

녹색꽃양배추 (*Brassica oleracea* L. var. *italica*)의 약배양 효율증진과 약유래 계통의 특성

남시춘 · 윤광현 · 백기엽*
충북대학교 첨단원예기술개발연구센터

Factors Affecting Efficiency of Anther Culture and Phenotypic Characteristics of Anther - derived Progeny in Broccoli

NAM, Si Chun · YOUN, Goang Hyeon · PAEK, Kee Yoeup*

Research Center for the Development of Advanced Horticultural Technology, Chungbuk National University,
Cheongju, 361-763, Korea

ABSTRACT This study was carried out to clarify several factors affecting embryogenesis from anther culture of nine cultivars in *Brassica oleracea* L. var. *italica* and to investigate the characteristics of plants derived from anther culture. Androgenesis from anther culture was elevated on the B5 medium supplemented with 0.1 mg/L NAA, 0.1 mg/L 2,4-D and 10% sucrose. Embryo production in liquid medium was five-fold higher than solid medium. High temperature treatment at 35°C for one day before transfer to culture room maintained at 25°C had effective to induce embryogenesis of cultured anthers but extended treatment at 35°C decreased significantly the percent of embryogenesis. Frequency of embryogenesis from cultured anthers exhibited significant difference from 2.8% in 'Green Valiant' to 21% in 'Haisi' as affected by genotypes. Percent of spontaneously dihaploid among regenerated plants from anther culture was ranged from 62 to 74% as affected by the genotypes. Characteristic in relation to plant height, number of leaves and branches, and size of head from anther-derived plants showed differential variation in 'Rokguray' and 'Haisi'. Among these characters obtained from two cultivars, five lines were selected for early maturity, long plant height and large head. Selected lines were used as breeding materials for F₁ hybrid.

Key words: Androgenesis, breeding materials, dihaploid, embryogenesis, genotype, variation

서 론

녹색꽃양배추 (broccoli, *Brassica oleracea* L. var. *italica*)는 십자화과의 양배추류에 속하는 변종으로서 *Brassica oleracea*에 속하며 염색체 수는 2n=18로서 케일과 양배추간의 자연교잡종에서 유래된 것으로 보고 있다. 유럽에서는

1500년대부터 재배되기 시작하여 이후 전세계적으로 재배되고 있으며 특히 미국에서 가장 많이 재배되고 있다. 국내에서는 1980년대로부터 일부 농가에서 재배하기 시작하여 점차 재배면적이 증가하고 있다. 최근 우량품종의 요구도가 높아지고 있음에도 불구하고 대부분 수입종에 의존하고 있는 실정이다.

녹색꽃양배추는 자가불화합성을 지니고 있으며 이 특성을 이용한 일대잡종 품종이 육성되고 있다. 그러나 배추나 무우보다는 자가불화합성 인자의 활력이 약하기 때문에 일대잡종 종자 생산에 있어서 자가수정종자가 많이 생기고 순도가 낮

*Corresponding author. Tel 0431-261-2529
E-mail paekky@cbucc.chungbuk.ac.kr

아지는 문제점이 있다 (Lee and Nam 1995). 또한 녹색꽃양배추는 녹식물저온감응성 식물이므로 한 세대의 기간이 길고 온실 등 특수한 시설을 이용하지 않을 경우 1년 1세대 이상의 세대축진이 거의 불가능하다는 단점을 가지고 있기 때문에 육종연한을 단축시킬 목적으로 약이나 소포자 배양기술을 적용하는 것이 바람직하다 (Arnison et al. 1991; Keller and Armstrong 1979; 1981; Keller et al. 1983; Mollers et al. 1994). 십자화과 식물에 있어서는 Kameya와 Hinata (1970)가 최초로 *Brassica oleracea*에서 약배양 유래 식물체를 획득하였고, Keller 등 (1975)이 *B. campestris*와 *B. napus*에서 약배양에 의한 식물체를 획득한 이후 많은 결과가 보고되었다 (Keller 1984; Keller and Armstrong 1983; 1997). 녹색꽃양배추에 있어서는 Keller와 Armstrong (1983)이 약배양을 통한 반수체를 획득한 이래 그 효율을 증진시키려는 노력이 계속되어 왔다. Arnison 등 (1990; 1991)은 녹색꽃양배추에 사이토키닌의 농도별 처리, 접종배지, 당농도 및 온도처리에 따른 배발생과 품종의 유전적 배경을 보고한 바 있으나 얻어진 반수체의 성장특성을 비교한 논문은 많지 않은 것 같다. 따라서 본 실험은 녹색꽃양배추의 약배양에 관한 제조조건을 구명하고 다양한 유전적인 특성을 가진 품종들을 대상으로 단기간에 다수의 계통을 유기하여 그 계통들이 F_1 에 비하여 어떤 유전적 변이를 나타내는지를 조사하여 F_1 육성에 적극 이용하고자 실시하였다.

재료 및 방법

실험 재료

약배양의 공시재료는 구미 및 일본에서 시판중인 중조생종으로 Green Valient, Rokguray, Haisi, Paek Man, Green Belt, Pinacle, Bacchus, 및 Sigeamori 8품종을 사용하였다. 약배양의 효율에 중요한 요인으로 거론되어 온 모식물체의 생육상태를 최대한 건전하게 생육시키기 위해 무병상태로 관리하였으며 (Yang et al. 1992) 1주당 10개 내외의 화지만 남기고 나머지 화지는 정리하였다.

약배양

배양할 시료는 오전 9시에 화지 아래의 화아가 1~2개 개화된 것을 채취하였으며 십자화과 식물의 약배양에 적합한 소포자의 발육단계로 알려진 1행기 말기에서 2행기 초기 상태 (Hamaoka et al. 1991; Keller and Armstrong 1983; Sato et al. 1989)의 것을 현미경으로 검경하여 선택하였는데 이 시기 꽃잎의 길이는 꽃받침 길이의 2/3~1/2 정도였으며 꽃봉오리 크기는 2.0~3.5 mm였다. 살균방법은 채취한 꽃봉오리를 70% 에탄올에 10초간 담근 후 멸균수로 씻어내고 크린벤치

내에서 1% sodium hypochlorite로 10분간 표면 살균 후 멸균수로 5분씩 3회 수세하였다. 살균이 끝난 시료는 화지를 멸균된 페트리디쉬 (100×15 mm)에 멸균수 20 mL를 첨가한 다음 화지 끝을 담근 후 필요할 때마다 꺼내어 사용하였다. 약의 채취는 크린벤치 내 현미경 하에서 실시하였으며 고체배지는 동일 페트리디쉬에 B5배지 (Keller and Armstrong 1983) 25 mL를, 액체배지는 60×15 mm 페트리디쉬에 15 mL를 분주하여 30개의 약을 접종하였으며 최소 10반복 이상 하였다.

온도처리는 약접종 후 35°C 항온기에 24시간 동안 암처리를 실시하였으며 그 후에는 25°C 암상태로 배양하였다. 약을 접종한 후 10일부터 1~2일 간격으로 배상체 발생유무를 관찰하였으며 유기된 배상체를 생장조절제가 첨가되지 않은 B5배지 30 mL를 분주한 100 mL 삼각플라스크에 옮겨 배양하였다. 배양은 25°C±1°C로 조절된 배양실에서 형광등 (70μmolm⁻²s⁻¹)으로 16시간 조명하면서 배양하였다.

약 유래 식물체의 순화 및 이배체 조사

정상적인 식물체로 분화된 식물체는 포장이식 일주일 전에 크린벤치 내에서 용기의 마개를 제거하고 식물체를 순화시켰다. 사용한 순화용 토로는 피트모스와 퍼얼라이트의 비율을 1:1로 혼합한 25구 연결 화분을 이용하였으며 순화상은 밀폐를 시켜 습도를 95% 이상 유지시켰고 이식 2주 동안은 50% 차광하였다. 활착된 식물체는 온실에서 직경 50 cm 화분에 정식하여 자가수분을 통하여 종자를 획득하였으며 이배체와 반수체의 구분은 초형, 엽형과 화아형태, 약의 유무에 따라 구별하여 이배체 발생정도를 조사하였다.

약 유래 계통의 포장특성 검정

약유래 계통의 포장특성 검정은 'Rokguray'와 'Haisi' 두 품종의 약유래 계통에서 획득한 품종당 각각 94계통과 126계통을 파종하여 특성조사에 이용하였다. 파종은 7월 10일에 25구 연결 화분에 파종을 실시하였으며 파종 후 25일간 육묘한 후 8월 5일에 정식하였다. 포장의 시비량은 10a당 퇴비 3000 kg, 고토석회 200 kg, 붓사 1.5 kg과 N-P-K를 10-20-8 kg을 사용하였다. 정식은 계통당 16주씩 2줄로 60×45 cm 간격으로 재식하였으며, 추비는 활착 후 2주 간격으로 2회 실시하였는데, 10a당 성분량으로 N=10 kg, K=8 kg을 사용하였다. 조사 및 수확은 10월 하순에서 11월 중순경까지 실시하였다. 실험에서 사용한 조사기준과 방법은 아래와 같다.

숙기: 파종에서부터 수확 적기에 도달한 화뢰 수확까지의 일수. 초장: 수확 적기의 지저부에서 화뢰고까지의 길이. 엽수: 수확 적기의 길이가 5 cm 이상인 엽의 수. 측지수: 수확 적기의 길이가 2 cm 이상인 측지의 수. 화뢰폭: 수확 적기의 화뢰의 최대길이

결과 및 고찰

약배양으로부터 배발생에 미치는 재요인

배상체 발생에 가장 큰 영향을 미치는 배지 내 성장조절물질의 첨가 효과를 조사하기 위하여 B5 배지에 NAA, 2,4-D, BA를 혼합하여 실험한 결과 2,4-D 0.1 + NAA 0.1 mg/L의 조합에서 가장 우수하였다 (Table 1). 이러한 결과는 십자화과 작물에서 약배양에 많이 이용되는 배지와 일치하는 경향이 있었다 (Keller and Armstrong 1979; Keller et al. 1975; Woo 1993).

고체와 액체 배지간의 배상체 발생률은 공시한 Marimo 85, Green Valient, Masar 3품종 공히 고체배지보다 액체배지에서 배상체 발생률이 높았다 (Table 2). 또한 고체배지의 경우 약당 유기된 배상체 수는 5개 내외로 나타났으나, 액체배지의 경우 10개 내외로 한 개의 약에서 다수의 배상체가 유기되었다. 이와 같이 배지의 물리성 차이가 배발생률에 미치는 영향에 관해서는 정확히 구명된 바는 없으나 배지의 삼투압, 양분이나 수분 흡수의 용이성 등에 영향을 받음으로써 차이가 발생하는 것으로 알려져 있다 (Takahata and Keller

1991; Yang et al. 1992).

약배양 전이나 후에 약에 온도처리를 하면 배상체 유기율을 높일 수 있다고 알려져 있는데 (Fabijansk et al. 1991; Hamaoka et al. 1991; Kim 1999) 대부분의 Brassica속에선 저온처리의 효과가 없다고 보고되어 왔다 (Keller and Armstrong 1979). 따라서 약을 접종한 직후 고온처리 및 일수가 배상체 발생에 미치는 효과를 조사하였다 (Table 3). 35 °C에서 1일간 고온처리의 효과는 8.5%의 높은 배상체 발생률을 보였으며 처리 일수가 증가 할수록 배상체 발생률은 현저하게 저하되었다. 이와 같은 결과는 타 연구자 (Arnison et al. 1990; Keller and Armstrong 1983)의 녹색 꽃양배추 약배양 실험에서도 보고된 바 있다.

품종간 배상체 발생률의 차이를 알아보기 위해 Green Valient 의 7품종에 대해 약배양을 실시한 결과 배상체 발생률은 3~21%로 다양한 반응을 보였다 (Table 4).

약 1개당 배상체의 형성수에서도 배상체 발생률이 높은 품종이 낮은 품종보다 2~3배 정도 많이 유기되었다. 이러한 결과는 고추, 배추, 무우, 꽃양배추 등의 약배양 시험에서 품종간의 배상체 유기율의 차이가 있다는 보고와 일치하였다 (Arnison et al. 1990; Keller and Armstrong 1979; Lee 1994;

Table 1. Effect of plant growth regulators on embryogenesis in anther culture of *Brassica oleracea* var. *italica* 'Green Belt' after 4 weeks in culture.

Growth regulator (mg/L)	No. of anthers inoculated (A)	No. of anthers responded (B)	Embryogenesis (%; B/A)
2,4-D 0.1+NAA0.1	455	12	2.6
2,4-D 1.0+NAA0.1	300	4	1.4
2,4-D 0.1+BA 1.0	300	5	1.9
NAA 0.1+BA 1.0	300	3	1.2

Table 2. Effect of physical properties of medium and cultivars on embryogenesis in anther culture of *Brassica oleracea* var. *italica* after 4 weeks in culture.

Cultivar	Solid Medium			Liquid Medium		
	No. of anthers inoculated	No. of anthers responded	Embryogenesis (%)	No. of anthers inoculated	No. of anthers responded	Embryogenesis (%)
Marimo 85	570	5	0.88	760	8	1.1
Green Valient	450	3	0.67	820	43	5.2
Masar	340	3	0.88	570	42	7.4

Table 3. Effect of temperature and duration of heat treatment on microspore embryogenesis in anther culture of *Brassica oleracea* var. *italica* 'Green Valient' after 4 weeks in culture.

Temperature (°C)	Duration (day)	No. of anthers inoculated	No. of anthers responde	Embryogenesis (%)
35	1	600	51	8.5
	2	600	19	3.2
	3	600	6	1.0
35 + 30	1 + 1	600	27	4.5

Table 4. Genotypic difference of microspore embryogenesis in anther culture of *Brassica oleracea* var. *italica* after 4 weeks in culture.

Cultivar	No. of anthers inoculated	No. of anthers responded	Embryogenesis (%)
Green Valient	1380	30	2.8
Rokguray	2530	520	20.6
Haisi	2280	480	21.0
Pack Man	2400	170	7.1
Green Belt	2310	300	13.0
Pinacle	3630	90	3.0
Bacchus	3420	500	15.0
Sigeamori	1140	110	10.0

Table 5. Ploidy level of plantlets derived from anther culture of *Brassica oleracea* var. *italica* as affected by cultivars after 4 months in field.

Cultivar	No. of plantlets planted	Ploidy level		Diploid (%)
		Haploid	Diploid	
Green valient	62	17	45	72
Rokguray	957	287	670	70
Haisi	828	315	513	62
Pack Man	282	90	192	68
Green Belt	1160	302	858	74
Pinacle	380	144	236	62
Bacchus	1050	367	683	65
Sigeamori	1030	309	721	70

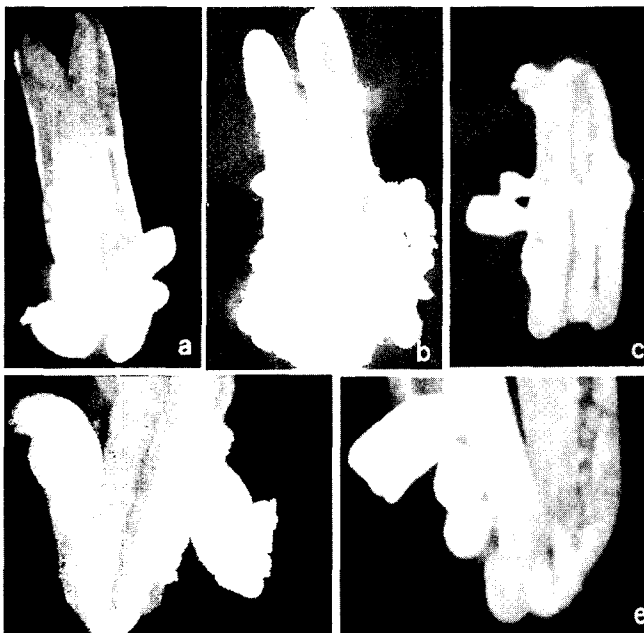


Figure 1. Genotypic differences on embryogenesis in anther culture of broccoli after 4 weeks in culture. (a) 'Green Belt'; (b) 'Bacchus'; (c) 'Rokguray'; (d) 'Sigeamori'; (e) 'Haisi'.

Phippen and OcKendon 1990).

배형성 양상에 있어서도 품종별 차이를 나타내었는데 주로 약의 기부나 중간 부위에서 캘러스 과정을 거치지 않고 직접

배가 형성되는 것이 일반적이었으나 (Figure 1a,1c,1d,1e), Bacchus 품종에서는 소포자 유래의 캘러스가 다수 형성된 다음 배가 형성되거나 직접 배가 형성되는 2가지를 동시에 관찰할 수 있었다 (Figure 1b). 일반적으로 약배양 효율이 낮은 품종은 다량의 약을 배양한 다음 한 품종당 300계통 내외로 획득하여 특성과 유전적인 변이를 조사한 후 우수계통들을 선발하여 품종육성의 소재로 이용하고 있다.

이배체 발생빈도

형성된 배상체를 식물체 분화배지인 B5 배지의 당 농도를 3%로 낮추고 식물생장조절물질을 첨가하지 않은 고체배지에 옮긴 결과 정상적인 식물체와 비정상적인 식물체로 분화되었는데, 비정상적인 식물체도 NAA 0.02 mg/L와 BA 1.0 mg/L 가 첨가된 배지에 계대배양하였을 때 정상적인 식물체로 발달하였다 (결과 미제시). 이들 기내 생산 식물체를 배양용토를 달린 배지에 재식하고 순화율을 조사해 본 결과 배지의 종류에 따라 생존률과 순화에 소요되는 기간에는 상당한 차이가 있었다 (결과 미제시). 피이트모스와 퍼얼라이트를 1:1로 혼합한 배양토에서 순화율이 90% 이상 달하였고 순화에 소요되는 기간은 1주일로 타 배양용토에 비해 가장 짧았다. 이들 순화 식물체를 1개월 이상 포장재배 하였을 경우 개체간 뚜렷한 성장차이를 보였다.

생장이 왕성하고 건전한 것은 배양과정 중 2배체로 전환된

Table 6. Characteristics of anther derived A1 generation lines of *Brassica oleracea* var. *italica* 'Rokguray' and 'Haisi'.

Number of lines	Maturity (day)	Plant height (cm)	No. of leaves	No. of lateral buds	Head diameter (cm)
Rokguray F1	117	29.0	16.2	9.0	9.9
Anther drived lines					
NY-5	95	34.5	13.7	12.0	9.8
NY-26	117	22.3	16.3	5.0	8.0
NY-65	117	22.5	16.0	2.0	7.0
NY-82	106	31.0	15.6	8.0	9.6
NY-90	130	31.0	17.3	6.6	6.1
Haisi F1	106	31.6	15.2	7.8	10.2
Anther drived lines					
Hi-10	95	27.5	13.8	1.3	12.5
Hi-15	111	32.3	18.0	7.7	10.7
Hi-29	95	39.3	16.0	8.0	13.2
Hi-45	111	31.8	13.3	8.3	10.0
Hi-60	124	30.0	14.0	7.0	7.9
Hi-105	111	32.2	16.3	8.7	11.0
Hi-108	100	28.7	14.0	7.0	9.4

개체로 간주되었으며, 생장이 매우 느리고 연약하게 자라는 개체는 반수체로 판단되었다. 실제로 십자화과의 약 유래 식물체의 배수성 검정은 개체별로 현미경 하에서 엽색체를 검경하거나 공변세포의 크기, 공변세포 내의 엽록체수를 조사하여 배수성을 판별하는 기준으로 사용되고 있으며 실제 상업적으로 이용시에는 시간과 노력이 많이 필요하다. 본 실험에서는 배수성의 판별기준으로 식물체의 초형, 엽형, 화아의 크기, 화분의 개약 유무 등 육안 관찰에 의해 배수성을 조사한 결과 이배체율이 품종에 따라 조금씩 차이가 있었으나 평균 62~74%에 달하였는데 (Table 5) 이는 배추의 경우 약 유래 식물체 중 40~60%가 이배체였다고 보고한 결과보다 훨씬 높게 나타났다 (Keller and Armstrong 1979). 그 이유로는 반수체의 경우 순화시 생육이 부진하고 초세가 약한 관계로 고사수가 증가하였기 때문이라 생각된다. 한편 이들 식물체를 포장에서 계속 재배한 후 개화기 때 자가수분을 하여 보면 이배체에서는 수정이 되어 씨꼬투리가 형성되나 (Figure 2a, 2b의 2n) 반수체인 경우에는 꽃봉오리 자체가 개화하지도 않을 뿐 아니라 인위적으로 열게 했을 때 약내 화분 형성도 되지 않아 반수체임을 확인할 수 있었다 (Figure 2a, 2b의 n).

약유래 계통의 포장특성 검정

조생종이며 초장이 크고 화퇴의 지름이 큰 하이시와 중생종이며 초장이 작고 측지수가 많은 녹영 두 품종의 약배양을 통하여 유기된 하이시 126계통 녹영 94계통에 대한 숙기, 초장, 엽수, 측지수, 화퇴의 지름에 대하여 F₁과 유전적인 변이를 비교하였다 (Table 6). 하이시와 녹영의 특성별 상호비교는 공식계통의 숫자가 달라서 100분율로 환산한 수치로 나타내었다.

숙기의 경우 조생종인 하이시는 약유래 계통들이 F₁에 비

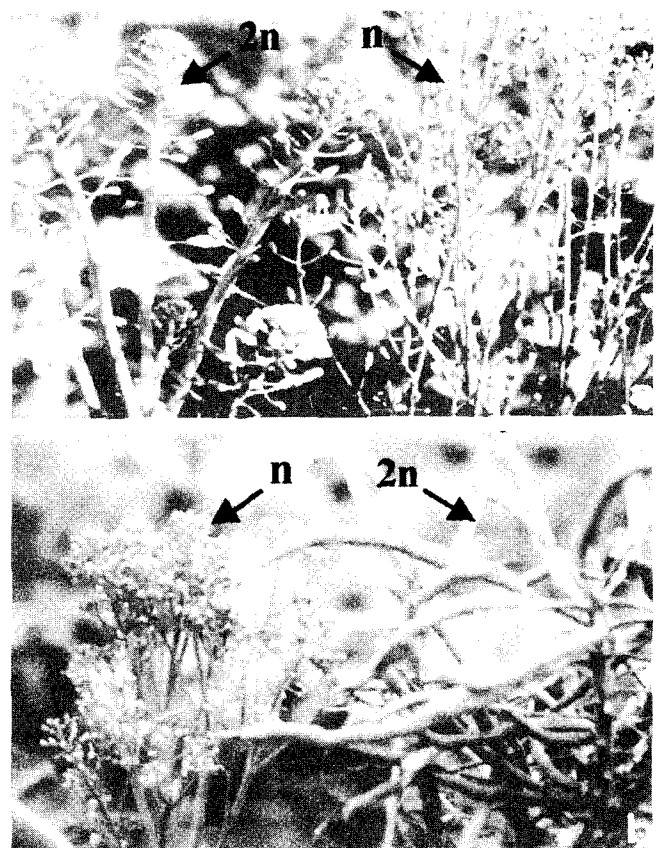


Figure 2. Distinction between haploid and diploid plants derived from anther culture of broccoli. (a) 'Rokguray'; (b) 'Haisi'. Note silique development (2n) by self pollination in diploid and unopened flower bud (n) in haploid.

해 중생종의 빈도가 높으며 중생종인 녹영은 F₁에 비해 조생종, 중생종, 만생종으로 거의 비슷한 빈도를 나타냈으나 조생종에 가까운 경향을 보였다 (Figure 3). 이는 조생종인 하이시

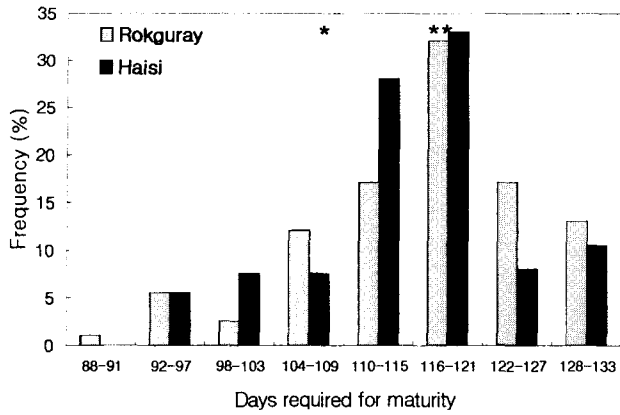


Figure 3. Variation in maturity of *Brassica oleracea* var. *italica* 'Rokguray' and 'Haisi', generation lines in the field. *: Haisi F₁ hybrid, **: Rokguray F₁ hybrid.

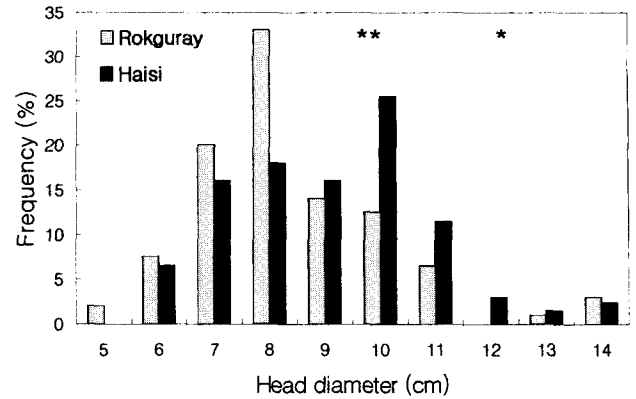


Figure 3. Variation in head diameter of *Brassica oleracea* var. *italica* 'Rokguray' and 'Haisi', generation lines in the field. *: Haisi F₁ hybrid, **: Rokguray F₁ hybrid.

는 조생과 중생의 조합인 듯하며 중생종인 녹영은 조생과 만생간의 F₁인 것으로 생각되었다. 초장은 두 품종 공히 변이의 폭이 매우 크게 나타났으며 소수의 계통들은 F₁에 비해 2배 정도 초장이 긴 계통들도 있었으나 대부분의 계통들은 F₁에 비하여 초장이 짧은 쪽으로 표현되었다 (결과 미제시). 이로 보아 초장에 있어서는 앞으로 다양한 크기의 육성이 가능할 것으로 보여진다. 엽수에 대한 약유래 계통의 표현 빈도를 조사한 결과 조생종인 하이시가 중생종인 녹영에 비하여 평균 1배 정도 적게 나타났으며 두 품종의 약유래 계통들은 하이시의 경우 엽수가 적은 쪽으로 치우치는 경향을 보였으나 녹영은 F₁에 대해 정규분포곡선을 나타냈다 (결과 미제시). 측지수에서는 두 품종 공히 변이의 폭이 매우 크게 나타났으며 품종간에는 다소 차이를 보였다. 하이시는 F₁보다 약유래 계통들의 측지수가 더 많은 8개 정도의 발생 빈도를 보였으며, 녹영은 F₁에 비하여 측지수가 적은 쪽으로 치우치는 경향이 있으나 측지가 없거나 2개 정도인 계통의 빈도가 높게 나타났다 (결과 미제시) 화퇴의 지름을 조사한 결과 두 품종 공히 F₁에 비하여 화퇴가 작은 쪽으로 변이의 빈도를 보였으며 하이시는 8~9 cm의 빈도가 높았으며, 녹영은 6~7 cm의 빈도가 높게 나타났다 (Figure 4)

이와 같이 포장특성 조사를 실시하여 육성 목적에 부합되는 계통들을 선발하였으며, 선발 계통수는 하이시의 126계통 중 7계통, 녹영 94계통 중 5계통을 선발하였다. 선발계통 중 Hi-29는 F₁에 비해 조생종이며 초장이 길고 화퇴의 지름이 큰 것이 특징이며 Hi-60은 중만생종이고 화퇴 지름과 크기가 작은 계통을 선발하였다. NY-5는 조생종이며 초장이 크고 MY-90은 중만생종이고 화퇴 지름이 작으며 치밀한 특징을 가지고 있었다. 이상 약유래 계통의 유전적 변이와 특성으로 미루어 보아 약배양을 통해 다양한 소재를 단기간에 창출할 수 있으며, 육성 목적에 부합되는 계통들도 선발하여 육성에 이용할 수 있었다.

적 요

녹색꽃양배추의 약배양에 영향을 미치는 제 조건을 규명하고 다양한 유전적인 특성을 가진 품종들을 대상으로 다수의 계통을 유기하여 신품종 육성 소재로 이용하고자 실험한 결과는 다음과 같다. 배지시험 결과 B5 배지에 NAA 0.1 mg/L + 2,4-D 0.1 mg/L + 당 10% 처리구에서 배상체 발생율이 가장 높았으며 액체배지가 고체배지보다 5배 정도 배발생에 효과적이었다. 약접종 직후 35°C 고온처리 일수에 따른 시험에서는 1일처리가 가장 효과적이었으며 시일이 경과할수록 배상체 발생율이 현저히 저하되었다. 품종간 배상체 유기율은 Green Valient 2.8% 에서 Haisi의 21%까지 차이가 심하였으나 이배체율은 62~74%로 품종간 큰 차이를 나타내지 않았다. Rokguray와 Haisi 두 품종 약유래 계통의 포장특성 검정 결과 초장, 엽수, 측지수, 화퇴의 지름은 다양한 변이를 보였으며 두 품종에서 유기된 계통들 중 조숙이며 초장이 크고 화퇴의 지름이 큰 계통과 중만생이며 엽수가 많고 화퇴의 지름이 작은 계통을 각각 5계통, 7계통을 선발하여 F₁육성 소재로 이용하였다.

인용문헌

Amison 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 Tiss Org Cult* 20:217-222

Arnsion PG, Donaldson P, Hoh LCC, Keller WA (1990) The influence of various physical parameters of anther culture of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Plant Cell Tiss Org Cult* 20:147-155

Dunsell JM (1985) Pollen, ovule and embryo culture as tools in plant

- breeding, In : Wihers LA , Alderson PG (eds), Plant tissue culture and its agricultural applications. Butterworths, pp 375-404
- Fabjanski SF, Altosaar I, Arnison PG** (1991) Heat shock response during anther culture of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). Plant Cell Tiss Org Cult **26**:203-212
- Hamaoka Y, Fujita Y, Iwai S** (1991) Effects of temperature on the mode of pollen development in anther culture of *Brassica campestris*. Physiol Plant **82**:67-72
- Kameya T, Hinata K** (1970) Induction of haploid plants from pollen grains of *Brassica*. Jap J Breed **20**:82-87
- Keller WA** (1984) Anther culture of *Brassica*, In : Vasil IK (ed), Cell culture and somatic cell genetics of plants, Vol 1. Academic Press New York, pp 302-309
- Keller WA, Armstrong KC** (1997) Embryogenesis and plant regeneration in *Brassica napus* anther cultures. Can J Bot **55**:1383-1388
- 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, Amstong KC** (1979) Stimulation of embryogenesis and haploid production in *Brassica campestris* anther cultures by elevated temperature treatments. Theor Appl Genet **55**:65-67
- Keller WA, Armstrong KC** (1981) Production of anther-derived dihaploid plants in autotetraploid marrowstem kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*). Can J Genet Cytol **23**:259-265
- Keller WA, Armstrong KC** (1983) Production of haploids via anther culture in *Brassica oleracea* var. *italica*. Euphytica **32**:151-159
- Keller WA, Armstrong KE, de la Roche AI** (1983) The production and utilization of microspore-derived haploids in *Brassica* crops. In : Sen SK and Giles KL (eds), Plenum press New York, pp 169-184
- Kim M Z** (1999) Influence of temperature pretreatment on the production of microspore embryo in anther culture of *Capsicum annuum* L. Kor J Plant Tiss Cult **26**(2):71-76
- Lee G S** (1994) Factors affecting efficiency of anther culture and anther - derived F₁ hybrid breeding in Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). Ph. D Thesis, Seoul City Univ
- Lee SS, Nam SC** (1995) Microspore culture of broccoli. J Kor Soc Hort Sci **36**(5):635-640
- Mollers C, Iqbal MCM, Robbelen G** (1994) Efficient production of doubled haploid *Brassica napus* plant by colchicine treatment of microspore. Euphytica **75**:95-104
- Phippen C, Ockendon DJ** (1990) Genotype, plant, bud size and media factors affecting anther culture of cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). Theor Appl Genet **79**:33-38
- Sato T, Nishio T, Herai M** (1989) Varietal differences in embryogenic ability in anther culture of Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*). Jap J Breed **39**:149-157
- Takahata Y, Keller WA** (1991) High frequency embryogenesis and plant regeneration in isolated microspore culture of *Brassica oleracea* L. var. *italica*. Plant Sci **74**:235-242
- Yang Q, Chauvin JE, Herve Y** (1992) A study of factors affecting anther culture of cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). Plant Cell Tiss Org Cult **28**:289-296
- Woo J G** (1993) Studies on the Factor affecting efficiency of anther culture and phenotypic characteristics in anther - derived progeny in chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*). Ph. D Thesis, Seoul Nat'l Univ

(접수일자 1999년 6월 10일)