

## Eucalyptus pellita 기내발아묘의 부정아 유도에 미치는 BA 및 NAA 효과

김지아<sup>1</sup>, 문홍규<sup>1\*</sup>, 강호덕<sup>2</sup>

<sup>1</sup>국립산림과학원, <sup>2</sup>동국대학교 산림자원학과

### Effect of BA and NAA on Adventitious Bud Induction From *In Vitro* Germinant *Eucalyptus pellita*

Ji-Ah Kim<sup>1</sup>, Heung-Kyu Moon<sup>1\*</sup>, Ho-Duck Kang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Division of Biotechnology, Korea Forest Research Institute (KFRI), Suwon, Gyeonggi-do 441-350, Korea

<sup>2</sup>Department of Forestry Resources, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

**ABSTRACT** This study was conducted to examine the effect of BA and NAA on adventitious bud induction from *in vitro* germinants *E. pellita*. The capacity of adventitious bud formation greatly depends on juvenility and explants origin; the more juvenile materials are the better ability to form adventitious buds even in *in vitro* raised plantlets. In case of *in vitro* germinants, 7 day old plantlets showed a better morphological response than did 14 day old ones in the induction of adventitious buds. The capacity to show morphological response was in decreasing order : cotyledons > petioles > roots. No adventitious buds formed when root segments were used as culture material. And optimum medium appeared to be MS + 0.5 mg/L BA and 0.2 mg/L NAA. Adventitious buds could be developed into multiple shoots and regenerated normal plantlets on DKW medium plus 0.2 mg/L BA and 0.01 mg/L NAA.

**Key words:** Explant type, juvenility, plantlet formation

### 서 론

*Eucalyptus* 속 수종은 도금양과 (Myrtaceae)에 속하는 상록활엽수종으로 약 700여종이 열대 및 아열대지역에서 주로 분포하고 일부는 온대지역에서 생육한다. 대부분 호주가 원산지이며, 생장이 빠르고 재질이 좋을 뿐 아니라 환경적응력이 우수하여 세계의 여러 나라에서 상업적인 목적으로 조림하고 있다 (Eldrigde et al. 1994). *E. pellita*는 호주와 파푸아뉴기니 가 원산지이지만, 브라질, 콩고, 피지, 인도, 인도네시아, 케냐, 남아프리카, 우루과이 등 여러 열대 나라에서 도입하여 많이 식재하고 있다. 목재의 용도가 다양하여 토목용, 건축재, 장식재 및 핵판재료로 사용하며 앞에서 추출한 기름은 공업용 및 미용용품의 유용한 재료가 된다 (Bootle 1983).

부정아 유도는 간접적인 기관형성의 한 방법으로 사용되고 있으며, 여러 가지 유칼리 속 수종에서도 부정아 유도를 통한 식물체 재분화가 보고되고 있다. 1960년에서 1991년 사이 약 30편이 발표되었고, 그 후 최근에 이르기 까지 약 15편의 논문이 발표되었다 (Watt et al. 2003). 초기 연구의 대부분은 부정아 유도에 미치는 생장조절제의 효과를 다루고 있는데, 특히 zeatin (약 35%) 과 IAA (약 50%)의 처리 효과를 비교한 것이 많으며 (Le Roux and Van Staden 1991), 90년대 이후 최근 까지는 BA 혹은 TDZ와 NAA를 혼용한 시험 결과가 많이 발표되고 있다. 실험에 사용한 절편은 기내 발아묘나 어린 식물을 대상으로 한 것이 대부분이며, 절편은 분화력이 높은 자엽과 배 축을 사용한 빈도가 높게 나타나고 있다. 대표적인 연구 수종으로는 *E. citriodora* (Aneja et al. 1969; Lakshmi Sita 1979; Gupta and Mascarenhas 1983), *E. grandis* (De Fossard et al. 1974; Qin and Kirby 1990; Warrang et al. 1991; Laine and David 1994; Quorin and Vieira 1995;

\*Corresponding author Tel 031-290-1163 Fax 031-290-1020  
E-mail: jesusmhk@hanmail.net

Ito et al. 1996), *E. urophylla* (Tibok et al. 1995), *E. grandis* × *E. urophylla* (Quoirin and Vieira 1995), *E. deglupta* (Ito et al. 1996), *E. nitens* 등 (Bandyopadhyay et al. 1999)이 있다. 부정아 유도 방법은 대량증식을 위한 목적으로 이용되고, 형질전환을 위한 식물체 재분화에 있어서도 유용한 방법이다. *E. pellita*의 기내배양 연구는 최근 몇 편의 결과가 발표되었으나 (Xie et al. 2001; Moon et al. 2003; Kim 2004), 부정아 유도에 대한 연구는 거의 보고되지 않았다. 본 연구는 *E. pellita*의 부정아 유도에 의한 식물체 형성 기법을 개발하고자 기내 발아묘를 재료로 절편에 따른 BA 및 NAA의 효과를 시험하였다.

## 재료 및 방법

### 식물재료

인도네시아 Korindo 그룹의 KTH (Korintiga Hutani)사로부터 *E. pellita* 종자를 도입하여 실험재료로 사용하였다. *E. pellita*의 종자는 크기가 매우 작기 때문에 1.5 ml micro 원심관을 사용하여 표면 살균을 실시하였다. 약 500립의 종자를 micro 원심관에 넣고, 70% EtOH 1분간, 2% NaClO 15분간 침지 시킨 후 멸균수로 3회 세척한 다음 배지에 치상하였다. 발아용 배지는 1/2 MS 배지 (Murashige and Skoog 1962)를 사용하였다. 색액 당 약 50립의 종자를 파종하여 약 광 (광량자속 밀도  $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) 하에서 발아를 유도했다.

### 부정아 유도

파종 7일 및 14일 후 발아된 어린 식물체의 자엽과 상배축, 뿌리를 절편으로 부정아유도를 시험하였다. MS 배지에 생장조절제로 NAA (0.01, 0.2, 0.3, 0.5 mg/L) 및 BA (0.1, 0.3 mg/L)를 공조 처리하여 총 8조합을 두었다. 탄소원으로는 3% sucrose, 경화제는 0.3% gelrite를 사용하였다. 약 0.5 cm 크기의 자엽은 중심맥을 기준으로 이등분하여 2개의 절편으로 나누어 잎의 뒷면이 배지에 접촉되도록 치상하였다. 상배축과 뿌리는 약 0.4 cm의 길이로 잘라 배지에 수평으로 치상하였다. 절편은 색액 당 8~10개씩 치상하여 3 반복을 하였으며, 배양 5주 후 부정아 형성을 조사하였다. 모든 배지는 멸균전 pH를 5.7~5.8로 맞춘 후 121°C에서 20분간 멸균하였고, 일회용 플라스틱 색액 (90×15 mm)에 25 ml씩 분주하여 사용하였다. 배양은 온도 24±2°C로 유지되는 배양실에서 처음 1주일간은 암배양으로, 그 후에는 광조건 ( $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  냉백색 형광등, 16시간 조명)으로 배양하였다.

### 줄기유도 및 발근

배양 4주 후 부정아가 유도된 절편을 DKW 배지 (Driver and Kuniyuki 1984)에 0.2 mg/L BA 와 0.01 mg/L NAA를 처리하여 부정아의 생장 및 줄기 유도를 관찰하였다. 각 색액에 5~6개의 절편을 치상하였으며, 배지의 갈변화가 심하여 2주마다 동일한 새로운 배지로 갈아주었다. 약 4주 후 0.5~1.0 cm 크기로 발달한 식물체를 크기가 큰 유리병 (100×50 mm) 배지로 옮겨 다경 유도와 발근을 도모하였다.

### 조직검경

절편체의 배양 초기부터 약 1주의 간격으로 자엽 절편을 채취하여 1.5% glutaraldehyde와 1.6% paraformaldehyde가 포함된 고정액 (pH 6.8)에 넣어 4°C에서 24~48시간 동안 고정시켰다. 다음 ethanol 농도별 (30, 50, 70, 80, 90, 95, 100%)로 탈수한 다음 glycol methacrylate (Technovit 7100, Kluzer, Germany)에 포매하였다 (Yeung 1999). Autocut microtome (Leica RM 2165, Germany)을 이용하여 3 μm의 두께로 박편을 만들어 슬라이드 글라스에 고정시켰다. 다음 0.1% periodic acid-Schiff's (PAS)를 사용하여 carbohydrates를 염색한 후, 0.05% toluidine blue O로 5분 동안 2차 염색하였다. 광학현미경 (Leica DMR, Germany) 하에서 조직을 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

### 캘러스 및 부정아 유도

캘러스 형성 및 부정아 유도는 기내 발아묘의 배양시기에 따라 다르게 나타났다. 7일된 발아묘의 절편은 배양 후 약 5~7일 후부터 절단면에서 캘러스가 형성된 반면 14일된 발아묘는 1주 정도 늦게 캘러스가 형성되었다. 4 주 후의 캘러스의 형성율은 절편에 따른 큰 차이 없이 양호하게 형성되었으며 BA 농도보다는 NAA의 농도에 따라 다소 영향을 받는 것으로 나타났다. 즉 NAA 0.01 mg/L와 0.2 mg/L가 처리에서는 절편체 종류에 관계없이 캘러스 형성이 다소 늦게 이루어지고 캘러스 형성빈도가 낮은 것으로 나타났으며, NAA 농도 0.5 mg/L 및 1.0 mg/L에서는 캘러스 형성이 다소 빠르고 형성빈도가 높은 것으로 나타났다 (Table 1, 2).

절편에 따라 캘러스 형성율의 차이가 크지 않은 것으로 나타났으나 자엽과 배축절편이 캘러스 형성 및 생장이 양호하고 뿌리절편의 캘러스는 생장이 저조한 것으로 나타났다. 캘러스는 어느 절편에서나 백색과 연녹색을 띠고, 단단

**Table 1.** Effect of BA and NAA on adventitious bud induction from 7 day old seedlings germinated *in vitro*

Explants	PGR's (mg/L)		Callus (%)	% of adventive bud	Mean no. buds/explant
	BA	NAA			
Cotyledon	0.2	0.01	83.0	7.0	1.3
	0.2	0.2	100	3.0	1.0
	0.2	0.5	100	0	0
	0.2	1.0	100	0	0
	0.5	0.01	100	35.0	5.7
	0.5	0.2	100	44.0	5.5
	0.5	0.5	97.0	0	0
	0.5	1.0	100	0	0
	0.2	0.01	59.0	0	0
	0.2	0.2	98.0	0	0
Hypocotyl	0.2	0.5	100	4.0	1.0
	0.2	1.0	100	3.0	1.0
	0.5	0.01	95.0	0	0
	0.5	0.2	95.0	14.0	4.2
	0.5	0.5	100	3.0	1.0
	0.5	1.0	100	0	0
	0.2	0.01	71.0	0	0
	0.2	0.2	100	0	0
Root	0.2	0.5	100	0	0
	0.2	1.0	100	0	0
	0.5	0.01	100	0	0
	0.5	0.2	100	0	0
	0.5	0.5	100	0	0
	0.5	1.0	100	0	0

하며, 과수화 되고, 부서지기 쉬운 캘러스가 형성되었으며, 배양기간이 경과하면서 점차 녹색과 백색의 단단한 캘러스로 증식하였다. 4주 후 자엽절편의 캘러스 유도율은 NAA 0.01 mg/L 처리를 제외하고 97% 이상 이었다 (Table 1, 2). 한편 자엽유래의 부정아는 발아묘 배양시기 및 생장조절제에 따라 차이를 나타내었다. 7일된 발아묘의 절편에서는 두 농도의 BA (0.2 및 0.5 mg/L)에 저농도의 NAA (0.01, 0.2 mg/L) 처리시에만 부정아가 유도 되는 것으로 나타났고, BA 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L 조합에서 44%의 가장 높은 부정아 형성을 나타내었다. 14일된 발아묘에서도 이와 유사한 결과가 관찰되었으나, BA 0.2 mg/L + NAA 0.5 mg/L 조합 및 BA 0.5 + NAA 0.5 mg/L 조합에서도 부정아가 유도되어 7일된 발아묘의 것보다 생장조절제의 반응 범위가 넓게 나타났다.

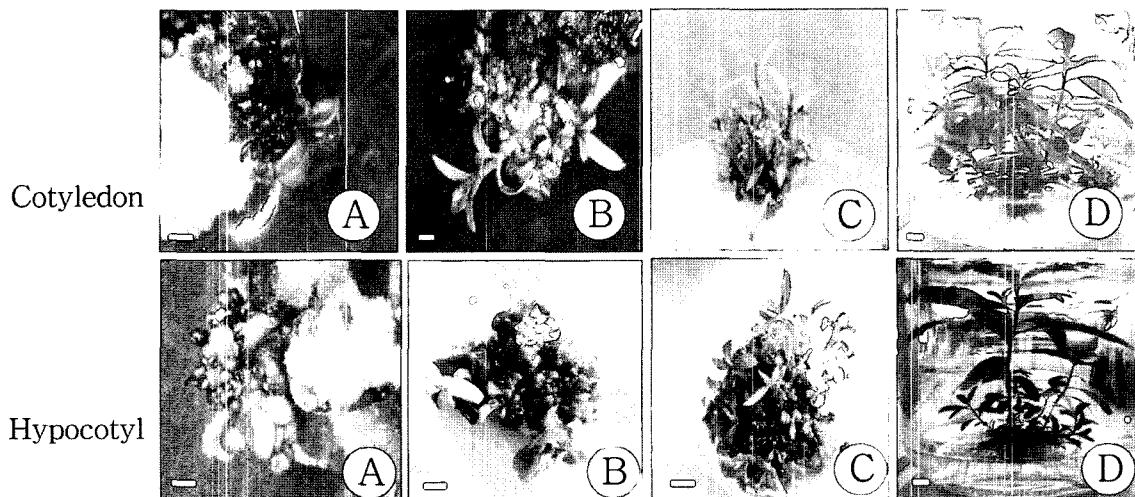
배축 절편에서도 자엽과 유사한 결과가 관찰되어 저농도 NAA에서 캘러스 유도율이 저조하였으며 증식 또한 부진하였다. 반면 부정아 유도는 고농도 NAA인 0.5 mg/L 및

**Table 2.** Effect of BA and NAA on adventitious bud induction from 14 day old seedlings germinated *in vitro*

Explants	PGR's (mg/L)		Callus (%)	% of adventive bud	Mean no. buds/explant
	BA	NAA			
Cotyledon	0.2	0.01	92.0	13.0	2.1
	0.2	0.2	100	0	0
	0.2	0.5	100	6.0	1.5
	0.2	1.0	100	0	0
	0.5	0.01	81.0	11.0	2.5
	0.5	0.2	100	15.0	2.3
	0.5	0.5	100	3.0	1.5
	0.5	1.0	99.0	0	0
	0.2	0.01	57.0	2.0	1.0
	0.2	0.2	100	2.0	8.0
Hypocotyl	0.2	0.5	100	4.0	3.0
	0.2	1.0	100	0	0
	0.5	0.01	51.0	0	0
	0.5	0.2	84.0	13.0	5.8
	0.5	0.5	100	10.0	2.1
	0.5	1.0	100	4.0	1.0
	0.2	0.01	17.0	0	0
	0.2	0.2	100	0	0
Root	0.2	0.5	33.0	0	0
	0.2	1.0	100	0	0
	0.5	0.01	61.0	0	0
	0.5	0.2	100	0	0
	0.5	0.5	100	0	0
	0.5	1.0	100	0	0

1.0 mg/L 수준에서 이루어져 절편에 따른 차이를 보여주었다. 배축 절편에서도 부정아 유도는 BA 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L 처리조합에서 가장 높은 빈도를 나타내어 자엽과 유사한 결과를 나타내었다. 한편 뿌리 절편에서는 캘러스 유도는 가능하지만 본 시험 조건하에서 부정아 유도가 이루어지지 못했다 (Table 1, 2).

한편 캘러스 유도 약 3주 후에는 녹색과 백색의 캘러스에 붉은 반점들이 나타나고 돌기조직이 형성되었는데 (Figure 1-A), 조직검경 결과 이러한 조직은 부정아 원기로 관찰되었다. 전반적으로 캘러스 유도는 상배축에서 양호하게 나타났으나, 부정아를 형성하는 돌기조직은 자엽에서 더 많이 형성되었다 (Figure 1-A). 돌기 조직은 과수화된 형태가 많았고, 대부분 붉은색을 띠었으며, 부정아가 형성된 것은 점차 녹색으로 변하고 식물체로 발달하였다 (Figure 1-B). 그러나 수십 개의 돌기들 중 일부만이 부정아를 형성하였으며, 1-3개의 부정아가 우세줄기를 형성하는 것으로 나타났다 (Figure 1-C). 배양 시기별로는 배양 개시 후 약 2-3 주



**Figure 1.** Adventitious bud induction and plant regeneration using *in vitro* germinants *E. pellita* : A - callus and early stage adventitious buds; B - one or two elongated shoot showing apical dominance; C - shoot clusters; D - regenerated plantlet from adventitious buds (bar = 0.5 cm).

에 부정아 원기가 형성되고 (Figure 2-A, B), 4주 후에는 부정아로 발달하였다 (Figure 2-C, D). 부정아는 표피세포층 (epidermal layer)과 그 아래 세포층 (sub-epidermal layer)에서 유래하는 것으로 관찰되었다 (Figure 2-A).

#### 줄기 유도 및 발근

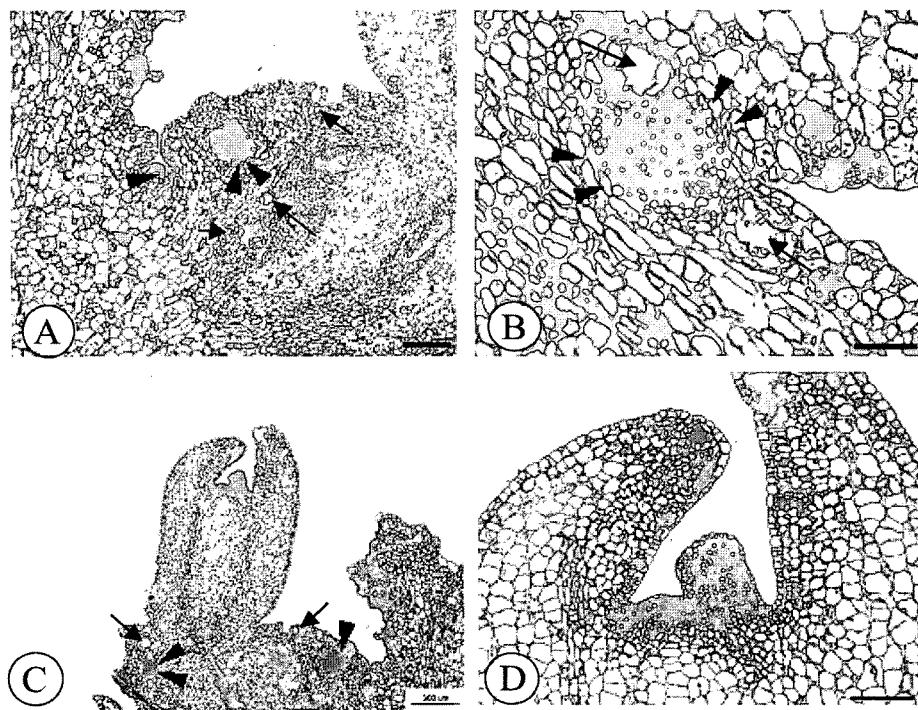
절편에 따라 유도된 부정아는 DKW 배지에 BA 0.2 mg/L와 NAA 0.01 mg/L를 첨가하여 줄기 신장 및 증식을 도모하였다. 0.5cm 내외로 자란 shoot는 덩어리져 생장되었으며, 발아묘의 배양시기 및 절편에 따라 큰 차이를 보이지 않았다. 증식배지에서 덩어리져 생장하는 줄기하부의 캘러스에서 배지로 페놀성 물질이 분비되는 현상이 나타났으나, 새로운 배지로 옮겨주거나 겹게 변한 하부의 캘러스를 제거한 다음 0.02% 활성탄이 첨가된 배지로 계대하여 억제시킬 수 있었다 (결과미제시). 한편, 부정아 유래의 줄기는 잎이 진녹색 혹은 붉은색을 띠었으며, 폭이 좁고 끝이 뾰족한 형태를 보였으나 (Figure 1), 점차 장타원형의 정상적인 잎의 형태로 자랐다. 절편에 따른 정상적인 줄기 유도는 자엽은 절편 당 평균 9개, 배축은 8개로 배축 보다 자엽이 다소 양호한 줄기 형성을 나타냈다. 한편, 부정아의 줄기생장 및 다경유도 과정에서 가는 뿌리가 형성되었으며, 자엽유래의 줄기는 59%, 배축유래 줄기에서는 42%가 뿌리를 형성한 것으로 나타났다 (결과미제시).

본 실험결과 *E. pellita*의 부정아 유도는 BA와 NAA의 혼용 처리가 필요한 것으로 나타났으며, 유묘라 하더라도 묘령이 더 어린 조직에서 반응이 양호하였다. 그리고 절편에 따른 차이도 큰 것으로 나타났다. 이와 유사한 결과로 *E. globulus*와 *E. nitens*의 부정아유도 (Azmi et al. 1997; Bandyopadhyay et al. 1999)에서도 절편체의 노화정도가

캘러스 형성과 식물체의 재분화에 중요한 요소임을 관찰된 바 있고, *E. globulus* (Azmi et al. 1997; Bandyopadhyay et al. 1999; Nugent et al. 2001)와 *E. urophylla* (Tibok et al. 1995)에서도 BA와 NAA의 혼용처리가 부정아 유도에 필요하고, 농도 및 혼용 비율은 절편의 성숙정도와 절편의 종류에 따라 차이가 있음을 관찰한 바 있다. 그들은 시험에 7-14일 정도의 기내 밟아묘 자엽과 배축을 사용하였고, 부정아의 유도율은 절편에 따라 다름을 관찰하였는데 이같은 결과는 본 실험에서도 관찰된 내용이다. 또한 부정아 유도에 있어 동일한 처리하에서 절편에 따른 반응이 각각 다른 것은 아마도 종자의 이형접합화에 기인한 것으로 추정하였다. 본 실험에서 관찰된 동일한 처리조건에서 나타난 절편별 반응의 차이는 여러 발아체를 사용함으로 나타난 종자의 유전적 배경에 기인하는 것으로 생각된다.

한편 배양초기의 캘러스와 돌기 조직이 붉게 착색되는 것은 sucrose의 영향으로 인한 안토시아닌 축적 때문으로 나타나며, 유전적인 차이가 있다고 하였다 (Benux et al., 1992; Tibok et al. 1995). 이러한 돌기조직은 초기 단계의 체세포 배와 매우 유사한 형태를 띠었으나 조직검정 결과 부정아 원기로 관찰되었으며 차 후 줄기로 분화 되었다. 흥미롭게도 이러한 부정아 원기는 대부분 oil gland에 인접한 세포에서 관찰 되었다 (Figure 2-A,B,C). Azmi 등 (1997)은 유칼리의 부정아 형성에서 oil gland가 촉진적인 역할을 하는 것으로 추정한바 있는데 구체적인 원인은 아직 밝혀지지 않은 상태이다.

이 수종의 부정아 유도에서 나타난 문제점은 캘러스 혹은 절편의 절단면에서 분비되는 페놀성 물질에 있다. 이러한 페놀물질의 산화에 의해 식물체의 생장이 억제되는 것을 방지하기위해 Bandyopadhyay 등 (1999)은 계대배양의 간격을 3-4주 간격으로 짧게 하였다. 일반적으로 조직배양에



**Figure 2.** Histological examination of the adventitious bud differentiation from cotyledon segment. A-early stage cell division on the portion of adventitious bud formation; B-meristematic shoot promodia; C-elongated adventitious bud showing apical meristem; D-enlarged meristem region of the Photo C. (▲ - adventitious bud primordia, → - oil gland, bar= A,C-300 μm, B,D-600 μm).

서 흔히 나타나는 배지의 갈변화 문제는 액체배지의 사용, 활성탄이나 PVP의 첨가, ascorbic acid 등 산화억제제의 처리, 새로운 배지로의 연속된 계대배양이 제시되고 있으며 (George 1996), 본 실험에서는 갈변화된 절편의 캘러스를 제거하고 0.02% 활성탄을 첨가한 새로운 배지로 2-3회 계대하여 방지할 수 있었다.

한편, 유칼리속 수종의 기내 부정아 유도에 미치는 영향은 다양하게 관찰되고 있다. 절편의 차이 (Brand and Lineberger 1992; George and Triepel 1994), 모식물체 (donor plant)의 생리적 상태 (Bonga and Von Aderks 1992), 무기 물 흡수 (mineral uptake)와 분포 상태 (Mengel and Kirkby 2001; Ramage and Williams 2003) 및 싸이토카inin을 유도하는 유전자발현 (Low et al. 2001; Schmülling et al. 1997; Torelli et al. 2004) 등이 부정아 형성에 영향하는 것으로 발표되고 있다. 본 실험 결과로 볼 때 *E. pellita*의 부정아 유도는 유전자형의 차이가 크게 영향을 미치는 것으로 나타나 재분화가 잘되는 형질을 가진 개체를 선발하여 형질 전환 시험에 사용할 필요가 있고, 자엽과 배축의 어린조직을 절편으로 사용할 필요가 있다.

최근 Xie 등 (2001)은 *E. pellita*의 기내 발아묘를 재료로 체세포배 유도를 보고하였다. 그들은 본 실험결과와 매우 유사한 캘러스 유도 및 부정아 유도를 관찰한 바 있으나, 배양 환경 특히 명암 배양의 조건을 기술하지 않았고, 조직검경의 자료 없이 체세포배 유도 경로를 통한 식물체 재분화를

보고하여 정확한 배양 환경조건과 세밀한 조직검경을 통한 배발생 경로를 확인할 필요가 있다. 더욱이 조직이 부서지기 쉽고, 붉은색으로 착색되는 nodular 형태의 조직을 배발생 캘러스로 언급하였으나, 본 실험의 조직검경 결과 이러한 캘러스는 모두 부정아 원기로 관찰되었고, 체세포배를 나타내는 bipolar 구조는 관찰되지 않았다. 따라서 *E. pellita*의 체세포 배발생 유무는 더 이상의 실험을 필요로 한다.

결론적으로 본 실험을 통해 *E. pellita*의 기내 발아묘를 재료로 부정아 유도를 통한 다경 줄기 유도, 정상적인 식물체 재생이 가능하였으며, 분화 효율을 높이기 위해서는 반응이 높은 개체의 선택과 보다 어린조직을 사용, 그리고 배지의 갈변화 억제를 고려할 필요가 있다. 아울러 부정아 유도의 배지는 MS + BA 0.5 mg/L, NAA 0.2 mg/L 배지를 사용하고, 부정아의 신장 및 다경유도는 DKW + BA 0.2 mg/L, NAA 0.01 mg/L 처리로 가능한 것으로 나타났다. 부정아 유래의 줄기는 형태적인 변이 없이 정상적으로 발달하여 부정아 유도를 통한 *E. pellita*의 재분화와 증식은 큰 어려움이 없을 것으로 생각된다.

## 적 요

부정아 유도를 통한 *E. pellita*의 재분화 체계를 확립하고자 기내 발아묘를 재료로 부정아 유도에 미치는 BA 및

NAA 효과를 시험하였다. 기내 부정아 유도는 재료의 노화 정도, 절편 및 생장조절제에 따른 차이가 큰 것으로 나타났다. 밭아 후 7일된 식물체가 밭아 후 14일 된 것 보다 양호한 반응을 보였고, 절편은 자엽 > 배축 > 뿌리 순으로 부정아 유도가 이루어졌다. 뿌리에서는 부정아가 전혀 유도되지 못했다. 적정배지는 MS 배지에 0.5 mg/L BA, 0.2 mg/L NAA로 나타났으며, 유도된 부정아는 DKW + BA 0.2 mg/L + NAA 0.01 mg/L 배지에서 정상적인 줄기로 재생되었고, 다경으로 생장되고 자발적인 발근도 이루어졌다. 이 상의 결과는 어린 자엽과 배축에서 부정아 유도를 통해 *E. pellita*의 증식이 가능함을 보여주었다.

### 인용문헌

- Aneja S, Atal C (1969) Plantlet formation in tissue cultures from lignotubers of *E. citriodora* Hook. Curr Sci 38: 69-70
- Azmi A, Noin M, Landre P, Prouteau M, Boudet AM, Chiriqui D (1997) High frequency plant regeneration from *Eucalyptus globulus* Labill. hypocotyls: Ontogenesis and ploidy level of the regenerants. Plant Cell Tiss Org Cult 51: 9-16
- Bandyopadhyay S, Cane K, Rasmussen G, Hamill, JD (1999) Efficient plant regeneration from seedling explants of two commercially important temperate *Eucalypt* species- *Eucalyptus nitens* and *E. globulus*. Plant Sci 140: 189-198
- Benxu C, Curt MP, Robert JM (1992) The role of sucrose, auxin and explant source on *in vitro* rooting of seedling explants of *Eucalyptus sideroxylon*. Plant Sci 87: 207-214
- Bonga JM, Von Aderkas P (1992) *In vitro* culture of trees. Forestry Sciences Vol 38, Kluwer Aca Pub, Dordrecht, pp 236
- Bootle KR (1983) Wood in Australia - Types, Properties and Uses. McGraw-Hill Pub, Sydney, pp 443
- Brand MH, Lineberger RD (1992) Micropropagation of american sweetgum (*Liquidambar styraciflua* L.) In: Bajaj YPS (ed), Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol 18. High Tech and Micropropagation 2. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 3-24
- De Fossard RA, Nitsch C, Cresswell RJ, Lee ECM (1974) Tissue and organ culture of *Eucalyptus*. NZJ For Sci 4: 267-278
- Driver JA, Kuniyuki AH (1984) *In vitro* propagation of paradox walnut rootstock. Hort Sci 19: 507-509
- Eldridge KJ, Davidson J, Hardwood C, van Wyk G (1994) Eucalypt domestication and breeding. Claredon Press, Oxford
- George EF (1996) Plant propagation by tissue culture. Part 2 In Practice, Exegenics Ltd., Edington, pp 639-669
- George MW, Tripepi RR (1994) Cytokinins, donor plants and time in culture affect shoot regenerative capacity of American elm leaves. Plant Cell Tiss Org Cult 39: 27-36
- Gupta PK, Mascarenhas AF (1983) Essential oil production in relation to organogenesis in tissue culture of *Eucalyptus citriodora* Hook. In: Sen SK and Giles KL (eds.), Plant Cell Culture in Corp Improvement. Plenum Press, pp 299-308
- Ito K, Tatemichi Y, Shuibata M (1996) Plant regeneration of *Eucalypts* from rotating nodule cultures. Plant Cell Rep 16: 42-45
- Kim JA (2004) Micropropagation, histological examination and growth comparison under LEDs (light-emitting diodes) of *Eucalyptus pellita* F. Muell. MS thesis, Dong-guk Univ, Seoul, pp 86
- Laine E, David A (1994) Regeneration of plants from leaf explants of micropropagated clonal *Eucalyptus grandis*. Plant Cell Rep 13: 473-476
- Lakshmi Sita G (1979) Morphogenesis and plant regeneration from cotyledonary culture of *Eucalyptus*. Plant Sci Lett 14: 63-65
- Le Roux JJ, Van Staden J (1991) Micropropagation and tissue culture of *Eucalyptus* - review. Tree Physiol 9: 435-477
- Low RK, Prakash AP, Swarup S, Goh C-J, Kumar PP (2001) A differentially expressed bZIP gene is associated with adventitious shoot regeneration in leaf cultures of *Paulownia kawa-kamii*. Plant Cell Rep 20: 696-700
- Mengel K, Kirkby EA (2001) Principles of plant nutrition, 5th eds. Kluwer, Dordrecht
- Moon HK, Kim JA, Lee HS, Kang HD (2003) Micropropagation via axillary bud induction of *Eucalyptus pellita*. Korean J Plant Biotechnol 30: 269-273
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol Plant 15: 473-497
- Nugent G, Stephen F Chandler, Phil Whiteman, Trevor W. Stevenson (2001) Adventitious bud induction in *Eucalyptus gloubulus* Labill. In Vitro Cell Dev Biol-Plant 37: 388-391
- Qin CL, Kirby EG (1990) Induction of shoots and embryo-like structures in cultures derived from juvenile and adult explants of *Eucalyptus* spp. VII International Congress on Plant Tissue and Cell Culture. Amsterdam. Abstract No. A1-74, pp 21
- Quoirin M, Vieira RC (1995) Rhizogenesis and nodule formation from callus of *Eucalyptus grandis* and *E. grandis* × *urophylla*. Arquivos de Biologia e Tecnologia. 38: 793-798
- Ramage CM, Williams RR (2003) Mineral uptake in tobacco leaf discs during different developmental stages of shoot organogenesis. Plant Cell Rep 21: 1047-1053
- Schmülling T, Schafer S, Romanov G (1997) Cytokinins as regulator of gene expression. Physiol Plant 100: 505-519
- Tibok A, Blackhall NW, Power, JB, Davey MR (1995) Optimized plant regeneration from calls derived from seedling hypocotyls of *Eucalyptus urophylla*. Plant Sci 110: 139-145
- Torelli A, Borinato M, Soragni E, Bolpagni R, Bottura C (2004) The delay in hormonal treatment modulates the

- expression of LSK1, a gene encoding a putative serine-threonine kinase, marker of *in vitro* caulogenesis in tomato. *Plant Sci* 167: 607-620
- Warrang E, Lesney MS, Rockwood DJ (1991) Nodule culture and regeneration of *Eucalyptus grandis* hybrids. *Plant Cell Rep* 9: 586-589
- Watt MP, Blakeway FC, Mokotei MEO, Jain SM (2003) Micropropagation of *Eucalyptus*. In: SM Jain and K Ishii (eds.), *Micropropagation of Woody Trees and Fruits*, Kluwer Aca Pub., Dordrecht, pp 217-244
- Xie X, Chen X, Han L (2001) Plant regeneration in *Eucalyptus pellita*. *Forestry Studies in China* 3: 7-14
- Yeung EC (1999) The use of histology in the study of plant tissue culture systems-some practical comments. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant* 35: 137-143

(접수일자 2005년 6월 7일, 수리일자 2005년 9월 14일)