

당근의 배양세포로부터 형성된 체세포배의 다자엽 구조

蘇 雄 永* · 趙 德 以¹ · 李 銀 慶

全北大學校 自然科學大學 生物學科

¹又石大學校 自然科學大學 生物學科

배발생 캘러스의 선발은 1.0 mg/L 2,4-D를 첨가한 MS 기본배지에서 배양한 당근 유식물의 배축절편으로부터 유도된 캘러스에서 이뤄졌다. 체세포배 발생을 유도하기 위해서 배발생 캘러스로부터 얻어진 세포괴는 2,4-D를 제거한 MS 배지에 옮겼다. 세포괴를 1.0 mg/L 2,4-D 첨가배지에서 1주간 그리고 2, 4-D 제거 배지에서 2주간 배양한 후에 2자엽배의 발생은 63%에 그쳤고 나머지는 1자엽 5%, 3자엽 21%, 4자엽 6%, 5자엽 5%, 6자엽 0.2% 및 나팔형 자엽 1%의 발생빈도를 나타냈다. 체세포배의 발아율은 다자엽 체세포배에서 보다 2자엽 배에서 높았다. 나팔형 자엽의 체세포배는 경엽부 발생없이 자엽과 뿌리가 다소 신장 확대되는데 그치는 등 정상적으로 발아되지 못했다. 해부학적인 관찰에서 체세포배의 뿌리의 환상 전형성층은 배축의 중간부위에서 분기되기 시작하고 자엽절을 거쳐서 자엽으로 이어지는데 배축에서 전형성층속은 자엽수와 같은 수였다. 1자엽 체세포배는 다자엽 체세포배의 각각의 자엽보다 크고 전형성층과 함께 말굽형 자엽을 가지고 있었다. 따라서 체세포배의 자엽구조는 전형성층 배열상태와 밀접한 관련이 있다는 것을 확인할 수 있었다.

주요어: 체세포배 발생, 자엽구조, 전형성층 배열, 발아, 당근

식물세포배양으로부터 체세포배 발생을 유도하여 식물체로 재생시킬 수 있게 된 것은 식물발생학의 발전에 그리고 인공종자 생산 등의 산업발전에 획기적인 계기가 되었다. 시험관내에서 형성된 체세포배는 접합자배와 같은 것으로 인정되어 왔지만 최근에 형태학상으로 차이점이 확인되었으며(Ammirato, 1974; Buchheim *et al.*, 1989; Kageyama *et al.*, 1990; Lee and Soh, 1993a, b; Choi *et al.*, 1994a) 식물체 재생률도 상당한 차이가 있다는 사실이 밝혀졌다(Soh, 1993; Wetzstein and Baker, 1993). 체세포배의 구조가 발아에 밀접한 관련을 가지고 있다는 사실에(Nickle and Yeung, 1993; Soh, 1993; Lee and Soh, 1993a, b; Wetzstein and Baker, 1993) 착안하여 본 연구진은 체세포배의 형태변이를 다각도로 관찰하여 왔다(Choi *et al.*, 1994a; Lee and Soh, 1994, 1996).

땅두릅의 체세포배 형성 세포의 배양에서 체세포배 발생배지에 2,4-D를 계속 처리하면 자엽의 변이가 나타난다는 것이 확인되었으며(Lee and Soh, 1993a), 시토키닌을 첨가한 배지에서도 다자엽 체세포배의 출현

빈도가 높다는 것이 밝혀졌다(Lee and Soh, 1993b). 당근의 체세포배 형성 세포에 ABA를 배분화 전반기간 처리하면 접합자배의 구조와 같은 정상 체세포배의 형성률이 증진된다는 보고가 있는 반면에(Kamada and Harada, 1979; Ammirato, 1983, 1987, 1989) 땅두릅의 체세포배 형성 세포에 ABA를 배분화 전기간 처리하면 오히려 다자엽 체세포배가 많이 나타났다(Lee and Soh, 1994). 한편 이와 같은 식물생장 홀몬이외에 배지에 첨가되는 당의 농도에 의한 삼투압 변화는 체세포배의 형태에 변화를 유발시키는 것으로 알려져 있다(Kageyama *et al.*, 1990; Choi *et al.*, 1994b).

더덕의 2자엽 체세포배만을 선별해서 재생률을 측정해 보면 98%에 이르지만 다자엽 체세포배와 혼합된 경우에는 46%로 저조한 것이 밝혀져 있는 반면에(Choi *et al.*, 1994b), 땅두릅의 경우에는 다자엽 체세포배의 재생률은 40%인데 오히려 2자엽 체세포배는 20%에 불과한 것이 밝혀졌다(Lee, 1993). 이와 같이 체세포배의 재생률에는 배의 형태 특히 자엽 형태가 밀접한 관련이 있으며, 접합자배에 비하여 재생률이 낮은 것으로 알려져 있으나 동일 종을 재료로 한 경우에도 배양조건에 따라 상당한 차이가 있는 것으로 알려져 있다.

*교신저자: Fax (0652) 70-3362
© 한국식물학회 [서울] 1996

당근의 체세포배는 배발생 연구를 위한 재료로 그리고 인공종자 개발을 위한 모델시스템으로 널리 쓰이고 있지만 아직도 기본적인 체세포배의 구조적 특성이 충분히 밝혀져 있지 못한 실정이다. 그러므로 본 연구에서는 체세포배의 자엽구조와 발아능력에 대한 해부학적인 관찰을 하여 체세포배의 자엽구조 변이를 이해하는데 기여하고자 시도되었다.

재료 및 방법

당근(*Daucus carota* L., 품종: 홍심) 종자를 70% 에틸 알콜에 1분간 그리고 1% sodium hypochlorite 용액에 15분간 침적시켜서 표면 살균한 다음 멸균수로 3~4회 세척하여 배양병에서 6일간 무균 발아시킨 유식물을 재료로 사용했다. MS 기본배지(Murashige and Skoog, 1962)에 1 mg/L 2,4-D, 3% 설탕 및 8% 한천을 첨가하여 pH 5.8로 조정된 다음 121°C, 15기압에서 15분간 증기 멸균하여 준비된 배지에 유식물의 하배측 절편을 이식하였다. 25°C에서 2000 lux의 16시간 광주기하에서 재료를 약 4주간 배양하여 얻어진 캘러스로부터 배형성 캘러스를 선별하였고, 이 캘러스를 0.1 mg/L 2,4-D를 첨가한 MS 액체배지(체세포배 유도배지)에서 90 rpm 속도로 헨탁 배양하면서 증식시켰다. 증식된 헨탁 배양세포괴는 30 μm 및 70 μm의 나이론 체로 이중 여과시킨 다음 2,4-D를 제거한 체세포배 발생배지 20 mL를 분주한 250 mL 플라스크에 배양하면서 배발생을 관찰하였다. 형성된 체세포배를 1/2 MS 기본배지에 옮겨서 발아능력을 관찰하였으며 발아 판별기준을 뿌리의 신장 및 제 1엽이 자라 나온 것으로 정했다.

자엽기 체세포배의 형태 관찰을 위하여 자엽기 체세포배를 FAA(formalin, acetic acid, ethyl alcohol)에 고정된 다음 n-butyl alcohol 탈수과정을 거쳐서 paraffin에 포매하였다. 포매된 재료는 회전식 마이크로톱으로 10 μm 두께의 절편을 작성하여 hematoxylin, safranin 그리고 light green으로 염색한 후 캐나다발삼으로 봉입한 영구 조직표본을 만들어서 관찰하였다. 한편 주사형전자현미경 관찰을 위하여 체세포배를 Craf III 용액에 고정한 다음 임계점 건조기에서 건조시켜 금입자 피막을 씌워서 주사전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

체세포배·유도배지에서 증식된 배발생 세포괴를

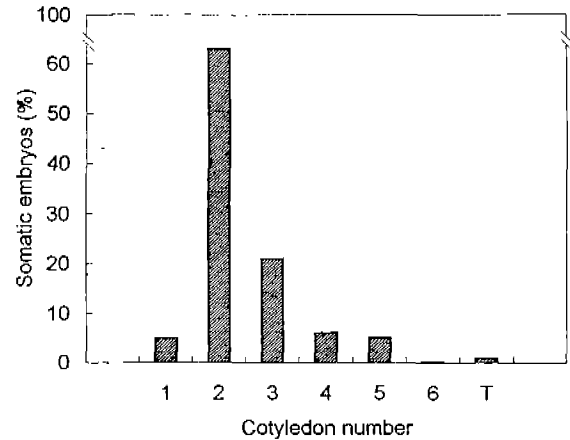


Fig. 1. Percentage of carrot somatic embryos with different cotyledon patterns. The embryos formed in MS basal medium without 2,4-D 14 days after transferring from MS medium containing 1 mg/L 2,4-D (▨). T: trumpet-like cotyledon.

2,4-D를 제거한 체세포배 발생배지에서 2주일간 배양하여 얻어진 자엽기 체세포배의 관찰결과에서 자엽수의 다양한 변화를 확인할 수 있었다(Fig. 1). 2개의 자엽을 갖는 정상체세포배의 출현빈도는 63%였으나(Fig. 4B) 1개로부터 6개의 자엽을 갖는 여러가지 이상체세포배도 관찰되었다. 이 중에서는 3개의 자엽을 갖는 체세포배가 28%로 가장 높은 비율로 나타났고(Fig. 4C) 6개의 자엽을 갖는 체세포배는 0.2%로 아주 적었으며, 나팔형 자엽을 갖는 체세포배가 1%로 나타났다(Fig. 4A).

체세포배 유도배지에서 증식된 체세포배 발생세포를 2,4-D가 제거된 체세포배 발생배지에 옮겨서 배양된 후에 발생한 체세포배의 유근을 횡단해 보면 전형성층이 원주형 또는 원통형을 이루고 있었으며 배측에서는 속상구조로 나뉘어서 환상으로 배열되어 있었다(Fig. 2). 이와 같은 전형성층속의 환상 배열은 배측상부에서 뚜렷해지며 전형성층속의 수는 외관상으로 관찰된 자엽의 수와 일치하였다. 그러므로 5개의 자엽을 가진 체세포배의 배측에는 5개의 전형성층속이 배열되어 있었으며, 배측의 전형성층 분화는 발생과정중에 있는 자엽의 전형성층 분화와 관련되어 있는 것으로 판단되었다(Fig. 3Q-T). 2개의 자엽을 갖는 체세포배는 배측상부로부터 자엽절에서 전형성층속이 두개의 거의 같은 크기로 나뉘지면서 자엽으로 연속되고 자엽의 크기도 거의 비슷하게 보였다. 그리고 4개의 자엽을 갖는 체세포배는 거의 크기가 비슷한 2개의 자엽으로 발생된 후 각각의 자엽이 다시 분지되어 4개의 자엽을

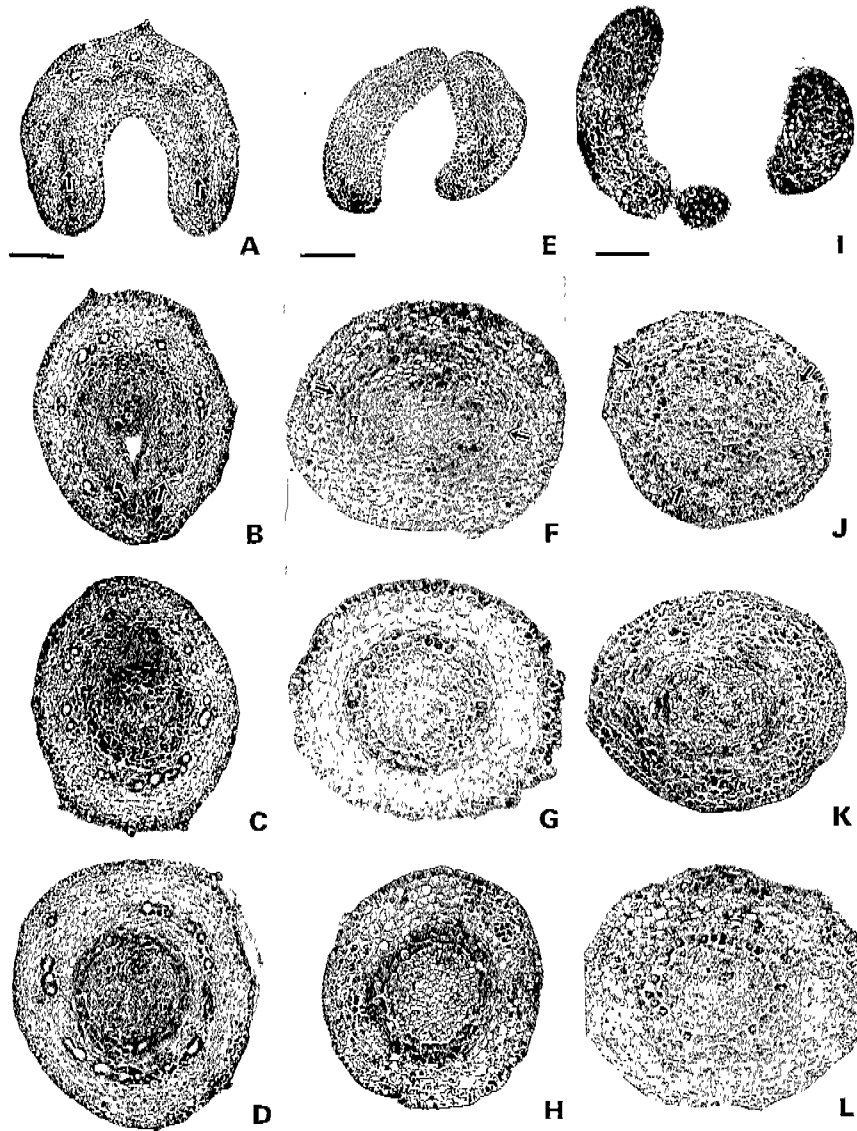


Fig. 2. Transverse sections of cotyledon, cotyledonary node (B, F, J), hypocotyl (C, G, K) and root (D, H, L) of somatic embryos with 1 (A), 2 (E) and 3 (I) cotyledons respectively. Procambium of root showing a columnar or cylindrical structure becoming a circular arrangement of procambial strands in the hypocotyl and then each strand extending to the cotyledon through the cotyledonary node. Monocotyledonous somatic embryos having a horseshoe-like cotyledon (arrows in A) in which the procambium is similar to the cotyledon and such procambial structure is clear from the cotyledonary node (arrows in B). Arrows; procambial strand. Scale bars represent 123 μm in E but 94 μm in all others.

갖추었다. 한편 다자엽 체세포배는 크고 작은 두개의 자엽이 발생되면서 큰 자엽이 다시 두개로 분지되어 결국 3개의 자엽으로 또는 그 이상의 여러 개의 자엽을 형성하게 되는 경우도 있었다. 그러므로 짝수의 자엽을 갖는 체세포배는 같은 크기의 자엽으로 분화되면서 분지되는데 홀수의 자엽을 갖는 체세포배는 크고 작은 자엽이 발생되면서 그 중의 큰 자엽이 다시 분지

되어 다자엽 체세포배를 이루게 되는 경우가 대부분이었다. 나팔형 자엽의 경우는 여러개의 자엽이 합쳐지면서 나팔형으로 되는 것이 아니고 발생초기부터 나팔 모양으로 자엽이 형성되었다(Fig. 4A). 하나의 자엽이 발생된 경우 자엽의 크기(특히 폭)는 다자엽배에서 하나의 자엽의 크기보다 훨씬 크고 말굽 모양을 이루고 있었다(Fig. 2A).

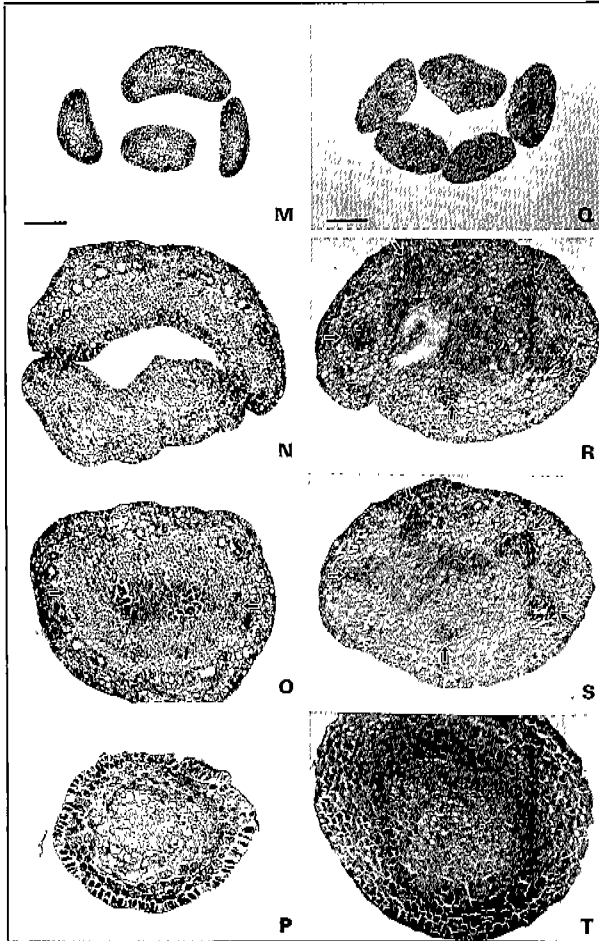


Fig. 3. Transverse section of cotyledon (M, Q, N), cotyledonary node (R), hypocotyl (O, S) and root (P, T) of somatic embryos. Cylindrical procambium of root divided into two strands in the hypocotyl (O) and extended two cotyledons (N) with the procambium dividing further into four cotyledons (M). Five procambial strands in the hypocotyl derived from cylindrical procambium in the root extended into five cotyledons through the cotyledonary node. Arrows; procambial strands. Scale bars represent 94 μm in M, Q but 123 μm in all others.

위와 같이 관찰된 어뢰기 체세포배를 1/2 MS 기본 배지에 옮겨서 발아실험을 실시한 결과 어뢰기 체세포배는 경엽부 발생이 일어나지 않는 비정상적인 생장이 일어났고, 캘러스가 형성되면서 뿌리만 신장될 뿐이었다(Fig. 5A). 나팔형 체세포배는 유근으로부터 뿌리의 신장이 일어나면서 자엽도 확대되었지만 경엽부의 발생은 일어나지 않고 점차로 갈변되었다(Table 1). 한편 자엽기 체세포배를 자엽형태별로 선별하지 않고 실험하였을 때 발아율은 66%로 나타났으나 자엽 형태별로 체세포배를 선별하여 발아시켜 보면 2개의 자엽을 갖는



Fig. 4. Scanning electron micrographs of carrot somatic embryos having trumpet-shaped (A), two-(B) and three-(C) cotyledons. Developing embryo in C has large and two small cotyledons. Black (A) and white (B, C) bars represent 100 μm .

체세포배는 98%로 훨씬 높았으나 3개의 자엽 체세포배는 75%, 1개의 자엽 체세포배는 64%, 4개의 체세포배는 57% 그리고 5개의 체세포배는 37%로 오히려 낮았다.

고 찰

쌍자엽 식물인 당근은 종자속의 접합자배가 2개의

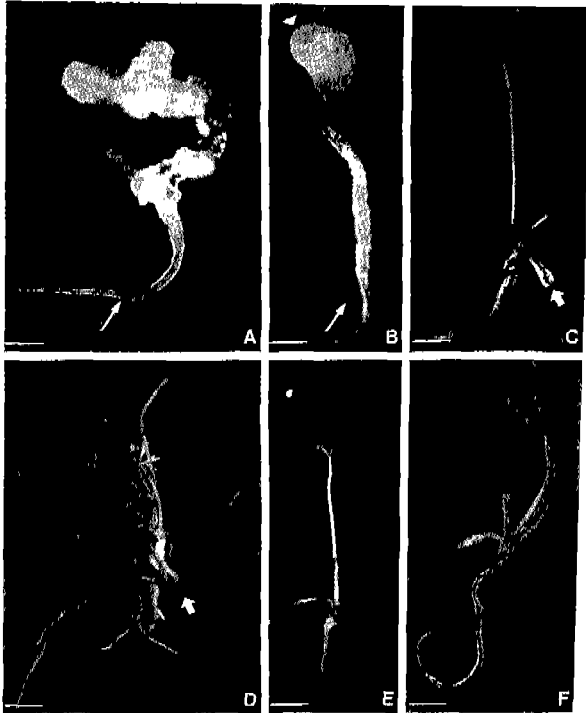


Fig. 5. Germination of carrot somatic embryos having various type of cotyledons at torpedo (A) and cotyledonary stage. Torpedo-stage embryo did not germinate but showed callus formation and root development (A, arrow). The embryo with trumpet-shaped cotyledon develop root arrow and enlarged cotyledon (arrow head) but did not develop shoot (B). Normal germination occurred in embryo with one cotyledon (arrow) having one shoot (C, arrow) or multiple ones (D, arrow), and with two (E) or three (F) cotyledons.

자엽을 가지고 있는 것은 당연한 사실이다. 그러나 세포배양계에서 발생된 2개의 자엽을 갖는 체세포배는 MS 기본배지에서 63% 그리고 하나의 자엽 또는 나팔형 자엽 등 여러가지 형태의 다자엽배를 갖고 있는 체세포배도 관찰되었다(Fig. 1). 이와 같은 체세포배의 다양한 자엽형태 변화는 더덕의 조직배양에서 고농도의 설탕이 첨가되었을 경우에도 일어났다(Choi *et al.*, 1994b). 땅두릅의 체세포배는 2,4-D, 싸이토키닌 및 ABA 등의 식물호르몬처리에 의해 다자엽 발생이 일어나는 것으로 알려졌다(Lee and Soh, 1993a, b, 1994). 그리고 대두의 배양조직으로부터 2,4-D 혹은 삼투제의 영향으로도 자엽의 형태변이가 일어났다(Kageyama *et al.*, 1990; Choi *et al.*, 1994c; Moon *et al.*, 1994). 이와 같이 체세포배의 형태는 자엽구조에서 심한 변화를 나타내고 있으나 접합자배의 구조와 동일한 것으로 취급되었거나(Steward *et al.*, 1958), 많은 연구에서 체세포

Table 1. Germination (%) of somatic embryos formed from cell cultures of *Daucus carotaa*

Stage	Cotyledon number						
	1	2	3	4	5	6	T
Cotyledonary	64	98	75	57	37	-	enlarged cotyledon rooting
Torpedo	b	b	b	b	b	b	b

"Data were collected from three replicates of 100 embryos each. "When somatic embryos were cultured on half-strength solid MS medium for 2 weeks, only the torpedo-shaped embryos showed pigment, root and callus formation on their hypocotyls following on secondary embryo development, and trumpet-like embryos showed only cotyledon enlargement and rooting, instead of normal germination. However, most cotyledonary embryos germinated at different rates in relation to cotyledon number. T: trumpet-like.

포배의 자엽구조의 다양한 변이에 무관심하게 지나쳐 왔다.

다양한 형태의 체세포배를 선별하지 않고 발아시켰을 때 발아율은 66%였고 2개의 자엽을 갖는 체세포배만을 선별하여 실시한 실험에서는 거의 모두 발아되지만 다자엽 체세포배는 훨씬 저조한 발아율을 나타내었으므로(Table 1), 체세포배로부터 식물체 재생을 제고를 위해서는 2개의 자엽을 가지고 있는 체세포배의 발생책 개발이 중요하다는 것을 알 수 있다. 더덕의 다자엽 체세포배로부터 재생률은 2자엽 체세포배의 절반에도 못미치는 것이 확인되었다(Choi *et al.*, 1994b). 그런데 땅두릅에서는 다자엽 체세포배의 재생률이 40%인데 비해 2자엽 체세포배는 오히려 20%에 불과하였다(Lee, 1993). 당근의 체세포배로부터 식물체 재생 능력은 3~4개의 자엽을 갖는 체세포배에서 정상으로 보고된 반면에(Molle *et al.*, 1993), 16%로 저조한 경우도 있었다(Nickle and Yeung, 1993). 대두에서 다자엽 체세포배는 발아능력이 있는 것으로 기재된 바 있으나(Moon *et al.*, 1994), 이상자엽 체세포배의 발아율은 약 10%에 지나지 않았다는 보고도 있다(Choi *et al.*, 1994c). 알파파의 경우 1982년경에는 체세포배의 발아가 이뤄지지 못했으나 그 후에 90%까지 발아율이 향상되어 있으므로(Redenbaugh, 1990), 자엽 구조변이의 조절이 이루어지면 체세포배의 발아율은 더욱 향상될 것으로 기대된다.

나팔형 자엽을 갖는 체세포배는 발아능력이 없는 것으로 관찰되었는데(Table 1) 대두는 품종에 따라서 전혀 발아가 되지 않는 경우(Moon *et al.*, 1994)와 약 5%

의 발아가 되는 경우가 보고 되었다(Choi *et al.*, 1994c). 더덕의 경우는 아주 저조하지만 발아능력이 있으며(Choi *et al.*, 1994b), 땅두릅에서는 발아능력이 없는 것으로 확인되었다(Lee, 1993). 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 땅두릅을 포함하여 발아능력이 충실한 체세포배를 얻으려면 나팔형 자엽을 가진 체세포배의 발생을 억제하고 2개의 자엽을 가진 체세포배발생을 증진시키는 배양 조건을 구명해야 될 것이다. 어리기 체세포배는 캘러스가 형성되면서 뿌리의 생장이 일어나지만 정상발아는 일어나지 않았는데(Fig. 5A) 나팔형 자엽배는 뿌리의 생장은 마찬가지로 일어나지만 캘러스 형성대신 자엽부가 팽대되는 차이를 보였을 뿐이고(Fig. 5B) 정상발아는 다같이 일어나지 않는 것으로 나타났다. 그러므로 나팔형 배는 경정분열조직의 활성화에 이상이 있는 것으로 추정된다(Nickle and Yeung, 1993).

체세포배의 발생과정에서 전형성충은 심장기의 배측에서 분화되기 시작하는데 뿌리에서 원주상 또는 원통상을 이루고 점차로 배측으로 올라가면서 속상으로 나뉘어져서 자엽으로 연결된다(Fig. 2, 3). 이와 유사한 전형성충 분화과정은 땅두릅과 시호에서도 관찰되었다(Lee and Soh, 1996; Cho and Soh, 1995). 체세포배의 자엽 발생은 구형기배의 선단부에 먼저 환상의 분열조직이 형성되고, 이로부터 자엽원기가 형성되어 2개 또는 여러 개의 자엽이 발생하는 것으로 기재된 바 있다(Ammirato, 1987). 그러나 본 실험에서는 배측에서 전형성충이 속상으로 배열된 수와 위치가 자엽의 수와 위치에 일치되는 것을 밝힐 수 있었으므로 자엽 발생에 앞서 전형성충 분화가 선행되면서 자엽 발생으로 이어지는 것으로 해석된다. 그러나 자엽의 발생과정에서 배측의 전형성충 분화와 자엽원기형성간의 관련성에 대하여는 한층 더 구체적인 관찰이 있어야 할 것으로 사료된다.

사 사

이 연구는 1994년도 교육부 기초과학육성 연구비의 지원에 의한 것이며(BSRI-94-4427) 실험을 도와준 전북대학교 생물학과 최필선 박사, 모기식 그리고 신은경 대학원생에게 사의를 표하고자 한다.

인 용 문 헌

- Ammirato, P.V. 1974. The effects of abscisic acid on the development of somatic embryos from cells of caraway (*Carum carvi* L.). *Bot. Gaz.* **135**: 328-337.
- Ammirato, P.V. 1983. The regulation of somatic embryo development in plant cell cultures: Suspension culture techniques and hormone requirements. *Bio. Technology* **1**: 68-74.
- Ammirato, P.V. 1987. Organizational events during somatic embryogenesis. In *Plant Tissue and Cell Culture*. C.E. Green, D.A. Somers, W.P. Hackett and D. D. Biesboer (eds.). Alan R. Liss, Inc., New York. pp. 57-81.
- Ammirato, P.V. 1989. Recent progress in somatic embryogenesis. Newsletter, *International Association for Plant Tissue Culture*. **57**: 2-16.
- Buchheim, J.A., S.M. Colburn and J.P. Ranch. 1989. Maturation of soybean somatic embryos and the transition to plantlet growth. *Plant Physiol.* **89**: 768-775.
- Cho D.Y. and W.Y. Soh. 1995. Morphology of somatic embryos formed from leaf explants of *Bupleurum falcatum* L. *Korean J. Plant Tissue Culture* **22**: 291-297.
- Choi, P.S., W.Y. Soh, D.Y. Cho, and J.R. Liu. 1994a. High frequency somatic embryogenesis and plant regeneration in seedling explant cultures of melon (*Cucumis melo* L.). *Korean J. Plant Tissue Culture* **21**: 1-6.
- Choi, P.S., W.Y. Soh, and J.R. Liu. 1994b. Effects of carbohydrate source and osmoticum on the structural abnormality of somatic embryo of *Conodopsis lanceolata*. Abstract. Spring Meet. Kor. Soc. Plant Tissue Culture, p. 47.
- Choi, P.S., W.Y. Soh, D.Y. Cho, and J.R. Liu. 1994c. Somatic embryogenesis in immature zygotic embryo cultures of Korean soybean (*Glycine max* L.) cotyledons and effect of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid on somatic embryo morphology. *Korean J. Plant Tissue Culture*. **21**: 7-13.
- Kageyama, C., T. Komatsuda, K. Nakajima. 1990. Effects of sucrose concentration on morphology of somatic embryos from immature soybean cotyledons. *Plant Tissue Culture Letters* **7**: 108-110.
- Kamada, H. and H. Harada. 1979. Studies on the organogenesis in carrot tissue cultures. II. Effect of amino acids and inorganic nitrogenous compounds on somatic embryogenesis. *Z. Pflanzenphysiol.* **91**: 453-463.
- Klimaszewska, K. 1989. Plantlet development from immature zygotic embryos of hybrid larch through somatic embryogenesis. *Plant Sci.* **63**: 95-103.
- Lee, K. 1993. Structural diversity of cotyledons of somatic embryos from cultured cells of *Aralia cordata* Thunb. Ph. D. Thesis. Graduate School, Chonbuk National University, Chonju, Korea, 86 pp.
- Lee, K.S. and W.Y. Soh. 1993a. Somatic embryogenesis and structural aberrancy of embryos in tissue cultures of *Aralia cordata* Thunb. *Korean J. Plant Tissue Culture* **20**: 77-83.
- Lee, K.S. and W.Y. Soh. 1993b. Effects of cytokinins on the number of cotyledons of somatic embryos from

Ammirato, P.V. 1974. The effects of abscisic acid on the

- cultured cells of *Aralia cordata* Thunb. *Korean J. Plant Tissue Culture* **20**: 171-175.
- Lee, K.S. and W.Y. Soh. 1994. Effects of ABA on abnormal somatic embryogenesis in tissue cultures of *Aralia cordata* Thunb. *Korean J. Plant Tissue Culture* **21**: 287-291.
- Lee, K.S. and W.Y. Soh. 1996. Structural characteristics of cotyledonary variation during somatic embryogenesis in cultured cells of *Aralia cordata* on medium with ABA. *J. Plant Biol.* **22**: (submitted).
- Moon, Y.-H., S.K. Kim, S.B. Choi and K.W. Lee. 1994. Plant regeneration of soybean cultivars via somatic embryogenesis. *J. Plant Biol.* **37**: 333-341.
- Murashige, T. and F.A. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* **15**: 473-497.
- Nickle, T.C. and E.C. Yeung. 1993. Failure to establish to a functional shoot meristem may be a cause of conversion failure in somatic embryos of *Daucus carota* (Apiaceae). *Amer. J. Bot.* **80**: 1284-1291.
- Redenbaugh, K. 1990. Application of artificial seed to tropical crops. *Hortscience* **25**: 251-
- Soh, W.Y. 1993. Developmental and structural diversity of regenerated plants in cell and tissue cultures. In Proc. 7th Symposium on Plant Biotechnology, Molecular Approach to Plant Cell Differentiation. Bot. Soc. Korea, pp. 1-35.
- Steward, F.C., M.O. Mapes, and K. Mears. 1958. Growth and organized development of cultured cells. II. Organization in cultures grown from freely suspended cells. *Amer. J. Bot.* **45**: 705-708.
- Wetzstein, H.Y. and C.M. Baker. 1993. The relationship between somatic embryo morphology and conversion in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Sci.* **92**: 81-89.

(1996. 1. 9 接受)

Multicotyledonary Structure of Somatic Embryos Formed from Cell Cultures of *Daucus carota* L.

Soh, Woong Young*, Duck Yee Cho¹ and Eun Kyong Lee

Department of Biology, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea

¹Department of Biology, Woosuk University, Chonbuk 565-800, Korea

ABSTRACT

Embryogenic callus was selected from callus induced from hypocotyl segment cultures of *Daucus carota* seedlings on MS basal medium supplemented with 1.0 mg/L 2,4-D. Cell clumps prepared from the embryogenic callus were transferred to MS medium without 2,4-D for somatic embryo development. Cotyledonary abnormalities were frequently observed on somatic embryos developed after the incubation of cell clumps in MS basal medium with 1.0 mg/L 2,4-D for one week and then subculture in the same medium but without 2,4-D for two weeks. The percentage of abnormalities was as follows: 5% one cotyledon, 21% three cotyledons, 6% four cotyledons, 5% five cotyledons, 0.2% six cotyledons and 1% trumpet-like cotyledons. On the other hand, the normal somatic embryo with two cotyledons appeared at 63%. The germination rate of somatic embryos was higher in two cotyledon somatic embryos than in multicotyledonary embryos. Trumpet-like somatic embryos did not germinate normally showing limited elongation and enlargement of roots and cotyledons without shoot development. From anatomical examination circular procambium in the root of somatic embryo began to branch around the middle regions of the hypocotyl which extended into the cotyledons through the cotyledonary nodes and the number of branched procambial strands in hypocotyl was equal to the number of cotyledons. Monocotyledonous somatic embryo always had larger cotyledon than that of somatic embryos with multicotyledons and had horseshoe-like cotyledons where the procambium was of the same structure.

Key words: somatic embryo, cotyledonary structure, procambial arrangement, germination, *Daucus carota*

*Corresponding author: Fax +82-652-70-3362