regulators in plant tissue culture and development. In Trigano, R.N. and Gray, D.J. (eds.). Plant Tissue Culture and Development. CRC Press, Boca Raton, USA. pp. 87-99.
- Greene, H. C. 1948. Differences in achene characters and germination in some species of *Cacalia* L. American Midland Naturalist 39:758-760.
- Hick, G.S. 1994. Shoot induction and organogenesis *in vitro*: A developmental perspective. In Vitro Cell. Dev. Biol. 30P:10-15.
- Jin, Y.H. and Y.H. Ahn. 2010. Comparison of ecological characteristics of *Parasenecio firmus* population in Korea and China. J. Environ. Sci. 19:197-207.
- Koyama, H. 1979. Notes on some species of Chinese *Cacalia*; 3. Acta Phytotax. Geobot. 30:65-86.
- Miller, R.M., V. Kaul, J.F. Hutchinson and D. Richards. 1991. Adventitious shoot regeneration in carnation (*Dianthus caryophyllus*) from axillary bud explants. Ann. Bot. 67: 35-42.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiol. 15:473-479.
- Pacher, P., J.S. Beckman and L. Liaudet. 2007. Nitric oxide and peroxynitrite: in health and disease. Physiol. Rev. 87: 315-424.
- Park, H.J., A. Nugroho, J. Lee, J.D. Kim, W.B. Kim, K.R. Lee and J.S. Choi. 2009. HPLC analysis of caffeoylquinic acids in the extract of *Cacalia firma* and peroxynitrite scavenging effect. Korean J. Pharmacogn. 40(4):365-369.
- Ross, J.D. and J.W. Bradbeer. 1968. Concentrations of gibberellins in chilled hazel seeds. Nature 220:85-86.
- Webb, D.P. and E.B. Dumbroff. 1969. Factors influencing the stratification process in seeds of *Acer saccharum*. Canadian J. Bot. 47(10):1555-1563.
- (접수일 2011.1.11; 수정일 2011.6.24; 채택일 2011.7.25)