

유색칼라(*Zantedeschia* spp. Southern Light) 미숙배 배양에 의한 다량증식

고정애^{1)*} · 최소라²⁾ · 김현순³⁾

전북대학교 농과대학 생물자원과학부¹⁾ · 전북농업기술원²⁾ · 호남농업시험장³⁾

Mass Production of Calla Lily(*Zantedeschia* spp. Southern Light) by the Immature Zygotic Embryo Culture

Jeong Ae Ko^{1)*}, So Ra Choi²⁾ and Hyun Soon Kim³⁾

¹⁾Horticultural Science Major, Faculty of Biological Resources Science,
College of Agriculture, Chonbuk National University, Chonju 561-756;

²⁾Dept of Horticulture, Chonbuk Provincial ARES, Iksan 570-140; and

³⁾National Honam Agri. Exp. Station RDA, Iksan 570-080

ABSTRACT

In order to investigate the effects of developmental stage of embryos and plant growth regulators on mass production of *Zantedeschia* spp. Southern Light, immature zygotic embryos of *Zantedeschia* spp. Southern Light were cultured on Murashige and Skoog(1962) basal media or containing 2,4-D, NAA and BA. Globular embryos did not grow on any of the 2,4-D, NAA and BA combinations. The most suitable stage of immature zygotic embryo culture on the induction callus and multiple shoot was at early cotyledonary embryo stage, and at this stage of embryos were germinated up to 87.5%. The whitish watery callus and yellowish compact nodular callus produced on all 2,4-D, NAA and BA media. The best combination for inducing embryogenic callus was 0.5 mg/L NAA and 1.0 mg/L BA. Whitish watery calli have been subcultured for more than 8 months and have retained their producing ability. Plant regeneration was only obtained by direct shoot development and yellowish compact nodular calli. Abundant plantlets were regenerated from cotyledonary stage of embryo culture on MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA and 1.0 mg/L BA. Supplementation of the media with 10% coconut water showed as the best concentration for plant differentiation from direct developed of shoots. The number of regenerated plants from one embryo could be separated 25-35s plantlets. All yellowish compact callus-derived plantlets were transferred to pots containing a mixture of vermiculite, perlite and sand(1:1:1 v/v) and 100% of divided plantlets were phenotypically normal.

Key word : optimal stage of embryos, plant growth regulators.

* 교신저자 : E-mail : kjam@moak.chonbuk.ac.kr

서언

천남성과에 속하는 칼라는 화포 색상에 따라 백색과 다양한 색상의 유색으로 구분되는데 저장기관 또한 백색 및 유색에 따라 건조 및 습지상태에 적합하도록 근경 및 괴경 형태로 변형되어있다. 유색칼라는 화포 색깔이 다양하고 잎에 반점이 있어 절화 및 분식식물로서 미국, 뉴질랜드, 이스라엘, 네델란드 등지에서는 정원에 식재하거나 또는 절화로 이용되어 상업적으로 가치가 큰 화훼류로 취급되고 있다. 번식은 자연분구 및 실생법을 이용하고 있으며 생리적인 면에서 백색칼라는 휴면성이 없어 재배환경만 갖추면 년중재배가 가능하고 자연 분구율이 높지만 유색칼라는 고온기에 휴면하고 연부병 등 병해로 인해 자연분구율이 극히 저조하며 종자로 번식시킬 경우 개화구에 이르기까지 2-4년여의 장기간이 소요되기도 한다(Funnell, 1993). 모구 이병을 및 제한적인 수량으로 인해 일시에 다량증식이 곤란한 영양번식의 단점을 해결하기 위해 1980년 Cohen에 의해 성장점 배양이 시도된 이래 약(Ko et al., 1996), 품종별 성장점(Lee, 1996) 등을 조직배양하여 식물체를 획득하였다고 보고된 바 있다. 그러나 치상체의 소독방법이 간편하고 신품종 육성을 위한 기초재료인 미숙배를 배양하여 식물체가 재분화 되었다는 보고는 아직까지 없다. 우리나라에서도 최근에는 백색칼라 외에 노랑, 분홍 등 유색칼라를 분식물 또는 절화용으로 이용하고자 하여 그 재배량이 증가되고 있는 추세이나 종구 전량을 수입에 의존하고

있어 종구 확보 및 자급체계 확립이 시급한 실정이다. 본 실험은 절화 및 분화식물로서 세계적인 각광을 받고 있는 유색칼라의 국내수요에 대한 종구를 수입에 의존하고 있는 현실에서 다량의 식물체를 기내 생산하여 종구 확보 및 자급체계를 확립하고 새로운 유전자를 도입시켜 신품종육성을 위한 기초자료로 삼고자 실시하였다. 유색칼라 중 레몬색을 띤 Southern Light 품종을 자가수분시켜 미숙배를 배양함에 있어서 배의 발육단계 및 식물생장조절제의 종류와 농도가 다량의 식물체 재분화에 미치는 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

재료는 레몬색 화포의 유색칼라 Southern Light 품종을 본 대학 생산온실에 재배하여 인공수분 시킨 다음 20일부터 80일간 동안에 종자를 수확하여 배 발육정도를 구분하였다(Table 1). 종자는 70% 에탄올로 30초간 표면살균하고 7% calcium hypochlorite 수용액에 15분간 소독한 다음 멸균수로 5회 수세하였다. 배지는 MS(Murashige & Skoog, 1962) 기본배지 및 2,4-D, NAA 및 BA 단용 또는 혼용처리 하였으며 (Fig. 1), 30g/L sucrose를 첨가한 후 pH 5.8이 되도록 조절하였고 8g/L 한천을 첨가하여 121℃ 고압증기 멸균기에서 15분간 멸균하여 사용하였다. 치상된 미숙배는 25±2℃ 배양상에서 7일간 암배양한 다음 2,000 Lux 형광조명이 16시간 조절된 배양상에서 배

Table 1. The effect of developmental stage of embryos on MS basal medium in immature zygotic embryo culture of *Zantadeschia* spp. Southern Light after 60 days of culture^a.

Embryo stage ^b	No. of IZE ^c cultured	No. of IZE producing callus	No. of IZE producing shoot ^d	No. of IZE germinating
I	40	0	0	0
II	40	2(5.0%)	0	0
III	40	4(10.0%)	12(30.0%)	35(87.5%)

^aNumber of in parentheses indicate percentage to number of embryo cultured. ^b I : 20~40 days after pollination, Globular, II : 41~60days after pollination, Early or Late torpedo, III : 61~80 days after pollination, Cotyledonary embryo stage. ^c Immature Zygotic Embryo. ^d Direct shoot formed cotyledonary stage of immature zygotic embryo.

양하였다. 배양 3개월 후 부정아는 0.5 mg/L NAA, 1.0 mg/L BA 및 10% coconut water가 첨가된 MS배지에 계대배양 하였으며 재분화된 식물체는 vermiculite, perlite 및 모래를 1:1:1로 혼합한 토양에 이식하였다.

결과 및 고찰

미숙배 발육정도가 캘러스 및 신초 형성에 미치는 영향

유색칼라 품종 Southern Light 캘러스 유도 및 신초분화에 효과적인 미숙배 배양정기를 구명하기 위해 자가수분 시킨 후 20일부터 80일만에 걸쳐 형성된 미숙종자 에서 미숙배를 꺼내 식물생장조절물질을 첨가하지 않은 MS 기본배지에 배양하였다(Table 1). 수분 후 20일경에 형성된 globular 단계 미숙배(Photo. 1A)는 배양 60일이 경과되어도 치상 당시와 동일한 모습으로 전혀 성장하지 못하였고 배양기간이 경과될수록 점차 갈변하여 결국 고사하였다. 수분 후 41일에서 60일 사이에 형성된 torpedo 단계 배(Photo. 1B)는 대부분 배양 20일 경부터 배지내에서 팽대, 성장하여 배양 60일경까지 광조건 하에서 점차 성숙된 녹색의 어뢰형 배(Photo. 1C)로 변화하였는데 일부에서는 유근 부위에서 캘러스가 발생하기도 하였으나(5%) 신초 분화는 없었다. 그러나 수분 61-80일후 미숙배는 어린 자엽기(Photo. 1D)로서 본 실험 중 가장 왕성한 반응을 보였는데 배양 20일 후 일부 자엽 기부에서 뿌리가 형성되면서 발아가 시작되었으며(Photo. 1E) 배양 40일경에는 발아된 식물체의 내부에서 다아체가 형성되기도 하였다. 어린자엽기의 미숙배는 87.5% 이상 발아되었으며 발아된 신초는 시간이 경과되면서 캘러스가 형성되지 않은 채 다아체를 형성하기도 하여 배양재료로 가장 적합하였다.

자엽기 미숙배 유래 캘러스 및 신초증식에 미치는 생장조절제의 효과

신초 형성에 적합한 미숙배 발육단계를 조사함에

있어서 가장 양호하였던 수분 61-80일 후 어린 자엽기 미숙배를 2,4-D, NAA 및 BA를 단용 또는 혼용 처리한 MS 기본배지에 배양한 후 캘러스 유도 및 신초분화에 미치는 효과를 조사하였다(Fig. 1).

어린 자엽기 배는 자엽 및 유근부위에서 배양 2주일 경부터 캘러스 형성이 시작되었으며(Photo. 2A) 식물생장조절제의 종류와 농도에 따라 점액성을 지닌 유백색 캘러스와 농황색의 단단하고 치밀한 캘러스 두가지 형태로 발생되었는데 2,4-D가 첨가된 배지에서는 전자의 캘러스를, NAA와 BA 혼용처리 배지에서는 후자의 캘러스형태로 발생되었다. 즉, 0.5-3.0 mg/L 2,4-D 단용처리 하였을 경우 배양 25일이 경과되면서 자엽 기부에서 캘러스가 유도되기 시작하였고 0.5, 1.0, 2.0 mg/L 2,4-D 단용처리에서는 유백색의 유연한 점액성 캘러스가 각각 40%, 55%, 65%가 형성되어 1.0, 2.0 mg/L 2,4-D 처리가 유백색 캘러스 형성에 가장 효과적이었다(Photo. 2B). 3.0 mg/L 2,4-D 단용처리시 발생하는 캘러스는 15% 정도였고 캘러스는 회백색으로 점성정도가 심하였으며 배양도중 증식도 되지 않아 고농도(3.0 mg/L) 2,4-D 처리는 배양에 적합하지 않았다. 또한 2,4-D와 BA 혼용처리구는 25-35% 정도 캘러스가 유도되었으나 2,4-D 단용처리구에 비해 캘러스 상태나 증식율이 저조하였다. 한편 2,4-D 첨가 배지에서 유도된 캘러스를 계속적으로 동일 배지에 계대배양 하여 신초분화를 유도하였으나 8개월까지 캘러스 분화능력은 있었으나 캘러스에서 신초 및 뿌리 등 기관은 분화되지 않았다. 그러나 NAA와 BA 혼용처리에서는 2,4-D 처리구에 비해 치밀하고 단단한 담황색의 배발생적 캘러스(Photo. 2C)를 형성하였는데 0.5-1.0 mg/L NAA와 0.5-2.0 mg/L BA 혼용처리구에서는 대체적으로 배양 30일 경부터는 단단한 캘러스에서 신초가 분화되기 시작하였다. 특히 0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L BA 혼용처리구에서는 배양 40일경 자엽유래 캘러스 덩이에서 신초 및 뿌리가 동시에 분화되기 시작하여 가장 효과적이었다(Photo. 2D). 분화된 식물체는 생장을 위해 10% coconut water를 동일배지에 첨가하여 20일간 배양하였던 결과 1개 자엽기 미숙배에서 평균 20-30개체를 생산할 수 있었고 기내에서

왕성한 성장을 관찰할 수 있어 효과적이었다(Photo. 2E). 분리된 식물체는 vermiculite, perlite 및 모래가 1:1:1로 혼합된 상토에서 순화시킨 후 화분에 옮겨 온실에 이식하였다(Photo. 2F).

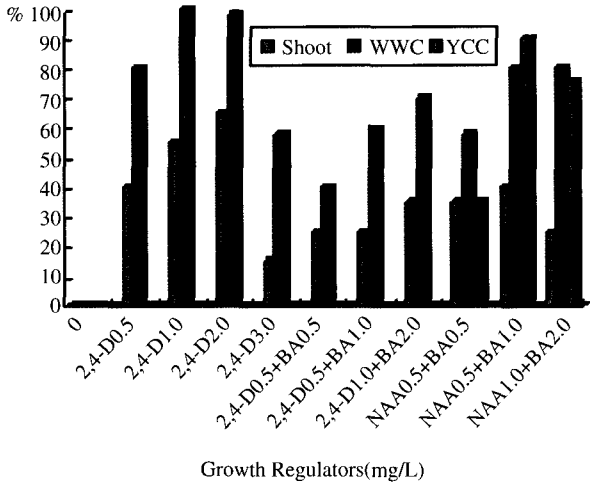


Fig. 1. Effects of 2,4-D, NAA and BA on callus induction and shoot formation at early cotyledonary embryo stage in *Zantedeschia* spp. Southern Light after 120 days of culture. WWC; whitish watery callus, YCC; yellowish compact callus.

접합자 배는 다른 조직에 비해 재분화 능력이 크기 때문에 기관분화를 유도하든지 또는 체세포배 형성을 유도하여 식물체를 재분화시키는 재료로 이용되어 왔다. 그러나 접합자 배의 분화 능력은 모식물체의 유전자형, 배의 발육정도 및 배지내 함유된 식물생장조절물질 종류와 농도, sucrose 농도 및 배양 조건 등에 따라 현저한 차이가 있기 때문에 식물에 따라서 배양에 적합한 배의 발육단계를 결정하고 그에 따른 배지 및 식물생장조절물질 등의 적절한 조합을 갖추어야 한다.

배 발육시기에 따른 배양적기는 식물에 따라 다양하여 *Wasabia japonica* (Eun et al., 1996), *Ginkgo biloba* (Laurain et al., 1996), *Larix occidentalis* (Thompson and Aderkas, 1992) 등은 초기 자엽기 배가 캘러스 및 배발생에 적합하였고, *Ranunculus sceleratus* (Kim et al., 1995)는 자엽기배 단계보다 globular 단계 미숙배가 오히려 효과적이라고 하였

다. *Triticum aestivum*의 경우와 같이 설탕, BA, 암모늄, 질산 등으로 영양분을 갖춘 기내에서 globular 단계 미숙배를 키웠을 경우 47%까지가 정상적으로 배가 발생되었으며 (Fischer and Neuhaus, 1995), *Cichorium intybus* 역시 수분 후 4-168(7일)시간에 걸쳐 형성된 미숙배 배양에서 수분 후 3일된 심장형, 어뢰형 배는 배양기에서 2주 후에 녹색 식물체가 되어 온실에 순화시킬 수 있었던 반면에 수분 24-72시간 후 미숙배는 배양기에서 1달 가량 키우는 것이 필요하다고 하여 (Varotto et al., 2000), globular 단계 미숙배는 배양기내에서 충분한 영양물질 및 일정의 성숙기간이 요구되기도 하였다. 발육적기의 배단계를 선정하기 위하여 배지내 성장조절물질을 첨가하지 않은 MS 기본 배지에다 발육단계별로 배양하였던 바 수분 후 20-40일경의 globular 단계 배에서는 배양도중 전혀 반응이 없었고 수분 후 41-60일경의 초기 및 후기 어뢰형 배 가운데 극소수 후기 어뢰형 배가 유근 부위에서 캘러스가 미미하게 형성되었지만 신초는 분화되지 않았으며 오직 수분 후 61-80일경의 자엽기 배에서만 자엽의 기부에서 캘러스가 발생되거나 발아되어 배양에 적합한 시기로 결정하였다. 한편 어린 globular 또는 어뢰형 미숙배단계 배를 2,4-D, NAA 및 BA가 혼용처리된 MS 배지에 배양하여 캘러스 및 신초분화에 미치는 효과를 조사한 결과(data 미제시) globular 및 어뢰형단계 미숙배에서는 캘러스 및 신초분화가 일어나지 않아 배양에 적합하지 않았다. 본 실험재료인 유색칼라 미숙배는 배지내 식물생장조절물질의 조합보다는 배지내 영양물질을 활용할 수 있는 성숙정도가 우선적으로 결정되어야 하며 globular 및 어뢰형배는 자엽기 배에 비해 자체적으로 양분흡수능력이 없기 때문에 MS 기본 배지 및 식물생장조절물질이 함유된 배지에서 캘러스 또는 식물체가 분화되지 않았던 것으로 생각되며 자엽기 배는 이를 수용할 수 있는 단계이기 때문에 자엽기 미숙배를 배양하는 것이 적합하다고 생각된다.

한편 유전자형, 품종간 또는 배양재료 유묘 연령 등이 배배양에 미치는 효과에 대해서 여러 식물에서 보고된 바 있는데, *Helianthus annuus*는 자엽기 미숙

배에서 배발생 빈도는 유전자형에 따라 33-72%로 큰 차이를 보였으며(Fiore et al., 1997), *Hibiscus syriacus* 영광, 아랑, 옥녀 품종 중 아랑, 옥녀가 0.3-1.0 mg/L 2,4-D 또는 picloram 처리에서 캘러스 형성이 양호하였고(Paek et al., 1989), *Brassica napus* 100 품종 자엽 조직체로부터 신초 재분화 능력을 조사한 결과 종자 파종 후 4일된 자엽을 4.0 mg/L BA를 처리한 하였을 때 품종간 변이차는 0-97%까지 큰 차이로 식물체가 재분화 되었으며(Ono et al., 1994) *Pelargonium x hortorum* 신초분화에도 품종간에 큰 차이를 보였을 뿐만 아니라 유묘년령이 2-4일된 자엽이 그 이상 오래된 자엽보다 더 효과적이었다고 하였다(Chang et al., 1996).

미숙배 배양에 있어서 *Panax ginseng* 접합자 배 자엽과 같이 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 MS 배지에서 체세포배를 형성하기도 하지만(Choi et al., 1997), 식물에 따라서는 auxin 및 cytokin의 종류와 농도에 따라 단용 및 혼용 처리하므로써 캘러스 및 배를 효과적으로 유도할 수 있다. *Ranunculus sceleratus* (Kim et al., 1995) 자엽기 배배양에서 0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L BA 혼용처리하는 캘러스 형성에, NAA와 BA를 각각 1.0 mg/L 씩 혼용처리하면 체세포배가 효과적으로 형성되었으며 *Ginkgo biloba* (Laurain et al., 1996) 미성숙 접합자 배를 단계별로 채취하여 MT 배지에 배양하였던 바 이상 비대된 자엽을 10 μ M BA 단용처리 하였을 경우 직접 배가 형성되었고, NAA(5-10-20 μ M)와 10 μ M BA 혼용처리 하여 발생된 캘러스를 오옥신이 없는 배지에 계대배양하므로 간접적인 경로를 통해 배가 형성되었다. *Platycodon grandiflorum* (Kim and Liu, 1999) 접합자 배배양 시 4.52 μ M 2,4-D배지에서 43% 배발생적 callus를 얻었고 MS 동일 배지의 액체배지에 현탁 배양한 다음 고체배지에 옮기므로 체세포배가 형성되었으며 *Wasabia japonica* (Eun et al., 1996) 미숙배 상태에서 2,4-D나 NAA에 비해 IAA가 또는 IAA와 BA 혼용처리가 직접 또는 캘러스를 통해 체세포배 발생이 양호하였으며 *Prunus yedoensis* (Koh et al., 1997) 미성숙 접합자배를 1.0 mg/L 2,4-D와 0.1mg/L BA와 혼용처리 하여 배발생적 callus를 유도하였고,

Encephalartos cycadifolius (Jager and Staden, 1996) 미숙접합자배를 개량 B5배지에 1.0 mg/L씩 2,4-D와 kinetin을 혼용처리하여 캘러스배양에 성공하였다. 그러나 미숙배 배양에 있어서 식물생장조절물질외의 배지첨가물에 따라 여러 가지 반응이 나타날 수 있는데 *Helianthus annuus* 미숙 접합자 배배양에서는 sucrose 가 기관분화성 또는 체세포배 형성등 방향조절에 주 역할을 하여 87mM sucrose 농도는 기관분화를, 350 mM sucrose 농도처리는 체세포배가 형성되었다고 하였고(Jeannin et al., 1995), *Camellia sinensis* (Ponsamuel et al., 1996) 미숙자엽을 1 μ M phenylboric acid와 BA 또는 0.5 μ M phenylboric acid와 kinetin처리 또는 10% coconut water를 같이 처리하므로 체세포배를 다량 유도하여 coconut water효과를 암시하였다. 또한 미숙배로부터 단계별로 요구되는 배양조건에 따라 재분화에 영향을 미치며 장미(*R. hybrida* cv. Gelb x Dagmer Hastrap x *R. chinensis* var. mutabilis)의 경우 미숙배를 (Visessuwan et al., 1997) 2.0 mg/L 2,4-D 액체배지에서 현탁 배양하고 0.01 mg/L 2,4-D 저농도에 옮겨 급속 증식시킨 다음 1.0 mg/L BA 또는 0.1mg/L TDZ 가 함유된 MS 배지에 계대배양하여 배 및 부정아가 형성되었다. 배발생적 캘러스는 1달 간격으로 2년간 계대배양하여 배모양구조 또는 잎 유사구조가 유지되었으나 shoot 재분화 능력은 TDZ 포함된 배지에서 3-4회 계대배양 후 소실되었다고 하였다. 본 실험에 있어서 배발생적 캘러스 유도는 어린 자엽기 미숙배를 2,4-D 단용 또는 BA와 혼용처리 배지에 배양한 결과 유백색의 점액성 캘러스가 다량으로 증식되어 체세포 배 및 신초 분화를 유도하기 위해 30일 간격으로 계대 배양 한 결과 8개월까지만 증식능력이 있었고 캘러스로부터 배 또는 신초 분화는 발생되지 않았으며 NAA 와 BA 혼용처리에서는 담황색의 단단한 배발생적 캘러스가 유도되어 체세포배형성을 기대했었으나 모두 신초 및 뿌리 등 기관분화가 형성되어 다량의 식물체가 증식되었는데 특히 0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L BA, 10% coconut water를 첨가하므로 기내 식물체의 급속생장에 효과적이었다. 따라서 본 실험재료인 유색칼라 미숙배 배양에서는 수분 후 61-80일경의 어린 자엽기 배를

0.5mg/L NAA와 1.0 mg/L BA를 혼용첨가한 MS 배지에서 캘러스 및 식물체를 유도한 다음 동일 배지에 10% coconut water를 첨가한 배지에 옮기면 기내 급속생장 체계가 확립될 수 있었다.

적요

유색칼라 미숙배 배양에 의한 급속 증식체계를 확립하고자 Southern Light 품종을 자가수분 시켜 배발육단계 및 식물생장조절제 종류와 농도가 다량의 식물체 재분화에 미치는 효과를 조사하였다. 배발육단계별로 MS 기본배지에 배양한 결과 globular 단계 미숙배는 반응이 없었고 몇 개의 어뢰형 배 및 초기 자엽기배는 팽대 및 발아되었는데 어린 자엽기 미숙배가 87.5% 발아율을 보여 가장 효과적이었다. 한편 어린 자엽기 미숙배를 2,4-D, NAA 및 BA를 단용 또는 혼용처리한 결과 2,4-D 단용 및 BA와 혼용처리배지에서는 유백색의 점액성 캘러스만이 8개월까지 증식되었고 NAA와 BA 혼용처리 배지에서는 담황색의 단단한 배발생적 캘러스가 증식되어 모두 식물체로 재분화되었는데 특히 0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L BA 혼용처리 하였을 때 한 개 자엽기 미숙배로부터 25-30개의 식물체가 재분화 되었으며 동일배지에 10% coconut water를 첨가하므로 기내 식물의 급속생장이 효과적이었다. 배유래 재분화된 식물체는 vermiculite, perlite 및 모래를 1:1:1로 혼합한 토양에 이식하였으며 100% 정상식물체로 자라고 있다.

사사

본 연구는 2000년 전북대학교 연구비 지원에 의해 수행된 실험결과임.

인용문헌

- Chang C, Moll BA, Evenson KB and MJ Gultinan. 1996. In vitro plantlet regeneration from cotyledon, hypocotyl and root explants of hybrid seed geranium. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 45: 61-66
- Choi, YE, DC Yang, HS Kim and KT Choi. 1997. Distribution and changes of reserve materials in cotyledon cells of *Panax ginseng* related to direct somatic embryogenesis and germination. *Plant Cell Reports* 16: 841-846
- Cohen, D. 1981. Micropropagation of *Zantedeschia* hybrids. *Proceedings of the International Plant Propagation Society*. 31:312-3173.
- Eun JS, JA Ko and YS Kim. 1996. Propagation by means of somatic embryogenesis from immature bryo of *Wasabia japonica*. *Korean J. Breed.* 28(1):21-28
- Fiore MC, Trabace T, and F Sunseri. 1997. High frequency of plant regeneration in sunflower from cotyledons via somatic embryogenesis. *Plant Cell Reports* 16:295-298.
- Fischer C and G Neuhaus. 1995. In vitro development of globular zygotic wheat embryos. *Plant Cell Reports* 15:186-191
- Funnell, K.A. 1993. The physiology of flower bulbs *Zantedeschia* Netherland.
- Jager AK and Johannes van Staden. 1996. Somatic embryogenesis in *Encephalartos cycadifolius*. *Plant Cell Reports* 15:437-440
- Jeannin G, R Bronner, and G Hahne. 1995. Somatic embryogenesis and organogenesis induced on the immature zygotic embryo of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivated *in vitro*: role of sugar. *Plant Cell Reports* 15:200-204.
- Kim, SW and JR. Lui, 1999. Somatic embryogenesis and plant regeneration in zygote embryo cultures of balloon flower. *plant Cell, Tissue and Organ Culture* 58:227-230
- Kim, YS, JA Ko and JS Eun. 1995. Embryogenesis and plantlet regeneration from immature embryo culture of *Ranunculus sceleratus* L. *Korean J. Breed.*

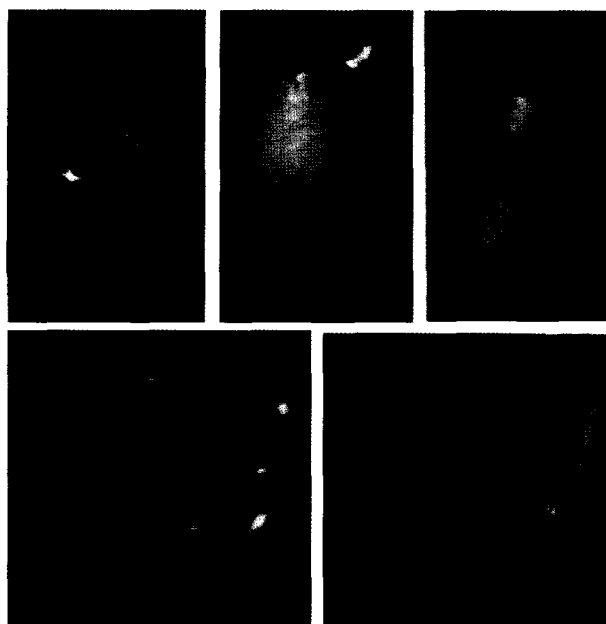


Photo. 1. Developmental stage of immature zygotic embryo of *Zantedeschia* spp. Southern Light after 20-80 days after pollination in vitro 60 days of culture. Globular(A), early(B) or late torpedoid(C) and early cotyledon(D) explants were cultured on MS basal medium. The embryos were germinated up to 87.5% in the early cotyledonary stage.

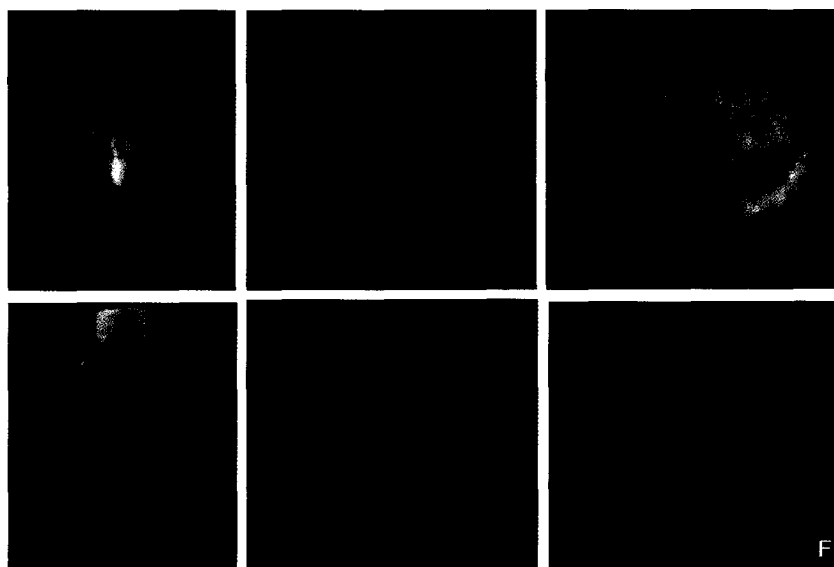


Photo. 2. Regeneration of plants from cotyledon explants of *Zantedeschia* spp. Southern Light. Swelling and bulging in cotyledon explants within one week of culture in presence of 2,4-D, NAA and BA. Embryogenic callus initials(arrows) preceded by an early stage of culture growth at the whole of cotyledon(A). Whitish watery callus(B) developed in the presence of 1.0-2.0 mg/L 2,4-D alone and yellowish compact nodular callus(C) proliferated in the presence of NAA and BA after 5 months of culture. Note many globular shaped structures. Development of adventitious shoots and root in 0.5 mg/L NAA and 1.0 mg/L BA added 10% coconut water after 6 months of culture(D). The number of regenerated plants from one embryo could be separated 25-35s plantlets(E). All yellowish compact nodular callus-derived plantlets were transferred to pots containing a mixture of vermiculite, perlite and sand(1:1:1 v/v)(F).

- 27(3):311-317
- Ko, JA, YS Kim and JS Eun. 1996. Embryogenesis and plant regeneration by the anther culture of *Zantedeschia aethiopica* spp. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 37:468-474
- Koh, JG, YC Park, DY Yang, ES Kim, MY Oh and SC Koh. 1997. Plant regeneration and somatic embryogenesis from zygotic embryo-derived callus of native *Prunus yedoensis* in Mt. Halla. Korean J. Plant Tissue Culture. vol. 24 No. 6, 345-349
- Laurain, D JC Chenieux and J. Tremouillaux-Guiller. 1996. Somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of *Ginkgo biloba*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 44: 19-24
- Lee, YS. 1996. Micropropagation by the apical meristem culture of colored calla lily (*Zantedeschia* spp.) and effects on the bulb development of nutriceulture of tissue-cultured plants. MS Thesis. Chonbuk Nat' l University, Korea.
- Ono Y, T Yoshihito and K Norihiko. 1994. Effect of genotype on shoot regeneration from cotyledonary explants of rapeseed (*Brassica napus* L.). Plant Cell Reports 14: 13-17
- Paek, KY, YJ Son, JK Hwang, SK Jong and DI Park. 1989. Plant regeneration in tissue cultures initiated from immature embryos of *Hibiscus syriacus* L. Korean J. Plant Tissue Culture. vol. 16 No. 2:93-104
- Ponsamuel, J NP Samson, PS Ganeshan, V Sathyaprakash, and GC Abraham. 1996. Somatic embryogenesis and plant regeneration from the immature cotyledonary tissues of cultivated tea(*Camellia sinensis*(L). O. Kuntze). Plant Cell Reports 16: 210-214
- Thompson RG and P von Aderkas. 1992. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of western larch. Plant Cell Reports 11:379-385
- Varotto S, M Lucchin and P Parrini. 2000. Immature embryos culture in Italian red chicory. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 62: 75-77
- Visessuwan R, K Tkashi and M MII. 1997. Plant regeneration from cell suspension culture derived from immature embryo of rose. Plant Biotechnology, 14(1), 29-33.

(접수일 2003. 4. 30)

(수락일 2003. 5. 30)