

## 당근의 체세포배로부터 발생한 경정부의 구조적 특성

홍성식, 소웅영<sup>1)</sup>

전남대학교 사범대학 생물교육과, <sup>1)</sup>전북대학교 자연과학대학 생물과학부

### Structural Characteristics of Shoot Apex Developed from Somatic Embryos of *Daucus carota* L.

Sung-Sik Hong and Woong-Young Soh<sup>1)</sup>

Department of Biology Education, Chonnam National University, Kwangju 500-757

<sup>1)</sup>Department of Biological Science, Chonbuk National University, Chonju 560-756, Korea

#### ABSTRACT

The structure of shoot apex in zygotic and somatic embryos of *Daucus carota* L. cv. Hongshim was observed by using SEM and longitudinal sections. Shoot apex of zygotic embryo was of an inverted boat shape, and these of two, three and four cotyledon somatic embryos were of an inverted boat shape, a pyramid shape and a convex diamond shape, respectively. In zygotic embryo shoot apex is consisted of small cells which are arranged in layers (tunica) and show corpus in central region. In somatic embryos shoot apices are consisted of somewhat large cells which are arranged in irregularly or slight regularly.

**Key words:** *Daucus carota* L., somatic embryo, zygotic embryo

#### 서 언

식물조직배양에서 얻어진 체세포배와 접합자배는 외부 형태적인 면에서 차이가 있는 것으로 확인되었고(Ammirato, 1974; Buchheim et al., 1989; Kageyama et al., 1990; Lee and Soh, 1993a,b; Cho and Soh, 1995; Soh et al., 1996), 특히 당근을 비롯한 상당수의 식물에서 자엽의 숫적인 변이가 보고된 바 있다(Kadama and Harada, 1979; Ammirato, 1983. 1987.

1989; Soh et al., 1996; Hong and Soh, 1998).

체세포배는 보통 접합자배보다 발아율이 낮은 것으로 알려져 있는데(Nickel and Yueng, 1993; Wetzstein and Baker, 1993; Soh et al., 1996) 이는 학술적 또는 실용적인 면에서 그 원인을 밝히는 것이 중요한 과제이기 때문에 먼저 형태적으로 접합자배와의 차이점이 밝혀져야 할 것이다.

따라서 본 실험에서는 당근의 접합자배와 체세포배에서 경정부의 구조적 특성을 밝히고자 하였다.

본 연구는 교육부 기초과학연구소 지원 연구비(BSRI-97-4427)의 지원에 의해 수행되었음.

Corresponding author: 홍성식, 광주광역시 북구 용봉동, 전남대학교 사범대학 생물교육과, 500-757

## 재료 및 방법

홍심품종 당근(*Daucus carota* L. cv. Hongshim)의 캘러스를 1mg/l 2,4-D가 첨가된 MS(Murashige and Skoog, 1962)배지에서 2주간 배양하여 배형성 캘러스를 선별하였고, 이 배형성 캘러스를 0.1mg/l 2,4-D가 첨가된 MS 액체배지에서 90 rpm 속도로 1주일간 현탁배양하였다. 증식된 현탁배양 세포괴들은 30 $\mu$ m 및 70 $\mu$ m의 나이론 체로 이중 여과시킨 후 MS 기본배지에 계대배양하여 체세포배를 발생시켰으며(Soh et al., 1966), 이 배를 MS 액체 기본배지에 옮긴 후, 100rpm으로 rotary incubator(HB-201SL Hanback Scientific Co.)내에서 4주간 현탁배양하였다. 배양조건은 16시간 광주기(25 $\mu$ mol/s<sup>-1</sup>m<sup>2</sup>)하에서 25 $^{\circ}$ C로 조절되었다. 비슷한 크기만을 선별하여 채취한 2·3·4자엽의 체세포배와 성숙한 접합자배는 2배로 희석한 FAA용액에 고정하고 parplast에 매몰시켜 종단면의 영구조직 표본을 제작하여 관찰하였다.

한편 경정부의 주사전자현미경(ISI Model SR-50) 관찰은 상기 재료들을 Craf III액에 고정한 후 t-butanol에서 탈수시키고 critical-point dryer에서 건조시킨 다음 금박을 입혀 관찰하였다.

## 결과

### 접합자배

유성생식과정을 거쳐 발생된 접합자배의 전체 길이는 약 1259 $\mu$ m(Table 1)로 자엽(약 550 $\mu$ m)과 배축-유

근(약 658 $\mu$ m)의 길이의 차이는 크지 않다. 주사전자현미경 관찰에서 접합자배 경정부의 입체적인 구조는 2개의 자엽사이에서 자엽과 평행한 방향으로 독립된 보우트형(Fig.1A)으로 나타나며, 장축의 직경(약 110 $\mu$ m)은 단축(약 36 $\mu$ m)에 비해 3배나 길다(Table 2). 경정부를 구성하는 세포들은 치밀하게 배열되어 있으며(Fig.1A), 세포의 크기는 약 10.6 $\mu$ m이다(Table 2). 종단면 관찰에서 경정부는 1~2층의 비교적 작은 세포로 구성된 초층과 비층상의 내체로 구별된다(Fig.2A).

### 2자엽 체세포배

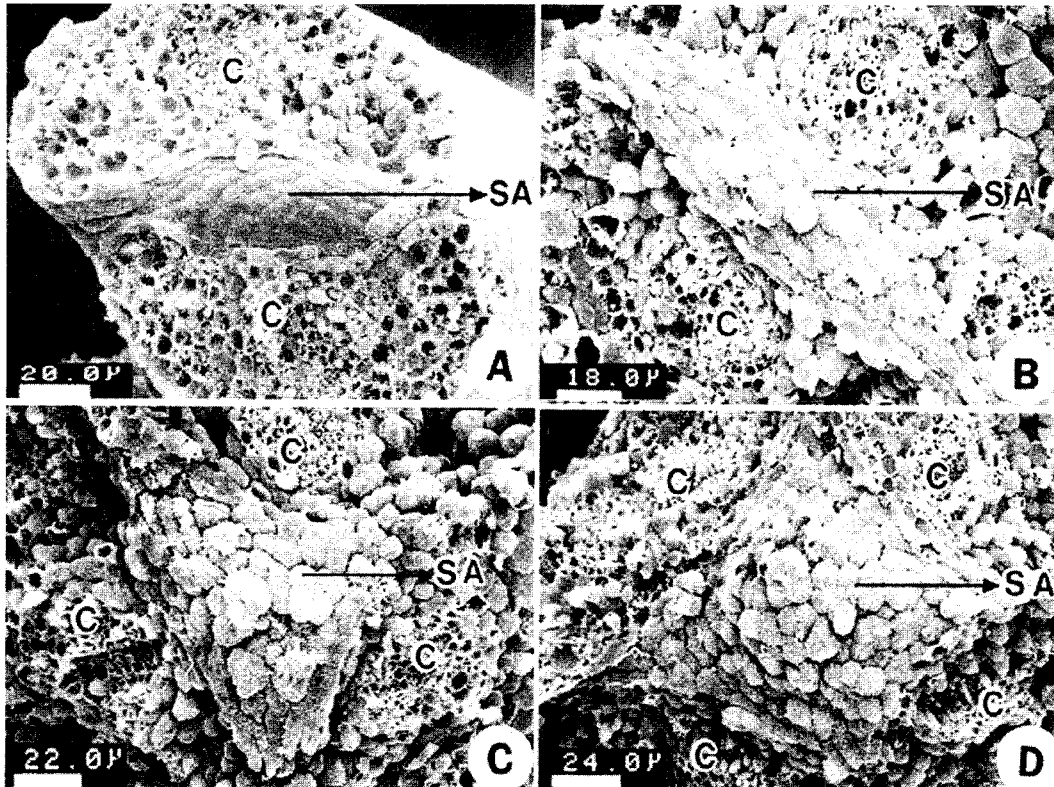
전체 길이는 약 2,000 $\mu$ m이고, 자엽의 길이는 약 256 $\mu$ m로 배축-유근(약 1,753 $\mu$ m)에 비하여 약 1/7 정도였으며, 자엽의 폭은 접합자배에 비하여 좁고 배축은 접합자배보다 더 굵다(Table 1). 주사전자현미경 관찰에서 경정부의 입체적인 구조는 접합자배와 유사한 독립된 보우트형(Fig.1B)이며, 장축의 직경(약 198 $\mu$ m)은 단축(약 54 $\mu$ m)에 비해 약 3.6배 정도 길다(Table 2). 경정부를 구성하는 세포들은 거의 유조직성 세포들로 치밀하게 배열되어 있지 않으며(Fig.2B), 구성세포의 크기는 약 16.3 $\mu$ m이다(Table 1). 종단면 관찰에서 경정부는 초층과 내체의 구별이 없다.

### 3자엽 체세포배

전체 길이는 약 1,850 $\mu$ m이며, 자엽의 길이는 약 180 $\mu$ m로 배축-유근(약 1,630 $\mu$ m)에 비하여 약 1/9 정도이며, 자엽의 폭은 접합자배에 비하여 좁고, 배축은

**Table 1.** A dimensional comparison between zygotic and somatic embryos of *Daucus carota* L.

Dimensional Embryos ( $\mu$ m)	Total length	Cotyledon		Embryo axis	
		Length	Width	Length	Width
Zygotic	1259 $\pm$ 95	550 $\pm$ 54	315 $\pm$ 39	658 $\pm$ 59	350 $\pm$ 38
2-Cotyledon Somatic	2011 $\pm$ 187	256 $\pm$ 27	120 $\pm$ 11	1753 $\pm$ 184	400 $\pm$ 42
3-Cotyledon Somatic	1850 $\pm$ 207	180 $\pm$ 35	110 $\pm$ 15	1630 $\pm$ 250	350 $\pm$ 36
4-Cotyledon Somatic	1920 $\pm$ 310	172 $\pm$ 40	105 $\pm$ 20	1570 $\pm$ 220	340 $\pm$ 25



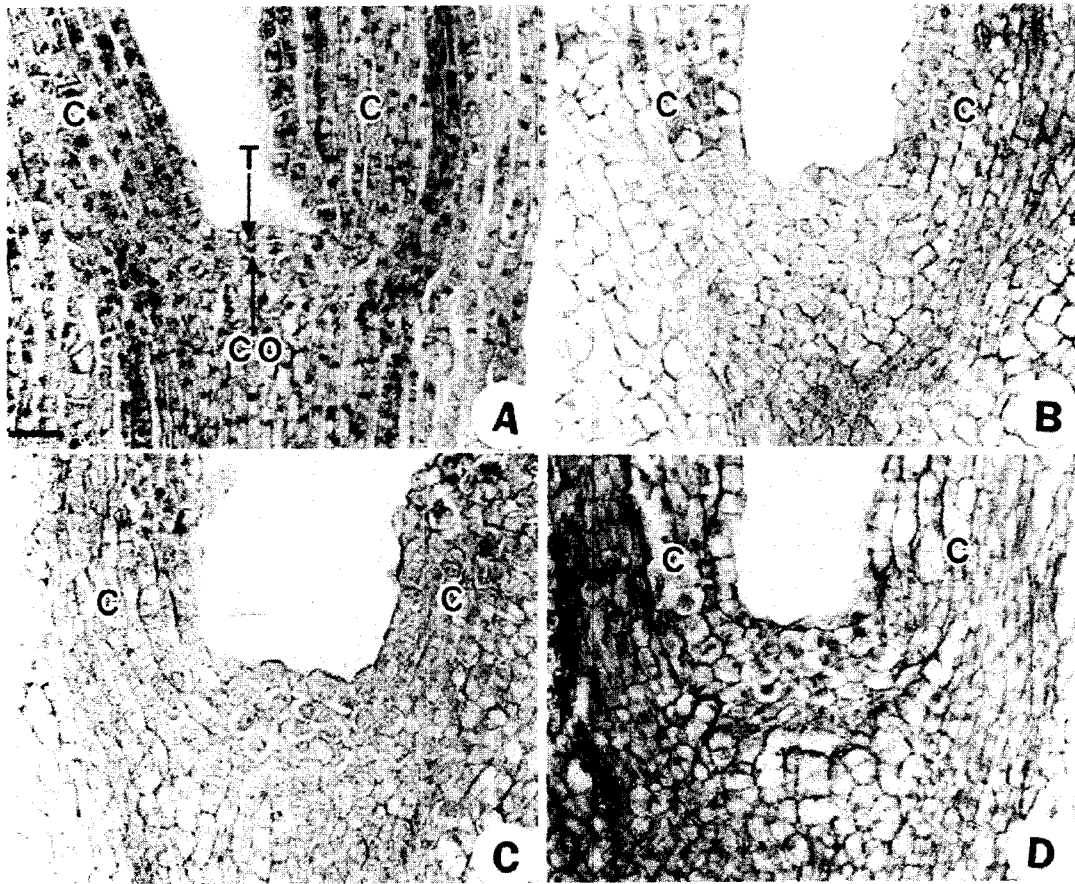
**Fig 1.** SEM micrographs of shoot apex in zygotic and somatic embryos of *Daucus carota*. A. Shoot apex of zygotic embryo with inverted boat shape. Cells of shoot apex arranged tightly. B. Shoot apex of two cotyledon somatic embryo with inverted boat shape. Parenchymatous cells of shoot apex arranged loosely. C. Shoot apex of three cotyledon somatic embryo with pyramid shape. D. Shoot apex of four cotyledon somatic embryo with convex diamond shape. C; cotyledon. SA; shoot apex

**Table 2.** A comparison of structural characteristics of shoot apex between zygotic and somatic embryos of *Daucus carota* L.

Embryos	Diameter( $\mu\text{m}$ )		Cell size	Cellular Characteristics
	Long	Short		
Zygotic	$110.3 \pm 10$	$36.6 \pm 3.2$	$10.6 \pm 1.3$	Meristematic
2-Cotyledon Somatic	$198.5 \pm 32$	$54.6 \pm 2.5$	$16.3 \pm 1.6$	Almost Parenchymatous
3-Cotyledon Somatic	$132.6 \pm 15$	$110.3 \pm 3.3$	$15.3 \pm 1.7$	Almost Parenchymatous
4-Cotyledon Somatic	$180.1 \pm 18$	$107.5 \pm 4.5$	$18.8 \pm 1.6$	Almost Parenchymatous

접합자배보다 더 굵다(Table 1). 주사전자현미경 관찰에서 경정부의 입체 구조는 3개의 자엽사이에서 피라미드형(Fig.1C)으로 나타나며, 장축의 직경(약  $132\mu\text{m}$ )은 단축(약  $110\mu\text{m}$ )에 비해 큰 차이가 없다

(Table 2). 경정부를 구성하는 세포들 역시 2자엽 체 세포배에서와 유사한 유조직성 세포들로 치밀하게 배열되어 있지 않으며(Fig.2C) 구성세포의 크기는 약  $15.3\mu\text{m}$ 이다(Table 2). 종단면 관찰에서 경정부는



**Fig 2.** Longitudinal sections of shoot apex in zygotic and somatic embryos of *Daucus carota*. A. In zygotic embryo shoot apex is consisted of small cells which are arranged in layers(tunica, arrow) and show corpus(arrow) in central region. B-C. Shoot apex of two(B) and three(C) cotyledon somatic embryos are consisted of somewhat large cells which are arranged in irregularly. D. Shoot apex of four cotyledon somatic embryo is consisted of somewhat large cells which are arranged in slight regularly. bar=110 $\mu$ m. T; tunica. CO; corpus.

초층과 내체의 구별이 없다.

4자엽 체세포배 : 전체 길이는 약 1920 $\mu$ m이며, 자엽의 길이는 약 172 $\mu$ m로 배축-유근(약 1570 $\mu$ m)에 비해 약 1/8 정도로 짧고, 자엽의 폭은 접합자배에 비하여 좁고, 배축은 접합자배 보다 더 굵다(Table 1). 주사전자현미경 관찰에서 경정부의 입체 구조는 4개의 자엽 사이에서 불룩한 다이아몬드형으로 나타나며, 표면에서 보면 마름모꼴이다(Fig.1D). 장축의 직경(약 180 $\mu$ m)은 단축(약 107 $\mu$ m)에 비해 약 1.5배 정도 길다(Table 2). 경정부를 구성하는 세포들 역시 2자엽 체세포배에서와 유사한 유조직성 세포들로 치밀

하게 배열되어 있지 않으며(Fig.2D), 구성 세포의 크기는 약 19 $\mu$ m이다. 종단면 관찰에서 경정부는 초층과 내체의 구별이 없다(Fig.8).

## 고 찰

접합자배와 체세포배는 동일한 형태를 가지고 있는 것으로 기재되어 왔지만(Steward et al., 1958), 당근의 접합자배와 체세포배의 경우 외부 형태적인 면에서 큰 차이가 났다. 접합자배는 전체 길이가 약 1259 $\mu$ m이고, 자엽은 약 550 $\mu$ m이며, 배축-유근은 약

658 $\mu$ m이다. 2자엽 체세포배는 전체 길이가 약 2011 $\mu$ m로 더 길지만, 자엽은 약 256 $\mu$ m로 짧기 때문에 결국 배의 주축부의 길이가 긴 것으로 나타났다. 그리고 체세포배는 자엽이 접합자배 보다 짧은 대신 배의 주축부가 길고 굵은 것으로 나타났으며, 이러한 양상은 3·4자엽의 체세포배에서도 비슷한 경향을 보였다.

접합자배와 체세포배 사이의 외부 형태적인 차이 뿐만이 아니라 경정부의 구조에도 차이가 있는 것으로 시사되어 왔다(Ammirato, 1974; Soh, 1993; Lee and Soh, 1993a,b; Soh et al., 1996; Hong and Soh, 1998).

당근의 접합자배와 체세포배에서 경정부의 입체적인 구조는 접합자배의 경우 도립된 보우트형(Fig.1A)이고, 2자엽 체세포배에서도 도립된 보우트형(Fig.1B)이지만 구성세포들이 치밀하게 배열되어 있지 못하다. 3자엽과 4자엽의 체세포배에서는 피라미드형(Fig.1C)과 불룩한 다이아몬드형(Fig.1D)으로 나타났는데, 이러한 결과는 자엽수와 밀접하게 연관된 것으로 판단된다. 경정부의 구조는 자엽수나 엽원기의 발달에 따라 변화될 수 있다는 것이 측백나무(Hong and Soh, 1996)에서 밝혀진 바 있으며 측백나무의 경우 경 정부는 2개의 자엽을 갖는 성숙배에서는 도립된 보우트형이지만 2개의 1엽원기가 발달함에 따라 불룩한 직사각형으로, 다시 4개의 2엽원기가 발달함에 따라 불룩한 다이아몬드형으로 변화된다.

접합자배의 경우는 경 정부는 초충과 내체의 구별이 되나 체세포배에서는 모두 초충과 내체의 구별이 없고, 크고 치밀하게 배열되지 못한 유조직성의 세포들로 구성되어 있기 때문에(Fig.4) 분열조직의 분화가 빈약하여 발아능력이 저조한 것으로 사료된다. 그러므로 발아능력이 충실한 정상 체세포배를 얻으려면 형태학적으로 경정부의 분열조직분화가 정상적으로 일어난 배의 생산 방법이 확립되어야 할 것이다.

## 적 요

당근(*Daucus carota* L. cv. Hongshim)의 접합자배와 체세포배의 경정부의 구조는 주사전자현미경과 종단면 관찰을 통하여 이루어졌다. 접합자배의 경 정부는 도립된 보우트형이고, 2·3·4자엽 체세포배의 경 정부는 각각 도립된 보우트형, 피라미드형 및 불룩한 다이아몬드형으로 나타났다. 접합자배의 경 정부는 다소 작은 세포들로 구성되어 있고, 초충과 내체의 구별이 된다. 체세포배의 경 정부는 다소 큰 세포들이 불규칙하게 배열되어 있다.

## 인용문헌

- Ammirato, P.V. 1974. The effect of abscisic acid on the development of somatic embryos from cells of caraway(*Carum cara* L.). Bot. Gaz. 135: 328-337
- Ammirato, P.V. 1983. The regulation of somatic embryo development in plant cell cultures: Suspension culture techniques and hormone requirements. Bio. Technology 1: 68-74
- Ammirato, P.V. 1987. Organizational events during somatic embryogenesis. In Plant Tissue and Cell Culture. C.E.Green, D.A. Somers, W.P.Hackett and D.D.Biesboer, eds, Alan R. Liss, Inc., New York, pp57-81
- Ammirato, P.V. 1989. Recent progress in somatic embryogenesis. Newsletter, International Association for Plant Tissue Culture 57: 2-16
- Buchheim, J.A., Colburn, S.M. and Ranch, J.P. 1989. Maturation of soybean somatic embryos and the transition to plantlet growth. plant physiol. 89: 768-775
- Cho, D.Y. and Soh, W.Y. 1995. Morphological observation of somatic embryogenesis in leaf culture of *Bupleurum falcatum* L. Korean. J. Plant Tissue Culture 22: 291-297.
- Hong, S.S. and Soh, W.Y. 1995. Structure of shoot apical meristem and leaf development in seedlings of

- Thuja orientalis* L. Plant Morphology 7: 1-10
- Hong, S.S. and Soh, W.Y. 1998. Structural characteristics of vascular tissue in carrot seedlings with anomalous cotyledon developed from somatic embryos. Korean J. Plant Tissue Culture 25: 69-74
- Kageyama, C., Komatsuea. and Nakajima, K. 1990. Effects of sucrose concentration on morphology somatic embryos from immature soybean cotyledons. Plant Tissue culture Letters 7: 108-110
- Kamada, H. and Harada, H. 1979. Studies on the organogenesis in carrot tissue cultures. Ⅱ. Effect of amino acids and inorganic nitrogenous compounds on somatic embembryogenesis. Z. Pflanzenphysiol. 91: 453-463
- Lee, K.S. and Soh, W.Y. 1993a. Somatic embryogenesis and structural aberrancy of embryos in tissue culture of *Aralia cordata* Thunb. Korean J. plant Tissue Culture 20: 77-83
- Lee, K.S. and Soh, W.Y. 1993b. Effects of cytokinins on the number of cotyledons of somatic embryos from cultured cells of *Aralia cordata* Thunb. Korean J. Plant Tissue Culture 20:171-175
- Nickle, T.C. and Yeung, E.C. 1993. Failure to establish to a functional shoot meristem may be a cause of conversion failure in somatic embryos of *Daucus carota*(Apiaceae). Amer. J. Bot. 80:1284-1291
- Soh, W.Y., Cho, D.Y. and Lee, E.K. 1996. Multicotyledonary srtructure of somatic embryos formed from cell cultures of *Dacus carota* L. J. Plant Biol. 39(1): 71-77
- Wetzstein, H.Y. and Baker, C.M. 1993. The relationship between somatic embryos morphology and conversion in peanut(*Arachis hypogaea* L.). Plant Sci. 92: 81-89

(접수일:1999.3.15)

(수리일:1999.5.15)