

포플라 잎절편의 부정아 분화에 미치는 Polyamine의 영향

金成鎬[§] · 金明苑* · 康榮燾 · 姜濱求 · 李舜熙

(延世大學校 理科學科 生物學科, *文理大學 生物學科)

Effects of Polyamines on Adventitious Shoot Regeneration from *Populus* Leaf Segments

Kim, Sung Ho[§], Myeong Won Kim*, Young Hee Kang, Bin G. Kang and Sun Hi Lee

(Department of Biology, Yonsei University, Seoul and *Department of Biology, Yonsei University, Wonju)

ABSTRACT

Effects of polyamines and their biosynthetic inhibitors on adventitious shoot regeneration of *Populus* leaf segments were investigated. Polyamine inhibitors such as difluoromethyl arginine (DFMA), difluoromethyl ornithine (DFMO), and dicyclohexylamine (DCHA) decreased the fresh weight of cultured leaf segment and the rate of adventitious shoot regeneration. The inhibitory effects of DCHA were stronger than any other polyamine inhibitors, and the rest were in the order of DFMO and DFMA. The inhibitory effects of these inhibitors were lessened or disappeared by the addition of polyamines, among which spermidine was the highest in its effect. Therefore, it is suggested that the spermidine may be related to the adventitious shoot regeneration of *Populus* leaf segments.

서론

식물 조직배양을 통한 분화과정에는 몇가지 유형의 극성(polarity)이 존재한다(Paterson, 1983). 그 중의 하나는 식물의 잎이나 잎의 절편에서 식물의 각 기관이 재생되는 것인데, 이러한 재생은 대부분 잎의 절단면에서 방향성 있게 일어난다. 그러나 그 방향성이 일정한 것은 아니고 식물의 종에 따라 상이하하며, 포플라(*Populus nigra* var. *betulifolia* × *Populus trichocarpa*)는 잎절편의 기부 절단면에서 여러 기관의 분화가 일어나는 대표적인 식물로 알려져 있다(Douglas, 1985; Rutledge and Douglas, 1988; Cheema, 1989; Colemann and Ernst, 1989).

조직배양을 통한 기관분화과정에서 식물 호르몬의 중요성은 널리 인식되어 있는 사실이다. 특히, cytokinin은 shoot의 분화를 촉진하는 반면 뿌리의 형성을 억제하고 au-

xin은 그 반대의 작용을 하는 것으로 알려져 있다(Paterson and Rost, 1981; Lee-Stadelmann *et al.*, 1989). 또한, auxin과 cytokinin의 비율이 기관분화과정에서 중요한 역할을 하여 auxin에 대한 cytokinin의 상대값이 클 때에는 shoot가 분화되며, 그 값이 작을 때에는 뿌리가 분화된다는 것이 일반적인 견해이다(Skoog and Miller, 1957; Paterson, 1983). 그러나 최근 이와 같은 식물 호르몬 이외에도 생체내에서 합성되는 여러 종류의 물질들이 식물의 기관분화과정에서 또한 중요한 역할을 한다고 보고되고 있다(Smith, 1985; Evans *et al.*, 1988). 이러한 물질 중의 하나로서 식물, 동물 및 미생물에 모두 존재하는 것으로 확인된 polyamine은 생명현상의 유지에 필수적이며 또한 이들의 성장과 분화과정에 깊이 연관되어 있는 것으로 알려져 있다(Altman *et al.*, 1982; Phillips *et al.*, 1987; Sanjeev *et al.*, 1989). 특히, polyamine은 식물의 경우 분화와 발생과정에 관여하여 세포분열 촉진(Torrigiani *et al.*, 1987; Walker *et al.*, 1988), 발근 촉진(Jarvis *et al.*, 1985), 화분관 성장 촉진(Bagni *et al.*, 1981; Prakash *et al.*, 1988), 배 발생 유도(Montague *et al.*, 1978; Feirer *et al.*, 1984)

본 연구는 1990년도 교육부 기초과학육성연구비 지원에 의한 것임.

[§] 현소속: 서남대학교 생물학과

등의 기능도 나타낸다.

Polyamine 생합성의 조절효소는 arginine decarboxylase (ADC)와 ornithine decarboxylase (ODC)로 알려져 있으며, diamine oxidase (DAO)와 polyamine oxidase (PAO)에 의하여 pyrroline과 H_2O_2 그리고 ammonium 이온으로 분해된다(Smith, 1985; Hashimoto *et al.*, 1990).

Polyamine의 생합성을 억제하는 물질에는 difluoromethyl arginine (DFMA), difluoromethyl ornithine (DFMO), dicyclohexylamine (DCHA), 그리고 methylglyoxal bis-guanylhydrazone (MGBG) 등이 있다. DFMA와 DFMO는 각각 arginine decarboxylase와 ornithine decarboxylase의 비가역적 억제 물질이며 (Smith, 1985; Tiburico *et al.*, 1987), DCHA와 MGBG는 각각 spermidine synthase와 S-adenosylmethionine decarboxylase의 활성에 대한 비가역적 억제 물질로 알려져 있다(Kaur-Sawney *et al.*, 1985; Evans and Malmberg, 1989). 이들 억제 물질은 polyamine의 생리적 기능과 합성 경로를 밝히는데 효과적으로 사용되고 있다.

본 연구자들은 전보(Kim *et al.*, 1990)에서 포플라 잎 절편의 기부 절단면으로부터 부정아가 방향성 있게 분화될 때 spermidine의 함량과 ODC의 활성도 증가를 통해 부정아 분화와 polyamine과의 상호 연관 가능성에 대하여 시사한바 있으나 단지 부정아 분화과정 중 spermidine의 함량과 ODC의 활성도 증가만으로는 그 증거가 미비하다고 사료된다. 따라서 본 연구에서는 polyamine 생합성 억제제의 처리에 의한 부정아의 분화 양상을 조사함으로써 포플라 잎절편으로부터 부정아 분화시 polyamine의 연관성 여부를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료. Kim 등(1990)의 실험재료와 동일하게 포플라 (*Populus nigra* var. *betulifolia* × *Populus trichocarpa*)를 온실에서 재배하여 정아로부터 아래쪽 3번째 잎 중 길이 3 cm 정도의 어린 잎을 부정아 분화의 재료로 사용하였다.

부정아 유도. 부정아는 Kim 등(1990)과 같은 방법으로 포플라 잎에서 취한 절편을 무기염류와 vitamin 그리고 NAA, BA 등의 식물 호르몬을 포함하는 목본식물 배양배지(Russel and McCown, 1986)에서 배양하면서 유도하였다. 절편의 제조는 포플라 잎을 70% ethanol과 0.5% sodium hypochlorite로 멸균처리하고 증류수로 세척한 후 주맥을 중심으로 0.8×1.7 cm의 절편을 취한 다음 절편 3개를 30 ml의 배지에서 배양하였다. 배양 조건은 18시간의 광기와 6시간의 암기로 하였으며 온도는 $27 \pm 1^\circ C$ 로 유지하였다.

부정아 분화의 측정. 포플라 잎절편을 부정아 유도

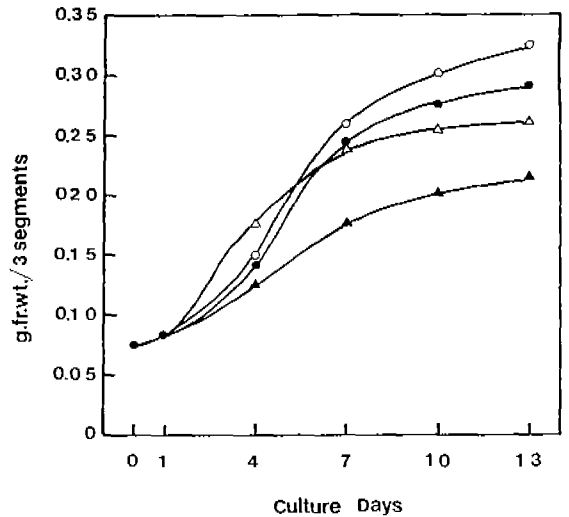


Fig. 1. Effects of 1 mM polyamine inhibitors on fresh weight during adventitious shoot regeneration as a function of culture time.

○—○, control; ●—●, DFMA; △—△, DFMO; ▲—▲, DCHA.

배지에서 배양하였을 때 배양 후 2주 정도에서 분화되는 부정아는 전보(Kim *et al.*, 1990)의 결과와 같이 그 분화 현상 자체가 유관으로도 명확히 구분될 수 있으므로 부정아 분화의 개시일은 배양 절편을 매일 정시에 관찰하여 분화가 일어난 시기로 정하였다.

Polyamine 생합성 억제제의 처리. Polyamine 생합성 억제제의 처리는 Feirer 등(1984)의 방법을 이용하여 목본식물 배양배지에 DFMA, DFMO, DCHA를 각각 0.5 mM, 1 mM씩 처리하였고 배양조건은 부정아 유도시와 같게 하였다.

결과 및 고찰

Polyamine의 생합성 억제제가 부정아 분화시 생증량에 미치는 영향. Polyamine과 polyamine의 생합성 억제제가 포플라 잎절편의 부정아 분화에 미치는 영향에 대하여 연구하기 앞서 polyamine의 생합성 억제제가 배양과정 자체에 영향을 미칠 수 있는가를 알아보기 위하여 배양과정 중 polyamine의 생합성 억제제가 잎절편의 생증량에 미치는 영향에 대하여 조사하였다.

포플라 잎절편으로부터 부정아의 분화가 유도되는 동안 DFMA, DFMO, DCHA 등의 polyamine 생합성 억제제는 모두 절편의 생증량을 억제하였다(Fig. 1). 특히, DFMA와 DEMO 보다는 DCHA의 생증량에 대한 억제효과가 가장 컸는데 이는 포플라 잎절편 배양의 경우 spermidine이

Table 1. Effects of 0.5 mM DFMA, DFMO and DCHA on adventitious shoot regeneration from *Populus* leaf segments

Treatment	Days after culture											
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
	Adventitious shot regeneration(%)											
Control	2	9	26	40	18	3						
DFMA	2	8	21	33	15	4	2	1				
DFMO		3	8	14	24	16	8	6	3			
DCHA					3	9	12	20	16	10	3	

The total numbers of cultured segments were 200 at each experiment. The hormone composition of woody plant culture medium was 0.2 mg/l BA and 0.01 mg/l NAA. The table shows the results of representative experiment that was repeated on two other occasions with similar results.

Table 2. Effects of 1 mM DFMA, DFMO and DCHA on adventitious shoot regeneration from *Populus* leaf segments

Treatment	Days after culture												
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
	Adventitious shot regeneration(%)												
Control	2	9	26	40	18	3							
DFMA			1	3	13	29	13	11	7				
DFMO			3	5	9	22	16	5	4	2			
DCHA					3	6	11	18	10	5	3	2	

The total numbers of segments were 200 at each experiment. The hormone composition of woody plant culture medium was 0.2 mg/l BA and 0.01 mg/l NAA. The table shows the results of representative experiment that was repeated on two other occasions with similar results.

생증량과 가장 밀접한 연관이 있음을 시사하여 준다. 그러나, polyamine의 생합성 억제제에 의한 배양 절편의 생증량 감소 자체가 부정아 과정에서 어떠한 의미를 가지는지는 분명치 않다.

Polyamine의 생합성 억제제가 부정아 분화 양상에 미치는 영향. 포플라 잎절편으로부터 부정아의 분화시 polyamine 생합성 억제제가 잎절편의 생증량을 억제하는 결과(Fig. 1)로부터 polyamine의 생합성 억제제가 포플라 잎절편의 부정아 분화과정에도 영향을 미칠 것이라는 가능성이 제시되었으며 이러한 사실을 기초로 전보(Kim *et al.*, 1990)에서 부정아 분화시 부정아가 유도되는 절편 하단부위에서 나타난 spermidine의 함량과 ODC의 활성도 증가가 포플라 잎절편으로부터 부정아가 분화되는 과정에서 어떠한 의미를 가지며 또한 polyamine과 부정아 분화 과정과의 상호 연관성 여부를 규명하기 위하여 polyamine 생합성 억제제의 처리에 의한 부정아 분화의 변화 양상에 대하여 조사하였다.

대조구에서는 98%의 분화율을 나타낸 반면 0.5 mM의 DFMA, DFMO 및 DCHA를 처리하였을 때에는 부정아의 분화율이 감소하였으며 0.5 mM DCHA에 의해서는 부정아의 분화율이 24% 감소하였다. 또한, 0.5 mM의 polyamine

생합성 억제제에 의하여 부정아의 분화율이 감소할 뿐만 아니라 부정아가 분화되기 시작하는 시기도 지연되어 0.5 mM DFMO에 의해서는 대조구보다 24시간 늦은 배양 후 14일부터 부정아가 분화되기 시작하였으며, 0.5 mM DCHA에 의해서는 대조구보다 4일이 지연된 배양 후 17일부터 부정아가 분화되기 시작하였다. 이와는 대조적으로 0.5 mM DFMA는 부정아의 분화 개시 시기를 지연시키지는 않았다(Table 1).

Polyamine 생합성 억제제의 농도를 2배로 증가시켜 1 mM의 DFMA, DFMO, DCHA를 배지에 처리하였을 때에는 부정아의 분화 억제효과가 더욱 크게 나타났다(Table 2). 1 mM의 DFMA를 배지에 처리하였을 때에는 0.5 mM의 DFMA 처리시보다 10%가 더 억제된 77%의 분화율을 나타내어 대조구보다는 21%가 억제되었다. 또한, 0.5 mM의 DFMA 처리에 의해서는 나타나지 않았던 분화 개시 시기의 지연 현상이 나타나 대조구보다 2일이 늦은 배양 후 15일째부터 부정아가 분화되기 시작하였다. 1 mM DFMO의 처리시에는 0.5 mM의 DFMO를 처리하였을 때의 분화율 83%보다 16%가 더 억제된 67%의 분화율을 나타내어 대조구보다는 31%가 억제되었다. 부정아가 분화하기 시작하는 시기는 0.5 mM DFMO 처리시보다 24시간 더 지연된

Table 3. Effects of DFMA and polyamines on adventitious shoot regeneration from *Populus* leaf segments

Treatment	Days after culture									
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
	Adventitious shot regeneration(%)									
Control	2	9	26	40	18	3				
0.5 mM DFMA	2	8	21	33	15	4	2	1		
1 mM DFMA			1	3	13	29	13	11	7	
1 mM DFMA+0.1 mM putrescine	1	6	19	32	17	4	3	1		
1 mM DFMA+0.5 mM putrescine	3	8	22	36	14	5	3			
1 mM DFMA+0.1 mM spermidine	2	8	20	39	16	4	4			
1 mM DFMA+0.5 mM spermidine	5	19	44	24	6					

The total numbers of segments were 200 at each experiment. The hormone composition of woody plant culture medium was 0.2 mg/l BA and 0.01 mg/l NAA. The table shows the results of representative experiment that was repeated on two other occasions with similar results.

Table 4. Effects of DFMO and polyamines on adventitious shoot regeneration from *Populus* leaf segments

Treatment	Days after culture										
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
	Adventitious shot regeneration(%)										
Control	2	9	26	40	18	3					
0.5 mM DFMO		3	8	14	24	16	8	6	3		
1 mM DFMO			3	5	9	22	16	5	4	2	
1 mM DFMO+0.1 mM putrescine			2	7	13	25	18	7	3	1	
1 mM DFMO+0.5 mM putrescine			3	6	16	34	18	6	2		
1 mM DFMO+0.1 mM spermidine			6	11	21	26	12	7	4		
1 mM DFMO+0.5 mM spermidine			7	16	26	34	12	4			

The total numbers of segments were 200 at each experiment. The hormone composition of woody plant culture medium was 0.2 mg/l BA and 0.01 mg/l NAA. The table shows the results of representative experiment that was repeated on two other occasions with similar results.

배양 후 15일이었다. 1 mM DCHA의 처리에 의해서는 대조구의 절반 정도인 56%의 분화율 나타내었으며, 부정아의 분화는 대조구보다 4일이 늦은 배양 후 17일째부터 시작되었다.

이와 같이 polyamine 생합성 억제제의 처리에 의해서 부정아의 분화율이 감소하고 또한 부정아의 분화 개시 시기가 지연되는 것으로부터 polyamine은 포플라 잎절편의 부정아 분화과정과 연관되어 있는 것으로 사료된다. 또한 전보(Kim *et al.*, 1990)에서 포플라 잎절편으로부터 부정아가 정상적으로 유도되는 과정 중에 polyamine의 함량이 증가한 것과 본 연구에서 polyamine 생합성 억제제에 의하여 부정아의 분화율이 억제되는 것으로 보아 polyamine은 포플라 잎절편의 부정아 분화시 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다. 이와 같은 논리는 polyamine 생합성 억제제를 사용하여 polyamine의 생리적 역할을 규명하고자 하는 많은 연구자들의 실험적 결과에 의해서도 뒷받침된다.

Kaur-Sawney 등(1985)은 *Vigna* 배양의 경우 DFMA, DFMO, DCHA 등의 polyamine 생합성 억제제를 처리하면 polyamine의 함량 감소에 연이어 세포분열과 분화과정이 둔화되며 polyamine 생합성 억제제의 농도를 감소시키거나 제거하면 polyamine의 함량 증가와 함께 세포분열과 분화과정이 정상화되는 것으로부터 분화과정에 대한 polyamine의 연관성에 대하여 주장하였다. 또한, Feirer 등(1984)은 당근 배양세포에서 배 발생이 일어나는 과정 중 1 mM의 DFMA를 처리하면 배 발생율이 50% 정도로 감소하며 여기에 다시 polyamine을 처리하면 DFMA의 억제효과가 상쇄되는 것으로부터 당근 배양세포의 배 발생에서 polyamine이 중요한 역할을 한다고 보고한 바 있다.

Polyamine이 polyamine 생합성 억제제에 의한 부정아 분화 억제에 미치는 영향. Polyamine의 생합성 억제제가 부정아의 분화를 억제한다면 이러한 억제 현상은 polyamine의 처리에 의하여 회복될 것으로 기대된다. 따라서

Table 5. Effects of DCHA and polyamines on adventitious shoot regeneration from *Populus* leaf segments

Treatment	Days after culture											
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
	Adventitious shoot regeneration(%)											
Control	2	9	26	40	18	3						
0.5 mM DCHA					3	8	12	20	16	10	3	
1 mM DCHA					3	6	11	18	10	5	3	2
1 mM DCHA+0.1 mM putrescine					5	6	12	21	12	8	2	
1 mM DCHA+0.5 mM putrescine			1	3	9	12	19	13	8	3		
1 mM DCHA+0.1 mM spermidine	2	8	17	27	14	9	3					
1 mM DCHA+0.5 mM spermidine	3	7	21	30	21	12	3					

The total numbers of segments were 200 at each experiment. The hormone composition of woody plant culture medium was 0.2 mg/l BA and 0.01 mg/l NAA. The table shows the results of representative experiment that was repeated on two other occasions with similar results.

부정아의 분화에 대한 억제효과가 높게 나타났던 1 mM의 polyamine 생합성 억제제와 함께 polyamine을 처리한 후 부정아가 유도되는 양상에 대하여 조사하였다. 대조구의 98% 분화율에 비하여 1 mM의 DFMA를 처리하였을 때에는 분화율이 77%로 감소하였으나 1 mM DFMA와 함께 0.1 mM putrescine, 0.5 mM putrescine, 0.1 mM spermidine, 0.5 mM spermidine을 처리하였을 때에는 분화율이 각각 83, 91, 93, 98%로 나타나 1 mM DFMA에 의한 억제효과를 각각 5, 14, 16, 21% 회복시켰다(Table 3). 0.5 mM spermidine의 처리시에는 대조구와 같은 수준까지 부정아가 분화되어 1 mM DFMA의 억제효과를 완전히 상쇄시켰다. 1 mM의 DFMO는 1 mM DFMA보다 부정아 분화에 대한 억제효과가 더 컸으나 이것도 polyamine의 처리에 의해 회복되었다(Table 4). 1 mM DFMO와 함께 0.1 mM putrescine을 처리하였을 때에는 분화율이 76%로 나타나 1 mM DFMO 단독처리시의 분화율 65%보다 11%가 증가하였으며, 0.5 mM putrescine에 의해서는 20%, 0.1 mM spermidine에 의해서는 22%, 그리고 0.5 mM spermidine의 처리에 의해서는 34%가 증가된 99%의 분화율을 나타냄으로써 0.5 mM spermidine은 1 mM DFMO의 부정아 분화 억제효과를 완전히 상쇄시켰다. 1 mM DCHA에 의한 부정아의 분화 억제는 putrescine에 의해서 크게 회복되지 못하였으나 spermidine은 DCHA의 억제효과를 상당히 경감시켰다(Table 5). 대조구의 98% 분화율에 비하여 1 mM DCHA에 의해서는 42%가 감소된 55%의 부정아 분화율을 나타냈으나 이것이 0.1 mM putrescine에 의해서는 10%, 0.5 mM putrescine에 의해서는 12%가 증가되어 각각 66%, 68%의 분화율을 나타냈다. 또한 0.1 mM DCHA 처리시의 분화율 56%가 0.1 mM spermidine의 처리에 의하여 78%로 증가하였으며 0.5 mM의 spermidine을 처리하였을 때에는 부정아의 분화율이 97%로 회복되어 1 mM

DCHA의 부정아 분화에 대한 억제효과가 완전히 상쇄되었다. 한편, 0.1 mM putrescine의 처리는 1 mM DCHA의 분화 지연효과를 앞당기지 못하였고 0.5 mM putrescine 1 mM DCHA에 의한 4일간의 분화개시 시기의 지연을 2일간 단축시켜 배양 후 15일에서 부정아의 분화가 시작되게 하였으나 0.1 mM, 0.5 mM spermidine의 처리에 의해서는 분화 개시 시기도 대조구와 같은 배양 후 13일로 정상화되었다.

이상과 같이 DFMA, DFMO, DCHA에 의한 부정아 분화 억제효과(Tables 1 and 2)가 polyamine에 의하여 경감 내지 상쇄되는 결과(Tables 3~5)로부터 polyamine은 포플라 잎절편의 부정아 분화시 하나의 필수적인 요인으로 작용한다고 사료된다. 특히 0.5 mM putrescine과 0.1 mM spermidine의 효과가 유사하게 나타나는 것과 spermidine이 polyamine 생합성 억제제에 의한 부정아 분화 억제를 가장 효율적으로 회복시켜 주는 것은 부정아 분화과정의 경우 putrescine보다 spermidine이 더 중요한 역할을 한다는 것을 의미하는 것으로 이러한 결과는 putrescine은 주로 세포신장에 관계하며, spermidine은 세포분열과 기관 분화과정에 관여 한다는 기존의 연구 결과(Feirer *et al.*, 1984; Smith, 1985; Tiburcio *et al.*, 1987; Evans and Malmberg, 1989)와도 일치하는 것이라 할 수 있다. 또한, 1 mM DFMA와 함께 polyamine을 처리하였을 때에는 1 mM DFMA에 의한 부정아 분화 시기의 지연이 원상태로 되었으나 1 mM DEMO와 함께 polyamine을 처리하였을 때에는 1 mM DFMO에 의한 분화 시기의 지연이 대조구와 같은 상태로 회복되지 못했다. 이것은 DFMA보다는 DFMO가 분화를 억제하는데 더 효과적이며, 부정아의 분화과정에는 ornithine decarboxylase에 의한 polyamine의 합성 경로가 arginine decarboxylase의 경로보다 더 중요함을 의미하는 것을 시사하는 것으로서 이러한 결과는 전보

(Kim *et al.*, 1990)에서 부정아가 유도되는 절편 하단부 위에서 ornithine decarboxylase의 활성도가 급격히 증가하는 것과 일치하는 결과이기도 하다.

이상의 결과로부터 polyamine은 포플라 잎절편의 부정아 분화과정과 연관되어 있으며, 특히 spermidine은 부정아의 분화를 위한 필수적인 요소 중의 하나로 작용한다고 사료된다. 그러나 그 작용기작에 대해서는 앞으로 많은 연구가 이루어져야 한다고 생각된다.

적 요

Polyamine과 polyamine의 생합성 억제제가 포플라(*Populus nigra* var. *betulifolia* × *Populus trichocarpa*) 잎절편의 부정아 분화에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다. Polyamine의 생합성 억제 물질인 DFMA, DFMO 및 DCHA를 배지에 각각 1 mM의 농도로 처리하였을 때 포플라 잎절편의 생증량 감소와 함께 부정아의 분화율이 감소하였고 부정아가 분화되는 시기도 지연되었다. 특히, 부정아 분화에 대한 억제효과는 DCHA가 가장 강하였으며 그 다음 DFMO, DFMA의 순서로 나타났다. 한편, polyamine 생합성 억제제에 의한 부정아의 분화 억제 현상이 polyamine의 처리에 의하여 경감 내지는 상쇄되었는데 이 과정에서 spermidine이 가장 효과적으로 작용하였다. 이러한 결과들로부터 polyamine, 특히 spermidine은 포플라 잎절편의 부정아 분화시 하나의 필수적인 요소로 작용한다고 사료된다.

참 고 문 헌

- Altman, A., R. Friedman, D. Adir and N. Nevin. 1982. Polyamine effects and metabolism in plants under stress conditions. *In*, Plant Growth Substances. Academic Press, New York. pp. 483-494.
- Bagni, N., P. Adamo, D. Serafini-Fracassini and V.R. Villanueva. 1981. RNA, proteins and polyamines during tube growth in germinating apple pollen. *Plant Physiol.* **68**: 727-730.
- Cheema, G.S. 1989. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cell suspension and tissue cultures of mature himalian *Populus*. *Plant Cell Reports.* **8**: 124-127.
- Colemann, G.D. and S.G. Ernst. 1989. *In vitro* shoot regeneration of *Populus deltoides*: effect of cytokinin and genotype. *Plant Cell Reports.* **8**: 459-462.
- Douglas, G.C. 1985. Formation of adventitious buds in stem internodes of *Populus* hybrid TT32 cultured *in vitro*. Effects of sucrose, zeatin, IAA and ABA. *J. Plant Physiol.* **121**: 225-231.
- Evans, P.T., B.L. Holaway and R.L. Malmberg. 1988. Biochemical differentiation in the tobacco flower probed with monoclonal antibodies. *Planta* **175**: 259-269.
- Evans, P.T. and R.L. Malmberg. 1989. Do polyamines have roles in plant development? *Ann. Rev. Plant Physiol.* **40**: 235-269.
- Feirer, R., G. Mignon and J. Litvay. 1984. Arginine decarboxylase and polyamines required for embryogenesis in the wild carrots. *Science* **223**: 1433-1435.
- Hashimoto, T.A., Mitani and Y. Yamada. 1990. Diamine oxidase from cultured roots of *Hyoscyamus niger*. *Plant Physiol.* **93**: 216-221.
- Jarvis, B.C., S. Yasmin and M.T. Coleman. 1985. RNA and protein metabolism during adventitious root formation in stem cuttings of *Phaseolus aureus* cultivar Berkin. *Physiol. Plant.* **64**: 53-59.
- Kaur-Sawney R., N.S. Shekhawat and A.W. Galston. 1985. Polyamine levels as related to growth, differentiation and senescence in protoplast-derived cultures of *Vignia aconitifolia* and *Avena sativa*. *Plant Growth Regulation* **3**: 329-337.
- Kim, S.H., M.W. Kim, Y.H. Kang, B.G. Kang and S.H. Lee. 1990. Changes in endogenous polyamine levels during polar regeneration from *Populus* leaf segments. *Korean J. Bot.* **33**: 243-251.
- Lee-Stadelmann, O.Y., S.W. Lee, W.P. Hackett and P.E. Read. 1989. The formation of adventitious buds *in vitro* on micro-cross sections of hybrid *Populus* leaf mid veins. *Plant Sci.* **61**: 263-272.
- Montague, M., J. Koppenbrink and E. Jaworski. 1978. Polyamine metabolism in embryogenic cells of *Daucus carota*. I. Changes in intracellular content and rates of synthesis. *Plant Physiol.* **62**: 430-433.
- Paterson, K. 1983. Polarity of regeneration in excised leaves of *Crassula argentea*. A role of auxin. *Can. J. Bot.* **61**: 1058-1063.
- Paterson, K.E. and T.L. Rost. 1981. Callus formation and organogenesis from cultured leaf segments of *Crassula argentea*: cytokinin induced developmental pattern changes. *Am. J. Bot.* **68**: 965-972.
- Phillips, R., M.C. Press and A. Eason. 1987. Polyamines in relation to cell division and xylogenesis in cultured explants of *Helianthus tuberosus*. *J. Exp. Bot.* **38**: 164-172.
- Prakash, L., P. John, G.M. Nair and G. Prathapasenan. 1988. Effect of spermidine and MGBG on *in vitro* pollen germination and thbe growth in *Catharanthus roseus*. *Ann. Bot.* **61**: 373-375.
- Russell, J.A. and B.H. McCown. 1986. Culture and regeneration of *Populus* leaf protoplasts isolated from non-seedling tissue. *Plant Sci.* **46**: 133-142.
- Rutledge, C.B. and G.C. Douglas. 1988. Culture of meristem tips and micropropagation of 12 commercial clones of poplar *in vitro*. *Physiol. Plant.* **72**: 367-373.

- Sanjeev, J., G. Zon. and M. Sundarlingam. 1989. Base only binding of spermine in the deep groove of the A-DNA octamer d(GTGTACAC). *Biochemistry* **28**: 2360-2364.
- Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.* **11**: 118-131.
- Smith, T.A. 1985. Polyamines. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **36**: 117-143.
- Tiburcio, A.F., R. Kaur-Sawney and A.W. Galston. 1987. Effect of polyamine biosynthetic inhibitors on alkaloids and organogenesis in tobacco callus cultures. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **9**: 111-120.
- Torrigiani, P., D. Serafini-Fracassini and N. Bagni. 1987. Polyamine biosynthesis and effect of dicyclohexylamine during the cell cycle of *Helianthus tuber*. *Plant Physiol.* **84**: 148-152.
- Walker, M.A., D.R. Roberts and E.B. Dumbroff. 1988. Effects of cytokinin and light on polyamines during the greening response of cucumber cotyledons. *Plant Cell Physiol.* **29**: 201-205.

(1991. 11. 25 接受)