

당근 세포배양으로부터 체세포배 발생에 미치는 아스콜빈산의 효과

소응영* · 김이엽 · 조덕이¹

전북대학교 자연과학대학 생물과학부: 전북대학교 기초과학연구소, ¹우석대학교 생물학과

Effects of Ascorbate on Somatic Embryogenesis in Carrot Cell Cultures

SOH, Woong-Young* · KIM, Yi-Yeop · CHO Duck Yee¹

Department of Biological Sciences, Chonbuk National University : Reseach Institute for Basic Science,
Chonbuk National University, Chonju, 561-756, Korea

¹Department of Biology, Woosuk University, Chonbuk, 565-701, Korea

Abstract This study was conducted to elucidate the effects of ascorbic acid and dehydroascorbic acid on somatic embryogenesis from the cultured cells of carrot. Ascorbic acid in culture medium merely stimulated the proliferation of non-embryogenic cells but dehydroascorbic acid in medium induced embryogenic cells from non-embryogenic cells accompanying the inhibition of cell proliferation. Ascorbic acid in medium inhibited somatic embryogenesis from embryogenic cells while dehydroascorbic acid in medium enhanced somatic embryogenesis from the cells as well as non-embryogenic cells. This enhancement was limited to globular embryos and the maturation to cotyledonary embryos was inhibited by dehydroascorbic acid treatment. From the above results it is suggested that carrot callus cultures on medium containing dehydroascorbic acid could quickly induce embryogenic cells. In addition after brief culture of embryogenic cells on development medium containing dehydroascorbic there by acid the subculture of the cells to MS basal medium resulted in the high frequency production of somatic embryos.

Key words: Ascorbic acid, dehydroascorbic acid, embryogenic cells, cell proliferation

서 론

식물발생은 세포분열로부터 비롯되지만 세포생장과 관련을 가지며 진행될 수 있다. 아스콜빈산 (ascobic acid)은 식물의 내생호르몬이 산화에 의해 분해되는 것을 보호하며 세포분열을 촉진하는 (Citterio et al. 1994) 동시에 기관분화를 유도하는 것으로 알려져 있다. 담배 켈러스배양, *Tylophora indica* 및 *Corchorus capsularis*의 조직배양에 아스콜빈산을 처리할 경우 부정아 형성을 증진시키며 (Joy IV et al. 1988; Sharma and Chandel 1992; Seraj et al. 1992) 양파에서 부정근은 아

스콜빈산 처리에 의해 신속하게 발생된다 (de Cabo et al. 1996). 그러나 *Tylophora indica*의 유경절편으로부터 식물체 재생을 위한 발근 유도배지에 첨가된 아스콜빈산은 촉진효과를 나타내지 않았다 (Sharma and Chandel 1992).

한편 당근의 체세포배 발생에서 아스콜빈산은 기관분화의 경우와는 달리 배발생을 억제한다는 보고와 (Earnshaw and Johnson 1987), 감자의 약배양에서 배발생을 촉진한다는 상반된 보고가 있다 (Tiainen 1992). 그런데 당근의 연구에서 체세포배 발생과정의 어느 시기가 억제반응에 민감한지 등의 발생과정별 아스콜빈산의 영향에 대한 상세한 관찰은 이루어지지 않았다. 체세포배의 발생과정은 배지조성에 따라 구상배로부터 성숙배로의 과정이 중단되거나 (Choi et al. 1994) 배의 구조적 변이가 일어나는 (Soh 1993; Wetzstein and Baker 1993; Soh 1996; Soh et al. 1996) 경우도 있다. 본 실험은 당

*Corresponding author. Tel 0652-270-3353

E-mail sohwy@moak.chonbuk.ac.kr

근의 체세포배 발생에 미치는 아스콜빈산의 영향을 이해하기 위하여 비배발생 및 배발생 캘러스로부터 체세포배의 발생에 미치는 아스콜빈산 및 dehydroascorbic acid의 영향을 밝히 고자 시도되었다.

재료 및 방법

당근 홍심품종 (*Daucus carota* L. cv. Hongshim)의 종자를 70% 에탄올에서 1분간, 그리고 1% sodium hypochlorite 용액에서 15분간 표면살균한 후 무균 증류수로 4회 세척하여 1/2 MS (Murashige and Skoog 1962) 기본배지에서 무균발아시켰다. 7일간 발아과정을 거친 유식물의 자엽절편을 0.005 μM 2,4-D를 첨가한 MS배지에 배양하여 캘러스를 유도하였고 이 캘러스를 3주간 배양한 후 비배발생 및 배발생 캘러스를 선별하여 2,4-D 제거 MS 기본배지를 대조구로하고 여기에 0.1 μM 아스콜빈산, 0.5 μM dehydroascorbic acid, 0.005 μM 2,4-D, 0.1 μM 아스콜빈산 + 0.005 μM 2,4-D, 0.5 μM dehydroascorbic acid + 0.005 μM 2,4-D, 0.1 μM 아스콜빈산 + 0.5 μM dehydroascorbic acid 및 0.1 μM 아스콜빈산 + 0.5 μM dehydroascorbic acid + 0.005 μM 2,4-D를 첨가한 배지에서 8일간 배양하여 증식시켰다 (첨가물질의 적정농도는 예비실험을 거쳐서 정했다). 이와같이 증식된 비배발생 및 배발

생 캘러스의 생체중량은 배양기에서 꺼내어 즉시 그리고 건조중량은 60°C 항온기에서 일주야 건조시킨 후에 측정하였다. 한편 8일간 전처리증식을 거친 비배발생 및 배발생캘러스는 매분당 100번 회전으로 작동하는 회전식 진탕기 (HB-201 SL, Handback Scientific Co.) 안에서 MS 기본배지인 배발생배지에 계대배양하여 3주 후에 배발생을 관찰하였다 (Soh et al. 1996). 배양조건은 16시간 광주기 ($25\mu\text{mol} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{sec}^{-1}$) 하에서 25°C로 유지되었다. 앞의 여러 가지 배발생 배지에서 얻어진 체세포배는 해부 현미경 하에서 발생단계별로 나누어 관찰하였다.

결 과

비배발생 캘러스의 증식에 아스콜빈산 처리는 물론 0.005 μM 2,4-D 및 0.1 μM 아스콜빈산 + 0.005 μM 2,4-D의 처리에서도 뚜렷한 촉진 효과를 보여 생중량이 증가되었으나 건조중량은 아스콜빈산 단독 처리에서만 증가되었다. 한편 0.5 μM dehydroascorbic acid는 증식억제효과를 보였으며 이때의 억제효과는 아스콜빈산 조합처리에서도 회복되지 않았고 (Figure 1) dehydroascorbic acid와 아스콜빈산 이외의 다른 조합처리에서도 모두 증식 억제가 나타나 생중량 및 건조중량이 모두 감소되었다. 그러나 dehydroascorbic acid 처리에서 생중

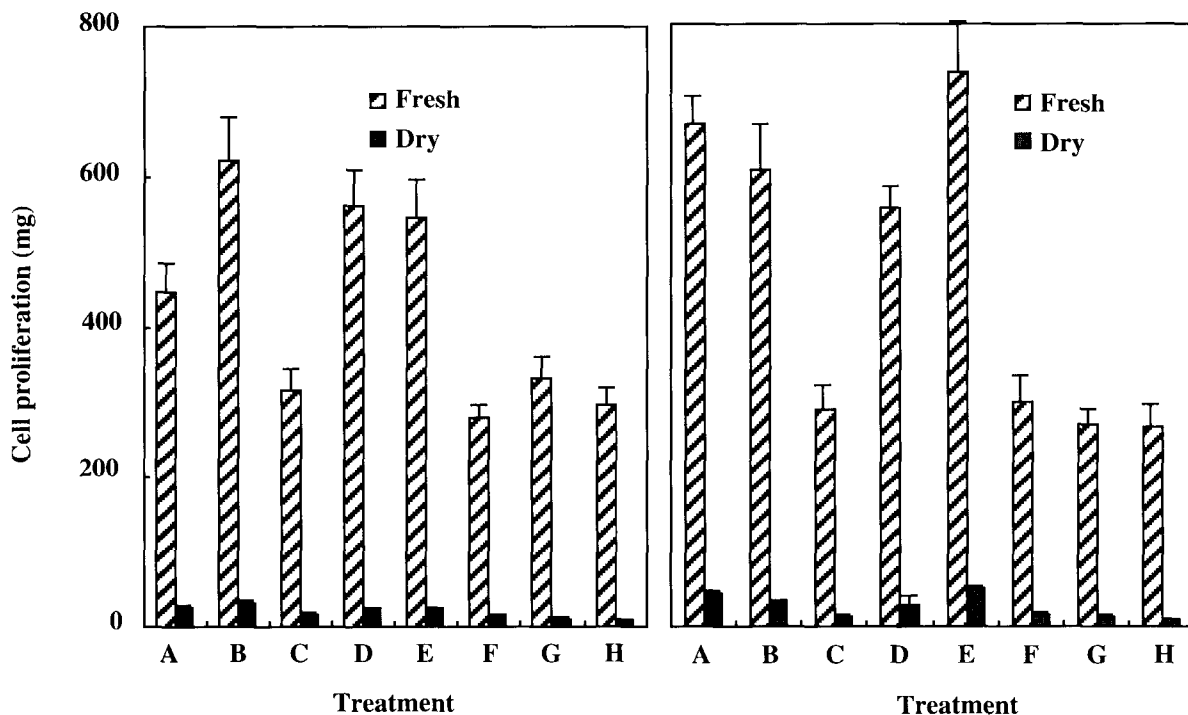


Figure 1. Effects of ascorbic acid and dehydroascorbic acid on cell proliferation in non-embryogenic (left) and embryogenic (right) calli of carrot cultured in liquid medium. The cultures were conducted on MS basal medium (A), and on the same medium supplemented with 0.1 μM ascorbic acid (B), 0.5 μM dehydroascorbic acid (C), 0.005 μM 2,4-D (D), 0.1 μM ascorbic acid + 0.005 μM 2,4-D (E), 0.5 μM dehydroascorbic acid + 0.005 μM 2,4-D (F), 0.1 μM ascorbic acid + 0.5 μM dehydroascorbic acid (G), and 0.1 μM ascorbic acid + 0.05 μM dehydroascorbic acid + 0.005 μM 2,4-D (H), respectively. The cell proliferation was evaluated by fresh and dry weight after culture of 8 days.

Table 1. Effects of ascorbic acid and dehydroascorbic acid on somatic embryogenesis from non-embryogenic cells of carrot in MS basal medium.

Embryos	Treatment							
	Free	AA	DA	2,4-D	AA+2,4-D	DA+2,4-D	AA+DA	AA+DA+2,4-D
Total	0	0	340±49.3	0	4±1.3	462±71.2	830±89.5	248±20.4
Globular	0	0	196±52.6	0	2±1.2	343±65.7	693±93.4	172±14.8
Heart	0	0	123±22.0	0	1±0.8	97±20.8	111±13.4	58±11.0
Torpedo, Cotyledonary	0	0	21± 3.7	0	1±0.4	22± 6.5	26± 5.9	18± 3.6

Non-embryogenic cells were cultured in MS medium supplemented with 0.1 μM ascorbic acid (AA), 0.5 μM dehydroascorbic acid (DA) and their combination for 8 days and then subcultured in MS medium for 3 week. The mean values ± standard errors were obtained from three independent experiments.

Table 2. Effects of ascorbic acid and dehydroascorbic acid on somatic embryogenesis from embryogenic cells of carrot in MS basal medium.

Embryos	Treatment							
	Free	AA	DA	2,4-D	AA+2,4-D	DA+2,4-D	AA+DA	AA+DA+2,4-D
Total	142±15.2	35±1.9	845±78.8	119±23.1	0	24±4.3	9±1.2	13
Globular	89±20.0	18±1.2	581±80.0	112±24.7	0	21±5.4	9±1.2	13±5
Heart	21± 3.7	12±0.7	192±13.5	7± 2.2	0	3±0.8	0	0
Torpedo, Cotyledonary	32± 4.8	5±1.1	72±11.9	0	0	0	0	0

Embryogenic cells were cultured in MS medium supplemented with 0.1 μM ascorbic acid (AA), 0.5 μM dehydroascorbic acid (DA) and their combination for 8 days and then subcultured in MS medium for 3 week. The mean values ± standard errors were obtained from three independent experiments.

량 대 건중량의 값은 대조구 5.8±0.3%에 비해 6.3±0.1%로 유의성 있는 증가를 보였다 (p < 0.5). 비배발생 캘러스에 아스כול빈산을 처리하면 증식이 촉진될지라도 캘러스의 특성은 변화되지 않았고 비배발생 상태였다. 반면에 dehydroascorbic acid 처리에서 증식은 억제되었지만 세포의 크기는 작고 둥글게 되며 세포질이 농후해지면서 배발생 캘러스로 변화되는 것을 확인할 수 있었다 (Figure 2). 이와 같은 변화가 2,4-D첨가 배양에서는 나타나지 않으나 dehydroascorbic acid와 함께 2,4-D를 처리하면 역시 변화가 나타나게 된다.

한편 배발생 캘러스의 증식은 0.1 μM 아스כול빈산처리에 의해 약간 억제되고 0.5 μM dehydroascorbic acid 처리로 현저하게 억제되며 아스כול빈산과 dehydroascorbic acid 조합처리에서도 현저한 억제를 보였다 (Figure 1). 0.005 μM 2,4-D의 처리에서도 증식억제를 보이는데 2,4-D에 아스כול빈산을 조합 처리하면 아주 뚜렷한 증식촉진이 있어서 생중량 및 건중량이 모두 증가되었다. 그러나 dehydroascorbic acid가 조합처리되면 모두 증식이 억제되었다. 배발생 캘러스에 아스כול빈산과 dehydroascorbic acid를 각각 처리하여 얻어진 결과는 비배발생 캘러스에 처리된 경우와는 달리 모두 증식의 억제만 일어나고 캘러스의 특성 변화는 어느쪽에서도 관찰되지 않았다 (Figures 1,2). 배발생 캘러스에 dehydroascorbic acid를 처리한 실험에서 생중량 대 건중량의 값은 대조구와 비슷하여 변화가 없었다.

MS 기본배지에서 비배발생 캘러스를 배양하면 3주 후에도 체세포배는 전혀 발생되지 않았고 아스כול빈산을 처리하여도

마찬가지로 배발생은 관찰되지 않았으며 2,4-D를 처리한 경우에도 배발생은 역시 일어나지 않았다 (Table 1). 그러나 비배발생 캘러스를 dehydroascorbic acid 첨가배지에서 배양하면 배발생캘러스로 변화되어 (Figure 2) 계대 배양 3주 후 체세포배가 340개로 관찰되었는데 (Figure 3) 이들 체세포배는 과반수가 구상배에 머물러 있고 (196개) 자엽기 배로 성숙된 경우는 21개 미만으로 아주 적었다. 아스כול빈산에 2,4-D를 조합처리한 경우에는 아주 적게 흔적으로 배발생이 일어났는데 dehydroascorbic acid를 아스כול빈산에 조합처리하면 아주 많은 체세포배가 발생되고 (830개) 2,4-D와 dehydroascorbic acid의 조합에서도 dehydroascorbic acid 단독 처리보다 많이 발생되었지만 (462개) 아스כול빈산 + 2,4-D + dehydroascorbic acid를 조합처리하면 dehydroascorbic acid 단독처리의 경우보다 배발생이 적게 일어났다 (248개). 그러므로 dehydroascorbic acid는 비배발생 캘러스로부터 배발생 캘러스를 거쳐서 체세포배가 발생되도록 조절역할을 한 것으로 나타났다. 이와 같이 발생된 체세포배들도 dehydroascorbic acid 단독처리에서와 같이 대부분이 구상배에 머무르며 자엽기배로 성숙되는 경우는 아주 적었다.

배발생 캘러스를 MS 기본배지에서 배양하면 142개의 체세포배가 발생되었다 (Table 1, 2, Figure 3). 그러나 MS 기본배지에 아스כול빈산을 첨가하여 배양하면 체세포배의 발생은 1/4이상으로 감소되어 심한 억제현상이 나타났다 (35개). 이와는 달리 dehydroascorbic acid를 첨가한 배양에서는 MS 기본배지에 배양한 경우에 비교할 때 6배 이상의 배발생이

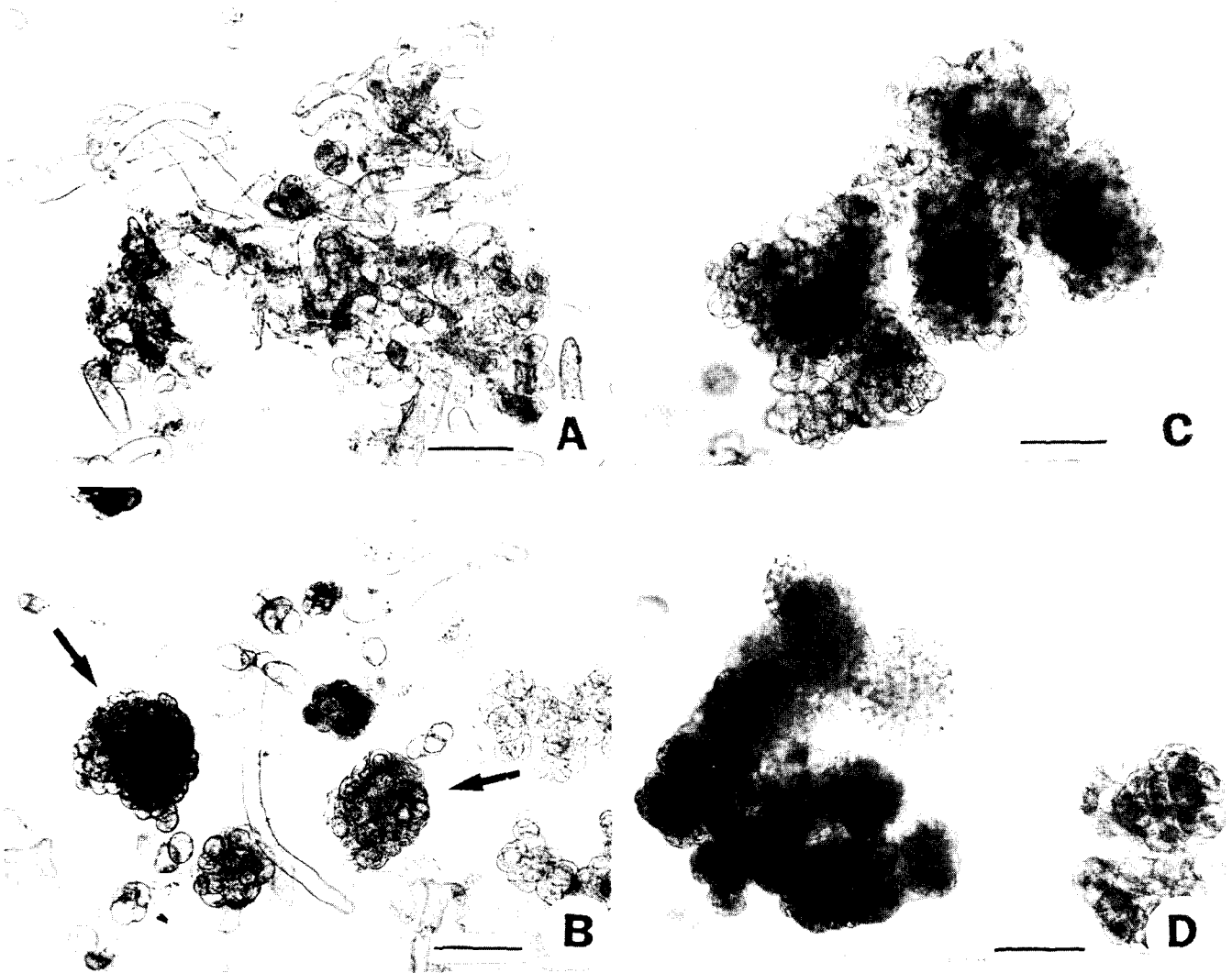


Figure 2. Non-embryogenic and embryogenic calli cultured in MS medium without (A) and with $0.5 \mu\text{M}$ dehydroascorbic acid (B), (C) after 3 days (A, C) and 8 days (B, D). The cells in non-embryogenic calli are elongated and vacuolated (A) but some of them show embryogenic characteristics (B, arrows) such as small, round, and dense cytoplasm. The characteristics of embryogenic calli (C,D) are unchanged during culture period. Scale bars represent $50 \mu\text{M}$.

일어나서 현저한 배발생 촉진결과를 나타냈다 (845개). MS 기본배지에 2,4-D를 첨가하여 배발생캘러스를 배양할 경우에는 초기 배발생은 2,4-D제거 배지에서와 같았지만 자엽기배로 성숙은 일어나지 않았고 대부분이 구상배에 머물러 있는 것으로 관찰되었다. 한편 2,4-D에 아스코르빈산을 조합첨가한 배지에서 체세포배는 전혀 발생되지 않았다. 그런데 dehydroascorbic acid에 아스코르빈산을 조합첨가한 배지에서는 구상배가 아주 적게 발생되었다 (21개). dehydroascorbic acid에 2,4-D 또는 2,4-D와 아스코르빈산을 조합처리할 경우에도 체세포배의 발생이 약간 일어나지만 자엽기배까지 성숙되지 못하고 발생이 중단되었다. 이와 같은 결과는 아스코르빈산이 대단히 심한 배발생억제를 한 것으로 볼 수 있으며 dehydroascorbic acid는 배발생의 유도효과를 배의 성숙촉진보다 훨씬 강하게 나타내는 것으로 보인다.

고 찰

식물의 형태 형성과정에 대한 이해는 유식물체 생산의 기초가 되며 배양조직은 기관분화 또는 체세포배 발생과정을 거쳐서 유식물체로 발생될 수 있다. 기관분화는 아스코르빈산 등의 항산화제에 의해 촉진되므로 환원성 환경에서 일어나는 것으로 알려졌으나 체세포배 발생은 이에 상반된 현상으로 산화성환경에서 진행되는 것으로 밝혀졌다 (Earnshaw and Johnson 1987; Joy IV et al. 1988; Setaj et al. 1992; Sharma and Chandel 1992). 체세포배 발생은 먼저 배발생세포의 선발로부터 시작되며 일반적으로 2,4-D배지에서 배양하는 동안에 배발생세포가 유도된다. 본 실험에서 비배발생 캘러스의 배양에 처리된 dehydroascorbic acid는 캘러스 증식을 억제하였지만 배발생 캘러스로 전환시켰으며 2,4-D보다 배발생

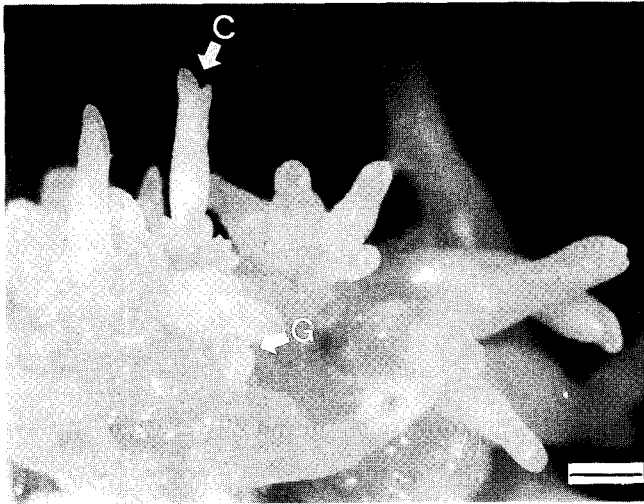


Figure 3. Somatic embryos formed in cell cultures of *Daucus carota*. Embryogenic cells were cultured in MS medium with 0.5 μM dehydroascorbic acid for 8 days and then subcultured in MS basal medium for three weeks. Many embryos arrested at globular stage (G) and others matured to cotyledonary stage (C). Scale bar represents 500 μM .

캘러스를 유도하는 효과가 훨씬 뚜렷했다 (Figure 1). 그러므로 dehydroascorbic acid 이외의 산화 촉진제가 비배발생 캘러스로부터 배발생 캘러스를 유도하는 역할을 가지고 있는지 여부의 확인을 필요로 한다. 한편 아스כול빈산은 비배발생 캘러스의 증식을 2,4-D 첨가배지에서보다 더 촉진시켰으며 (Figure 1) 다른 식물에서처럼 세포분열 촉진효과를 보였다 (Liso et al. 1984; 1988; Arrigoni et al. 1989; Innocenti et al. 1990; Citterio et al. 1994). 그러나 이와 같은 증식촉진은 배발생능력의 획득으로는 이어지지 못했고 오히려 배발생 캘러스로부터 체세포배 발생을 억제하는 역할이 확인되었다.

또한 dehydroascorbic acid 처리는 배발생캘러스로부터는 물론이고 비배발생 캘러스로부터도 체세포배 발생을 뚜렷하게 촉진하였는데 (Tables 1, 2) 이때 대부분의 배는 구상배 시기에 머물러 있었고 자엽기배로의 성숙은 오히려 억제되었다. 이와 유사한 실험결과는 대두조직배양에서 관찰되었다. 높은 농도의 2,4-D 배지에서 배양된 조직으로부터 체세포배 발생은 구상배에서 머물러 있을 뿐이고 자엽기배로 성숙이 억제되었다 (Choi et al. 1994). 또한 2,4-D 배지에서 계속 배양된 땅두류조직으로부터 발생된 체세포배는 불링핀 또는 컵모양의 자엽을 가진 배로 발생되는 구조적 이상이 관찰되었다 (Lee and Soh 1993). 이상과 같은 경우에는 체세포배 생산에 실질적인 성과를 전혀 기대할 수 없다.

한편 당근의 세포배양에서 배발생배지상의 첫 1주일 이 지난 후 아스כול빈산 처리는 체세포배 발생을 억제시킨 것으로 보고되었다 (Earnshaw and Johnson 1987). 이들의 실험에서 아스כול빈산은 시기상으로 구상배에 처리된 썸이다. 본 실험결과에서 아스כול빈산을 배발생캘러스에 처리한 경우 발생된 배의 과반수가 구상배에 머물렀고 자엽기배로 성숙된 것은 1/6

밖에 되지 않았다. 그러므로 아스כול빈산은 체세포배의 후기성숙과정을 억제하는 것이 확인되었다. 한편 배양세포의 내생아스כול빈산은 세포증식 과정에서보다 체세포배 발생과정의 함량이 더 낮은 것으로 밝혀졌다 (Earnshaw and Johnson 1987). 그러므로 아스כול빈산이 체세포배 발생에 저해요인으로 작용하는 것은 산화성 환경의 적정수준의 유지를 교란시키기 때문으로 보이며 본실험의 결과는 그와 같은 경향의 해석을 뒷받침할 수 있을 것이다 (Tables 1, 2). 그런데 감자의 약배양에서는 아스כול빈산 등의 항산화제 처리에 의한 배발생 촉진이 보고된 바 있다 (Tiainen 1992). 아스כול빈산은 약배양 중에 나타나는 갈변에 의한 성장부진을 완화시키는 효과를 나타내므로 체세포배양으로부터 배의 발생과는 배양환경의 상태가 같지 않은 데서 상반된 결과의 원인을 찾아야 할 것으로 생각된다.

체세포배의 생산량을 높이는 것은 유식물체의 대량생산을 위해 중요한 의미를 갖게 된다. 본 실험의 당근세포배양에서 아스כול빈산 처리에 의한 비배발생캘러스의 신속증식이 가능한 것을 확인하였다. 이와 같이 증식된 캘러스에 dehydroascorbic acid를 처리하여 빠른 시일내에 배발생 캘러스를 얻어낼 수 있었고 배발생 과정의 전반부만 dehydroascorbic acid를 첨가한 2,4-D 제거 배발생배지에서 배양한 다음 MS 기본배지에 계대배양하면서 체세포배를 성숙시키면 단시일내에 체세포배를 대량 생산할 수 있는 새로운 실험계가 될 것으로 기대된다.

사사 - 본연구는 교육부 기초과학연구소 지원 연구구성비 (BSRI-97-4427)에 의해 수행되었으며 실험을 도와준 전북대학교 대학원 생물학과 이은경 대학원생에게 사의를 표하고자 한다.

적 요

당근의 배양세포로부터 체세포배의 발생과정에 미치는 아스כול빈산 및 dehydroascorbic acid의 영향을 밝히기 위하여 본 실험을 시도하였다. 비배발생세포의 배양에 처리된 아스כול빈산은 세포증식을 촉진시켰을 뿐인데 dehydroascorbic acid는 세포증식을 억제시키면서 배발생세포로 전환시킨 효과가 있었다. 배발생세포의 배양에 처리된 아스כול빈산은 체세포배 발생을 억제시켰지만 dehydroascorbic acid는 체세포배 발생을 촉진시켰다. 그러나 이와 같은 발생촉진은 구상배에서 중단되므로 성숙에는 오히려 저해적이었다. 이상의 결과로부터 당근의 캘러스배양에 dehydroascorbic acid를 처리하여 빠른 시일내에 배발생캘러스를 확보한 다음 dehydroascorbic acid 첨가 배발생 배지에서 초기배발생기간 배양 후 MS 기본배지로 옮겨 배양하면 고빈도의 체세포배생산 실험계가 확립될

것으로 판단된다.

인용문헌

- Arrigoni O, Bitonti MB, Cozza R, Innocenti AM, Liso R, Veltri R** (1989) Ascorbic acid effect on pericycle cell line in *Allium cepa* root. *Caryologia* **42**:213-216
- Choi PS, Soh W-Y, Cho DY, Liu JR** (1994) Somatic embryogenesis in cultures of Korean soybean (*Glycine max* L.) cultivars and effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentration on somatic embryo morphology. *Kor J Plant Tiss Cult* **21**:7-130
- Citterio S, Sgorbati S, Scippa S, Sparvoli E** (1994) Ascorbic acid effect on the onset of cell proliferation in pea root. *Physiol Plant* **92**:601-607
- de Cabo RC, Gonzalez-Reyes JA, Cordoba F, Navas P** (1996) Rooting hastened in onions by ascorbate and ascorbate free radical. *J Plant Growth Reg* **15**:53-56
- Earnshaw BA, Fohnson MA** (1987) Control of wild carrot somatic embryo development by antioxidants. *Plant Physiol* **85**:273-276
- Innocenti AM, Bitonti MB, Arrigoni O, Liso R** (1990) The size of quiescent center in roots of *Allium cepa* L. grown ascorbic acid. *New Phytol* **114**:507-509
- Joy IV RW, Patel KR, Thorpe TA** (1988) Ascorbic acid enhancement of organogenesis in tobacco callus. *Plant Cell Tiss Org Cult* **13**:219-228
- Lee KS, Soh WY** (1993) Somatic embryogenesis and structural aberrancy of embryos in tissue cultures of *Aralia cordata* Thumb. *Kor J Plant Tiss Cult* **20**:77-83
- Liso R, Calabrese G, Bitonti MB, Arrigone O** (1984) Relationship between ascorbic acid and cell division. *Exp Cell Res* **150**:314-320
- Liso R, Innocenti AM, Bitonti MB, Arrigoni O** (1988) Ascorbic acid-induced progression of quiescent center cells from G1 to S phase. *New phytol* **110**:469-471
- Murashige T, Skoog F** (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* **15**:473-497
- Sharma N, Chandel KPS** (1992) Effects of ascorbic acid on axillary shoot induction in *Tylophora indica* (Burm. f) Merrill. *Plant Cell Tiss Org Cult* **29**:109-113
- Seraj ZI, Sarker AB, Islam AS** (1992) Plant regeneration in a jute species (*C. capsularis*) and its possible relationship with glyoxalase-I. *Plant Cell Rep* **12**:29-33
- Soh, WY** (1993) Developmental and structural diversity of regenerated plants in cell and tissue cultures. *Mol Apro Plant Cell Differ, Proc 7th Symp Plant Biotech, Bot Soc Korea*, pp1-35
- Soh WY** (1996) Germinability and cotyledon structure of somatic embryos in some dicotyledonous plants *Proc. 2nd Asia-Pacific Conf Plant Cell Tiss Cult, Beijing*, 51-59
- Soh, WY, Cho DY, Lee EY** (1996) Multicotyledonary structure of somatic embryos formed from cell cultures of *Daucus carota* L. *J Plant Biol* **39**:71-77
- Tiainen T** (1992) The role of ethylene and reducing agents on anther culture of tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Rep* **10**: 604-607
- Wetzstein HY, Baker CM** (1993) The relationship between somatic embryo morphology and conversion in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Sci* **92**:81-89

(접수일자 1998년 12월 29일)