

植物部位와 生長調節劑가 油菜(*Brassica napus*)의 器官分化에 미치는 影響

孫再根 · 李賢淑 · 李起煥

慶北大學校 農科大學 農學科

Effect of Explant Source and Plant Regulator on Callus Formation
and Shoot Regeneration *in vitro* Culture of *Brassica napus* L.

Jae Keun SOHN · Hyun Suk LEE · Gi Hwan LEE

Dept. of Agronomy, Coll. of Agriculture,
Kyungpook National University

Abstracts

Culture condition for callus formation and plant regeneration were optimized by the selection of explants and the manipulation of hormonal combination in the culture medium. The calli induced from seed, cotyledon, hypocotyl and mesophyll segments were more vigorously proliferated under dark condition than those under continuous light condition. Hypocotyl- and cotyledon-derived calli were more regenerative as compared with those of seed and mesophyll. Callus formation from hypocotyl and cotyledonary explants was enhanced on MS medium with 1.0 mg/l 2, 4-D and 0.1 to 0.5 mg/l kinetin or BAP. The combination of 0.1 mg/l NAA and 2.0 to 4.0 mg/l kinetin was the most effective for shoot regeneration from the callus. The maximum frequency (24.0%) of shoot regeneration was obtained from the hypocotyl-derived callus transferred to MS medium supplemented with 0.1mg/l NAA and 4.0 mg/l kinetin.

The capacities for callus, root and shoot formation from cotyledon and hypocotyl explants were remarkably different among cultivars of *B. napus* tested. The calli induced from hypocotyl produced more shoots than those from cotyledon.

Key words : *Brassica napus*, Tissue Culture, Plant Regulator.

緒 論

植物性 食用油生産을 위해 세계 여러나라

에서 재배되고 있는 유채(*Brassica napus* L.)
에 대한 조직배양은 Kartha등(1974)이 줄기
절편을 器內培養하여 식물체재분화에 성공한

이후, 줄기의 表皮나 줄기組織(Pua et al, 1989), 뿌리(Sharma and Thorpe, 1989)와 葉組織(Dunwell, 1981), 下胚軸과 子葉組織(Murata and Orton, 1987; Singh et al, 1983) 뿐만 아니라 藥(Hoffman et al, 1982) 및 花粉培養(Lichter, 1982)에서도 재분화된 식물체를 얻은 바 있다. 또한 유체는 다른 작물에 비해 器官培養된 조직절편으로부터 비교적 器官分化가 잘 일어나는 작물중의 하나로 알려지고 있다. 그러나 아직도 유체의 genotype(Dietert et al, 1982)이나 조직부위(Singh et al, 1983) 및 배지의 조성(Jain et al, 1988) 등에 따라 식물체 재분화율이 상이한 것으로 보고되고 있어서 전체적인 배양효율은 크게 개선되지 않고 있는 실정이며, 유체의 원형질체 분리배양에서도 모식물의 재배환경이나 genotype 및 explant의 종류가 배양효율에 크게 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(Schenck, 1984).

그러므로 본 연구에서는 기내배양된 유체의 組織切片으로부터 식물체 재분화 능력을 향상시키고자 유체의 조직부위와 식물체 재분화, 품종간 캘러스형성과 식물체 재분화 능력 및 배지내의 성장조절제 조성 등에 대한 몇가지 실험을 수행하여 얻어진 결과를 보고하는 바이다.

材料 및 方法

본 실험에서는 1989년 農村振興廳 嶺南作物試驗場으로부터 분양받은 “耐寒油菜” 외 7 품종을 공시하였고, 이들 품종의 器內育苗를 위해 4°C에서 12시간 前處理한 다음, 멸균된 종자를 sucrose(3%)와 agar(0.8%)가 첨가된 MS배지(Murashige and Skoog, 1962)에 품종별로 25~30립씩 파종하여 26±1°C 恒溫室에서 발아시켰다.

組織部位別 캘러스형성 및 식물체 재분화 능력을 조사하고자 살균된 종자와 無菌育苗 5일된 子葉, 下胚軸 및 발아 20일된 葉肉組織을 5mm크기로 절단하여 2,4-D(1.0mg/l)와 kinetin(0.1mg/l), 등이 첨가된 MS배지가 20 ml씩 분주된 샐-레에 치상하여 26±1°C의 명상태(2500 lux)와 암상태에서 캘러스를 誘

起시켰다. 배양 30일후에 각각의 조직절편으로부터 형성된 캘러스를 評量하여 캘러스 증식정도를 조사하는 한편, 이들 캘러스를 NAA(0.1mg/l), kinetin(4.0mg/l) 등이 첨가된 재분화배지로 이식하고 45일후에 배양조건과 조직부위별로 뿌리와 shoot의 재분화율을 조사하였다.

성장조절제의 조성이 캘러스의 생장과 식물체 재분화에 미치는 영향을 구명하고자 子葉과 下胚軸 (5mm크기)을 2, 4-D(1.0mg/l)와 kinetin(0.1, 0.5mg/l) 또는 BAP(0.1, 0.5 mg/l)가 첨가된 MS배지에 배양하여 30일간 캘러스를 형성시킨 후 NAA(0.1~1.0mg/l)에 BAP(0.5, 2.0mg/l) 또는 kinetin(2.0, 4.0mg/l)이 첨가된 재분화배지로 이식하여 성장조절제의 조성별로 캘러스형성 정도와 뿌리 및 shoot의 분화율을 조사하였다.

식물체 재분화능력이 높은 유체 품종을 선발하고자 “耐寒油菜”의 7품종의 子葉組織을 1.0mg/l의 2, 4-D와 0.1mg/l의 kinetin이 첨가된 MS배지에 배양하여 형성된 캘러스를 0.1mg/l의 NAA와 2.0mg/l의 kinetin이 첨가된 MS재분화배지로 이식하였고, “榮山油菜”의 3품종의 下胚軸 組織을 1.0mg/l의 2, 4-D와 0.5mg/l의 kinetin이 첨가된 MS배지에 배양하여 형성된 캘러스를 0.1mg/l의 NAA와 4.0 mg/l의 kinetin이 함유된 MS배지에 이식하여 45일 후에 각 품종별로 뿌리와 shoot의 형성율을 조사하였다.

結果 및 考察

1. 組織部位와 培養條件

“耐寒油菜”의 種子, 子葉, 下胚軸 및 葉切片을 明暗상태하에 배양하여 조직부위와 배양 조건별로 30일후의 캘러스 生體重을 조사하여 본 바(Table 1), 種子, 子葉 및 下胚軸 組織에서는 明暗상태 간에 큰차이 없이 90% 이상의 높은 캘러스 형성율을 보였으나, 명배양된 葉組織에서 캘러스 형성율이 57.5%로 가장 낮았다.

子葉, 下胚軸, 葉切片에서는 명상태보다 암

Table 1. Fresh weight of callus induced from different explants of *B. napus*

Explant	Culture condition	No. of explants inoculated	No. of explants forming calli (%)	Fresh weight of calli/explant(mg)
Seed	Light ^{a)}	100	91(91.0)	30.4
	Dark	80	75(93.8)	30.5
Cotyledon	Light	100	92(92.0)	88.9
	Dark	100	98(98.0)	101.0
Hypocotyl	Light	100	94(94.0)	52.1
	Dark	100	100(100.0)	78.9
Mesophyll	Light	40	23(57.5)	57.7
	Dark	80	67(83.8)	101.4

a) Light intensity; 2500 lux.

Table 2. Frequency of root and shoot regeneration from calli induced at light and dark condition

Explant	Culture condition for callus induction	No. of calli		
		transferred	rooted (%)	forming shoot (%)
Seed	Light ^{a)}	80	44(55.0)	4(5.0)
	Dark	80	40(50.0)	4(5.0)
Cotyledon	Light	100	58(58.0)	10(10.0)
	Dark	100	44(44.0)	18(18.0)
Hypocotyl	Light	100	40(40.0)	4(4.0)
	Dark	100	64(64.0)	24(24.0)
Mesophyll	Light	80	72(90.0)	2(2.5)
	Dark	80	76(95.0)	2(2.5)

a) Light intensity : 2500 lux.

상태에서 캘러스증식이 빠른 경향이었으나 종자의 경우는 明暗상태 간에 큰 차이가 없었다.

각 組織部位에서 형성된 캘러스를 재분화 배지로 이식한 바(Table 2), 뿌리의 형성율은 葉組織으로부터 유래된 캘러스에서 90~95%로 가장 높게 나타났고, shoot분화율에 있어서는 암상태에서 형성된 下胚軸 및 子葉 유래의 캘러스에서 각각 24%와 18%로 가장

높게 나타났다.

일반적으로 器內培養된 식물 조직절편에 대한 光의 효과는 日長, 光度, 波長에 따라 다르며, 대체로 기관분화에는 光이 거의 필수적이지만 캘러스誘起나 세포배양 초기에는 명상태보다 암상태가 효과적인 것으로 알려져 있다(金 등, 1987). Dietert 등(1982)은 유체의 下胚軸 組織培養에서 캘러스형성은 암상태에서 기관형성은 명상태가 효과적이었다

고 하였으며 본 연구에서도 캘러스형성은 종자를 제외한 모든 조직부위에서 암상태가 명상태보다 효과적인 것으로 나타났다(Table 1). 또한 캘러스 誘起시의 明暗상태가 식물체 재분화에 미치는 영향(Table 2)은 種子와 葉組織에서는 큰 차이를 발견할 수 없었으나 下胚軸과 子葉의 경우는 명상태에서 형성된 캘러스보다 암상태에서 형성된 캘러스에서 재분화율이 현저히 높게 나타나 유체의 조직부위별로 캘러스 형성시의 明暗차리효과가 다소 다르게 나타났다. 본 실험에서 암상태에서 형성된 下胚軸의 캘러스에서 식물체 재분화율이 높았던 것은 Die등(1982)이 유체에서 보고한 내용과 유사한 경향이였다.

Murata와 Orton(1987)은 유체를 포함한 *Brassica*屬 식물의 조직배양에서 子葉의 캘러스보다는 下胚軸에서 형성된 캘러스에서 식물체 재분화율이 높았다고 하였는데, 본 연구에서도 캘러스형성에는 암배양된 子葉과 葉組織이 양호하였고, 뿌리의 분화능력은 葉組織에서 형성된 캘러스에서 높은 편이었으나 shoot 재분화는 암상태에서 형성된 下胚軸의 캘러스에서 가장 높은 편이었다.

2. 生長調節劑의 組成

子葉과 下胚軸을 生長調節劑의 組成이 다른 5종류의 배지에 배양하여, 배양 30일후의 캘러스 生體重과 캘러스 이식 45일 후의 식

물체 재분화율을 조사한 바(Table 3, 4), 子葉의 캘러스 증식에는 2, 4-D(1.0mg/ℓ)만 첨가된 배지에서보다 저농도의 kinetin이나 BAP를 2, 4-D와 혼용하는 것이 효과적이었고, 2, 4-D(1.0 mg/ℓ)와 BAP(0.1, 0.5 mg/ℓ)가 혼용된 배지에서 캘러스의 증식량이 가장 많은 것으로 나타났다.

그러나 shoot의 재분화에는 2, 4-D(1.0 mg/ℓ)에 BAP를 혼용한 것 보다는 kinetin(0.1, 0.5 mg/ℓ)를 첨가한 배지에서 형성된 캘러스로부터 14~16%의 가장 높은 shoot 재분화율을 보였다. 그리고 下胚軸의 경우도 캘러스 증식에는 저농도의 kinetin이나 BAP를 2, 4-D와 혼용하는 것이 효과적인 것으로 나타났으나 生長調節劑의 組成별 캘러스 증식량에서는 子葉에서 보다 현저히 낮은 경향이였다. 下胚軸에서 형성된 캘러스의 뿌리분화는 生長調節劑 組成간에 큰 차이가 인정되지 않았으나, shoot 분화율은 1.0mg/ℓ의 2, 4-D와 0.5 mg/ℓ의 kinetin이 혼용된 배지에서 22.5%로 가장 높았고, 2, 4-D(1.0mg/ℓ)와 0.5mg/ℓ의 BAP가 첨가된 배지에서도 17.9%의 비교적 높은 shoot 재분화율을 보였다.

식물체 재분화배지에 첨가되는 生長調節劑의 組成별로 子葉에서 유래된 캘러스의 뿌리와 shoot재분화율을 조사한 바(Table 5), 子葉에서 형성된 캘러스의 뿌리분화는 生長調節

Table 3. Effect of plant regulators on callus growth and shoot regeneration from cotyledon tissue of *B. napus*

Plant regulator			No. of explants inoculated	Fresh weight of calli/explant(mg)	No. of calli ^{a)} transferred	No. of calli rooted(%)	No. of calli forming shoot(%)
2,4-D	kinetin	BAP					
1	—	—	60	63.6	70	46(65.7)	6(8.6)
1	0.1	—	60	102.7	99	58(58.6)	16(16.1)
1	0.5	—	60	101.0	100	55(55.0)	14(14.0)
1	—	0.1	60	114.0	98	59(60.2)	8(8.2)
1	—	0.5	60	115.0	100	57(57.0)	5(5.0)

a) Plant regeneration; MS+NAA 0.1mg/ℓ+kinetin 4mg/ℓ+sucrose 30 g/ℓ+agar 8 g/ℓ.

Table 4. Effect of plant regulators on callus growth and shoot regeneration from hypocotyl tissue of *B. napus*

Plant regulator(mg/ℓ)			No. of explants inoculated	Fresh weight of calli/explant(mg)	No. of calli ^{a)} transferred	No. of calli rooted(%)	No. of calli forming shoot(%)
2,4-D	Kinetin	BAP					
1	—	—	100	17.0	50	13(26.0)	3(6.0)
1	0.1	—	100	66.0	30	8(26.7)	4(13.3)
1	0.5	—	100	54.1	40	15(37.5)	9(22.5)
1	—	0.1	100	48.7	39	10(25.6)	7(17.9)
1	—	0.5	100	43.2	30	3(10.0)	2(3.3)

a) Plant regeneration: MS+NAA 0.1mg/ℓ+kinetin 4mg/ℓ+sucrose 30 g/ℓ+agar 8 g/ℓ.

Table 5. Effect of plant regulators on plant regeneration of calli induced from cotyledon tissue of *B. napus*

Plant regulator (mg/ℓ)			No. of calli ^{a)} inoculated	No. of calli rooted(%)	No. of calli ^{a)} forming shoot(%)
NAA	BAP	Kinetin			
0.1	0.5	—	80	72(90.0)	2(2.5)
	2.0	—	60	46(76.7)	2(3.3)
0.5	0.5	—	80	76(95.0)	2(2.5)
	2.0	—	80	72(90.0)	2(2.5)
1.0	0.5	—	60	56(93.3)	4(6.7)
	2.0	—	100	76(76.0)	6(6.0)
0.1	—	2.0	60	38(63.3)	10(16.7)
	—	4.0	80	56(70.0)	10(12.5)
0.5	—	2.0	80	72(90.0)	4(5.0)
	—	4.0	100	76(76.0)	10(10.0)
1.0	—	2.0	40	38(95.0)	2(5.0)
	—	4.0	80	62(77.5)	4(5.0)

a) Callus induction: MS+2,4-D 1mg/ℓ+KN 0.1mg/ℓ+sucrose 30 g/ℓ+agar 8 g/ℓ.

제 조성간에 큰 차이없이 63~95%의 높은 분화율을 보였으나, shoot 분화율은 NAA와 kinetin이 첨가된 배지에서 대체로 양호한 편이었고, 0.1mg/ℓ의 NAA와 2.0mg/ℓ의 kinetin이 혼용된 배지에 이식된 캘러스로부터 16.7%의 가장 높은 shoot 재분화율을 보였다.

下胚軸에서 형성된 캘러스의 경우도 저농도의 NAA와 kinetin을 혼용한 배지에 이식된 캘러스에서 대체로 shoot 재분화율이 높은 경향이었는데, 0.1mg/ℓ의 NAA와 4.0mg/ℓ의 kinetin이 첨가된 배지에서 24.0%의 가장 높은 shoot 재분화율을 보였다(Table 6). 그리고

下胚軸에서 형성된 캘러스의 뿌리분화율은 대체로 子葉 유래의 캘러스에서보다 낮은 경향이였다.

Jain등(1988)은 *Brassica*屬 식물의 子葉배양에서 캘러스 형성에는 kinetin이나 BAP를 NAA와 혼용하는 것이 효과적이라 하였으나, Murata와 Orton(1987)은 1.0mg/ℓ의 2,4-D와 0.1mg/ℓ의 kinetin이나 BAP가 혼용된 배지에서 캘러스형성이 가장 양호했다고 하였는데, 본 실험에서도 유체의 下胚軸과 子葉조직을 2,4-D가 단용된 배지에 배양했을 때 보다는 2,4-D(1.0mg/ℓ)와 0.1~0.5mg/ℓ의 kinetin이나 BAP가 혼용되었을 때 캘러스의 증식이 양호한 편이었다(Table 3, 4). 본 실험에서 子葉 및 下胚軸 조직에서 형성된 캘러스의 shoot 재분화에는 NAA와 BAP를 혼용한 것보다는 NAA(0.1 mg/ℓ)에 kinetin(2.0, 4.0 mg/ℓ)을 혼용한 배지가 효과적인 것으로 나타났다(Table 5, 6); 이러한 결과는 *Brassica*屬 식물의 子葉切片에서 형성된 캘러스의 shoot 분화에는 NAA에 BAP를 혼용한 것보다 kinetin을 혼용하는 것이 더 효과적이었다

고 한 Jain등(1988)의 연구결과와는 유사한 경향이였다. 그러나 기내배양된 *Brassica*속 식물의 shoot 재분화에는 BAP가 효과적이라고 한 Klimaszewska와 Keller(1985)의 연구결과와 다소 상이한데 이는 배양에 이용된 母植物의 genotype이나 조직절편이 서로 다른데서 비롯된 결과라고 추정되어진다. Jain등(1988)은 shoot 분화에 알맞은 생장조절제의 조성은 *Brassica*屬 식물의 종이나 genotype에 따라 다르다고 하였고, Pua등(1989)은 同一 genotype의 조직부위에 따라서도 알맞은 생장조절제의 조성이 서로 다르다고 하였다.

3. 油菜의 genotype과 植物體 再分化

유체의 子葉 및 下胚軸배양에서 캘러스 형성과 식물체 재분화능력이 높은 품종을 선발하기 위하여 “耐寒油菜”의 7품종의 子葉을 배양한 바(Table 7), 캘러스 증식이나 뿌리와 shoot 분화능력의 유체 품종간 차이는 매우 크게 나타났고, 공시품종중 “Germany”와 “耐寒油菜”에서 평균 17%의 가장 높은 shoot 분

Table 6. Effect of plant regulators on plant regeneration of calli induced from hypocotyl tissue of *B. napus*

Plant regulator(mg/ℓ)			No. of calli ^{a)} inoculated	No. of calli rooted(%)	No. of calli forming shoot(%)
NAA	BAP	Kinetin			
0.1	0.5	—	100	56(56.0)	2(2.0)
	2.0	—	66	20(30.3)	2(6.1)
0.5	0.5	—	80	8(10.0)	2(2.5)
	2.0	—	100	4(4.0)	2(2.0)
1.0	0.5	—	100	2(2.0)	2(2.0)
	2.0	—	80	4(5.0)	2(2.5)
0.1	—	2.0	80	62(77.5)	8(10.0)
	—	4.0	100	64(64.0)	24(24.0)
0.5	—	2.0	90	40(44.4)	2(2.2)
	—	4.0	60	40(66.7)	2(3.3)
1.0	—	2.0	42	24(57.1)	0(0.0)
	—	4.0	82	20(24.4)	2(2.4)

a) Callus induction: MS+2,4-D 1mg/ℓ+KN 0.5mg/ℓ+sucrose 30 g/ℓ+agar 8 g/ℓ.

Table 7. Varietal differences in plant regeneration of calli induced from cotyledon of *B. napus*

Cultivar	No. of explants inoculated ^{a)}	Fresh weight of calli/explant(mg)	No. of calli ^{b)} transferred	No. of calli rooted(%)	No. of calli forming shoot(%)
Naehan	80	90.2	70	39(55.7)	12(17.1)
Donghae 22	60	59.8	48	10(20.8)	0(0.0)
Aomori 28	60	64.1	60	34(56.7)	2(3.3)
Germany	60	30.5	80	30(37.5)	14(17.5)
Mokpo 71	60	86.7	50	19(38.0)	6(12.0)
Yeoungsan	80	63.5	50	26(52.0)	8(16.0)
Akela	100	52.0	90	35(38.9)	8(8.9)
Hanla	80	70.2	50	4(8.0)	1(2.0)

a) Callus induction: MS+2,4-D 1mg/ℓ+KN 0.1/ℓ+sucrose 30 g/ℓ+agar 8 g/ℓ.

b) Plant regeneration: MS+NAA 0.1mg/ℓ+KN 2mg/ℓ+sucrose 30 g/ℓ+agar 8 g/ℓ.

Table 8. Varietal differences in plant regeneration of calli induced from hypocotyl of *B. napus*

Cultivar	No. of explants inoculated ^{a)}	Fresh weight of calli/explant(mg)	No. of calli ^{b)} transferred	No. of calli rooted(%)	No. of calli forming shoot(%)
Naehan	80	68.5	50	32(64.0)	12(24.0)
Yeoungsan	80	42.9	50	25(50.0)	13(26.0)
Hanla	80	59.5	50	21(42.0)	9(18.0)
Akela	70	31.1	40	31(77.5)	6(15.0)

a) Callus induction: MS+2,4-D 1mg/ℓ+KN 0.5mg/ℓ+sucrose 30 g/ℓ+agar 8 g/ℓ.

b) Plant regeneration: MS+NAA 0.1mg/ℓ+KN 4.0mg/ℓ+sucrose 30 g/ℓ+agar 8 g/ℓ.

화율을 보였으며 “東海 22號”와 “漢拏油菜” 등은 기관분화율이 극히 저조하였다. 그리고 “耐寒油菜”의 3품종의 下胚軸組織 배양에서도(Table 8), shoot재분화능력의 품종간 차이는 매우 뚜렷하게 인정되었으며 공시품종중 “榮山油菜”와 “耐寒油菜”의 shoot분화율이 각각 26%와 24%로 가장 높게 나타났고, 전 공시품종이 子葉에서 보다는 下胚軸조직 유래의 캘러스에서 shoot 재분화율이 현저히 높게 나타났다.

Jain등(1988)은 *Brassica*屬 식물의 子葉組

織培養에서 genotype간 shoot 분화능력은 크게 상이하다고 하였으며, 이러한 genotype간 shoot분화능력의 차이는 *B. juncea*의 原形質體分離培養(Pua, 1990)과 유채의 葯培養(Hoffman et al, 1982; Keller, 1984)에서도 보고된 바 있다. 그리고 본 연구에서 子葉組織보다는 下胚軸組織 유래의 캘러스에서 shoot분화능력이 높게 나타났는데, 이러한 결과는 유채를 포함한 *Brassica*屬 식물의 조직배양에서 子葉보다는 下胚軸 組織에서 shoot분화능력이 높았다고 한 Murata와 Orton(1987)의 연구내용

과 비슷한 경향이였다.

摘 要

器內培養된 유체의 조직으로부터 재분화되는 식물체의 획득빈도를 높이고자 이에 관여하는 몇가지 요인에 대한 실험을 수행하여 얻어진 결과는 다음과 같다.

유체의 종자, 無菌培養된 子葉, 下胚軸 및 葉切片배양에서 명상태에서 보다는 암상태에서 캘러스의 생장이 왕성하였고, 下胚軸과 子葉組織에서 형성된 캘러스에서 shoot 분화능력이 높은 편이었다. 子葉 및 下胚軸 組織의 캘러스형성에는 2, 4-D 단용보다 2, 4-D와 kinetin 또는 BAP를 혼용하는 것이 효과적이었으며, 子葉組織의 경우는 2, 4-D(1.0 mg/l)와 0.1mg/l의 kinetin이 첨가된 배지에 형성된 캘러스를 0.1mg/l의 NAA와 2.0 mg/l의 kinetin이 첨가된 배지에 이식하였을 때 shoot 분화율이 16.7%로 가장 높게 나타났다. 下胚軸 組織에서는 1.0mg/l의 2, 4-D와 0.5mg/l의 kinetin이 첨가된 배지에서 형성된 캘러스를 0.1mg/l의 NAA와 4.0mg/l의 kinetin이 혼용된 배지에 이식하였을 때 shoot 分化率이 24%로 가장 높게 나타났다. 子葉 및 下胚軸 組織의 캘러스형성과 shoot분화능력의 유체品種間 차이는 매우 뚜렷하게 인정되었고, 子葉보다는 下胚軸 組織에서 형성된 캘러스에서 shoot 분화능력이 현저히 높게 나타났다.

參 考 文 獻

1. Dietert, M.F., S.A. Barron and O.C. Yoder. 1982. Effects of genotype on in vitro culture in the genus *Brassica*, Plant Sci. Lett., 26:233-240.
2. Dunwell, J.M.. 1981. In vitro regeneration from excised leaf discs of three *Brassica* species, J. Exp. Bot., 32:789-799.
3. Hoffmann, F., E. Thomas and G. Wenzel. 1982. Anther culture as a breeding tool in rape, Theor. Appl. Genet., 61:225-232.
4. Jain, R.K., J.B. Chowdhury, D.R. Sharma

and W. Friedt. 1988. Genotypic and media effects on plant regeneration from cotyledon explant cultures of some *Brassica* species, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 14:197-206.

5. Kartha, K.K., O.L. Gamborg and F. Constable. 1974. In vitro plant formation from stem explants of rape (*Brassica napus* cv. Zephyr), Physiol. Plant., 31:217-220.
6. Keller, W.A. 1984. Anther culture of *Brassica*, In.: I.K. Vasil(ed.), Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, Vol.1, Academic Press, Orlando, Florida, pp.302-310.
7. 金奎元, 白基燦, 鄭根植, 鄭載東, 崔光泰. 1987. 植物組織培養技術, 鄉文社, pp.63-64.
8. Klimaszewska, K. and W.A. Keller. 1985. High frequency plant regeneration from thin cell layer explants of *Brassica napus*, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 4:18-197.
9. Lichter, R. 1982. Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*, Z. Pflanzenphysiol, 105:427-434.
10. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised media for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture, Physiol. Plant., 15:473-497.
11. Murata, M. and T. J. Orton. 1987. Callus initiation and regeneration capacities in *Brassica* species, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 11:111-123.
12. Pua, E.C. 1990. Somatic embryogenesis and plant regeneration from hypocotyl protoplasts of *Brassica juncea* (L.) Czern & Coss, Plant Science, 68:231-238.
13. Pua, E.C., T. H. Trinh and N. H. Chua. 1989. High frequency plant regeneration from stem explants of *B. alboglabra* Bailey in Vitro, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 17:143-152.
14. Schenck, H.R. 1984. Isolation and culture

- of protoplast *Brassica*, In: I. K. Vasil(ed.), Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, Vol.1, Academic Press, Orlando, Florida, pp.356–369.
15. Sharma, K.K. and T.A. Thorpe. 1989. In vitro regeneration of shoot buds and plantlets from seedling root segments of *Brassica napus* L., Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 18:129–141.
16. Singh, S., S. Banu, L. K. Pareek and N. Chandra. 1983. Morphogenesis in organ, tissue and cell cultures of some species of *Brassica*, In: S. K. Sen and K. L. Giles (eds.), Plant Cell Culture in Crop Improvement, Plenum Press, New York, pp.441–444.