식물조직배양학회지 제22권 제1호
Korean J. Plant Tissue Culture
Vol. 22, No. 1, 35~39 (1995)

배지 응고제와 생장조절제가 벼 약배양에 미치는 영향

이중호 · 이승엽*,[1]
원광대학교 농학과, [1]호남작물시험장

Effects of Gelling Agents and Growth Regulators on Rice Anther Culture

Joong Ho Lee and Seung Yeob Lee*,[1]
Department of Agronomy, Wonkwang University, Iri, Chonbuk, 570-749: and
[1]Honam Crop Experiment Station, RDA, Iri, Chonbuk, 570-080. *Corresponding author.

In order to investigate the effects of gelling agents on rice anther culture, anthers of rice (Japonica cv Daecheongbyeo) were cultured on N_6 media supplemented with 0.8, 1.2 or 1.6% Junsei agar and 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 or 1.0% Gelrite (Phytagel, Sigma). On Junsei agar media, the frequency of callus induction was decreased in proportion to agar concentration. The frequency of callus induction was more increased as 67.6% and 54.8% in media containing 0.4 and 0.6% Gelrite than in agar media. The frequency of plant regeneration and spontaneous doubled-diploid was directly proportional to Junsei agar and Gelrite concentration. The number of green and spontaneous doubled-diploid plant was highest on 0.6% Gelrite medium. In order to optimize the concentration of growth regulators for the callus induction medium containing 0.6% Gelrite, anthers were cultured on N_6 media supplemented with 2 mg/L NAA, 2 mg/L 2,4-D, 1 mg/L NAA and 1 mg/L 2,4-D, or 1 mg/L NAA, 1 mg/L 2,4-D and 0.5 mg/L kinetin. The maximum frequency of callus induction and plant regeneration was obtained from the medium supplemented with 2 mg/L NAA and 0.6% Gelrite. In conclusion the induction of embryogenic callus, the frequency of plant regeneration, and *in vitro* chromosome doubling was more effective in Gelrite media than in Junsei agar media.

Key word: callus, plant ploidy

벼 약배양은 Niizeki와 Oono (1968)에 의하여 최초로 소포자 유래의 반수성 식물체를 얻음으로써 약배양 유래 반수체를 이용한 벼 품종개량 가능성이 높아졌다. 그 후 약배양 기술의 육종이용효율 증대를 위하여 여러 가지 요인에 대한 연구가 지속적으로 이루어져 왔으며, 이미 품종개량에 실용적으로 이용되고 있다. 우리나라에서도 일찌기 화청벼 (Lee et al., 1989)를 비롯한 몇몇 품종이 육성된 바 있으며, 현재 약배양을 이용한 반수체 육종체계가 확립되어 신품종 육성에 큰 기여를 하고 있다. 벼 약배양 효율은 유전자형 (Chen and Lin, 1981), 기내 배양조건(Chu, 1978: Sohn et al., 1985: Chen et al., 1991), 모식물의 생리적 상태(Lee et al., 1988a: 1988b) 등에 따라 반응이 다르다.

벼 약배양 배지는 N_6배지(Chu et al., 1975)가 널리 이용되고 있으며, 생장조절제는 1-2 mg/L의 2,4-D나 NAA를 단독 또는 kinetin과 혼합하여 사용하고 있는데, 캘러스 유기 및 식물체 재분화율은 연구자에 따라 다르다(Torizo and Zapata, 1986: Chen, 1991). 또한 배양 소포자의 분열과 식물체 재분화를 촉진시키기 위하여 배지에 첨가되는 유기물로는 glutamine이나 proline과 같은 아미노산의 첨가가 효과적인 것으로 알려져 있다(Chung, 1985: Cho and Japata, 1988). 최근 벼 약배양 효율에 미치는 다양한 요인들이 밝혀지면서 배지의 물리성도 중요한 요인중의 하나로 인식되고 있다.

벼 약배양에서 고체배지에 이용되는 배지 응고제로 흔히 agar와 Gelrite를 이용하고 있는데, Moon 등(1988)은 agar 농도가 1.6%일 때 식물체 재분화율이 증가한다고 하였으며, Yang 등(1994)은 agar보다 0.8% Gelrite 첨가배지가 캘러스 형성 및 식물체 재분화에 효과적이라고 하였다. Lee 등 (1994)은 약배양 12일째에 35°C, 4일간 또는 nitrous oxide를 24시간 처리할 경우, 기내 자연배가이배체(spontaneous

doubled-diploid) 분화율이 증가하였으며, 이러한 단기적 처리보다는 배양온도, 생장조절제와 배지 물리성 등을 개량하는 것이 더 효과적일 것으로 추정하였다. 이와 같이 배지의 물리성은 배지내 물질의 흡수 및 이동, 보수력, 삼투압 등을 조절하여 캘러스 형성과 식물체 재분화에 크게 영향을 미치는 중요한 요인으로 인식되고 있다. 또한 이러한 측면에서 배지의 물리성 변화는 재분화 식물체의 배수성에도 영향을 미칠것으로 생각되지만, 아직 이와 관련된 상세한 보고는 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 벼 약배양기술의 반수체 육종이용 효율을 증대시키기 위하여, 배지 응고제로 사용되는 agar와 Gelrite의 농도에 따른 배지의 물리성 변화가 캘러스 형성, 식물체 재분화 및 재분화 식물체의 배수성에 미치는 영향을 조사하였다. 또한 배지의 물리성 변화에 따른 적정 생장조절제의 종류와 농도를 조사하였다.

재료 및 방법

약배양 및 식물체 양성

공시재료는 대청벼를 사용하였으며, 약배양 재료의 채취는 출수전 수선단이 지엽아래 제1엽의 엽이까지 올라왔을 때, 줄기채로 채취하여 잎을 1/2길이로 잘라내었다. 저온 전처리는 Φ10 × 20 cm 유리병에 20 mL의 증류수를 흡수시킨 스폰지를 깔고 멸균한 후, 재료를 넣고 비닐백을 씌워 10 ± 2°C 저온항온기에서 10일간 처리하였다. 약의 치상은 저온처리된 이삭의 상단에서 1핵성 소포자기의 지경을 절취하여 75% 에틸알콜에 30초간 표면살균 후 건조멸균여지에 영외부의 수분이 완전히 마를 때까지 건조시켰다. 약치상은 영기부를 1 mm 정도 잘라서 영상단을 핀셋으로 잡고 샤레에 두드려 터는 방법으로 치상하였으며, 치상 약수는 Φ8.7 × 1.5 cm 샤레당 약 100개씩 조절하였다. 캘러스 유기는 26°C로 암배양하였으며, 식물체 재분화는 각각의 배지에서 유기된 캘러스가 3-5 mm 크기로 자랐을 때, 식물체 재분화배지로 옮겨 2,000 lx, 16/8 h (day/night)로 배양하였다. 재분화된 식물체는 논흙을 담은 40 × 50 × 15 cm 사각포트에 가식하였다가 10 × 20 cm 간격으로 온실에 이앙하여 재배하였다. 약 치상 후 60일까지의 캘러스 형성수와 재분화배지 이식 후 40일까지의 녹색체 및 백색체 재분화수, 재분화 식물체의 배수성 등을 조사하였다. 재분화 식물체의 배수성은 출수 후의 임실상태 및 초형에 따라 반수체, 이배체 및 다배체로 구분하여 조사하였다.

배지조제

배지 물리성이 약배양에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 캘러스 유기배지는 N6 기본배지(Chu et al., 1975)에 250 mg/L proline, 1 g/L casein hydrolysate (Sigma)를 넣고 생장조절제는 2 mg/L NAA를 첨가하였다. 배지 응고제로 agar (Junsei Chemical Co.) 0.8, 1.2, 1.6%와 Gelrite (Phytagel, Sigma) 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0%를 첨가한 8종류의 배지를 조제하였다. 식물체 재분화배지는 동일조성에 1 mg/L NAA와 2 mg/L kinetin을 첨가하였고, 배지응고제는 예비실험 결과 성적이 좋았던 0.6% Gelrite를 첨가하였다. 배지 물리성 변화에 따른 따른 적정 생장조절제의 종류와 농도를 조사하기 위하여, 0.6% Gelrite를 첨가한 동일 N6 배지에 2 mg/L NAA, 2 mg/L 2,4-D, 1 mg/L NAA + 1 mg/L 2,4-D, 1 mg/L NAA + 1 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L kinetin 등을 첨가한 4종류의 캘러스 유기배지를 조제하였다. 식물체 재분화 배지는 배지 물리성에 사용했던 배지와 동일하였다.

결과 및 고찰

배지 물리성의 영향

벼 약배양을 이용한 반수체 육종효율을 향상시키기 위하여, 배지 물리성이 캘러스 형성과 식물체 재분화에 미치는 영향을 agar와 Gelrite 농도를 달리하여 조사한 결과(Table 1), 캘러스 형성은 agar 배지에서보다 Gelrite 배지에서 빨리 출현하였으며, 약벽을 터트리고 나오는 소캘러스의 수도 Gelrite 배지에서 많이 관찰되었다. 캘러스 형성률은 배지내 agar 함량이 증가할수록 감소하여 0.8% agar 배지에서 53.7%로 가장 높았다. Gelrite 배지에서도 농도에 따라 캘러스 형성에 큰 차이를 보여 0.4%에서 67.6%, 0.6%에서 54.8%

Table 1. Effect of Junsei agar and Gelrite concentration on callus induction and plant regeneration in rice (Japonica, cv Daecheongbyeo) anther culture.

Gelling agent[a]	(%)	No. of anthers plated	No. of calli induced(%)	No. of plants regerated(%)[b]		
				Green (A)	Albino (B)	B/A(%)
Agar	0.8	3,070	1,649 (53.7)	304 (9.9)	132 (4.3)	43.4
	1.2	3,530	1,796 (50.9)	456 (12.9)	188 (5.3)	41.2
	1.6	3,138	1,152 (36.7)	537 (17.1)	272 (8.7)	50.7
Gelrite	0.2	3,445	1,463 (42.5)	286 (8.3)	101 (2.9)	35.3
	0.4	2,685	1,816 (67.6)	610 (21.3)	276 (10.3)	45.2
	0.6	3,273	1,792 (54.8)	904 (27.6)	384 (11.7)	42.5
	0.8	2,857	1,055 (36.9)	434 (15.2)	226 (7.9)	52.1
	1.0	2,759	466 (16.9)	216 (7.8)	141 (5.1)	65.3

[a] Callus induction media: N6 + 2 mg/L NAA, 250 mg/L L-proline, and 1 g/L casein hydrolysate.

[b] Plant regeneration media: N6 + 1 mg/L NAA, 1 mg/L kinetin, 250 mg/L L-proline, 1 g/L casein hydrolysate, and 0.6% Gelrite.

로 agar 배지보다 높게 나타났으며, 농도가 높을수록 감소하는 경향을 보였다. 특히 Gelrite 배지에서는 agar 배지보다 유백색의 단단하고 부서지기 쉬운 특성을 가진 배발생능이 높은 캘러스가 형성되었으며, 이러한 특성은 0.6% Gelrite 배지에서 가장 좋았다.

식물체 재분화는 0.6% Gelrite 배지 유래의 배발생능이 높은 캘러스들이 녹점형성 및 녹색체 출현이 빨랐으나, agar 배지 유래의 캘러스간에는 농도에 따른 차이가 없었다. agar 배지에서의 녹색체 분화율은 agar 농도가 증가할수록 높아져서 캘러스 형성률과는 반비례하는 경향이었다. 그러나 agar 농도가 1.6% 이상으로 높아지면 캘러스 형성률이 크게 낮아 지기 때문에 식물체 재분화율이 더 증가하여도 실제로 재분화 녹색체 수가 감소될 것이므로 1.6% 이상의 농도는 바람직하지 않을 것으로 생각된다. Gelrite 첨가배지에서의 녹색체 재분화는 0.6%에서 27.6%로 가장 높았으며, 0.6%보다 낮거나 높은 농도일수록 감소하는 경향을 보였다. 백색체 재분화도 녹색체와 비슷한 경향을 보였으며, 특히 Gelrite 0.4%와 0.6% 배지에서 10% 이상의 높은 재분화율을 보였는데, 이는 백/녹색체 비율로 볼때 다른 처리와 비슷한 수준이었다. Moon 등(1988)은 벼 약배양에서 캘러스 배지내 생장조절제에 관계없이 재분화 배지의 agar 농도를 1.6%로 높혔을 때, 식물체 재분화율을 현저히 증가시켰다. Liu와 Lai (1985)는 벼 현탁배양 캘러스의 식물체 재분화에서 agar 농도를 0.8%에서 1.6%로 높혔을 때, 0.8%에서 재분화되지 않았던 캘러스로부터 약 40%의 높은 식물체 재분화율을 보였다고 하였다. Agar 배지보다 0.8% Gelrite 배지가 캘러스 형성 및 식물체 재분화에 효과적인 결과(Yang et al., 1994) 등은 본 실험과 유사하였다. 이는 배지응고제의 종류 및 농도에 따른 배지내 물리성이 소포자 분열초기부터 캘러스로 발달하기까지 장기간에 걸쳐 캘러스의 배발생능에 영향을 미쳤기 때문으로 생각된다. 이에 대하여 Liu와 Lai (1985)는 배지내 수분감소로 인한 스트레스에 의하여 식물체 재분화능이 높아졌다고 하였는데, 이에 관한 상세한 기작은 좀더 검토되어야 할 것으로 생각된다.

배지 응고제의 종류 및 농도에 따른 재분화 식물체의 배수성을 조사한 결과(Table 2), agar 배지에서는 세 처리구 모두 평균적으로 반수체 비율이 자연배가 이배체보다 높게 나타났으며, 이배체와 기타 다배체 비율은 agar함량이 높을수록 증가하는 경향이었다.

Gelrite 배지에서도 0.6% 이상에서는 기내 자연배가이배체가 반수체보다 높게 나타났으며, 농도가 높을수록 증가하였다. 이러한 결과로 미루어 배지 응고제와 같은 배지의 물리성 변화가 캘러스 발달과정에서 캘러스의 염색체 배가에 중요한 영향을 미치는 것으로 생각된다. 따라서 0.6% Gelrite 첨가배지에서 캘러스 형성률 54.8%, 녹색체 재분화율 27.6%, 그리고 기내 자연배가 이배체 재분화율 55.9% 등으로 좋은 반응을 보여 벼 약배양 효율증대에 유용할 것으로 생각된다. 특히 벼 약배양에서 육종 프로그램상 반수체의 이용보다는 기내 자연배가이배체의 이용이 육종기간의 단축 및 생력화에 훨씬 편리하기 때문에 자연배가이배체 재분화율의 향상은 중요하다. 벼 약배양에서 재분화식물체의 배수성은 유전자형(Chen et al., 1974: Chen and Lin, 1981: Chu et al., 1985), 생장조절제(Ling et al., 1978: Chung, 1985), 저온 전처리(Ling et al., 1978: Shon et al., 1984: Yang et al., 1985), 계대배양 기간(Chen and Chen, 1980) 등에 따라서도 다른 것으로 보고되었으며, 본 실험에서와 같이 캘러스 유기배지에 사용되는 응고제의 종류 및 농도에 따른 배지의 물리성 변화에 따라서도 큰 차이를 보였다.

Table 2. Effect of Junsei agar an Gelrite concentration of callus induction media on ploidy of plant regenerated from anther culture of rice (Japonica, cv Daecheongbyeo).

Gelling agent[a]	(%)	No. of plants tested[b]	Ploidy		
			Haploid(%)	Diploid(%)	Others(%)
Agar	0.8	234	150 (64.1)	78 (33.3)	6 (2.6)
	1.2	399	219 (54.9)	168 (42.1)	12 (3.0)
	1.6	450	220 (48.9)	210 (46.7)	20 (4.4)
Gelrite	0.2	140	98 (70.0)	38 (27.1)	4 (2.9)
	0.4	380	208 (54.7)	160 (42.1)	12 (3.2)
	0.6	544	208 (38.2)	304 (55.9)	32 (5.9)
	0.8	295	90 (30.5)	180 (61.0)	25 (38.5)
	1.0	136	40 (29.4)	85 (62.5)	11 (28.1)

[a] Callus induction media: N6 + 2 mg/L NAA, 250 mg/L L-proline, and 1 g/L casein hydrolysate.

[b] Plant regeneration media: N6 + 1 mg/L NAA, 1 mg/L kinetin, 250 mg/L L-proline, 1 g/L casein hydrolysate, and 0.6% Gelrite.

생장조절제의 영향

배지 응고제의 농도에 따른 물리성 변화에 적합한 생장조절제의 종류와 농도를 결정하기 위하여 N6배지에 0.6% Gelrite를 첨가하여 NAA, 2,4-D와 kinetin의 단독 및 혼용 처리가 캘러스 형성 및 식물체 재분화에 미치는 영향을 조사한 결과(Table 3), 캘러스 형성률은 2 mg/L NAA를 첨가한 배지에서 65.2%로 가장 높았으며, 2,4-D 단독처리나 NAA와 2,4-D 또는 kinetin의 혼용처리에서는 캘러스 형성률이 감소하였다. 특히 2 mg/L NAA첨가배지에서는 유백색의 배발생능이 높은 캘러스가 균일하게 형성되었으며, 2 mg/L 2,4-D 및 NAA, 2,4-D와 kinetin이 혼용첨가된 배지에서는 시일이 지날수록 연황색의 큰 캘러스로 자라서 생장조절제의 종류에 따라 캘러스 형성양상이 달랐다(Fig. 1). 이로 미루어 캘러스 유기배지의 생장조절제 및 물리성에 따라 캘러스의 재분화능이 달라지기 때문에 실제 식물체 재분화에 영향을 미치는 배지는 식물체 재분화배지보다도 캘러스 유기배지

Table 3. Effect of growth regulators on callus induction and plant regeneration in rice (Japonica, cv Daecheongbyeo) anther culture.

Growth regulators (mg/L)[a]	No. of anthers plated	No. of calli induced(%)	No. of plants regerated(%)[b]		
			Green (A)	Albino (B)	B/A(%)
NAA 2	2,894	1,887 (65.2)	1,003 (34.7)	778 (26.9)	77.6
2,4-D 2	2,712	986 (36.4)	428 (15.8)	290 (10.7)	67.8
NAA 1 + 2,4-D 1	3,039	1,261 (41.5)	625 (21.5)	619 (20.4)	99.0
NAA 1 + 2,4-D 1 + kinetin 0.5	2,424	476 (19.6)	355 (14.6)	219 (9.0)	61.7

[a] Callus induction media: N_6 + 250 mg/L L-proline, 1 g/L casein hydrolysate, and 0.6% Gelrite.

[b] Plant regeneration media: N_6 + 1 mg/L NAA, 1 mg/L kinetin, 250 mg/L L-proline, 1 g/L casein hydrolysate, and 0.6% Gelrite.

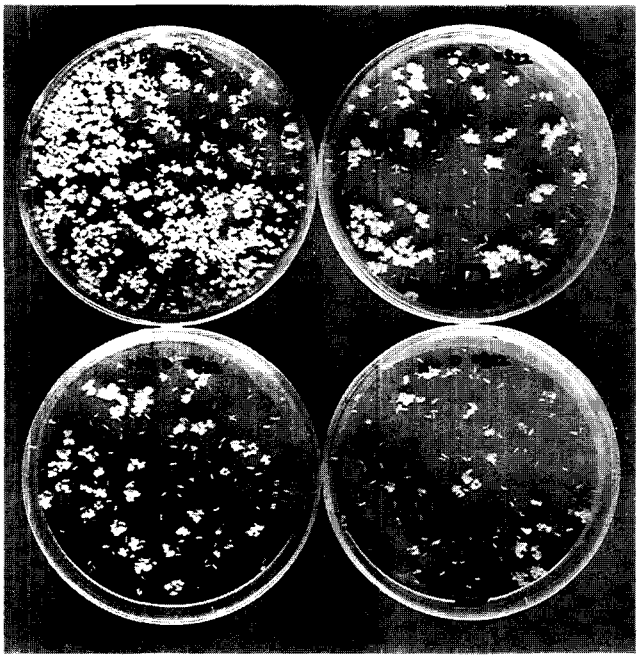

Figure 1. Effect of growth regulators on callus induction from anthers of rice (Japonica, cv Dae-cheongbyeo) in N_6 media containing 0.6% Gelrite: A: 2 mg/L NAA: B: 2 mg/L 2,4-D: C: 1 mg/L NAA and 1 mg/L 2,4-D: D: 1 mg/L NAA, 1 mg/L 2,4-D and 0.5 mg/L kinetin.

가 더 중요한 것으로 생각된다.

한편 녹색체 재분화도 2 mg/L NAA를 첨가한 배지에서 34.7%로 가장 높게 나타났으며, NAA, 2,4-D와 kinetin의 혼용배지에서 14.6%로 가장 낮게 나타나, 캘러스 형성과 비슷한 양상을 보였는데, 이러한 결과는 캘러스 유기배지에서 캘러스의 재분화능이 이미 결정되기 때문인 것 같다. Chen 등(1991)은 2,4-D와 NAA가 캘러스 형성에는 비슷한 영향을 미치지만, 2,4-D 첨가배지 유래의 캘러스는 NAA 첨가배지 유래의 캘러스보다 식물체 재분화능이 낮다고 하였다. 또한 생장조절제의 종류와 농도에 따른 백색체 재분화도 녹색체 재분화 양상과 비슷한 경향을 보였는데, 백/녹색체 비율은 1 mg/L NAA와 1 mg/L 2,4-D 혼용배지에서 99%로 가장 높게 나타났으며, 다른 배지에서도 백색체 재분화율이 높은 경향이었다. 본 실험에서 2 mg/L NAA와 0.6% Gelrite배지에서 캘러스 형성 및 녹색체 재분화율이 크게 증가 하였지만, 백색체 재분화수를 감안한다면 실제로 식물체 재분화수는 크게 향상되었다고 볼 수 있다. 따라서 벼 약배양에서 백색체 발생을 감소시키는 것이 중요하며, 이러한 백색체의 발생 원인은 식물체 재분화배지보다 캘러스 형성배지에 첨가되는 생장조절제의 영향이 크며(Wang et al., 1977), 배양 초기의 고온(Wang et al., 1981)과 전처리 조건(Genovesi and Magill, 1979; Yang et al., 1994)과도 관련이 있는 것으로 알려져 있다.

이상에서 배지 응고제로서 agar보다 Gelrite를 사용함으로써 캘러스 형성률, 녹색체 재분화율이 크게 향상되었다. 특히 배지 응고제의 농도가 증가함에 따라, agar 배지보다 Gelrite 배지에서 기내 자연배가이배체 재분화율이 증가한 것은 흥미있는 결과로서, 이와 관련된 기작에 관하여는 금후 더 상세한 연구가 필요하다고 생각된다.

적 요

벼 약배양에서 배지 물리성과 생장조절제가 약배양 효율에 미치는 영향을 조사하기 위하여, N_6 배지에 배지 응고제인 agar와 Gelrite의 농도를 달리하여 캘러스 형성률, 식물체 재분화율과 재분화 식물체의 배수성 등을 조사하였고, 이에 따른 적정 생장조절제의 종류와 농도를 구명하였다. 캘러스 유기배지의 agar 농도를 0.8, 1.2, 1.6%와 Gelrite 농도를 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0%로 달리하여 약을 배양한 결과, 캘러스 형성률은 agar 농도가 증가함에 따라서 감소하였으나, 식물체 재분화율과 기내 자연배가이배체의 재분화율은 agar농도에 비례하여 증가되었다. Gelrite 배지에서의 캘러스 형성률은 0.4%와 0.6%에서 67.6%와 54.8%로 agar 배지에서보다 높았으며, 녹색체 재분화율은 0.6%에서 27.6%로 가장 높았다. 기내 자연배가이배체 및 다배체 재분화율은 Gelrite 농도에 비례하여 증가하였다. 0.6% Gelrite 배지에서 캘러스 형성에 미치는 생장조절제의 효과는 2 mg/L NAA가 65.2%의 높은 캘러스 형성률과 34.7%의 녹색체 분화율을 보여 가장 높았다. 따라서 N_6 배지에 2 mg/L NAA와 0.6% Gelrite 조합이 캘러스 형성률, 식물체 재분화율 및 기내 자연배가이배체 재분화율 등이 모두 agar 배지보다 크게 증가하여 벼의 약배양 배지로 가장 적합하였다.

사 사-본 연구는 1994년도 원광대학교 교내 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

인 용 문 헌

Chen CC, Chen CM (1980) Changes in chromosome number in microspore callus of rice during successive subcultures. Can J Genet Cytol **22**: 607-614

Chen CC, Lin CM (1981) Genotypic differences in plant production in anther culture of rice. *In* Chang WC, ed. Proc Symp Plant Cell Tissue Culture, Acad Sin Taipei, pp 199-203

Chen Y, Li LT, Zhu J, Wang RF, Li SY, Tian WZ, Zheng SW (1974) Studies oninduction condition and genetic expression of pollen plants in rice. Sci Sin **1**: 40-51

Chen CC, Tsay HS, Huang CR (1991) Factors affecting androgenesis in rice. *In* Bajaj YPS, ed. Biotechenology in Agriculture and Forestry 14, Rice, Springer-Verlag, pp 193-215

Cho MS, Zapata FJ (1988) Callus formation and plant regeneration in isolated microspore of rice (*Oryza sativa* L. cv. Taipei 309). Plant Sci **58**: 239-244

Chu, CC (1978) The N6 medium and its application to anther of cereal crops. *In* Proc Symp Plant Tissue Culture, Science Press, Peiking, p 43-50

Chu CC, Wang CC, Sun C, Chon H, Yin KC, Chu CY, Bi FY (1975) Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on nitrogen sources. Sci Sin 18: 659-668

Chu Q, Zhang Z, Gao Y (1985) Cytogenetical analysis on aneuploids obtained from pollen clones of rice (*Oryza sativa* L.) Theor Appl Genet **71**: 506-512

Chung GS (1985) Application of tissue culture techeniques to rice improvement. Korean J Plant Tissue Culture **12**: 35-56

Genovesi AD, Magill CW (1979) Improved rate of callus and green plant production from rice anther culture following cold shock. Crop Sci **19**: 662-664

Lee SY, Kang HJ, Shin HT, Lee SY (1994) Effect of temperature and nitrous oxide for early culture period on rice anther culture. Res Rept RDA(B) **36**: (in press)

Lee SY, Kim HS, Lim MS (1988) Studies on the anther culture of *Oryza sativa* L. 3. Growing environment of donor plant in anther culture - Effects of photoperiod and light intensity. Res Rept RDA (B) **30**: 7-12

Lee SY, Kim HS, Lee YT, Kim TS (1988) Studies on the anther culture of *Oryza sativa* L. 4. Growing environment of donor plant in anther culture - Effects of nitrogen levels and the low-temperature and photoperiod stress at meiotic stage. Res Rept RDA (Biot.) **30**: 13-20

Lee YT, Lim MS, Kim HS, Shin HT, Kim CH, Bae SH, Cho CI (1989) An anther-derived new high quality rice variety with disease and insect resistance "Hwacheongbyeo". Res Rept RDA (Biot.) **31**: 27-34

Ling TH, Wang HH, Chu C, Chen WY, Shih P, Huang HS (1978) A study on ploidy of pollen plants in \ L. subsp. Shien. *In* Proc Symp Anther Culture, Science Press, Peking, pp 253-254

Liu LF, Lai KL (1985) High frequency plant regeneration from water-stressed rice tissue cultures. *In* Abstracts of the First International Congress of Plant Molecular Biology p 11

Moon HP, Choi SH, Cho SY, Son YH (1988) Effect of high agar medium on plant regeneration in rice (*Oryza sativa* L.) anther culture. Korean J Breed **20**: 335-340

Niizeki H, Oono K (1968) Induction of haploid rice plant from anther culture. Proc Jap Acad **44**: 554-557

Sohn JK, Lee SK, Oh BG, Park RK (1984) Variation in ploidy level of rice plants derived from anther culture. Korean J Crop Science **29**: 328-333

Sohn JK, Oh BG, Lee SK (1985) Effects of media and its components on callus induction and plant differentiation in rice anther culture. Korean J Crop Science **30**: 271-276

Torrizo LB, Zapata FJ (1986) Anther culture of rice: Ⅳ. The effect of abscisic acid on plant regeneration. Plant Cell Reports **5**: 136-139

Wang CC, Sun CS, Chu CC, Wu SC (1981) Studies on the albino pollen plantlets of rice. *In* Proc Peking Symp Plant Tissue Culture, Science Press, Peking, pp 149-160

Yang SJ, Oh BG (1994) Effect of gelrite as gelling agents on rice anther culture efficiency. *In* Abstracts from the Spring Congress of the Korean Society of Plant Tissue Culture p 53

Yang SJ, Oh BG, Koh JC, Lee SK (1994) Effect of cold pretreatment and cultural conditions on albino frequency in rice anther culture. Korean J Breed **25**: 186-290

Yang SJ, Shon JK, Chung GS (1985) Effect of low temperature treatment on culturability and ploidy level in rice anther culture. Korean J Breed **17**: 344-347

(1994년 12월 8일 접수)