

당근 약배양에 의한 식물체 재분화 및 순화

조문수^{1*}, 정의동¹, 박상규², 박 용¹
¹대구대학교 자연자원대학 원예학과, ²농화학과

Regeneration and Acclimatization of Plants Derived from Anther Cultures in Carrot (*Daucus carota* L.)

Moon-Soo Cho^{1*}, Ue-Dong Juang¹, Sang-Gyu Park², Yong Park¹

¹Department of Horticulture

²Department of Agricultural Chemistry, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Korea

ABSTRACT Anthers from several lines of carrot (*Daucus carota* L.) were plated on the semi-solid B₅ basal medium supplemented with 2,4-D and NAA at two concentrations, 1.0 and 2.0 mg/L plus 0.2 mg/L BAP (benzylaminopurine). Anthers of the most lines on the B₅ basal medium with 2,4-D showed higher percentages of callus formation than those with NAA. Particularly, in line 45477, highest percentages of callus formation (50%) were observed on B₅ medium with 1.0 mg/L 2,4-D plus 0.2 mg/L BAP. With 1.0 mg/L 2,4-D, two months was sufficient for initiation of callus development. Calli were regenerated into plantlets through embryogenesis onto regeneration medium without any growth regulators. When callus showing yellowish and soft structure was cultured, it yielded green plants at high regeneration rates. The response of anthers in callus induction and plant regeneration was different among lines investigated. Optimal callus induction and plant regeneration could be obtained through manipulating the concentration of growth regulators. Plantlets after transfer to perlite were grown successfully in greenhouse conditions. Anther culture of carrot will be used as a useful breeding tool in future.

Key words: 2,4-D, acclimatization of plant, callus formation, plant regeneration

서 론

현재 국내 당근 재배면적은 약 7,000 ha로 이 중 절반 정도가 1대잡종 품종을 재배하고 있으며 보급도 급속도로 확대되고 있어 앞으로 5년 이내에 80% 이상의 1대잡종 품종이 재배될 것으로 전망된다. 1대잡종 품종육성 기술은 품종육종 방법 중에서 가장 효율적인 방법으로 현재 가장 보편적으로 사용되고 있는 품종개발 기술이다. 1대잡종 품종은 순도, 다수성, 내병성 등 여러 가지 특성 면에서 그 우수성이 인정되어 거의 모든 채소작물에서 1대잡종 품종이 개발 보급되고 있다.

당근 1대잡종 품종육성에서는 우수한 1대잡종 조합을 만들 수 있는 응성불임계통과 화분친계통의 육성, 채종 능력이 우수한 응성불임계통 육성 및 육종년한을 단축시킬 수 있는 약배양기술이 중요한 기반기술이라 할 수 있다. 현재 응성불임계통은 1950년대에 미국에서 육성된 petaloid type 응성불임계통이 주로 사용되고 있는데, petaloid type은 응성불임성의 발현이 매우 안정되어 있어 1대잡종 품종의 순도는 우수하나 채종능력이 일반 종에 비해 50% 정도 떨어지기 때문에 1대잡종 품종의 증가가격을 상승시키는 요인이 되고 있어 채종능력이 우수한 응성불임계통의 육성이 절대적으로 필요하다.

당근 1대잡종육성은 전세계적으로 응성불임성을 이용하고 있는데 전통적인 육종방법으로는 응성불임계통의 육성 및 우수한 화분친의 육성에 7~10년의 장기간이 소요되며 많은 투자를 요하고 있다 (Park 1995). 그러나 약배양기법을 이용하면

*Corresponding author Tel 053-850-6714 Fax 053-850-6719
E-mail mscho@taegu.ac.kr

단기간 내에 유전적으로 고정된 계통을 얻을 수가 있어 타식성 작물인 경우 교잡육종에서 6~7세대 이상의 자식을 거쳐 야만 형질고정을 시키는 데 비해 1~2세대만에 순계를 획득할 수 있어 품종의 육성년한을 크게 단축시킬 수가 있다 (Aruga and Nakajima 1985; Guha and Maheshwari 1964; Lee et al. 1999; Raghavan 1975). 실제로 미국, 유럽 및 일본의 종묘 회사에서는 당근품종개발에 조직배양기술을 널리 활용하고 있는 것으로 알려지고 있으나 그 수준이나 규모에 대해서는 정확하게 파악되지 않고 있다. 당근의 경우 복산화소화들이 매우 작아 약배양이 매우 어려운 것으로 되어 있다 (Ammirato et al. 1986). 당근 약배양에 관한 연구는 국내의 경우 아직 초보단계이며 국외에서도 단 한 편이 발표되었으나 (Kai et al. 1993) 극히 낮은 캘러스 및 무성배 형성률을 보였고 식물체 분화율도 매우 낮은 바 실용화 단계에 이르기까지는 상당한 시일이 걸릴 것으로 판단된다.

따라서 본 연구에서는 당근에 있어서 유용한 육성재료를 순계화하기 위한 가능성을 찾기 위하여 약배양을 수행하였으며 약으로부터 캘러스 형성과 식물체 분화 및 순화체계를 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

공시재료

본 대학에서 매년 육성하고 있는 당근의 우수한 계통, 즉 흑전5촌과 신희전5촌의 분리계인 다수성이고 추대가 빠른 계통 (45205-45448), 난테스 품종의 후대로 품질이 우수하고 추대가 늦은 계통 (45477, 45456, 45490) 그리고 검은잎 마름병에 비교적 강하면서 carotenoids 함량이 높은 5280B 11계통, 다수성이며 품질이 우수한 5YQ 2계통, 5280B와 품질계의 교잡후대 14계통, 5280B와 다수계의 교잡후대 5계통 등 32계통을 선발하여 포장에 정식, 관리해 오면서 본 실험의 약배양 재료로 이용하였다.

캘러스 유도 및 식물체 재분화

약의 발육단계를 균일화하기 위하여 1% acetocarmine에 염색하여 anther squash법으로 화분의 발육단계를 조사하였다. 성숙 화분 단계에 있는 개화하기 전 꽃 봉우리 상태의 복산화소화를 채취하여 흐르는 물에 깨끗이 세척한 다음 소화산을 따서 2%의 sodium hypochlorite 용액에 15분간 표면 살균한 다음 멸균수로 3회 충분히 세척한 후 해부현미경 하에서 약을 절취하여 배양재료로 사용하였다.

약배양의 기본배지로는 B₅ 배지 (Gamborg et al. 1968)를 사용하여 8 g/L agar와 30 g/L sucrose를 첨가하였으며 pH는 5.6으로 하였다. 캘러스를 유도하기 위해서 2,4-D와 NAA를 각

각 1.0, 2.0 mg/L로 혼합한 배지에 benzylaminopurine (BAP) 0.2 mg/L를 첨가 (A1 배지: 2 mg/L 2,4-D+0.2 mg/L BAP, A2 배지: 1 mg/L 2,4-D+0.2 mg/L BAP, A3 배지: 2 mg/L NAA+0.2 mg/L BAP, A4 배지: 1 mg/L NAA+0.2 mg/L BAP)하여 120°C, 1.2기압에서 15분간 살균하였다. 직경 5.5 cm의 멸균된 일회용 플라스틱 petri-dish에 분주한 다음 petri-dish 당 16개의 약을 치상하였고 5반복으로 하였다. 캘러스 유도 후, 약 두달 간 계대배양을 하였으며 식물체를 분화시키기 위하여 B₅기본배지에 BAP를 0~2.0 mg/L, NAA 0~2.0 mg/L 수준으로 혼용 그리고 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 반고체배지를 사용하였다.

캘러스 유도를 위해서 배양체를 암상태 하에서 배양하였다. 기관분화 유도에는 온도 25±2°C, 광 1,000 Lux 하에서의 16시간, 암상태 8시간의 광주기로 배양하였다.

기외순화

기내에서 발근된 당근의 유식물체를 퍼얼라이트, 피트모스 그리고 질석을 단용 또는 1:1:1의 비율로 혼합한 10.5×10.5×9.0 cm 크기의 반투명 플라스틱 용기에 식재한 후 온도 25±2°C, 광 1,000 Lux 하에서의 16시간, 암상태 8시간의 광주기로 조절된 배양실에서 순화하였다. 순화기간에 따라 포장에 식재하였으며 2주 후에 유식물체의 생존율을 조사하였다.

결과 및 고찰

캘러스 유도

당근 약배양 재료는 본 대학 모본 포장에서 월동한 우수계통을 분양받아 별도로 설치된 하우스 내에서 정식 관리하면서 계속적으로 본 실험의 공시재료로 이용하였다. 당근 약으로부터 캘러스 유도에 적합한 배지를 선정하기 위하여 기본 B₅배지로 2,4-D와 NAA의 농도를 달리한 4종류의 배지에 다수성이고 추대가 빠른 계통 (45205~45448)과 품질이 우수하고 추대가 높은 계통 (45477, 45456, 45490) 등 11계통의 약을 치상한 결과는 table 1과 같다. 2,4-D 1.0 mg/L가 함유된 A2 배지는 다른 배지보다 월등히 높은 캘러스 형성율을 보였으며 높은 농도의 2,4-D보다는 낮은 농도의 2,4-D가 캘러스 유도를 촉진시키는 것으로 나타났다. 비록 일부 계통 중에 2,4-D 2.0 mg/L가 함유된 A1 배지에서 캘러스가 형성되었다 하더라도 A2 배지에서 캘러스 형성이 1.3배에서 8.6배로 증가된 것을 알 수 있었다. A2 배지에서도 계통 45333과 45490은 캘러스가 전혀 형성되지 않았으나 계통 45477의 경우 약 50%의 가장 높은 캘러스 형성률을 보였다. 다른 많은 작물의 경우에는 낮은 농도보다는 높은 농도의 2,4-D가 캘러스 형성에 효과적이라고 보고하였으나 (Sopory and Munshi

Table 1. Effects of 2,4-D and NAA concentrations into B₅ medium on callus formation from anthers of several lines in carrot.

Line	No. of anthers plated	Percentages of callus formation			
		A1*	A2	A3	A4
45205	170	0	7.8	0	0
45249	169	0	14.6	0	0
45267	361	9.0	11.6	0	0
45297	227	0	4.8	0	0
45333	209	0	0	0	0
45410	481	0	2.3	0	1.7
45429	313	0	24.6	0	0
45448	257	3.4	29.4	1.8	0
45477	382	13.9	47.1	0	0
45456	269	1.4	9.7	0	0
45490	239	0	0	0	0

* A1: B₅ + 2 mg/L 2,4-D + 0.2 mg/L BAP, A2: B₅ + 1 mg/L 2,4-D + 0.2 mg/L BAP, A3: B₅ + 2 mg/L NAA + 0.2 mg/L BAP, A4: B₅ + 1 mg/L NAA + 0.2 mg/L BAP

1997) 본 실험의 결과로 볼 때, 약배양시 2,4-D가 캘러스 형성에 중요한 요인이나 2,4-D 농도에 대한 약배양 반응은 작물에 따라 다르게 나타나는 것으로 생각된다. 같은 옥신류라 하더라도 2,4-D가 함유된 배지가 NAA가 함유된 배지보다 캘러스 형성에 크게 영향을 미치는 것으로 나타났다. Kai 등 (1993)은 당근의 약배양에서 1.0 mg/L 2,4-D를 처리하였을 때 12%의 높은 캘러스 형성률을 보였고 Lee 등 (1999)은 방울토마토에서 NAA보다는 2,4-D에서 약배양 반응이 높게 나타났고 캘러스 유연성도 좋아 생장이 촉진되었다고 보고하였다. 그러나 Suh와 Park (1986)은 2,4-D, NAA와 같은 옥신류의 단독처리나 BAP와 같은 사이토키닌류와의 혼용처리가 캘러스 유도에 효과적이라고 보고하였다. 약배양의 반응은 계통 간에 뚜렷한 차이를 보였으며 성적은 제시하지 않았지만 캘러스 형성률이 높은 계통에서의 캘러스는 생체중이 높고 증식 속도도 빠른 것으로 조사되었다. 따라서 당근 약배양시 캘러스 형성에 옥신에 대한 요구는 계통에 따라 차이가 있음을 알 수가 있었다.

식물체 분화

캘러스로부터 식물체 재분화에 적합한 배지를 선정하기 위하여 캘러스 형성률이 높은 66051-6 계통을 취하여 여러 가지 농도의 BAP와 NAA가 혼합 첨가된 반고체배지를 이용하여 수행한 결과는 table 2와 같다. BAP의 농도가 높은 배지에서의 NAA는 식물체 분화에 전혀 효과가 없었으나 낮은 농도의 BAP에서는 NAA의 효과가 강하게 나타나는 것을 알 수가 있었다. 또한 식물생장조절물질이 전혀 첨가되지 않은 배지에서도 60개체 이상의 식물체가 분화되었다. 많은 작물에 있어서도 성장조절물질은 약배양으로 유도된 캘러스에서 배발생을 유도하는데 전혀 관계가 없다고 하였다 (Sopory and Munshi 1997). 이는 배발생시 캘러스의 내생 옥신이 충분하여 외생의 옥신 처리가 불필요한 것에서 찾아볼 수 있지 않나

Table 2. Effects of BAP and NAA concentrations into B₅ medium on green plant regeneration from anther cultures in a carrot line 66051-6.

Treatment		Shoot length (mm)	Root length (mm)	No. of green plants regenerated
BAP (mg/L)	NAA (mg/L)			
2.0	2.0	-	-	-
2.0	1.0	-	-	-
2.0	0.1	-	-	-
2.0	0	11.7	2.8	14
1.0	2.0	-	-	-
1.0	1.0	-	-	-
1.0	0.1	-	-	-
1.0	0	13.9	3.7	26
0.1	2.0	-	-	-
0.1	1.0	-	-	-
0.1	0.1	15.0	5.4	5
0.1	0	9.4	9.3	176
0	2.0	3.0	0.8	7
0	1.0	2.7	0.7	4
0	0.1	8.0	3.1	7
0	0	6.1	32.0	60

사료된다. 낮은 농도의 BAP 또는 NAA가 식물체 분화에 영향을 미치지만 식물체 분화에 식물생장조절물질이 전혀 첨가되지 않은 배지가 효과적이라 여겨 다음 실험을 수행하였다.

계통에 따른 약반응

2,4-D 1.0 mg/L와 BAP 0.2 mg/L가 첨가된 B₅ 고체배지 (A2)에 검은잎 마름병에 비교적 강하면서 carotenoids 함량이 높은 5280B 11계통, 다수성이며 품질이 우수한 5YQ 2계통, 5280B와 품질계의 교잡후대 14계통, 5280B와 다수계의 교잡후대 5계통 등 32계통으로부터 각 계통 당 80개의 약을 절취하여 치상, 캘러스 형성을 유도하였다. 그 후 형성된 캘러스로부터 배발생 및 식물체를 분화시키기 위하여 기본 B₅ 배지에 식물생장조절물질이 첨가하지 않은 배지 (식물체 분화배지)를 이용하였다 (Table 3). 치상한 32계통 모두에서 캘러스가 형성되었으며 상당한 계통에서 식물체로 분화하였다. 총 형성된 캘러스는 332개이며 분화된 식물체의 수는 870개체였다. 캘러스의 형성과 식물체 분화에 있어서 각 계통 간에는 상당한 차이가 있었다. 이상의 결과로 볼 때, 약배양으로부터 식물생장조절물질의 첨가 없이도 식물체를 분화시킬 수 있었으나 계통 간에는 큰 차이가 있는 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 많은 연구에서 보는 바와 같이 유전자형의 특성에 따른 차이라고 볼 수 있으며 (Chaudhury and Qu 2000; Dunwell et al. 1985; Lee et al. 1999; Song 1992; Yoon et al. 1991) 계통에 따른 적절한 배양조건이 구명되어야 한다고 생각된다.

본 실험에서는 당근의 약으로부터 배형성 과정을 통하여 상당한 수의 무성배를 생산하였다 (Figure 1). 약을 치상 한 후 약 60일이 경과되어 약 3~5 mm 크기의 캘러스가 유도되

었다. 켈러스는 조직이 단단한 흰색을 띠고 있는 것과 조직이 무르고 노란색을 띤 것으로 분류되었는데 이 중 후자의 켈러스가 식물체 분화에 효과적이었다. 켈러스가 형성되었다 하더라도 식물체로 전혀 분화되지 않은 계통들이 조사되었는데 이들 켈러스 대부분은 조직이 희고 딱딱하였다. Chaudhury와 Qu (2000)는 딱딱하고 흰 켈러스 조직에서 식물체로의 분화가 잘 일어난다고 보고하였으며 Lee 등 (1999)도 켈러스 형성이 높은 처리에서 전체적으로 흰색의 딱딱한 켈러스가 발생되었고 식물체로의 분화가 일어난다고 하였다. 이외에 많은 연구에서도 희고 조직이 치밀한 켈러스를 배발생 켈러스로 일컬어지면서 식물체 분화율이 높다는 사실이 일반화되어 있으나 본 연구에서는 위와 상이한 결과를 얻었다. 전자의 경우는 organogenesis를 통하여 식물체가 재생되고 후자에서는 embryogenesis로 재분화가 일어나는 것이 아닌가 추정된다. 켈러스를 시약 스폰을 이용하여 잘게 부수어 배지 표면에 고

르게 하여 배양하였다. 작은 켈러스 덩어리는 약 45 내지 60 일 후에 무수히 많은 배로 분화하였다. 이 발생된 배를 즉시 식물생장조절물질이 전혀 들어 있지 않은 분화배지로 옮겨 약 2주 후부터 배에서 어린 신초와 뿌리가 발생하기 시작하였다. 일주일이 경과되면 유식물체는 2매 이상의 신초를 가진 크기로 자라는데 이들을 배양실에서 한 달간 순화과정을 거치면 기내 묘를 포장에서 순화시켜 재배하는 데 큰 문제가 없는 것으로 나타났다. 약배양으로부터 배발생 및 식물체 분화를 유도하여 품종육성에 이용할 수 있는 가능성을 부각시켰으며 약배양기법의 확립이 당근의 품종 개발에 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

기외순화

기내에서 분화된 유식물체로부터 포장에 재식할 때까지 순화 방법을 확립하기 위하여 계통 75521로 본엽 2매 이하와 이상의 크기로 자란 유식물체를 배양토에 이식, 순화한 결과는 Table 4와 같다. 본엽 2매 이하의 유식물체의 경우 모든 처리에서 기내 순화 기간이 길어질수록 포장에서의 생존율이 감소하는 경향을 보였으나 4주간 배양실에서 순화를 거친 유식물체가 포장 생존율이 100%로 가장 높았다. 혼합 배양토보

Table 3. Callus formation with 1.0 mg/L 2,4-D and 0.2 mg/L BAP and green plant regeneration without growth regulators among carrot lines.

Line	No. of anthers plated	No. of calli plated for green plant regeneration	No. of green plant regenerated	No. of green plants grown in field
65050-2	80	21	0	0
65059-4	80	1	0	0
65086-1	80	2	0	0
65086-5	80	2	0	0
65594-1	80	1	0	0
65658-2	80	3	0	0
65658-3	80	3	0	0
65752-6	80	2	5	4
66022	80	15	0	0
66023	80	1	54	17
66024	80	8	6	1
66027	80	11	0	0
66028	80	5	221	160
66030	80	15	28	25
66034-2	80	19	8	6
66038	80	15	12	3
66041	80	1	0	0
66042	80	11	37	26
66043	80	19	125	72
66051-6	80	47	0	0
66054-2	80	1	127	127
66055-3	80	22	0	0
66055-4	80	12	0	0
66056	80	8	112	97
66056-3	80	5	63	13
66056-4	80	15	14	9
66060	80	11	2	0
66061	80	1	0	0
66154	80	29	16	8
66176	80	12	5	0
66513	80	6	0	0
66524	80	8	35	27
Total	2560	332	870	595

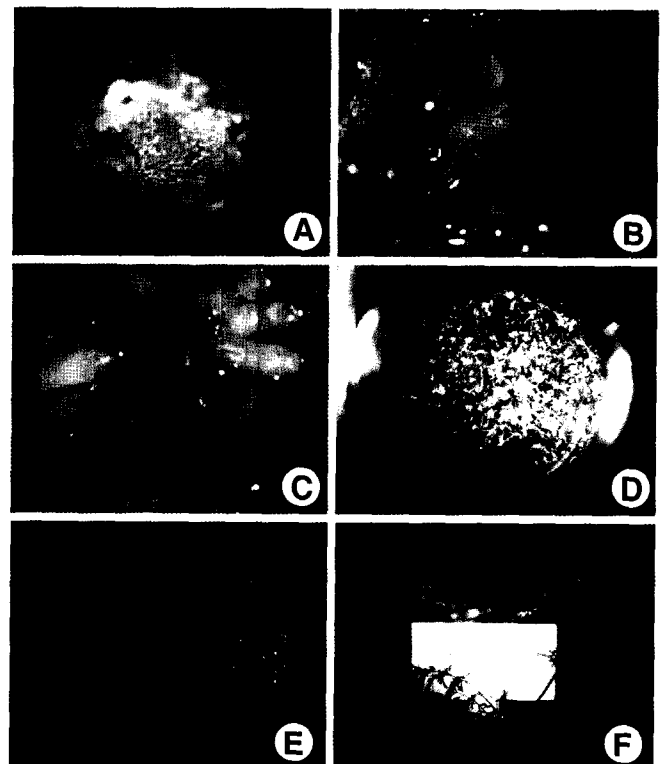


Figure 1. Callus formation and plant regeneration derived from anther culture of carrot. A, Anther inoculated for 2 weeks; B, Embryo from callus after 8 weeks; C, Embryos on regeneration medium without growth regulators; D, Leaves and roots formed after 2 weeks from C; E, Plantlets just before acclimatization; F, Plants grown in field after 8 weeks from E.

Table 4. Acclimatization of plantlets to growing stages in carrot.

Plantlet stage	Acclimatization period (weeks)	Media							
		Perlite		Peatmoss		Vermiculite		Mixtures ^w	
		A ^v	B ^v	A	B	A	B	A	B
Less than 2 true leaves	2	100	86.8	0	0	100	86.7	80.0	66.7
	4	100	93.3	0	0	100	93.3	100	80.0
	6	100	93.3	0	0	100	80.0	46.7	40.0
More than 2 true leaves	2	100 ^v	100 ^v	13.3	6.67	100	80.0	100	86.7
	4	100	100	0	0	93.3	92.9	66.7	66.7
	6	100	80.0	0	0	93.3	86.7	66.7	66.7

^wPerlite : peatmoss : vermiculite = 1 : 1 : 1

^vPeriod of acclimatization in culture room

^A: Survival rate (%) in culture room

^B: Survival rate (%) at two weeks in field.

다는 펄라이트 단용에서 포장의 생존율이 가장 높았으며 수분함량이 높은 피트모스에서는 유식물체가 거의 생존하지 못하였다. 당근의 유묘 지상부의 환경은 습한 것이 좋지만 지하부는 너무 습하지 않는 것이 묘의 생육 면에서 유리한 것으로 판단되었다. 본엽 2매 이상의 유식물체의 경우도 위와 유사한 경향을 보였다. 지금까지는 기내환경과 포장에서의 환경이 매우 달라 적절한 순화과정을 거치지 않고 바로 포장에 이식할 경우 식물체의 생존율은 극히 저조하였으나 위와 같은 순화 방법으로 기내에서 생산된 식물체의 약 80%를 생존시킬 수 있었다.

적 요

본 연구는 당근에 있어서 유용한 육성재료를 순계화하기 위한 가능성을 찾기 위하여 약배양을 수행하였다. 캘러스를 유도하기 위하여 여러 계통의 약을 1.0 and 2.0 mg/L 2,4-D와 NAA가 첨가된 B₅ 반고체배지에서 배양하였다. 2,4-D가 함유된 배지가 NAA가 함유된 배지보다 캘러스 형성에 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 특히 계통 45477의 경우 1.0 mg/L 2,4-D가 함유된 배지에서 약 50%의 높은 캘러스 형성률을 보였다. 두 달 정도 배양하면 충분히 캘러스를 유기할 수 있었다. BAP 또는 NAA 농도가 낮아질수록 식물체 생산에 효과적이라는 것을 알 수가 있었으며 식물생장조절물질이 전혀 첨가되지 않은 배지에서 캘러스를 배양하는 것이 기내에서 식물체 생산에 이상적이었다. 노랑고 부드러운 조직을 보이는 캘러스에서 식물체 분화율이 높게 나타났으며 약배양에 대한 반응은 계통간에 뚜렷한 차이를 보였다. 배지에 함유된 생장조절물질을 조절함으로써 약으로부터 캘러스를 유기하거나 식물체로 분화시킬 수 있었다. 배양묘의 염수에 관계없이 퍼얼라이트 배지에서 4주간 충분히 순화시킨 유식물체에서 포장 생존율이 100%로 가장 높았다. 지금까지의 연구 결과 한 개의 캘러스에서 식물체를 대량으로 생산할 수 있었으며 이 약배양기법이 당근 품종육성에 이용될 것으로 전망된다.

사사 - 본 연구는 과학기술처 특정연구개발사업 및 농림부 농림기술개발사업의 첨단기술개발에 의한 연구결과의 일부이다.

인용문헌

- Ammirato PV (1986) Carrot. In: Ammirato PV, Evans DA, Sharp WR, Yamada Y (eds). Handbook of Plant Cell Culture. Macmillan Publishing Company NewYork. pp 457-499
- Aruga K, Nakajima T (1985) Role of anther on pollen embryogenesis in anther culture of *Nicotiana tabacum* L. Japan J Breeding 35: 390-397
- Chaudhury A, Qu R (2000) Somatic embryogenesis and plant regeneration of turf-type bermudagrass: Effect of 6-benzyladenin in callus induction medium. Plant Cell Tiss Org Cult 60: 113-120
- Dunwell JM, Comish M, De Courcel AG (1985) Influence of genotype, plant growth regulator and anther incubation temperature on microspore embryo production in *Brassica napus* spp. oleifera. J Expt Bot 36: 678-689
- Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cells. Exp Cel Res 50: 151-158
- Guha S, Maheshwari SC (1964) In vitro production of embryos from anthers of datura. Nature 204: 497
- Kai LH, Matsubara S, Murakami K (1993) Haploid plant production by anther culture in carrot (*Daucus carota* L.). J, Japan Soc Hort Sci 62: 561-565
- Lee HY, Jeon JO, No JG, Park HG (1999) Effects of several factors on callus induction in anther culture of cherry tomato. J Kor Soc Hort Sci 40: 537-540
- Park Y (1995) Breeding of brown anther type male sterility lines with high phenotypic stability in carrots. J Kor Soc Hort Sci 36: 1-9
- Raghavan V (1975) Induction of haploid plants from anther culture of henbane. Z Pflanzenphysiol 76: 89-92

- Song JS (1992) Induction of microspore-derived embryos in anther culture of *Raphanus sativus* L. J Kor Soc Hort Sci 33: 425-431
- Sopory SK, Munshi M (1997) Anther culture. In: Jain SM, Sopory SK, Veilleux RE (eds). In vitro haploid production in higher plants, vol 1, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, pp 145-176
- Suh SK, Park HG (1986) Studies on the anther culture of garlic (*Allium sativum* L.). I. Callus formation and plant regeneration. J Kor Soc Hort Sci 27: 89-95
- Yoon YJ, Kim KS, Chang SK (1991) Plant induction by anther culture of hot-pepper (*Capsicum annuum* L.). J Kor Soc Hort Sci 32: 8-16

(접수일자 2002년 10월 21일, 수리일자 2003년 2월 12일)