

GA₃ 처리에 의한 인삼 재분화 식물체의 토양 순화

김영창, 박홍우, 김옥태, 방경환,김장욱, 현동윤, 김동휘, 차선우, 최재을^{1*}

농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부, ¹충남대학교 농업생명과학대학 식물자원학과

Soil Acclimatization of Regenerated Plants by Gibberellic Acid Treatments of *Panax ginseng* C. A. Meyer

Young Chang Kim, Hong Woo Park, Ok Tae Kim, Kyong Hwan Bang, Jang Uk Kim,
Dong Yun Hyun, Dong Hwi Kim, Seon Woo Cha and Jae Eul Choi^{1*}

Department of Herbal Crop Research, National Institute of Horticultural & Herbal Science,
Rural Development Administration, Eumseng 369-873, Korea

¹College of Agriculture & Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract - We established that regenerated plants of *Panax ginseng* were directly transplanted into the soil without the acclimatization process. When regenerated plants were treated at the concentration of 0.4 mg l⁻¹ for 9 hr before transplantation into the soil, our results showed that the survival rate of them was the highest. The optimal size of the root was above 4 cm in length and 0.4 g by weight before transplantation into the soil. The highest survival rate increased to 59.6%. After 4 years of cultivation in the fields, our results showed that there were no significant morphological differences between regenerated plants and wild-type ginseng. Also, we obtained healthy seeds from regenerated plants. This study provides the basis for a relatively rapid multiplication of selected genotypes and will allow a much more rapid evaluation of the germplasm of the unexplored and unstudied Korean ginseng.

Key words - Acclimatization, Gibberellic acid, Ginseng, Tissue culture

서 언

인삼(*Panax ginseng* C. A. Mey.)은 해가림 아래의 특수한 환경에서 재배되기 때문에 재배관리가 매우 까다롭고, 환경 조건에 따라서 생육의 차이가 심하게 나타나는 다년생 작물이며, 2년생에서도 종종 개화를 하나(Chung *et al.*, 1989) 일반적으로 고유 형질이 발현되는 4년생을 한세대로 본다(Kwon *et al.*, 1998). 인삼은 종자 수확시 주당 종자 수확량은 4년생에서 40~60립 정도밖에 채종할 수 없으며, 중식배율이 10배 정도로 타 작물에 비해 상당히 낮은 실정이다. 이로 인해 품종 보급이나 우량 계통 증식시 많은 시간이 소요된다. 인삼의 증식률을 높일 수 있는 방법은 세대를 빨리 진전시켜 종자를 수확하는 것이 효과적이나 인삼은 자연 상태에서 낙엽 후 90~100일 정도 저온을

거쳐야만 휴면이 타파되어 출아를 하게 된다(An *et al.*, 1985). 휴면 타파 후 온실에서 재배되어 종자를 수확하게 되더라도 수확된 종자 개감시 90~100일 소요되며, 개감 후 또한 저온처리도 일정기간 요구된다(Kwon *et al.*, 2001). 최근 세대 촉진을 위해서 수경재배(Kim. *et al.*, 2010) 방법을 시도하였으나, 개감 기간 및 휴면타파 방법이 정립되지 않았을 뿐만 아니라 정립이 되더라도 대규모 증식을 위해서는 공간면에서 한계가 있는 현실이다. 그러므로 단기간 내 대량증식과 협소한 공간 문제 등의 문제점을 해결하기 위하여 조직배양을 많이 이용하고 있는데 조직배양을 통한 식물체 재생기술은 단기간에 우량하고 동일한 형질을 지닌 식물체를 대량생산 할 수 있다(Chen, 1987; Kim. *et al.*, 2009). Butenko *et al.*(1968)은 최초로 인삼의 배발생에 관한 연구결과를 보고한 아래 여러 연구자들이 인삼 조직배양을 통한 식물체의 재생을 보고하였다(Choi *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2006). Kim *et al.*(2006)

*교신저자(E-mail) : choije@cnu.ac.kr

은 고려인삼 1개의 종자로 25~40개의 재분화 식물체를 생산할 수 있다고 보고하였으며, 미국삼(*Panax quinquefolius L.*)에서도 기내에서 대량 증식할 수 있는 기술을 향상시켰다고 보고하였다(Zhou and Brown, 2006).

인삼의 조직배양으로 기내에서 재분화 식물체를 생산하고 보존하는 기술이 확립되어 재분화 식물체를 생산하기까지는 큰 어려움은 없다. 하지만, 인삼은 최종적으로 노지에서 재배되어 뿌리와 종자를 수확해야 하기 때문에 재분화 식물체를 노지에 이식하여 재배하여야만 한다. 재분화 식물체를 노지에 이식하기 위해서는 일정기간 적정 조건에서 순화과정을 거쳐야 한다. 현재까지 북미삼에서 재분화 식물체를 순화과정을 거쳐 pot 상태에서 재배에 성공한 적은 있으나(Zhou and Brown, 2006), 일반 토양에 이식하여 장기간 재배하여 성공한 사례는 없으며, 특히 3년 이상 토양에서 생존한 연구 결과는 보고된 바 없다. 재분화 인삼 식물체를 토양 순화에 성공한다면 우량 계통의 종자증식을 급속히 진행할 수 있고, 시간과 비용 면에서 효율적으로 개선할 수 있어 인삼의 육종 효율을 상당히 증진시킬 수 있을 것이다. 따라서 본 연구는 인삼 재분화 식물체의 토양 순화를 위해 이식 전 순화과정을 단축하고 생존율을 높일 수 있는 기술을 개발하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

공시 재료

본 실험에 사용된 공시 종자는 농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부에서 생산된 인삼 품종 연풍의 종자를 채종하여 개갑처리를 한 후 사용하였다.

캘러스 유도 및 재분화 식물체 생산

기내에서 재분화 식물체를 생산하기 위하여 개갑된 종자에서 배를 적출하여 5% sucrose와 1% agar가 첨가된 MS 배지(Kim et al., 2006)에 치상하여 캘러스를 유도하였다. 유도한 캘러스에서 체세포 배를 적출하여 2개월 동안 배양하여 Kim et al.(2009) 방법에 따라 재분화 식물체를 유도하였다. 식물체는 23°C 배양실에서 배양하였다. 재분화 식물체의 뿌리 길이를 2 cm 미만, 2~4 cm 미만, 그리고 4 cm 이상으로 구분하였으며, 재분화 식물체의 뿌리 무게에 따라 0.2 g 미만, 0.2~0.4 g 미만, 그리고 0.4 g 이상으로 구분하였다.

GA₃ 처리

기내에서 생산된 재분화 식물체에 이식하기 직전 GA₃를 처리하였다. 1차 중류수에 혼합한 GA₃ 농도는 0.4, 1, 5 mg l⁻¹ 그리고 10 mg l⁻¹으로 처리하였고 대조구로 무처리를 두었으며, pH는 5.7로 맞추었다. 처리 시간은 3, 6, 9, 12시간으로 구분하여 처리하였다. 각 처리당 30개체를 사용하여 3반복으로 수행하였다. 재분화 식물체는 Petridish에 치상한 후 각각의 처리 농도에 따라 식물체 뿌리가 잡기도록 침지 시켰다.

포장 재배법 및 생육 조사

재분화 식물체를 토양에 이식하기 위해 인위적으로 인삼의 양직모밭에 이용하는 토양을 제조하였다. 토양의 제조는 GAP 표준재배지침서(RDA, 2009)에 따라 제조하였으며, 토성은 질참흙이며, 토양 화학성을 분석한 결과는 Table 1과 같다.

뿌리 길이별로 30개체를 3반복하여 90개체씩 GA₃를 시간대별로 침지한 후 재분화 식물체를 꺼내어 1차 중류수로 헹군 후 물기가 약간 마른 다음 토양에 바로 이식하였다 (Fig. 1). 이식시 흙의 경사면을 45°로 한 후 재분화 식물체를 치상하였으며, 치상한 후 약 2 cm 깊이로 흙으로 덮었다. 흙을 덮은 후 지표면이 마르지 않도록 짚으로 덮어주었다. 이식 후 3개월까지 생존한 개체는 순화에 성공한

Table 1. Soil chemical properties in the experimental field

pH (1 : 5)	OM (g/kg)	P ₂ O ₅ (mg/kg)	Ex.cation(cmol ⁺ /kg)			EC (dS/m)
			K	Ca	Mg	
5.6	15.3	105	0.38	3.7	1.5	0.45



Fig. 1. The planting into the soil of regeneration plants.

것으로 간주하였다. GA₃ 처리가 완료된 후 재분화 식물체는 해가림 시설이 갖추어진 곳에 이식 하였다. 해가림 시설은 GAP 표준재배지침서(RDA, 2009)의 기준에 준하여 설치하였으며, 차광망은 청3 흑1의 4중직을 피복하였다.

이식된 재분화 식물체 중 생존한 식물체에 대해서 지상부는 초장, 경장, 엽장, 엽폭 등을 매년 조사하였으며, 지하부는 3년생의 근장, 근중, 동체장, 근직경 등의 특성 조사를 실시하였다.

결과 및 고찰

GA₃ 처리농도 및 시간에 따른 재분화 식물체의 생존율

GA₃ 처리농도 및 시간에 따른 재분화 식물체의 생존율을 이식 3개월 후에 조사한 결과는 Table 2와 같다. GA₃를 처리하지 않은 재분화 식물체는 전혀 생존하지 않았다. 0.4 mg l⁻¹ 농도로 3, 6, 9, 12시간 처리한 경우에 생존율은 각각 5.2, 24.5, 59.6, 24.8%였고, 1 mg l⁻¹ 농도에서

Table 2. Effect of GA₃ concentration and treated time (hr) on survival rate of regenerated plants in the field

Concentration of GA ₃ (mg l ⁻¹)	Treated time(hr)	No. plants of survived	Survival rate(%)
Control	-	0	0
0.4	3	4.7	5.2 ± 2.9c ^z
	6	22.1	24.5 ± 7.4b
	9	53.6	59.6 ± 3.9a
	12	22.3	24.8 ± 12.0b
1	3	9.3	10.3 ± 2.7c
	6	19.6	21.8 ± 1.7b
	9	39.3	43.7 ± 10.5a
	12	18.3	20.3 ± 8.2b
5	3	14.2	15.8 ± 1.7b
	6	21.0	23.3 ± 8.8a
	9	15.3	17.0 ± 8.4b
	12	15.3	17.0 ± 6.1b
10	3	14.7	16.3 ± 3.9b
	6	17.6	19.6 ± 2.8a
	9	14.3	15.9 ± 9.3b
	12	12.3	13.7 ± 5.5b

^zMeans followed by the same letters are not significantly different at P = 0.05 of DMRT.

는 10.3, 21.8, 43.7 20.3%, 5 mg l⁻¹ 농도에서는 15.8, 23.3, 17.0, 17.0%, 10 mg l⁻¹ 농도에서는 16.3, 19.6, 15.9, 13.7%였다. 이와 같이 0.4 mg l⁻¹로 9시간을 처리하였을 때 토양에서 생존율은 59.6%로 가장 높게 나타났으며, 그 다음이 1 mg l⁻¹에서 9시간 처리하였을 때 43.7%의 생존율을 나타냈다. 반면, 5, 10 mg l⁻¹ 농도에서 장시간 처리하여 이식하였을 경우 생존율이 떨어졌는데 이는 식물 생장조절제의 농도가 높을수록 신초 발근율이 감소한다는 보고(Emst, 1994; Malabadi *et al.*, 2004)와 같은 경향을 나타내었다.

재분화 식물체의 뿌리 길이에 따른 생존율

Table 2의 결과에 따라 GA₃의 0.4 mg l⁻¹의 농도에서 9시간 처리하여 포장에 이식하여 3개월 후에 포장 생존율을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 뿌리 길이가 2 cm 미만인 재분화 식물체의 생존 개체수는 9개체로 생존율이 10%였고, 2~4 cm 미만에서는 26개체로 28.8%가 생존하였다. 재분화 식물체의 뿌리 길이가 4 cm 이상일 때는 48개체가 생존하여 생존율은 53.3%로 처리 중 가장 높게 나타났다. 이상의 결과 이식 전 재분화 식물체 뿌리의 적정 길이는 4 cm 이상으로 하는 것이 생존율을 높일 수 있는 것으로 나타났다.

재분화 식물체의 뿌리 무게에 따른 생존율

재분화 식물체 뿌리 무게에 따라 토양에 이식한 후 생존

Table 3. Comparison of survival rate by root length of plantlets transplanted

Root length (cm)	No. of plant transplanted	No. of plants survived	Survival rate(%)
< 2 cm	90	9	10.0
2~4 cm	90	26	28.8
> 4 cm	90	48	53.3

Table 4. Comparison of survival rate by root weight of plantlets transplanted

Root weight (g)	No. of plant transplanted	No. of plant survived	Survival rate(%)
< 0.2 g	90	0	0
0.2~0.4 g	90	8	26.6
> 0.4 g	90	14	46.7

율을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 뿌리의 무게가 0.2 g 미만은 생존주가 전혀 없었으며, 0.2~0.4 g 미만에서는 26.6%가 생존하였다. 4 g 이상일 때는 46.7%가 생존하여 가장 높은 비율을 나타냈다. Table 3과 Table 4에 의하면 토양 이식시 적합한 재분화 식물체 뿌리의 길이는 4 cm 이상, 무게는 0.4 g 이상으로 나타났다. 이상의 결과에서 뿌리 길이가 적정 수준을 갖추었어도 적정 무게가 되지 않고 가늘게 자라면 생존율이 떨어지기 때문에 뿌리의 무게가 적정 수준에 도달해야 생존율을 높일 수 있는 것으로 나타났다.

생존한 식물체의 지상부 및 지하부 특성

이식하여 생존한 재분화 식물체에 대해 매년 특성 조사

를 실시한 결과는 Table 5와 같다. 이식 당해 연도의 지상부와 지하부는 일반 인삼과는 달리 기형을 나타냈으나, 이듬 해부터 정상적인 상태로 복귀하여 종자나 묘삼으로 재배한 인삼과 비교하여 형태학적으로 차이를 나타내지는 않았다(Fig. 2). 4년생 때 지상부 생육 특성을 조사한 결과 초장은 35.3 cm, 경장은 18.3 cm, 엽장은 12.1 cm, 엽폭은 4.8 cm로 이식 재배한 연풍의 생육 특성과 비교해 보면 재분화 식물체의 생육이 불량한 것을 볼 수 있었다(Table 5). 이러한 차이는 재분화 식물체는 한 개체당 0.4 g 정도 되는 것을 이식을 했으나, 이식재배 묘삼은 1 g 내외 이므로 이식 당시부터 생육의 차이가 나기 때문으로 사료된다. 생육이 전전한 개체는 3년생부터는 개화·결실하여 5개체에서 종자를 수확하였으며, 수확한 종자는 후대를

Table 5. Agronomic characteristics of regenerated ginseng plants in the field

Year	Plant height (cm)	Stem length (cm)	Stem diameter (mm)	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Petiole length (cm)	Flowering period(m. d)	No. of seeds
1yr	13.8e ^z	6.2d	1.6d	5.7d	3.0e	4.7d	-	-
2yr	19.5e	6.0d	2.1d	7.9d	3.9d	5.1c	-	-
3yr	29.0d	11.0b	2.8c	10.0c	4.5c	4.7d	5.10	5e
4yr	35.3c	18.3b	3.8c	12.1bc	4.8c	5.2c	5.15	11d
5yr	45.5b	25.5a	5.5b	13.5b	5.5a	6.5b	5.13	18c
6yr	50.7a	27.5a	6.3a	16.3a	5.8a	7.5a	5.15	21b
Conl.(4yr ^y)	49.3a	25.6a	6.9a	13.1b	5.2b	5.3c	5.14	35a

^zMeans followed by the same letters are not significantly different at P = 0.05 of DMRT.

^yGinseng grown for 4 years after transplanting seedlings grown in the field.

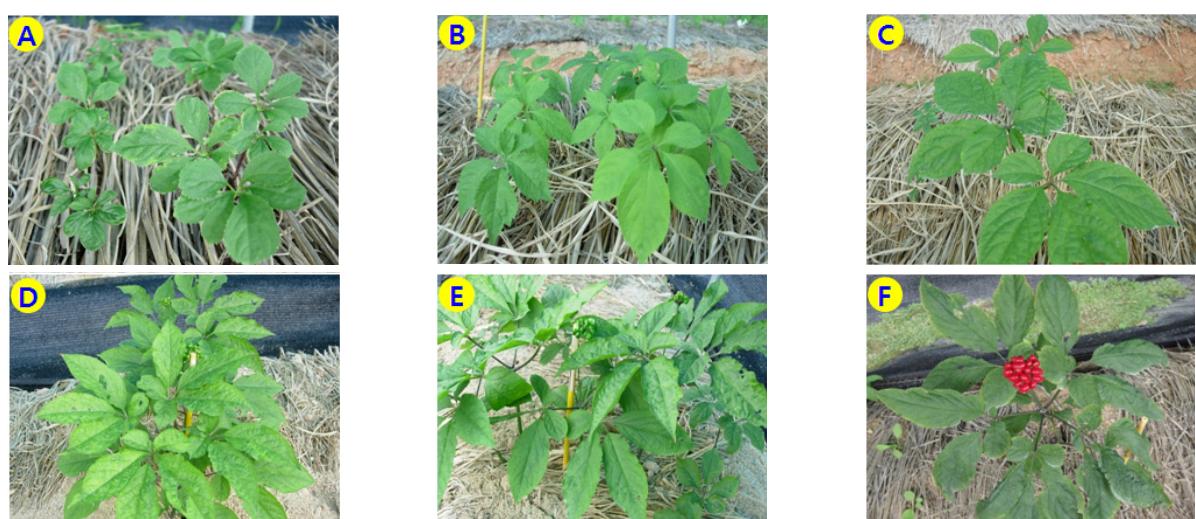


Fig. 2. Yearly growth of ginseng of regenerated plants in the field for six years. Alphabetical order (A~F) means cultivation periods from first to sixth year.

Table 6. Root growth characteristics of regenerated plants in the field

Year	Root length (cm)	Taproot length (cm)	Root width (cm)	Root weight (g/plant)
1yr	7.5cz	1.6d	0.5c	1.3d
2yr	9.7c	2.4c	0.9b	4.5c
3yr	15.3b	4.5b	1.8a	9.4b
Conl.(3yry)	19.2a	6.5a	2.0a	12.3a



Fig. 3. Root growth characteristics of regenerated plant by year-old. A: 3yr, B: 2yr, C: 1yr-old root.

계속 이어가고 있으며, 최초로 이식하여 생장중인 것은 현재 6년생이다(Fig. 2).

지하부 특성은 3년생 때 1회 조사하였다. 근장은 15.3 cm, 동장은 4.5 cm, 동직경은 2.1 cm, 그리고 근중은 15.4 g으로 지하부도 지상부와 마찬가지로 대조구인 묘삼을 이식한 인삼에 비하여 생육이 불량하였다(Table 6, Fig. 3).

식물 조직배양 기술은 육종 연한 단축, 대량 증식(Kim et al., 2009; Kim et al., 2010), 의약품 생산(Kwon et al., 2009) 등 다양한 분야에서 이용되고 있다. 인삼의 경우 부정근을 이용하여 식물생산공장에서 생산된 배양근(Kwon et al., 2003; Han et al., 2008)은 여러 분야에 이용되고 있으며 이를 재료로 한 많은 산업체에서 생산 및 판매되고 있다. 반면 인삼의 재분화 식물체에 대한 연구가 기내에서는 활발히 연구가 되었으나, 재분화 식물체가 포장에 이식되어 3년 이상 재배에 성공한 예가 없다.

본 연구에서 재분화 식물체를 순화 과정없이 포장 이식에 성공함으로써 순화 과정에서 발생하는 노동력과 비용, 그리고 시간을 절약할 수 있게 되었다. 포장 이식 성공률은

30~40%로 아주 높지는 않지만 향후 우수한 순화 기술을 개발한다면 상당한 수준까지 성공률을 높일 수 있을 것으로 기대된다. 이를 위해서는 인삼 재분화 식물체를 짧은 기간 안에 정상적인 식물체와 유사하게 만드는 기술을 향상시키는 것이 제일 중요하다고 생각된다.

본 연구를 통하여 개발된 기술은 우량 형질을 보유한 유전자원 및 F_1 을 대량증식할 수 있을 뿐만 아니라, 웅성불임 등 종자 증식을 할 수 없는 유전자원의 증식을 통하여 사라져 가는 유전자원을 보존할 수 있는 장점이 있다. 또한 우량한 품종의 조기 및 대량 증식이 가능하여 농가에 순도가 보장된 인삼 품종을 조기에 보급하고 확대할 수 있을 것으로 전망된다.

적 요

본 연구는 인삼 기내에서 생산된 재분화 식물체의 토양 순화를 위해 순화과정을 단축하고 생존율을 높일 수 있는 방법을 개발하기 위하여 실시하였다. GA_3 를 0.4 mg l^{-1} 로 9시간을 처리하였을 때 토양에서 생존율은 59.6%로 가장 높게 나타났으며, 그 다음이 1 mg l^{-1} 에서 9시간을 처리하였을 때 43.7%의 생존율을 나타냈다. 재분화 식물체의 뿌리 길이가 4 cm 이상일 때는 48개체가 생존하여 생존율은 53.3%로 처리 중 가장 높게 나타났으며, 뿌리 무게는 4 g 이상일 때는 46.7%가 생존하여 가장 높은 비율을 나타냈다. 4년생 때 지상부 생육 특성을 조사한 결과, 초장은 35.3 cm, 경장은 18.3 cm, 엽장은 12.1 cm, 엽폭은 4.8 cm로 이식 재배한 연풍의 생육 특성과 비교해 보면 재분화 식물체의 생육이 약간 떨어짐을 볼 수 있었다. 3년생 때 지하부 특성을 보면 근장은 15.3 cm, 동장은 4.5 cm, 동직경은 2.1 cm, 그리고 근중은 15.4 g으로 지하부도 지상부와 마찬가지로 대조구인 묘삼을 이식하여 재배한 처리구에 비하여 생육이 약간 떨어졌다.

인용문헌

- An, S.D., K.T. Choi, C.M. Chung and W.S. Kwon. 1985. Study on the acceleration of breeding cycle of ginseng plant-1. Histological study on the development of bud of ginseng being cultivated in phytotron. Korean J. Breed. 17(4):316-320 (in Korean).
Butenko, R.G., I.V. Brushwitzky and L.I. Slepyan. 1968.

- Organogenesis and somatic embryogenesis in the tissue culture of *Panax ginseng* C. A. Meyer. Botanicheskii Zhurnal. 7:906-913.
- Chen Y.D. 1987. Effect of growth regulators on sweet potato. ARC Training. 1-5.
- Choi Y.E., D.C. Yang and K.T. Choi. 1998. Induction of somatic embryos by macrosalt stress from mature zygotic embryos of *Panax ginseng*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 52:177-181.
- Chung C.M., K.Y. Nam and Y.T. Kim. 1989. Effects of growth regulators on dormancy breaking of dormant bud in *Panax ginseng* C. A. Meyer. Korean J. Breed. 21(1):47-51 (in Korean).
- Emst R. 1994. Effects of thidiazuron on in vitro propagation of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* (Orchidaceae). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 39:273-275.
- Han J.Y., K.H. Chung and G.H. Ryu. 2008. Comparison of physicochemical properties and release characteristics of extruded tissue cultured mountain ginseng. J. Korean Soc. Food Sci. 37(8):1018-1024 (in Korean).
- Kim G.S., D.Y. Hyun, Y.O. Kim, S.E. Lee, H. Kwon, S.W. Cha, C.B. Park and Y.B. Kim. 2010. Investigation of ginsenosides in different parts of *Panax ginseng* cultured by hydroponics. Korean J. Horticultural Sci. Technol. 28(2):216-226 (in Korean).
- Kim J.W., E.G. Choi and J.K. Kim. 2009. Mass production of potato shoots by liquid culture. J. Plant Biotechnol. 36(1):1-6.
- Kim J.W., E.G. Choi, S.C. Oh, S.A. Joo, D.M. You, S.K. Kim and J.K. Kim. 2010. Mass production of potato microtubers by bioreactor culture. J. Plant Biotechnol. 37:110-114.
- Kim O.T., T.S. Kim, D.S. In, K.H. Bang, Y.C. Kim, Y.E. Choi, S.W. Cha and N.S. Seong. 2006. Optimization of direct somatic embryogenesis from mature zygotic embryos of *Panax ginseng* C. A. Meyer. J. Plant Biol. 49(5):348-352.
- Kim Y.C., H.W. Park, O.T. Kim, K.W. Bang, D.Y. Hyun, D.H. Kim and S.W. Cha. 2009. The effects of optimal germination of somatic embryos induced from mature cotyledon explants of *Panax ginseng* C. A. Meyer by giberellic acid. Korean J. Med. Crop Sci. 17(4):238-242.
- Kwon J.H., H.C. Cheon and D.C. Yang. 2003. Production of ginsenoside in callus of ginseng hairy roots. J. Ginseng Res. 27(2):78-85 (in Korean).
- Kwon J.Y., S.H. Cheon, H.R. Lee, J.Y. Han and D.I. Kim. 2009. Production of biopharmaceuticals in transgenic plant cell suspension cultures. J. Plant Biotechnol. 36:309-319.
- Kwon W.S., C.M. Chung, Y.T. Kim, M.G. Lee and K.T. Choi. 1998. Breeding process and characteristics of KG101, a superior of line *Panax ginseng* C. A. Meyer. J. Ginseng Res. 21(1):11-17 (in Korean).
- Kwon W.S., J.H. Lee and M.G. Lee. 2001. Optimum chilling terms for germination of the dehisced ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) seed. J. Ginseng Res. 25(4):167-170 (in Korean).
- Malabadi, R.B., G.S. Mulgund and K. Nataraja. 2004. Efficient regeneration of *Vanda coerulea*, an endangered orchid using thidiazuron. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 76:289-293.
- Rural Development Administration. 2009. Standard Cultivation Guidebook for Good Agricultural Practice of ginseng. pp. 82-107 (in Korean).
- Zhou S. and Brown D.C.W. 2006. High efficiency plant production of North American ginseng via somatic embryogenesis from cotyledon explants. Plant Cell Rep. 25:166-173.

(Received 10 July 2012 ; Revised 27 December 2012 ; Accepted 4 February 2013)