

고구마 정단분열조직으로부터 체세포배발생 및 식물체 재분화에 미치는 casein의 영향

신공식, 노경희, 이연희, 박용환, 서석철*

농촌진흥청 농업생명공학연구원

Effect of Casein on Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in Shoot Apical Meristem Explants of Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.)

Kong-Sik Shin, Kyung-Hee Roh, Yeon-Hee Lee, Young-Whan Park, Seok-Cheol Suh*

National Institute of Agricultural Biotechnology, RDA, Suwon, 441-707, Korea

ABSTRACT An efficient protocol has been developed for rapid mass propagation of sweetpotato from shoot-tips derived embryogenic callus. Optimal embryogenic callus was induced from shoot apical meristem explants on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 1 mg/L 2,4-D. The addition of casein hydrolysate in the media increased the embryogenesis efficiency of sweetpotato. Somatic embryos were easily induced from the embryogenic callus on MS basal medium containing 300~500 mg/L casein hydrolysate without phytohormone. Treatment of casein hydrolysate (100~300 mg/L) with 1 mg/L 2,4-D also improved the secondary embryonic efficiency from somatic embryos below 2 mm in length. Plant regeneration was achieved via somatic embryogenesis and direct organogenesis. Regenerated plantlets with well developed shoots and roots on MS basal medium were successfully transferred to soil.

Key words: Casein hydrolysate, embryogenic callus, shoot apical meristem, somatic embryo, somatic embryogenesis, sweetpotato

서 론

고구마는 주요 식용 및 사료작물로 이용되고 단백질과 탄수화물의 중요한 공급원으로 높은 영양적 가치를 지니고 있으며, 생산량의 대부분이 열대 및 온대지역에서 재배, 생산되고 있다 (Dhir et al. 1998; Dessai et al. 1995; Min et al. 1994). 고구마는 6배체의 영양변식 작물이기 때문에 종자의 형성이 불량하여 주로 식물체의 줄기를 이용한 경작에 의해 변식을 수행하고 있다. 대부분 작물에 있어서 영양변식은 바이러스 혹은 병원균의 감염이 쉽기 때문에 양질의 생산물을 얻기가 어렵다. 또한 영양변식 체계의 작물은 재래적인 육종방법으로

품종개량을 기대하기 어렵기 때문에 보다 효율적으로 유전자를 도입할 수 있는 생물공학적인 방법이 요구되고 있다. 효과적인 형질전환기술과 전진묘의 생산 보급을 위해서는 식물체를 기내에서 대량증식 시킬 수 있는 조직배양시스템의 확립이 매우 중요하다.

고구마의 조직배양과 재분화 기술은 체세포변이체 (somaclonal variant)의 생산과 형질전환작물의 개발에 유용하기 때문에 다양한 기관과 조직을 이용한 고구마의 기내 기관형성에 대해 많은 연구가 있어 왔다. 특히 잎, 엽병, 줄기 (Dhir et al. 1998; Dessai et al. 1995; Liu and Cantliffe 1984), 측아 및 정단분열조직 (Al-Mazrooei et al. 1997; Kwon et al. 2002; Min et al. 1994; Lee et al. 1994) 등의 배양으로부터 배발생 캘러스와 체세포배가 유도되었다. 그러나 재분화 빈도가 매우 낮고, 한정된 유전형에만 적용되고 있다. 효과적인 조직배양 기술을

*Corresponding author Tel 031-2991-700 Fax 031-2991-702
E-mail: scsuh@rda.go.kr

이용하여 고구마의 고빈도 재분화 식물체를 얻기 위해서는 보다 다양한 연구가 요구된다. 최근 casein hydrolysate를 배지에 첨가하는 경우 배발생 효율이 증가하거나, 식물체 재분화가 증가한다는 보고가 있다 (Smith et al. 1997; Yordanov et al. 2002; Prehn et al. 2003). 따라서 본 연구에서는 국내 유명 고구마 품종인 신천미를 이용, 효과적인 식물체 재분화시스템을 확립하기 위하여 정단분열조직으로부터 배발생 캘러스를 유도하고 고빈도의 체세포배 발생 및 재분화에 미치는 casein hydrolysate의 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 배양조건

재료는 고구마 (*Ipomoea batatas* L.) “신천미” 품종을 사용하였으며, 온실에서 재배하여 정단 및 측지를 1 cm 정도 크기로 채취하였다. 채취한 시료를 70% 에탄올에 30초, 0.5% sodium hypochlorite 용액에 15분간 진탕 소독한 후 멸균수로 4~5회 수세하였다. 이 후 식물 조직의 물기를 제거하고 해부현미경 하에서 정단 및 측아분열조직을 1 ± 0.2 mm 정도의 크기로 적출하여 잘린 면이 배지에 닿도록 치상하였다. 배양은 25 ± 1 °C의 배양실에서 실시하였으며 캘러스 형성 및 증식은 암배양, 체세포배와 식물체 형성은 $50 \pm 5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 형광등하에서 배양하였다. 성숙한 체세포배는 MS 기본배지에 옮겨 식물체로 전환시킨 후 인공배양토에 옮겨 심고 광조건 $80 \pm 10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 형광등하의 배양실에서 순화시켰다. 기내순화된 식물체는 화분에 옮겨 심고 온실에서 생육시켰다.

배발생 캘러스 형성 및 증식

고구마의 효과적인 배발생 캘러스 형성을 알아보기 위하여 배지는 MS (Murashige and Skoog 1962) 무기염에 100 mg/L myo-inositol, 0.4 mg/L thiamine HCl의 비타민과 30 g/L sucrose, 4 g/L gelrite를 넣어 MS-I 배지라고 하고, 배발생 캘러스 유도시 사용하였다. MS-I 배지에 식물생장조절물질로 2,4-D를 0.1, 0.5, 1, 2 mg/L의 농도로 처리하고, 여기에 casein hydrolysate (이하 casein) 농도를 0, 50, 150, 300, 500 mg/L로 각각 첨가하였다. 이들 배지에 정단 및 측아분열조직 절편체를 치상하고 암배양하였으며, 배양 4주 후 배발생 캘러스 및 체세포배 발생을 조사하였다.

체세포배 형성 및 식물체 재생

정단 및 측아 분열조직으로부터 형성된 배발생 캘러스로부터 효과적인 체세포배의 형성을 위하여 또한 체세포배 발생 및 식물체 재생을 위해서는 MS 기본배지에 30 g/L sucrose, 2.5

g/L gelrite를 넣어 배양에 사용하였으며 casein을 0, 100, 300, 500 mg/L 농도로 각각 첨가하여 4주간 배양하였다. 체세포배 형성률은 접종한 배발생 캘러스의 수에 대한 신초를 형성시킨 캘러스 수의 비로써 표기하였다. 형성된 체세포배는 자엽형배 상태에서 MS 기본배지에 옮겨 정상 식물체로 키웠다.

이차 배발생 캘러스 및 체세포배 형성

2,4-D를 처리하여 얻어진 배발생 캘러스를 MS 기본배지에 옮겨 상기의 형광등 하에서 배양하여 일차 체세포배를 얻었고, 이 중 어뢰형배와 자엽형배를 이용하여 이차 배발생 캘러스 및 체세포배의 형성률을 조사하였다. 먼저 배발생 캘러스로부터 유도된 체세포배를 크기에 따른 이차배와 체세포배 형성률을 비교하고자 2 mm이하, 2~4 mm, 4 mm 이상의 체세포배를 이, 삼 등분 (1 ± 0.2 mm)하고 1 mg/L 2,4-D를 포함한 MS-I 배지에 치상하여 4주 배양한 후 조사하였다. 또한 casein의 영향을 알아보기 위하여 1 mg/L 2,4-D를 포함한 MS-I 배지에 0, 100, 300 mg/L casein 농도로 각각 첨가하고 상기 실험에서 얻어진 가장 효율적인 체세포배의 크기를 이용하여 이차 배발생 캘러스 및 체세포배의 형성률을 조사하였다.

결과 및 고찰

고구마 신천미 품종의 정단 분열조직을 $0.1 \sim 2$ mg/L 2,4-D 와 $0 \sim 500$ mg/L casein를 조합하여 혼용 처리하고 배양한 결과 배양 30일 후, 1 mg/L 2,4-D 이하 첨가배지에서는 90% 이상 생존하였으며, 2 mg/L 첨가한 경우에는 80% 이상의 생존율을 보였다 (Table 1). 캘러스의 형태는 1 mg/L 2,4-D 이하에서는 캘러스가 크고 백색을 띠는 비배발생 캘러스가 대부분을 차지하였다. 반면에 2,4-D 농도가 높을수록 캘러스 덩어리의 크기가 작아지고 2 mg/L 2,4-D에서는 생장점 절편체가 다소 갈변되면서 캘러스의 생장도 지연되는 경향을 나타냈다. Lee 등 (1994)은 고구마 Big One 품종에 있어서 2 mg/L 2,4-D 첨가 배지에서 90% 이상 생존하였으나 4 mg/L 첨가시 절편체가 갈변하고 생장이 억제되었다고 하여 신천미보다 높은 2,4-D 농도에서도 세포의 정상적인 증식이 유지되는 것으로 나타났다. 한편 배양중인 절편체가 도중에 갈변되고 생장하지 못하는 것들이 있었는데 이는 생장점 적출과정에서 생장점 부위에 상처가 가해져 나타나는 현상으로 상처를 주지 않는다면 적정 2,4-D 농도에서 높은 생존율을 유지할 수 있을 것으로 본다. 배양 4주 후 배발생 캘러스의 형성률은 전체적으로 1 mg/L 2,4-D가 기본적으로 첨가된 배지에서 77% 이상의 빈도를 나타냈으며, 2,4-D 단용 처리보다 casein을 첨가해준 경우가 배발생 캘러스의 형성 빈도를 높여주는 경향을 보였다. 이중 특히 1 mg/L 2,4-D에 300 mg/L casein을 혼용한 경우 90% 이상으로 무처리와 비교할 때 현저히 높은 배발생 캘러스 형성률을 나타냈

으며, casein 50, 150 mg/L의 첨가구에서도 2,4-D 단독처리보다 높은 빈도를 보였다. 2 mg/L 2,4-D의 첨가에 있어서 캘러스 생장억제의 영향에 의해 1 mg/L 2,4-D 첨가시보다 낮은 배발생 캘러스 형성률을 보였으나 casein 첨가에 대한 영향은 1 mg/L 2,4-D 첨가 시와 같게 나타났다. Kwon 등 (2002)과 Min 등 (1994)이 고구마의 여러 품종을 이용한 결과 1 mg/L 2,4-D에서 다른 식물생장조절제의 처리보다 더 높은 배발생 빈도를 유지하였으며, 이는 단지 2,4-D의 처리만으로도 고구마의 배발생 캘러스를 쉽게 유도할 수 있다는 것을 확인시켜주었다. Al-Mazrooei 등 (1997)도 여러 품종을 대상으로 배발생 캘러스의 유도율을 조사하였을 때 1~2 mg/L 2,4-D에서 가장 효과적이었다. 한편 casein의 첨가가 식물체 재분화와 세포발달에 효과적인 것으로 나타났는데, 신선한 것과 오래된 두 가지 type의 carrot 세포를 이용하여 배발생 캘러스를 유도하였을 때 두 type 모두 casein+2,4-D를 혼용 처리한 경우에 가장 높은 배를 유도하였고, casein 처리만으로도 2,4-D보다 높은 수의 배를 형성하여 casein의 영향을 나타냈다 (Smith et al. 1997). *Medicago arborea*에 있어서도 배발생 캘러스 생성에 좋은 효과를 나타낸 proline보다 100 mg/L의 casein 처리시 더 높은 빈도의 생성률을 나타냈다. 그러나 500 mg/L 이상에서는 다소 감소되는 경향을 보이기도 하였다 (Hita et al. 2003). 또한 Yordanov 등 (2002)은 sunflower 식물체의 재분화 시 500 mg/L casein 첨가가 캘러스, 잎, shoot 등의 형성과 성장에 좋아 재분화 효율을 증가시켰다고 하였다. 이는 신천미의 배발생에 있어서 casein의 효과를 증명해 주고 있다.

신천미의 배발생 캘러스의 형태는 표면이 매끈하면서 단단하고, 처음에는 노란색의 배발생 캘러스가 형성되고, 배양기간이 지나면서 이들 캘러스에서 적자색의 캘러스가 형성되어

Table 1. Frequency of embryogenic callus and somatic embryo formation from shoot apical meristem explants of sweet potato cv Shinchunmi cultured on MS medium (MS-I) containing 4 g/L gelrite.

2,4-D	Casein	Survival rate (%)	Embryogenic callus formation (%)*	Somatic embryo formation (%)*
0.1	0	95.2±3.4**	23.4±0.5	0
0.5	0	92.4±2.7	37.2±2.1	0
1	0	90.3±4.3	77.2±3.2	17.3±1.2
1	50	90.5±5.1	80.1±3.5	24.1±2.1
1	150	95.0±3.2	84.3±5.1	22.4±0.3
1	300	91.2±2.2	90.1±5.2	26.5±1.1
1	500	90.1±4.4	78.2±2.1	21.2±3.4
2	0	80.0±3.3	65.5±3.4	5.3±1.0
2	50	85.2±2.1	72.2±3.2	10.2±1.0
2	150	85.1±4.4	81.3±0.4	6.4±2.1
2	300	80.3±2.5	70.4±0.2	6.1±1.1
2	500	82.2±1.6	61.4±1.4	4.1±0.5

*Frequency of embryogenic callus and somatic embryo formation were determined after 4 weeks of culture.

**Results are the mean±SD.

비배발생 캘러스와 쉽게 구분되었다. 또한 신천미는 2,4-D를 포함하고 있는 캘러스 유도배지에서 형성된 배발생 캘러스를 배지조건의 변화없이 계속적으로 유지하였을 때 바로 체세포 배가 형성되었으며, 1 mg/L 2,4-D 이하에서는 전혀 체세포배의 형성이 없었으나, 그 이상의 농도에서는 최고 26% 체세포 배발생 빈도를 나타냈다.

배발생 캘러스로부터 체세포배를 유도하기 위해 2,4-D의 농도를 순차적으로 낮추어 계대배양을 하는 방법이 아닌 식물생장조절제를 전혀 첨가하지 않은 MS 기본배지에 바로 옮기고 광조건 하에서 배양한 결과 쉽게 체세포배의 형성을 보였으며, 이와 같은 배지에 자엽형 단계의 체세포배를 배발생 캘러스로부터 각각 분리하여 치상한 결과 효과적으로 건전한 식물체로 성장하였다 (Figure 1). 또한 선별된 거의 모든 배발생 캘러스는 90% 이상 체세포배를 형성시켰다 (Figure 1E). Kwon 등 (2002)은 1 mg/L 2,4-D에서 유도한 배발생 캘러스로부터 체세포배를 유도하기 위해 낮은 농도의 2,4-D를 순차로

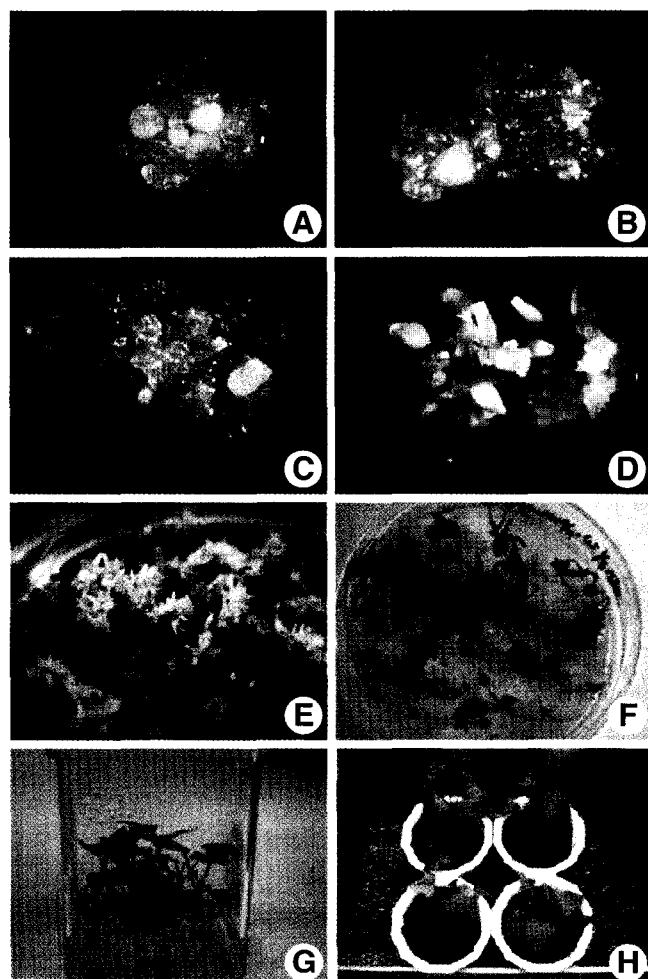


Figure 1. Somatic embryogenesis and plant regeneration in shoot apical meristem cultures of sweet potato cv Shinchunmi. A, Embryogenic callus derived from excised shoot apical meristem; B, Somatic embryos (arrow) formed from embryogenic callus; C, D and E, Somatic embryos from embryogenic callus; F and G, plantlets from somatic embryos; H, Regenerated plants growing on the soil pots.

계대배양한 후 2,4-D 제거배지에서 발생시켰다고 하였다. 그러나 신천미의 경우 배발생 캘러스를 낮은 농도의 2,4-D로 옮겼을 때 캘러스가 커지고 다소 비배발생 캘러스화 되는 경향을 나타내어 품종간의 차이를 보였다.

Casein의 첨가에 의한 체세포배발생과 생장은 식물생장조절제를 첨가하지 않은 MS 기본배지에 300~500 mg/L 농도로 casein을 첨가하였을 때 93% 이상의 형성률을 나타내어 casein 무처리의 경우보다 1.3배 높게 나타났다 (Figure 2). 또한 이들 경우에 초기 10일 이내에 무처리구에 비해 1.8배의 형성률을 나타내어 배양 초기 빠른 체세포배의 발달을 촉진시키는 것으로 나타났다. 체세포배의 형태에 있어서도 casein의 첨가구는 무처리와 비교하여 체세포배가 크고 생장이 빠르게 나타났으며, 광조건 하에서 배양하여 대조구보다 더 진한 녹색을 보였다 (결과 미제시). Schuller 등 (2000)은 *Abies alba*의 체세포배 발달과정에서 1 g/L의 casein의 첨가는 무처리와 비교하여 최소 2배 이상의 체세포배 수를 형성하였으며, 초기·후기 어뢰형과 자엽형 단계의 체세포배의 발달에 있어서도 현저하게 높은 수를 보여 체세포배 발달에 대한 casein의 영향을 시사했다. *Azadirachta indica*에 있어서는 casein의 공급이 배발생 캘러스에서 자엽형배로의 발달을 유도하였고, 자엽형배의 뚜렷한 형태를 갖게 했으며 초기 뿌리형성을 촉진시켰다 (Su et al. 1997). 또한 Prehn 등 (2003)은 *Pinus radiata*의 정단분열 조직으로부터 완전한 식물체 형성시 arginine, spermidine 및 casein 등의 영양원을 각각 공급하였을 때 정단분열 조직의 신장에 casein의 영향이 두드러졌으며, shoot는 다른 처리구보다 진한 녹색의 결과를 보였다고 하였다. 이는 본 실험과 일치하였으며, casein이 질소원으로 엽록소 형성에도 영향을 주고 있는 것으로 사료된다.

체세포배로부터 이차배 유도 실험에서 일차 체세포배의 크기별로 구분하고 일정 크기로 절단하여 치상하였을 때 2 mm

이하 크기의 체세포배로부터 배발생 캘러스는 74%로 그 이상의 크기 보다 1.5배 높은 형성률을 보였으며 (Figure 3), 치상한 체세포배의 크기가 클수록 이차배 발생률이 현저하게 감소하는 것으로 나타났다. 한편 이차 체세포배의 발달에 있어서도 사용한 체세포배의 크기에 따라 배발생 캘러스와 같은 경향을 나타냈으며, 4 mm 이상의 크기에서는 거의 발생되지 않았다. Min 등 (1994)도 부여재래 및 율미 품종에 있어서 1 mm 이하 체세포배를 이용한 경우에 가장 높은 이차 배발생 캘러스를 얻었으며, 체세포배의 크기가 큰 것은 낮은 빈도를 나타내어 신천미와 일치하였다. 또한 부여재래 및 율미에 있어서 상부가 하부 절단체보다 2배 높은 이차배를 형성하였나, 신천미에 있어서 2 mm 이하에서는 구분 없이 같은 빈도로 나타났다. 이는 2 mm 이하에서는 배발생할 수 있는 세포로 구성되어 있는 반면 자엽형 세포로 발달할수록 상부로 생장점이 구분되어 나타나는 형상으로 생각된다.

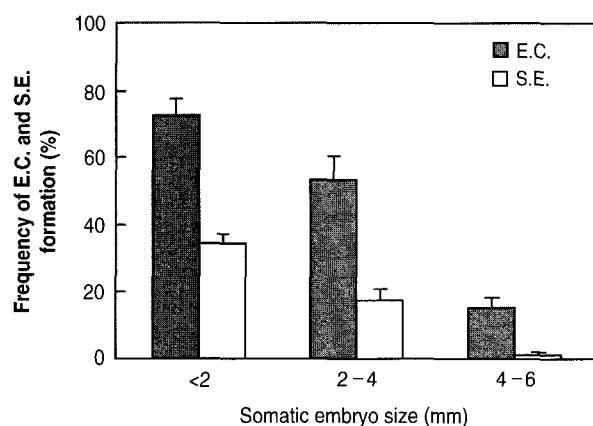


Figure 3. Frequency of secondary embryogenic callus (E.C.) and somatic embryo (S.E.) formation from sliced somatic embryos. Somatic embryos were sliced with a equal size (about 1 ± 0.2 mm) and cultured on MS medium with 1 mg/L 2,4-D. Data were collected after 4 weeks of culture. Vertical bars represent \pm SD.

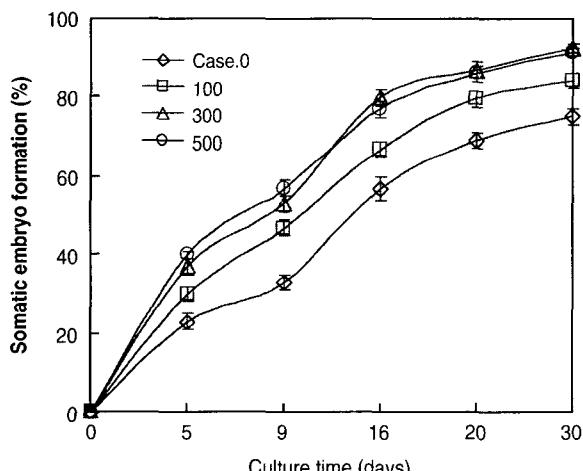


Figure 2. Effect of casein hydrolysate on somatic embryo formation from embryogenic callus during 30 days of culture. Embryogenic callus was cultured on MS medium with 0, 100, 300, 500 mg/L casein (Case.). Vertical bars represent \pm SD.

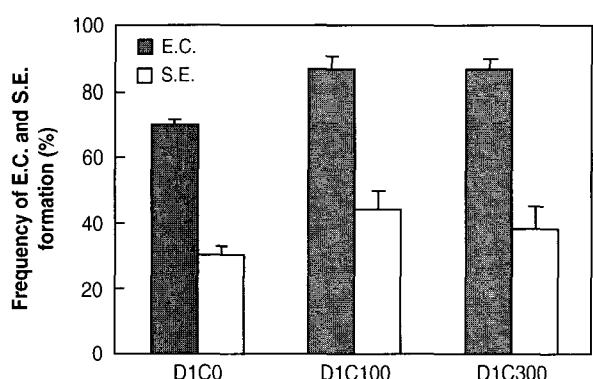


Figure 4. Effect of casein hydrolysate on embryogenic callus (E.C.) and somatic embryo (S.E.) from sliced somatic embryos. Somatic embryos were used below 2 mm in length and sliced with a equal size (about 1 ± 0.2 mm). Somatic embryos sliced were cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L 2,4-D (D) and 0, 100, 300 mg/L casein hydrolysate (C). Vertical bars represent \pm SD.

배발생 캘러스 형성에 효과적인 것으로 나타난 2 mm 이하의 체세포배를 이용하여 이차 배발생 캘러스 형성에 casein의 영향을 확인하고자 절단체를 1 mg/L 2,4-D와 casein이 첨가된 배지에 치상하였다. Casein 첨가시 90% 이상의 높은 배발생 캘러스를 형성하였으며, 체세포배 발달도 45%까지 촉진시켰다 (Figure 4). 이의 결과로부터 신천미는 일차 체세포배로부터 이차 배발생 캘러스 및 체세포배를 쉽게 형성시킬 수 있으며, casein의 첨가로 그 빈도를 높일 수 있다는 것이 확인되었다. 식물체 재분화시에 casein이 기관형성과 세포분화 등의 여러 단계에 효과적인 영향을 미치고 있다. 이는 무기질소원의 경우 그의 수치와 비율이 배지의 pH에 영향을 줄 수 있으며, 배지의 pH는 형태형성에 크게 영향을 미치기 때문에 배지 내에서 완충작용을 하는 casein은 조직의 발달과 분화에 매우 중요한 역할을 한다 (Smith et al. 1997). 또한 casein이 유기질소원으로 식물체에 이용되고 있으며, 무기질소원과 비교하여 조직에 쉽게 흡수될 수 있는데 이는 대사과정 동안 세포는 무기질소보다 유기질소원의 이용에 더 낮은 에너지를 필요로 하기 때문이다 (Schuller et al. 2000).

고구마의 잎, 엽병, 줄기 (Liu and Cantliffe 1984; Dhir et al. 1998; Dessai et al. 1995) 등의 절편체를 이용하여 재분화를 실시하여 왔으나 낮은 분화율을 나타냈으며, 정단분열조직 (Lee et al. 1994; Min et al. 1994; Al-Mazrooei et al. 1997; Kwon et al. 2002)을 이용하였을 때 가장 효과적인 배발생 캘러스와 체세포배가 유도되는 것으로 나타났다. 또한 여러 식물체에서 casein과 같은 질소 영양원을 첨가함으로써 세포발달과 재분화률을 증가시킨다는 것을 알 수 있었다.

고구마의 부가가치 향상과 품종개량의 목적으로 particle bombardment법 (Min et al. 1998)과 *Agrobacterium tumefaciens*를 이용 (Gama et al. 1996)하여 GUS 유전자의 도입, Moran 등 (1998)은 *Bacillus turingiensis*로부터의 delta-endotoxin 유전자를 *A. tumefaciens*를 이용하여 고구마에 형질전환하는데 성공하였다. 그러나 대부분은 낮은 재분화율에 의해서 형질전환에 어려움을 겪고 있다. 따라서 본 연구에서 보고된 재분화 방법은 효과적인 형질전환 수행에 도움을 줄 수 있을 것으로 보여지며, 또한 건전묘의 생산과 유전자원보존을 위한 동결보존 등에 효율적으로 이용될 수 있을 것으로 전망된다.

적 요

고구마의 정단배양에 의한 배발생 캘러스로부터 대량증식체계가 개발되어져 왔다. 고구마 정단분열조직은 1 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 배지에서 배양 4주 경에 최적의 배발생 캘러스가 형성되었다. 또한 2,4-D가 첨가된 배지에 casein을 첨가함으로써 고구마 신천미 품종의 배발생 효율을 최고 90% 이상으로 2,4-D 단독처리보다 현저하게 증가시켰다. 배발생 캘

러스로부터 체세포배의 유도는 식물생장조절제가 제거된 MS 기본배지에서 효과적으로 형성되었으며 300~500 mg/L casein을 첨가한 배지에서는 더 높은 형성 빈도와 녹색의 단단한 체세포배가 발달하였다. 한편, 2 mm 이하의 체세포배로부터 이차 배발생 캘러스 형성 및 체세포배의 발달이 100~300 mg/L casein의 첨가에 의해 증가하였다. 배발생 캘러스에서 얻어진 체세포배는 직접 MS 기본배지에서 쉽게 각 기관이 형성되었으며, 발근과 shoot를 발달시켜 정상적인 식물체로 하여 토양에 성공적으로 옮겨 심을 수 있었다.

사사 - 본 논문은 농진청 바이오그린사업과 작물유전체사업단의 연구비지원 일부를 지원 받아 수행되었습니다.

인용문현

- Al-Mazrooei S, Bhatti MH, Henshaw GG, Taylor NJ, Blakesley D (1997) Optimisation of somatic embryogenesis in fourteen cultivars of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.]. *Plant Cell Rep* 16: 710-714
- Dessai AP, Gosukonda RM, Blay E, Dumenvyo CK, Medina-Bolivar F, Prakash CS (1995) Plant regeneration of sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) from leaf explants in vitro using a two-stage protocol. *Sci Hortic* 62: 217-224
- Dhir SK, Oglesby J, Bhagsari AS (1998) Plant regeneration via somatic embryogenesis, and transient gene expression in sweet potato protoplasts. *Plant Cell Rep* 17: 665-669
- Gama MICS, Leite RPJr, Cordeiro AR, Cantliffe DJ (1996) Transgenic sweet potato plants obtained by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. *Plant Cell Tiss Org Cult* 46: 237-224
- Hita O, Gallego P, Villalobos N, Lanas I, Blazquez A, Martin JP, Fernandez J, Martin L, Guerra H (2003) Improvement of somatic embryogenesis in *Medicago arborea*. *Plant Cell Tiss Org Cult* 72: 13-18
- Kwon EJ, Kwon SY, Kim MZ, Lee JS, Ahn YS, Jeong BC, Kwak SS, Lee HS (2002) Plant regeneration of major cultivars of sweet potato (*Ipomoea batatas*) in Korea via somatic embryogenesis. *Kor J Plant Tiss Cult* 29: 189-192
- Lee EM, Fujioka S, Sakurai A, Moon CS, Roh TH (1994) Effects of growth regulators on plant regeneration in shoot-tip-derived embryogenic callus cultures of sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Kor J Plant Tiss Cult* 21: 281-286
- Liu JR, Cantliffe DJ (1984) Somatic embryogenesis and plant regeneration in tissue cultures of sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Plant Cell Rep* 3: 112-115
- Min SR, Jeong WJ, Lee YB, Liu, JR (1998) Genetic transformation of sweet potato by particle bombardment. *Kor J Plant Tiss Cult* 25: 329-333
- Min SR, Liu JR, Rho TH, Kim CH, Ju JI (1994) High frequency

- somatic embryogenesis and plant regeneration in tissue cultures of Korean cultivar sweet potatoes. Kor J Plant Tiss Cult 21: 157-160
- Moran R, Garcia R, Lopez A, Zaldua Z, Mena J., Garcia M, Armas R, Sormonte D, Rodriguez J, Gomez M, Pimentel E (1998) Transgenic sweet potato plants carrying the delta-endotoxin gene from *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*. Plant Sci 139: 175-184
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15: 473-497
- Prehn D, Serrano C, Mercado A, Stange C, Barrales L, Patricio AJ (2003) Regeneration of whole plants from apical meristems of *Pinus radiata*. Plant Cell Tiss Org Cult 73: 91-94
- Schuller A, Kirchner-NeB R, Reuther G (2000) Interaction of plant growth regulators and organic C and N components in the formation and maturation of *Abies alba* somatic embryos. Plant Cell Tiss Org Cult 60: 23-31
- Smith RA, Jacobs D, Desai D, Gruber J, Kittipongpatana N, Godin W (1997) Optimization of culture medium extends response time of embryogenic carrot cells but does not restore initial high response of young cultures. Plant Cell Tiss Org Cult 49: 63-65
- Su WW, Hwang WI, Kim SY, Sagawa Y (1997) Induction of somatic embryogenesis in *Azadirachta indica*. Plant Cell Tiss Org Cult 50: 91-95
- Yordanov Y, Yordanova E, Atanassov A (2002) Plant regeneration from interspecific hybrid and backcross progeny of *Helianthus eggertii* × *Helianthus annuus*. Plant Cell Tiss Org Cult 71: 7-14

(접수일자 2004년 2월 26일, 수리일자 2004년 3월 23일)