

과수 형질전환 국내 연구 동향 및 전망

김정희 · 송관정

Current status and outlook on genetic transformation of fruit trees in Korea

Jeong-Hee Kim · Kwan Jeong Song

Received: 1 November 2010 / Accepted: 17 November 2010
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract The paper reviewed research status and outlook of genetic transformation in fruit trees in Korea. Genetic transformation has been long considered as an alternative technique overcoming limitation of conventional breeding and conducted since early 1990's. An efficient genetic transformation was established with major cultivars of apple, even in Fuji and Gamhong, and some transgenic apple plants have been transferred into the greenhouse for further analysis of gene expression. A few successes of genetic transformation have been reported and application to a variety of cultivars tried in citrus and kiwifruit. Successful genetic transformation has not been reported in the other fruit trees including grapevine, yet and it is considered being at the level of research. Those factors including replacement of antibiotics as a selective agent, use of transgenic rootstocks and manipulation of gene expression at proper parts and developmental stages have been prerequisites for the rapid commercialization of transgenic fruit plants.

서론

과수는 목본성 영년생 원예작물로서 초본성 일년생 또는 다년생의 채소 또는 화훼와는 다른 특성을 지닌다. 과수

의 종자에서 발아한 식물체는 개화 결실에 이르기까지 6~7년 이상의 기간이 필요하여 과실 특성의 평가와 선발에 따른 육종 기간이 길다. 수관 크기가 커서 포장면적도 많이 필요하다. 그러므로 소비자와 생산자가 만족할만한 새로운 품종을 육성하기까지는 육종기간, 포장면적, 노동력, 자본 등이 많이 소요된다 (Seong and Song 2008).

더욱이 개화 및 결실 습성, 당도, 산도 등 대부분의 유용 형질에 대한 유전특성 정보가 잘 알려져 있지 않다. 자가불화합성에 기인하여 많은 형질들의 유전자 조성은 이형으로 되어 있어, 다수의 우수한 우성 유전자들을 집적하기 위한 작업이 매우 어렵다. 그러므로 기존의 우량 표현형들은 대부분 유지하고 내병성 등 개량이 필요한 소수 형질들에 대해서만 개선을 유도할 수 있는 형질전환 기술은 과수에 있어서 매우 매력적인 육종기술로 인식되고 있다.

특히 과수는 영년생 작물로 식물체는 유지되면서 매년 과실을 결실시키는데, 과실은 80% 내외의 많은 수분을 함유하고 있으며, 건과 및 액상과도 다양하게 존재하기 때문에 다양한 이용목적에 충족시키기에 충분하다. 그러므로 기능성 성분 또는 의약품 생산 등 고부가가치 창출 형질전환 소재로서의 잠재력도 매우 높은 편이다. 그러나 과수는 목본특성상 재분화가 어렵고 특성 평가에 대한 기간도 오래 걸리기 때문에 채소 및 화훼 등 다른 원예작물에 비해 상대적으로 연구가 늦게 시작되었다.

한편 그간의 국내 과수산업에 있어서 품목별 중요도를 보면 사과, 감귤, 포도, 배, 복숭아의 순이며, 세계적으로는 포도, 감귤, 사과 순의 중요도가 가장 높다. 새로운 연구 개발에 대한 관심과 투자도 작목의 중요도를 반영하는데, 외국에서는 과수의 형질전환에 대한 연구가 사과,

J. H. Kim
농촌진흥청 국립원예특작과학원 과수과
(Fruit Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA)

K. J. Song (✉)
제주대학교 생물산업학부
(Faculty of Bioscience and Industry, Jeju National University)
e-mail: kwansong@jeju.ac.kr

감귤, 포도에서 가장 활발히 전개되고 있고 나머지 과수는 단편적인 연구 수준에 머물고 있는 실정이다. 국내에서는 사과가 가장 활발히 형질전환 연구가 진행되어 왔고 감귤, 포도, 참다래는 부분적으로 진행되어 왔다. 본 논문에서는 그 동안 수행되어 온 국내 과수 형질전환 연구의 동향을 살펴보고 또한 향후 전망에 대해서 고찰해보고자 한다.

사과 형질전환

사과 형질전환은 영국의 East Malling 연구소에서 세계 최초로 보고된 이후 (James et al. 1989), 다양한 품종에서 주로 아그로박테리움을 이용한 형질전환 기술이 국내외적으로 개발되어 왔다 (Song 2007a). 국내에서는 1990년대 초반부터 사과 잎의 재분화 연구를 시작하면서 동시에 아그로박테리움 이용 형질전환 기술을 개발하기 시작하였다. 그러나 국내에서의 사과 형질전환은 2000년에 이르러 성공 사례가 최초 보고되었다 (Song et al. 2000). 이후, 아그로박테리움을 이용한 사과 형질전환 효율에 영향을 미치는 요인들에 대해서 상당한 연구가 수행되었다.

아그로박테리움을 이용한 형질전환은 벡터로부터 목적 유전자의 식물 세포로의 전이와 식물세포로부터 신초 재분화 과정을 거치게 된다. 국내에서도 이 두 과정에서의 작용과 관련하여 몇가지 요인들의 효과에 대해 연구되어 왔다. 특히 접종에 사용하는 식물체 기원 (Kim et al. 2004; Seong and Song 2008; Song et al. 2001b), 균주의 밀도와 활력 (Song et al. 2001a; Seong et al. 2003), 균주 밀도와 품종과의 작용 (Seong et al. 2003), 공동배양 단계에서의 acetosyringon (AS) 농도 및 배양기간 (Seong and Song 2008),

재분화 과정에서의 선발강도 및 에틸렌 발생 (Seong et al. 2005; Song et al. 2000) 등이 중요하게 작용하는 것으로 밝혀졌다.

현재 국내에서 확립된 사과 형질전환 방법의 개요는 Fig. 1과 같다. 먼저 형질전환 재료로 쓰일 식물체를 준비하고 접종하고자 하는 목적 절편체를 제조한다. 접종 재료로 얼마나 적절한 단계의 식물체를 이용하는가 하는 것이 형질전환의 효율을 좌우하는 가장 큰 요인 중의 하나이다. 경정배양을 통해 기내 도입하여 증식배양 중인 신초로부터 완전히 전개된 유엽을 사용한다. 유엽은 엽병 부위가 부착되지 않게 사각으로 자르며, 접종 하루 전날 아그로박테리움을 항생제가 포함된 배지에서 배양하여 접종원으로 이용하게 된다. 접종 당일 준비된 절편체를 접종원인 아그로박테리움 현탁액에 10분간 침지 처리한 후 멸균된 여과지를 이용하여 절편체 표면의 아그로박테리움 현탁액을 제거한 후 공동배양 배지에 치상하여 3일간 암 배양한다. 이후 항생제가 첨가된 MS 선발 재분화 배지로 옮긴 후 암 배양하면서 신초 재분화를 유도한다.

최근에는 다양한 품종으로 확대하여 형질전환 계통을 대량 양성한 후 우량한 개체의 선발을 시도하는 단계로 접어들었다. 현재 기내 혹은 격리 온실 단계에서 유전자 발현 검정 중인 형질전환체로는 개화조절 유전자가 도입된 갈라 (Song et al. 2001b), 착색관련 유전자가 도입된 후지 및 맥킨토쉬위직 (Kim et al. 2002), 칼슘 수송에 관여하는 유전자가 도입된 감홍 (Kim et al. 2008), 발근 촉진 유전자가 도입된 사과 M26 대목 (Kim et al. 2009) 등이 있다. 후지와 맥킨토쉬위직에 과실 착색 증진에 관여하는 유전자인 *DFR*과 *B-Peru*를 도입하여 우량 착색 계통의 사과 육성을 시도해 오고 있다 (Kim et al. 2002). 착색조절 유

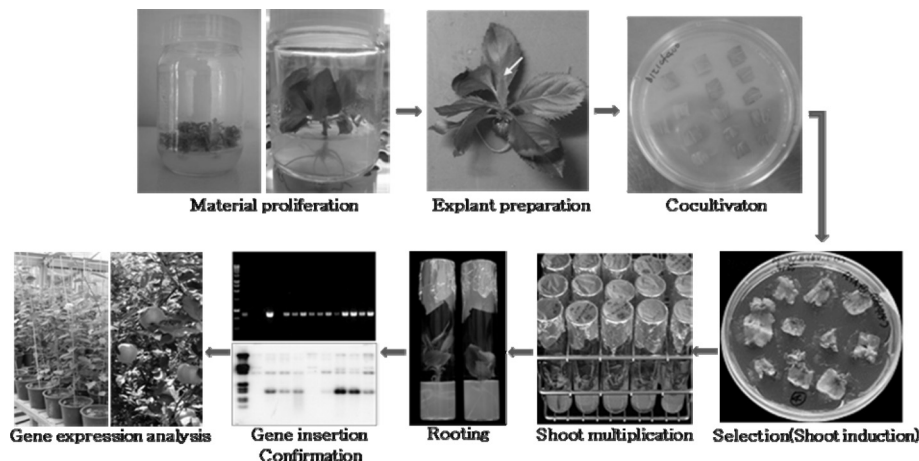


Fig. 1 *Agrobacterium*-mediated transformation procedures for apple

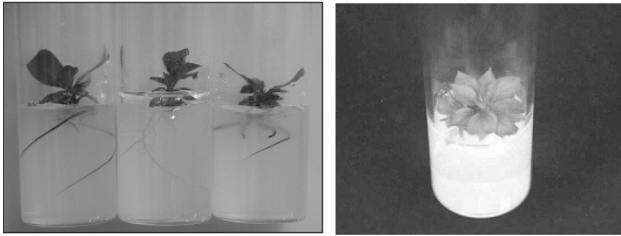


Fig. 2 Red coloration increased in roots (left) and orange coloration increased in leaves (right) of 'McIntosh Wijcik' apple transformant inserted with *DFR* and *B-peru* gene

Table 1 Comparison of OD₅₃₅ to leaves, roots extracts from 'McIntosh Wijcik' apple transformants inserted with *B-Peru* gene and non-transformants using spectrophotometer

Samples	Absorbance	
	Leaves	
Control	2.95	9.57
T1	7.83	15.52
T2	7.26	9.37
T3	21.33	18.53

Control; non-transgenic plant, T1-T3; transgenic plants

전자가 도입된 식물체는 기내 배양 과정 중 안토시아닌 색소가 발현된 모습을 관찰할 수 있었다 (Fig. 2). 착색조절 유전자의 도입이 확인된 식물체의 안토시아닌 분석을 수행하였는데, 잎과 뿌리에서 대조구에 비해 2~7 배까지 높게 나타나는 것을 확인할 수 있었다 (Table 1). 사과 재배에서 품종 선택만큼 중요한 것이 대목의 선택인데 국내에서 가장 많이 사용 중인 대목의 하나는 M26이다. 준왜성 대목인 M26의 경우 토양 지지력이 약해 지주 재배를 해야 하는 단점이 있는데, 이러한 왜성 대목의 단점을 보완하고 국내 기후 풍토에 알맞고 발근력도 우수한 대목 선발을 위해 발근 및 왜화 관련 유전자인 *rolC* 유전자를 도입하였다. *rolC* 유전자 전환체의 기내에서의 발근 상태를 조사한 결과, 대조구에 비해 뿌리수가 증가되었고, 발근 상태도 양호한 것으로 나타났다 (Fig. 3). 포장에서의 발근력 확인을 위해 접목 후 성토법인 묻어떼기를 한 후 5개월째에 대조구와 *rolC* 형질전환체의 발근 상태를 확인한 결과 Fig. 4와 같이 대조구에 비해 발근이 현저히 향상되었음을 확인할 수 있었다 (Kim et al. 2009).

현재 사과 형질전환 연구는 고효율의 형질전환 체계를 바탕으로 포장상태에서의 전이유전자발현 분석 및 평가 단계로 발전하고 있다. 형질전환의 실용화를 위해서는 도입 유전자의 지속적이고 안정적인 발현 여부 확인, 환경 및 인체 위해성을 포함한 안전성 평가 심사까지의 많은 절차가 남아 있다. 또한 특정 시기와 부위에서의 발현

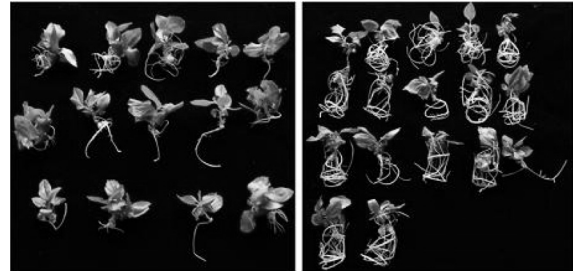


Fig. 3 *In vitro* rooted plants of the M26 transformants (right) and control (left)



Fig. 4 Root phenotype of *rolC* transgenic M26 (right) and control (left) grown for 6 months after mound layering

을 조절하여 식물체 전체적으로 볼 때 효율성이 유지되도록 조절하는 기술도 검토해야 할 과제이다. 그 외에도 상업적인 이용화를 조기에 앞당기기 위해서 사과의 형질 전환에 현재까지 사용된 항생제 저항성 마커 유전자들을 대체하는 보다 더 안전한 선발 마커의 개발이 시급히 보완하여 할 분야로 여겨진다.

감귤 형질전환

온주밀감, 오렌지, 자몽 등의 감귤에서는 배우체 불임과 자가불화합성이 존재하여 종자를 잘 형성하지 못하고, 다배성 (polyembryony)으로 인해 실령 종자가 형성되었다고 하더라도 종자에서 발아한 식물체의 대부분은 교잡 실생이 아닌 종자친과 유전적 특성이 동일한 실생이다. 그러므로 이들 감귤에서 교잡육종은 매우 어려워 체세포 잡종과 형질전환 육종에 대한 기대가 큰 편이다 (Song 2007b). 체세포잡종 및 형질전환 식물의 개발에는 기관분화 또는 체세포배 유도 및 식물체 분화 과정이 필수적이다.

감귤의 기관분화는 주로 줄기조직을 이용해서 연구되어 왔고 (Moreira-Dias et al. 2000), 체세포배발생 및 재분화는 주로 미발육종자 또는 줄기조직을 이용하여 연구되어 왔다 (Ikeda et al. 2000; Jin et al. 2007; Perez et al. 1998;

Rangan et al. 1968; Yun et al. 2006). 감귤의 형질전환 성공 사례는 PEG법에 의해 오렌지에서 최초 보고 (Kobayashi and Uchimiya 1989)되었으나, 곧이어 아그로박테리움 이용 형질전환 성공이 보고 (Hidaka et al. 1990)되면서 대부분 이 방법에 의한 연구가 집중되어 왔다. 일부 연구팀들은 유묘의 전이유전자 발현특성을 보고하고 있으나 (Cardoso et al. 2009), 아직도 일부 오렌지 품종이나 온주밀감 등의 일부 종에 있어서는 고효율 형질전환 기술 개발에 대한 연구가 계속되고 있다 (Dutt and Grosser 2009).

이에 반해 국내 연구진은 재분화 및 형질전환에 대한 연구가 극히 미미한 실정이다 (Han et al. 2002; Jin et al. 2007; Song et al. 2007b; Yun et al. 2006). 국내 감귤의 대부분은 온주밀감으로 이루어져 있기 때문에 온주밀감의 재분화 및 형질전환에 대한 연구가 오랫동안 지속되어 왔다. 그러나 최근 국내에서 온주밀감 형질전환 성공 사례가 보고 (Song et al. 2007c)된 바 있으나, 일본에서조차 온주밀감의 형질전환에 대한 성공사례가 보고되고 있지 못한 것으로 보아, 형질전환이 극히 어려운 종으로 생각되며, 적정 조건의 확립이 시급한 실정으로 보여 진다.

온주밀감의 형질전환은 미성숙 종자를 이용한 체세포 배발생 재분화 체계를 구축한 후 고빈도 체세포배발생 캘러스를 선발하여 아그로박테리움을 접종하게 된다. 접종 후 멸균여과지로 여액을 제거하고 암조건 하에서 공동배양 한 다음, 체세포배 유도과 자엽 유도과정을 거친 후 신초를 유도하게 된다. 이 과정에서 사과에서와 같이 균 밀도, 공동배양 기간, AS 농도 등이 중요하게 작용하는 것으로 나타났다 (Song et al. 2007c).

감귤 미성숙 종자의 체세포배 형질전환에 있어서는 유년성 재현으로 개화 결실까지의 기간이 길어지는 단점이 나타나게 되어 최근 외국의 경우 성숙 줄기를 이용한 체세포배 형질전환으로 연구가 급속히 진행되고 있다 (Pena et al. 2004). 그러므로 국내에서도 이에 대한 연구가 시급한 실정이다. 또한 궁천조생 온주밀감에서 확립된 기술을 만다린 계통으로의 적용이 가능한지 여부를 검토하여 연구로 시급히 확대해 나가야 할 것이다.

기타 과수 형질전환

포도는 배수성이 다양하고 자식열세 현상이 나타나며, 무핵 품종에서와 같이 종자가 형성되지 않은 경우도 있어서 교배육종이 쉽지 않다. 그러므로 형질전환에 대한 관심과 연구가 오래 전부터 진행되어 왔다. 외국의 경우

Nakano et al. (1994)에 의해 아그로박테리움 형질전환 보고가 이루어진 이래 형질전환에 대한 많은 연구가 보고 되어 왔다 (Dheneky et al. 2009). 이러한 많은 연구에도 불구하고 주요 재배 품종의 재분화 체계가 아직 확립되어 있지 못한 경우가 많고, 또한 국내에서도 포도 재분화 연구 (Kwon et al. 2000)에 이어, 일부 형질전환 연구가 진행되어 왔음에도 불구하고 아직까지 성공사례가 보고된 바는 없다 (Lee 2007).

한편 참다래는 배수성이 다양하고 종내 분화가 많이 되어 있지 못하기 때문에 교배육종에 의한 품종육종이 쉽지 않은 편이며, 외국의 경우 형질전환 연구가 사과 못지 않게 일찍 시작된 편이다. 국내에서도 재분화 연구가 일찍 시작 되었으나 (Kim and Oh 1998), 형질전환의 성공 사례는 최근에야 보고 (Kim et al. 2010)되었다. 참다래 형질전환은 기내배양 식물의 줄기로부터 미세절단에 의한 조제된 절편체에 아그로박테리움을 접종한 후 2일 간 공동배양한 다음 재분화 배지에서 형질전환 재분화 개체를 선발할 수 있었다. 그 결과 형질전환 효율이 접종절편체의 3~22% 내외로 높게 나타나서, 안정적이고 효율적인 형질전환 체계가 확립된 것으로 나타났다. 향후 다양한 유전자 전이를 통한 형질전환체 발현분석이 이루어질 수 있을 것으로 보여 지나 실용화를 조기에 이루기 위해서는 품종보다는 대목의 활용에 더 중점을 두어야 할 것으로 생각된다.

결론

국내 과수 형질전환 기술 및 형질전환체 개발에 관한 연구 사례 및 동향에 대해 살펴보았다. 대부분 아그로박테리움을 이용하여 연구되어 왔으며 아직도 형질전환 기술 개발 단계에 머물러 있는 것으로 나타났다. 사과에서 가장 활발하게 형질전환 연구가 진행되어 주요 재배품종에 대한 형질전환 기술이 실용화 수준으로 확립되어 있다. 최근에는 일부 형질전환체에 대해서는 기내 발현 분석에서 벗어나 온실 등의 포장에서의 발현분석으로 전환되는 단계에 이르렀다. 그러나 감귤 및 참다래에서는 형질전환 효율 증진의 기술개발 단계에 와 있고, 포도 등의 타 과수에서는 형질전환 기술개발의 초기 단계에 머물러 있다. 또한 실용화 조기 구현을 위한 항생제 대체 선발기술 개발, 대목에 대한 연구개발, 식물체 부위와 생육시기에 따른 발현조절 등의 과제를 안고 있다.

과수는 유년성, 자가불화합성, 자식열세, 다배성, 무핵,

배수성 등 다양한 요인이 교배육종의 효율성을 저하시키고 있다. 국내 과수산업의 경쟁력은 소비자와 생산자가 모두 만족하는 품종의 조기 공급에 있을 것이다. 더욱이 과수에서 있어서의 과실은 다양한 형태와 특성이 존재한 저장기관이므로 형질전환에 의한 고부가가치 기능성 성분 및 의약품 생산소재로의 높은 잠재력을 가지고 있다. 그러므로 과수의 형질전환 연구 및 기술개발의 투자 가치는 충분하다고 판단된다.

그럼에도 불구하고 과수에서는 국내 형질전환 기술 수준은 선진국과 비교할 때 상당히 뒤쳐져 있다고 할 수 있다. 이는 연구결과가 초본성에 비해 상대적으로 매우 늦게 나타나기 때문에 상대적으로 연구자와 연구투자자 모두의 입지는 좁아지고, 연구인력의 부족으로 이어지고 있는 것으로 생각된다. 그러나 이에 대한 고려가 충분히 이루어질 수 있다면 상당히 빠른 속도로 발전을 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

적 요

국내 과수분야의 형질전환 연구동향과 전망에 대해 살펴 보았다. 과수에서 형질전환 기술은 교배육종의 한계를 극복하고 보완할 수 있는 기술의 하나로 여겨지고 있고 1990년 초반 이래 기술개발에 대한 연구가 수행되어 오고 있다. 사과에서는 후지, 감홍 등의 주요 재배품종에 대한 형질전환 기술이 확립되어 있고, 포장 발현분석 단계로 진입하고 있는 중이다. 감귤과 참다래는 형질전환 기술이 일부 개발되었으나, 다양한 품종으로 확대하여 적용하는 단계까지는 이르지 못한 상태이다. 포도 등의 타 과수에서는 형질전환 성공사례가 보고된 바 없으며, 현재 기술개발 연구단계에 머물러 있는 것으로 판단된다. 또한 항생제 선발 대체, 형질전환 대목, 부위 및 생육시기에 따른 조절 기술 개발 등은 실용화를 조기에 앞당기기 위한 선결조건으로 여겨지고 있다.

인용문헌

Cardoso SC, Barbosa-Mendes JM, Boscariol-Camargo RL, Christiano RSC, Filho AB, Vieira MLC, Mendes BMJ, Filho FAM (2009) Transgenic sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) expressing the *attacin* A gene for resistance to *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. Plant Mol Biol Rep DOI 10.1007/s11105-009-0141-0

- Dhekney SA, Li ZT, Zimmerman TW, Gray DJ (2009) Factors influencing genetic transformation and plant regeneration of *Vitis*. Am J Enol Vitic 60:285-292
- Dutt M, Grosser JW (2009) Evaluation of parameters affecting *Agrobacterium*-mediated transformation of citrus. Plant Cell Tiss Organ Cult 98:331-340
- Han SH, Kang SK, An HJ, Kim HY (2002) Effect of embryogenic callus conditions on plant regeneration in satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). J Plant Biotechnol 41:29-32
- Hidaka T, Omura M, Ugaki M, Tomiyama M, Kato A, Oshima M, Motoyoshi F (1990) *Agrobacterium*-mediated transformation and regeneration of Citrus Spp. From suspension cells. Jpn J Breed 40:199-207
- Ikeda T, Kojima K, Yakushiji H, Kobayashi S, Nonami H (2000) Effects of endogenous auxin on citrus somatic embryogenesis. J Jpn Soc Hort Sci 69:221-223
- James DJ, Passey AJ, Barbara DJ, Bevan M (1989) Genetic transformation of apple (*Malus pumila* Mill.) using a disarmed Ti-binary vector. Plant Cell Rep 7:658-661
- Jin SB, Song KJ, Ryu KJ (2007) Several Factors Affecting Embryogenic Culture Maintenance and Shoot Regeneration in 'Miyagawa Wase' Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu*). Hort Environ Biotechnol 48:165-170
- Kim JH, Jegal S, Song KJ, Cha JE, Shin YU, Kim SK (2002) Studies on factors affecting regeneration after transformation of color-controlling genes in 'McIntosh Wijcik' apples. Kor J Hort Sci & Technol 20 (Suppl.I):94
- Kim JH, Cha JE, Kim KO, Woo JG, Mok IG (2004) *Agrobacterium*-mediated transformation in domestic bred apple cultivar 'Hongro'. Ann Conf Kor Soc Plant Biotechnol May, 2004, Daegu, Korea
- Kim JH, Kim KO, Woo JG, Kim D, Kim CK (2008) Introduction of *CAX1* into Korean bred 'Gamhong' apple via *Agrobacterium tumefaciens*. Kor J Hort Sci & Technol 26 (Suppl. II):36-40
- Kim JH, Kwon SI, Shin IS, Cho KH, Heo S, Kim HR (2009) The apple rootstock transgenic M.26 (*Malus pumila*) with enhanced rooting ability. Korean J. Breed. Sci. 41:482-487
- Kim M, Kim SC, Song KJ, KIM IJ, Song EY, Chun SJ (2010) Transformation of carotenoid biosynthetic genes using a micro-cross section method in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward). Plant Cell Rep 29:1339-1349
- Kim YS, Oh SD (1998) Plant regeneration from leaf and petiole culture of kiwifruit (*Actinidia delisiosa*). Kor J Tiss Cult 25:305-308
- Kwon YJ, Lee CH, Hyung NI (2000) Effects of medium composition and culture condition on plant regeneration via organogenesis of Kyoho grape. J Kor Soc Hort Sci

- 41:276-280
- Kobayashi S, Uchimiya H (1989) Expression and integration of a foreign gene in orange (*Citrus sinensis* Osb.) protoplasts by direct DNA transfer. *Jpn J Genet* 64:91-97
- Lee CH (2007) Grape genetic transformation. p. 391-403. In; Han JH et al. (eds.) Plant genetic transformation, Jungmunkag, Korea
- Moreira-Dias JM, Mokina RV, Bordon Y, Guardiola JL, Garcia-Luis A (2000) Direct and indirect shoot organogenic pathways in epicotyls cuttings of Troyer citrange differ in hormone requirements and in their response to light. *Ann Bot* 85:103-110
- Nakano M, Hoshino Y, Mii M (1994) Regeneration of transgenic plants of grapevine (*Vitis vinifera* L.) via *Agrobacterium* rhizogenes-mediated transformation of embryogenic calli. *J Exp Bot* 45:649-656
- Pena L, Perez RM, Cervera M, Juarez JA, Navarro L (2004) Early events in *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of citrus explants. *Ann Bot* 94:67-74
- Perez RM, Galiana AM, Navarro L, Duran-Vila JM (1998) Embryogenesis in vitro of several *Citrus* species and cultivars. *J Hort Sci Biotechnol* 73:796-802
- Rangan TS, Murashige T, Bitters WP (1968) In vitro initiation of nucellar embryos in monoembryonic *Citrus*. *HortScience* 3:226-227
- Seong ES, Cha JE, Kim JH, Park SW, Yu CY, Song KJ (2003) The effect of *Agrobacterium* density on transformation efficiency in apple. *Korean J Plant Biotechnol* 30:215-219
- Seong ES, Song KJ, Sung J, Yu CY, Chung IM (2005) Silver nitrate and aminoethoxyvinylglycine affect *Agrobacterium*-mediated apple transformation. *Plant Growth Regul* 45:75-82
- Seong ES, Song KJ (2008) Factors affecting the early gene transfer step in the development of transgenic Fuji apple plants. *Plant Growth Regul* 54:89-95
- Song KJ (2007a) Apple genetic transformation. P.383-390. In; Han JH et al. (eds.) Plant genetic transformation, Jungmunkag, Korea
- Song KJ (2007b) Citrus genetic transformation. P.405-413. In; Han JH et al. (eds.) Plant genetic transformation, Jungmunkag, Korea
- Song KJ, Jin SB, Riu KZ (2007c) *Agrobacterium*-mediated transformation of embryogenic calli in Miyagawa Wase satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). *Acta Hort* 738:265-271
- Song KJ, Seong ES (2000) Kanamycin concentration for selection of McIntosh Wijcik transgenic apple. *Kor J Hort Sci Technol* 18:811-814
- Song KJ, Park SW, Ahn SY, Hwang JH, Shin YU (2001a) Effect of *Agrobacterium* incubation conditions on gene transfer efficiency for Gala and McIntosh Wijcik apple. *Acta Hort* 560:211-214
- Song KJ, Seong ES, Hwang JH, Jegal S, Cha JE, Kim JH, Shin YU (2001b) Factors affecting the *Agrobacterium*-mediated transformation of 'Gala' apple. *Kor J Plant Tissue Cult* 28:221-225
- Yun JU, Kim BK, Jin SB, Ahn SY, Kim YH, Moon DK, Song KJ (2006) Factors affecting embryogenic culture initiation from underdeveloped seeds of satsuma mandarin (*Citrus unshiu*). *Hort Environ Biotechnol* 47:276-279