

고사리 전엽체의 증식에 미치는 배지구성물질과 배양방법의 영향

신소림, 이무열, 최재선¹, 이철희*

충북대학교 응용생명환경학부 원예과학과, ¹충북농업기술원

Effect of Medium Components and Culture Methods on Prothallus Propagation of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* (Desv.) Underw. ex Hell.

So Lim Shin, Moo Yeul Lee, Jae Sun Choi¹ and Cheol Hee Lee*

Dept. of Horticultural Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

¹Chungbuk Provincial ARES, Cheongwon 363-880, Korea

Abstract - Present studies were conducted to evaluate the effects of medium strength (MS and Hyponex), carbon sources and their concentrations, agar concentrations, and inoculation amounts on prothallus propagation of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* (Desv.) Underw. ex Hell *in vitro*. The optimum MS medium strength for prothallus propagation was 2MS concentration. Phosphate source was most effective for prothallus growth of *P. aquilinum* var. *latiusculum*. The addition of 1% sucrose or glucose to MS medium promoted prothallus multiplication. Growth of prothallus was not affected by agar concentration. Propagation of homogenized prothallus was vigorous even in liquid medium. Chopped gametophytes (100 and 200 mg) were inoculated on 250 ml Δ flask with 100 mL of 2MS concentration medium and suspension culture was done at 100 rpm for 22 days. After 20 days, prothallus multiplication slowed down, so 100 mg of chopped prothalli is recommended for initial inoculation, since initial amount of inoculum did not affect subsequent prothallus multiplication. Consequently after 20 days of suspension culture, prothallus should be subcultured or transplanted outside of growing vessels.

Key words - Bracken, gametophyte, *in vitro* culture, suspension culture, micropropagation

서 언

우리나라의 대표적인 양치식물인 잔고사리과(Dennstaedtiaceae)의 고사리 [*Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* (Desv.) Underw. ex Hell.]는 한국, 일본, 중국, 만주, 시베리아, 남 쿠우릴 열도, 캄차카반도, 사할린, 북 아메리카의 동부와 유럽 등 여러 지역에 널리 분포되어 있다(Park, 1975).

고사리는 한국 전역의 산지 양지쪽 경사면에 주로 자생하고 있으며, 키가 1 m 안팎이고 굵은 지하경이 옆으로 뻗으면서 군데군데 잎이 나온다. 잎자루는 길이 20~80 cm로서 연한 벗겉색이고 우편(羽片) 밑을 제외하고는 털이 없으나 땅에 묻힌 밑부분은 흑갈색의 털이 있다. 잎몸은 난상(卵狀) 삼각형으로 길이와 너비가 각각 50 cm 이상이고

3회 우상(羽狀)으로 갈라지며 뒷면에 털이 약간 있다. 실엽(實葉)의 최종열편(最終裂片)은 너비 3~6 mm로서 가장자리가 뒤로 말려 포막(胞幕)처럼 된 포자낭(孢子囊)이 5~6월에 형성되고, 포막은 투명하게 보이며 털이 없고 8월에 포자가 날아간다(Lee, 1999).

고사리는 식·약용으로 사용되는데, 전초(全草)와 근경(根莖)은 한방과 민간에서 이뇨(利尿), 서열(暑熱), 통변(通便), 부종(浮腫) 등에 약재로 사용된다(Kim, 1996). 고사리에서 수요가 가장 많은 부위는 잎이 퍼지지 않은 어린 순인데, 채취 후 삶아 말려 목나물로 이용하며, 한국과 일본에서 고급 산채로 이용되고 있다.

특히, 우리나라에서 고사리나물은 제사음식으로 빠지지 않으며, 비빔밥의 주요 소재로 쓰이는 등 수요가 많지만 번식 및 재배방법이 개발되지 않아 대부분 산채나 수입에 의존하고 있다. 요즘 일부 농가에서 산야로부터 굴취한 고사리의 근경을 분주하여 재배를 시도하고 있으나 분주법을

*교신저자(E-mail) : leech@chungbuk.ac.kr

통한 증식은 1년에 5~10배 정도 증가되는 것이 고작이므로 증가량이 많지 않으며, 고사리는 근경의 번식이 왕성한 반면 뿌리의 발달이 약해 성체를 이식할 경우 안정적인 활착이 어렵다.

양치식물의 대량생산을 위한 가장 좋은 방법은 포자를 이용하여 유묘를 대량 형성시키는 것이다. 포자를 이용해서 실외 포장에서 번식하는 경우에는 여러 종류의 시설이나 장비가 필요치 않다. 그러나 온도 및 습도관리에 많은 주의를 기울여야 하고 주년생산이 불가능하며 배우자체에서 포자체로의 발달이 느린 단점이 있다. 그러나 기내에서 포자를 배양하여 조직배양을 통하여 전엽체를 대량생산한 후, 전엽체를 기외로 이식하여 일시에 포자체를 유도하는 방법은 포자체 형성을 월등히 높일 수 있을 뿐만 아니라 계획적인 주년생산이 가능하다(Lee, 2001).

본 연구는 식용 양치식물인 고사리의 무균 포자발아에 의해 형성된 전엽체를 대량생산하기 위하여 전엽체 증식에 미치는 무기물과 비타민, 탄소원 등 배지구성물질의 농도와 배지의 물리성이 미치는 영향을 구명하고, 체계적인 배양체계를 구축하기 위한 적정 접종량을 구명하고자 실시하였다.

재료 및 방법

충남 논산에서 수집한 고사리(*Pteridium quilinum* var. *latiusculum*)의 포자를 기내 무균파종하여 발아한 전엽체를 2달 간격으로 계대배양하여 시험재료로 사용하였다. 실험에 사용한 배지의 기본 조성은 sucrose 3%, pH 5.8, extra pure grade agar(Junsei, Japan) 0.8%로 하였다. 고사리 전엽체의 증식에 적합한 배지의 종류 및 구성물질

의 농도를 구명하기 위하여 기본 MS배지의 무기물 및 비타민 농도를 각각 1/4, 1/2, 1, 2배로 조절한 배지와 Hyponex(N:P:K=6.5:6)를 0.1, 0.2, 0.3, 0.4% 농도로 첨가한 배지에서 전엽체를 배양하였다. MS배지의 무기물 또는 비타민의 농도가 전엽체 증식 및 생육에 미치는 영향을 구명하기 위하여 MS 배지를 기본으로 하여 각 stock에 해당되는 배지 구성물질의 농도만을 1/4, 1/2, 1, 2배로 각기 달리하여 첨가한 배지에서 전엽체를 배양하였다. 실험에 사용된 MS배지 stock의 구성물질은 Table 1과 같다. 탄소원의 종류 및 농도가 전엽체 증식에 미치는 영향을 구명하기 위하여 sucrose와 glucose를 각각 0, 1, 2, 3, 4% 첨가한 MS배지에서 전엽체를 배양하였다. 전엽체의 증식에 미치는 배지 물리성의 영향을 알아보기 위하여 MS 기본 배지에 agar를 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.2%로 조절하여 전엽체를 배양하였다. 상기의 실험은 모두 200 mL의 유리병에 배지 30 mL를 분주한 후 메스를 이용하여 균질화한 전엽체 250 mg을 접종하였으며, 8주 동안 배양한 후 생체중을 조사하였다.

전엽체 접종량에 따른 적정 배양기간을 구명하기 위하여, 2 MS배지에 sucrose 1%를 첨가한 액체배지 80 mL를 250 mL 삼각플라스크에 분주하고 메스를 이용하여 균질화한 전엽체 100 또는 200 mg을 접종하여 100 rpm으로 진탕배양하였다. 균질화된 전엽체는 22일 동안 배양하면서 2일 간격으로 생체중과 건물중을 증가를 측정하였다.

모든 실험은 5반복으로 이루어졌으며, 배양환경은 25±1°C, 광도 40 μmol·m⁻²·s⁻¹, 광주기 16시간으로 조절하였다. 실험 후 통계처리는 window용 SAS system version 9.01(SAS Institute INC, Cary, N.C., U.S.A)을 이용하였다.

Table 1. Medium components of MS medium used in this experiment

Stock	Components	Concentration(mg/L)	Stock	Components	Concentration(mg/L)
1 Sulfate	MgSO ₄ ·7H ₂ O	370.000	4 Phosphate	KH ₂ PO ₄	170.000
	MnSO ₄ ·H ₂ O	16.900		H ₃ BO ₃	6.200
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.600		Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.250
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025			
2 Nitrate	NH ₄ NO ₃	1,650.000	5 Fe, EDTA	Na ₂ EDTA	37.250
	KNO ₃	1,900.000		FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.850
3 Halide	CaCl ₂ ·2H ₂ O	440.000	6 Vitamins	Glycine	2.000
	KI	0.830		Myo-inositol	100.000
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025		Nicotinic acid	0.500
		Pyridoxine HCl		0.500	
				Thiamine HCl	0.100

결과 및 고찰

배지의 종류 및 첨가물질 농도에 따른 고사리 전엽체 증식효과

MS배지의 무기물 및 비타민의 농도를 1/4, 1/2, 1, 2배로 달리한 배지에 고사리의 전엽체를 배양한 결과, 배지에 첨가한 구성물질의 농도가 증가할수록 전엽체 증식이 왕성하였다(Fig. 1). 전엽체의 생육 및 증식은 2MS배지에서 가장 우수하였으며, 균질화된 0.25 g의 전엽체는 8주 동안 초기 접종량의 48.80배인 12.2g까지 증가되었다. 반면 무기물 및 비타민의 농도가 상대적으로 낮은 1/4 MS와 1/2 MS배지에서는 영양분이 부족하여 전엽체가 노화되는 경향을 보였다.

Hyponex배지에서도 구성물질의 농도가 증가할수록 전엽체의 증식이 왕성하였다(Fig. 2). Hyponex를 4% 첨가한 배지에서 전엽체의 증식 및 생육이 가장 왕성하였으며, 균질화된 0.25 g의 전엽체는 8주 동안 초기 접종량의 36.16배인 9.04 g으로 증식되었다.

연구의 결과, 고사리의 전엽체는 배지내 무기물 및 비타민의 농도가 높아질수록 전엽체의 증식이 왕성하였으므로, 차후 MS배지의 무기물 및 비타민의 농도를 2배 이상으로 첨가한 배지에서 전엽체를 배양하면 전엽체의 증식이 더욱 왕성할 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 고사리의 전엽체는 2 MS 배지에서도 증식이 매우 왕성하였으며, 증식이 더욱 촉진될 경우에는 높은 생육 밀도에 의한 생리적 문제가 발생할 수 있으므로 2 MS 배지에서 배양하는 것이 보다 효과적일 것으로 사료된다.

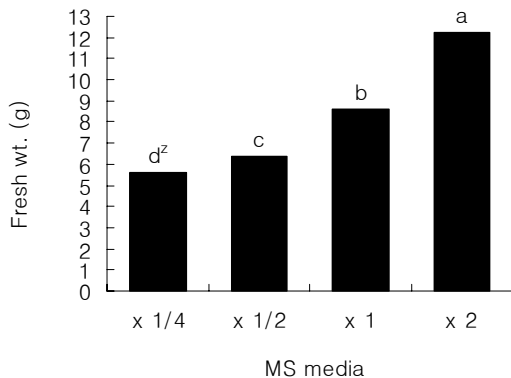


Fig. 1. Effect of MS medium strength on prothallus growth of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* cultured for 8 weeks.

²Mean separation by Duncan's multiple range test at 5% level.

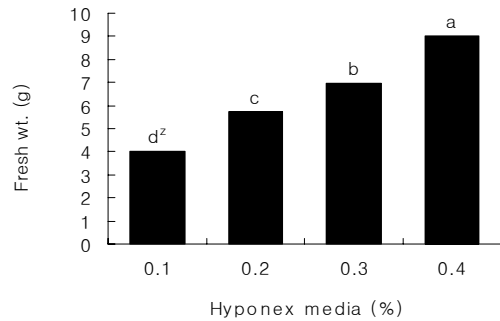


Fig. 2. Effect of Hyponex medium strength on prothallus growth of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* cultured for 8 weeks.

²Mean separation by Duncan's multiple range test at 5% level.

양치식물의 전엽체는 종에 따라 영양요구도가 다른 것으로 알려져 있는데, 고란초과의 고란초(Yang 등, 2001), 일엽초(Lee, 2003) 및 주걱일엽(Jang 등, 2000)의 전엽체는 고사리의 전엽체와 유사하게 2MS배지와 같이 영양물질이 많이 함유된 배지에서 생육 및 증식이 우수한 경향을 보였다. 그러나, 같은 고란초과의 세뿔석위(Lee와 Kim, 2003), 고비과의 음양고비(Lee 등, 1999), 공작고사리과의 부싯깃고사리(Lee와 Jin, 1999) 및 넝쿨고사리과의 넝쿨고사리(Lee와 Park, 2003)는 MS배지에서 생육이 가장 왕성하였다. 한편, 붕의꼬리과의 반쪽고사리(Yun 등, 2001)는 1/2 또는 1/4 MS배지에서 생육이 왕성하였다. 한편 고비과의 고비는 1/8 MS배지나 Knop배지에서, 붕의꼬리과의 *Pteris cretica* 'Wilsonii'는 Hyponex배지에서 생육이 왕성하였다고 하였다(Shin, 2007).

위와 같이 양치식물은 분류군에 따라 영양분의 요구도에 일정한 경향이 없으며, 종에 따라 2MS배지와 같은 고농도의 영양물질이 함유된 배지 또는 Knop, Hyponex배지 등과 같이 영양물질의 종류 및 농도가 낮은 배지에서 생육이 왕성하여 종에 따른 영양요구도의 폭이 넓다. 따라서 양치식물의 전엽체를 이용한 기내 생산방법을 구축하기 위해서는 종에 따른 적정 배지를 반드시 구명해야 할 것으로 판단되었다.

MS배지 내 무기물 및 비타민 농도에 따른 고사리 전엽체의 증식반응

상기의 연구에서 고사리의 전엽체는 Hyponex배지 보다 MS계열의 배지에서 생육이 우수하였다. 식물체 배양에는 일반적으로 MS기본배지가 가장 적합한 것으로 알려져 있

으나(Paek 등, 2001a), 본 연구에서 고사리의 전엽체는 MS배지의 무기물 및 비타민의 농도를 2배로 한 2MS배지에서 생육 및 증식이 가장 우수하였다. MS배지는 총 19 종류의 시약으로 만들어 지는데, 일반적으로 sulfate(황산염), nitrate(질산염), halide(할로겐화물), phosphate(인산염), Fe EDTA, 비타민 원소로 묶어 6가지의 모액(stock solution)을 만들어 배지를 제조하고 있다(Paek 등, 2001b).

본 연구에서 MS배지를 기본배지로 하여 6가지 모액의 농도를 1/4, 1/2, 1, 2배로 달리하여 전엽체를 균질배양한 결과는 Table 2와 같다. 황산염 원소 위주로 구성된 stock 1은 MS배지의 1/2배 수준으로 첨가하는 것이 전엽체 증식에 효과적이었으며, 철분과 EDTA를 착염상태로 공급하는 stock 5는 MS배지와 같은 수준이 효과적이었다. 그러나, 그 외 질산염, 할로겐화물, 인산염과 비타민은 MS배지의 2배 수준으로 공급하는 것이 효과적이었다. 특히, 인산염 위주로 구성된 stock 4번을 1/4 수준으로 공급하여 8주 동안

배양한 고사리 전엽체의 생체중은 5.79 g이었으나, stock 4번을 MS배지에 2배로 공급했을 때의 생체중은 1/4배 첨가구보다 1.99배 많은 11.51 g으로 증가되었다. 일반적으로 MS기본배지 중 질소급원의 농도가 식물의 생육에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있으나(Lee 등, 2008; Yoon 등, 2007; Zhang 등, 1996), 고사리 전엽체의 증식에는 질소급원보다는 인산염의 공급량에 의한 영향이 더욱 큰 것으로 나타났다.

배지 내 탄소원의 종류와 농도에 따른 고사리 전엽체의 증식반응

MS배지에 첨가한 sucrose의 농도를 달리하여 고사리의 전엽체를 배양한 결과, 전엽체의 증식은 1~4%의 첨가구에서 유의차 없이 모두 왕성하였으며, 생체중이 초기 접종량보다 32~33배 정도가 증가되었다(Fig. 3). 그러나, 무첨가구에서는 생육이 현저히 억제되었으며, 초기 접종량의 3.04배 정도 증가되었다.

일반적으로 sucrose의 첨가가 소포자낭아강(leptosporangiate)에 속하는 식물의 전엽체 생육을 돕는다고 알려져 있으며(Fernandez와 Revilla, 2003), 고란초과의 일엽초(Lee, 2003)는 sucrose 3% 첨가구, 고비과의 음양고비(Lee 등, 1999)와 꿩고비(Shin과 Lee, 2003)는 2% 첨가구에서 생육이 왕성하였다. 한편, 단자엽 식물의 조직배양에 자주 이용되는 탄소원인 glucose(Paek 등, 2001b)의 농도를 달리하여 첨가한 MS배지에 고사리의 전엽체를 배양한 결과, sucrose를 첨가한 경우와 비슷하게 무첨가구에서 전엽체의 생육이 심하게 억제되었으며 1~4% 첨가구에서 7.79~8.77 g 정도로 전엽체의 증식이 왕성하였다(Fig. 3).

따라서 고사리 전엽체의 증식을 위해서는 탄소원이 반드시 필요하며, sucrose와 glucose에 관계없이 1% 이상 첨가하면 전엽체 증식을 촉진시킬 수 있다. 탄소원 별로는 sucrose 보다는 glucose가 고사리 전엽체의 생육 촉진에 유용한 것으로 나타났다.

고사리 전엽체 증식에 미치는 agar 농도의 영향

배지의 물리성이 전엽체의 증식에 미치는 영향을 조사하기 위하여 agar를 0~1.2%의 농도로 첨가한 MS배지에 고사리의 전엽체를 배양한 결과, agar 0.6% 첨가구에서 전엽체의 증식이 가장 왕성하였으나(8.3 g), 모든 처리구간

Table 2. Effect of stock solution concentrations on prothallus growth of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* cultured for 8 weeks on MS based medium except each stock solution designed for experiment

Concentration ^y	Stock ^z					
	1	2	3	4	5	6
× 1/4	7.53b ^x	6.12b	8.74a	5.79d	6.79c	7.94b
× 1/2	9.82a	8.43a	8.83a	6.99c	8.01b	8.08b
× 1	8.63ab	8.63a	8.63a	8.63b	8.63a	8.63a
× 2	9.16ab	8.82a	9.12a	11.51a	7.93b	8.84a

^zRefer to Table 1.

^yConcentration of the stock solutions refer to Table 1.

^xMean separation by Duncan's multiple range test at 5% level.

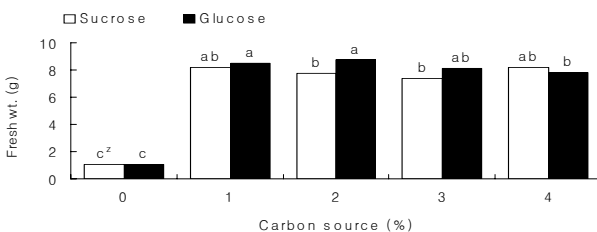


Fig. 3. Effect of carbon sources on prothallus growth of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* cultured for 8 weeks.

^zMean separation by Duncan's multiple range test at 5% level.

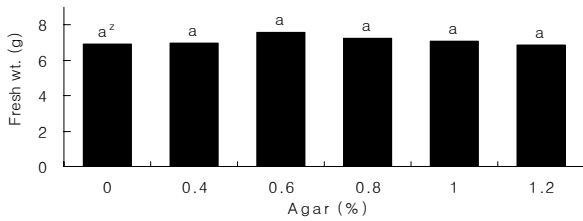


Fig. 4. Effect of agar concentration on prothallus growth of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* cultured for 8 weeks.
²Mean separation by Duncan's multiple range test at 5% level.

통계적 유의성은 없었다(Fig. 4).

연구의 결과, 고사리의 전엽체는 agar를 첨가하지 않은 액체배지에서 전엽체의 증식 및 생육이 양호하였다. 액체배지에서 전엽체를 배양하는 것은 배지를 만드는데 필요한 시간 및 재료를 절감할 수 있으며, 생산된 전엽체의 포자체 형성을 유도하기 위하여 기외로 이식할 때 agar 제거 등에 필요한 작업시간을 줄일 수 있는 장점이 있다. 일반적으로 전엽체를 액체배지에서 배양할 경우 전엽체가 유리화되는 등의 단점이 있는 것으로 알려져 있으나(Jeong과 Lee, 2006), 고사리의 전엽체는 액체배지에서도 증식 및 생육이 양호하였다. 따라서 차후 액체진탕배양 및 탱크 배양 등에 대한 구체적인 연구를 실시하여 전엽체의 증식율을 더욱 높일 수 있다면, 경제적인 대규모 전엽체 생산시스템의 개발이 가능하리라 생각되었다.

전엽체 접종량에 따른 배양기간 구명

액체배지를 진탕배양하여 전엽체를 배양하면서 100 또는 200 mg 첨가시 전엽체 생육의 증가속도를 관찰하였다. 100 mL의 배지에 100 mg의 전엽체를 곱게 다져 배양하였을 때는 배양 12일 이후에 전엽체 증식이 왕성하였으며, 빠르게 증식되던 전엽체는 20일에 4.75 g까지 증식되어 초기 접종량의 48배 가량 증가하였다. 그러나 20일 이후에는 생체중의 증가가 거의 이루어지지 않았으며, 건물중은 18일 이후 증식이 정체되었다(Fig. 5).

한편 200 mg 접종 처리구에서는 실험기간 동안 전엽체의 증식이 꾸준히 이루어졌으나, 20일 이후에는 증식속도가 완만해지는 경향을 보였다. 22일째에는 전엽체의 생체중이 5.06 g 까지 증가되었으며, 전엽체의 생체중은 100 mg 첨가구와 크게 다르지 않았다. 따라서 곱게 다진 고사리 전엽체 100과 200 mg 첨가구에서 동일기간 동안 증식

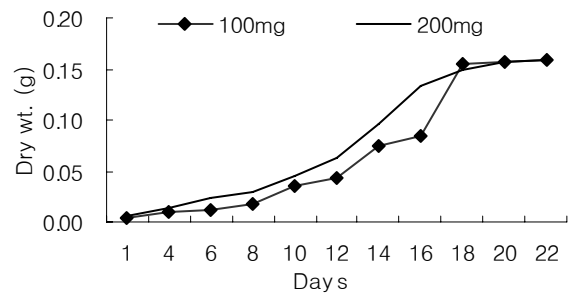
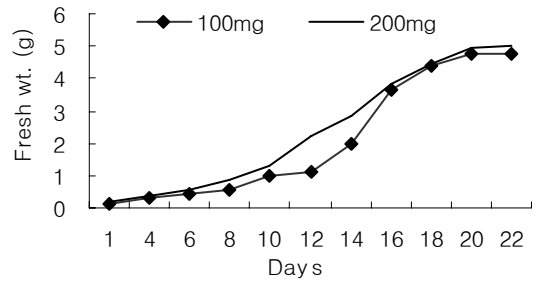


Fig. 5. Effect of inoculation densities on prothallus growth of *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* cultured for 22 days.

량이 비슷하며, 두 처리구 모두 20일 이후에는 증식이 정체되는 경향을 보였으므로 고사리의 전엽체는 100 mg을 첨가하여 20일 배양한 후, 계대배양 하는 것이 효과적일 것으로 사료되었다.

적 요

본 연구는 식용 양치식물인 고사리의 대량번식체계를 확립하기 위하여 기내에서 전엽체 증식에 미치는 배지종류, 당의 종류와 농도, agar 농도, 전엽체 접종량 및 배양기간의 영향을 구명하기 위하여 수행되었다. MS배지를 기본으로 하여 배지구성물질을 1/4~2배 첨가한 배지와 Hyponex를 0.1~0.4%에서 전엽체를 배양한 결과 2MS배지에서 전엽체의 생육이 가장 왕성하였으며, MS배지 구성물질들 중 인산염이 고사리 전엽체의 증식에 가장 영향이 큰 것으로 나타났다. 탄소원의 종류 및 농도별로는 sucrose와 glucose 공히 1% 이상을 첨가한 구에서 전엽체의 생육이 비슷한 경향을 보였다. Agar의 첨가량은 전엽체의 증식에 큰 영향을 미치지 않았으며, agar를 첨가하지 않은 액체배지에서도 전엽체 증식이 왕성하였다. 액체배지 100 mL에 전엽체를 각각 100과 200 mg 접종하여 22일 동안 진탕배양한 결과, 전엽체는 20일 이후에는 증가속도가 완만해지

는 경향을 보였으며, 초기 접종량이 20일 후 전엽체 증식에 큰 영향을 미치지 않으므로 100 mg을 곱게 다져 진탕배양 한 후, 20일 후 계대배양 하여 증식시키거나, 기외로 이식하여 포자체를 형성하는 것이 유리한 것으로 사료되었다.

사 사

본 연구는 산업자원부·한국산업기술평가원지원의 지역협력 연구센터인 충북대학교 생물건강산업개발연구센터의 지원에 의한 것입니다.

인용문헌

- Fernandez, H. and M.A. Revilla. 2003. In vitro culture of ornamental ferns. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 73:1-13.
- Jang, H.W., J.S. Song, J.S. Lee, and C.H. Lee. 2000. Masspropagation of Korean native Polypodiaceae species by tissue culture. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 18(2):248.(in Korean)
- Jeong, J.A. and C.H. Lee. 2006. Masspropagation of *Cyrtomium falcatum*(L.) Presl and *Cyrtomium caryotideum* var. *coreanum* Nakai by prothallus culture. *Flower Res. J.* 14:55-61.(in Korean)
- Kim, T.J. 1996. Korean Resources Plant V. Seoul Univ. Press. pp. 286-304.(in Korean)
- Lee, C.B. 1999. Illustrated Flora of Korea. Hyangmoonsa. Seoul.(in Korean)
- Lee, C.H. 2003. Effect of media components and composts on masspropagation of *Lepisorus thunbergianus*(Kaulf.) Ching. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 21(Suppl. 1):110.(in Korean)
- Lee, C.H. and Y.H. Jin. 1999. Several factors affecting masspropagation of *Aleuritopteris argentea* by spore culture. *Proc. Kor. J. Plant Res.* 12(Suppl. 1):42-43.(in Korean)
- Lee, C.H., Y.H. Jin, and H.W. Jang. 1999. Masspropagation of *Osmunda claytoniana* by spore culture in vitro. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 17(2):272.(in Korean)
- Lee, C.H. and J.T. Kim. 2003. Effect of media components and composts on masspropagation of *Pyrrosia tricuspidata*(Sw.) Tagawa. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 21(Suppl. 1):109.(in Korean)
- Lee, C.H. and S.H. Park. 2003. Effect of media components and composts on masspropagation of *Davallia mariesii* Moore by tissue culture. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 21(Suppl. 1):109.(in Korean)
- Lee, J.S. 2001. Several factors affecting sporophyte formation of three species in Pteridophyta. M.S. Thesis. Chungbuk Nat'l University.(in Korean)
- Lee, S.H. E.J. Hahn, and K.Y. Paek. 2008. Nitrogen source and sucrose concentration in the medium affect Indian ginseng(*Withania somnifera*) cultures in vitro. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 26:306-312.(in Korean)
- Park, M.K. 1975. Korean animals and plants pictorial book: Plant(Pteridophyta). Ministry of Education. pp. 1-549.(in Korean)
- Paek, K.Y., E.J. Hahn, and S.H. Son. 2001a. Application of bioreactors for large-scale micropropagation systems of plants. *In Vitro Cell Dev. Biol.* 37:284-292.
- Paek, K.Y., K.W. Kim, C.K. Kim, Y.G. Park, W.Y. Soh, S.H. Son, J.K. Sohn, G.B. Shim, Y.H. Ahn, J.S. Eune, Y.B. Lee, J.S. Lee, C.H. Lee, H.T. Lim, J.D. Chung, S.O. Jee, B.H. Han, E.J. Hahn, J.W. Heo, and B. Hwang. 2001b. The newest plant tissue culture-technique. Hyangmunsa, Seoul.(in Korean)
- Shin, S.L. 2007. Several factors affecting in vitro masspropagation of eight fern species. M.S. Thesis. Chungbuk Nat'l University.(in Korean)
- Shin, S.L. and C.H. Lee. 2003. Effect of media components and composts on masspropagation of *Osmunda cinnamomea* var. *fokiensis* Copel. by tissue culture. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 21(Suppl. 1):108.(in Korean)
- Yang, H.H., J. Jeong, H.H. Kim, and C.H. Lee. 2001. Effect of culture condition on mass propagation of *Crypsinus hastatus* by in vitro culture. *Kor. J. Plant Res.* 14(Suppl. 2):111-113.(in Korean)
- Yun, M.H., J. Jeong, H.H. Kim, and C.H. Lee. 2001. Mass propagation of *Pteris dispar* and *Phyllitis scolopendrium* by in vitro culture. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 19(Suppl. 1):133.(in Korean)
- Yoon, Y.J., H.N. Murthy, E.J. Hahn, and K.Y. Paek. 2007. Biomass production of *Anoectochilus formosanus* Hayata in a bioreactor system. *J. Plant Biol.* 50:573-576.
- Zhang, Y.H., J.J. Zhong, and J.T. Yu. 1996. Effect of nitrogen sources on cell growth and production of ginseng saponin and polysaccharide in suspension culture of *Panax notoginseng*. *Biotechnol. Prog.* 12:567-571.

(접수일 2009.2.27; 수락일 2009.7.17)