

흰민들레 잎조직으로 부터 기관형성을 통한 식물체 재생

이현화* · 김영순** · 박현웅*†

*조선대학교 자연과학대학 생물학과, **금호생명과학연구소, 전남대학교

Plant Regeneration via Organogenesis from Leaf Explant Culture of *Taraxacum coreanum* Nakai.

Hyun Hwa Lee*, Young Soon Kim**, and Hyeon Yong Park*†

*Department of Biology, Collage of Nature Science, Chosun University,
375 Seosuk-Dong, Dong-Gu, Gwangju 501-759, Korea.

**Kumho Life and Environmental Science Laboratory, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea.

ABSTRACT : Plant Regeneration via organogenesis from leaf disk of Korean dandelion was investigated. Leaf disk cultured on MS medium with various combinations of BA (0-4 mg/L) and 2,4-D (0-1 mg/L). Shoot regeneration from leaf explant was observed after 3 weeks of culture. The highest shoot regeneration frequency from leaf disk was obtained with 2 mg/L BA. To analyze the effect of leaf age along shoot formation, we measured number of shoots per explant, shooting rate, fresh and dry weight of leaf explant. The highest number of shoots (11.5) per explant were obtained leaf from 7 weeks old plantlets after seed germination. The regenerated shoots were transferred in 1/2 MS medium with 0.5 mg/L NAA for root formation. Regenerated plantlets thought organogenesis were growing to whole plants in the pots with acclimation.

Key Words : *Taraxacum coreanum* Nakai., organogenesis, plantlet regeneration

서 언

전 세계적으로 분포되어 있는 민들레는 오랫동안 약용식물로 사용되어져 왔으며, 특히 흰민들레 (*Taraxacum coreanum* Nakai.)는 우리나라 각처 낮은 지대의 양지쪽에 자라는 고유의 재래종 민들레이다. 흰민들레는 노랑민들레와 비슷하지만 꽃이 흰색으로 ‘조선포공영’, ‘백화 포공영’, ‘조선민들레’ 등으로 불리운다 (Kang et al., 2001). 한방에서는 일반적으로 노랑민들레 (*T. mongolicum*), 좀민들레 (*T. hallaisanense*), 산민들레 (*T. ohwianum*), 서양민들레 (*T. officinale*), 흰민들레 (*T. coreanum*) 등을 통칭하여 지상부를 말린것을 포공영 (浦公英)이라 하며, 완하제, 강장제, 건위제 등의 약재로 사용하고 있다. 또한 지상부의 15배가 넘는 뿌리 부위는 말린 것을 포공영근 (浦公英根)이라 분리하여 해열, 이뇨, 거담, 해독제로 사용하고 있어 그 쓰임새도 부위에 따라 다르다. 뿌리에는 taraxasterol, β -sitosterol, stigmasterol 등 많은 식물 스테로이드 화합물과, chlorogenic, caffeic, ferulic, chicoric acid 등의 phenolic compound를 함유하고 있다 (Akashi et al., 1994; Katrin et al., 2006; Wolbis et al., 1993). 또한, 잎과 꽃을

포함한 지상부에도 hydroxycinnamic acid 류의 phenolic compound가 풍부하게 함유되어 있으며, 지하부와는 달리 K, Ca, Fe 등의 무기질과 항산화제인 비타민 C와 tocopherol의 함량이 매우 높고 특히, 건조된 잎과 줄기에서 각각 4.89%, 7.73%로 높은 potassium 함량을 함유하고 있다 (Kang et al., 2000; Williams et al., 1996; Wilman and Derrick, 1994). 이러한 성분들에 기인하여 민들레는 이뇨제, 항염증, 항산화, 항암, 항당뇨 등 다양한 효능을 나타내고 있다. 또한 항균 작용뿐만 아니라 장내세균의 증식에도 좋은 효과를 나타낸다. 민들레는 약재로서 뿐만 아니라 식용으로도 사용되어져 왔는데, 어린 잎은 얇고 부드러워 중국과 일본에서는 오래전부터 쌈채소와 나물로 식용해 왔으며, 일부 지역에서는 뿌리는 볶아 커피 대용으로 사용하기도 한다 (Kang, et al., 2001; Katrin et al., 2006). 민들레는 알려진 효능에 비해 각 품종별 특성과 차이점 및 함유 성분에 따른 다양한 기능성을 활용하지 못하고 방치되고 있는 자원식물이라 할 수 있다. 더욱이 우리나라 토종 흰민들레는 서양민들레의 높은 번식력과 자생력에 밀려 그 분포지가 날로 줄어들고 있으며, 봄 한철 개화와 년 일회 번식으로 인해 체집과 대량 체취가 힘들다. 이는 흰민들레를

[†]Corresponding author: (Phone) +82-62-230-6652 (E-mail) hypark@chosun.ac.kr

Received January 20, 2007 / Accepted January 31, 2007

자원으로 이용하기에 큰 문제점으로 계절적, 지리적 영향을 벗어나 조직배양을 통한 대량생산이 요구되어진다. 오늘날 식물 조직배양 기술은 식물의 생리 생화학적 조절기구 및 유전자 발현 기작을 밝히고, 생물공학적 기법을 이용한 유용물질의 대량생산을 위한 좋은 도구가 되고 있다. 과채류나 임목 및 화훼류에 있어서 조직배양을 통한 대량번식을 통해 분주나 삽목으로 얻기 힘든 무병의 동일한 식물체를 생산하고 있다 (Kim and Moon, 2005; Moon *et al.*, 2001).

현재 우리나라 재래종인 흰민들레에 대한 구체적인 효능 및 유용물질의 탐색, 그리고 별아와 번식에 관한 연구보고는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 자생식물인 흰민들레의 보호와 육성 그리고 그 개발 가치를 높이고자 흰민들레의 기내 배양을 통한 대량증식 가능성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 식물 재료 및 발아

본 실험에서 사용한 흰민들레 (*Taraxacum coreanum* Nakai.)는 동신대학교 종자은행에서 분양받아 사용하였다. 종자는 관모(갓털)를 제거한 후 70% EtOH에 3분, 4% NaOCL 용액에 10분간 표면 살균 후 멸균된 증류수로 5분간 세척하였다. 멸균한 종자는 MS배지 (3% sucrose, 0.4% gelite, pH 5.8)에 파종하여 발아를 유도하였다. 배양은 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 조절되는 배양실에서 10000 lux의 16시간 광주기와 8시간 암주기로 배양하여 발아 후 2주 간격으로 계대 배양하였다.

2. 잎 조직배양을 통한 신초 형성

기내에서 무균 발아된 유식물체의 잎 신초 형성 및 캘러스 형성률을 조사하였다. 채취한 잎은 직경 5-7 mm의 크기로 절단하여 2,4-D와 BA가 단독 또는 혼합 처리된 MS배지 (3% sucrose, 0.3% gelite, pH 5.8)에 치상하였다. 4주 후 신초 형성 및 캘러스 형성에 영향을 미치는 auxin과 cytokinin의 농도를 조사하고 생장량에 따른 건중량과 생중량을 조사하였다. 또한 잎 조직의 상태에 따른 신초 형성율을 조사하기 위해 전 실험 결과에서 우수하다고 밝혀진 BA 2.0 mg/L가 첨가된 MS 배지에 기내 발아 후 5주, 6주, 7주, 8주, 9주 된 잎을 사용하여 실험하였다. 배양조건은 전 실험과 동일한 조건에서 시행하였다.

3. 발근유도 및 순화

분화된 신초는 약 1.5 cm 길이의 신초만을 잎 절편체로부터 분리하여 발근을 유도하였다. 발근 배지는 식물생장조절물질이 첨가되지 않거나 Auxin (NAA, IBA, IAA, 2,4-D)이 단독 또는 혼합처리된 1/2 MS배지 (3% sucrose, 0.3% gelite, pH 5.8)를 사용하였다. 배양은 전 실험과 동일한 조건에서 시행하

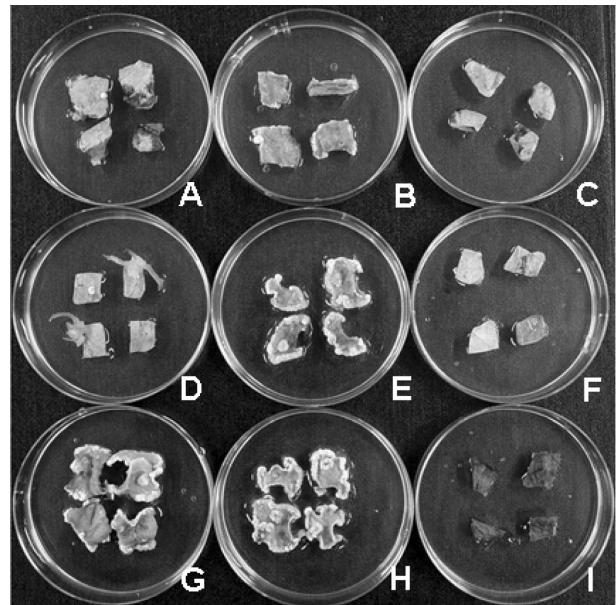


Fig. 1. Effects of plant growth regulators on the callus and shoot formation from leaf disk culture after 4 weeks. A; 0 2,4-D + 0 BA, B; 0.1 2,4-D + 0 BA, C; 1 2,4-D + 0 BA, D; 0 2,4-D + 2 BA, E; 0.1 2,4-D + 2 BA, F; 1 2,4-D + 2 BA, G; 0 2,4-D + 4 BA, H; 0.1 2,4-D + 4 BA, I; 1 2,4-D + 4 BA. (unit: mg/L).

였다. 신초 말단으로부터 5 cm 이상 뿌리 생장이 이루어진 신초를 시험관으로부터 꺼내어 배지 성분을 완전히 제거한 다음 1%의 Hyponex (Hyponex corporation, USA)에 30분간 침지하고 peatmoss : perlite : vermiculite (3 : 1 : 1) 혼합토와 마사토에 각각 이식하였다.

결과 및 고찰

1. 잎 절편체로부터의 부정아 형성

무균발아된 흰민들레의 유묘로부터 잎을 절취한 후 MS 배지에 2,4-D와 BA의 농도를 달리하여 치상하였다. 치상 후 2주 후 식물생장조절물질의 종류와 조합에 따라 캘러스의 형성 또는 신초의 분화가 이루어졌다. 식물생장조절제가 첨가되지 않은 기본 MS 배지에 치상한 절편체의 경우 배양 2주 후 까지 아무런 변화를 나타내지 않았으나 시간이 지남에 따라 엽록소가 파괴되어 가고 절단면을 따라 서서히 갈변화되었다 (Fig. 1A). 2,4-D가 단독으로 0.1 mg/L 첨가된 절편체의 경우 배양 2주 후부터 절단면을 중심으로 서서히 캘러스가 유도되는 듯 보였으나, 더 이상의 성장을 보이지 않고 서서히 갈변화 되어가는 양상을 나타냈다 (Fig. 1B). 그러나 2,4-D 1 mg/L 첨가된 배지조건에서는 어떠한 생장도 보이지 않고 서서히 갈변화 되었으며, BA와의 혼합 처리시 그 경향이 더욱 두드러졌다. 2,4-D 1 mg/L에 2-4 mg/L BA를 혼합처리한 경우

를 보면, BA의 농도가 높아질수록 갈변화 반응은 더 신속히 진행되어 배양 3주째 모든 절편체에서 조직의 괴사를 관찰할 수 있었다 (Fig. 1C, F, I). BA의 단독처리시 2,4-D의 단독 처리와는 달리 조직의 갈변화 현상은 나타나지 않았다. BA가 2 mg/L가 첨가된 배지에서는 캘러스 형성이 이루어지지 않고 곧바로 부정아가 형성되었으며 (Fig. 1D), BA 4 mg/L 첨가 배지에서는 절편체가 비후되면서 캘러스가 유기되었다. 이러한 현상은 2,4-D와 BA의 혼용구에서도 관찰되었다 (Fig. 1E, G, H).

식물체의 조직으로부터의 식물체의 재분화에는 auxin과 cytokinin과 같은 호르몬의 균형이 중요하며 일반적으로 auxin의 단독처리나 cytokinin의 혼합처리시 auxin의 농도가 상대적으로 높게 요구되어진다 (Lakshmanan *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 1993). 흰민들레의 경우 2 mg/L 농도로 BA만을 단독 첨가한 배지에서 높은 부정아 형성율을 보였는데, 이는 콩 (*Phaseolus acutifolius*, *P. vulgaris*, *P. polyanthus*) 자엽, 엽병 그리고, 배 (embryo)를 재료로 한 재분화 실험에서도 BA의 단독 처리가 효과적임을 확인한 바 있다 (Dillen *et al.*, 1997; Franklin, *et al.*, 1991; Zambre, *et al.*, 2001)

민들레의 경우 종에 따라 신초의 재분화 조건이 차이를 보여주고 있다. 서양민들레 (*T. officinale*)의 경우에는 이차근으로부터 2 mg/L IAA가 함유된 배지에서 재분화가 이루어졌으며, *T. mongolicum*는 1 uM BAP와 1 uM IAA에서 높은 부정아 형성율을 나타내었다. 이와 달리 *T. platycarcum*는 본 실험과 유사하게 2 mg/L BAP 단독 첨가배지에서 부정아 형성율이 높게 나타난 바 있다 (Booth and Bowes, 1970; Lee *et al.*,

2002; Yeo and Roh *et al.*, 2001). Passy 등 (2003)은 딸기 7품종의 잎, 줄기, 뿌리조직으로부터 식물체 재분화에 있어서 조사하여 품종간의 차이가 있음을 보고한 바 있다. 담배의 경우에도 58종의 기관 재분화 실험에서 16종의 오스트레일리아 자생종과 28종의 남미 자생종들이 북아메리카 자생종보다 동일한 조건하에서 더 높은 분화율을 보인 바 있다 (Li *et al.*, 2003). 식물조직으로부터의 기관 형성은 각 식물체의 품종과 자생지에 따라 다양한 차이를 보이기 때문에 국내 자생하고 있는 민들레 품종에 대한 재분화 연구가 충분히 이루어질 필요가 있다.

2. 일 age에 따른 부정아 형성율

일반적으로 기내에서의 식물체 재분화는 식물생장조절물질의 종류와 식물체의 생리적인 상태에 따라 큰 차이를 보인다 (Li *et al.*, 2003). 따라서 재분화 효율을 높이기 위해 발아 후 성장시기별로 잎을 채취하여 2 mg/L BA가 첨가된 MS 배지에 치상하였다 (Fig. 2). 그 결과 기내 발아 후 7주째 자란 흰민들레 잎 절편체에서의 부정아 형성율이 86%로 가장 높았으며 (Fig. 3D), 절편체당 발생되는 신초가 제일 많았다. 5주 이내의 식물체 잎을 사용시 58%의 부정아가 발생되어거나 잎의 면적이 작아 다수의 절편체가 확보되기 어려웠다 (Fig. 3C). 8주째 조직에서 일 절편체당 발생되는 부정아의 형성율은 45%로 5-6주에 비해 효율은 낮았으나, 신초의 수는 7주와 비슷하였다. 기내에서 일면적의 증가가 더 이상 이루어지지 않은 9주 이상 된 절편체의 경우 부정아의 형성율이 매우 낮았으며, 시간이 경과함에 따라 절편체 가장자리로부터 서서히 갈변화

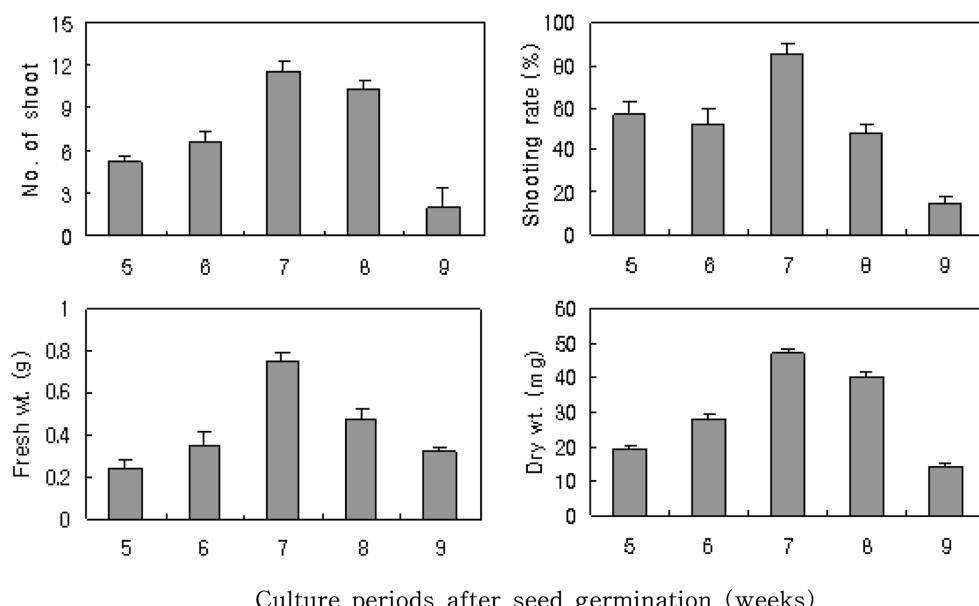


Fig. 2. Number of shoots per explant, shooting rate, fresh and dry weight from the leaf disk cultures of *Taraxacum coreanum* Nakai. after seed germination.

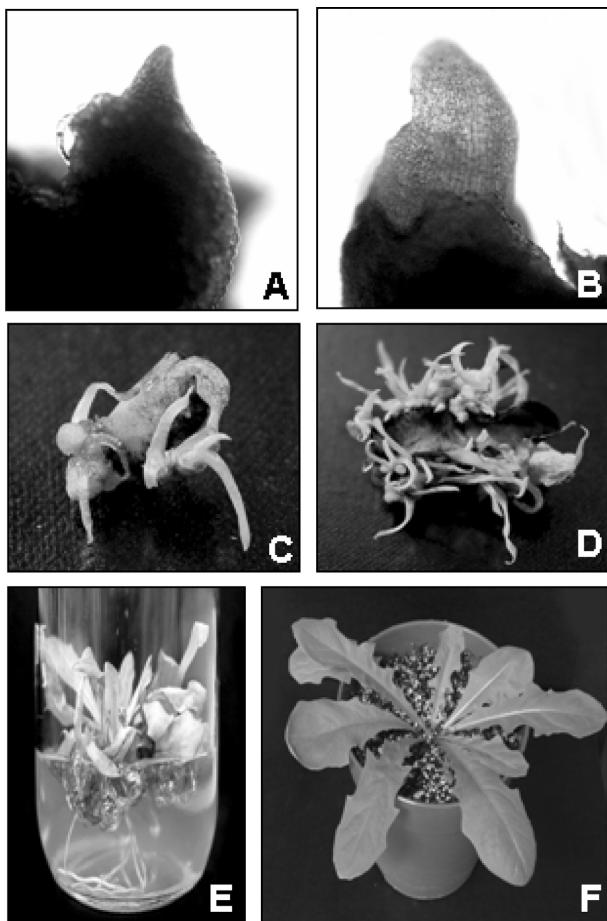


Fig. 3. Shoot and plantlet regeneration from leaf disk culture in *Taraxacum coreanum* Nakai. Primodial shoot was appeared on the leaf disk (A) eventually forming directed shoot on MS medium added with 2 BA mg/L (B) Multiple shooting from leaf disk of the 5 weeks (C) and 7 weeks-old plant (D) after seed germination. (E) Rooting of regenerated shoots on 1/2MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA after 4 weeks. (F) Regenerated plants is cultivated in pot after 5 weeks.

되어 갔다. 잎 절편체로부터의 부정아 형성은 성숙한 조직보다는 미성숙 조직으로부터 효율이 높고, 성숙한 잎조직의 경우 기관 형성율이 급격히 떨어지고 너무 어린 잎 조직도 신초의 형성율이 낮다고 보고되고 있다 (Nugent, et al., 1991; Hwang, 2005). Lee 등 (2002)은 민들레 (*T. platycarpum*)의 각 부위에 따른 부정아 형성율을 조사한 결과, 뿌리 조직에서 100%의 신초 분화율이 나타냄을 보고하였다. 따라서, 흰 민들레로부터의 부정아 형성율을 높이기 위해 식물생장조절물질의 종류와 농도, 재료 그리고 조직의 생리적 상태 등을 고려해야 할 것으로 사료되었다.

3. 발근유도

2 mg/L BA가 첨가된 배지에서 재분화된 신초를 2주간 배양

Table 1. Effect of plant growth regulators on adventitious root formation from shoots of *Taraxacum coreanum* Nakai. after 4 weeks.

Auxins (mg/L)	No. of explants	Rooting frequency (%) [*]	
control	20	13.3 ± 4.4	
0.1	20	6.7 ± 3.3	
2,4-D	0.5	0 ± 0/C	
1.0	20	0 ± 0/C	
IBA	0.1	20	16.7 ± 3.3
0.5	20	0 ± 0/C	
1.0	20	20.0 ± 2.9	
IAA	0.1	20	6.7 ± 4.4
0.5	20	38.3 ± 3.3	
1.0	20	26.7 ± 3.3	
NAA	0.1	20	15.0 ± 2.9
0.5	20	86.7 ± 4.4	
1.0	20	43.3 ± 8.8	

*Data represent the mean values ± SE of three independent experiments

C: callus production.

한 후 발근을 유도하였다. 기내에서 재분화된 신초에서 발근은 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 기본 배지 혹은 소량의 auxin 계열류의 첨가에 의해서 이루어지고 있으며 (Lakshmanan et al., 1997) 특히 오랜 시간 동안 cytokinin이 첨가된 배지에서 적응된 신초의 경우 발근이 쉽게 이루어지지 않는 경우가 많아 반드시 auxin을 처리해야 한다고 보고되고 있다 (Hwang, 2005) 흰민들레의 발근을 유도하기 위해 IAA, IBA, NAA 그리고, 2,4-D를 농도별로 처리하였다 (Table 1). 배양 3주후부터 발근이 이루어졌으며 호르몬이 첨가되지 않는 1/2MS배지에서는 발근율이 5% 미만으로 거의 발근이 이루어지지 않았다. 2,4-D의 경우 0.5 mg/L, 1.0 mg/L가 첨가된 배지에서는 발근이 이루어지지 않고 절단면이 비후되면서 캘러스가 형성되었다. 이러한 현상은 IBA 0.5 mg/L 첨가된 배지에서도 동일하게 관찰되었다. IAA 1 mg/L가 첨가된 배지에서는 50% 이상 신초들이 점점 시들어 배양 4주째는 고사되었다. NAA가 0.5 mg/L가 첨가된 배지에서는 85%의 높은 발근율을 나타내었다. 이는 *T. platycarpum*에서 NAA 0.5 µg/L 발근유도 조건과 유사하나 *T. mongolicum*의 형질전환연구에서 식물생장조절물질이 무첨가된 MS 배지에서 발근이 이루어진 경우와는 차이를 보인다 (Lee et al., 2004; Yeo et al., 2001).

5주째 발근이 이루어진 흰민들레 유식물체는 멸균된 인공토양과 시중에서 구입한 마사토에 이식하였을 때 두 조건 모두에서 100%의 높은 생존율을 나타냈다 (Fig 3F). 이는 기내에서 유도된 흰민들레 유식물체는 인공토양에서의 순화단계를 거치지 않고 바로 포장에 이식하여도 생존이 가능하리라 사료된다.

적  요

한국의 전통적인 민간 약재로 사용되어온 흰민들레의 잎 절편체로 부터 기관형성을 통한 재분화를 시도하였다. 잎 절편체를 BA (0·4 mg/L)와 2,4-D (0·1 mg/L)가 혼합 첨가된 MS 기본 배지에 치상하여 배양한 결과, 배양 3주후부터 신초가 발생되었다. 신초 분화율은 2 mg/L BA 첨가된 조건에서 가장 높았으며, 배양 4주째 4 mg/L BA 첨가된 조건에서는 캘러스가 유기되었다. 잎령에 따른 부정아 형성율, 발생빈도, 건량, 생중량을 조사한 결과, 발아 후 7주된 잎 절편체에서 평균 11·5개의 신초를 형성하였다. 유도된 신초는 0·5 mg/L NAA가 첨가된 배지에서 발근되었으며, 화분에 옮겨 완전한 식물체로 재분화 되었다.

LITERATURE CITED

- Akashi T, Furuno T, Takahashi T, Ayabe SI** (1994) Biosynthesis of triterpenoids in cultured cells, and regenerated and wild plant organs of *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry* 36:303-308.
- Bowes BG** (1970) Preliminary observations on organogenesis in *Taraxacum officinale* tissue cultures. *Protoplasma* 71:197-202.
- Dillen W, De Clercq J, Goossens A, Van Montagu M, Angenon G** (1997) Agrobacterium-mediated transformation of *Phaseolus acutifolius*. *A. Gray, Theor. Appl. Genet.* 94:151-158.
- Franklin CI, Trieu TN, Gonzalez RA, Dixon RA** (1991) Plant regeneration from seedling explants of green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) via organogenesis, *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 24:199-206.
- Hwang SJ** (2005) Efficient Procedures for Direct Shoots Regeneration from Leaf Explants of *Rehmania glutinosa* Lib. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 13(6):273-277.
- Katrin S, Carlea R, Schieber A** (2006) Taraxacum-A review on its phytochemical and pharmacological profile. *J. of Ethnopharmacology* 107(3):11 313-323.
- Kang MJ, Kim KS** (2001) Current Trends of Research and Biological Activities of Dandelion. *Food industry and nutrition.* 6(3):60-67.
- Kang MJ, Seo Y, Kim JB, Shin SR, Kim JS** (2000) The chemianl composition of *Taraxacum officinale* consumed in korea. *Korean J. Soc. Food. Sci.* 16:182-187.
- Kim YW, Moon HK** (2005) Plant Regeneration from Cell Suspension Culture Using Leaf Callus in *Actinidia deliciosa x A. arguta* Clone 118. *Kor. J. Plant Biotechnol.* 32(4):287-292.
- Lakshmanan P, Geijskes RJ, Wang L, Elliott A, Grof CPL, Berding N, Smith GR** (2006) Developmental and hormonal regulation of direct shoot organogenesis and somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum spp. interspecific hybrids*) leaf culture. *Plant cell Rep.* 25:1007-1015.
- Lakshmanan P, Siew KN, Loh CS, Goh CJ** (1997) Auxin, cytokinin and ethylene differentially regulate specific developmental states associated with shoot bud morphogenesis in leaf tissues of mangosteen (*Garcinia mangostana* L) cultured in vitro. *Plant Cell Physiol.* 38:59-64
- Lee MH, Yoon ES, Jeong JH, Cho YE** (2004) Agrobacterium rhizogenes-mediated transformation of *Taraxacum platycarpum* and changes of morphological characters. *Plant Cell Rep.* 22(11):822-827.
- Li B, Huang W, Bass T** (2003) Shoot production per responsive leaf explant increases exponentially with explant organogenic potential in *Nicotiana* species. *Plant Cell Rep.* 22(4):231-238.
- Liu MC** (1993). Factors affecting induction, somatic embryogenesis and plant regeneration of callus from cultured immature inflorescences of sugarcane. *J Plant Physiol.* 141:714-720.
- Lee MH, Yoon ES, Jung SJ, Bae KH, Seo JW, Choi YE** (2004) Plant Regeneration and Effect of Auxin and Cytokinin on Adventitious Shoot Formation from Seedling Explant of *Taraxacum platycarpum*. *Korean J. Plant biotechnology.* 29(2): 111-115.
- Moon HK, Kwon YJ, Lee BS** (2001) Miceropagation of the hybrids of *Actinidia deliciosa x A. arguta* by tissue culture. *Kor. J. Plant Tiss. Cult.* 28:227-230.
- Nugent G, Wardley-Richardson T, Lu CY** (1991) Plant regeneration from stem and petal of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Plant Cell Rep.* 10:477-480.
- Passey A, Barrett K, James D** (2003) shoot regeneration from seven commercial strawberry cultivars (*Fragaria × ananassa* Duch.) using a range of explant types. *Plant Cell Rep.* 21:397-401.
- Williams CA, Goldstone F, Greenham J** (1996) Flavonoids, cinnamic acids and coumarins from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale* *Phytochemistry.* 42(1):121-127.
- Wilman D, Derrick RW** (1994) Concentration and availability to sheep of N, P, K, Ca, Mg and Na in chickweed, dandelion, dock, ribwort and surrey, compared with perennial ryegrass. *Journal of Agricultural Science* 122:217-223.
- Wolbis M, Królikowska M, Bednarek P** (1993) Polyphenolic compounds in *Taraxacum officinale*, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research* 50:153-158.
- Yeo SE, Roh KS** (2001) Transformation of *Taraxacum mongolicum* Hand. by *Agrobacterium tumefaciens*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 16(5):480-485.
- Zambre M, Geerts P, Maquet A, Van Montagu M, Pillen W, Angenon G** (2001) Regeneration of fertile plants from callus in *Phaseolus polyanthus* Greenman (Year Bean), *Ann. Bot.* 88: 371-377.
- Zhang Q, Chen J, Henny RJ** (2004) Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf, petiole, and stem explants of Golden Pothos. *Plant Cell Rep.* 23(9):587-595.