

## 녹색꽃양배추(Broccoli)의 藥培養에 있어서 배발생에 미치는 몇가지 要因分析

李光植\* · 朴載福<sup>1</sup> · 安春姬 · 尹汝重<sup>2</sup>  
 草原種苗社\* · <sup>1</sup>서울市立大學校 · <sup>2</sup>오윤바이텍

### Effects of Several Factors on Embryogenesis in Anther Culture of Broccoli(*Brassica oleracea* L.var. *italica* Plenck.)

LEE, Kwang Sik\* · PARK, Jae Bok<sup>1</sup> · Ahn, Chun Hee · YOON, Yeo Joong<sup>2</sup>

Chowon Seed Co., Kongju, Chungnam, 314-830, Korea: <sup>1</sup>Dept. of Environ. Hort., Univ. of Seoul, Seoul, 130-743, Korea: and <sup>2</sup>OhyoonBiotech. Co., Kongju, Chungnam, 314-830, Korea. \*Corresponding author

The effect of several factors on efficiency of anther culture of broccoli was studied. The medium supplemented with 14 % sucrose, 125mg/L of silver nitrate and 0.1mg/L of each of NAA and 2,4-D was best in embryogenesis in all varieties tested. The effect of auxin was affected by silver nitrate, that is, it lowered embryogenesis when the concentration of NAA and 2,4-D was low, but it enhanced when their concentrations were high. Benzyl aminopurine increased embryogenesis in some varieties, but decreased in others. Although microspore embryogenesis was observed in anthers of which heigest was 1 to 0.6 ~ 1.0 of petal heigest in the bud, which corresponds to the early uninucleate to early binucleate stage of the microspores, it was much better when the ratio of heigest was 1 : 0.8. More embryos ware inducted from culture in March than in February in general. Because there was a big yearly variation, it was assumed that microspore embryogenesis was influenced greatly by the culture condition and the physiological condition of donor plants.

Key words : anther culture, embryogenesis

녹색꽃양배추(*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck.)는 배추科(十字花科:cruciferae)의 양배추류에 속하는 變種으로서 染色體數는 n=9이며 케일과 양배추간의 自然交雜種에서 由來된 것으로 보고되고 있다(5).

타식성인 배추과 작물에서는 藥培養에 의한 半數體 育種이 순수한 내혼계의 단기간내 작성과 그것을 이용한 F<sub>1</sub> 品種育成에 큰 의의가 있다(Arnison et al., 1990 : Fabijanski et al., 1991 : Takahata and Keller, 1991 : Wang et al., 1992 : Yang et al., 1992). 藥培養 由來 2배체는 自殖으로는 곤란한 微動遺傳子도 고정되므로 균일한 F<sub>1</sub> 雜種의 안정생산이 기대됨과 동시에 劣惡微動遺傳子の 發現으로 말미암은 災害抵抗性的의 약화가 우려되는 점도 있는 실정이다.

本 研究는 재배확대가 기대되는 녹색꽃양배추의 品種改良用 內婚生育成을 위하여 藥培養을 할 때 배지중의 sucrose 농도, AgNO<sub>3</sub> 및 식물생장조절제의 농도, 置床藥에 대한 高溫處理期間, 置床時期 및 藥 發達 정도의 배발생에 미치는 영향을 검토코자 수행 되었다.

### 재료 및 방법

藥培養에 사용된 재료는 녹색꽃양배추 7品種이다.

置床할 試料는 오전 9시 전후에 花雷를 採取하여 흐르는 물로 30분간 水洗하고 70% 에칠알콜로 20초간 表面殺菌하여 4.2% calcium hypochloride 溶液에 5분간 침지살균한 후

Table 1. Composition of media used for anther culture of broccoli

	Basi medium	Growth regulator(mg/L)			AgNO <sub>3</sub> (mg/L)	Sucrose (%)
		NAA	2,4-D	BAP		
1	B5 modified <sup>a</sup>	0.1	0.1	-	-	10
2	"	0.1	0.1	-	125	10
3	"	0.1	0.1	-	125	14
4	"	1.0	1.0	-	-	10
5	"	1.0	1.0	-	125	10
6	"	0.1	0.1	0.05	125	10
	B5n	-	-	-	-	2
Normal plant regeneration (MS-K MS modified)		0.02	-	1.0	-	3

a: Keller ey al.,(1975)

Table 2. Effect of cultivar, medium and high temperature period on embryogenesis in anther culture of *Brassica oleracea* L. var. *italica* in 1991.

Cultivars	Media <sup>a</sup>	Initial culture	No. of anthers cultured(A)	Anther response(B)	B/A(%)	Embryo yield(C)	C/A (%)
Mariner	1	35° C-1day	150	1	0.67	4	2.67
		35° C-2days	150	0	0.00	0	0.00
	2	35° C-1	150	0	0.00	0	0.00
		35° C-2	150	0	0.00	0	0.00
	3	35° C-1	150	3	2.00	7	4.67
		35° C-2	150	2	1.33	2	1.33
	4	35° C-1	150	0	0.00	0	0.00
		35° C-2	150	0	0.00	0	0.00
	5	35° C-1	150	3	2.00	4	2.67
		35° C-2	150	0	0.00	0	0.00
sub-total			1,500	9		17	
Marathon	1	35° C-1day	150	0	0.00	0	0.00
		35° C-2days	150	1	0.67	2	1.33
	2	35° C-1	150	0	0.00	0	0.00
		35° C-2	150	0	0.00	0	0.00
	3	35° C-1	150	1	0.67	4	2.67
		35° C-2	150	3	2.00	2	1.33
	4	35° C-1	150	0	0.00	0	0.00
		35° C-2	150	0	0.00	0	0.00
	5	35° C-1	150	3	2.00	2	1.33
		35° C-2	150	0	0.00	0	0.00
sub-total			1,500	8		10	
Landmark	1	35° C-1day	150	1	0.67	8	5.33
		35° C-2days	150	3	2.00	15	10.00
	2	35° C-1	150	0	0.00	0	0.00
		35° C-2	150	1	0.67	0	0.00
	3	35° C-1	150	2	1.33	9	6.00
		35° C-2	150	8	5.33	13	8.67
	4	35° C-1	150	0	0.00	0	0.00
		35° C-2	150	3	2.00	3	2.00
	5	35° C-1	150	5	3.33	15	10.00
		35° C-2	150	6	4.00	9	6.00
sub-total			1,500	29		72	
Zeus		35° C-1day	150	1	0.67	2	1.33
		35° C-2days	150	2	1.33	3	2.00
		35° C-1	150	0	0.00	0	0.00
		35° C-2	150	1	0.67	0	0.00
		35° C-1	150	2	1.33	2	1.33
		35° C-2	150	3	2.00	5	3.33
		35° C-1	150	1	0.67	0	0.00
		35° C-2	150	0	0.00	0	0.00
			35° C-1	150	2	1.33	2
sub-total			1,500	15		16	
Arcadia	1	35° C-1day	150	4	2.67	7	4.67
		35° C-2days	150	4	2.67	3	2.00
	2	35° C-1	150	0	0.00	0	0.00
		35° C-2	150	2	1.33	5	3.33
	3	35° C-1	150	6	4.00	14	9.33
		35° C-2	150	6	4.00	2	1.33
	4	35° C-1	150	0	0.00	0	0.00
		35° C-2	150	0	0.00	0	0.00
	5	35° C-1	150	1	0.67	5	3.33
			150	2	1.33	0	0.00
sub-total			1,500	25		36	
Total			7,500	86	1.15	151	2.01

<sup>a</sup>See table 1.

試料에 묻어 있는 殺菌溶液을 滅菌水로 4회 水洗하였다.

培養에 이용한 藥은 소포자의 발육단계가 1핵기 초기부터 2핵기로서 꽃잎의 길이가 藥 길이의 0.6, 0.8, 1.0의 3단계로 구분 하였다.

배지는 Keller등(1975)이 *B.campestris*에 대해 개발한 B5 改良培地를 基本으로 하여 Table 1과 같은 식물생장조절물질,  $AgNO_3$ , sucrose 濃度를 달리한 6組를 만들어 비교하였다. 그리고 胚發生의 效率을 增大시키기 위하여 置床이 끝난 藥을  $35^{\circ}C$ 에 1日과 2日間 처리한 후  $25^{\circ}C$  恒溫에서 胚發生까지 暗培養하였다.

培養時期가 胚發生效率에 미치는 영향을 調査하고자 2월 14일부터 20일까지 1주일간 置床한 것과, 3월 14일부터 20일까지 1주간 置床으로 나누어 培養하였다.

藥置床 1주일정부터 胚發生 有無를 觀察하였다. 일단 胚發生이 確認된 藥은 즉시 胚生長培地에 옮겨 正常的인 胚生長을 誘導하였고, 胚가 어뢰형 이상으로 성장하였을 때 발생된 胚의 數를 조사하였다. 藥置床培地의 構成要素中에서 植物生長調節物質을 제외하고 sucrose 濃度를 2%로 낮춘 胚生長培地로 옮긴 胚는  $25^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ , 2,000Lux의 光條件에서 16시간 日長의 培養室에서 培養하였다.

## 결과 및 고찰

植物生長調節物質의 種類 및  $AgNO_3$ 의 處理와 sucrose 濃度가 胚發生에 미치는 影響

1년차 실험에 사용된 5가지 品種의 藥을 培養하여 胚發生(Figure 1)을 보인 藥의 갯수 및 비율과 胚의 총수 및 비율을 조사한 결과가 Table 2이다



Figure 1. Germination of anther derived embryo after 20 days of culture on MS-K medium.

分散分析결과(Table 3, 4) 品種과 培地 2요인 모두 1% 이하의 수준에서 유의성을 나타내었다. 藥培養에 대한 置床藥의 反應(Table 3)에서 보면 품종은 1% 수준에서, 培地는

0.1% 수준에서 有意性이 인정되어 品種과 培地에 따라 藥培養 效率이 다르게 나타남을 알 수 있다. 이같은 傾向은 胚發生量(Table 4)에서도 같게 나타났다.

이러한 결과로 미뤄볼 때 녹색꽃양배추의 藥培養에서는 적절한 品種選擇이 중요한 것으로 생각된다. 培地의 성분요인별 胚發生率에 미치는 효과를 비교해 보면 sucrose 14%가 10%보다 우수하였다(Table 5).

Sucrose의 첨가는 組織培養에서 당연시 되고 있으나 藥培養時 3세포성 化合物에서는 2세포성 化合物의 2~3%와 달리 5~15%의 高濃度를 요구한다고 알려져 있다(Harn:1985). Roulund 등(1991)도 양배추 藥培養에서 sucrose의 적정농도는  $14.2 \pm 0.1\%$ 로 농도 10% 수준의 sucrose 처리보다 1.7배의 배형성 효과를 보았다고 보고하였다. 또한 Wang 등(1992)의 브로콜리 藥培養 胚發生培地(B5개량培地+NAA와 2,4-D 각  $0.1mg/L$ , sucrose 10%)에 비하여 sucrose 농도를 4% 증가시키고  $AgNO_3$ 를  $125mg/L$  첨가한 培地 3의 우수성을 확인할 수 있었다. Ockendon(1986)은 방울다다기양배추(brussels sprouts)의 藥培養 실험에서  $AgNO_3$ 의 첨가는 胚發生에 전반적으로 매우 효과적이며 일부 genotype에서는 현저하게 胚發生率을 높였다고 하면서,  $AgNO_3$ 는 藥培養時 발생하는 에틸렌의 활동 억제제로 활약하는 것으로 추정하였다. 따라서 같은 *Brassica oleracea*에 속하는 양배추와 방울다다기양배추의 藥培養 실험결과에서 胚發生率이 좋게 나타난  $14.2 \pm 0.1\%$ 의 sucrose 농도,  $AgNO_3$   $125mg/L$ 의 첨가는 브로콜리

Table 3. ANOVA for rate of embryogenic anthers(B/A<sup>a</sup>)

SV	DF	SS	MS	Fs
Cultivar	4	70.579	17.645	6.730**
Media	4	182.650	45.663	17.420***
Error	16	41.949	2.622	
Total	24	295.179		

<sup>a</sup>See table 2.

Table 4. ANOVA for rate of embryos developed(C/A<sup>a</sup>).

SV	DF	SS	MS	Fs
Cultivar	4	180.011	45.003	7.324**
Media	4	425.327	106.332	17.340***
Error	16	98.317	6.1	45
Total	24	703.655		

<sup>a</sup>See table 2.

Table 5. Effect of culture media in anther culture of *Brassica oleracea* L. var. *italica*

Medium <sup>a</sup>	No. of anthers cultured (A)	No. of anther response (B)	B/A (%)		No. of embryo yield (C)	C/A (%)	
1	1,500	17	1.13	0.97	44	2.93	0.65
2	1,500	4	0.27	0.20	5	0.33	0.37
3	1,500	36	2.40	2.30	60	4.00	3.50
4	1,500	4	0.27	0.10	3	0.20	0.63
5	1,500	25	1.67	1.60	39	2.60	1.70
Total	7,500	86	1.15	-	151	2.01	-

<sup>a</sup>See table 2.

**Table 6.** Effect of cultivar on embryogenesis in anther culture of *Brassica oleracea* L. var. *italica*

Cultivar	No. of anthers cultured(A)	Anther response(B)	B/A (%)	No. of Embryo yield(C)	C/A (%)	
Mariner	1,500	9	(0.60)	0.33	17 (1.13)	0.97
Marathon	1,500	8	(0.53)	0.30	10 (0.67)	0.15
Landmark	1,500	29	(1.93)	1.70	72 (4.80)	2.30
Zeus	1,500	15	(1.00)	0.91	16 (1.07)	0.10
Arcadia	1,500	25	(1.66)	1.20	36 (2.40)	1.60
Total	7,500	86	1.15	-	151	2.01

藥培養에서 胚發生 效率를 증대시킨 결과와 일치하였다. 본 실험에서는 AgNO<sub>3</sub> 첨가가 藥培養에 반응하는 藥의 숫자도 증가 시킬뿐만 아니라 반응 藥당 胚生成量도 증가 시켜 胚發生에 전반적으로 효과적이었음을 확인 할 수 있었다. 그런데 AgNO<sub>3</sub> 첨가가 NAA와 2,4-D의 농도가 낮은(0.1mg/L) 培地에서는 오히려 胚發生率을 낮게 하였으며, NAA와 2,4-D 농도가 높은(1.0mg/L) 경우에는 胚發生을 조장하는 것으로 나타난 점이 특이하였다(Table 5).

品種間 胚發生 比率를 보면 최저 0.67%에서 4.80%까지 분포하여 品種間에 현저한 차이를 보여 타작물에서와 비슷한 경향을 보였다. 즉 胚發生率에 있어 'Landmark'와 'Arcadia'가 우수하였으나 置床藥에 대한 正常發育胚의 비율은 'Landmark'와 'Mariner', 'Arcadia'가 우수 하였다 (Table 6).

2년차 실험(Table 6)에서는 1년차 실험에서 胚發生率이 좋았던 배지, NAA와 2,4-D가 각각 0.1mg/L+AgNO<sub>3</sub> 125mg/L+sucrose 14%와 benzyl aminopurine(BAP)를 0.05mg/L 첨가하고 sucrose 농도를 10%로 맞춘 培地에서의 胚發生效率를 비교하고자 하였다. 1년차에 가장 좋았던 培地는 2년차 실험에서 1년차보다 胚發生率이 더 높았고 전品種에서 고르게 胚發生이 되었으나 BAP를 0.05mg/L첨가하고 sucrose 농도를 10%로 낮춘 培地는 genotype에 따라 선택적 胚發生率을 보였다.

즉 Mariner', 'Landmark', 'Lancelot'는 6배지에서 0%의 胚發生率을 보였고 'Marathon', 'Zeus'는 1년차와 胚發生이 유사 하였으나 'Greenbelt'는 28.67%으로서 1.78% 훨씬 높은 發生率을 보였다(Table 7).

따라서 BAP 첨가 培地가 胚發生에 효과적인 반면 특정 genotype에서는 胚發生이 억제되는 것을 볼 수 있다. Arnison 등(1990)은 녹색꽃양배추 藥培養에서 5가지 농도별 cytokinin에 대한 genotype의 반응에 관한 연구에서 BAP 무처리구의 胚發生率은 1.9% 였으나 BAP 0.05mg/L 처리구는 9.7%, 0.06mg/L 처리는 10.4%로 높게 나타났음을 보고하였으며 또한供試된 10 genotype 중 3 genotype은 매우 낮게 나타나 genotype 사이에 BAP에 대한 반응이 상이함을 보고한 바 본 실험과 유사한 경향을 나타내었다.

흥미로운 것은 Greenbelt 品種의 경우 Arnison의 실험에서는 胚發生效率이 BAP 무첨가시는 2.6%이었고, BAP 첨가시

**Table 7.** Effect of cultivar and media on embryogenesis in anther culture of broccoli 9(1992)

Cultivars	Media	No. of anthers cultured(A)	Anther response(B)	B/A (%)	Embryo yield(C)	C/A (%)
Mariner	3	300	29	9.67	69	23.00
	6	300	0	0.00	0	0.00
sub-total		600	29	4.83	69	11.50
Marathon	3	300	12	4.00	16	5.33
	6	300	11	3.67	15	5.00
sub-total		600	23	3.83	31	5.17
Landmark	3	450	5	1.11	5	1.11
	6	360	0	0.00	0	0.00
sub-total		810	5	0.62	5	0.62
Zeus	3	300	9	3.00	14	4.67
	6	390	11	2.82	16	4.10
sub-total		690	20	2.90	30	4.35
Greenbelt	3	450	31	6.89	121	26.89
	6	450	32	7.11	129	28.67
sub-total		900	63	7.00	250	27.78
Arcadia	3	300	16	5.33	34	11.33
	6	300	9	3.00	14	4.67
sub-total		600	25	4.17	48	8.00
Lancelot	3	300	5	1.67	7	2.33
	6	300	0	0.00	0	0.00
sub-total		600	5	0.83	7	1.17
Total		4800	170	3.54	440	9.17

a:see table 1

**Table 8.** Effect of preincubation(35°C) period on embryogenesis in anther culture of broccoli in 1991 and 1992

year	Preincubation period	No. of anther cultured(A)	Anther response		Embryo yield	
			No.(B)	%(B/A)	No.(C)	%(C/A)
199	13°C-1day	3,750	36	0.96	85	2.27
	35°C-2days	3,750	50	1.33	66	1.76
subtotal		7,500	86	1.15	151	2.01
1992	35°C-1day	2,100	69	3.29	197	9.38
	35°C-2days	2,700	101	3.74	243	9.00
subtotal		4,800	170	3.54	440	9.17

**Table 9.** Effect of plating date on embryogenesis in anther culture of broccoli in1992

Cultivars	Date of plating	No. of anther cultured(A)	Anther response		Embryo yield	
			No.(B)	%(B/A)	No.(C)	%(C/A)
Mariner	92.2.14~20	1,500	8	0.53	15	1.00
	92.3.14~20	600	29	4.83	69	11.50
Marathon	92.2.14~20	1,500	21	1.40	76	5.07
	92.3.14~20	600	23	3.53	31	5.17

는 3.8%정도로 낮았는데 비하여 본 실험에서는 BAP 첨가 여부에 관계없이 3, 6培地에서 26.89~28.67%의 높은 胚發生率을 나타낸 것이었다(Table 7). 高濃度 auxin의 독성작용에 대한 sucrose의 보호작용이 알려져 있음을 감안할 때 (Harn:1985) sucrose농도와 BAP 첨가의 상호작용에 대한 검토가 필요할 것으로 생각된다.

Table 10. Effect of developmental stage of microspores on embryogenesis in anther culture of broccoli in 1992

Cultivars	Date of inoculation	No. of anther inoculated (A)	Embryo yield at each developmental stage of microspores							
			total (B)	% B/A	1.0 <sup>a</sup> % (C)	0.8 <sup>b</sup> % C/B (D)	0.6 <sup>c</sup> % D/B (E)	% E/B		
Mariner	92.2.14~20	1,500	15	1.00	4	26.7	9	60.0	2	13.0
	92.3.14~20	600	69	11.5	15	21.7	46	66.7	8	11.6
Marathon	92.2.14~20	1,500	76	5.07	3	3.9	57	75.0	16	21.1
	92.3.14~20	600	31	5.17	12	38.7	9	29.0	10	32.3

a : 1.0 = Anther : Petal = 1:1 = Pollen mitosis - early binucleate.

b : 0.8 = Anther : Petal = 1:0.8 = Late uninucleate - pollen mitosis.

c : 0.6 = Anther : Petal = 1:0.6 = Early uninucleate - late uninucleate.

### 培養時期 및 葯의 크기에 따른 胚發生 效率

培養時期를 달리 하였을 때 胚發生의 效率을 알아보고자 Mariner와 Marathon品種을 이용하여 2월 14일부터 1주일간 각기 1,500葯을, 3월 14일부터 1주일간에 각기 600葯을 置床하였다. 그결과 Mariner는 2월 置床區에서 15개의 胚를 獲得해 1%의 胚培養效率을 보여준 반면, 3월 置床區는 69개의 胚를 獲得하여 11.50%의 培養效率을 보였다. Mariner는 培養時期에 따라 培養效率에 커다란 영향을 받는 것으로 나타났다. Marathon은 2월 置床이 5.07%, 3월 置床이 5.17%를 보여 置床時期의 차이가 거의 인정되지 않았다(Table 9).

Yoon 등(1992)은 고추 葯培養에서 早熟栽培인 경우 고추의 花雷形成 最盛期는 7월로 이때 置床한 葯에서 가장 좋은 胚發生率을 보였다고 하였으며, Lee 등 (1986, 1988)은 배추 葯培養에서 胚發生率이 가장 좋은 치상적기는 2월~3월초라고 하였다.

한편 葯의 크기가 胚發生 效率에 미치는 영향을 실험 하였다(Table 10).

'Mariner'品種은 2월 치상구에서 葯에 대하여 꽃잎의 길이가 0.8 정도인 약에서 전체 15개중 60%인 9개의 胚가 발생되었으며, 3월 置床에서는 총 69개 중 66.7%인 46개의 胚가 발생되어 0.6과 1.0 단계의 약보다 높은 胚發生率을 보였다. 置床한 葯에 대한 胚發生率은 2월 치상이 1%에 불과하고 3월 置床은 11.5% 培養率의 變化를 보여 여기에는 葯과 꽃잎의 外形的 指標와 小胞子의 발육단계의 變化 外에 다른 微細 要因들이 작용했을 것으로 생각된다. 한편 'Marathon'品種은 2월 치상에서는 0.8 단계에서 75%의 매우 높은 反應을 보였고 그외의 단계에서는 낮았다. 그렇지만 3월 置床에서는 각 stage에서 고른 反應을 보였으나 전체적인 胚發生率은 2월 5.07%와 비슷한 5.17%의 反應을 보여 'Marathon'品種은 2월과 3월 치상에서는 차이가 없는 것으로 나타났다.

Woo 등(1993)에 의하면 배추의 경우 꽃잎과 葯의 길이의

比率에 따라 胚發生率은 0.0%부터 16.7%까지 큰 差異가 있었으며 胚發生率이 가장 높았던 葯은 꽃잎의 길이가 葯길이의 1/3~1/2인 것이라고 하였다. 한편 꽃잎의 길이가 葯길이의 3/5이상일 때 小胞子의 發達段階는 二核期 이후부터 未熟花粉 상태였는데 이때의 胚發生率은 감소하였고, 꽃잎의 길이가 葯길이의 1/4보다 작을 때는 小胞子가 4分子期였으며 이때는 胚가 전혀 發生되지 않았다고 보고하였다.

Fabijanski 등(1991)은 녹색꽃양배추 葯培養에서 高溫處理 하므로써 고온쇼크단백질(heat shock protein)의 유도를 보고한 바 있으며, Arnison 등(1990)은 녹색꽃양배추의 葯培養에서 18~48시간의 高溫(35°C)處理時 胚發生效率이 높았음을 보고하였다.

따라서 본실험에서도 胚發生 效率을 높이기 위해 2년에 걸쳐 1일 및 2일의 35°C의 고온처리 효과를 비교검토 하였는데 그 결과는 Table 8과 같다.

1년차(Table 8)에서 35°C 1일 처리가 2.67%로 2일 처리의 1.76% 胚發生率보다 다소 높았으며, 2년차(Table 8)에서도 35°C 1일 처리가 9.38%로 2일처리 9.00%보다 0.38% 다소 더 높았다. 아울러 品種間, 년차별 변이가 큰 점을 감안할 때 녹색꽃양배추의 葯培養時 고온(35°C)처리는 1일 및 2일 처리를 병행하는 것도 안정된 胚發生을 위해서는 필요할 것으로 사료된다. 이는 또한 Keller 등(1975)의 녹색꽃양배추 葯培養실험에서 35°C 2일 처리가 胚發生이 가장 높았다고 한 것과 비슷한 결과였다. 본 실험에서의 녹색꽃양배추는 꽃잎과 葯 길이의 비율이 배추보다 크다는 것과 胚發生率이 비교적 높았던 葯은 꽃잎 길이가 葯길이의 0.8 정도였다. 그러나 'Zeus', 'Greenbelt'品種은 0.6 에서, 'Marathon'品種은 1.0 에서 胚發生率이 높아 品種에 따라 다르다는 것을 알 수 있었다. 즉 녹색꽃양배추의 葯培養에서는 胚發生이 일어나는 단계가 0.6~1.0으로 넓게 분포되고 이 時期의 小胞子 發達段階는 一核期 初부터 二核期 初期였음을 확인할 수 있었다.

이러한 결과는 Keller 등(1975)이 보고한 것과 같이 대부분의 Brassica속 작물에서는 小胞子의 置床適期가 一核期 後期부터 二核期 初期라는 보고와는 일치하지만, 꽃잎 對 葯의 길이가 1/4~1/2이라는 보고와는 다른 樣相을 보이는 것으로서 이는 배추에 국한되는 것이라고 생각할 수 있다. 또한 置床 適期를 파악하는 꽃잎 對 약의 길이는 母本의 生育狀態나, 品種에 따라 다르므로 品種 및 置床時期에 따른 置床 適期를 확인하여 培養하는 것이 바람직한 것으로 思料된다.

## 적 요

녹색꽃양배추의 葯培養에 있어서 胚發生에 미치는 諸要

인의 영향을 究明하고자 7개의 市販種으로 2년에 걸쳐 일련의 實驗을 실시한 結果는 다음과 같다.

1. 小孢子 胚發生에 미치는 修正B5培地の sucrose농도는 10%보다 14%가 우수 하였다.
2. NAA와 2,4-D처리는 질산은 첨가에 영향을 받아서 모든 품종에서 농도가 낮을(0.1mg/L) 경우 AgNO<sub>3</sub>의 첨가에서 胚發生率을 낮추었다.
3. BAP는 品種에 따라 胚發生效率을 크게 낮추거나 높이는 등 品種間 差異가 確認 되었다.
4. NAA와 2,4-D 농도가 높거나 sucrose 농도가 10%보다 14%였을때 培發生率을 높였다.
5. 꽃잎길이가 약길이의 0.6~1배 정도의 화퇴에서 채취된 약에서는 胚發生을 볼 수 있었으며, 이때 小孢子 발달단계는 1핵기초에서 2핵기초였고, 가장 좋았던 것은 1핵기후기부터 花粉有絲分裂期로서 화퇴성장단계는 꽃잎길이가 약길이의 약 0.8배때였다.
6. 약의 치상시기는 3월초가 2월초에 비하여 좋았으나 品種間 차이가 컸으며, 胚發生에 효과적인 35°C의 高溫處理 요구기간도 品種間差가 있고, 同一品種이라도 年差변이가 있어 채취 母本의 생리 및 배양조건에 따라 미치는 影響이 다름을 確認 할 수 있었다.

## 인 용 문 헌

- Arnison PG, Donaldson P, Jackson A, Semple C, Keller WA (1990) Genotype specific response of cultured Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) anthers to cytokinins. *Plant Cell, Tissue Organ Culture* 20 : 217-222
- Arnison PG, Donaldson P, Hoh LCC, Keller WA (1990) The influence of various physical parameters on anther culture of Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Plant Cell, Tissue Organ Culture* 20 : 147-155
- Fabijanski SF, Altosaar I, Arnison PG (1991) Heat shock response during anther culture of broccoli(*Brassica oleracea* L. var. *italica*). *Plant Cell Tissue Organ Culture* 26 : 203-212
- Ham CY (1985) Anther culture and pollen dimorphism. *Korean J Plant Tissue Culture* 12: 1~34
- Keller WA, Rajhathy T, Lacapra T (1975) In vitro production of plants from pollen in *Brassica campestris*. *Can J Genet Cytol* 17 : 655-666
- Keller WA, Armstrong KC (1983) Production of haploids via anther culture in *Brassica oleracea* var. *italica*. *Euphytica* 32 : 151-159
- Lee SS, Yoon JY, Oho DG, Woo JG (1986) Anther culture of chinese cabbage (*Brassica campestris pekinensis*). I. Production of plants through embryogenesis of microspore. *Korea J Breeding* 18 : 1-5
- Lee SS, Yoon YJ, Shin HH, Woo JG (1988) Production of plants through anther culture and their seed bearing ability in chinese cabbage. *Korean J Breeding* 20 : 12~17
- Ockendon DJ (1986) Utilisation of anther culture in breeding brussels sprouts. In W. Horn(eds.). *Genetic Manipulation in Plant Breeding* pp 265-272 Walter de Gruyter
- Roulund N, Anderson SB, Farestveit B (1991) Optimal concentration of sucrose for head cabbage(*Brassica oleracea* L. convar. *capitata*(L.) Alef) anther culture
- Takahata Y, Keller WA (1991) High frequency embryogenesis and plant generation in isolated microspore culture of broccoli(*Brassica oleracea* L. var. *italica*). *Plant Science Limerick* 74 : 235-242
- Wang HM, Wager GM and Yang YL (1992) Embryogenesis in anther and pollen culture of broccoli(*Brassica oleracea* L. var. *italica*). *Acta Agriculturae Boreali Sinica* 7 : 61-72
- Woo JG (1993) Studies on the factors affecting efficiency of anther culture and phenotypic characteristics in anther - derived progeny in chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*). Seoul Nat Univ Ph D Rept
- Yang Q, Chauvin JE, Herve Y (1992) Androgenic embryos obtained in vitro culture of broccoli flower bud(*Brassica oleracea* var. *italica*). *Comptes Rendus de l' Academie des Sciences. Series 3, Sciences de la vie* 314 : 147-152
- Yoon YJ, Eun JS, Lee KS (1992) Anther culture and its utilization in breeding of *Capsicum annuum* L. Chonbuk Nat Univ. Research of farm village society pp 43-65

(1998년 3월 27일 접수)