

지황의 조직배양묘와 영양번식묘의 생육 및 바이러스 감염도 비교

백기엽*·유광진*·박상일**

Comparison of Growth Characteristics and Virus Infection between Tissue-cultured Plants and Conventionally Propagated Plants of *Rehmannia glutinosa* LIBOSCHITZ

Kee Yooup Paek*, Kwang Jin Yu* and Sang Il Park**

ABSTRACT : There was no significant difference in length and width of leaf and number of leaves per plant between tissue-cultured plants and conventionally propagated ones but chlorophyll content increased in tissue-cultured ones. Percent of sprouting from planted root segments significantly increased in tissue-cultured plants, resulting in yield increase of more than 200% per 10a. Root thickness of tissue-cultured plants at the time of planting influenced percent of sprouting and yield. Plants with root diameter ranging from 3 to 6mm gave good yield. When virus infection was monitored with *N. tabacum* and *C. amaranticolor* as indicator plants, 100% infection occurred in vegetatively propagated plants and introduced plants from China, whereas plants obtained from apical meristem showed 0% and 40% to 45% infection in vitro plantlets and 1 year old plants in vivo, respectively. Tobamovirus and unidentified virus particles were detected in electron microscopy.

Key words : Virus infection, *N. tabacum*, *C. amaranticolor*, Indicator plants, Tobamovirus,

서 언

영양번식을 하는 식물에서 무병주를 생산하기 위한 조직 배양 기술은 과수¹⁴⁾, 채소^{2,5,8)} 및 화훼^{1,7,12)} 식물에서 널리 적용되고 있으며 무병주를 생산하여 품질 및 생산성을 향상 시켰다는 보고도 다수 있다^{3,9,11,13)}. 그러나 조직배양을 이용하여 생산된 무병종묘와 재래영양번식묘간의 생산성차이와 품

질관계를 구체적으로 비교 검토하여 보고한 논문은 많지 않다.

지황은 전형적인 영양번식 약용식물로 현재 전국적으로 143ha가 재배되고 있으나 매년 많은 양이 중국에서 수입되어 국내시장에 유통되고 있기 때문에 국내 재배면적이 감소 추세에 있다. 그러나 국내에서 생산된 지황이 홍콩이나 대만 등 동남아 지역에 수출된 적도 있으며⁶⁾ 많은 약용식물 가운데 농가 소득 증대에 상당히 이바지할 수 있는 기대되

* 충북대학교 (Dept. of Horticulture, Chung Buk Nat'l Univ. Cheongju 360 - 763, Korea)

** 충북대학교 농과대학 농학과 (Dept. of Agronomy, Chung Buk Nat'l Cheongju 360 - 763)

< '98. 3. 12接受 >

는 유망 약용식물로 인정되고 있다.

전국에서 재배되고 있는 지황은 지역간에 다소 차이는 있으나 대개가 바이러스에 감염되어 있으며(미발표 자료), 이로 인하여 수량이나 품질이 저하되는 것으로 생각된다. 또한 중국에서 수입된 지황도 바이러스 이병정도가 국내산보다 더 심한 것으로 나타나 바이러스 무병 대책을 수립하지 않고서는 경쟁력 있는 상품을 생산하기가 어렵다고 판단된다¹⁵⁾.

따라서 본 논문은 정단배양을 통해 생산한 지황을 포장에서 1년간 재배한 후 증식된 묘와 재래적으로 영양번식에 의해 증식시킨 묘를 지역별로 재식하여 수량 및 품질을 비교 검토하고자 하였으며 바이러스 이병정도도 조사하였다.

재료 및 방법

1. 조직배양묘와 재래영양번식묘 간의 수량비교

< 배양조건 >

공시재료로는 충북대학교 농과대학 농학과 온실 내에서 모래상자에 재식한 것과 충북진흥원 포장에서 재배중인 단양지방종 지황(*Rehmania glutinosa*)을 이용, 정단을 채취하여 sodium hypochlorite 1.0% 용액으로 살균한 뒤 0.3mg/l IAA, 1.0mg/l BA, 3.0% Sucrose 및 0.7% Bacto agar가 첨가된 Murashige-Skoog 배지에 접종하였다. 배지의 pH는 살균전에 5.7로 조절하였으며 배양 4주후 증식된 신초를 0.5% Activated Charcoal이 첨가된 MS기본배지에 접종, 4주간 배양하여 신초의 생장을 도모한 뒤 다시 계대배양하거나 묘로 이용하는 방법을 이용하였다. 배양은 형광등(1,500 lux)에 의한 16시간 명상태로 하였고 배양실의 온도는 25±2℃로 조절하였다.

< 포장 재배조건 >

기내에서 3회이상 계대배양된 묘 1,500주를 1993년 5월 3일 충북대학교 포장에 재식하였다. 재식방법으로 이랑폭을 75cm 정도로 하고 그 위에

2줄로 약 3cm 깊이의 골을 만든 다음 그 골에 6~8cm 길이의 종근을 약 30cm 간격으로 놓은 다음 약 5cm정도 흙으로 복토한 후 벗짚으로 피복하였다. 10a당 퇴비는 3,000Kg, 화학비료는 N:P:K=12:12:16Kg 시비하였으며 발생하는 꽃대는 수시로 제거해 주는 방법으로 재배하여 1994년 3월까지 매달 100주씩 수확하여 중간생육정도를 조사하였다. 1994년 3월에 최종적으로 수확한 뿌리는 물에 잘 씻은 다음 뿌리의 직경이 3mm 이하인 것, 3~6mm인 것, 6mm 이상 되는 것으로 구분한 다음(Photo 1) 충북 농촌진흥원 포장과 충남 서천군 문산면 지황재배농가의 포장에 뿌리의 길이가 3~5cm 정도 되도록 조정하여 4월 하순 m²당 40주를 재식하였다. 10a당 시비량은 기비로 퇴비를 3,000kg 사용하였으며 화학비료는 N:P:K=12:12:16kg 시비하였다. 충북 농촌진흥원의 경우 9월 26일, 서천군 문산면 포장은 7월 14일에 지상부 생육 상태를 조사하였으며, 11월 14일 수확하여 뿌리의 발달 정도와 수량을 조사하였다. 생육조사중 조

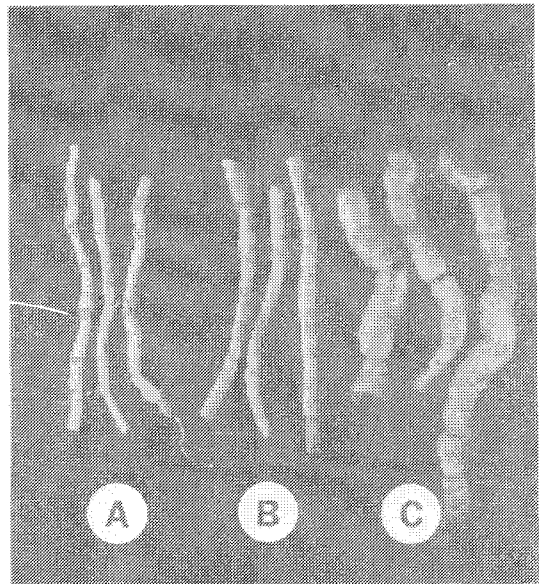


Photo. 1. Root thickness at time of planting A = less than 3mm, B = 3~6mm and C = more than 6mm.

결과 및 고찰

사일의 선택은 지상최하부에서 10번째 잎을 선정하여 조사하였다. 엽록소 함량은 80% acetone으로 추출하여 측정하였다. 시험구 배치는 난괴법 3반복으로 하였으며 기타는 약용작물 표준재배법에 따랐다.

2. 조직배양묘와 재래영양번식묘의 바이러스검정

표본은 기내 배양중인 묘, 포장1년생과 2년생 묘, 재래영양번식시킨 묘 그리고 중국도입종묘 각각 20개씩 임의로 선택하여 잎을 2% polyvinyl pyrrolidone (PVP)과 0.2% Na₂SO₃를 함유한 0.1M 인산완충액 (pH 7.0)에 1 : 10 (W/V)의 비율로 넣고 마쇄한 다음 즙액을 500 mesh의 Carborundum powder로 지표식물의 잎에 상처를 낸 다음 접종하고 즉시 물로 씻어 주었다. 지표식물로는 잎이 5~6매 정도 자란 담배 (*Nicotiana tabacum*)와 명아주 (*Chenopodium amaranticolor*)를 사용하였으며 병징 조사는 즙액 접종 2주 후에 실시하였다. 지표식물은 20℃로 유지한 온실에서 육묘하여 직경이 15cm되는 화분에 이식한 뒤 방충망으로 격리된 망실에서 재배하였다. 전자현미경 관찰을 위해서는 잎을 2% potassium phosphotungstic acid (pH 6.0)로 직접 negative 염색하여 전자현미경 (Zeiss 109)에서 바이러스 입자를 검정하였다. 엽육조직내 감염세포의 검정은 이병잎을 Karnovsky의 고정액과 osmic acid로 이중 고정하고 알콜 시리즈 및 propylenoxide로 탈수시킨 후, Spur 수지에 포매하고 ultramicrotome으로 초절편하여 uranyl acetate와 lead acetate로 이중염색하여 전자현미경으로 관찰하였다.

1. 조직배양묘와 재래영양번식묘간에 수량비교

정단배양으로 부터 증식시킨 다수묘를 기내에서 발근시킨 다음 포장에 정식하였을 경우 당년도도 상품화할 수 있을 정도로 뿌리의 비대 발달이 잘 이루어 졌다 (Table 1).

특히, 기온이 고온에 달하는 6월에서 8월까지의 뿌리의 생장이 완만하게 이루어지나 9월부터 10월에 걸쳐 뿌리의 발달이 왕성하게 이루어지는 것을 관찰할 수 있었다. 한편 뿌리 절편을 토양에 재식한 다음 45일이 경과하면 길게 성장한 뿌리의 마디 부분에서 부정아가 형성되어 새로운 소식물체가 많이 형성되었는데 이들을 번식 개체로 이용할 수도 있을 것으로 보여졌다 (Photo 2).

충남 서천군 문산면 지황재배농가의 포장에서 실증 실험한 결과를 보면 Table 2와 같다.

조직배양묘는 서천지방종에 비해 초장과 엽수가 증가 하였으나 엽폭은 오히려 감소하는 경향을 나타냈다. 중국 수입종을 보면 조직배양묘 보다도 초장이나 엽폭이 현저히 길어 국내 재배중인 재래종과는 성장차이가 심함을 알 수 있었다. 이들 간에 있어서 수량 구성요소 및 수량성을 비교해 보면 Table 3과 같다.

뿌리의 굵기나 길이는 조직배양묘가 서천지방종 보다 컸으며 식물체당 생근중도 18g에 비해 11g이나 증가된 29.3g으로 현저한 차이를 나타냈다. 입묘율은 서산재래종 57.5주에 비해 조직배양묘에서는 77.5주로 높았고 중국수입종은 13.

Table 1. Monthly root growth of tissue-cultured *Rehmania glutinosa* in field.

Fresh root wt. (g/plant) ²						Root diameter (% of plants harvested)		
Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	< 3mm	3-6 (mm)	> 6 (mm)
3.6	6.3	9.5	14.7	24.3	29.4	47.4	45.2	7.4

²The number of plants investigated was 100 plants.

5주로 현저히 낮은 현상을 나타냈다.

10a당 수량을 보면 조직배양주는 1,954kg으로 서천지방종 881kg이나 중국 수입종 748kg에 비해

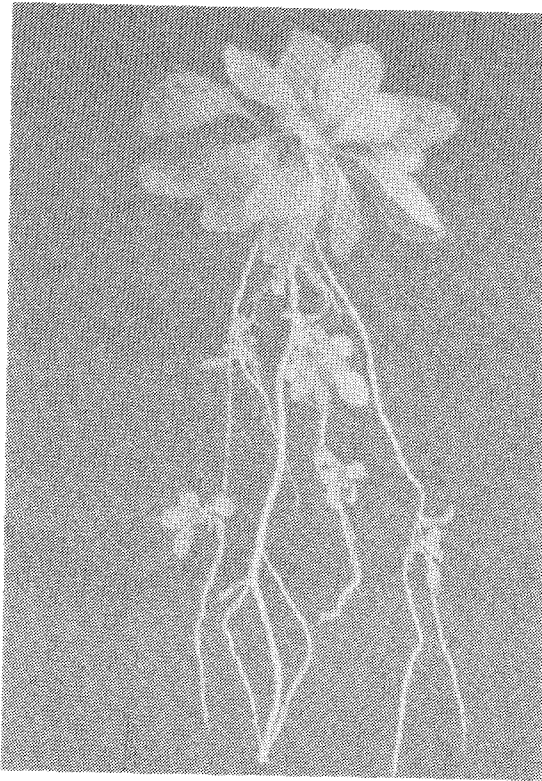


Photo. 2. Root growth and new plantlet formation planted from root segment after 6 weeks in vivo culture.

Table 2. Comparison of shoot growth between tissue-cultured plants and conventionally propagated plants for 14-week culture in Seocheon area.

Plant Source	Plant height (cm)	Leaf width (cm)	No. of leaves /plant	Yield	
				kg/10a	Index
Tissue cultured plant	22.5 a*	6.7 a	12.1 a	1,954 a	222
Seocheon local cultivar	18.5 b	7.5 b	9.3 b	881 b	100
Cultivar introduced from China	24.6 c	10.9 c	12.1 a	748 b	89

* The same letters in a column are not significantly different at the 5% level by Duncan's Multiple Range Test.

Table 3. Comparison of yield and yield components between tissue-cultured plants and conventionally propagated plants at harvest in Seocheon area.

Plant source	No. of sprouted plants/m ²	Root length (cm)	Root thickness (mm)	Fresh root wt. (g/plant)	Yield	
					kg/10a	Index
Tissue cultured plant	77.5a	17.3a	9.6a	29.3a	1,954a	222
Seocheon local cultivar	57.5b	15.4b	9.4a	18.0b	881b	100
Cultivar introduced from China	13.5c	17.7a	24.5b	66.5c	748b	89

* The same letters in a column are not significantly different at the 5% level by Duncan's Multiple Range Test.

수량이 현저히 증가하여 조직배양묘의 우수성을 인정할 수 있었다. 그러나 중국 수입종의 경우 m²당 입모수는 매우 낮으나 주당 근중은 66.5g으로 조직배양묘 보다도 배이상으로 높았는데 만약 생장점 배양을 하여 m²당 입모수만 높일 수 있다면 수량도 높일 수 있으리라 생각되었다. 한편 중국 수입종은 뿌리모양이 우리나라 재래지방종 보다는 비교가 되지 않을만큼 고구마 뿌리와 같은 크기의 굵기와 모양을 나타냈는데 이는 재배 지황의 우수 계통을 선발한 변종이라 추측되었다⁵⁾. 또한 국내 수입되는 지황이 이들 계통인 것을 감안한다면 국내에 정착시켜 재배해 볼만한 충분한 가치를 지니고 있다고 생각되었다. 한편 입모율의 저하는 바이러스 감염이 주 원인이라 생각되나 이에 대한 연구는 금후 검토해서 구명되어야 할 사항이라 생각된다. 청주 지역에서 조직 배양묘와 4가지 지방종을 선택하여 생육 비교를 해본 실험 결과는 Table 4와 같다. 입모율을 보면 조직배양묘의 경우 뿌리굵기가 3mm 이상 일때 90%이상을 나타내었으며 3mm 이하 일때는 80%로 감소하였다. 그러나 재래영양면식 시킨 지방종에 비해서는 현저히 높았고, 지방종 간에는 정읍재래종과 서천지방종은 60%미만으로 현저히 낮았다. 초장을 보면 조직배양묘가 지방재래종 보다 증가되었고, 조직배양묘간에는 종구의 뿌리가 굵을 수록 약간 증가하였고, 지방종간에는 정읍지방종이 16.5cm로 가장 작았다. 엽장과 엽

폭을 보면 조직배양묘와 지방종간에 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 식물체당 엽수를 보면 단양 지방종을 조직배양한 묘와 영양번식시킨 단양지방종 간에는 재식당시 뿌리의 굵기에 관계없이 39매 정도의 엽수를 나타내었으나 정읍지방종은 25.8매로 공시 지방종 중 엽수가 가장 적었다.

Table 4. Comparison of shoot growth between tissue-cultured plants and conventionally propagated plants for 5-month culture in Cheongju area.

Plant source	Sprouting (%)	Plant height (cm)	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	No. leaves /plant
Tissue cultured plant (3 ^z)	80.0	20.9	19.8	5.6	38.9
(mm) 3-6	93.6	21.5	20.4	6.2	40.2
)6	90.7	22.3	21.2	6.1	39.7
Danyang local cultivar	76.8	18.7	17.3	5.2	39.4
Seocheon local cultivar	52.5	21.5	20.1	6.7	31.9
Suwon local cultivar	70.8	18.6	17.5	5.5	31.7
Jeongup local cultivar	56.8	16.5	15.4	5.5	25.8

^z Mean root thickness.

한편 지상부 출현일을 조사해 본 결과 조직배양 묘는 타 지방종보다 3~8일 정도 일찍 출아되었는데 단양지방종 보다는 지상부 출아가 8일 앞당겨지는 현상을 나타냈다. 엽록소 함량을 조사해 본 결과는 Table 5와 같다.

조직배양묘의 경우 뿌리의 굵기에 관계없이 지방종보다는 엽록소 함량이 증가하는 현상을 나타냈다. 즉 생체중 g당 1.92mg 이상으로 높았으며 지방종 중에서는 단양지방종이 1.77mg으로 높았고 수원재래종은 1.45mg으로 낮았다. 포장상태에서 시각적으로 구분해 본 결과 조직배양묘는 재래 영양번식묘보다 세력이 양호하고 짙은 엽색을 나타내고 있어 쉽게 구별할 수 있었는데 이는 타 식물의 조직배양에서도 관찰되는 일반적인 특징이라 생각되며 주된 원인은 병원균의 제거 내지는 바이러스가 제거된 때문이라 생각되나 이에대한 연구는 금후 검토되어야 될 사항이라 생각된다.

Table 5. Comparison of chlorophyll contents between tissue-cultured plants and conventionally propagated plants for 14-week culture in Cheongju area.

Plant source	Chlorophyll content (mg/g, FW)		
	a	b	Total
Tissue cultured plant (3 ^z)	1.34±0.21 ^x	0.63±0.16	1.97±0.18
3-6	1.27±0.35	0.65±0.24	1.92±0.25
)6	1.35±0.27	0.63±0.20	1.98±0.24
Danyang local cultivar	1.24±0.18	0.53±0.17	1.77±0.17
Seocheon local cultivar	1.09±0.24	0.43±0.12	1.52±0.18
Suwon local cultivar	1.05±0.32	0.40±0.24	1.45±0.27
Jeongup local cultivar	1.23±0.25	0.44±0.16	1.67±0.18

^z Mean root thickness. ^x Data represent mean ± standard deviation.

수량구성요소와 10a당 생산량을 비교해 본 결과는 Table 6과 같다. 평균 뿌리길이를 보면 조직배양묘와 지방종간에 큰 차이를 나타내지 않았는데 서천지방종이 24cm로 가장 짧았고, 조직배양묘에서는 종근의 굵기가 3~6mm 일때 27.6cm로 다소 근장이 증가하는 경향이였다. 평균 뿌리의 굵기를 보면 종근의 굵기에 관계없이 조직배양묘가 지방종보다 다소 굵어지는 경향을 나타냈다. 그러나 식물체당 근중을 보면 조직배양묘와 지방종간에는 상당한 차이를 나타내어 3~6mm 범위에 있는 조직배양 종구를 재식했을 경우에는 32.3g을 나타냈고 수원지방종은 19.5g, 정읍지방종은 16.3g으로 뿌리의 비대 발육이 불량한 것을 알 수 있었다.

10a당 생산량을 보면 조직배양묘는 종구의 굵기에 관계없이 1.567kg 이상 이었으며 지방종은 서천 지방종이 876kg, 정읍지방종은 586kg으로 생산량이 현저히 낮았다. 이러한 차이는 식물체당 뿌리중의 증가에도 다소 원인이 있다고 생각되었으나 주된 원인은 Table 4에 나타난 것처럼 잎묘율의 증가 때문이라 생각되었다. 한편 단양지방종의 생산지수를 100으로 보았을때 조직배양묘는 최고 226%에서 200%의 증수 효과가 있었고 지방종 중에서는 서천 지방종이 112% 증수되는 반면 정읍지방종은 75%로 감소하는 경향을 보여 지방종간에도

Table 6. Comparison of yield components between tissue-cultured plants and conventionally propagated plants at harvest in Cheongju area.

Plant source	Root length	Root thickness	Fresh root wt (g/plant)	Yield	
	(cm)	(mm)		kg/10a ²	Index
Tissue cultured plant (3 ²)	25.4	8.6	27.5	1,567 ^a	200
	(mm) 3-6	27.6	9.7	32.3	1,763 ^a
)6	26.7	9.5	29.6	1,624 ^a
Danyang local cultivar	26.7	7.6	11.6	780 ^b	100
Seocheon local cultivar	24.0	8.4	22.5	876 ^b	112
Suwon local cultivar	26.6	8.6	19.5	816 ^b	104
Jeongup local cultivar	27.5	6.8	16.3	586 ^c	75

² Mean root thickness.

^a Mean separation in columns by Duncan's Multiple Range Test at 0.05 level.

생산량에는 상당한 차이가 있었다. 이와같은 수량의 차이는 재식밀도⁴나 재식깊이³에 따라서 차이가 있을수 있으나 근본적으로는 생태형이 상이한 지방종간의 특성¹⁰에 기인된 것으로 생각된다.

2. 조직배양묘와 재래영양번식묘의 바이러스 검정

단양재래종을 조직배양하여 생산한 묘와 이를 종구로 사용하여 재배한 1년생묘 및 재래영양번식시킨 지방종의 잎에서 즙액을 추출하여 담배와 명아주 잎에 접종시켜 본 결과는 Table 7과 같다. 조직배양묘에서는 지표식물에 관계 없이 잎에 증상이 전혀 나타나지 않았고 조직배양 1년생 묘에서는 담배에서 40%, 명아주에서 45%의 바이러스 병징을 관찰할 수 있었는데 병징의 정도는 경미하였다 (Photo. 3. B).

그러나 재래식 영양번식묘와 중국 도입종에서는 담배나 명아주 모두에서 100% 바이러스 증상이 관찰되었다 (Photo. 3. A and B).

이와 같은 결과로 보아 생장점배양에 의해서 생산된 식물체는 바이러스 무병주임을 확인할 수 있었고, 포장에서 1년 재배한 식물체에서 얻은 종구를 다시 재식하였을 경우에는 40~45%의 바이러

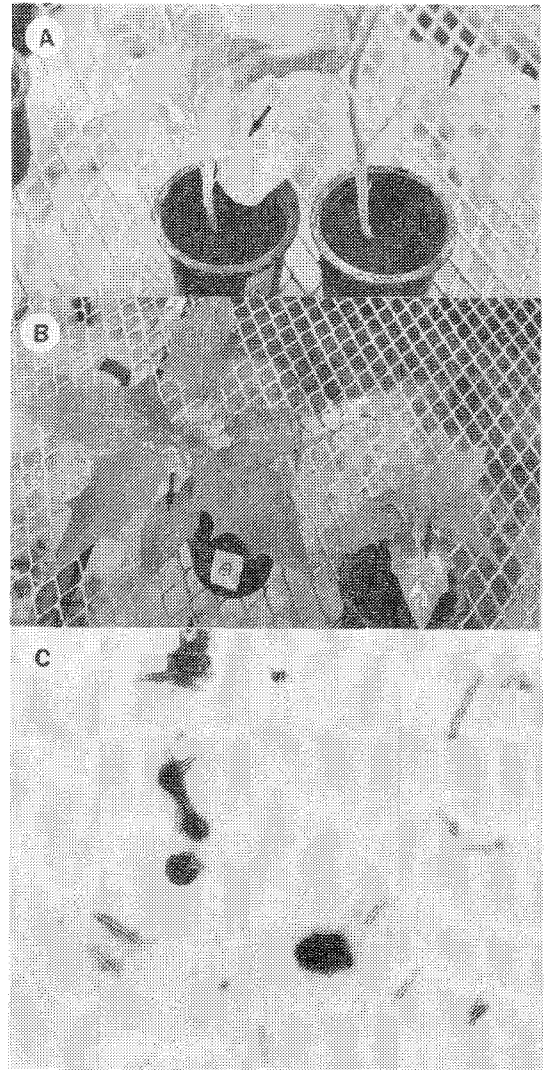


Photo. 3. Reaction of indicator plant leaves with crude sap of *Rehmania glutinosa* and virus type detected by TEM.

A. *Nicotiana tabacum*.

Right : Plants Introduced from China.

Left : Conventionally propagated plants.

B. *C. amaranticolor*.

Right : One year old tissue-cultured plants.

Left : Conventionally propagated plants.

Arrows indicate symptom from virus infection.

C. Tobamovirus particles and unidentified virus

particles ($\times 37,500$).

스 이병을 확인할 수 있었다. 따라서 조직배양묘에서 종구를 증식시킬 경우 바이러스 이병을 방지할 수 있는 망실에서 재배하는 것이 바람직하다고 생각되었다. 영양번식 시킨 묘나 중국도입종에서 입묘율의 저하는 바이러스 감염이 주원인이라 생각되었는데 특히 중국도입종을 국내 재배화 하기 위해서는 바이러스 무병 우량주의 생산이 급선무라 생각되었다.

Table 7. Reactions of the leaf of *Chenopodium amaranticolor* and *Nicotiana tabacum* as indicator plants inoculated with crude sap of *Rehmania glutinosa* leaves after 15 days of inoculation.

Source of investigated plants	Indicator plants	No. of tested plants	Leaf showing symptoms (%)
In vitro plantlet	<i>N. tabacum</i>	20	0
	<i>C. amaranticolor</i>	20	0
One year old tissue cultured plant	<i>N. tabacum</i>	20	40
	<i>C. amaranticolor</i>	20	45
Conventionally propagated plants	<i>N. tabacum</i>	20	100
	<i>C. amaranticolor</i>	20	100
Plants introduced from China	<i>N. tabacum</i>	20	100
	<i>C. amaranticolor</i>	20	100

과전형 전자현미경으로 지황에 감염된 모자이크 증상의 바이러스 입자들은 대부분이 Tobamovirus로 판정되었으며 입자의 모양이 길고 약간 굽은 모양의 것은 Tobamovirus 이외의 미동정 바이러스에 감염된 것으로 추정되었다(Photo 3 C). 그러나 대부분의 입자가 막대모양의 300nm 길이의 Tobamovirus 였다.

이상의 결과로 볼때 지황의 입묘율 및 품질향상을 위해서는 조직배양에 의해서 생산한 무병주를 망실에서 유지 증식시킨 다음 종구를 재배농가에 보급하는 체제를 갖추는 것이 필요하다고 생각되었다.

사사 : 본 연구는 농촌진흥청 특정 연구개발사업비 지원으로 수행된 결과의 일부임.

적 요

생장점 배양을 통하여 생산한 단양지방종 지황 (*Rehmania glutinosa*) 묘와 재래식 영양번식묘 간의 생장 및 수량 차이를 구명하고 바이러스 이병 정도를 조사하였다.

청주와 서천 지역을 중심으로 생장특성을 비교해 본 결과 엽장, 엽폭 및 엽수에 있어서는 조직배양묘와 재래 영양번식 묘간에 큰 차이를 나타내지 않았으나 엽록소 함량은 조직배양묘에서 증가하였다. 입묘율과 식물체당 근중은 조직배양묘에서 현저히 증가하였으며 10a 당 수량은 200% 이상 증가하였다. 조직배양묘의 입묘율 및 생산량은 3~6mm 크기의 뿌리를 종구로 이용했을 때 증가하였다.

담배와 명아주를 지표식물로 이용하여 바이러스 이병 정도를 조사해 본 결과 기내 조직배양묘에서는 증상이 전혀 나타나지 않았으며 조직배양 1년생 묘에서는 40~45% 경미한 바이러스 이병 증상을 나타냈다. 그러나 재래영양번식묘와 중국도입종에서는 100%의 심한 바이러스 감염 증상을 보였다. 감염된 바이러스의 대부분은 Tobamovirus였으며 그외 미동정 바이러스도 관찰되었다.

인 용 문 헌

- Allen, T. C., and W. C. Anderson. 1980. Production of virus-free ornamental plants in tissue culture. *Acta Hort.* 110 : 245-249.
- Boxes, P. H., M. Quoirin and J. M. Laince. 1977. Large scale propagation of strawberry plants from tissue culture. In *Plant cell, tissue and organ culture.* J. Reinert and Y. P. S. Bajaj, eds. Springer-Verlag. pp.130-143.
- 최인식, 조진태. 1991. 지황 재식 방법 시험. *충북농진연보.* 133-138.
- Choi, I. S., I. K. Song, J. H. Kim, J. T. Jo, Y. K. Hong, S. K. Park and J. K. Park. 1993. Effect of Planting Density on Plant Growth and Tuber Yield of *Rehmannia glutinosa* *Medicinal Corp Sci.* 1 : 70-73.
- Choi, S. Y., K. Y. Paek and J. T. Jo. 1992.

- Virus Detection in Tissue-cultured *Allium sativum* L. Korean J Plant Tissue Culture. 19 : 283-287.
6. 홍남두. 1973 국내 생약의 수급에 관한 조사 보고. 경희대약대 논문집 1 : 95 p.
 7. Kowalska, A. 1974. Study on the freeing of carnation plants from viruses by means of meristem tip cultrues. Phytopathology. 79 : 301-309.
 8. Meller, F.C. and R. Stace-Smith. 1987. Virus free potatoes through meristem culture. In Biotechnology in agriculture and forestry. Vol. 3. Y.P.S. Bajaj, ed. Springer-Verlag. pp. 61-99.
 9. Oehl, V.H. and H.M. Hughes. 1980. The field performance of a clone of Cambridge Prizewinner strawberry freed from latent virus by meristem culture. J. Hort. Sci. 55 : 79-82.
 10. 박상일. 1974. 지황에 대한 연구. 충북대논문집. 12 : 269-273.
 11. Raju, B. C. and J. C. Trolinger. 1986. Pathogen indexing in large-scale propagation of florist crops. In Tissue cultures as a plant production system for horticultural crop. R. H. Zimmerman et al, eds. Martinus Nijhoff Publishers. pp. 135-138.
 12. Samyn, G.L., P.C. Debergh and D. Vermaerke. 1984. Field performance and phenotypic stability of virus-free tissue cultured *Begonia* × tuberhybrida 'Multiflora.' Sci. Hortic. 24 : 185-191.
 13. Walkey, D.G.A. and D.N. Antill. 1989. Agromomic evaluation of virus-free and virus-infected garlic (*Allium sativum* L.). J. Hort. Sci. 64 : 53-60.
 14. Zimmerman, R.H. 1991. Micropropagation of temperate zone fruit and nut crops. In Micropropagation. P.C. Debergh and R.H. Zimmerman, eds. Klumer Academic Publishers. pp. 231-246.
 15. Zu, Z.H. 1988. *Rehmania glutinosa* : Tissue culture and its potential for improvement. In Biotechnology in agriculture and forestry. Vol. 4. Medicinal and aromatic plants. Y.P. S. Bajaj, ed. Spring-Verlag. pp. 501-512.