

돌나물의 식물체 분화에 미치는 Glutamine과 AgNO₃의 영향

안정호¹ · 김현순² · 이승엽^{3*}

¹충남농업기술원, ²농촌진흥청 국제기술협력과, ³원광대학교 생명자원과학연구소

Effects of glutamine and AgNO₃ on plant regeneration of *Sedum sarmentosum*

Jeong-Ho Ahn¹ · Hyun-Soon Kim² · Seung-Yeob Lee^{3*}

¹Chungnam Agricultural Research and Extension Service, Yesan County 340-861, Korea

²National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-857, Korea

³Institute of Life Science and Natural Resources, Wonkwang Univ., Iksan 570-749, Korea

ABSTRACT This work was conducted to establish an efficient plant regeneration system for genetic transformation and the in vitro conservation of *Sedum sarmentosum* genetic resources. Effects of glutamine and AgNO₃ on plant regeneration between two genotypes were investigated using MS media supplemented with 0.2 mg/L NAA and 3.0 mg/L BA. Calluses were formed on leaf explants placed on MS solid media supplemented with 3 mg/L 2,4-D and 1 mg/L BA. Calluses of Keumsan local strain produced shoots at a frequency of up to 100% after 50 days of culture on medium supplemented with glutamine. The highest number of shoots per callus was 17.6 at 350 mg/L glutamine. However, calluses of Wanju local strain gave rise to no shoots under the same culture conditions. Likewise, calluses of Keumsan local strain produced shoots at a frequency of up to 100% after 50 days of culture on medium supplemented with AgNO₃ whereas Wanju local strain sporadically produced shoots. The highest number of shoots per callus of Keumsan local strain was 16.1 at 15 μM AgNO₃. Regenerated shoots were subcultured on hormone-free MS medium for rooting and shoot growth, and then 3-5 cm high plantlets were transplanted to the artificial soils comprising vermiculite and perlite, where they survived at a frequency of 88-100%. After being transplanted into upland soil:sand (1:1, v/v) in a greenhouse, regenerated plants showed a morphologically normal growth.

서론

돌나물과에 속하는 돌나물 (*Sedum sarmentosum* BUNGE.)은 다년생 다즙식물로 토질을 가리지 않고 잘 자라는 자생식물이다. 봄철에 새로 돋은 돌나물 싹을 곁절이 무침이나 물김치, 샐러드 등의 식용으로 이용되고 있다. 식물학적 특성은 줄기의 마디를 따라 3장의 잎이 윤생하며, 5~6월경에 노란색 꽃이 피는데 자방, 꽃잎, 꽃받침의 수는 5개이다. 겨울철에는 로제트 상태로 월동하며, 봄부터 가을까지 두껍고 윤기가 있는 잎과 늦봄에 피는 별 모양의 꽃이 아름답고, 화기가 길어 조경 및 관상용으로도 널리 이용되고 있다.

돌나물의 번식은 야생에서는 종자번식도 가능하지만, 농가에서

는 줄기를 5 cm 크기로 잘라 삼목 번식으로 재배하는 것이 일반적이다. 그러나 국내외적으로 돌나물의 번식 및 재배에 관한 연구는 많지 않다. 국내에서는 '70년대 중반에서야 지역 수집종의 형태적 특성이 처음으로 조사되었고 (Kwack 1976), 최근 자생식물에 대한 중요성이 인식되면서 돌나물 관련 연구보고도 증가추세에 있다. 돌나물의 삼목 번식에서 삼수 부위, 크기, 삼목용토 및 삼목시기 등에 따른 번식효율 (Ahn et al. 2007; Lee et al. 2006), 주년생산을 위한 차광재배 효과 (Lee et al. 2007), 선도유지를 위한 수확후 저장 온도 (Kim et al. 2007) 등에 관한 연구가 이루어졌다. 또한 수경재배를 이용한 돌나물의 청정재배 기술도 확립되었다 (Park and Kim 1997).

조직배양을 이용한 돌나물의 번식은 Ahn과 Lee (2004)에 의하여 처음으로 캘러스로부터 식물체 분화에 성공하였고, 기내 마디 배양에 의한 미세번식 기술도 확립되었다 (Lee et al. 2006). 식물

*Corresponding author Tel 063-850-6665 Fax 063-850-6665
E-mail: sylee@wku.ac.kr

조직배양기술은 우량종묘 대량증식, 유용물질 생산, 형질전환 등의 목적으로 널리 이용되고 있으며, 캘러스로부터 식물체 분화는 식물종, 품종이나 배양부위 등에 따라 큰 차이를 보이는 경우가 많다. 또한 에틸렌이 기내 배양체의 생육에 영향을 끼친다는 사실이 알려진 이후 (Larue and Gambory 1971), AgNO₃, norbornadiene, CoCl₂ 등과 같은 에틸렌 억제제를 배지에 첨가하면 식물체 분화율이 증가한다는 보고가 있다 (Purnhauser et al. 1987). 특히 AgNO₃는 식물체 분화에 에틸렌 생성이 문제가 되는 경우 널리 이용되고 있다 (Chraïbi et al. 1991; Hyde and Phillips 1996; Marton and Browse 1991).

본 연구는 돌나물 유전자원 기내보존을 위한 식물체 분화 체계를 확립하기 위하여, 형태적 특성이 다른 두 수집 계통간 식물체 분화에 미치는 glutamine 및 AgNO₃의 영향과 토양활착에 미치는 인공배양토의 영향을 조사하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

재료 준비

치상 재료는 줄기가 가늘고 꽃이 잘피는 금산 수집종과 줄기가 굵고, 꽃이 거의 피지 않는 완주 수집종을 원광대학교 포장에 삼목하여, 이듬해 봄에 새로 자란 신초를 채취하여 70% 에탄올에 30초간, 1% sodium hypochlorite에 20분간 소독한 다음, 멸균수로 4회 세척하였다. 부정아를 얻기 위하여 생장조절제를 첨가하지 않은 MS 배지 (Murashige and Skoog 1962)를 20 mL씩 분주한 샐레에, 줄기 상부에서 잎을 제거하고 10 mm 길이로 마다를 잘라 샐레당 20개씩 치상하였다. 3~4회 계대배양 후 새로 발생한 5 cm 크기의 신초에서 잎을 채취하여 2×5 mm 크기로 잘라 배양 절편체로 이용하였다.

Glutamine과 AgNO₃ 첨가에 따른 식물체 분화

두 수집종간 캘러스로부터 식물체 분화에 미치는 glutamine과 AgNO₃ 첨가의 영향을 조사하기 위하여, 잎 절편으로부터 캘러스 유도는 MS 배지에 3 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 1 mg/L 6-benzyladenine (BA)를 첨가한 캘러스용 배지 (Ahn and Lee 2004)를 이용하여, 25±2°C에서 암배양하였다. 배양 40일 후 형성된 캘러스 중 균일한 크기의 것만을 재분화 배지에 이식하였다. 재분화 배지도 Ahn과 Lee(2004)의 방법에 따라 0.2 mg/L NAA, 3 mg/L BA를 첨가한 MS 배지를 이용하였다. 재분화 배지에 L-glutamine (Duchefa Co. Netherlands)을 0, 150, 250, 350, 500 mg/L를 첨가하여, 샐레당 12개의 캘러스를 5반복으로 옮겨 배양하였다. AgNO₃ (Duchefa Co. Netherlands)는 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 50 µM을 첨가한 재분화 배지에 샐레당 8개의 캘러스를 5반복으로 옮겨 배양하였다. 배양조건은 25±2°C에서 27 µmol/m² (18/6 h, day/night)로 조절된 배양실에서 배양하여 30일과 50일 째에 분화된 식물체 수를 조사하였다.

식물체 순화 및 토양이식

재분화 식물체는 생장조절제를 첨가하지 않은 MS배지로 옮겨 초장과 뿌리가 약 3~5 mm 정도 자란 식물체를 배양병 뚜껑을 열어 실온에서 3일간 적응시킨 후, 꺼내어 흐르는 물로 부드럽게 헹구어 뿌리에 묻은 배지성분을 제거하였다. 72구 트레이에 vermiculite와 perlite를 단독 또는 혼합하여 채운 후 한 캘러스 유래의 식물체들을 모듬으로 각각의 트레이 셀에 이식하였다. 식물체 관리는 처음 5일 동안은 측광이 들어오는 실내에서 비닐을 씌워서 90% 정도의 과습상태로 유지하였다가, 2일 간격으로 서서히 노출시켜, 10일 후 비닐을 제거한 다음, 온실로 옮겨 70% 차광막을 이용하여 3일간 둔 다음, 오전 9~10시와 오후 16~18시 전후의 약한 햇빛을 쬐어가며 순화시켰다. 육묘 트레이에 옮긴 후 20일째에 생존율을 조사한 후, 강모래와 발흙 (1:1)을 채운 삼목상자 (48×33×8.6 cm)에 5×8 cm 간격으로 32개체씩 정식하여 온실에서 관리하였다. 정식 30일 후에 증양부의 10개체에 대한 초장을 5반복 조사하였고, 형태적 특성을 모식물과 비교하였다.

결과 및 고찰

식물체 분화에 미치는 glutamine의 영향

식물체 분화에 미치는 glutamine의 영향을 알아보기 위하여, 금산과 완주 수집종 돌나물의 마디배양으로부터 부정아를 발달시킨 다음, 생장조절제를 첨가하지 않은 MS배지로 옮겨 30일간 생장시켜 어린 잎으로부터 캘러스를 얻었다 (Fig. 1A, B). 균일하게 자란 어린 잎 유래 캘러스를 선별하여 glutamine을 첨가한 재분화 배지에 옮긴 후 30일과 50일째에, 식물체 분화율과 캘러스당 식물체수를 조사한 결과, 금산 수집종은 식물체 분화가 빠르게 진행되어, 30일 경에 다수의 식물체를 관찰 할 수 있었다 (Fig. 1C). Glutamine 첨가농도에 따른 식물체 분화율은 66~96%로 350 mg/L 첨가배지에서 가장 높았으며, 250 mg/L 이상의 농도에서는 처리간에 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 1). 30일째에는 glutamine의 첨가량이 증가할수록 캘러스당 식물체수가 증가하는 경향을 보였으며, 350 mg/L에서 캘러스당 식물체수가 11.4개로 가장 많아 대조구보다 유의한 증가를 보였다. 50일째에는 모든 캘러스에서 식물체가 분화되었으며, 250 mg/L 이상의 glutamine 첨가배지에서 유의한 증가를 보였고, 350 mg/L에서 캘러스당 식물체수가 17.6개로 가장 많았다. 반면 완주 수집종에서는 50일째까지도 식물체가 전혀 분화되지 않았으며, 대조구와 마찬가지로 glutamine 첨가에 관계없이 식물체 분화가 이루어지지 않았는데 (data not shown), 이는 유전자형의 차이로 생각되었다. 질소원으로서 glutamine은 약배양이나 체세포 배 발생에 많이 이용된다. 식물체 분화에 미치는 glutamine의 효과는 같은 식물종 내에서도 다른 반응을 보이는데, 보리 약배양에서는 glutamine의 첨가가 식물체 분화를 촉진하기도 하지만 (Olsen 1987), 품종에 따라 억제시키는 경우도 있다 (Jahne et al. 1994;

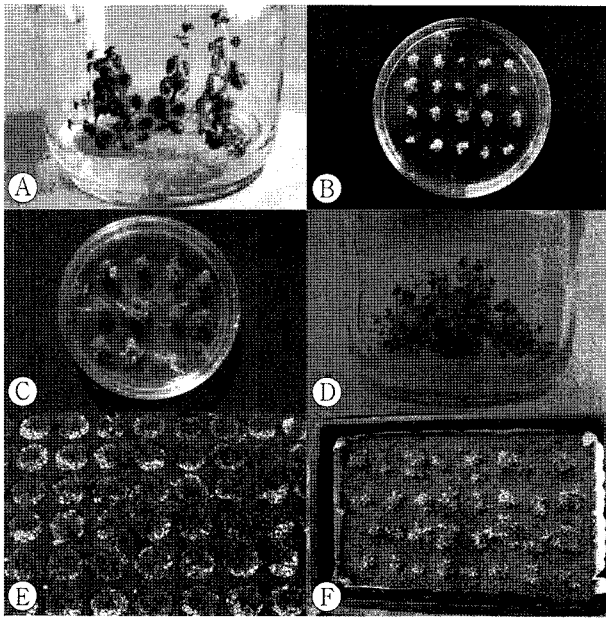


Figure 1. Plant regeneration and soil transplanting in callus derived from leaf explant of *Sedum sarmentosum*. **A**, Adventitious shoots utilized leaf-explant source derived from node culture; **B**, Callus derived from leaf segments; **C**, Plant regeneration from leaf callus; **D**, Shoot grown and rooting in hormone-free MS medium; **E**, Acclimatization of plantlets in vermiculite and perlite (1:1, v/v) for 20 days; **F**, Growth of young plant in upland soil : sand (1:1, v/v)

Xu and Sunderland 1981). 왕원추리와 각시원추리의 약배양에서도 0.8-1.0 mg/L glutamine 첨가시 캘러스 형성율은 무첨가 배지보다 약 2배 증가하고, 4.0-5.8%의 식물체 분화를 보이지만, 무첨가 배지에서는 식물체 분화가 전혀 되지 않는 경우도 있다 (Ahn et al. 2002). 시호의 체세포 배양에서 glutamine은 체세포 배의 성숙을 촉진하며 (Lee et al. 1988), 제라늄의 자엽배양에서도 배발생을 촉진시킨다 (Murthy et al. 1996). 이와 같이 glutamine은 식물에 따라 배양효율을 크게 개선시킬 수 있는 질소원의 하나이다.

식물체 분화에 미치는 AgNO₃의 영향

돌나물의 식물체 분화에 미치는 AgNO₃ 영향을 계대배양 50일

제에 조사한 결과 (Table 2), 금산 수집종의 식물체 분화율은 공시한 캘러스에서 식물체가 100% 분화되어 AgNO₃ 처리간에 차이가 없었다. 10-30 μM AgNO₃ 첨가배지에서 캘러스당 식물체수는 대조구보다 유의한 증가를 보였다. 금산 수집종의 캘러스당 식물체 분화수는 15 μM AgNO₃ 첨가배지에서 16.1개로 가장 높았다. 그러나 완주 수집종은 AgNO₃ 첨가에도 불구하고, 식물체 분화가 잘 되지 않았는데, 5-25 μM AgNO₃ 첨가배지에서 소수의 식물체만이 분화되었다. 따라서 돌나물의 식물체 재분화는 유전자형 간에 차이가 있는 것으로 생각되었다. Larue와 Gamborg (1971)가 에틸렌이 기내 배양체의 생육에 영향을 끼친다는 것을 처음으로 보고한 이래, 식물의 기내배양에서 AgNO₃와 같은 에틸렌 억제제를 배지에 첨가할 경우, 배형성이나 식물체 분화율이 증가하였다는 보고가 많다 (Chi and Pua 1989; Chraibi et al. 1991; Hyde and Phillips 1996; Lentini et al. 1988; Marton and Browse 1991). Beyer (1976)는 Ag⁺ 이온이 식물체에서 발생하는 에틸렌의 활성억제에 가장 효과적이라고 하였으며, Yang (1985)은 Ag⁺ 이온이 에틸렌 결합을 위한 수용능력을 감소시키는 작용을 하므로 에틸렌 발생을 억제시킨다고 하였다. *Triticum aestivum* 과 *Nicotiana plumbaginifolia*의 캘러스 배양에서 AgNO₃, norbormadiene, CoCl₂ 등의 첨가는 shoot의 분화를 촉진시킨다 (Purnhauser et al. 1987). 애기장대에서도 AgNO₃를 처리할 경우, 신초의 분화율이 10배 이상 증가된다 (Marton and Browse 1991). 또한 배추 (Chi and Pua 1989; Lentini et al. 1988), 해바라기 (Chraibi et al. 1991), 오이 (Hyde and Phillips 1996) 등 여러 식물에서 AgNO₃ 첨가가 기관분화를 증가시킨다는 보고가 있다. 그러나 커피와 완두의 캘러스 배양에서는 AgNO₃ 효과가 없는 것으로 보고되어 식물종에 따라 다르다는 것을 알 수 있다(Hatanaka et al. 1995; Taylor et al. 1994). 본 연구에서도 AgNO₃ 무첨가 배지보다 10~30 μM AgNO₃ 첨가배지에서 금산 수집종의 식물체 분화수가 유의하게 증가하였고, 식물체 분화가 잘 안되는 완주 수집종에서도 소수의 식물체 분화가 이루어지는 것으로 보아 AgNO₃의 효과를 인정할 수 있었다. 따라서 돌나물 식물체 분화효율을 증대시키기 위한 적정 AgNO₃ 첨가량은 캘러스당 16.1개의 식물체가 분화된 15μM AgNO₃ 첨가가 가장 적합하였다.

Table 1 Effect of glutamine on plant regeneration from leaf callus of Keumsan local strain in *S. sarmentosum*

L-Glutamine (mg/L) ^y	% Regenerated callus		No. of plantlet/callus	
	30 days	50 days	30 days	50 days
0	66.0b ^z	100.0a	3.1b	7.2c
150	70.0b	100.0a	3.4b	8.3c
250	82.0ab	100.0a	6.1b	12.7b
350	96.0a	100.0a	11.4a	17.6a
500	84.0ab	100.0a	5.1b	11.9b

^yMedia were MS medium supplemented with 0.2 mg/L NAA, 3 mg/L BA

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range testat p=0.05

Table 2 Effect of AgNO₃ and genotypes on plant regeneration from callus derived from leaf explant of *S. sarmentosum*

AgNO ₃ (μM) ^y	% of regenerated callus		No. of plantlet/callus	
	Keumsan	Wanju	Keumsan	Wanju
0	100.0a ^z	0.0c	6.1d	0.0b
5	100.0a	5.0c	7.8c	0.3b
10	100.0a	25.0ab	10.7b	0.5ab
15	100.0a	30.0a	16.1a	0.9a
20	100.0a	15.0abc	12.4b	0.3b
25	100.0a	10.0bc	11.2b	0.1b
30	100.0a	0.0c	8.4c	0.0b
50	100.0a	0.0c	5.6d	0.0b

^yMedia were MS medium supplemented with 0.2 mg/L NAA, 3 mg/L BA

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at p=0.05

Table 3 Survival rate and plant height after acclimatization and transplanting in regenerated plantlets of Keumsan local strain of *S. sarmentosum*

Acclimatization		Transplanting	
Vermiculite : Perlite (v/v)	Survival rate ^x (%)	Upland soil : Sand (v/v)	Plant height ^y (cm)
1 : 0	100.0 a ^z		15.0 a
3 : 1	98.0 a		13.2 b
1 : 1	98.0 a	1 : 1	12.2 b
1 : 3	98.0 a		11.8 b
0 : 1	88.0 b		10.2 c

^xData were investigated at 20 days after acclimatization

^yData were investigated at 30 days after transplanting

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at p=0.05

분화 식물체의 순화 및 이식

재분화 식물체는 생장조절제를 첨가하지 않은 MS배지로 옮겨 shoot 성장과 발근을 유도하였다 (Fig. 1D). 30일간 자란 재분화 식물체는 인공 배양토를 채운 72구 트레이로 이식하여 20일 째의 생존율과 강모래와 발효 (1:1)의 혼합토를 넣은 삼목상자에 정식하여 30일째의 초장을 조사하였다 (Table 3). 이식후 20째의 생존율은 perlite 단독처리구를 제외한 vermiculite 단독처리구와 perlite와의 혼합구에서 98%이상의 높은 생존율을 보였다. Perlite 단독처리에서는 처리구중 유의하게 낮은 88%의 생존율을 보였는데, 이는 재분화 돌나물의 뿌리가 아주 가늘어 perlite 입자공극 사이에서 순화 초기에 수분흡수가 잘 이루어지지 않았던 것으로 보인다. 돌나물의 재분화 식물체들은 vermiculite 단독 또는 혼합토양에서 순화 후 생존율이 대체로 높았는데, 이는 같은 캘러스 유래의 식물체를 개체별로 분리시키지 않고, 하나의 캘러스로부터 재분화된 식물체를 모두 이식하였기 때문으로 보인다 (Fig. 1E). 순화시킨 재분화 식물체들은 강모래와 발효 (1:1)의 혼합토에 정식한 뒤에도 초장 생육은 생존율과 비례하여 양호하였는데, vermiculite 단독 처리구에서 가장 컸고, perlite 단독 처리구에서 유의하게 적었는데, 이는 활착이 빠를수록 초장생육도 빨라지기 때문으로 보인다. 또한 토

양 활착후 재분화 식물체들은 모식물과 형태적 차이를 보이지 않았다 (Fig. 1F). 이와 같이 재분화 식물체의 토양이식에 따른 생존율은 초본식물의 경우 충분한 순화과정을 거치면 비교적 높게 나타나는데, 털머위에서도 perlite에서는 75%, vermiculite에서는 95%의 생존율을 보여 (Lee et al. 2001), 본 연구 결과와 유사하였다. 돌나물의 줄기는 마디마디에 뿌리가 잘 내리기 때문에 순화 전에 별도의 발근배지가 필요하지 않고, 건조에도 강하기 때문에 기내배양 유식물의 포장이식은 비교적 용이한 것으로 보인다. 이러한 결과는 돌나물의 형질전환 연구와 유전자원의 기내 및 초저온 보존을 위한 유용한 특성으로 생각되었다.

적 요

돌나물 (*Sedum sarmentosum*)의 형질전환 및 유전자원 기내보존을 위한 효율적인 식물체 분화 체계를 확립하기 위하여, 잎절편 유래의 캘러스로부터 식물체 분화에 미치는 glutamine과 AgNO₃의 영향과 분화 식물체의 순화 후 생존율을 조사하였다. 캘러스 유도는 3 mg/L 2,4-D와 1 mg/L BA, 식물체 분화는 0.2 mg/L NAA와 3.0 mg/L BA를 각각 첨가한 MS배지를 사용하였다. 금산 수집종에서 glutamine 첨가는 50일째에 100%의 식물체 분화를 보였으며, 350

mg/L glutamine 첨가시 캘러스당 17.6개의 가장 많은 식물체가 분화되었다. AgNO₃ 첨가배지에서도 금산 수집종은 100% 식물체 분화를 보였으며, 15 μM 첨가배지에서 캘러스당 16.1개의 식물체가 분화되어 가장 양호하였다. 완주 수집종은 glutamine 첨가에 관계없이 식물체가 전혀 분화되지 않았고, 5-25 μM AgNO₃ 첨가배지에서만 소수의 식물체가 분화되었다. 분화 식물체는 생장조절제를 첨가하지 않은 MS배지로 옮겨 shoot 성장과 발근을 유도한 다음, vermiculite와 perlite를 혼합한 인공토양에서 순화시킨 결과 88-100%의 생존율을 보였다. 생존 식물체들은 강모래:발효 (1:1, v/v)을 혼합한 토양에 정식한 후에도 양호한 생장을 보였으며, 모식물과 형태적으로 차이가 없었다.

사 사

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Ahn JH, Choe SS, Bae JH, Lee SY (2007) Effects of cutting date and bedsoil on root and shoot growth in autumn cutting of *Sedum sarmentosum*. J Bio-Environ Control 16:240-246
- Ahn JH, Lee SY (2004) Effects of growth regulators on callus induction and plant regeneration from leaf explants of *Sedum sarmentosum*. Kor J Plant Biotech 31:25-29
- Ahn MS, Lim HC, Choi SR, Choi DC, Choi JS, Choi YG, Park YJ (2002) Effects of basal media, growth regulators and addition agents on callus formation and plant regeneration for anther culture of *Hemerocallis* spp. Kor J Hort Sci Technol 20:124-129
- Beyer EM Jr (1976) A potent inhibitor of ethylene action in plant. Physiol Plant 58:268-271
- Chi GL, Pua EC (1989) Ethylene inhibitors enhanced de novo shoot regeneration from cotyledons of *Brassica campestris* ssp. chinensis (Chinese cabbage) in vitro. Plant Sci 64:243-250
- Chraïbi BK, Latch A, Roustan JP, Fallot J (1991) Stimulation of shoot regeneration from cotyledons of *Helianthus annuus* by the ethylene inhibitor, silver and cobalt. Plant Cell Rep 10:204-207
- Hatanaka T, Sawabe E, Azuma T, Uchida N, Yasuda T (1995) The role of ethylene in somatic embryogenesis from leaf discs of *Coffea canephora*. Plant Sci 107:199-204
- Hyde CL, Phillips GC (1996) Silver nitrate promotes shoot development and plant regeneration of chile pepper (*Capsicum annuum* L.) via organogenesis. In Vitro Cell Dev Biol -Plant 32:72-80
- Jahne A, Becker D, Bretschneider R, Lorz H (1994) Regeneration of transgenic microspore-derived fertile barley. TAG 89:525-533
- Kim HJ, Bae JH, Lee SY (2007) Variation of fresh shoot quality by storage temperature after harvesting in local strain of *Sedum sarmentosum*. J Bio-Environ Control 16:240-246
- Kwack BH (1976) On the ecology of *Sedum sarmentosum* Bunge in Korea. J Kor Soc Hort Sci 17:69-77
- Larue TAG, Gamborg OL (1971) Ethylene production by plant cell cultures; Variations in production during growing cycle and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15:437-497
- Lee SY, Ahn JH, Kim HJ (2006) Factors affecting shoot multiplication and rooting from cutting and in vitro node culture of *Sedum sarmentosum*. Kor J Hort Sci Technol 24:43-47
- Lee SY, Kim HJ, Bae JH, Shin JS, Lee SW (2007) Effect of shading on shoot growth and quality of *Sedum sarmentosum* in Korea. J Bio-Environ Control 16:388-394
- Lee SY, Kim TS, Kim HS (1988) Somatic embryogenesis of *Bupleurum falcatum* L. 1. Effects of growth regulator, glutamine and activated charcoal. Kor J Breed 20:191-198
- Lee SY, Yoo SO, Bae JH, Lee JH (2001) Effect of plant growth regulators on callus induction and plant regeneration of *Farfugium japonica*. Kor J Plant Biotech 29:45-49.
- Lentini Z, Mussell H, Mutchler MA, Earle ED (1988) Ethylene generation and reversal of ethylene effects during development of *in vitro* rapid cycling *Brassica campestris* L. Plant Sci 54:75-81
- Marton L, Browse J (1991) Facile transformation of Arabidopsis. Plant Cell Rep 10:235-239
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol Plant 15:473-497
- Murthy BNS, Singh RP, Saxena PK (1996) Induction of high-frequency somatic embryogenesis in geranium (*Pelargonium × hortorum* Bailey cv. Ringo Rose) cotyledonary cultures. Plant Cell Rep 15:423-426
- Olsen FL (1987) Induction of microspore embryogenesis in cultured anthers of *Hordeum vulgare*. The effects of ammonium nitrate, glutamine and asparagine as nitrogen sources. Carlsberg Res Commun 52:393-404
- Park KW, Kim YH (1997) Effect of different nutrient solutions on growth and quality in sedum (*Sedum sarmentosum*) deep flow culture. Kor J Hort Sci Technol 15:152-153
- Purnhauser L, Medgyesy P, Czako M, Dix PJ, Marton L (1987) Stimulation of shoot regeneration in *Triticum aestivum* and *Nicotiana plumbaginifolia* viv. tissue culture using the ethylene inhibitor AgNO₃. Plant Cell Rep 6:1-4
- Taylor PWJ, Ko HL, Fraser TA, Masel N, Adkins SW (1994) Effect of silver nitrate on sugarcane cell suspension growth, protoplast isolation, ethylene production and shoot regeneration from cell suspension cultures. J Exp Bot 45:1163-1168
- Xu ZH, Sunderland N (1981) Glutamine, inositol and conditioning factor in the production of barley pollen callus in vitro. Plant Sci Lett 23:161-168
- Yang SF (1985) Biosynthesis and action of ethylene. Hort Sci 20:41-45

(접수일자 2008년 12월 17일, 수리일자 2009년 1월 10일)