

五味子の 葯培養에 影響하는 要因

이중호*·이승엽**

Factors Affecting Anther Culture in *Schizandra chinensis*

Joong - Ho Lee* and Seung - Yeob Lee**

ABSTRACT : To increase the efficiency of the callus induction in anther culture of *Schizandra chinensis*, the effects of culture stage, low temperature pretreatment, growth regulators, sucrose and gelling agents were tested on Murashige and Skoog's medium. And the effects of ABA and AgNO₃ on organogenesis were investigated. The most suitable stage for anther culture was at the middle to late uninucleate stage, of which the flower size was $6.2 \pm 0.6 \times 4.0 \pm 0.4$ mm (Length \times width), and the frequency of callus induction was 13.3%. The effect of low-temperature pretreatment on callus induction was highest as 12.5% in the treatment for 8 days at 4°C. The combination of 1.0 mg/L 2,4-D and 0.25 mg/L kinetin for callus induction was most effective as 8.3% among various media. The frequency of callus induction was excellent as 10.8% in 4% sucrose. Effect of gelling agents on callus induction was highest as 9.0% on 0.6% Gelrite medium. The prevention of callus browning was effective on the media supplemented with ABA and AgNO₃, and rooting was promoted on medium supplemented with 5 mg/L ABA. But shoot was not developed.

Key words : *Schizandra chinensis*, Anther culture, Pretreatment, Growth regulators, Sucrose.

서 언

오미자 (*Schizandra chinensis* BAILLON)는 오미자과에 속하는 덩굴성 낙엽식물로 열매는 약용으로 사용된다. 주요성분은 Schizandra, Gomisins A~Q, α -Ylangene, Citric acid, Malic acid, β -Chamigrene, 정유 등으로, 한방에서는 중추신경 흥분작용, 진해, 거담, 자궁수축, 항균, 혈압강화, 강심작용이 있다고 알려져 있다^{7,15)}.

최근에는 오미자술, 오미자차, 오미자 주스 등과 같은 건강음료로도 그 수요가 증가하고 있는 추세이다. 이에 따라 농가에서도 고소득 작물로 각광을 받고 있으며, 국내 주요 재배지역은 전북 장수, 무주, 남원, 진안, 강원 인제 등으로 금후 재배면적이 계속 증가할 전망이다. 그래서 농촌진흥청 작물시험장에서는 우리나라의 자생 오미자를 수집하여, 우량계통을 선발중에 있다¹⁾. 오미자의 번식은 실생, 분주, 분근, 삽목 등이 모두 가능하다. 그러나 삽목은 발근율이 낮고, 실생묘는 대량생산의 이

* 원광대학교 농학과 (Department of Agronomy, Wonkwang University, Iksan, Cheonbuk 570-749, Korea)

** 호남농업시험장 (National Honam Agricultural Experiment Station, RDA, Iksan, Cheonbuk 570-090, Korea)

*** 본 연구는 1996년도 원광대학교 교내 연구비 지원에 의해 이루어졌음.

< '96. 12. 10 접수 >

점은 있으나 수확까지의 기간이 길며, 분주나 삼목은 일시에 많은 묘를 생산하기 어렵다¹⁵⁾. 그런데 오미자는 암수동주로서 과원 형성후 5년이상이 지나면 암꽃보다 수꽃이 많이 발생하기 때문에, 암꽃이 많이 피는 개체를 선발하여 심어야 수량성을 높일수 있다. 따라서 본 연구는 오미자 약배양을 이용한 우량계통 조기고정 및 순계유지를 위하여, 약배양 효율에 미치는 배양시기, 저온처리, 생장조절제 농도, sucrose 농도, 배지응고제, 그리고 기관분화에 미치는 ABA, AgNO₃ 등의 영향을 조사하였던 바, 얻어진 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 켈러스 형성에 미치는 몇가지 요인 조사

공시재료는 전북 익산시 삼기면 망성리 소재의 무주재래 5년생 오미자 (*Schizandra chinensis* BAILLON) 과원에서 5월 5일 - 12일까지 채취하여 사용하였다. 선정된 화퇴는 4℃에서 8일간 저온처리하여 샬레당 20개의 약을 치상하였다. 켈러스 유기배지는 1 mg/L 2, 4-D와 0.25 mg/L kinetin을 첨가한 MS배지¹⁹⁾를 사용하였으며, pH는 auto-clave 전 5.8로 조절하여, Ø 6.5cm 샬레에 5ml씩 분주하였다. 배양은 25℃에서 암배양하여 30일째에 계대배양하였다.

가. 배양약의 발육단계에 따른 영향

배양에 적합한 약의 발육정도를 조사하기 위하

Table 1. Classification of microspore stage on the size of flower buds for anther culture of *Schizandra chinensis*

Microspore stage ^a	Bud length (mm)	Bud width (mm)	Anther color
I	4.0±0.5	3.0±0.3	Greenish yellow
II	5.0±0.4	3.5±0.4	Greenish white
III	6.2±0.6	4.0±0.4	White
IV	7.5±0.7	4.8±0.5	White

^a I ;Tetrad, II ;Early uninucleate, III ;Middle - late uninucleate, IV ;Early binucleate

여 어린 화퇴에서부터 크기별로 화퇴의 장폭을 측정하여 4단계로 분류하고, 1% acetocarmine으로 염색, 검경하여 화분의 발육단계를 조사하였다(표 1). 선정된 재료는 저온처리하여 약을 치상하였으며, 배양 50일째의 켈러스 형성율을 조사하였다.

나. 저온처리의 영향

화퇴의 저온처리는 4, 8, 12℃에서 각각 4, 8, 12일간 처리후 켈러스 유기배지에 치상하여, 배양 50일째의 켈러스 형성율에 미치는 저온처리의 영향을 조사하였다.

다. 생장조절제, sucrose 및 배지 응고제의 영향 켈러스 형성에 미치는 생장조절제, sucrose 및 배지 응고제의 적정 농도를 조사하기 위하여 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L 2, 4-D와 0, 0.25, 0.5 mg/L kinetin을 첨가한 18조합의 배지에 저온처리된 약을 배양하였다. 또한 1 mg/L 2, 4-D와 0.25 mg/L kinetin을 첨가한 켈러스 유기배지에 2, 4, 6, 8, 10% sucrose, 그리고 배지 응고제로서 0.8, 1.0, 1.2, 1.4% agar (Junsei chm. co.)와 0.2, 0.4, 0.6, 0.8% Gelrite (Sigma chm. co)를 각각 넣은 배지에 저온처리된 약을 치상하여, 배양 50일째의 켈러스 형성율을 조사하였다.

2. 기관분화에 미치는 ABA와 AgNO₃의 영향

ABA와 AgNO₃가 켈러스 생장 및 기관분화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 0.5, 10mg/L ABA와 0, 10, 20mg/L의 AgNO₃를 각각 0.5 mg/L 2, 4-D와 2.0 mg/L kinetin을 첨가한 MS배지에 넣은후 직경 5 mm크기의 약배양 켈러스를 치상하였다. 배양 조건은 25℃, 2,000 Lux (16/8 hrs., day/night)로 조절하였다. 배양후 30일째에 계대배양하였으며, 계대배양후 20일까지의 켈러스 생장과 기관분화를 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 켈러스 형성에 미치는 몇가지 요인의 영향

가. 배양약의 발육단계에 따른 영향

오미자 약배양에서 켈러스 형성에 미치는 적정 배양시기를 조사하기 위하여, 소포자의 발육단계를 화퇴크기별로 구분하여 (그림 1A), 배양약의 켈

러스형성율을 조사한 결과는 표2와 같다. 배양약은 5일경부터 비대해지기 시작하였으며, 15일경부터는 갈변하면서 약의 봉합선이 터지기 시작하여 25일경에는 육안으로 캘러스를 관찰할 수 있었다. 배양 35일 이후에 캘러스를 형성하는 약도 많았으나, 30일 전후가 가장 많았다(그림2B). 배양 45일경이 되면 직경 약 5-7mm 크기로 성장하였다. 캘러스 형성율은 화뢰의 장폭이 6.2 ± 0.6 , 4.0 ± 0.4 mm 정도인 1핵성 소포자 중기-말기의 약을 치상하는 것이 13.3%로 가장 높게 나타났으며, 캘러스 성장도 좋았다. 소포자의 발육단계에 따른 캘러스형성율은 1핵성 소포자 중기-말기 > 1핵성 소포자

초기 > 2핵성화분 초기 > 4분자기의 순으로 높았다. 소포자의 발육단계가 약배양에서 캘러스형성 및 배발달에 중요한 요인중의 하나라는 것이 Sunderland²⁷⁾에 의하여 보고되면서 이에 관한 많은 연구가 이루어졌다. *Lycopersicon esculentum*⁵⁾은 tetrad기 직후인 1핵성 소포자 초기에 가장 좋은 반응을 보이는 반면, *Brassica oleracea*⁸⁾는 2핵성화분 초기가 적당하며, *Hordeum vulgare*⁶⁾, *Triticum aestivum*²²⁾, *Oryza sativa*²⁾ 등과 같은 화곡류에서는 1핵성 소포자 중기-후기에 좋은 반응을 나타낸다. 또한 *Ranunculus sceleratus*¹¹⁾, *Platycodon grandiflorum*¹²⁾에서는 1핵성 소포자기 및 2핵성 초기의 약에서 캘러스형성이 높는데, 본 실험에서도 1핵성 소포자기에 높은 캘러스형성율을 보여 유사한 결과를 보였다.

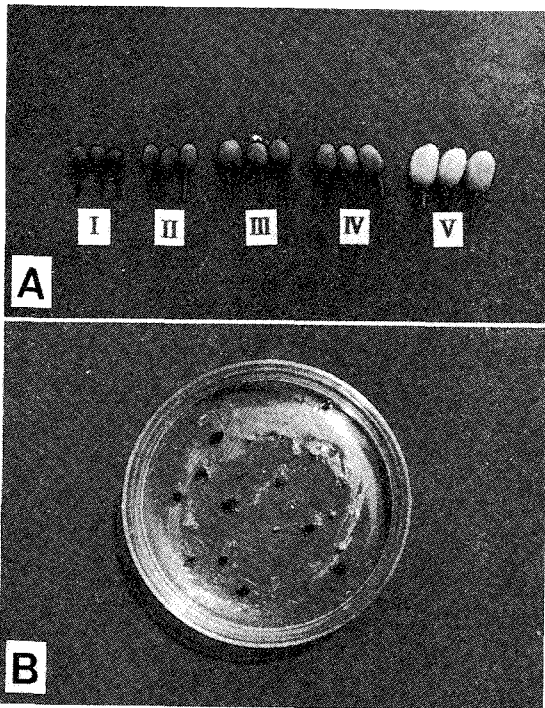


Fig. 1. Culture stage and callus induction in anther culture of *Schizandra chinensis*.

- A. I;Tetrad, II;Early uninucleate, III; Middle to late uninucleate, IV;Early binucleate, V;Before flowering
- B. Anthers producing callus at 30 days in culture at the middle to late uninucleate

Table 2. Effect of microspore stage on the callus induction in anther culture of *Schizandra chinensis*

Microspore stage ^a	No. of anther inoculated	No. of callus induced	%
I	120	4	3.3
II	120	11	9.2
III	120	16	13.3
IV	120	6	6.0

^a I;Tetrad, II;Early uninucleate, III;Middle-late uninucleate, IV;Early binucleate

나. 저온처리의 영향

1핵성 소포자의 화뢰를 4, 8, 12℃에서 4, 8, 12일간 저온처리하여, 캘러스형성에 미치는 영향을 조사한 결과는 표 3과 같다. 무처리에 대비한 저온처리효과는 뚜렷하였으며, 4℃에서 4-8일 처리가 높은 반응을 보여, 캘러스형성율은 4℃, 8일처리에서 12.5%로 가장 높았다. 12℃에서 처리한 약은 캘러스형성율도 낮고, 캘러스성장도 좋지 않아 배양 50일경에는 갈변고사하는 캘러스도 관찰되었다. Nitsch & Norree²¹⁾이 *Datura innoxia*의 약배양에서 저온처리효과를 보고한 이래, 저온처리

는 대부분의 식물에서 약배양에 널리 이용되고 있는데, *Hordeum vulgare*⁶⁾는 4℃에서 25일, *Ranunculus sceleratus*¹¹⁾는 10℃, 10일 처리가 캘러스 형성 및 배발생에 효과적이다. 반면 *Brassica napus*¹⁰⁾는 32-34℃에서 3일간 고온으로 처리하였을 때 배발생율이 높으며, 저온처리에서는 오히려 배발생이 억제되었다고 하여 식물에 따라 반응이 다르다.

Table 3. Effect of low temperature pretreatment on the callus induction in anther culture of *Schizandra chinensis*

Treatment		No. of anther inoculated ^a	No. of callus induced	%
Temp. (°C)	Days			
Control	-	80	2	2.5
	4	80	5	6.3
4	8	80	10	12.5
	12	60	6	10.0
	4	60	3	5.0
8	8	80	8	10.0
	12	50	3	6.0
	4	50	2	4.0
12	8	40	2	5.0
	12	60	-	-

^aBasic medium: MS+1mg/L 2,4-D, 0.25mg/L kinetin

다. 성장조절제, sucrose 및 배지 응고제의 영향 약배양 배지에 첨가되는 2,4-D와 kinetin의 농도에 따른 캘러스 형성율을 조사한 결과는 표4와 같다. 2,4-D농도는 1.0 mg/L 첨가배지에서 가장 높은 캘러스 형성율을 보였으며, kinetin첨가효과는 2,4-D보다는 크지 않았으나 1.0 mg/L 2,4-D와 0.25 mg/L kinetin 첨가배지에서 가장 높은 8.3%의 캘러스 형성율을 보였다. 약배양에 미치는 적정 성장조절제의 종류와 농도는 식물에 따라 다르는데, *Datura innoxia*²⁷⁾, *Paeonia lactiflora*²⁸⁾는 성장조절제가 첨가되지 않은 기본배지에서도 배발생

이 가능하지만, 대부분의 식물에서는 배지내에 auxin과 cytokinine의 혼합처리가 약배양에 효과적이다¹⁷⁾. *Hyoscyamus niger*³⁾, *Digitalis purpurea*⁴⁾는 2,4-D 단독처리에서 효과적이지만, *Brassica oleracea*⁸⁾, *Guicotia abyssinica*²⁴⁾ 등은 2,4-D와 kinetin혼용배지에서 약배양 효율이 높다고 하여 본 실험결과와 유사하였다.

Table 4. Effect of 2,4-D and kinetin on the callus induction in anther culture of *Schizandra chinensis*

GR(mg/L) ^a		No. of anther inoculated	No. of callus induced	%
2,4-D	kinetin			
	0	120	0	0.0
0.05	0.25	120	2	1.7
	0.5	120	0	0.0
	0	120	0	0.0
0.1	0.25	120	3	2.5
	0.5	120	3	2.5
	0	120	2	1.7
0.2	0.25	120	3	2.5
	0.5	120	3	2.5
	0	120	3	2.5
0.5	0.25	120	5	4.2
	0.5	120	4	3.3
	0	120	4	3.3
1.0	0.25	120	10	8.3
	0.5	120	6	5.0
	0	120	5	4.2
2.0	0.25	120	9	7.5
	0.5	120	6	5.0

^a GR:Growth regulator supplemented in MS media

또한 sucrose농도에 따른 캘러스 형성율을 조사한 결과는 표5와 같다. 6% sucrose 첨가배지에서 10.8%의 가장 높은 캘러스 형성율을 보였으며, 8% 이상의 배지에서는 반응이 거의 없이 갈변교사하는 약이 대부분이었다. 배지내 탄소원으로 이용

되는 sucrose의 중요성은 Nitsch²⁰⁾에 의하여 최초로 보고되었는데, 소포자의 초기분열시 삼투압조절에 필수적이고 약백이나 화사유래의 2n성 캘러스의 발달을 억제하기도 한다^{22,26)}. 배지내 sucrose 농도는 식물에 따라 달라 화곡류에서는 6-8%의 고농도가 좋으며^{2,18)}, 대부분의 식물에서는 본실험에서와 같이 2-4%의 저농도로 이용되고 있다^{11,12)}.

Table 5. Effect of sucrose concentration on the callus induction in anther culture of *Schizandra chinensis*

Sucrose (%) ^a	No. of anther inoculated	No. of callus induced	(%)
2	120	6	5.0
4	120	10	8.3
6	120	13	10.8
8	120	3	2.5

^a Basic medium; MS+1mg/L 2, 4-D, 0.25mg/L kinetin

그리고 배지의 물리성도 약배양 효율에 영향을 미치는 중요한 요인중의 하나인데, 오미자 약배양 효율을 향상시키기 위하여 agar와 Gelrite의 농도를 달리하여 캘러스 형성율을 조사한 결과는 표6과 같다. agar와 Gelrite간 캘러스 형성시기 및 성장양상은 유사한 경향을 보였다. 배지내 agar함량에 따른 캘러스 형성율은 1.4%의 고농도 첨가배지에서는 감소하였으며, 1.0% agar배지에서 7.0%로 가장 높았다. agar배지보다 Gelrite첨가배지에서 농도간 캘러스 형성율에 뚜렷한 차이를 보여 0.6%에서 9.0%로 가장 높았으나, 0.8%에서는 캘러스 형성이 되지 않았다. 캘러스 형성은 1.0% agar배지보다 0.6% Gelrite배지에서 높았는데, 이러한 결과는 비 약배양에서도 보고되었다¹⁹⁾. 배지 응고제는 배지내 수분 및 양분 흡수와 관련이 있는데, 배지 응고제의 농도에 따른 배지내 물리성 변화에 대하여 Liu & Lai¹⁶⁾는 배지내 수분감소에 따른 스트레스가 캘러스 활력을 높여 식물체 분화능을 증대시킨다고 하였다.

Table 6. Effect of gelling agents on the callus induction in anther culture of *Schizandra chinensis*

Gelling agents (%)	No. of anther inoculated	No. of callus induced	(%)	
Agar	0.8	100	5	5.0
	1.0	100	7	7.0
	1.2	100	4	6.0
	1.4	100	1	1.0
Gelrite	0.2	100	1	1.0
	0.4	100	5	5.0
	0.6	100	9	9.0
	0.8	100	0	0.0

^a Basic medium; MS+1mg/L 2, 4-D, 0.25mg/L kinetin

2. 기관분화에 미치는 ABA와 AgNO₃의 영향

약배양 유래의 캘러스를 식물체 분화를 위하여 ABA와 AgNO₃를 첨가한 재분화 배지에 이식한 다음, 기관분화 양상을 관찰하였다(표7). 처리에서의 캘러스 생장은 갈변화로 인하여 기관분화가 억제되었으나, 5mg/L ABA 첨가 배지에서는 배양 15일경부터 뿌리가 분화되기 시작하였으나, 30일 경에는 연갈색이었던 캘러스도 점차 갈변하면서 shoot는 발생되지 않았다(그림2). 10mg/L ABA 첨가배지에서는 갈변화가 억제되어 연갈색 캘러스로 발달하였으며, 캘러스 생장은 5mg/L ABA 첨가 배지보다 지연되었다. 또한 10mg/L AgNO₃ 첨가배지에서는 캘러스 생장이 무처리와 차이가 없었으며, 20 mg/L AgNO₃ 첨가배지에서는 갈변화가 억제되어 연갈색 캘러스로 발달하였으나, 기관분화는 관찰할 수 없었는데, 이러한 재분화 양상은 *Sesamum indicum*²³⁾에서도 보고되었다. 권 등⁹⁾도 ABA와 AgNO₃가 산수유 캘러스의 갈변화를 억제한다고 하여 유사한 결과를 보고하였다. ABA는 캘러스 활력을 오래도록 유지하여 식물체 재분화에 효과적이며, 에틸렌 억제 작용이 있는 AgNO₃도 식물체 재분화를 촉진하는 것으로 알려져 있다^{9,13)}. 본 실험에서 재분화 배지에 ABA와 AgNO₃의 첨가

로 캘러스의 갈변화는 다소 감소하였으나, 기관분화는 이루어지지 않았다.

Table 7. Effect of ABA and AgNO₃ agents on organogenesis in anther derived callus culture of *Schizandra chinensis*

Treatment ^a (mg/L)	Callus growth ^b	Organogenesis
0	++ (Brown)	None
ABA	5	+++ (Light brown)
	10	++ (Light brown)
AgNO ₃	0	++ (Brown)
	10	++ (Brown)
	20	+++ (Light Brown)

^a Basic medium: MS+0.5mg/L 2,4-D, 2mg/L kinetin

^b ++; Good, +++; Excellent

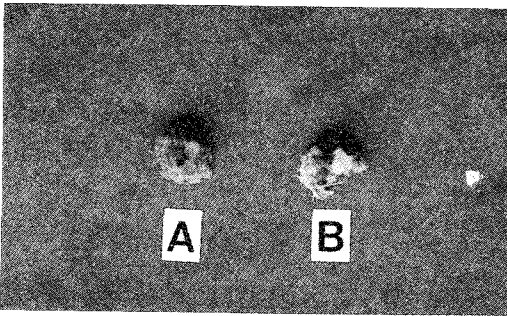


Fig. 2. Development of root on MS medium supplemented with ABA at 15 days in anther derived callus culture of *Schizandra chinensis*. A; Control, B; 5 mg/L ABA

적 요

오미자 약배양을 이용한 우량계통 조기고정 및 순계유지를 위하여, 약배양 효율에 미치는 배양시기, 저온전처리, 성장조절제 및 sucrose 농도, 배

지용고제, 그리고 기관분화에 미치는 ABA, AgNO₃ 등의 영향을 조사하였던 바, 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. 약배양 시기는 화뢰의 장폭이 6.2×4.0mm 크기의 1핵성 소포자 증기 - 후기의 약에서 13.3%의 가장 높은 캘러스 형성율을 보였다.

2. 화뢰의 저온전처리에 따른 캘러스 형성율은 4℃, 8일 처리에서 12.5%로 가장 높았다.

3. 캘러스 형성에 미치는 성장조절제의 영향은 1.0mg/L 2,4-D와 0.25mg/L kinetin 첨가배지에서 8.3%로 가장 높았다.

4. 배지내 sucrose 농도에 따른 캘러스 형성율은 4% 첨가배지에서 10.8%로 가장 높았다.

5. 캘러스 형성에 미치는 배지용고제는 0.6% Gelrite 첨가배지에서 9.0%로 가장 높았다.

6. 기관분화를 위한 배지내 ABA와 AgNO₃의 첨가는 캘러스의 갈변을 억제하였으며, 5mg/L ABA 첨가배지에서 뿌리분화가 이루어졌다.

인 용 문 헌

1. 장영희, 박춘근, 김동휘. 1995. 오미자 수집종의 꽃과 과실 특성. 약작지 3(1) : 35-39.
2. Chen, C.C. 1978. Effects of sucrose concentration on plant production in anther culture of rice. Crop Sci. 18 : 905-906.
3. Corduan, G. 1975. Regeneration of anther-derived plants of *Hyoscyamus niger* L. Planta 127 : 27-36.
4. Coduan, G. and C. Spix. 1975. Haploid callus and regeneration of plants from anthers of *Digitalis purpurea* L. Planta 124 : 1-11.
5. Gresshoff, P.M. and C.H. Doy. 1972. Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum* (Tomato). Planta (Berl.) 107 : 161-170.
6. Huang, B. and N. Sunderland. 1982. Temperature-stress pretreatment in barley anther culture. Ann. Bot. 49 : 77-88.
7. 지형준, 이상인. 1990. 대한약전의 한약규격

- 김 주해서. 한국메디칼인텍스사. 572p.
8. Kameya, T. and K. Hinata. 1970. Induction of haploid plants from pollen grains of *Brassica*. Japan J Breeding 22 : 82 - 87.
 9. 권태오, 김태수, 이승엽. 1995. 산수유의 약배양에 관한 연구. 약작지3(3) : 33 - 239.
 10. 김문자. 1993. 모식물의 생육환경, 온도 전처리와 배지의 종류가 *Brassica napus* L. 의 약배양에 미치는 영향. 한국식물조직배양학회지 19(4) 213 - 218.
 11. 이병기, 고정애, 김영선, 은종선. 1993. 개구리자리(*Ranunculus sceleratus* L.) 의 약배양에 관한 연구. 한국식물조직배양학회지 20(3) : 147 - 151.
 12. 이병기, 고정애, 김영선, 은종선. 1993. 도라지(*Platycodon grandiflorum*) 의 약배양에 의한 소포자 유래의 배발생 및 식물체 재분화. 한국식물조직배양 학회지 20(3) : 153 - 157.
 13. 이혜승, 조화진, 김병동. 1993. 에틸렌 저해제에 의한 배추 자엽조직의 기내 재분화를 향상. 한국식물조직배양학회지 22(5) : 267 - 272.
 14. 이증호, 이승엽. 1995. 배지응고제와 성장조절제가 벼 약배양에 미치는 영향. 한국식물조직배양학회지 22(1) : 35 - 40.
 15. 이승택. 1993. 약초재배. 농촌진흥청. 수원. 270 - 276p.
 16. Liu, L.F. and K.L. Lai. 1985. High frequency plant regeneration from water-stressed rice tissue cultures. In Abstracts of the First International Congress of Plant Molecular Biology. 11p.
 17. Maheshwari, S. C., A. Rashid and A.K. Tyagi. 1982. Haploid from pollen grain. - Reprospect and prospect-. Amer. J Bot. 69 : 865 - 879.
 18. Miao, S.H., C.S. Kuo, Y.L. Kwei, A.T. Sun, S.Y. Ku, W.L. Lu and Y.Y. Wang. 1978. Induction of pollen plants of maize and observations on their progeny. In Proc. Symp. Plant Tissue Culture. Science Press, Peking, 23 - 33p.
 19. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15 : 477 - 497.
 20. Nitsch, J.P. 1969. Experimental androgenesis in *Nicotiana*. Phytomorphology 19 : 389 - 404.
 21. Nitsch, C. and B. Norreel. 1973. Effect d'un choc thermique sur le pouvoir embryogene du pollen de *Datura innoxia* cultivate dans l'antherou isole del'anthere. CR Hebd. Seanc Acad. Sci. 276 : 303 - 306.
 22. Ouyang, T.W., H. Hu and C.C. Tseng. 1973. Induction of pollen plants from anthers of *Triticum aestivum* L. Cultured *in vitro*. Sci. Sin. 16 : 79 - 95.
 23. 류점호, 두홍수, 권태호. 1992. 참깨(*Sesamum indicum* L.) 의 약배양에 의한 반수체 육성 I. 캘러스 유기에 미치는 성장조절물질과 Genotype 간의 차이. 한국식물조직배양학회지 19(3) : 171 - 177.
 24. Sarvesh, A., T.P. Reddy and P.B. Kavi Kishor. 1993. Embryogenesis and organogenesis in cultured anthers an oil yielding crop niger (*Guizotia abyssinica* Cass). Plant Tissue Organ Culture 35 : 75 - 80.
 25. 손재근, 김영환. 1993. 작약(*Paeonia lactiflora* Poll) 의 약배양에서 성장조절제가 캘러스 및 배형성에 미치는 영향. 한국식물조직배양학회지20(5) : 255 - 259.
 26. Sopory, S.K. 1979. Effect of sucrose, hormones and metabolic inhibitors on the development of pollen embryoids in anther cultures of dihaploid *Solanum tuberosome*. Can. J Bot. 57 : 2691 - 2694.
 27. Sunderland, N. 1974. Anther culture as a mean of haploid induction. In kj Kasha, ed. Haploids in Higher Plants, Advances and Potential. Univ. of Guelph. 91 - 122p.