

벼의 약 부유배양에서 캘러스 유도 및 식물체 분화에 미치는 생장조절제와 항산화제의 영향

이승엽* · 이재길¹ · 권태오
원광대학교 · 호남농업시험장¹

Effect of Growth Regulators and Antioxidant Mixture on the Anther Floating Cultures of Rice

LEE, Seung-Yeob* · LEE, Jae-Kil¹ · KWON, Tai-Oh

Division of Plant Resources Science, Wonkwang University, Iksan, 570-749, Korea,

¹ National Honam Agricultural Experiment Station, RDA, Iksan, 570-080, Korea,

ABSTRACT To investigate the effect of growth regulators and antioxidant in anther floating cultures of rice, anthers were cultured in liquid media supplemented with different growth regulators, and the effect of antioxidant mixture (Sigrna Chemical Co.) on callus induction and plant regeneration were investigated. N6 medium with 1 mg/L 2,4-D and 1 mg/L kinetin was the best for rice anther floating cultures, which showed 48.5% of callus induction and 6.8% of green plant regeneration. The callus induction was not affected by antioxidant mixture in liquid medium, and antioxidant mixture (250 mg/L) was effective for the reduction of brownish callus and improvement of plant regeneration. Antioxidant mixture showed better effectiveness when it was supplemented to both media for callus induction and plant regeneration.

Key word : Callus induction, brownish callus, liquid medium, plant regeneration

서 론

고등 식물의 약배양은 어린 약을 배양하여 소포자 유래의 산수체를 분화시켜 염색체를 배가시키거나 배양중 자연배가된 2배체를 획득하는 기술로, 주로 자식성 작물의 육종기간을 단축하기 위한 목적으로 이용되고 있다. 벼의 약배양은 육종기간 단축을 목적으로 배양시기, 모식물의 생리적 상태, 전처리 배지종류, 첨가물 등에 관한 많은 연구가 이루어져 왔다 (Chu et al. 1975; Lee et al. 1988a, 1988b; Tsay and Chen 1984). 약을 배양하는 방법도 다양하여 고체배지에 배양하는

방법 (Lee et al. 1995), 약이나 이삭을 액체배지에 배양하는 방법 (Kang et al. 1999; Kim and Raghavan 1988), filter paper bridge를 이용하는 방법 (Zapata et al. 1983) 등이 있으며, 약으로부터 소포자를 분리하여 배양하기도 한다 (Xie et al. 1995). 이중 약배양 효율면에서 보면 고체배지에 배양하는 것이 식물체 분화효율이 높고 간편하여 육종적으로 가장 많이 이용되고 있으며, 나출 소포자 배양은 화사나 약벽으로부터 2n성 체세포 유래의 캘러스 형성을 회피할 목적으로 이용되었으나, 약으로부터 소포자를 분리배양하는 과정이 복잡하고 식물체 분화효율이 낮기 때문에 널리 이용되고 있지는 않다. 벼에서도 비교적 화사나 약벽 유래의 캘러스 발달이 많지 않고, 육종적으로 실용화 하기에는 배양방법이나 과정이 복잡하여 특별한 목적외에는 잘 이용되지 않고 있다. 이러한 배양작업을 간편화하기 위하여 이삭 배양법 (Kim and

Corresponding author. Tel 063-850-6665

E-mail sylee@wonms.wonkwang.ac.kr

Raghavan 1988; Toriyama and Hinata 1985)이나 1단계 배양법 (Moon et al. 1991; Zhou et al. 1996) 등이 이용되기도 한다. 벼의 약부유배양법도 액체배지를 이용하기 때문에 배양 중 오염발생이 많고, 캘러스로부터 식물체 분화력이 고체배지에서 유도된 캘러스에 비하여 현저히 낮기 때문에 이용에 어려움이 있다 (Shon et al. 1987; Tasy and Chen 1984; Zapata et al. 1983). 그러나 식물에 따라서는 고체배지보다 액체배지에서 배양효율이 증가하는 경우도 있는데, 이는 배지내 영양물질의 흡수가 용이하고 약벽이나 한천의 유해물질이 액체배지에 쉽게 확산되기 때문인 것으로 보인다 (Wernicke and Kohlenbach 1976; Zhou and Konzak 1989). 이러한 점에서 액체배지내 성장조정제의 조성과 농도, sucrose 함량을 고체배지와는 다르게 조절하므로써 액체배지의 배양효율을 높일 수 있다고 본다 (Kobayashi et al. 1992; Xie et al. 1995). 만일 액체배지를 이용한 배양효율을 높일 수 있다면, 벼의 약부유배양에서 소포자 유래의 반수성 세포집단은 ethyl methan sulfonic acid와 같은 돌연변이 유기원의 처리가 용이하기 때문에, 유용 변이체 선발을 위한 기내 돌연변이 유기 연구에 편리하게 이용될 수 있다.

따라서 본 연구는 액체배지를 이용한 벼의 약 부유배양에서 캘러스 유도 증대를 위한 성장조절물질의 영향과 유도된 캘러스로부터 식물체 분화율을 향상시키기 위하여 배지내 항산화제의 첨가효과를 조사하였다.

재료 및 방법

배양재료의 전처리와 배양조건

배양재료는 자포니카인 계화5호를 공시하였다. 수잉기에 이삭선단이 지엽엽이의 -1 cm까지 자란 이삭을 줄기채로 채취하여 잎을 1/2 길이로 절단한 다음, 50 mL의 증류수를 넣은 유리병에 넣고 비닐 (10×60 cm)로 밀봉하여 10°C 저온항온기에서 10일간 전처리하였다. 저온처리한 이삭으로부터 1핵성 소포자기의 지경을 절취하여 75% 에틸알콜에 30초간 표면살균 후 수분이 완전히 마를 때까지 건조시켜 멸균샤레에서 영의 기부를 잘라 약을 털어 모은 다음, 샤레 (ø 6.5 × 1.5 cm)에 100약씩 치상하였다. 캘러스 유도는 약이 부유된 정치상태로 25°C에서 암배양하였으며, 배양 30일부터 10일 간격으로 3회에 걸쳐 ø 3 mm이상의 캘러스를 식물체 분화배지에 옮겨 주었다. 식물체 분화는 25°C로 2,000 lux, 16시간 일장으로 명배양하였다.

성장조절제의 영향

약 부유배양을 위한 적정 배지선정을 위하여 약을 table 1과 같이 성장조절물질을 달리한 5종류의 N6 (Chu et al.

Table 1. Media containing different growth regulators for callus induction in anther floating cultures of rice.

Media	Growth regulators
CM1	N6 + 2 mg/L NAA
CM2	N6 + 2 mg/L 2,4-D
CM3	N6 + 1 mg/L NAA + 1 mg/L kinetin
CM4	N6 + 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L kinetin
CM5	N6 + 1 mg/L NAA + 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L kinetin

1975) 액체배지에 치상하였다. 배지의 pH는 별균전 5.8로 조절하였으며, 샤레당 4 mL를 분주하였다. 식물체 분화 배지는 N6배지에 1 mg/L NAA 와 2 mg/L kinetin을 첨가한 1.2% agar 배지를 이용하였다. 배양후 60일까지 분화배지에 옮긴 캘러스 수와 식물체 분화 수를 조사하였다.

항산화제의 영향

약 부유배양에 미치는 항산화제의 영향을 조사하기 위하여, 캘러스 유도는 1 mg/L 2,4-D 와 1 mg/L kinetin 을 첨가한 N6 액체배지에 0, 150, 250, 350 mg/L의 antioxidant mixture (Sigma Chemical Co.)를 첨가하였고, 식물체 분화배지는 1 mg/L NAA와 2 mg/L kinetin을 첨가한 1.2% Agar 배지에 0, 250 mg/L antioxidant mixture를 각각 첨가하였다. 약의 배양은 앞의 실험과 동일하였으며, 배양후 60일까지의 캘러스 형성수와 식물체 분화배지에서 갈변고사하는 캘러스 수 및 식물체 분화수를 조사하였다.

결 과

성장조절물질의 영향

벼의 약 부유배양에서 캘러스 형성율 및 식물체 분화율을 증대시키기 위하여, NAA, 2,4-D, kinetin 함량을 달리한 5종의 N6액체배지에 계화5호의 약을 배양한 결과는 table 2와 같다. 캘러스 형성율은 1 mg/L 2,4-D, 1 mg/L kinetin을 첨가한 CM4배지에서 48.5%로 가장 높았으며, CM5배지에서도 34.4%로 유의하게 증가하였다. 식물체 분화율도 L4배지 유래의 캘러스로부터 녹색체 분화율 6.8%로 가장 높았으며, CM5배지에서 3.8%를 보였을 뿐, 다른 배지에서는 2% 미만의 낮은 녹색체 분화를 보였다. 약 부유배양에 의하여 유도된 캘러스로부터 식물체의 분화는 캘러스의 갈변이 심하고, 활력이 쉽게 쇠퇴하기 때문에 식물체 분화율이 현저히 저하되는 경향을 보였는데, 식물체 분화배지에 옮긴 캘러스의 활력은 NAA첨가배지에서 보다 2,4-D 첨가배지에서 높았으며,

Table 2. Effect of different growth regulators on callus induction and plant regeneration in anther floating cultures of Japonica rice, Gychwa 5.

Media ¹⁾	No. of anthers inoculated	No. of calli induced (%)	No. of plants regenerated (%)		
			Green	Albino	Total
CM1	400	83 (20.8)c	8 (2.0)b	6 (1.5)a	14 (3.5)b
CM2	500	107 (21.4)c	10 (2.0)b	12 (2.4)a	22 (4.4)b
CM3	300	38 (12.7)c	3 (1.0)b	1 (0.3)a	5 (1.3)b
CM4	400	194 (48.5)a	27 (6.8)a	9 (2.3)a	36 (9.0)a
CM5	500	172 (34.4)b	19 (3.8)ab	5 (1.0)a	24 (4.8)b

Plant regeneration medium: N6 + 1 mg/L NAA + 2 mg/L kinetin, values within a column followed by the same letter are not significantly different using Duncan's multiple range test, $p=0.05$.

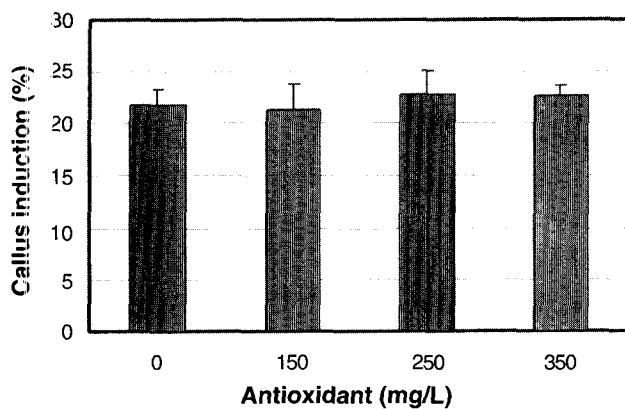


Figure 1. Effect of antioxidant agent on callus induction in the anther floating cultures of rice. Basal medium: N6 + 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L kinetin + antioxidant mixture (Sigma Chemical Co.).

kinetin의 첨가는 무첨가 배지에서보다 캘러스의 갈변화를 지연시켜 주었다. 따라서 약의 부유배양에 의한 캘러스의 대량 획득을 위하여는 1mg/L 2,4-D, 1mg/L kinetin을 첨가한 CM4배지가 좋았다.

산화방지제의 영향

약 부유배양에 의하여 유도된 캘러스로부터 식물체 분화율을 향상시키기 위하여 캘러스 유도배지 및 식물체 분화배지에 항산화제를 첨가하여 약을 배양한 결과는 figure 1 및 table 3과 같다. 캘러스 유도배지에서 항산화제 첨가농도에 따른 캘러스 형성율은 18.9~22.9%로 유의한 차이를 보이지 않았다. 따라서 항산화제의 첨가는 캘러스 형성에는 영향을 주지 않는 것으로 나타났다 (Figure. 1). 유도된 캘러스를 식물체 분화배지에 이식 후 7일 이내에 갈변하는 캘러스 수와 분화 식물체 수를 조사한 결과, 식물체 분화배지에 옮긴 직후부터 갈변하기 시작하는 캘러스들이 많았으며, 7일경 부터는 활력이 약한 캘러스들은 고사되었다. 이러한 갈변 캘러스의 발생 비율은 대조구보다 항산화제 첨가배지에서 유의하게 감소하였으며, 항산화제의 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였으나, 처리간에 유의성은 없었다. 항산화제를 캘러스 유도배지와 식물체 분화배지에 모두 첨가한 배지에서 갈변 캘러스의 발생이 감소하였으며, 캘러스 유도배지에만 첨가한 경우에는 농도에 관계없이 비슷한 경향을 보였다. 식물체 분화배지에만 첨가한 경우에는 무처리에 비하여 처리효과가 크지 않았다. 특히 녹색체 분화율이 무처리에 비하여 유의하게 증가하였다. 항산화제를 캘러스 유도배지와 식물체 분화배지에 모두 첨가한 배지에서 녹색체와 백색체 분화능이 증대되어, 총 식물체 분화율은 150~250 mg/L 항산화제를 캘러스 유도배지와 식물체 분화배지에 모두 첨가하는 것이 단독처리보다

Table 3. Effect of antioxidant agent on the callus induction and plant regeneration in the anther floating cultures of rice.

Antioxidant (mg/L) ¹⁾		No. of calli transferred	No. of calli browned (%)	No. of plants regeneration (%)		
CM	RM			Green	Albino	Total
0	0	208	109 (52.4)a	35 (16.8)c	25 (12.0)bc	60 (28.8)f
	250	174	79 (45.4)ab	34 (19.5)bc	18 (10.3)c	52 (29.9)ef
150	0	158	66 (41.8)bc	31 (19.6)bc	22 (13.9)abc	53 (33.5)def
	250	163	54 (35.0)cd	38 (23.3)ab	27 (16.6)ab	65 (39.9)abc
250	0	197	80 (40.6)bc	46 (23.4)ab	23 (11.7)bc	69 (35.0)cde
	250	168	57 (33.9)cd	41 (24.4)ab	31 (18.5)a	72 (42.9)a
350	0	143	56 (39.2)bcd	34 (23.1)ab	18 (12.6)bc	52 (36.4)bcd
	250	156	49 (31.4)d	40 (25.6)a	25 (16.0)abc	65 (41.7)ab

¹⁾ Antioxidant mixture (Sigma Chemical Co.) was added to callus induction medium (CM) and plant regeneration medium (RM), CM: N6 + 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L kinetin; RM: N6 + 1 mg/L NAA + 2 mg/L kinetin. Values within a column followed by the same letter are not significantly different using Duncan's multiple range test, $p=0.05$.

유의한 증가를 보였으며, 단독처리의 경우 식물체 분화배지보다 캘러스 유도배지에 첨가하는 것이 더 효과적이었다. 따라서 약 부유배양시 항산화제의 처리는 캘러스 유도배지와 식물체 분화배지에 모두 첨가하는 것이 총 식물체 분화에 효과적이었으며, 처리농도는 250mg/L 가 가장 좋았다.

고 찰

벼 반수성 세포를 이용한 기내선발은 고체배지보다 액체배지를 이용하는 것이 선발형질의 균일성과 안정성을 높이는 데 효과적이다. 그러나 작물에 따라 액체배지에서의 약이나 화분배양 효율이 낮아서 배양효율을 증대시키기 위한 배지선정 및 배양체계 확립이 필요하다. 벼의 약배양은 배양과정을 간편화하기 위하여 이삭배양법 (Toriyama and Hinata 1985; Kim and Raghavan 1988)이나 1단계 배양법 (Moon et al. 1991; Zhou et al. 1996) 등이 이용되기도 하는데, 소포자 유래의 반수성 캘러스를 얻기 위하여 약을 부유배양하기도 한다. 이들 벼의 약을 액체배지에 배양하여 유도된 캘러스는 식물체 분화를 위한 고체배지로 계대배양하였을 경우, 여러 가지 원인으로 식물체 분화율이 감소하는 것으로 알려졌다 (Kang et al. 1999; Shon et al. 1987; Tsay and Chen 1984). 특히 식물체 분화능은 액체배지에 첨가하는 생장조절제의 영향이 큰데, Xie 등 (1995)은 1 mg/L 2,4-D나 NAA를 1 mg/L kinetin 또는 BAP와 혼합한 배지에서 캘러스 형성율이 높고, 유도된 캘러스의 활력이 높아 식물체 분화율도 증가한다고 하여 본 실험 결과와 유사하였다 (Table 2). Shon 등 (1987)은 NAA와 kinetin 혼합배지가 2,4-D 단독배지보다 높다고 하였으나, Tsay와 Chen (1984)은 NAA와 kinetin 혼합배지에서 캘러스의 갈변이 심하다고 하였는데, 본 실험에서도 NAA와 kinetin 혼합배지에서 캘러스 형성율이 가장 낮았으며, 캘러스의 갈변이 심하여 식물체 분화율도 가장 낮았다. 고체배지를 이용한 약배양에서도 캘러스 형성 및 식물체 분화에 auxin과 cytokinin의 혼합배지가 유리한 경우 (Rout and Sarma 1991), auxin 단독배지가 유리한 경우 (Lee and Lee 1995) 등 연구자에 따라 결과가 상이한데, 이는 품종에 따라 약배양 반응이 다르며 (Kang et al. 1999; Choi et al. 1986; Lee et al. 1988b; Miah et al. 1985), 동일품종이라도 모식물의 생육환경이나 배양조건에 따라 반응이 다르기 때문으로 생각된다 (Lee et al. 1988a, 1988b). 또한 캘러스 유도배지내 생장조절제의 조성에 따라 캘러스 활력이 다른 것으로 보아 식물체 분화능은 캘러스 배지에 첨가하는 생장조절제의 구성과 밀접한 관계를 갖고 있다는 것을 의미하는데, Jin 등 (1992)은 벼 체세포의 현탁배양에서도 2,4-D와 cytokinin의 혼합배지가 체세포 배발생에 중요하다고 하였다. 특히 액체배지에서 유도된 캘러스를 식물체 분화배지에 옮길 경우, 캘러스의 갈변화에 따른 활력저하는 식물체 분화에 큰 영향을

미치는데, Kang 등 (1999)은 이 과정에서 캘러스가 삼투압과 수분 스트레스를 받기 때문이라고 하였고, Zapata 등 (1983)은 캘러스를 paper bridge를 만들어 이식하였을 때 식물체 분화율이 증가하였다고 하였다. 식물에 따라서는 고체배지보다 액체배지에서 배양효율이 증가하는 경우도 있는데 (Zhou and Konzak 1989), 이는 배지내 영양물질의 흡수가 용이하고 약액이나 한천의 유해물질이 액체배지에 쉽게 확산되기 때문인 것으로 보인다 (Wernicke and Kohlenbach 1976). 본 실험에서 항산화제의 첨가는 이러한 갈변화 현상을 무처리에 비하여 유의하게 지연 또는 감소시켰으며, 캘러스 유도배지에 단독첨가하는 것이 효과적이었다 (Table 3). 녹색체와 백색체 분화율도 캘러스 유도배지와 식물체 분화배지에 모두 항산화제를 첨가한 처리에서 비교적 높게 나타나, 150~250 mg/L 항산화제를 첨가한 처리에서 총 식물체 분화율이 유의하게 증가되었다. 특히 백색체의 발생원인이 유전자형, 전처리, 생장조절제 등의 영향이 주 요인이기 때문에 (Kim et al. 1991; Yang et al. 1994), 본 실험에서 식물체 분화율 증대를 위한 항산화제 첨가효과를 녹색체 분화율보다는 총 식물체 분화율로 비교하여 보면, 캘러스 유도배지와 식물체 분화배지에 모두 첨가하는 것이 가장 좋았다. 또한 녹색체 분화율이 높은 유전자형의 배양에서는 항산화제 첨가효과가 본 실험결과보다 더 뚜렷할 것으로 생각되었다. 따라서 약 부유배양에서 항산화제의 첨가는 총 식물체 분화율 향상에 기여하였으며, 식물체 분화능은 캘러스 유도배지내 생장조절제의 조성이 중요한 요인으로 작용하였다. 그러나 벼의 약이나 체세포 배양에 대한 품종간 차이도 크기 때문에 배양재료에 따른 생장조절제의 구성과 농도, 탄소원의 종류와 함량을 고체배지와는 다르게 조절함으로써 액체배지를 이용한 부유배양 효율을 높일 수 있을 것으로 생각된다 (Kang et al. 1999; Kobayashi et al. 1992; Xie et al. 1995). 금후 벼의 약 부유배양 효율을 더 높일 수 있다면, 소포자 유래의 반수성 세포집단은 EMS와 같은 돌연변이 유기원의 처리가 용이하기 때문에, 유용 변이체 선발을 위한 기내 돌연변이 연구에 편리하게 이용될 수 있을 것이다.

적 요

벼 소포자 유래의 반수성 세포집단을 기내 돌연변이 유기 연구에 이용하기 위하여, 액체배지를 이용한 약 부유배양에서 캘러스 유도에 미치는 생장조절물질의 영향과 유도된 캘러스의 갈변화에 따른 활력저하를 막기 위하여 배지내 항산화제의 첨가효과를 조사하였다. 약 부유배양을 위한 액체배지는 N6배지에 1 mg/L 2,4-D와 1 mg/L kinetin을 첨가한 배지에서 캘러스 형성율 48.5%, 녹색체 분화율 6.8%, 총 식물체 분화율 9.0%로 가장 높았다. 약 부유배양에서 항산화제 (antioxidant mixture, Sigma Chemical Co.)의 첨가는 캘러스

스 형성율에 영향을 미치지 않았으며, 캘러스 갈변방지와 총 식물체 분화율 향상에 유의한 효과를 보였다. 항산화제의 적정농도는 250 mg/L 였으며, 캘러스 유도배지와 식물체 분화배지에 모두 첨가하는 것이 가장 좋았다.

사사 - 본 연구는 1999년도 원광대학교 교비자원에 의해 수행되었음

인용문헌

- Choi SH, Son YH, Moon HP, Cho SY, Im BG (1986) Varietal response to auxin in rice (*Oryza sativa* L.) anther culture. Kor J Breed 18:174-180
- Chu CC, Wang CC, Sun C, Chon H, Yin KC, Chu CY, Bi FY (1975) Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on nitrogen sources. Sci Sin 18:659-668
- Jin JM, Jang JL, Tang DT (1992) High frequency induction of somatic embryoids of rice in suspension culture. Act Bot Sin 34:114-120
- Kang HJ, Lee SY, Kim HS, Lee YT (1999) Plant regeneration efficiency between anther culture and anther floating culture of rice. Kor J Intl Agri 11:169-174
- Kim HS, Lee YT, Lee SY, Kim TS (1991) Anther culture efficiency in different rice genotype under different cold pretreatment duration and culture temperature. Res Rept RDA(B), Kor 33(1):5-13
- Kim MZ, Raghavan V (1988) Induction of pollen plantlets in rice by spikelet culture. Plant Cell Rep 7:560-563
- Kobayashi H, OKi M, Hi T (1992) Enhancement of plantlet regeneration by medium exchange in liquid regeneration culture of rice (*Oryza sativa* L.). Jpn J Breed 42:583-594
- Lee JH, Lee SY (1995) Effects of gelling agents and growth regulators on rice anther culture. Kor J Plant Tiss Cult 22:35-39
- Lee SY, Kim HS, Lee YT, Kim TS (1988a) Studies on the rice anther culture. 4. Growing environment of donor plant in anther culture. Effect of nitrogen levels and the low-temperature and photoperiod stress at meiotic stage. Res Rept RDA(B), Kor 30(3):13-20
- Lee SY, Lee YT, Lee MS (1988b) Studies on the rice anther culture. 3. Growing environment of donor plant in anther culture. Effect of photoperiod and light intensity. Res Rept RDA(B), Kor 30(3):7-12
- Miha MAA, Earle ED, Khush GS (1985) Inheritance of callus formation ability in anther cultures of rice *Oryza sativa* L.. Theor Appl Genet 70:113-116
- Moon HP, Kang KH, Cho SY (1991) Studies on one-step procedure in rice anther culture. II. Effects of 2,4-D, kinetin and ABA on direct plant generation. Kor J Breed 23:153-160
- Rout JR, Sarma NP (1991) Anther callus induction and green plant regeneration at high frequencies from an interspecific rice hybrid *Oryza sativa* Linn. × *O. rufipogon* Griff. Euphytica 54:155-159
- Sohn JK, Oh BG, Lee SK, Chung GS (1987) Effects of liquid medium on callus induction and plant regeneration in rice anther culture. Res Rept RDA (Crops), Kor 29:38-42
- Toriyama K, Hinata K (1985) Panicle culture in liquid media for obtaining anther calli and protoplast in rice. Jpn J Breed 35:449-452
- Tsay HS, Chen LJ (1984) The effects of cold shock and liquid medium on callus formation in rice anther culture. China J Agr Res 33:24-29
- Wernicke W, Kohlenbach HW (1976) Investigations on liquid culture medium as a means of anther culture in *Nicotiana*. Z Pflanzenphysiol 79:189-198
- Xie JH, Gao MW, Cai QH, Cheng XY, Shen YW, Liang ZQ, Xie JH, Gao MW, Cai QH, Cheng XY, Shen YW, Liang ZQ (1995) Improved isolated microspore culture efficiency in medium with maltose and optimized growth regulator combination in japonica rice (*Oryza sativa*). Plant Cell Tiss Org Cult 42:245-250
- Yang SJ, Oh BG, Koh JC, Lee SK (1994) Effect of cold pretreatment and cultural conditions on albino frequency in rice anther culture. Kor J Breed 25:257-380
- Zapata FJ, Khush GS, Crill JP, Neu MH, Romero RO, Torrizo LB, Alejar M (1983) Rice anther culture at IRRI. In Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement. pp.27-46. Science Press, Beijing
- Zhou HP, Konzak CF (1989) Improvement of anther culture methods for haploid production in wheat. Crop Sci 29:817-821
- Zhou HP, Si HM, Cheng SH (1996) Enhancement of phenylacetic acid on callus re-differentiation frequency and one-step shoot formation in rice anther culture. China J Rice Sci 10:37-42

(접수일자 2000년 1월 13일)