

## 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)의 현탁배양세포괴로부터 식물체 재분화

김명덕 · 김준철\* · 진창덕 · 임창진 · 한태진<sup>1</sup>  
강원대학교 자연과학대학 생명과학부, <sup>1</sup>한림대학교 자연과학대학 생물학과

### Plant regeneration from suspension-cultured cell clusters of *Arabidopsis thaliana*

KIM, Myoung Duck · KIM, Joon Chul\* · JIN, Chang Duck · LIM, Chang Jin · HAN, Tae Jin<sup>1</sup>  
Division of Life Science, Kangwon National University, Chuncheon, 200-701, Korea: and <sup>1</sup>Department of Biology,  
Hallym University, Chuncheon, 200-702, Korea \*Corresponding author

Callus induction from leaf and stem explants of *Arabidopsis thaliana* was successfully obtained when leaf explants were cultured on MS medium containing 2.0 mg/L 2,4-D in the dark and also, when stem explants were cultured on CP medium containing 0.5 mg/L 2,4-D and 0.1 mg/L BAP. Explant-derived sliced calli were suspension-subcultured every week in CP liquid medium with 0.5 mg/L 2,4-D and 0.1 mg/L BAP in the dark, and shoot-forming cell clusters of nodular, pale yellow and knobby type were selected after 7-8 weeks of culture. Shoots were initiated from the green spots of the selected shoot forming calli cultured on MS regeneration medium containing 0.05 mg/L IAA, 7.0 mg/L 2-iP and 30 g/L sucrose under continuous illumination for four weeks. Shoot regeneration frequency (calli regenerating at least one shoot) was more than 50%. For plant regeneration, excised shoots were transferred to hormone free medium for root initiation after 4 weeks of culture. The regenerants were bolting after 2 weeks of culture and formed *in vitro* flowering buds within bracts after 4 weeks of culture.

**Key words :** Callus induction, leaf and stem explants, shoot-forming calli, pale yellow and knobby type, green spots, *in vitro* flowering buds

애기장대(*Arabidopsis thaliana*)는 북반구 온대에 걸쳐서 많이 분포하고, 우리나라에서도 전라도 지방을 비롯한 전국에 식생하는 십자화과에 속하는 식물(Koncz et al., 1992)로서 전형적인 개화식물이면서 게놈(genome)의 크기가 70,000 kb로 매우 작은 크기일 뿐만 아니라(Leutwiler et al., 1984) 반복적인 DNA가 거의 없는 까닭으로 게놈 지도(genomic map) 작성이 용이하며(Pruitt and Meyerowitz, 1986) 돌연변이의 유발과 선택이 용이하고 한 세대가 짧아(Meyerowitz, 1989) 식물분화기작을 구명하는데 model system으로 이용되고 있다(Patton and Meinke, 1988; Shirley et al., 1992). 이러한 식물체의 기관분화 및 발달과 관련된 연구에 있어서 가장 큰 문제점은 기관분화의 잠재력을 갖고 있는 동일한 조직의 세포괴를 대량으로 확보하는 것이며, 이러한 문제점은 현탁배양을 통하여 대량으로 세포괴를 증식하고 높은 효율로 재분화할 수 있는 조직배양 방법을 확립함으로써 해결할 수 있다.

식물세포의 분화과정은 세포간 유전자 표현의 차이에 따라 생합성 능력에 차이가 있게 되고 이러한 일련의 변화에 의해 정단조직의 세포로부터 일정한 분화경로를 거쳐 진행된다. 식물세포배양 및 조직배양을 통하여 서로 다른 특성을 가진 세포나 캘러스 계통들을 분리할 수 있고 그 중 배발생캘러스(embryogenic callus)와 비배발생캘러스(non-embryogenic callus)로 재분화능력에 따라 구분되어진다(Nabors et al., 1983). 식물의 모든 세포는 한 식물체를 만드는데 필요한 full set의 게놈(genome)을 가지며 각각의 분화세포들이 각기 다양한 특성과 기능을 나타내는 것은 필요한 특정 유전자의 선택적 발현조절에 기인한 것이라고 알려졌다(Kiyosue et al., 1993). 분화과정에서 체세포분열이 진행된 각 세포에서 일어나는 genomic change와 분화기작의 관련성 여부를 밝히기 위해 전형적인 개화식물이면서 life cycle 및 genome organization 등에 있어서 분자유전학적 방법의 적용에 애기장대가 많은 장점을 가지고 있어 조직배양

또는 원형질체배양에 관한 많은 연구가 진행되었으나 (Patton and Meinke, 1988; Chaudhury and Signer, 1989; Karesch et al., 1991) 현탁배양에 의한 순화된 세포괴를 대량증식하여 재분화를 시도한 연구는 매우 드문 편이다.

본 연구에서는 애기장대의 줄기 및 잎 절편체로부터 기관 분화캘러스를 선별하고 현탁배양조건을 구명하여 순화된 (habituated) 현탁배양세포괴를 얻고자 하였으며 대량으로 증식된 현탁배양세포괴로부터 높은 효율로 재분화할 수 있는 조직배양 방법을 확립하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 캘러스 유도 및 선별

애기장대 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ecotype Columbia)의 종자를 4% NaOCl이 포함된 유한락스를 5%로 희석하여 20분동안 가볍게 흔들어 주면서 표면을 소독한 뒤, 멸균증류수로 5회 세척하였다. 세척한 종자를 1% sucrose가 포함된 MS(Murashige and Skoog, 1962) 기본배지에서 무균발아시켜 4주동안 성장한 식물체의 잎과 줄기의 절편체를 재료로 사용하였다. 캘러스는 2,4-D 농도별 단독 처리구와 2,4-D, BAP 그리고 kinetin의 농도별 조합처리구로 유도하였으며 배양조직의 치상개체수는 처리구당 12개체씩 5회 반복으로 27°C 암조건 하에서 배양하여 조직절편체와 식물생장조절물질의 종류와 농도에 따른 캘러스유도율을 비교하였다. 사용한 배지는 MS 및 CP(CLC/Ipomoea basal medium, Duchefa cat. no. C0228) 배지를 기본으로 2,4-D, IAA 등의 auxin계와 BAP, kinetin 그리고 2-iP 등의 cytokinin계 호르몬을 혼합한 다양한 조합구로 구성하였으며 pH는 멸균전에 5.8로 조정하였다.

캘러스 유도 및 배양과정에서 캘러스의 형태적 다양성을 줄이기 위해 일반적으로 세포들이 매우 치밀하게 배열되어 있으며 그 표면은 광택이 있으면서 우유빛을 띠며 전반적으로 둥근 모습을 나타내는 shoot-forming(SF) 캘러스와 좁이 많고 투명하며 구성세포간 부착력이 적어 쉽게 부서지는 non-shoot-forming(NSF) 캘러스의 외부 형태적 특성에 의해 인위적인 캘러스선별을 수행하였다.

### 캘러스의 현탁배양

선별된 SF 캘러스는 2 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 고체배지와 0.5 mg/L 2,4-D와 0.1 mg/L BAP가 첨가된 CP 고체배지에서 28일을 주기로 계대배양하여 대량증식을 유도하였으며 증식된 캘러스를 잘게 자른 후, 생체량 0.5 g ~ 1.0 g 정도를 250 mL Erlenmeyer flask에 50 mL의 CP 액체배지를 첨가하여 27°C 암소에서 100 rpm으로 현탁배양하였다. 처음

2개월은 3 ~ 4일 간격으로 현탁배양하여 microcallus를 계대배양하였으며 계대배양중에 커다란 세포괴를 제거하기 위해서 860 µm 스테인레스체로 배양세포를 여과시켰다. 이후 7일 간격으로 배양세포액 15 mL에 새로운 35 mL CP 액체배지를 첨가하여 현탁배양세포괴를 계대배양하였다.

### 현탁배양세포괴로부터 식물체 재분화

계대배양을 통해 순화된 배발생세포괴를 MS 기본고체배지에 IAA, 2-iP 그리고 kinetin이 첨가된 재분화배지로 옮겨 27°C 연속 광조건(24 µE · m<sup>2</sup> · Sec<sup>-1</sup>)에서 SF 캘러스로 증식시켰으며 SF 캘러스로부터 shoot의 재분화를 유도하였다. 분화된 shoot로부터 호르몬이 첨가되지 않은 MS 고체배지에서 뿌리분화를 유도하였다.

## 결과 및 고찰

### 절편체로부터 캘러스의 유도

기내배양을 통한 callus 유도는 식물 종에 따라서 또는 식물체내에서도 배양에 이용되는 조직부위 및 배양조건에 따라 callus 유기양상이 크게 다른 것으로 알려져 있다(Binh and Heszky, 1990; Data et al., 1990). 기내에서 4주동안 발아된 애기장대 (*Arabidopsis thaliana*) 식물체의 잎과 줄기 절편체를 2,4-D, BAP, kinetin을 단독 및 혼합 첨가한 MS배지에서 암조건으로 배양하여 2주 후부터 조직의 절단면에서 캘러스가 형성되기 시작하여 표면전체로 확산되었으며 배양 4주 후, 성장조절제의 종류와 농도에 따른 다양한 캘러스 형성률을 관찰하였다.(Table 1).

일반적으로 배 발생 캘러스는 희고, 단단하며 돌기모양의

**Table 1.** Effect of phytohormones on callus induction from leaf and stem explants in *A. thaliana*

Phytohormones (mg/L)			Callus Induction (%) <sup>a</sup>	
2,4-D	BAP	Kinetin	Leaf Explant	Stem Explant
0	0	0	0	0
0.25	0	0	58	70
0.5	0	0	72	69
1	0	0	50	58
2	0	0	92	79
4	0	0	52	47
8	0	0	0	0
16	0	0	0	0
0.5	0.1	0	70	100
0.5	0.05	0	53	44
0.5	0	0.05	63	57
0.5	0.05	0.05	65	46

<sup>a</sup>For each experiment 12 tissue explants were tested with 5 repliation.

둥근형태이고 비배발생 캘러스는 투명하고 부서지기 쉬운 형태라고 보고되었고(Torello et al., 1984), 성장조절제인 2,4-D가 처리된 경우 부서지기 쉬운 상태로 약간의 녹색을 띠며 높은 2,4-D 농도에서는 극히 유연하고 물같은 상태이고 BA가 처리된 경우는 매우 단단한 녹색이며 compact하다는 보고가 있다(Trolinder and Goodin, 1988). 캘러스 형성은 성장조절제 2,4-D 단독처리구와 2,4-D, BAP 그리고 kinetin 조합처리구에서 대부분 관찰할 수 있었고 잎과 줄기 절편체는 2,4-D 단독처리구에서 처음에 유백색의 캘러스가 발생하기 시작하여 배양 3주 후부터는 옅은 노란색의 캘러스가 증가하기 시작하였다. 2,4-D와 BAP 조합처리구에서도 처음 발생 양상은 비슷하며 옅은 노란색의 캘러스로 증식된 후, 비교적 표면이 매끈하고 잘 떨어지는 둥근 형태로 나타나는 것이 특징이었다. 특히, 잎 절편체의 경우 2 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 고체배지 단독처리구에서 92%, 줄기 절편체의 경우는 0.5 mg/L 2,4-D와 0.1 mg/L BAP가 첨가된 CP 고체배지 혼합처리구에서 100% 이상의 캘러스 유도율을 보여 전반적인 캘러스 형성능력은 줄기절편체가 잎절편체에 비해 더 높았으며 치상절편부위와 배양조건에 따라 캘러스 발생형태에 차이가 있다는 보고와 일치하였다.

캘러스의 선별과 현탁배양

캘러스가 큰 덩어리로 자라게 되면 윗부분의 것은 노쇠하여 분열력이 약하므로 동일한 다른 배지에 분열능이 있는 캘러스를 옮겨서 세포 활력을 유지시키고 덩어리를 연하게 만들어 주어 잘 부서지는 유연성 callus가 유지되었다. 또한 이러한 유연성 캘러스는 현탁배양에 필요한 단세포를 유리시키는데 매우 필요하였다. 유도된 캘러스에서 표면이 매끈하고 잘 떨어지는 옅은 노란색을 띠는 SF캘러스를 형태적으로 선별하여 2 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 고체배지와 0.5 mg/L 2,4-D와 0.1 mg/L BAP가 첨가된 CP 고체

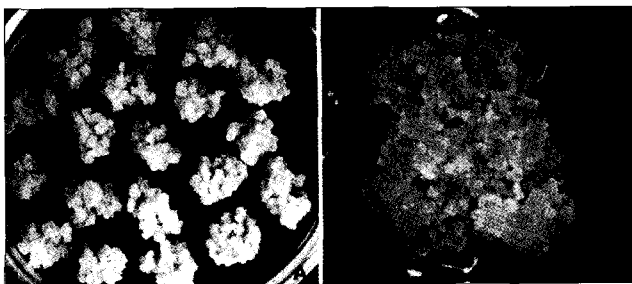


Figure 1. Formation of organogenic calli from stem-explant-derived callus in *A. thaliana*. A, Proliferation of calli on CP medium containing 0.5 mg/L 2,4-D and 0.1 mg/L BAP after 4 weeks of culture. B, Shoot-forming calli(SFC) on CP medium containing 0.5 mg/L 2,4-D and 0.1 mg/L BAP after 4 weeks of culture.

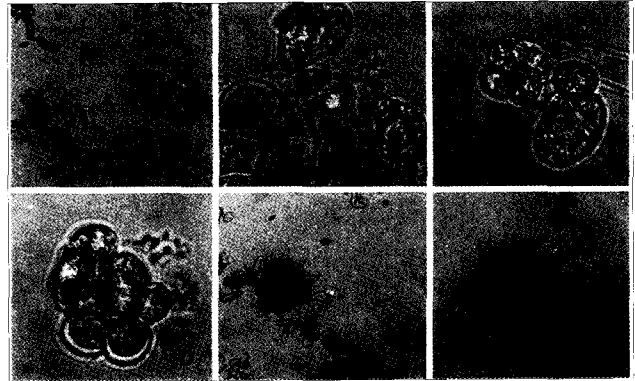


Figure 2. Cell suspension cultured cells and colonies of *A. thaliana* in CP liquid medium. A & B, Single cells isolated from calli after 2 months of culture. C & D, Cell division from single cells after 2 months of culture. E & F, Established compact colonies after 4 months of culture.

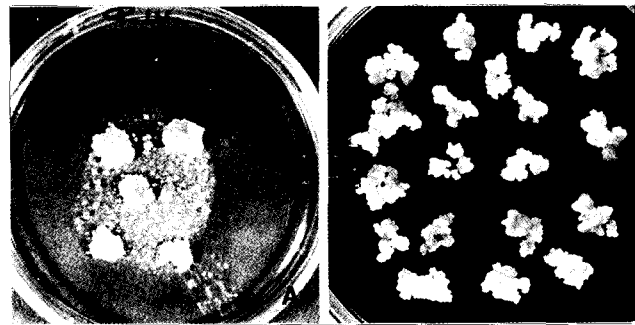


Figure 3. Formation of calli on the CP medium after 4 months of suspension culture. A, Formation of calli on the CP medium containing 0.5 mg/L 2,4-D and 0.1 mg/L BAP after 4 weeks of culture. B, Formation of propagated calli after 2 weeks of subculture.

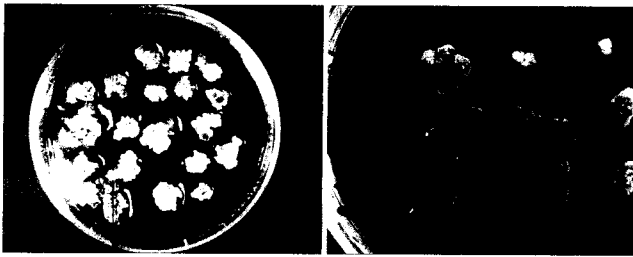
배지에서 28일을 주기로 암조건에서 계대배양 하였으며 (Figure 1A) 계대배양 4주 후에는 부피가 3 ~ 4배로 증가하였다(Figure 1B).

형성된 캘러스에서 shoot-forming(SF) 캘러스를 육안으로 선별하여 현탁배양을 위해 액체배지에 넣고 흔들어 주면 흩어져서 부서지는데 이들이 모두 단일세포로 분산되지 않고 대부분은 여러개의 세포가 군집으로 뭉쳐 있기 때문에 이들을 교반하면서 처음 2개월간은 3~4일 간격으로, 이후로는 7일간격으로 계대배양하였으며 27°C 암소에서 100 rpm으로 진탕배양하였다. 2회 이상 계대배양한 캘러스를 동일한 조성의 CP액체배지로 배양했을 때 배양 2개월 후부터 단일세포로 분리가 되었으며 (Figure 2A and 2B), SF 세포들의 비중은 non-shoot forming(NSF) 세포들에 비해 높으므로 배양물을 흔들어준 후 정치시키면 대부분의 SF 세포들은 먼저 침전하였으며, 계대배양시 이 방법을 이용하여 배양초기에 관찰되었던 세포질이 텅빈 세포들을 제거할 수

**Table 2.** Effect of phytohormones on shoot formation shoot-forming calli derived from suspension-cultured cell cluster of *A. thaliana*

Phytohormones (mg/ L)			Frequency <sup>a</sup> of Shoot Formation (%)	
IAA	2-iP	Kinetin	leaf explant - derived callus	stem explant - derived callus
0.05	7	0	54	57
0.15	5	0	18	40
0.03	0	1	4	3

<sup>a</sup>For each experiment 10 callus segments were tested with 5 replication.  
<sup>b</sup>Frequency showed % of calli regenerating at least one shoot among total SF callus.



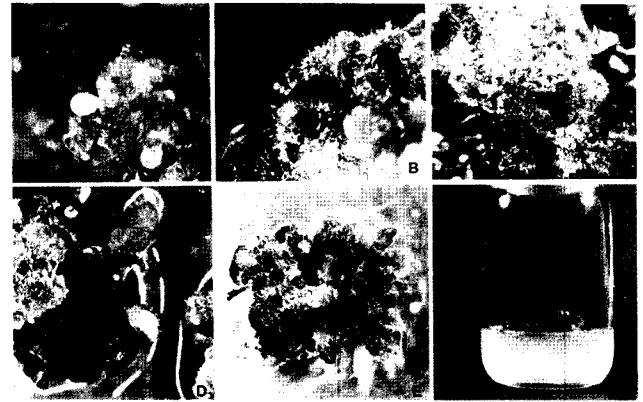
**Figure 4.** Formation of green spots and shoot from organogenic calli in *A. thaliana*. A, Formation of green spots(GS) from organogenic calli on MS medium supplemented with 0.05 mg/L IAA and 7 mg/L 2-iP after 3 weeks of culture. B, Shoots formation and green spots from organogenic calli under continuous illumination after 4 weeks of culture.

있었다. 세포들은 분열을 거듭하여(Figure 2C and 2D) 계대 배양 4개월 후에는 세포질이 짙은 SF 세포괴가 대부분을 차지하는 배양물을 유지할 수 있었다(Figure 2E and 2F).

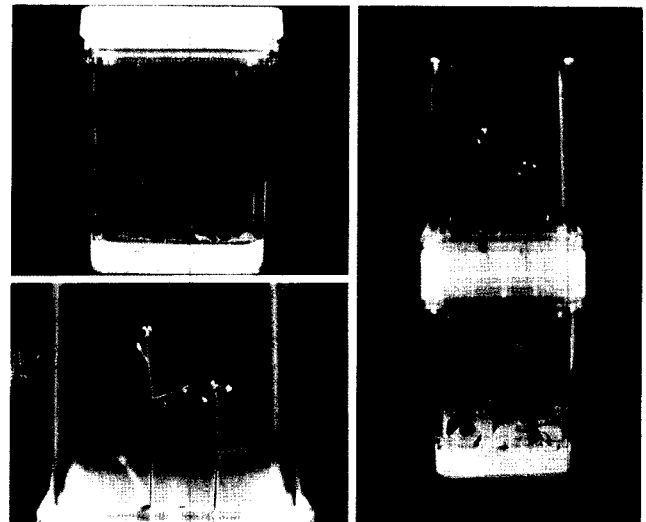
현탁배양 4개월 후부터는 진탕을 잠시 멈추고 큰 세포덩어리가 가라 앉은 다음 상층의 SF 세포괴를 피펫으로 뽑아서 CP 고체배지에 옮겨주어 균일한 SF 캘러스의 유도가 가능하였으며, SF 현탁배양 세포괴를 유지하기 위해서 계대 배양과정에서 규칙적으로 배지를 교환해 주는 것과 2주 간격으로 커다란 세포괴를 제거해 주는 것은 필수적이었으며 배지를 교환해 주지 않을 때는 배양세포는 갈변하여 고사하였다. 액체배지는 고체배지에 비하여 영양분이나 산소이용 효율이 양호하여 세포의 대량증식에는 효율적이라고 하였는데 (Kim, 1986), 캘러스 성장을 위한 고체배지의 2,4-D 최적농도가 2.0 mg/L인데 비해 액체배지에서는 0.5 mg/L로 낮은 것은 이와도 관련이 있을 것으로 사료된다.

**현탁배양세포괴로부터 식물체 재분화**

SF 현탁배양세포괴를 피펫으로 뽑아서 CP 고체배지에 옮겨주어 배양 2주 후부터 균일한 SF 캘러스가 유도 되었으며(Figure 3A and 3B) 유도된 SF 캘러스를 0.05 mg/L IAA,



**Figure 5.** Somatic organogenesis and plant regeneration from stem explant-derived organogenic calli in *A. thaliana*. A, Globular embryo after 2 weeks of culture. B, & C, Green spots(GS) were formed on organogenic calli and grew eventually forming primordial shoot(PS). D & E, Shoot and multi-shoot formation under continuous illumination. F, Regenerated plantlets derived from primordial shoot in MS medium without phytohormones.



**Figure 6.** Regenerated whole plant from stem explants of *A. thaliana*. A, Regenerated plantlets with leaves and roots in MS medium without hormones. B & C, In vitro flower formation of plantlets after 2 weeks of culture.

7.0 mg/L 2-iP 그리고 30 g/L sucrose가 첨가된 MS 재분화 (Table 2) 배지에서 광조건으로 배양하였을 때 배양 2주 후부터 shoot 형성층(Figure 5A)을 관찰할 수 있었으며 배양 3주 후부터 녹점(Figure 4A)이 형성되어 전체적으로 녹화된 캘러스(Figure 4B)가 관찰되었다.

또한 녹화된 SF 캘러스로부터 shoot 원기(Figure 5B and 5C)가 분화되었으며 연속적인 광조건에서 shoot원기로부터 배양 2주 후 shoot와 multi-shoot(Figure 5D and 5E)가 유도

되었다. 분화된 shoot는 호르몬이 첨가되지 않은 MS배지로 옮겨 발근을 유도하였다(Figure 5F). 그러나, NSF 캘러스에서는 세포분열만 지속되어 부피가 증가되었으며 shoot 형성은 나타나지 않았고 가끔 뿌리 형성이 유도되었으며 시간이 경과됨에 따라 갈변됨이 관찰되었다. SF 캘러스 또한 계대배양을 오래하면 재분화율이 급격히 떨어지는 것으로 나타났다으며 NSF 캘러스는 부드럽고 투명하며 unorganized된 형태로 재분화가 어렵고 가끔 뿌리형성이 유도되는 경우가 발견된다는 다른 식물의 보고 (Smith and Street, 1974; Gosch-Wackerle et al., 1979; Dale 1980; Heyser and Nabors 1982; Raghavan Ram and Nabors 1984)와 일치하는 결과이다. 이러한 두세포군의 외부형태적인 특징에 의해서 SF 캘러스를 선별, 배양하여 재분화 효율을 증가시킬 수 있었으며 SF 캘러스와 NSF 캘러스에 대해 shoot의 형성 정도와 세포분열 능력에 있어 현저한 차이가 나타남을 알 수 있었다.

절편체로부터 식물체 재분화에 대한 auxin과 cytokinin의 영향을 살펴보면 0.05 mg/L IAA, 7.0 mg/L 2-iP가 첨가된 재분화 배지에서 잎과 줄기 절편체로부터 유도된 현탁배양 세포괴로부터 각각 54%와 57%의 재분화율(SF 캘러스당 한 개 이상의 shoot가 형성된 캘러스의 백분율)이 나타났으며, 절편체에서 SF 캘러스 유도율에서와 마찬가지로 잎보다는 줄기절편체에서 재분화율이 다소 높았다. (Table 2).

이와같이 식물생장조절제의 반응이 세포와 조직에 따라 상반되거나 차이가 있는 것을 볼 수 있듯이 세포와 조절제 농도와의 관계가 단순하지 않음을 알 수 있었다.

6~8개의 rosette형의 잎이 형성된 기내 소식물체를 호르몬이 첨가되지 않은 MS 배지에 옮겨 4주 후로부터 bolting과 뿌리를 유도하였으며(Figure 6A), 이어 2주 후 화피로부터 꽃을 형성하였다(Figure 6B and 6C).

본 연구를 통해 애기장대의 줄기 및 잎 절편체로부터 기관분화 캘러스를 선별하고 대량으로 증식된 현탁배양세포괴로부터 높은 효율로 재분화할 수 있는 실험결과는 식물체의 기관분화 및 발달에 관련된 연구에 필요한 sample의 대량 확보를 가능하게 할 것으로 사료된다.

## 적 요

기내에서 발아시킨 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)의 잎과 줄기 절편체로부터 캘러스 유도는, 잎절편체의 경우 2 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 고체배지에서 유도되었고, 줄기 절편체의 경우는 0.5 mg/L 2,4-D와 0.1 mg/L BAP가 첨가된 CP 고체배지에서 배양 4주 후 다량의 캘러스가 유도되었다. 유도된 캘러스를 잘게 자르고 0.5 mg/L 2,4-D와 0.1 mg/L BAP가 첨가된 CP 액체배지에서 7일 간격으로 암조건에서 4개월간 배양하였을 때 균일한 shoot-forming(SF)캘러스를 얻을 수 있었다. 액체배지에서 유도된 SF 세포괴

는 0.05 mg/L IAA, 7.0 mg/L 2-iP, 30 g/L sucrose가 첨가된 MS 재분화배지에서 광조건으로 배양하였을 때 캘러스를 거쳐 녹화되기 시작하였으며 배양 4주 후부터는 전체적으로 녹화된 SF캘러스로부터 shoot가 형성되어 식물체 재분화가 가능하였다. 또한 재분화 배지에 옮겨졌을 때 IAA와 2-iP가 첨가된 배지에서 50% 이상의 shoot 형성률(SF 캘러스당 한 개 이상의 shoot가 형성된 캘러스의 백분율)을 보였다. 절단된 shoot는 호르몬이 첨가되지 않은 배지에서 4주 후 뿌리를 형성하였으며, 재분화된 식물체는 기내에서 6주 후부터 화피가 형성되고 꽃이 피기 시작하였다.

사사 - 본 연구는 1996년도 교육부 학술조성비(기초과학 96-4439)에 의하여 연구되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

## 인 용 문 헌

- Binnh OQ, Heszky LE (1990) Restoration of the regeneration potential of long term cell culture in rice(*Oryza sativa*) by salt pretreatment. *Plant Physiol* 136: 336-340
- Chaudhury AM, Signer ER (1989) Relative regeneration proficiency of *Arabidopsis thaliana* ecotypes. *Plant Cell Rep* 8: 368-369
- Dale PJ (1980) Embryoids from cultured immature embryos of *Lolium multiflorum*. *Z Pflanzenphysiol* 100: 73-77
- Data SK, Data K, Potrykus I (1990) Embryogenesis and regeneration from microspores of both indica and japonica rice(*Oryza sativa*). *Plant Sci* 67: 83-88
- Gosch-Wackerle G, Avivi L, Galum E (1979) Induction, culture and differentiation of callus from immature rachises, seeds and embryos of *Triticum*. *Z Pflanzenphysiol* 91: 267-278
- Heyser JW, Nabors MW (1982) Long term plant regeneration somatic embryogenesis and green spot formation in secondary oat(*Avena sativa*) callus. *Z Pflanzenphysiol* 107: 153-160
- Karesch H, Bilang R, Potrykus I (1991) *Arabidopsis thaliana*: protocol for plant regeneration from protoplast. *Plant Cell Rep* 9: 575-578
- Kim KW (1986) Rapid multiplication of plants through micropropagation. In *Agricultural application of plant culture and industrialization*. Ed Kyungpook Natl Univ. Taegu Korea pp 85-98
- Koncz C, Chua NH, Schell J (1992) *Method in Arabidopsis research*. World Scientific Publishing Co Singapore pp 1-437
- Kiyosue T, Yamaguchi K, Shinozaki K, Kamada H, Harada H (1993) cDNA cloning of ECP 40, an embryogenic-cell protein in carrot and its expression during somatic and embryogenesis. *Plant Mol Biol* 21: 1053-1068
- Leutwiler LS, Hough EB, Meyerowitz EM (1984) The DNA of *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet* 194: 15-23
- Meyerowitz EM (1989) *Arabidopsis*, a useful weed. *Cell* 56: 263-269

- Murashige T, Skoog F** (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* **15**: 473-497
- Nabors MW, Heyser TA, Dykes Demott KJ** (1983) Long duration high frequency of plant generation from cereal tissue culture. *Planta* **157**: 385-389
- Pattom DA, Meinke DW** (1998) High-frequency plant regeneration from cultured cotyledons of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Rep* **7**: 233-237
- Pruitt RE, Meyerowitz EM** (1986) Characterization of the genome of *Arabidopsis thaliana*. *J Mol Biol* **187**: 169-183
- Raghavan Ram NV, Nabors MW** (1984) Cytokinin mediated long-term, high-frequency plant regeneration in rice tissue culture. *Z Pflanzenphysiol* **113**: 315-323
- Shirley BW, Hanley S, Goodman HM** (1992) Effect of ionizing radiation on a plant genome: Analysis of two *Arabidopsis* transparent testa mutations. *Plant Cell* **4**: 333-347
- Smith SM, Street HE** (1974) The decline of embryogenic potential as callus suspension cultures of carrot (*Daucus aerota* L.). are serially subcultured. *Ann Bot* **38**: 223-241
- Torello WA, Symington AG, Rufner R** (1984) Callus induction, plant regeneration and evidence of somatic embryogenesis in Red fescue. *Crop Science* **24**: 1037-1040
- Trlinder N, Goodin JR** (1988) Somatic embryogenesis in cotton (*Gossypium*) 1. Effect of source of explant and hormone regime. *Plant Cell Tiss Org Cult* **12**: 31-42

(1998년 3월 4일 접수)