

## 백도라지 X 더덕의 미숙배주배양에 의한 식물체 재생

송원섭\* · 양승렬\* · 박충현\*\*

### Plant Regeneration from Immature Ovule of *Platycodon grandiflorum* x *Codonopsis lanceolata*

Won-Seob Song\*, Seung-Yul Yang\*, and Chung-Heon Park\*\*

**ABSTRACT :** Immature ovule of intergeneric F<sub>1</sub> hybrid between *Platycodon grandiflorum* x *Codonopsis lanceolata* for producing embryogenic callus, somatic embryos and plant regeneration were cultured *in vitro* on various medium as well as MT(Murashige Tucker)medium treated with different concentration of plant growth regulators. Embryogenic callus induction was highest in the treatment of NAA 0.5 mg /l and zeatin 0.01 mg /l added on MT medium, whereas it was lower in treatments with auxins alone. MT medium were more effective in production of somatic embryos from incubated embryogenic callus. Most favorable plant growth regulator for producing somatic embryos was 2, 4-D 0.5 mg /l and zeation, BAP 0.01mg /l, but hormone-free and auxins alone were less effective. NAA 0.01mg /l added with zeation 0.5 mg /l was effective as high as NAA 0.01 mg /l alone in normal plant regeneration from somatic embryo.

옛부터 도라지는 우리나라의 민요와 동요로 불리워질만큼 우리와 친숙한 식물이다. 그 뿌리는 약용 및 식용으로 이용되어 왔으며 꽃은 백색과 자색으로 청순한 느낌을 주어 화단용과 꽂꽂이용으로 이용되어 왔다. 특히, 말린뿌리는 길경이라 하여 거담, 해소, 기관지염, 화농, 편도, 인후염 등 한방약 제로도 널리 사용되고 있다. 더덕 역시 뿌리를 사삼이라 하여 약용으로 도라지와 거의 같은 용도로 쓰여왔으며, 식용으로도 그 가치가 인정되어 최근에는 건강 식품과 기호식품으로 수요가 날로 증가함에 따라 재배 면적도 확대되고 있다.

초롱꽃과에 속하는 다년생식물인 도라지와 더덕은 뿌리에 saponin을 함유하고 있는 등 유사성이

있어 이들을 교배하여 교잡종을 만든다면 보다 효용성이 높은 식용, 약용 및 화훼 작물로서의 새로운 가치를 개발할 수 있을 것이다.

그동안 기내배양 기술은 많은 발전을 하여 왔으며, 특히 교잡이 어려운 종속간교잡이나 자가불화 합성 식물에서의 자식종자 획득, 난세포의 처녀생식에 의한 반수체 식물을 얻는데 기내배양을 이용한 미숙배주배양 방법으로 우량 교잡식물체의 조기선발 및 대량증식 가능성이 제시되고 있으며, virus-free식물체를 생산해 내고 있다.

따라서, 도라지 중에 백색꽃을 피우는 백도라지에 더덕을 교배하여 그 미숙배주를 기내배양함으로써, 배발생 캘러스를 유기하고 배발생 캘러스의

\* 순천대학교 원예학과 (Dept. of Horticulture, Sunchon Natl. Univ., Sunchon 540-742, Korea)

\*\* 작물시험장 약용작물과 (Medinal Crop Division, Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100, Korea) <94. 1. 12 접수>

미분화세포에서 기내 부정배를 발생시켜 정상적인 식물체를 생산하여 교잡식물체의 선발 가능성을 조사하고자, 개량 MT배지에 식물생장조절물질의 종류와 첨가량을 각각 달리 하여 적합한 배양 조건을 구명하고자 본 실험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 배발생 캘러스 유기

개화 직전에 백도라지의 수술을 제거한 다음 더덕의 꽃가루를 백도라지 암술에 수분시킨 후 6~7주 된 미숙배주를 배양재료로 이용하였다.

수정된 자방을 채취하여 무균실에서 95%에 텔알콜을 적신 솜으로 자방의 표면에 묻어있는 먼지나 기타 오염물질을 닦아낸 후 알콜이 완전히 회발된 뒤에 자방을 새로로 2등분하여 미숙배주를 채취하였다.

배지의 조성은 8g/l의 agar와 30g/l의 sucrose를 첨가한 MT(Murashige and Tucker) 개량배지(표 1)에 hormone-free구, IAA, NAA 각각 0.1, 0.5, 1.0, 40 mg/l 단독첨가구, NAA 0.5 mg/l에 zeation과 BAP를 0.01, 0.1, 1.0 mg/l 혼합첨가한 구를 두었으며, pH를 5.7~5.8로 조절하여 120°C의 배양실에서 13분간 고압증기살균하였다.

배양조건은 형광등을 광원으로 1500~2000 Lux로 1일 16시간의 명주기로 24~26°C의 배양실에서 배양하였으며, 매 4주마다 새로운 배지에 계대 배양하면서 1주일 간격으로 배발생 캘러스 유기상태를 관찰, 조사하였다.

### 2. 배발생 캘러스부터 기내 부정배 발생

배발생 캘러스 유기에 가장 효과적이었던 2, 4-D 0.5 mg/l에 zeation과 BAP를 각각 0.01 mg/l 혼합첨가한 배지에서 유기된 담황색의 단단하고 광택이 나는 400~600mg의 배발생 캘러스를 분리 선별하여 hormone-free, NAA와 2, 4-D를 각각 0.01, 0.5, 1.0 mg/l 단독첨가, 또한 단독첨가시 배발생 캘러스로부터 체세포배 발생이 가장 양호하였던 2, 4-D 0.5 mg/l에 zeation과 BAP를 각각 0.01, 1.0 mg/l 혼합첨가한 MT 배지에 계대배

양하였다. 배양조건은 배발생 캘러스유기 때와 같으며 1주일 간격으로 배발생 캘러스로부터 기내 부정배 발생율과 발생상태를 조사하였다.

### 3. 기내 부정배로부터 식물체 분화

배발생 캘러스로부터 유기된 구형, 심장형, 어뢰형의 기내 부정배를 무균실의 해부현미경 하에서 분리, 선별하여 hormone-free, 2, 4-D와 NAA를 각각 0.01, 0.5, 1.0 mg/l 단독첨가, 또한 단독첨가시 체세포배로부터 식물체 분화가 가장 양호하였던 NAA 0.01 mg/l에 zeation과 BAP를 각각 0.01, 0.5, 1.0 mg/l 혼합첨가한 M배지에 치상하였고, 배발생 캘러스유기에서과 같은 배양조건으로 배양하면서, 1주일 간격으로 기내 부정배로부터 식물분화율을 조사하고 분화상태를 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 배발생 캘러스 유기

백도라지 x 더덕의 교잡 후 7~8주된 미숙배주를 auxin 단독첨가 및 NAA와 cytokinin을 혼합첨가한 MT배지에 치상하여 배발생 캘러스 유기율을

Table 1. Modified Murashige and Tucker's medium.

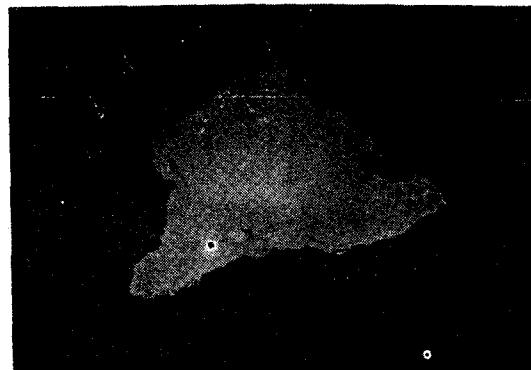
	Elements	Conc. (mg/l)
Macro	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
	KNO <sub>3</sub>	1900
	CaCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	440
	MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	370
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
	Na <sub>2</sub> EDTA	37.3
	FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	27.8
	MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	22.3
	ZNSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	8.6
	H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub>	6.2
Micro	KI	0.83
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.25
	CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0.025
	CoCl <sub>6</sub> H <sub>2</sub> O	0.025
	Thiamine-HCl	15.0
Vitamins	Nicotinic acid	10.0
	Pyridoxine-HCl	15.0
	Iso-inositol	100
Other	Glycine	4.0

조사한 결과(표 2), hormone-free 구에서는 배양 12주까지 전혀 배발생 캘러스가 유기되지 않았으며, auxin 단독처리구 가운데 IAA 0.01~4.0 mg /l 처리구에서는 배양 4주까지 배발생 캘러스가 유기되지 않았고, 배양 12주까지 30~48% 정도의 저조한 배발생 캘러스 유기율을 보였으며, NAA 0.01~4.0 mg /l 처리구에서는 0.5 mg /l 첨가구가 배양 4주에 15%, 12주에 58%의 양호한 배발생 캘러스 유기율을 보였고, 다른 첨가구에서는 배양 4주에는 형성되지 않았으며, 12주에도 27~50%의 저조한 배발생 캘러스 유기율을 보였다.

Auxin과 cytokinin의 혼합처리가 배발생 캘러스 유기에 효과적이라는 보고가 있어 본 실험에서도 auxin 단독첨가구에서 배발생 유기가 가장 양호하였던 NAA 0.5 mg /l에 zeatin과 BAP를 혼합첨가한 결과, zeatin 0.01mg /l의 처리구에서 각각 배양 4주에 14%와 20%, 12주에 65%와 75%의 매우 양호한 유기율을 보였고(사진 1), BAP 0.01과 0.1mg /l 혼합처리구에서 각각 배양 4주에 10%와 17%, 12주에 59%와 65%의 역시 양호한

Table 2. Effect of plant growth regulators supplemented into Murashige and Tucker's medium on embryogenic callus induction from immature ovule in *Platycodon grandiflorum* x *Codonopsis lanceolata*.

Plant growth regulators	Conc. (mg /l)	% of embryogenic callus induction 4 weeks	12 weeks
Hormone-free		0	0
IAA	0.01	0	37.0
	0.5	0	41.5
	1.0	0	47.8
	4.0	0	30.4
NAA	0.01	0	41.5
	0.5	14.7	58.2
	1.0	0	50.0
	4.0	0	27.4
NAA 0.5+zeatin	0.01	14.0	61.7
	0.5	20.0	74.5
	1.0	0	40.0
NAA 0.5+BAP	0.01	10.0	59.4
	0.5	16.5	64.9
	1.0	0	43.1



Pho. 1. Embryogenic callus formation from immature ovule cultured for 10 weeks on Murashige and Tucker's medium supplemented 0.5 mg /l NAA and 0.1 mg /l zeatin.

#### 배발생 캘러스 유기율을 보였다.

이상의 결과로 볼 때, 미숙배주로부터 배발생 캘러스를 유기시키는데는 auxin 단독처리보다는 auxin에 cytokinin을 혼합처리하는 것이 보다 효과적이었으며, NAA 0.5mg /l에 zeatin 0.1mg /l 을 혼합처리한 구에서 가장 높은 배발생 캘러스 유기율을 보였다. 배발생 캘러스는 배양 4주경부터 일반 캘러스보다 연한 황색을 띠면서 광택이 나며, 난단한 느낌을 주는 듯한 등근 모양으로 유기되기 시작하여 계속 성장해감에 따라 구형의 배로 착작 할 정도로 일반 캘러스로부터 분리되기도 하였다. 이러한 배발생 캘러스는 조직학적으로 새포배열을 관찰해보아야만 정확히 판정할 수 있었으나, 이들 캘러스로부터 부정배가 발생되었기 때문에 배발생 캘러스로 판단하였다.

宋 등<sup>17)</sup>은 초피나무의 잎과 신초정단 배양에서 2, 4-D 1.0 mg /l 첨가구가 배발생캘러스의 유기율이 좋았다고 하였고, 金 등<sup>8)</sup>은 ranunculus의 하배 축과 자엽조직 배양에서 2, 4-D 1.0 mg /l에 BAP 3.0 mg /l를 혼합첨가시 배발생 캘러스의 유기가 가장 양호하였다고 하였고 성등<sup>20)</sup>도 용담의 엽육 조직 배양시 2, 4-D에 BA를 혼합첨가 하였을 때 캘러스가 유기되었으며, 커피나무의 엽조직 배양에서도 2, 4-D에 BAP를 혼합첨가한 구에서 배발생 캘러스의 유기가 양호하였다<sup>14)</sup>는 보고들과 본

실험의 결과는 auxin 단독 혹은 auxin에 cytokinin을 혼합첨가하였을 때 배발생캘러스의 유기가 좋았다는 점에서 일치되었으며, 김귤류 미성숙 배주의 기내배 발생실험에서 IAA와 kinetin을 각각 1.0 mg /l 혼합첨가하였을 때 배발생 캘러스 유기가 좋았으며<sup>9)</sup>, 김귤류의 약배양에서 2, 4-D와 BA를 혼합첨가하였을 때 배발생성 체세포로부터 배발생 캘러스 유기가 양호하였다<sup>2)</sup>는 보고와도 비슷한 경향을 나타냈다. 또한 유자의 수분 후 4~5주된 미숙배주를 배양하였을 때 2, 4-D 저농도 첨가구에서 배발생 캘러스 유기가 양호하였다<sup>15)</sup>는 보고와도 비슷한 결과를 보였다. Radojevix<sup>12)</sup>은 *Pandonia tomantosa*의 기내배발생에서 2, 4-D, IAA, NAA를 각각 0.1 mg /l 첨가하였을 때, IAA, NAA 첨가구가 2, 4-D 첨가구보다 배발생캘러스 유기율이 좋았다고 하였고, Ho와 Vasil<sup>7)</sup>은 사탕수수의 자엽배양에서 2, 4-D 0.5~3.0 mg /l를 첨가시 여러가지 배발생 캘러스를 유기시켰다는 보고들을 볼 때 식물의 종류와 배양부위에 따라 배발생캘러스 유기에 영향을 미치는 식물생장조정물질의 종류와 첨가량도 다를 것으로 추정된다.

## 2. 배발생 캘러스로부터 기내 부정배 발생

위에서 얻어진 400~600 mg의 양호한 배발생캘러스를 분리, 선별하여 각종 식물생장조절물질이 첨가된 MT배지에 치상하여, 기내 부정배 발생율을 조사한 결과 (표 3), hormone-free 구에서는 배양 4주까지 전혀 체세포배가 발생되지 않았으며, 8주까지도 30%미만의 아주 저조한 발생율을 보였다. Auxin 단독 첨가구는, NAA 0.01~1.0 mg /l 첨가구에서 배양 4주까지 체세포배가 발생되지 않았고, 8주까지도 35~44%로 저조한 반응을 보였다. 2, 4-D 0.01~1.0 mg /l 첨가구에서는 0.01 mg /l 첨가구가 배양 4주에 7%, 8주에 43%의 기내 부정배 발생율을 보였으며, 0.5 mg /l 첨가구에서는 4주까지는 발생되지 않았지만 8주까지는 50%의 양호한 결과를 보였고, 1.0 mg /l 첨가구에서는 4주까지 발생되지 않았으며, 8주까지도 39%의 낮은 기내 부정배 발생율을 보였다.

따라서, auxin 단독 첨가구에서 체세포배 발생이 비교적 양호한 결과를 나타낸 2, 4-D 0.5 mg /l

Table 3. Effect of plant growth regulators supplemented into Murashige and Tucker's medium on somatic embryo formation from embryogenic callus in *Platycodon grandiflorum* x *Codonopsis lanceolata*.

Plant growth regulators	Conc. (mg /l)	% of somatic embryo formation	
		4 weeks	8 weeks
Hormone-free	0	27.8	
NAA	0.01	0	43.7
	0.5	0	40.0
	1.0	0	35.1
	2.4-D	7.0	43.0
2, 4-D	0.01	0	50.0
	0.5	0	38.7
	1.0	0	38.7
	2, 4-D 0.5+zeatin	13.4	63.4
2, 4-D 0.5+BAP	0.1	10.0	51.2
	1.0	0	38.7
	0.01	11.3	60.0
	0.1	9.5	51.2
	1.0	0	41.5

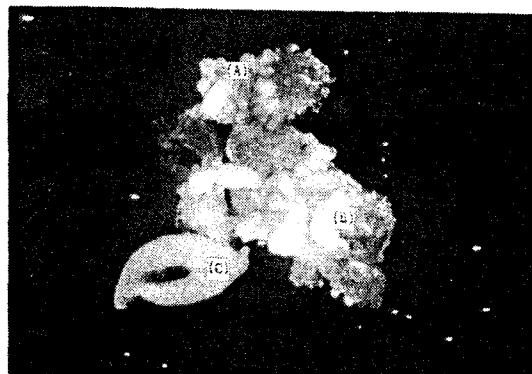
에 cytokinin을 혼합처리한 결과, zeatin 0.01~1.0 mg /l를 혼합첨가한 구에서는 zeatin 0.01과 0.1 mg /l의 혼합 첨가시 각각 배양 4주에 13%와 10%, 8주에 63%와 51%의 양호한 결과를 보였으며 2, 4-D 0.5 mg /l에 BAP 0.01~1.0 mg /l 혼합 첨가한 구에서도 BAP 0.01 mg /l와 0.1 mg /l의 혼합 첨가구에서 각각 배양 4주에 11%와 10%, 8주에 60%와 51%로 역시 양호한 기내 부정배 발생율을 보였다.

결과적으로 2, 4-D 0.5 mg /l에 zeatin과 BAP를 각각 0.01 mg /l 혼합첨가한 구에서 가장 좋은 기내 부정배 발생율을 보인 것으로 보아, 배발생캘러스로부터 기내 부정배를 발생시키는데는 auxin 단독처리보다는 auxin에 cytokinin을 저농도 혼합첨가시키는 것이 효과적임을 알 수 있었다.

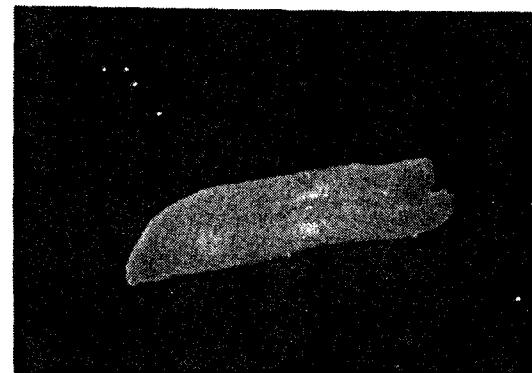
기내 부정배 유기상태는 구형(globular)으로 발생되어 심장(heart) 형으로 발달되고 말기에는 어뢰(torpedo)형으로 진행되는 것이 일반적인 발달과정이었으나(사진 2), 간혹 초기부터 구형과 심장형의 중간형태가 발생되거나, 구형에서 짧은 심장형을 거치면서 어뢰형(사진 3)으로 진행되는 등 이상 발달과정과 어뢰형 중에서도 한 개가 독립적

으로 형성되는 것, 두 개가 합쳐진 것, 다수가 총생한 것, 또한 자엽부분이 갈라진 것과 갈라지지 않은 것 등 비정상적인 여러 형태의 기내 부정배가 관찰되었다.

Zee와 We<sup>23</sup>는 샐러리의 엽병 배양에서 2, 4-D 0.5mg /l 첨가구에서 구상형의 배를 얻을 수 있었고, 여기에 kinetin 0.6mg /l을 첨가시킨 구에서는 여러 형태의 배들이 발생되었다고 하였으며, Wang 등<sup>22</sup>은 딸기의 미숙 접합자배를 2, 4-D 0.5mg /l와 BAP 0.5mg /l를 혼합 첨가한 구에 배양하였을 때



Pho. 2. Globular(A), heart(B), torpedo(C) embryo formation from embryogenic callus cultured for 8 weeks on Murashige and Tucker's medium supplemented 0.5 mg /l 2, 4-D and 0.01 mg /l zeatin.



Pho. 3. Torpedo embryo formation from embryogenic callus cultured for 8 weeks on Murashige and Tucker's medium supplemented 0.5 mg /l 2, 4-D and 0.01 mg /l zeatin.

배발생이 양호하였다고 하였다. 또한 Heirwegh 등<sup>6</sup>은 *Cichorium intybus*의 직근을, Chen 등<sup>21</sup>은 *Oryza sativa* 화뢰를 Pal 등<sup>11</sup>은 *Leucosceptrum canum*의 배양에서 기내배 발생시 auxin 과 BAP 를 저농도 혼합첨가하는 것이 대단히 효과적이라 하였다.

### 3. 기내 부정배부터 식물체분화

기내 부정배 가운데서 심장형을 지나 어뢰형 과정에 있는 기내 부정배들을 각종 식물생장조정 물질이 첨가된 MT배지에 계대배양하여 8주째에 식물체 분화율을 조사한 결과 (표 4), hormon-free 구에서는 식물체분화율은 저조하였으나 정상적인 식물체가 분화되어 생육하는 것을 관찰할 수 있었다.

Auxin 단독첨가구 가운데, 2, 4-D 0.01 mg /l 첨가구에서는 전반적으로 30% 미만의 저조한 정상 식물체 분화율을 보였고, NAA 0.01-1.0mg /l 첨가구 역시 18~35%의 저조한 정상 식물체 분화율을 보였는데, 처리농도가 높을수록 더욱 낮은 반응을 보였으며 비정상적인 식물체 분화율은 증가

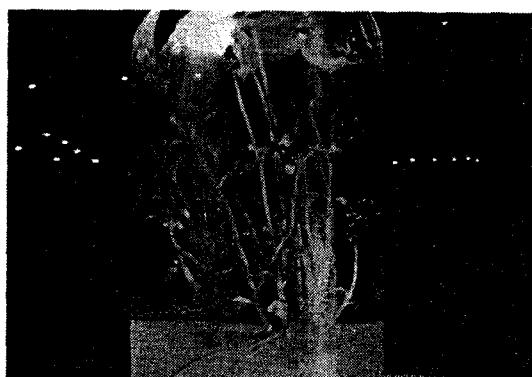
Table 4. Effect of plant growth regulators supplemented into Murashige and Tucker's medium on plant regeneration from somatic embryo cultured for 8 weeks in *Platycodon grandiflorum* x *Codonopsis lanceolata*.

Plant growth regulators	Conc. (mg /l)	Plant regeneration(%)		Decline of embryo(%)
		Normal	Abnormal	
Hormone-free		28.6	18.0	53.4
2, 4-D	0.01	21.4	46.4	32.2
	0.5	29.5	40.0	30.5
	1.0	20.0	51.5	28.5
NAA	0.01	34.7	46.0	19.3
	0.5	30.0	56.0	14.0
	1.0	18.4	67.3	14.3
NAA 0.01 +zeatin	0.01	46.0	33.6	20.4
	0.5	58.3	27.3	14.4
NAA 0.01 +BAP	1.0	34.6	46.0	19.4
	0.01	46.5	40.0	13.5
	0.5	50.0	31.3	18.7
	1.0	34.0	47.8	18.2

하였다.

Auxin과 cytokinin 혼합처리구로서 NAA 0.5 mg / l에 zeatin 0.01~1.0 mg / l 첨가구에서 각각 46%와 58%로 식물체 분화가 양호하였고, NAA 0.5 mg / l에 BAP 0.01~1.0 mg / l 혼합처리한 구에서도 BAP 0.01과 0.5 mg / l 첨가구가 각각 47%와 50%의 양호한 정상 식물체 분화율을 보였다(사진 4).

이상의 결과로 볼 때 기내 부정배로부터 정상식물체를 분화시키는데는 auxin과 cytokinin을 혼합첨가하는 것이 효과적이며, 특히 NAA 0.5 mg / l에 zeatin 0.5 mg / l를 혼합첨가하였을 때 가장 양호한 정상적인 식물체 분화율을 나타내었다. Guerra와 Handro<sup>4)</sup>는 *Euterpe edulis*의 배를 배양한 결과, 식물생장조절물질 무첨가구나 저농도 auxin 첨가구에서 정상적 식물체를 분화시켰다고 하였으며, Finer<sup>5)</sup>는 목화의 캘러스를 혼탁배양한 결과, auxin이 없는 배지에서 식물체분화가 가장 양호하였다고 하였고, *eucalyptus citriodora*의 장기간 배양에서 식물생장조정물질 무첨가구에서 식물체분화가 양호하였다<sup>10)</sup>는 보고가 있으며 또한 채등<sup>21)</sup>은 지향의 잎조직배양에서 체세포배에서 식물체분화는 식물생장조정물질이 첨가되지 않은 1/2 LS기본배지에서 가장 잘 되었다고 보고하였으며, 희향의 줄기, 잎절편배양에서도 기내 부정배로부터 식물체 분화는 hormone-free구에서 정상적인



Pho. 4. Normal plant regeneration from torpedo embryo cultured for 13 weeks on Murashige and Tucker's medium supplemented 0.01 mg / l NAA and 0.5 mg / l zeatin.

식물체 분화가 양호하였다고 하였다<sup>16)</sup>. 이러한 연구결과들은 본 연구와 상이한 경향을 나타냈지만, Acedo<sup>11)</sup>는 기내배에서 정상적인 식물체를 분화시키는데 auxin과 cytokinin의 혼합 처리시 효과적이라고 하였으며, *Citrus*의 주심과 미숙배 배양에서 BAP 0.5 mg / l에 IBA 0.5 mg / l를 혼합첨가시킨 배지에서 식물체 분화가 양호 하였다<sup>13)</sup>고 한 보고들은 본 연구와 같은 경향을 타내었다. 기내부정배를 발생시켜 정상 식물체를 분화시키는 연구는 배양 대상식물의 종류, 식물체의 부위 및 배양조건에 따라 그 반응이 달리 나타나며<sup>5,16,19)</sup>. 또한 같은 크기의 기내 부정배를 일시에 다량으로 얻는 일 뿐만 아니라 그 배들로부터 정상적인 식물체를 균일하게 생육시키는 일 역시 매우 어렵기 때문에 가장 적합한 배양조건구명에 관한 많은 연구가 앞으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

## 적  요

백도라지(*Platycodon grandiflorum*) x 더덕(*Codonopsis lanceolata*)의 교잡 미숙배주를 각종 auxin과 cytokinin이 첨가된 개량 MT 배지에 배양하여 배발생 캘러스 유기와 기내 부정배 발생, 식물체 분화율을 조사하였던 바, 미숙배주로부터 배발생 캘러스 유기율은 식물생장조정물질 무첨가구에서는 캘러스가 전혀 유기되지 않았으며, IAA 첨가구에서는 저조한 유기율을 나타내었고, NAA 첨가구에서는 0.5, 1.0 mg / l 첨가구에서 양호한 결과를 보였으며, 특히 auxin과 cytokinin 혼합처리구로서 NAA 0.5 mg / l에 zeatin 0.01, 0.1 mg / l를 혼합한 구와 BAP 0.1 mg / l를 혼합한 구에서 가장 좋은 결과를 나타냈다. 배발생 캘러스로부터 기내 부정배 발생율은 식물생장조정물질 무첨가구나 auxin 단독첨가구에서는 비교적 낮았지만, 2, 4-D 0.5 mg / l에 zeatin이나 BAP를 0.01mg / l 혼합첨가구에서 가장 효과적이었다.

기내 부정배로부터 식물체 분화율은 식물생장조정물질 무첨가구에서는 분화율은 저조하였으나 정상적인 식물체 분화가 관찰되었으며, auxin 단독첨가구에서는 정상식물체 분화율이 저조하였고, auxin에 cytokinin을 혼합첨가하였 때 효과가 좋

았으며, 특히 NAA 0.01 mg/l에 zeatin 0.5 mg/l를 혼합처리한 구에서 정상적인 식물체 분화율이 가장 좋았다.

## 인용 문헌

1. Acedo, G. N. 1986. Regeneration of *Arabidopsis* callus *in vitro*. *Plant Cell. Tissue, Cult.* 6:109~114
2. Chen, T. H., L. Lam and S. C. Chen. 1985. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cultured young inflorescences of *Oryza sativa* L. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 4:51~54
3. Finer, J. J. 1988. Plant regeneration from somatic embryogenesis suspension cultures of cotton(*Gossypium hirsutum* L.). *Plant Cell Tissue Rep.* 7:399~402
4. Guerra, M. P. and W. Handro. 1988. Somatic embryoenesis in plant regeneration in embryo cultures of *Euterpe edulis* Mart (Palmae). *Plant Cell Rep.* 7:550~552
5. 한창열. 1987. 식물의 기내배 발생과 기내배의 육종에의 이용. *식물조절배양학회지* 제14권 보유호:248
6. Heiwegh, K. M. G., N. Banerjee, K. van Nerum, and E. Langhe. 1985. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Cichorium intybus*(witloof, Compositae). *Plant Cell Rep.* 4:108~111
7. Ho, W. J. and I. K. Vasil. 1983. Somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum officirum*)1. Morphology of callus formation and the ontogeny of somatic embryo. *Protoplasma* 118:169~180
8. 김영선, 박인현, 유성오, 은중선, 송원섭. 1991. *Ranunculus* (*Ranunculus asiaticus* L.)의 기내증식. 1. Embryogenetic callus 유기와 체세포배 발생. *한국원예학회지* 32(3) :401~410
9. Moore, G. A. 1985. Factors affecting *in vitro* embryogenesis from undeveloped ovule of mature Citrus fruit. *J. Amer. Sci.* 110(1):66~70
10. Muralidhauan, E. M., P. K. Gupta, and A. F. Mascarenhas. 1989. Plantlet production through high frequency somatic embryogenesis in long term cultures of *Eucalyptus citriodora*. *Plant Cell Rep.* 8:41~43
11. Pal, A., A. Barnerjee, and K. Dhar. 1985. *In vitro* organogenesis and somatic embryogenesis from leaf explants of *Leucosceptrum canum* Sm. *Plant Cell Rep.* 4:281~284
12. Radojebic, L. 1979. Somatic embryo and plantlets from callus culture of *Panlownia tomentosa* Steud. z. *Pflanzenphysiol. Bd.* 91(S):57~62
13. Sabharwal, P. S. 1963. *In vitro* culture of mucelli and embryos of *Citrus aurantifolia* Swingle. P. 239~243. In:P. Mashewari (ed.) *Plant embryology* CSIR, New Dehli, India.
14. Sondahi, M. R. and W. R. Sharp. 1977. High frequency induction of somatic embryos in cultured leaf explant of *Coffea arabica* L. Z. *Pflanzenphysiol. Bd.* 81: 395~408
15. 송원섭. 1989. 유자의 기내 부정배 발생에 관한 연구. 원광대학교 대학원 박사학위논문:57
16. 송원섭, 오성도, 김진수. 1991. 유자나무(*Citrus jumos* Sieb. et Tanaka)의 기내증식에 관한 연구. II. 신초정단과 미숙배주에서 유기된 callus로부터 기내부정배 발생과 식물체 재분화. *한국원예학회지* 32(2):206~215
17. 송원섭, 오성도, 박인협, 유성오. 1991. 초피나무(*Zauthoxylum piperitum* DC.)의 기내증식. 1. 기내부정배발생과 식물체재분화. *한국식물조직배양학회지* 18(1):17~25
18. 송원섭, 오성도, 조현모. 1991. 회향(*Foeniculum vulgare* GAERTNER)의 줄기, 잎 절편으로부터 기내부정배 발생 및 식물체 재분화에

- 관한 연구. 3. 식물생장조절물질의 첨가가 기내부정배의 식물체 재분화에 미치는 영향. 농사시험논문집(생명공학편) 33(1):60~65
19. 송원섭, 오성도, 조현모. 1991. 당유나무(*Citrus grandis* Osbeck)의 기내부정배 발생을 통한 식물체 재분화 1. Embryogenic callus 유기 및 기내부정배 발생에 미치는 식물생장조절물질의 영향. 농사시험연구논문집(생명공학편) 33(2):14~21
20. 성나슬, 박충현, 이승택, 김성민. 1993. 용담(*Centiana scabara* Bunge.)의 葉肉 및 줄기배양에 의한 식물체 재분화와 增殖. 한국약용작물학회지 1(2):129~136
21. 채영암, 박상언. 1993. 지황의 캘러스 유도와 혼탁배양에서 체세포배 발생. 한국약용작물학회지 1(2):184~190
22. Wang, D., W. P. and R. H. Zimmerman. 1984. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of strawberry. HortScience 19(1):71~72
23. Zee, S. Y. and S. C. Wu. 1979. Embryogenesis in the petiole explants of Chinese celery. Pflanzenphysiol. Bd. 93(s) :325~335.