

포도 4배체 ‘후지미노리’와 3배체 ‘썸머블랙’의 교배로 얻은 미숙배의 기내배양

고재철*† · 오주은†

대구가톨릭대학교 화훼원예학과

In Vitro Culture of Immature Embryo Obtained by Crossing between Tetraploid Grape ‘Fujiminori’ and Triploid ‘Summer Black’

Jae Chul Koh*† and Ju Eun Oh†

Department of Floricultural Science, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

Abstract. For the germination and differentiation of immature embryos obtained by artificial crossing between tetraploid grape ‘Fujiminori’ (*Vitis vinifera* × *V. labruscana*) and triploid ‘Summer Black’ (*V. labruscana* × *V. vinifera*), were incubated in vitro using MS medium supplemented with GA₃ or coconut water (CW) at various concentrations. The percentage of embryo formation of ‘Fujiminori’ × ‘Summer Black’ was 64.3%. Embryo germination percentage was higher than 95% in all the GA₃ treatments at the concentrations of 0.01, 0.05, 0.25, and 1.25 mg·L⁻¹. However, only 15.8-31.6% of the germinated embryos successfully developed into normal plantlets. At higher concentration of GA₃, the plantlets developed infirm hypocotyls with over elongated and less enlarged structure. Among the treatments of CW at the concentrations of 5, 10, 15, and 20% (v/v), 10% and 15% were more effective and plantlet achievement percentage were 68.4 and 66.7%, respectively. The addition of 10% CW was most effective to obtain plantlets with optimal shoot length, node and root numbers. 15% CW was suitable to obtain plantlets with longer roots. Accordingly, the embryo culture using the MS medium supplemented with 10-15% CW was observed to be more efficient for germinating and growing the immature embryos produced from artificial crossing between tetraploid grape ‘Fujiminori’ and triploid ‘Summer Black’.

Additional key words: artificial crossing, coconut water, embryo germination, GA₃, plantlet achievement

서 언

최근 소비 수준 향상과 육종 기법의 발달로 인해 포도의 당도, 산도, 육질, 향기, 색택, 크기 외 무핵의 특성이 포도 육종 방향에 있어서 점차 강조되고 있다(Park, 2002). 무핵 포도를 육성하기 위한 방법으로 위단위결과 품종을 화분친으로 이용하여 유핵 품종과의 교배를 통해 위단위결과성 유전자를 후대에 도입하는 방법과 4배체 간 교잡을 통하여 발생하는 이수체를 선발하는 방법, 그리고 2배체와 4배체 간 상호교잡을 통해 불임성이 높은 3배체 육성 방법 등이 이용되고 있다(Park, 2007). 그런데, 포도 품종에 따라 차이가 있지만, 2배체와 4배체를 교배할 경우 Yamashita et al.(1998)

에 의하면 9주 내로 배 및 배주가 퇴화하고, Guo et al. (2011a)에 의하면 80일 이상 시간이 경과할수록 배가 퇴화하거나 생리적 휴면을 하게 되어 교배 실생 개체를 획득하기가 어렵다(Wakana et al., 2002). 기내 배배양 또는 배주배양을 이용하면 퇴화하는 배나 배주로부터 후대 회복이 가능하다(Spiegel-Roy et al., 1985; Valdez, 2005; Valdez and Ulanovsky, 1997). 또한, 원연종 간의 교배 등 정상적인 종자의 획득이 어려운 경우에도 교배 실생 획득률을 향상시킬 뿐 아니라(Park, 2002), 육종기한의 단축도 가능하다(Gray et al., 1987; Ramming, 1990). 성공적인 포도 배배양 및 배주배양은 Emershad and Ramming(1984)을 시작으로 그 연구가 지속되어 왔으며(Guo et al., 2011b; Motosugi and Naruo,

*Corresponding author: jckoh@cu.ac.kr

†These authors contributed equally to this work.

※ Received 4 December 2011; Revised 7 November 2012; Accepted 9 November 2012. 이 논문은 2012년도 대구가톨릭대학교 교내 연구비 지원에 의한 것임.

2003; Notsuka et al., 2001; Wakana et al., 2003; Yamashita et al., 1995; Yang et al., 2007), 유전자형, 배주 치상 시기, 배지 구성 등이 배배양에 영향을 주는 주요 요인으로 알려져 왔다(Kumar et al., 2001). 배주 치상의 적절한 시기는 거의 모본에 의해 결정되는데, 극조생종 외의 대부분의 품종에서 수분 후 60-70일이다(Guo et al., 2011b). 또한 배배양이나 배주배양은 배지 첨가물에 따라서도 영향을 받게 되는데, 배추와 무의 속간잡종 육성을 위한 배주배양 시 GA₃가 배 발아율을 높였고(Rhee et al., 1997), 포도에서는 GA₃의 첨가로 배 회복률을 향상시킨 보고가 있다(Liu et al., 2003). Coconut water(CW)는 심장형 *Datura*배를 성숙배로 생장시키기 위한 배배양(Van Overbeek et al., 1941, 1942)이나 난류의 조직배양에 광범위하게 이용되고 있으며, 정제한 화학물질로 대체하기가 어려워 다른 천연추출물에 비하여 많이 이용되고 있다(Paek et al., 2008).

우리나라에서는 무핵 포도 품종의 육성을 위해 2배체와 4배체 간 상호교배(Gwon et al., 2009; Heo et al., 2007; Park, 2011; Park et al., 2004), 4배체 간 교배(Heo, 2008) 등이 실시되었으나, 3배체를 부분으로 이용하여 4배체와 교배한 사례는 아직 없다. 또한 배주배양에 의한 무핵 포도 육성(Hong et al., 1999; Park et al., 2005)에 대한 보고는 일부 있으나, 배배양에 대한 보고는 알려져 있지 않다.

따라서 본 연구는 무핵 포도 육성의 연구 기초를 마련하고자 4배체 'Fujiminori'와 3배체 'Summer Black'의 교배를

통해 획득한 미숙배의 배배양을 실시하였으며, 또한 GA₃와 CW의 농도를 달리하여 배의 발아 및 생장에 유효한 적정 농도를 찾고자 수행하였다.

재료 및 방법

경산의 한 포도농원에서 재배하고 있는 포도 4배체 'Fujiminori' (*V. vinifera* × *V. labruscana*)에 3배체 'Summer Black'(*V. labruscana* × *V. vinifera*)을 교배하여 획득한 미숙배의 배배양을 실시하였다. 종자친 'Fujiminori'는 개화 7일 전부터 개화 2일 전까지 사이에 제웅과 봉지씌우기를 행하고, 화분친 'Summer Black'의 화분은 만개 시 채취하여 보관한 후, 종자친 주두의 점액이 마르기 전에 바로 수분하고 봉지를 씌웠다.

교배 60-70일 후에 과립을 채취하여 종자를 채종하고, 채종 종자는 1% NaOCl 용액으로 15분간 소독한 후, 멸균수로 5회 이상 수세하였다. 멸균된 종자로부터 실체현미경에서 무균적으로 해부용 칼과 핀셋을 이용하여 배를 적출한 후 배지에 처리별로 20개체씩 치상하였다(Fig. 1A).

배지는 GA₃와 CW(Bio-world, Dublin, USA)를 단용처리한 MS 배지를 사용하였다. 0.8% 한천 고형의 MS 기본배지(자당 3%, pH 5.8)에 0.45µm millipore filter를 사용하여 농도별 GA₃(0, 0.01, 0.05, 0.25, 1.25mg·L⁻¹)와 CW(0, 5, 10, 15, 20%)를 첨가하였다. 최초 치상한 교잡배는 1-2일 암배

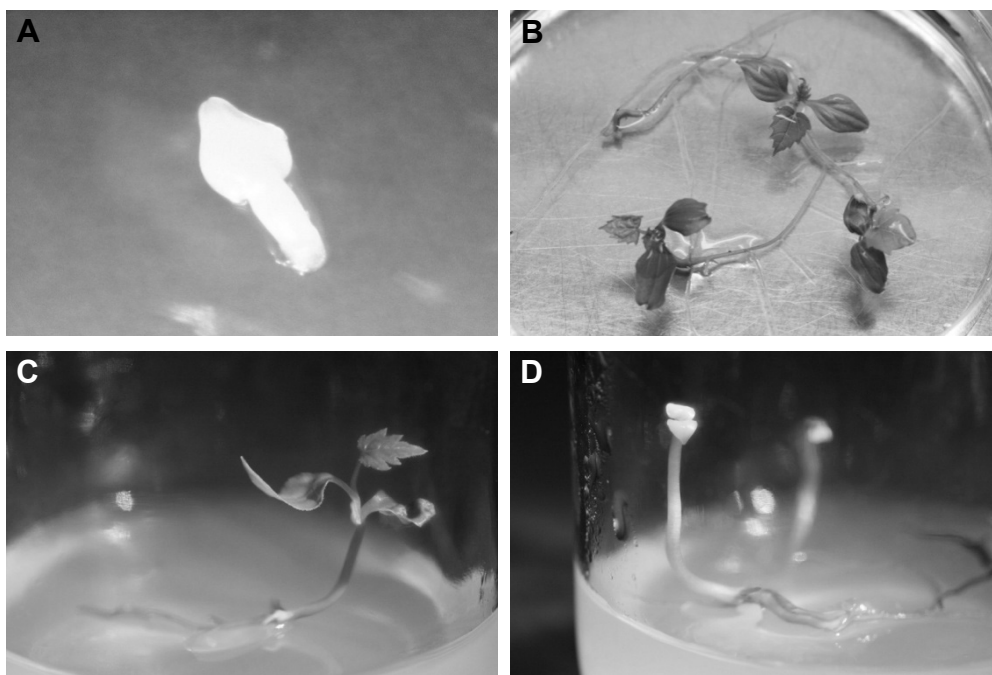


Fig. 1. Embryo culture of crossing of 'Fujiminori (4x)' and 'Summer Black (3x)': inoculation of excised embryo (A); plantlet achievement after embryo formation (B and C); chlorosis of cotyledon (D).

양을 거친 후 온도 25°C, 광도 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPF, 일장 16시간으로 하여 7주 배양한 다음, 배의 발아율, 식물체 획득률 등을 전수 조사하였다. 생장 상태는 배지 내에서 정상적으로 생육된 개체를 3반복으로 조사하였다. 줄기의 두께는 상배축 중간 부분의 두께를 측정하였다. 뿌리의 두께는 주근의 끝으로부터 1cm 떨어진 지점을 측정하였고, 뿌리 길이는 주근의 길이를 측정하였다. 잎은 줄기의 중간 부분에 있는 2-3개 잎을 가로와 세로를 측정하고 평균으로 나타내었다.

통계분석은 SAS 프로그램(SAS 9.1, SAS Institute Inc., USA)을 이용하여 던컨의 다중검정으로 분석하였다.

결과 및 고찰

포도 4배체 'Fujiminori'와 3배체 'Summer Black'의 교배에 따른 종자 및 배형성

포도 4배체 'Fujiminori'에 3배체 'Summer Black'을 인공 교배하고, 60-70일 후에 얻은 종자의 수와 배 형성률을 조사한 결과는 Table 1과 같다.

4배체와 3배체의 교잡 종자를 얻기 위한 'Fujiminori'와 'Summer Black'의 정역교배에서, 'Fujiminori' × 'Summer Black'의 과립수에 대한 과립당 평균 종자수는 0.61개, 배 형성률은 64.3%로 방임수분한 4배체 'Fujiminori'의 종자 및 배 형성률보다 낮았다. 반면에 'Summer Black' × 'Fujiminori'의

과립당 평균 종자수는 0.04개였고 배는 모두 퇴화되어 종피만 존재하였다. 한편 4배체 'Fujiminori'를 방임수분한 결과에서 과립당 평균 종자수는 0.91개, 배 형성률은 72.7%로 높게 조사되었고, 3배체 'Summer Black'의 방임수분 결과에서는 과립당 평균 종자수는 0.08개이었으나 배와 배유가 모두 퇴화하여 종피만 존재하였다.

이상의 결과로 미루어, 3배체 'Summer Black'은 배낭의 임성보다 화분의 임성이 높으므로 'Summer Black'을 편친으로 한 교잡배를 형성하기 위해서는 3배체 'Summer Black' 품종을 화분친으로 사용하는 것이 유리하다고 판단된다.

포도 미숙배의 배배양에 있어서 GA₃의 효과

'Fujiminori' × 'Summer Black' 미숙배의 배배양 결과(Table 2), 무처리와 모든 GA₃ 처리구에서 95%-100%의 높은 발아율을 나타내었다. 그런데 식물체 획득률에 있어서는 무처리구가 40%인데 반해 GA₃ 처리구는 15.8%-31.6%로 다소 낮게 나타나, 배배양 시 MS 배지에 GA₃를 첨가하면 발아 이후의 생장 저해를 초래하는 것으로 생각되었다.

미숙배의 기내배양 시 GA₃의 모든 처리구에서 정상적인 배 발아에도 불구하고 자엽이 백화되면서 본엽이 발생하지 않아 생장이 멈춘 현상이 발견되었는데, Yamashita et al. (1995)의 실험에서도 어뢰형배 및 성숙배의 발아율이 높았지만 그 후 전개엽을 내지 않고 생육이 정지한 개체가 많았다는 보고와 일치하였다.

Table 1. The number of seed obtained and embryo excised from 'Fujiminori (4x)', 'Summer Black (3x)', 'Fujiminori (4x)' × 'Summer Black (3x)', and 'Summer Black (3x)' × 'Fujiminori (4x)' 60-70 days after artificial or open pollination (full bloom).

| Cross and Open pollination | No. of berry | No. of seed obtained (number of seed / berry) | No. of embryo excised (% ²) |
|--------------------------------|--------------|--|--|
| Fujiminori (open pollinated) | 315 | 286 (0.91) | 208 (72.7) |
| Summer Black (open pollinated) | 200 | 17 (0.08) | 0 (0) |
| Fujiminori × Summer Black | 480 | 291 (0.61) | 187 (64.3) |
| Summer Black × Fujiminori | 210 | 9 (0.04) | 0 (0) |

²No. of embryo excised / no. of seed obtained × 100.

Table 2. Development of embryos derived from 'Fujiminori (4x)' × 'Summer Black (3x)' on MS medium supplemented with various concentrations of GA₃.

| Supplement (mg·L ⁻¹) | No. of embryo cultured | No. of embryo germinated (% ²) | No. of plantlet established in vitro (% ³) |
|-------------------------------------|---------------------------|---|---|
| 0.00 | 20 | 20 (100) | 8 (40.0) |
| 0.01 | 20 | 19 (95) | 3 (15.8) |
| 0.05 | 20 | 19 (95) | 6 (31.6) |
| 0.25 | 20 | 19 (95) | 3 (15.8) |
| 1.25 | 20 | 19 (95) | 3 (15.8) |

²No. of embryo germinated / no. of embryo cultured × 100.

³No. of plantlet established / no. of embryo germinated × 100.

GA₃를 농도별(0, 0.01, 0.05, 0.25, 1.25mg·L⁻¹)로 첨가한 MS 배지에 ‘Fujiminori’ × ‘Summer Black’의 미숙배를 치상하고 7주간 배양한 후 성장한 개체의 성장 상태를 조사한 결과(Table 3 and Fig. 2), 줄기 길이과 하배축의 길이는 모든 GA₃ 처리구에서 GA₃ 농도가 높아질수록 길어져 통계적인 유의성이 발생하였다. 마디수는 무처리구에서 가장 많이

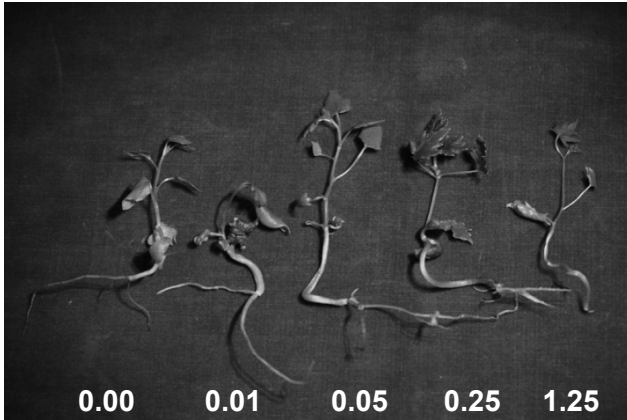


Fig. 2. Plant growth in plantlets obtained from embryos of ‘Fujiminori (4x) × ‘Summer Black (3x)’ on MS medium supplemented with various concentrations of GA₃ (mg·L⁻¹).

발생하였고, 줄기의 직경과 뿌리수, 뿌리 두께 그리고 뿌리 길이는 GA₃ 1.25mg·L⁻¹ 처리구에서 유의하게 억제 효과가 나타났는데, 이는 고농도의 피해에서 오는 성장 장애라고 생각된다. 잎은 마디수와 같이 무처리구에서 가장 많이 발생하였다.

GA₃ 농도가 높아질수록 줄기와 하배축의 길이생장은 일어났지만 비대생장은 억제되었는데, 지베렐린 처리가 담배 줄기의 도장현상을 유발하였으나 농도가 높을수록 비대생장은 감소하는 경향(Kwon, 1988)과 GA₃ 처리가 콩나물의 하배축 신장을 촉진하지만 하배축의 비대생장은 동반하지 않아 콩나물이 연약해지는 결과(Kang et al., 2007)와 동일한 반응을 보였다. 이러한 결과는 GA₃의 전형적인 생리작용이 세포의 신장만을 촉진하는 원인 때문이라고 생각된다.

포도 미숙배의 배배양에 있어서 CW의 효과

‘Fujiminori’ × ‘Summer Black’ 미숙배의 배배양 결과(Table 4), CW 농도가 높아질수록 배 발아율이 낮았으나, 식물체 획득에는 유리한 결과를 보였다. 무처리구에서는 40%의 식물체를 얻을 수 있었고, CW 처리구에서는 다소 높은 40%-68.4%의 식물체를 얻을 수 있었다. 미숙배의 배

Table 3. Growth survey of plantlets obtained from embryos of ‘Fujiminori (4x) × ‘Summer Black (3x)’ on MS medium supplemented with various concentrations of GA₃.

| Supplement (mg·L ⁻¹) | Shoot growth | | | | Root growth | | | Leaf ^z morphology | | |
|----------------------------------|---------------------|-----------------|--------------------|--------------|----------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------------|------------------|-----------------|
| | Length (mm) | Hypo-cotyl (mm) | Stem diameter (mm) | No. of nodes | No. of lateral roots | Thickness ^y (mm) | Length ^x (mm) | No. of leaves | Leaf length (mm) | Leaf width (mm) |
| 0.00 | 44.6 b ^w | 11.7 d | 0.86 a | 5.3 a | 2.3 b | 0.43 a | 45.4 bc | 5.4 a | 9.8 a | 8.1 ab |
| 0.01 | 36.8 c | 22.3 c | 0.93 a | 1.7 c | 3.0 b | 0.27 b | 46.7 b | 2.2 b | 9.2 a | 6.2 c |
| 0.05 | 64.5 a | 37.2 b | 0.83 a | 4.3 ab | 4.3 a | 0.37 a | 54.3 a | 5.0 a | 10.4 a | 8.7 a |
| 0.25 | 62.0 a | 40.8 b | 0.75 ab | 4.0 b | 4.7 a | 0.23 b | 39.5 c | 4.3 a | 10.3 a | 8.6 a |
| 1.25 | 63.7 a | 49.2 a | 0.58 b | 2.3 c | 0.3 c | 0.10 c | 5.9 d | 2.4 b | 8.8 a | 6.5 bc |

^zMean of 2-3 leaves in the middle portion of a shoot.

^yRoot thickness was measured at the point of 1 cm apart from primary root tip.

^xRoot length was measured in primary root.

^wMean separation within columns by Duncan's multiple range test at *P* < 0.05.

Table 4. Development of embryos derived from ‘Fujiminori (4x) × ‘Summer Black (3x)’ on MS medium supplemented with various concentrations of CW.

| Supplement (%) | No. of embryo cultured | No. of embryo germinated (%) ^z | No. of plantlet established in vitro (%) ^y |
|----------------|------------------------|---|---|
| 0 | 20 | 20 (100) | 8 (40.0) |
| 5 | 20 | 20 (100) | 8 (40.0) |
| 10 | 20 | 19 (95) | 13 (68.4) |
| 15 | 20 | 18 (90) | 12 (66.7) |
| 20 | 20 | 18 (90) | 10 (55.6) |

^zNo. of embryo germinated / no. of embryo cultured × 100.

^yNo. of plantlet established / no. of embryo germinated × 100.

Table 5. Growth survey of plantlets obtained from embryos of 'Fujiminori (4x)' × 'Summer Black (3x)' on MS medium supplemented with various concentrations of CW.

| Supplement (%) | Shoot growth | | | | Root growth | | | Leaf ^z morphology | | |
|----------------|----------------------|----------------|--------------------|--------------|----------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------------|------------------|-----------------|
| | Length (mm) | Hypocotyl (mm) | Stem diameter (mm) | No. of nodes | No. of lateral roots | Thickness ^y (mm) | Length ^x (mm) | No. of leaves | Leaf length (mm) | Leaf width (mm) |
| 0 | 44.6 cd ^w | 11.7 c | 0.86 a | 5.3 a | 2.3 b | 0.43 b | 45.4 b | 5.4 a | 9.8 b | 8.1 c |
| 5 | 43.6 d | 14.4 b | 0.82 a | 5.7 a | 10.3 a | 0.43 b | 23.6 d | 6.1 a | 11.3 b | 9.5 b |
| 10 | 59.5 a | 16.9 a | 0.78 a | 6.0 a | 10.0 a | 0.43 b | 34.3 c | 6.4 a | 11.5 b | 10.1 b |
| 15 | 50.4 b | 14.2 b | 0.86 a | 5.7 a | 9.3 a | 0.38 b | 57.8 a | 6.0 a | 11.9 ab | 9.8 b |
| 20 | 47.2 c | 8.6 d | 0.77 a | 5.7 a | 9.0 a | 0.53 a | 36.2 c | 6.5 a | 13.8 a | 11.9 a |

^zMean of 2-3 leaves in the middle portion of a shoot.

^yRoot thickness was measured at the point of 1cm apart from primary root tip.

^xRoot length was measured in primary root.

^wMean separation within columns by Duncan's multiple range test at $P < 0.05$.

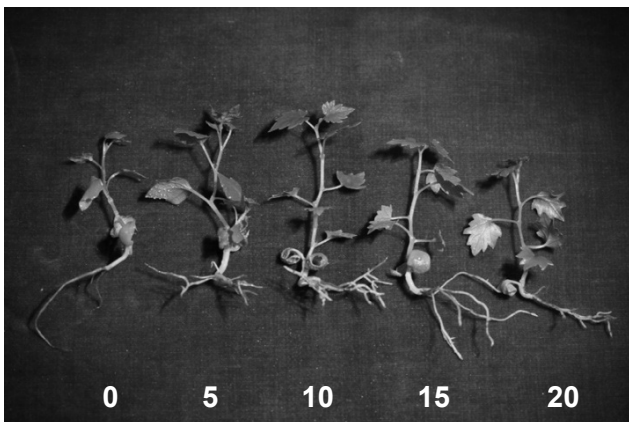


Fig. 3. Plant growth in plantlets obtained from embryos of 'Fujiminori (4x)' × 'Summer Black (3x)' on MS medium supplemented with various concentrations of CW (%).

배양시 CW의 모든 처리구에서도 GA₃ 처리구와 마찬가지로 배는 정상적으로 발아하였으나 자엽이 백화되면서 본엽이 발생하지 않아 생장이 멈춘 현상이 발견되었는데, 이들 중 CW 10% 처리구와 15% 처리구에서는 이러한 현상이 최소로 나타났으며 각각 68.4%와 66.7%로 정상적인 식물체 획득에 가장 유리하였다.

CW의 농도별 발아한 배의 성장 상태를 조사한 결과(Table 5 and Fig. 3), CW 10% 처리구에서 줄기와 하배축의 길이가 가장 길어져 통계적인 유의성이 발생하였다. 뿌리는 CW 무처리구 2.3개에 비해 CW 5%-20% 처리구에서 9.0-10.3개로 많이 발근하여 CW 효과가 인정되었고, 뿌리 길이는 CW 15% 처리구에서 가장 길었다. 그리고 엽장과 엽폭은 CW의 농도가 높을수록 큰 것으로 나타났다. 이는 *Dendrobium antennatum* 종자 배양에서 CW를 첨가한 VW(Vacine & Went) 배지가 무처리나 peptone, casein, tomato juice 등의 다른 첨가물을 단용처리한 VW 배지보다 식물체의 길이와 생체

중을 증가시키는 결과(Kim and Han, 1999)와 동일한 경향을 보였다. CW에는 비타민, 무기염류, 사이토키닌과 같은 식물생장호르몬 등이 함유되어 있는데, 이러한 CW는 난류나 약용식물 등 몇몇 식물의 조직배양배지에 주요 첨가물로 사용된다. CW 안의 옥신, 지베렐린, 사이토키닌 등의 식물생장호르몬뿐 아니라, 비타민, 무기염류 또는 정의되지 않은 다른 화학성분들이 시너지 효과를 발휘하여 세포분열, 세포형성, 신초 생장점의 활성화, 광합성 유전자 합성의 유도, 종자 발아, 뿌리 생장, 조직배양 시 캘러스로부터 식물체 재분화 등을 유발(Yong et al., 2009)하므로 CW 무처리구보다 처리구에서 줄기, 잎, 뿌리 생장에 양호한 결과를 보인 것으로 생각된다.

따라서 포도 무핵 품종 육성을 위해 4배체 'Fujiminori'와 3배체 'Summer Black'을 인공교배하여 획득한 미숙배의 발아와 식물체 획득 및 생장을 위해서는 CW 10-15%를 첨가한 MS 배지를 이용한 배배양이 효과적이라고 판단된다.

초 록

포도 4배체 'Fujiminori'에 3배체 'Summer Black'을 인공교배하여 얻은 미숙배의 발아 및 식물체 분화를 목적으로 MS 배지에 GA₃와 Coconut water(CW)를 농도별로 첨가하여 배배양을 실시하였다. 'Fujiminori'에 'Summer Black'을 교배하여 64.3%의 미숙배를 얻을 수 있었고, 미숙배를 기내 배양한 결과 GA₃ 모든 처리구(0.01, 0.05, 0.25, 1.25mg·L⁻¹)에서는 95% 이상의 발아율을 나타내었으나, 15.8-31.6%만이 정상적인 식물체로 성장하였다. 또한 GA₃의 농도가 높아질수록 하배축은 신장되었고, 비대생장은 억제되었다. CW 모든 처리구(5, 10, 15, 20%) 중에 CW 10%와 CW 15% 처리구에서는 각각 68.4%와 66.7%로 많은 식물체를 획득할

수 있었다. 또한 줄기의 길이생장, 마디수, 발근수는 CW 10% 처리구에서, 뿌리길이는 CW 15% 처리구에서 양호한 결과를 나타내었다. 따라서 포도 4배체 'Fujiminori'와 3배체 'Summer Black'의 인공교배를 통해 얻어진 미숙배의 발아 및 생장을 위해서는 CW 10-15%를 첨가한 MS 배지를 이용한 배배양이 효과적이다.

추가 주요어 : 인공교배, coconut water, 배발아, GA₃, 식물체 획득

인용문헌

- Emershad, R.L. and D.W. Ramming. 1984. *In-ovulo* embryo culture of *Vitis vinifera* L. cv. 'Thompson seedless'. Amer. J. Bot. 71:873-877.
- Gray, D.J., L.C. Fischer, and J.A. Mortensen. 1987. Comparison of methodologies for *in ovulo* embryo rescue of seedless grapes. HortScience 22:1334-1335.
- Guo, Y.S., Y.H. Zhao, K. Li, Z.D. Liu, H. Lin, X.W. Guo, and C.X. Li. 2011a. Embryo rescue of crosses between diploid and tetraploid grape cultivars and production of triploid plants. Afr. J. Biotechnol. 10:19005-19010.
- Guo, Y.S., Y.H. Zhao, K. Li, Z.D. Liu, H. Lin, X.W. Guo, and C.X. Li. 2011b. In vitro embryo rescue culture of F₁ progenies from crosses between tetraploid grape and *Vitis amurensis* Rupr. Afr. J. Agr. Res. 6:4906-4909.
- Gwon, S.B., I.J. Kim, N.Y. Eom, J.H. Yi, Y.S. Park, S.Y. An, G.S. Kim, and S.M. Park. 2009. Breeding of the seedless triploid grape cultivar cheonghyang (*Vitis* sp.). Kor. J. Hort. Sci. Technol. 27:125.
- Heo, J.Y. 2008. Study for improvement and their fruit quality and breeding of triploid hybrids with high quality by interploid crosses between tetraploid and diploid grapes. Masters thesis. Kangwon National Univ., Chuncheon, Korea.
- Heo, J.Y., K.S. Park, H.K. Yun, and S.M. Park. 2007. Degree of abortion and germination percentage in seeds derived from interploid crosses between diploid and tetraploid grape cultivars. Hort. Environ. Biotechnol. 48:115-121.
- Hong, S.Y., Y.S. Lee, and T.S. Kim. 1999. Seedless grape breeding by ovule culture. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 17:669.
- Kang, J.S., J.H. Lee, and I.S. Choi. 2007. Influence of plant growth regulators on the formation of lateral roots and hypocotyl enlargement in soybean sprouts. J. Bio-Environ. Control. 16:47-53.
- Kim, S.Y. and M.W. Han. 1999. Effect of organic additive on asymbiotic seed germination of *Dendrobium antennatum*. Kor. J. Intl. Agri. 11:335-339.
- Kumar, A., S. Sharma, and D.S. Gill. 2001. Ovulo embryo culture in grapes-a review. Agr. Rev. 22:127-131.
- Kwon, H.J. 1988. Effects of gibberellins on the secondary root growth and shoot growth, yield of tobacco plants. Masters thesis. Chungbuk National Univ., Cheongju, Korea.
- Liu, S.M., S.R. Sykes, and P.R. Clingeffer. 2003. Improved in ovulo embryo culture for stenopermocarpic grapes (*Vitis vinifera* L.). Austral. J. Agr. Res. 54:869-876.
- Motosugi, H. and T. Naruo. 2003. Production of triploid grape rootstocks by embryo culture and their growth characteristics. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 72:107-115.
- Notsuka, K., T. Tsuru, and M. Shiraish. 2001. Seedless-seedless grape hybridization via in-ovulo embryo culture. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 70:7-15.
- Paek, K.Y., K.W. Kim, C.G. Kim, Y.G. Park, W.Y. So, S.H. Son, J.G. Son, G.B. Sim, Y.H. An, J.S. Eun, Y.B. Lee, J.S. Lee, C.H. Lee, H.T. Im, J.D. Jung, S.O. Ji, B.H. Han, E.J. Han, J.W. Heo, and B. Hwang. 2008. Singo plant tissue culture technique. Hyangmun Publ., Seoul, Korea.
- Park, K.S. 2002. Investigation on induction mechanism of seedlessness and improvement of breeding efficiency for seedless grape (*Vitis* spp.) varieties. PhD Diss. Seoul National Univ., Seoul, Korea.
- Park, K.S., H.K. Yun, J.H. Rho, Y.J. Choi, and H.J. Lee. 2005. Development of ovule culture system for breeding new seedless cultivars from stenopermocarpic grapes. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 46:147-152.
- Park, S.M. 2007. Development of storage technique and breeding of seedless grapes with high quality for exportation. MIFAFF, Gwacheon, Korea.
- Park, S.M. 2011. Breeding of a seedless table grape cultivar 'Heukisul' (*Vitis* sp.) with high quality. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 29:507-509.
- Park, S.M., J.Y. Heo, S.J. Yun, Y.S. Park, and C.S. Jeong. 2004. Degree of abortion and germinating rates in triploid seeds derived from crosses between diploid and tetraploid grapes. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 22:60.
- Ramming, D.W. 1990. The use of embryo culture in fruit breeding. HortScience 25:393-398.
- Rhee, W.Y., Y.H. Cho, and K.Y. Paek. 1997. Effect of BA and GA on embryo germination from ovule culture in intergeneric hybrids between *Brassica* and *Raphanus*. Kor. J. Plant Tissue Cult. 24:257-262.
- Spiegel-Roy, P., N. Sabar, J. Baron, and U. Lavi. 1985. In vitro culture and plant formation from grape cultivars with abortive ovules and seeds. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110:109-112.
- Valdez, J.G. and S.M. Ulanovsky. 1997. In vitro germination of stenopermic seeds from reciprocal crosses (*Vitis vinifera* L.) applying different techniques. Vitis 36:105-107.
- Valdez, J.G. 2005. Immature embryo rescue of grapevine (*Vitis vinifera* L.) after an extended period of seed trace culture. Vitis 44:17-23.
- Van Overbeek, J., M.E. Conklin, and A.F. Blakeslee. 1941. Factors in coconut milk essential for growth and development of very young *Datura* embryos. Science 94:350-351.
- Van Overbeek, J., M.E. Conklin, and A.F. Blakeslee. 1942. Cultivation in vitro of small *Datura* embryos. Amer. J. Bot. 29:472-477.
- Wakana, A., M. Hiramatsu, S.M. Park, N. Hanada, I. Fukudome, and B.X. Ngo. 2002. Degree of abortion and germination rates in triploid seeds from crosses between diploid and tetraploid grapes (*Vitis vinifera* L. and *V. complex*). J. Fac. Agr. Kyushu Univ. 46:281-294.
- Wakana, A., M. Hiramatsu, S.M. Park, N. Hanada, I. Fukudome, and K. Yasukochi. 2003. Seed abortion in crosses between

- diploid and tetraploid grapes (*Vitis vinifera* and *V. complex*) and recovery of triploid plants through embryo culture. J. Fac. Agr. Kyushu Univ. 48:39-50.
- Yamashita, H., T. Haniuda, and H. Shiba. 1995. In vitro culture of embryos obtained by crossing tetraploid grape cultivar 'Kyoho' with diploid cultivars. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 63:719-724.
- Yamashita, H., I. Shigehara, and T. Haniuda. 1998. Production of triploid grapes by *in ovulo* embryo culture. Vitis 37:113-117.
- Yang, D., W. Li, S. Li, X. Yang, J. Wu, and Z. Cao. 2007. In vitro embryo rescue culture of F₁ progenies from crosses between diploid and tetraploid grape varieties. Plant Growth Regul. 51:63-71.
- Yong, J.W.H., L. Ge, Y. Fei, Y.F. Ng, and S.N. Tan. 2009. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. Molecules 14:5144-5164.