

삼보감(*Citrus sulcata* Hort. et Takahashi) 유식물체에서 유도된 캘러스의 체세포배 형성과 식물체 재분화

한 태 완 · 부 지 현 · 박 수 영 · 송 관 필 · 허 인 옥
제주대학교 자연과학대학 생물학과

Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in Callus Induced from Sambokam Young Plants

Tae-Wan Han, Ji-hyun Bu, Soo-Young Park, Gwan-Pil Song, In-Ok Heo

Abstract

This study was performed to investigate the culture condition, induction of somatic embryo and plant regeneration in callus induced from *Citrus sulcata* leaf and stem as a basic research for breeding of new plant. The seeds of Sambokam were germinated in hormone free MS medium under sterile condition. Callus induced from stem and leaf geminated young plant in MT supplemented with NAA plus BA and subcultured in MT supplemented with 5 mg/L 2,4-D and 1 mg/L BA. As a investigation of culture condition for callus proliferation, growth rate of callus were investigated in various medium and polyamine concentrations. The effect of medium was most effective in MT medium as 0.968g and polyamine was most effective in 0.01mM putrecine among various concentration. Formation of embryogenic callus induced from MT medium containing 0.1 mg/L and 0.5 mg/L BA. The geminated embryos developed to complete plantlet when cultured on MT medium supplemented with 0.1 mg/L NAA and 1mg/L BA.

KEY WORDS : Sambokam, Somatic embryogenesis, Plant regeneration

서 론
조직배양은 여러 조직으로부터 균일한 식물

체를 증식하는데 이용되어져왔다. 이런 식물
의 조직배양기술이 여러 분야에 응용되기 위
해서는 캘러스 유기 및 세포배양 등을 통한

재분화 기술, *in vitro*에서 배양된 잎 절편으로부터 직접 식물체를 재분화 시킬 수 있는 방법이 확립되어야 한다(Pierik and Van Leeuwen, 1989). 켈러스 배양을 통한 식물체 재분화에 대해서는 많은 보고가 있어왔으나 목본식물은 재분화율이 낮고 수종에 따라 재분화가 용이하지 않아 초본류에 비해 연구가 미비한 실정이다(Lee and Park, 1989). 그러나 초피나무의 기내증식으로 2,4-D, BA, ABA를 단독 또는 혼합 첨가시켰을 때 배발생 켈러스와 식물체 재분화율이 양호(Song et al., 1991)하다는 것과 노각나무 미숙배로부터 배발생 켈러스와 식물체 재분화(Choi et al., 1995), 교잡종 미류나무의 마디배양에서 BA와 Zeatin이 첨가된 배지에서 줄기가 대량으로 증식(Kang and Hall, 1996)되는 등의 식물생장조절제의 첨가에 의해 식물체 기내증식이 활발히 연구되고 있다. 또한 생장조절제의 첨가 외에도 목본류에 polyamine, 유기물첨가 등에 의해 식물체의 켈러스에서 식물체로 재분화되는 비율이 높아지고 있다. 이 중 polyamine은 식물의 분화와 발생과정에 관여하는 생장조절물질로서 잘 알려져 있으며(Evans and Malmberg, 1988), 식물의 기관분화에 관여하여 배발생(Feirer et al., 1984)을 비롯하여 화아유도(Kaur-Sawhney et al., 1988) 등에 관여하며 부정근 형성에도 관여하여 녹두의 하배측에서 부정근 형성(Friedman et al., 1985)을 촉진한다. 또한 담배의 줄기절간에서 뿌리분화를 촉진시키며(Torrigiani et al., 1993), 팔에서의 부정근 유기와 초기생장에 필수적(Jarvis et al., 1985)이라고 알려져 있다.

삼보감은 감귤속 식물로서 독특한 열매의 형태를 가지고 있는 상록활엽수로 수고가 4-5m 정도이고 수세는 강하지만 가지는 밑으

로 늘어지고 가지에는 가시가 있다. 개화기는 5월 15-20일경이며, 잎은 소엽이고 내한성, 내병성이 강하고 재배에 용이하며 과실이 잘 달린다. 종자는 40-50립 정도이고 과형은 구형이며 담황등색으로 부드럽다(양, 1994).

감귤류에 대한 연구로서는 Carrizo citrange의 기내증식(Kitto and Young, 1981), *Citrus*속의 체세포배 발생(Rangan, 1984), *Citrus*속의 미숙배주와 배발생 켈러스에서 식물체 분화(Gmitter and Moore, 1986), 네블오렌지와 온주밀감의 원형질 융합에 의한 체세포교잡(Kobayashi et al., 1988), endosperm 켈러스(Gmitter et al., 1990), 유자나무의 미숙배에서 부정배 발생(Song et al., 1991), 교잡종 Cohen의 발아된 유식물체에서 미세증식(Grosser and Chandler, 1993), 레몬의 화주로부터 체세포배 발생(Carmi et al., 1994), 체세포교잡을 통한 *Citrus*속 식물의 allotetraploid hybrid(Grosser et al., 1996) 등이 보고되고 있다.

따라서 본 연구는 삼보감에 있어 기내 체세포배 발생을 통한 다량증식을 도모하기 위해서 켈러스 증식 및 체세포배 발생, 배로부터 식물체 재분화에 미치는 배지, Polyamine 및 생장조절제의 효과를 구명하기 위해 실시하였다.

재료 및 방법

1) 삼보감 종자의 무균발아와 켈러스 유도

농업기술원 묘수원에 식재되어 있는 삼보감(품명:호라이강) 과실에서 채취한 종자를 무균발아시키기 위해 1% 차아염소산나트륨(NaOCl) 용액으로 30분간 세척하고 멸균 증

류수로 4-5회 세척하여 실험재료로 사용하였다. 실험에 사용된 배지는 호르몬이 첨가되지 않은 MS(Murashige and Skoog, 1962) 기본배지에 3% 설탕, 0.8% 한천을 첨가하였고, pH를 5.8로 조정하여 121°C의 고압증기멸균기에서 15분간 멸균하여 사용하였다. 배양조건은 26±2°C의 배양실에서 4,000 lx의 형광등하에서 광주기가 16/8 hr인 조건으로 배양하였다. 캘러스 유도는 발아된 유식물체의 엽과 줄기를 5 mg/L 2,4-D와 1 mg/L BA가 첨가된 MT(Murashige and Tucker, 1969) 기본배지에 배양조건은 26±2°C의 온도와 암상태하에서 배양하였다.

2) 배지별, polyamine농도별에 따른 캘러스 생장

유식물체에서 유도된 캘러스의 생장조건을 설정하기 위해 캘러스를 5 mg/L 2,4-D 와 1 mg/L BA가 첨가된 MT 배지에서 증식시켰으며 3주 간격으로 계대배양하였다. 배지별에 따른 생장량과 Polyamine(Spermine, Spermidine, Putrecine)이 첨가된 배지에서 생장량을 조사하였다. 배지별에 따른 캘러스 생장은 MS(Murashige and Skoog, 1962), MT(Murashige and Tucker, 1969), WPM(Liyod and McCown, 1981), White(White et al., 1963), 변형된 MT(Grosser et al., 1996)배지에서 각각 치상하여 배양하였고 생장조절제로서는 위의 증식용 배지농도와 같게 하였으며 4주 후에 생장량을 조사하였다. Polyamine 농도에 따른 생장량은 Spermine, Spermidine, Putrecine 농도(0 - 1mM)를 MT 배지에 각각 농도를 달리 첨가하여 측정하였다.

3) 배발생 캘러스와 체세포배 유도 및 식물체 분화

배발생 캘러스를 유도하기 위해 MT기본배지에 생장조절제로서 NAA, 2,4-D, BA(0, 0.1, 0.5, 1, 2, 5 mg/L)의 농도를 각각 단일 또는 혼용 첨가하여 배양하였다. 배양기간은 8주후로 배발생 캘러스와 비배발생 캘러스로 비교하여 조사하였다. 배발생 캘러스에서 체세포배를 유도하기 위해서 0.1 mg/L NAA 와 0.5, 1 mg/L BA가 첨가된 MT배지에서 배양하였다.

유도된 배발생캘러스를 식물체로 분화시키기 위해 2,4-D와 BA가 첨가된 MT배지에서 배양하였으며 체세포배가 성장해 식물체로 재분화되는 것을 관찰하였다.

결과 및 고찰

1) 삼보감 종자의 무균발아와 캘러스 유도

삼보감 종자를 무균발아시키기 위해 살균과정을 마치고 호르몬이 첨가되지 않은 MS배지에서 발아시켰다(Fig. 1-A). 삼보감 종자의 발아는 3주 후 재료로 사용할 수 있을만큼 성장하였다. 또한 삼보감 종자는 다른 *Citrus*속 식물의 다배엽성 식물이라는 것과 마찬가지로 한 개의 종자에서 여러개의 식물체가 발아되었다. 이것은 일반 노지의 식물체나 성숙한 식물체를 이용해 대량증식을 하는 것은 오염이 심할 뿐 만 아니라 유식물체를 얻기 위해서는 시간이 오래 걸린다는 단점이 있으나, 무균발아를 통한 유식물체 획득은 여러 가지 면에서 효과적인 것으로 생각된다.

발아된 유식물체에서 캘러스를 유도하기 위

해 엽과 줄기를 이용해 성장조절제를 첨가한 MT배지에서 배양하였다(Fig. 1-B, C). 그 중 성장조절제로 5 mg/L 2,4-D와 1 mg/L BA를 혼용처리했을 때 엽과 줄기에서 캘러스유기가 아주 양호하였다. 이는 오등(1991)이 유자의 신초정단에서 2,4-D, NAA, BAP를 단용처리 또는 저농도에서 캘러스 형성이 빨랐고 형성상태도 좋았다는 것과 사과 왜성대목의 신초정단배양에서 NAA와 kinetin을 혼용처리했을 때 캘러스 유기가 양호하다는 보고(Snir and

Erez, 1980)와 다른 결과를 보였으며, 참죽나무 줄기를 MS배지에 배양한 결과 2,4-D를 1.0 - 4.0 mg/L 첨가한 구에서 캘러스형성이 양호하였으며, NAA를 첨가한 구에서의 캘러스형성은 2,4-D를 첨가시킨 경우보다 저조하였다는 결과(Choi et al., 1986)와 비슷한 경향을 보였다. 또한 유도된 캘러스를 계대배양하기 위해서 캘러스 유기가 양호했던 5 mg/L 2,4-D와 1 mg/L BA를 첨가한 처리구에서 2 주 간격으로 암상태 하에서 계대배양하였다

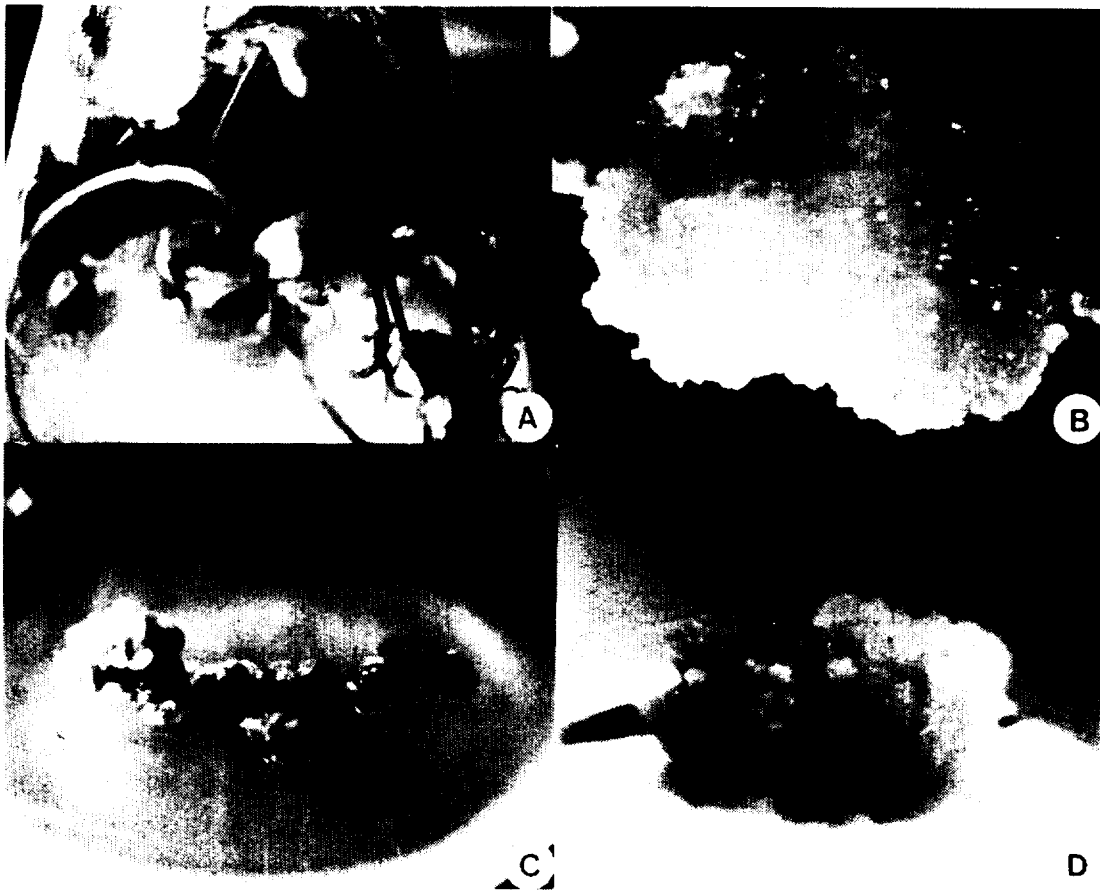


Fig. 1. Plants and callus of Sambokam. (A) young plant germinated from Sambokam seeds, (B, C) callus induced from Sambokam leaf and stem, (D) callus subcultured in MT medium Supplemented With 5 mg/L 2,4-D and 1 mg/L BA.

(Fig. 1-D). 계대배양한 결과 캘러스의 상태는 유백색을 띠며 friability한 캘러스를 유도할 수 있었다. 이러한 캘러스의 색깔은 오등(1991)이 성장조절제를 첨가하지 않을 때는 유백색, 2,4-D와 NAA를 첨가하였을 때 연녹색, BAP를 첨가한 처리구에서 담황색을 나타낸 것과는 다른 결과를 보였는데 이는 아마도 암조건하에서 배양한 결과였기 때문이라고 추측된다.

2) 배지별, polyamine농도별에 따른 캘러스 생장

유식물체에서 유도된 캘러스의 생장조건을 설정하기 위해 배지별에 따른 생장량과 Polyamine (Spermine, Spermidine, Putrecine)이 첨가된 배지에서 생장량을 조사하였다. 배지별에 따른 캘러스 생장은 MS, MT, WPM, White, 변형된 MT배지에서 각각 치상하여 배양하였고 Polyamine 농도에 따른 생장량은 Spermine, Spermidine, Putrecine 농도(0 - 1mM)를 MT 배지에 각각 농도를 달리 첨가하여 배양하였고 4 주후 생장량을 조사하였다.

배지별에 따른 삼보감 캘러스의 생장을 보면(Fig. 2), 유기물이 첨가된 변형된 MT 배지에서는 0.480g, MS 배지에서 0.721g, MT 배지에서는 0.968g으로서 가장 좋은 생장량을 보였다. 그리고 WPM과 White 배지에서는 각각 0.241g, 0.228g으로 저조한 생장을 보였다. 이는 지금까지의 *Citrus*속 식물이 배양 및 원형질체 배양을 통한 신품종 육성등에 주로 쓰이는 배지로서 MT배지가 양호한 것(Kitto and Young, 1981; Rangan, 1984; Gmitter and Moore, 1986; Kobayashi et al., 1988)과 본 실험과는 유사한 결과로서 삼보감 캘러스배양에

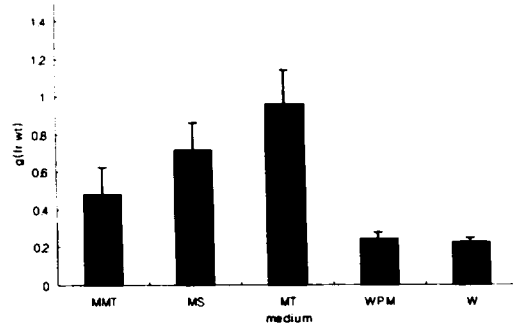


Fig. 2. Growth rate of Sambokam callus for various medium. MMT: modified Murashige & Tucker, MS: Murashige & Tucker, MT: Murashige & Tucker, WPM: Woody plant medium, W: White.

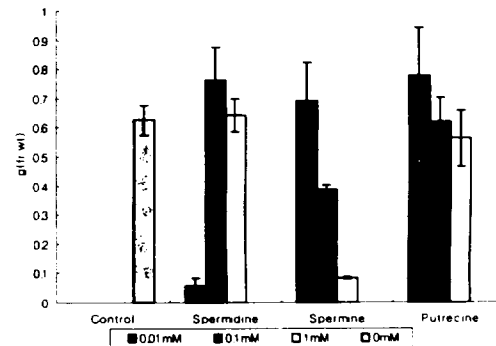


Fig. 3. Growth rate of Sambokam callus for various polyamine concentration.

서 적당한 배지선택은 MT배지가 양호함을 알 수 있었으나, Grosser 등(1996)은 유기물이 첨가된 MT배지에서 캘러스 계대배양 및 체세포배 발생에 효과적인 것과는 다른 결과를 보였다. 식물의 분화와 발생과정에 관여하는 성장조절물질로서 잘 알려져 있는 polyamine에 대한 효과로서 spermine, spermidine, putrecine의 농도별(0 - 1mM)에 따른 삼보감 캘러스의 생장을 보면(Fig. 3), polyamine이

첨가되지 않은 무처리구에서는 0.626g이었으며 spermidine 처리구에서는 저농도보다는 고농도로 갈수록 생장이 양호하였고 특히 0.1mM 농도 처리구에서는 0.764g으로 높은 생장율을 보였다. spermine 처리구에서는 spermidine과는 달리 고농도 보다는 저농도로 갈수록 생장이 양호하였는데 0.01mM 처리구에서 생장량이 0.692g을 보였다. putrecine 처리구에서는 spermine가 같은 양상을 보였으며 특히 putrecine 0.01mM 농도하에서 생장량이 0.780g으로 가장 높은 생장율을 보였다. 이는 polyamine이 식물의 기관분화에 관여하여 배 발생(Ferier et al., 1984)을 유도하며 식물의 분화와 발생과정에 관여한다는 것(Evans and Malmberg, 1988)에 반해 본 연구에서는 캘러스의 증식과정만 나타나는 것으로 보아 polyamine의 적정농도와 농도별에 따른 분화에 대해 연구가 필요하다고 사료된다.

3) 배발생 캘러스와 체세포배 유도

배발생 캘러스를 유도하기 위해 MT기본배지에 성장조절제로서 NAA, 2,4-D, BA(0, 0.1, 0.5, 1, 2, 5 mg/L)의 농도를 각각 단일 또는 혼용 첨가하여 배양하였다. 먼저 NAA, 2,4-D 농도를 0.1 mg/L로 고정하고 BA농도를 0-5 mg/L로 단일 또는 혼용처리하였을 때(Table 1) 캘러스 생장은 NAA 단일처리구에서는 유백색이거나 진한 녹색을 띠며 왕성하였으나(Fig 4-A), 혼용처리구에서는 연녹색과 표면이 울퉁불퉁하였고 생장이 미비하였다. 그러나 배발생 캘러스의 생성빈도는 단일처리구보다 혼용처리구에서 높은 빈도를 보였으며(Fig. 4-B) 0.1 mg/L NAA와 0.5, 1 mg/L 혼용처리구에서 60%의 결과를 보였고 BA 고농도 처

리구에서는 10-20%의 저조합을 나타냈다. 배 발생 캘러스에서 분화된 체세포는 0.1 mg/L NAA와 0.5, 1 mg/L BA 혼용처리구에서 20-30%로 나타났으나(Fig. 4-C), 그 이외의 처리구에서는 체세포 발생빈도가 전무하였다. 2,4-D와 BA를 단일, 혼용처리했을 때 캘러스 생장은 0.1 mg/L 2,4-D와 BA 저농도 처리구에서 양호하였으나 고농도로 갈수록 저조하였다. 배발생 캘러스의 빈도는 BA 무처리구와 저농도 처리구에서 20-60%로 나타났지만 BA 고농도로 갈수록 나타나지 않았다. 또한 2,4-D와 BA처리구에서의 체세포 발생은 전혀 나타나지 않았다. 발생된 체세포배는 0.1 mg/L NAA와 BA 1 mg/L가 혼용첨가된 MT배지에서 식물체로 재분화시킬 수 있었다(Fig. 4-D).

Table 1. Effects of plant growth regulator on the embryogenic callus and somatic embryo from sambokam callus

Plant growth regulator(mg/L)		Callus growth	Embryogenic callus(%)	Somatic embryo (%)
NAA 0.1	BA 0	+++	-	-
	0.1	+	40	-
	0.5	+	60	20
	1	+	60	30
	2	+	10	-
	5	+	20	-
2,4-D 0.1	BA 0	++	20	-
	0.1	++	20	-
	0.5	++	60	-
	1	++	40	-
	2	+	10	-
	5	+	-	-

degree: -: none, +: poor, ++: good, +++: very good

BA를 0.5 mg/L로 고정하고 NAA와 2,4-D의 농도를 달리하여 단일, 혼용처리한 결과

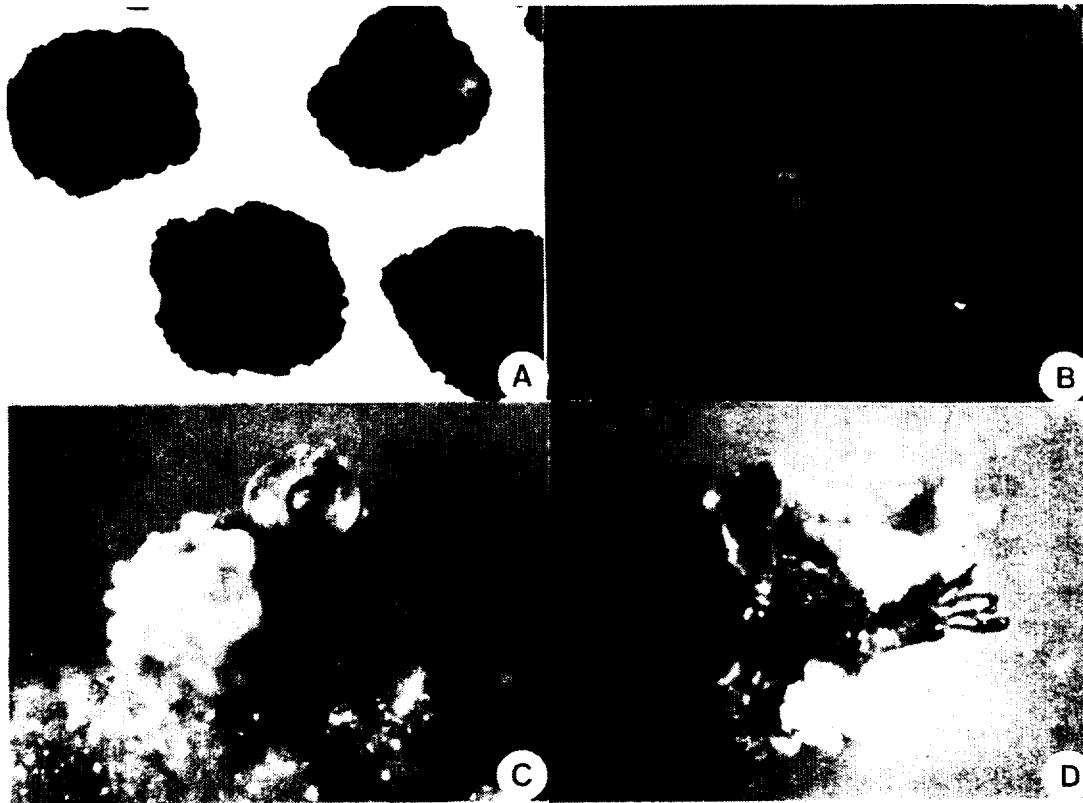


Fig. 4. Embryogenic callus, somatic embryo and plant regeneration induced from Sambokam callus. (A) non-embryogenic callus, (B) embryogenic callus, (C) somatic embryo (arrow), (D) plant regenerated from embryogenic callus

(Table 2), NAA처리구에서 캘러스 생장은 무처리구보다는 혼용구, 저농도보다는 고농도로 갈수록 양호하였으나 배발생 캘러스는 0.1, 0.5 mg/L NAA와 0.5 mg/L BA에서 20-40%만이 나타났고 그 이외의 처리구에서는 나타나지 않았다. 그리고 체세포배는 어느 처리구에서도 나타나지 않았다. BA 0.5 mg/L로 고정하고 2,4-D의 농도를 달리했을 때 캘러스 생장은 모든 처리구에서 일정한 경향을 보였다. 배발생 캘러스의 발생빈도는 2,4-D 저농도보다 고농도에서 20-60%의 결과를 보였고 특히 1 mg/L 2,4-D와 0.5 mg/L BA 처리구에서

60%로 높은 빈도를 보였으나 체세포배 발생은 위 농도 조건하에서 10%이고 다른처리구에서는 발생하지 않았다.

위의 결과를 종합해볼 때 NAA, 2,4-D를 단일농도, BA의 농도를 단일, 혼용처리했을때캘러스 성장정도는 2,4-D보다 NAA처리구에서 양호하였으며 배발생 캘러스의 발생은 2,4-D와 NAA처리구에서 나타났지만 NAA는 저농도, 2,4-D는 고농도로 처리했을 때 효과적이었다. 또한 BA 처리구에서 캘러스 성장은 고농도보다 저농도 처리구에서 양호하였으며 배발생 캘러스는 1 mg/L 이하의 농도가 효과적

Table 2. Effects of plant growth regulator on the embryogenic callus and somatic embryo from sambokam callus

Plant growth regulator(mg/L)	Callus growth	Embryo- genic callus(%)	Somatic embryo(%)
NAA 0	BA 0.5	-	-
0.1	0.5	++	20
0.5	0.5	++	40
1	0.5	+++	-
2	0.5	+++	-
5	0.5	+++	-
2.4-D	BA 0.5	++	-
0.1	0.5	++	-
0.5	0.5	++	50
1	0.5	++	60
2	0.5	++	30
5	0.5	++	20

degree: -: none, +: poor, ++: good, +++: very good

임을 알 수 있었다. 체세포발생은 2,4-D보다 NAA처리구에서, BA 저농도와 혼용처리했을 때 양호하였다. BA를 0.5 mg/L의 단일농도와 NAA와 2,4-D농도를 달리했을 때 캘러스 생장은 NAA의 농도가 고농도로 갈수록 양호하였으나 2,4-D는 농도에 관계없이 일정함을 보였다. 배발생 캘러스의 발생은 NAA 저농도에서 양호하였고 2,4-D 처리구에서는 높은 농도에서 발생빈도가 높았으나 체세포 배발생은 극히 저조하였다. 배발생 캘러스의 발생은 NAA처리구에서는 저농도의 BA를, 2,4-D처리구에는 고농도의 BA가 요구되어짐을 알 수 있었다. 또한 체세포배 발생은 2,4-D보다는 NAA처리구에서 나타남을 알 수 있었으나 결과는 저조하여 이 결과에 대해 성장조절제의 농도, 유기물첨가 등의 연구가 필요하리라 사료된다.

적 요

삼보감에 있어서 기내 체세포배 발생을 통한 다량증식을 도모하기 위해서 캘러스 증식 및 체세포배 발생, 배로부터 식물체 재분화에 미치는 배지 및 Polyamine, 성장조절제의 효과를 구명하기 위해 실시하였다.

삼보감 과실에서 채집된 종자를 호르몬이 첨가되지 않은 MS배지에서 무균발아시켰다. 발아된 유식물체의 줄기에서 캘러스를 유도하기 위해 NAA와 BA가 첨가된 MT 배지에서 배양하였고 5 mg/L 2,4-D와 1 mg/L BA가 첨가된 배지에서 제대배양하였다. 캘러스를 증식시키기 위한 배양조건 설정으로 배지별과 Polyamine(Spermidine, Spermine, Putrecine) 농도별(0 - 1mM)에 따른 성장량을 조사하였다. 배지별에 따른 성장율은 MT배지에서 0.968g(fr wt)으로 가장 높았고, Polyamine의 영향은 0.01 mM Putrecine 처리구에서 0.78g으로 가장 높게 나왔다.

배발생 캘러스는 0.1 mg/L NAA와 0.5 mg/L BA가 첨가된 MT배지에서 유도하였으며 유도된 체세포배를 식물체로 재분화시키기 위해서 0.1 mg/L NAA와 1mg/L BA가 첨가된 MT배지에서 배양하였다.

참 고 문 헌

Carimi, F., Pasquale F. D., Crescimanno F. G. 1994. Somatic embryogenesis from styles of lemon(*Citrus limon*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 37:209-211.
Choi, E. G., H. B. Park, K. S. Kim, Y. K. Lee. 1995. Plant regeneration from

- immature zygotic embryos of *Stewartia koreana* Nakai via somatic embryogenesis. Korean J. Plant tissue Culture. 22(2):77-81.
- Choi, Y. E., Yeo U. D., Soh W. Y. 1986. Somatic embryogenesis and platlet regeneration from stem-callus of *Cedrela sinensis* Juss. Korean J. Plant Tissue Culture. 13(1):61-70.
- Evans, P. T., Malmberg R. L. 1989. Do polyamines have roles in plant development? Ann Rev Plant Physiol. 40: 235-269.
- Feirer, R., Mignon G., Litavay J. 1984. Arginine decarboxylase and polyamine required for embryogenesis in the wild carrot. Science. 223:1433-1435.
- Friedman, R., Altman A., Bachrach U. 1985. Polyamines and root formation in mung bean hypocotyl cuttings. II. Incorporation of precursors into polyamines. Plant Physiol. 79:80-83.
- Gamborg, O. L. and Eveleigh, D. E. 1968. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. Can. J. Biochem. 46: 417-421.
- Gmitter, F. G., Jr., G. A. Moore. 1986. Plant regeneration from undeveloped ovules and embryogenic calli of *Citrus*: Embryo production, germination and plant survival. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 6:139-147.
- Gmitter, Jr. F. G., Ling X. B., Deng X. X. 1990. Induction of trifloid Citrus from endosperm calli in vitro. Theor Appl Genet. 80:785-790.
- Grosser, J. W., Chandler J. L. 1993. In vitro micropropagation of seedless 'Cohen' citrange. Proc. Fla. State Hort. Soc. 106:57-60.
- Grosser, J. W., Mourao-Fo F. A. A., Gmitter Jr. F. G., Louzada E. S., Jiang J., Baergen K., Quiros A., Cabasson C., Schell J. L., Chandler J. L. 1996. Allotetraploid hybrids between *Citrus* and seven related genera produced by somatic hybridization. Theor Appl Genet. 92:577-582.
- Jarvis, B. C., Yasmin S., Coleman M. T. 1985. RNA and protein metabolism during adventitious root formation in stem cutting of *Phaseolus aureus* cultivar berkin. Plant Physiol. 64:53-59.
- Kaur-Sawhney, R., Tiburcio A. F., Galston A. W. 1988. Spermidine and flower bud differentiation in thin layer explants of tobacco. Planta. 173:282-284.
- Kitto, S. L., Young M. J. 1981. *In vitro* propagation of Carrizo Citrange. HortScience 16(3):305-306
- Lee, S. G., Y. G. Park. 1989. Plant regeneration from cambium callus of *Ailanthus altissima* Swingle. J. Kor. For. Soc. 78:412-418.
- Liyod, G., McCown, B. H. 1981. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel(*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. Comb. Proc. Intl. Plant. Prop. Soc. 30:421-427.

- Murashige, T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant physiol.* 15:473-497.
- Murashige, T., Tuckr D. P. H. 1969. Growth factor requirements of *Citrus* tissue culture Proc. First Inter. Citrus Symp. 3:1155-1161.
- Oh, S. D., W. S. Song, J. S. Kim, E. H. Park. 1991. *In vitro* micropropagation Of Yooza I. plant regeneration from callus induced from shoot tip. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 32(1):87-96.
- Pierik, R. L. M., Van Leeuwen P, Rigter GCCM. 1979. Regeneration of explants of *Anthurium andreanum* L. *in vitro*. *Neth J. Agric. Sci.* 27:221-226.
- Rangan, T. S. 1984. Clonal propagation: Somatic embryo of *Citrus*. *Cell Cuture and Somatic Cell. Genetic of Plants.* 1: 68-72.
- Snir, I. and A. Erez. 1980. *In vitro* propagation of malling merton apple rootstock. *Hortscience.* 15:597-598.
- Song, W. S., Oh S. D., Park E. H. 1991. *In vitro* propagation of Yooza (*Citrus junos* Sieb. et Tanaka) II. Callus induction, somatic embryogenesis and plant regeneration from shoot tip and immature ovule. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 32(2): 206-215.
- Torrigiani, P., Altmura M. M., Scaramagli S., Capitani F., Falasca G., Bagni N. 1993. Regulation of rhizogenesis by polyamines in tobacco thin layers. *J. Plant Physiol.* 142:81-87.
- 양영환. 1994. 제주감귤도감. 대영출판사. p.142.