

## 들잔디 성숙종자로부터 캘러스배양 및 식물체 재분화에 미치는 몇 가지 요인의 영향

이상훈 · 김범수 · 원성혜\* · 조진기\* · 김기용\*\* · 박근제\*\* · 성병렬\*\* · 이효신\*\*\* · 이병현

### Factors Affecting Callus Induction and Plant Regeneration from Mature Seed of Zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.)

Sang-Hoon Lee, Beom-Soo Kim, Sung-Hye Won\*, Jinki Jo\*, Ki-Yong Kim\*\*, Geun Je  
Park\*\*, Byung-Ryul Sung\*\*, Hyo Shin Lee\*\*\* and Byung-Hyun Lee

#### ABSTRACT

In an effort to optimize tissue culture responses of zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.) for genetic transformation, factors affecting callus induction and plant regeneration were investigated. MS medium containing 3 mg/L 2,4-D was optimal for embryogenic callus induction from mature seed. The plant regeneration frequency of 73.3% was observed when embryogenic calli induced in this medium were transferred to N6 medium supplemented with 0.1 mg/L 2,4-D and 5 mg/L BA. Among several basic media, MS and N6 medium were optimal for callus induction and plant regeneration, respectively. Regenerated plants were grown normally when shoots transplanted to the soil. A rapid and efficient plant regeneration system established in this study will be useful for molecular breeding of turfgrass through genetic transformation.

(Key words : Callus, Plant regeneration, Turfgrass, *Zoysia japonica*)

#### I. 서 론

잔디는 현재 지피식물로서 주로 경관보호, 토양침식 방지, 수자원 보호, 공원 및 골프장 등의 조경 및 스포츠용으로 가장 많이 활용되고 있으나, 우리나라의 경우 전국에 걸쳐 잘 자생하는 생육특성과 비교적 높은 사료가치로 인해 옛날부터 가축의 중요한 조사료 자원으로 많이 활용되어 온 야초자원이기도 하다(이,

1995). 잔디는 비교적 저온에서 잘 생육하는 한지형 잔디와 고온에서 잘 자라는 난지형 잔디의 두 가지 생태형으로 분류되고 있다(김, 1994). 한지형 잔디는 북방형 목초 품종들 중 잔디형으로 개발된 품종이 대부분으로서 페스큐류, 라이그래스류, 블루그래스류 및 벤투그래스류가 재배되고 있다. 이들 한지형 품종들은 북방형 목초가 가지는 생육특성과 동일한 특성을 가져 일평균 기온이 15~24℃인 봄과 가을

경상대학교 응용생명과학부, 농업생명과학연구원(Division of Applied Life Science, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea).

\* 경북대학교 농업생명과학대학 (College of Agriculture and Life Science, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea).

\*\* 축산기술연구소 (National Livestock Research Institute, Suwon 441-350, Korea).

\*\*\* 국립산림과학원 (Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea).

Corresponding author : Byung-Hyun Lee, Tel: +82-55-751-5418, Fax: +82-55-751-5410, E-mail: hyun@nongae.gsnu.ac.kr

에 가장 잘 성장하지만, 7~8월의 고온다습한 기후조건에서는 질병이 발생하고 하고현상 (summer depression)을 일으켜 생장이 거의 중지되는 단점이 있다 (전, 1987).

난지형 잔디는 한국잔디 (zoysiagrass, Korean lawngrass, Japanese lawngrass), 버뮤다그래스 및 위핑러브그래스 등이 있으며, 4월부터 생육이 시작되어 6~8월의 25~35°C에서 가장 잘 성장한다. 이들 중 한국잔디류 (*Zoysia* spp.)는 초장이 짧아서 예초에 강하고 심근성이어서 내한성, 내서성이 강하며 조직이 강하여 내담압성에 강한 특성을 갖고 있으나, 온도가 10°C 이하인 10월부터 4월까지의 녹색도가 급격히 떨어져 잎 색깔이 변하면서 휴면에 들어가 녹색도 유지기간이 한지형 잔디에 비해 짧고 휴면기간이 길며 음지에서 잘 자라지 못하는 단점이 있다 (김, 1994). 우리나라에 자생하는 한국잔디는 약 100여 종이 넘는 다양한 종류가 보고되어 있으며, 대표적인 품종으로는 들잔디 (*Zoysia japonica* Steud.)가 우리나라 전국 각지를 포함한 동남아 지역에 자생하고 있으며, 금잔디 (*Zoysia metrella* Merr.)는 주로 대전 이남의 남부지방에 자생하고 있는 잔디로 일본에서는 중잔디, 고려잔디 혹은 조선잔디라고도 불리고 있다. 갯잔디 (*Zoysia sinica* Hance)는 주로 제주도 바닷가에 자생하고, 비단잔디 (*Zoysia tenuifolia* Willd.)는 Korean velvet grass 또는 비로도잔디로도 불리며 중부이남 서해안에 주로 자생하며, 왕잔디 (*Zoysia macrostachya* Fr.)는 중부이남의 바닷가 사토에서 자생하는 것으로 알려져 있다 (김, 1994).

최근 외국에서는 고품질 잔디의 전통육종은 물론 유전자 형질전환에 의한 내병충성, 제초제 저항성 및 각종 환경재해 저항성 신품종 개발 등에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으나 (Chai and Sticklen, 1998; Forster and Spangenberg, 1999; Hansen and Wright, 1999), 우리나라의 경우 아직 잔디에 대한 체계적인 육종이 이루어지지 않고 있는 실정이다. 따라서 경

제적 발전과 더불어 그 이용성이 전 세계적으로 증가됨에 따라 고품질 잔디의 육종에 관한 연구가 시급히 요구되고 있다. 분자유종법에 의한 잔디의 신품종 개발을 위해서는 먼저 체계적이고 효율적인 조직배양을 통한 고효율 식물체 재분화 체계가 확립되어야 한다.

지금까지 들잔디의 조직배양에 관한 연구는 원형질체로부터 식물체 재분화 (Asano, 1989; Inokuma 등, 1996), 성숙종자로부터 캘러스 유도 증식을 위한 배지 및 식물생장조절제 및 첨가물에 대한 연구 등이 보고 된 바 있다 (Han 등, 1996; Shim 등, 1994; Yoo and Kim, 1991). 그러나 잔디는 품종 및 생태형에 따라 캘러스 유도, 증식 및 식물체 재분화 능력에 많은 차이를 보이고 있다 (Han 등, 1996; Yoo and Kim, 1991). 이러한 문제점을 최소화하기 위해서는 재료를 쉽게 구할 수 있고 연중 자유로이 이용될 수 있어야 하며, 비교적 캘러스 증식이 좋고 식물체 재분화에 유리한 캘러스를 선발하여 균일한 형태의 캘러스를 대량 증식하는 조건을 확립해야 한다. 이와 동시에 체세포 변이 발생빈도가 낮으면서 식물체 재분화율은 높일 수 있는 조건을 확립하는 것이 선행되어야 한다.

본 연구는 들잔디의 성숙종자로부터 효율적인 캘러스 유도조건 및 효율적인 식물체 재분화 체계를 확립함으로써 외래의 유용유전자 도입에 의한 신품종 형질전환 들잔디를 생산할 수 있는 기반을 확립하고자 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 식물재료 및 종자소독

들잔디 종자로부터 캘러스 유도 및 식물체 재분화 조건을 확립하기 위한 식물재료로서 들잔디 품종 중 'Zenith'를 이용하였다. 종자의 살균은 Lee 등 (2003)의 방법에 준하여 다음과 같이 실시하였다. 즉 종피를 제거한 종자를 70% 에탄올에서 1분, 30% NaOCl 용액에서 30

분간 교반하면서 표면살균 하였다. 살균한 종자는 멸균수로 3회 세정한 후 멸균된 filter paper에 옮겨 물기를 제거하고 캘러스 유도배지에 치상하였다.

## 2. 캘러스의 유도 및 증식

소독 후 물기를 완전히 제거한 종자를 캘러스 유도배지 즉, 3 mg/L 2,4-D, 1 g/L casein hydrolysate, 1 mg/L thiamin-HCl, 0.25 g/L myo-inositol, 0.7 g/L proline, 30 g/L sucrose가 첨가된 MS배지 (Murashige and Skoog, 1962)에 직접 파종하여 26°C 암상태에서 3주간 배양하여 캘러스를 유도하였다. 종자로부터 유도된 캘러스를 동일성분의 새 배지에 계대한 후 광조건 ( $50 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ )에서 2일간 배양한 다음, 다시 암상태에서 3주간 배양하여 캘러스를 증식시켰다.

## 3. 기본배지 및 성장조절물질의 배양효과

성숙종자로부터 캘러스 유도에 미치는 기본배지의 종류에 따른 배양효과를 조사하기 위하여 3 mg/L 2,4-D, 1 g/L casein hydrolysate, 1 mg/L thiamin-HCl, 0.25 g/L myo-inositol, 0.7 g/L proline, 30 g/L sucrose and 4 g/L gelrite가 각각 첨가된 MS배지, N6배지 (Chu 등, 1975) 및 SH배지 (Schenk and Hildebrandt, 1972)에 살균된 종자를 치상하여 6주간 배양한 후 형성된 캘러스의 수를 조사하여 비교하였다. 성장조절제의 종류와 농도에 따른 캘러스 유도율을 조사하기 위해 MS배지에 2,4-D, NAA 또는 IAA의 농도를 각각 1, 3, 5, 7 및 9 mg/L의 농도로 첨가한 배지에 살균된 종자를 치상하여 6주간 형성된 캘러스의 유도율과 생체중을 조사하였다.

## 4. 캘러스로부터 식물체 재분화

성숙종자 유래의 캘러스로부터 식물체를 재

분화시키기 위한 최적조건을 규명하기 위하여 6주령의 배발생 캘러스를 1 g/L casein hydrolysate, 4 mg/L thiamin-HCl, 0.25 g/L myo-inositol, 0.7 g/L proline, 30 g/L sucrose가 첨가된 MS, SH 또는 N6 배지를 기본배지로 하여 0~3 mg/L 2,4-D와 0~5 mg/L의 BA 또는 kinetin을 조합처리하여 첨가된 재분화배지에 계대배양 하였다. 배발생 캘러스를 24±2°C, 16 h light/8 h dark 조건에서 3주간 배양하여 각각의 처리구에서 형성된 1 cm 이상으로 자란 shoot을 재분화개체로 조사하였다. 재분화된 싹은 1/2 MS 배지에 이식하여 뿌리발생을 유도하여 완전한 식물체로 분화시킨 후 토양에 이식하여 온실에서 재배하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 성장조절물질의 종류와 농도에 따른 배양효과

들잔디의 종자배양에 있어서 캘러스 유도배지에 첨가되는 성장조절물질의 종류와 농도에 따른 배양효과를 규명하기 위하여 예비실험으로 각각의 auxin 종류와 cytokinin 종류의 성장조절물질을 다양한 농도와 조합으로 단용 또는 혼용처리하여 첨가한 배지에서 캘러스유도율을 조사하여 본 결과, auxin 종류의 성장조절물질을 단용처리 했을 때가 cytokinin류와 혼용처리 했을 때보다, 배발생 캘러스의 유도율이 높게 나타났다. 여러 가지 auxin들 중 비교적 높은 캘러스 유도율을 보였던 2,4-D, NAA 및 IAA의 배지 내 첨가농도에 따른 배양 6주 후의 배발생 캘러스의 유도율과 생체중을 비교해본 결과 Table 1과 같았다. 각각의 성장조절물질의 농도를 1-9 mg/L로 첨가한 배지에서의 배발생 캘러스의 유도율은 2,4-D 처리구가 NAA 또는 IAA 첨가구보다 전체적으로 높게 나타났다. 2,4-D 처리구의 경우 3 mg/L 농도로 첨가해 주었을 때 85%의 캘러스 유도율을 나타내었으며

Table 1. Effects of different concentrations of auxins on callus induction from mature seeds of *Zoysia japonica* Steud

Auxins (mg/L)	No. of seeds tested	No. of callus induced <sup>a</sup>	Callus induction (%)	Callus fresh weight (mg) <sup>b</sup>	
2,4-D	1	60	47	78.3	105.9
	3	60	51	85.0	83.1
	5	60	49	81.6	60.2
	7	60	46	76.6	45.9
	9	60	43	71.6	32.8
NAA	1	60	43	71.6	46.1
	3	60	47	78.3	66.8
	5	60	46	76.6	37.6
	7	60	45	75.0	77.0
	9	60	44	73.3	79.3
IAA	1	60	39	65.0	26.8
	3	60	44	73.3	27.0
	5	60	42	70.0	32.8
	7	60	42	70.0	20.6
	9	60	41	68.3	21.0

<sup>a</sup> Mature seeds were cultured on MS medium containing 1~9 mg/L auxins, 1 g/L casein hydrolysate, 1 mg/L thiamin-HCl, 0.25 g/L myo-inositol, 0.7 g/L proline, 30 g/L sucrose and 4 g/L gelrite, and cultured for 6 weeks

<sup>b</sup> Data represent mean of callus fresh weight formed from one seed.

이 보다 높거나 낮은 농도에서는 감소하는 추세를 보였다. 한편 종자 한 개당 형성된 캘러스의 생체중은 1 mg/L 2,4-D 처리구가 105.9 mg으로 가장 높았으며 첨가농도가 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었다. NAA 처리구의 경우 캘러스 유도율은 3 mg/L에서 78.3%로 가장 높았고 캘러스 생체중은 9 mg/L NAA에서 가장 높게 나타났다. IAA 처리구 역시 캘러스 유도율은 3 mg/L IAA에서 가장 높았으며 캘러스 생체중은 5 mg/L IAA에서 가장 높게 나타났다. 전체적으로는 2,4-D 처리구에서 형성된 캘러스가 가장 배발생 캘러스 유도율과 증식속도가 가장 높았으며 NAA와 IAA 처리구의 캘러스의 경우 캘러스의 증식속도가 느렸으며 배양기간이 경과됨에 따라 갈변되는 현상이 나타났다. 들잔디의 조직배양에 있어서 2,4-D의 첨가가 다른 종류의 auxin 첨가에 비해 배발생 캘러스유도에 있어서 보다 효과적이라는 결과가 성숙종자(Bae 등, 2001; Rim 등, 2001;

Shim 등, 1994), 미숙화서 및 미숙배 (Noh 등, 1995), 원형질체 (Inokuma 등, 1996) 배양 등의 결과에서도 보고되어 본 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다.

## 2. 캘러스로부터 식물체 재분화

종자유래의 캘러스로부터 식물체 재분화시에 배지에 첨가되는 성장조절제의 종류와 적정농도를 조사하기 위하여 3 mg/L 2,4-D가 첨가된 캘러스 유도배지에서 6주간 배양한 캘러스를 여러 가지 종류의 auxin과 cytokinin이 첨가된 재분화 배지에서 예비실험을 통하여 처리해 본 결과 2,4-D와 BA의 혼용처리 또는 2,4-D와 kinetin의 혼용처리가 다른 성장조절물질들의 단독 또는 혼용처리에 비해 비교적 높은 재분화율을 나타내었다. 성숙종자 유래의 캘러스로부터 식물체 재분화에 미치는 2,4-D와 BA의 첨가효과를 Table 2에 나타내었다. 식물체 재분

Table 2. Effects of different combinations of 2,4-D and BA on plant regeneration from mature seed-derived calli of *Zoysia japonica* Steud

Growth regulators (mg/L)		No. of calli cultured <sup>a</sup>	No. of plants regenerated	Plant regeneration (%)
2,4-D	BA			
0	1	60	24	40.0
	3	60	30	50.0
	5	60	34	56.6
0.1	1	60	32	53.3
	3	60	38	63.3
	5	60	44	73.3
1	1	60	26	43.3
	3	60	28	46.6
	5	60	34	56.6
3	1	60	20	33.3
	3	60	22	36.6
	5	60	26	43.3

<sup>a</sup> Calli were transferred to N6 medium containing different concentrations of growth regulators with 1 g/L casein hydrolysate, 4 mg/L thiamine-HCl, 0.7 g/L L-proline, 0.25 g/L myo-inositol, 30 g/L sucrose and 4 g/L gelrite, and cultured for 3 weeks.

화에는 0.1 mg/L 2,4-D와 5 mg/L BA 혼용처리구가 재분화율이 73.3%로서 가장 높게 나타났으며, 0.1 mg/L 2,4-D와 3 mg/L BA 혼용처리구에서도 63.3%의 비교적 높은 재분화율을 나타내었다. 그러나 이와 다른 농도의 2,4-D와 BA의 혼용처리구에서는 57% 이하의 낮은 재분화율을 나타내었다.

한편 2,4-D와 kinetin의 혼용처리가 식물체의 재분화에 미치는 효과를 조사하여 본 결과 0.1 mg/L 2,4-D와 5 mg/L kinetin 혼용처리구가 재분화율이 56.6%로서 가장 높게 나타났으며, 1 mg/L 2,4-D와 3~5 mg/L kinetin 혼용처리구에서 53.3%의 재분화율을 나타내었다(Table 3). 전체적으로는 들잔디 성숙종자 유래의 캘러스로부터 식물체 재분화에는 2,4-D와 BA의 혼용처리가 2,4-D와 kinetin의 혼용처리보다 16% 이상 높은 재분화율을 나타내어 훨씬 더 효과적임을 알 수 있었다. 그러나 IAA와 BA 또는 kinetin을 혼용 첨가한 재분화 배지에서의 재분화율은 두 조합 모두 20% 전후의 극히 낮은 재분화율을 보였으며 나머지는 사멸하는 것을

관찰할 수 있었다. 또한 NAA와 BA 또는 kinetin의 혼용처리구 역시 30% 전후의 낮은 재분화율을 나타내었다(결과 미제시). 이러한 결과는 지금까지 보고된 1 mg/L kinetin 첨가가 재분화율이 가장 높았다는 Rim 등 (2001)의 보고, Masahiko 등 (1997)에 의한 들잔디의 줄기 정단조직 배양시 0.1 mg/L NAA와 1 mg/L BA 혼용첨가가 재분화율이 높았다는 보고 및 성숙종자 유래의 캘러스로부터 재분화시에 1 mg/L BA 단용처리가 가장 효과적이라는 Bae 등 (2001)의 결과와는 다른 경향을 나타내는 결과이다. 이러한 결과의 차이는 실험에 사용한 조직부위별 차이 또는 각 실험에 사용한 기본배지 및 기타 배지 첨가물 조성의 차이에 기인하는 것으로 판단된다.

한편 캘러스로부터 식물체 재분화에 있어서 암조건에서 3주간 배양한 후 광조건에서 2일간 배양한 후 다시 3주간 암상태에서 배양하는 것이 암조건에서만 증식시킨 캘러스보다 배발생 캘러스의 형성율이 월등히 높았을 뿐만 아니라, 특히 3 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 배지에

Table 3. Effects of different combinations of 2,4-D and kinetin on plant regeneration from seed-derived calli of *Zoysia japonica* Steud

Growth regulators (mg/L)		No. of calli cultured <sup>a</sup>	No. of plants regenerated	Plant regeneration (%)
2,4-D	Kinetin			
0	1	60	20	33.3
	3	60	28	46.6
	5	60	30	50.0
0.1	1	60	28	46.6
	3	60	30	50.0
	5	60	34	56.6
1	1	60	28	46.6
	3	60	32	53.3
	5	60	32	53.3
3	1	60	12	20.0
	3	60	16	26.6
	5	60	16	26.6

<sup>a</sup> Calli were transferred to N6 medium containing different concentrations of growth regulators with 1 g/L casein hydrolysate, 4 mg/L thiamine-HCl, 0.7 g/L L-proline, 0.25 g/L myo-inositol, 30 g/L sucrose and 4 g/L gelrite, and cultured for 3 weeks.

서 6주 동안 배양한 캘러스를 다시 광조건에서 2~4주간 더 배양한 후에 재분화배지에 옮겨주었을 때 재분화율이 거의 100%까지 증가하는 결과를 나타내었다(결과 미제시). 이러한 배양 기간 중의 광 조건에 따른 자세한 배양효과에 대해서는 현재 조사 중에 있다.

### 3. 기본배지 종류별 배양효과

들잔디의 성숙종자로부터 배발생 캘러스의 유도에 미치는 기본배지의 종류에 따른 효과를 조사하기 위하여 살균된 종자를 각각 배발생 캘러스 유도율이 가장 높았던 3 mg/L 2,4-D와 1 g/L casein hydrolysate, 1 mg/L thiamin-HCl, 0.25 g/L myo-inositol, 0.7 g/L proline, 30 g/L sucrose 및 4 g/L gelrite가 동일하게 첨가된 MS, N6 및 SH 배지에 치상하여 6주간 배양한 후에 형성된 캘러스의 비율을 조사하였다(Table 4). 성숙종자로부터 배발생 캘러스의 유도율은 3종류의 기본배지 중 MS 배지에서 84.2%로 가장 높게 나타났으며, N6 및 SH 배

지에서는 각각 80.8% 및 77.5%의 캘러스 유도율을 나타내어 배발생 캘러스유도에는 MS 배지가 가장 효과적인 것으로 판단되었다. 이와 같은 결과는 들잔디의 종자에서 캘러스 유도시 MS 배지가 효과적이라는 Han 등(1996)과 Inokuma 등(1996)의 연구결과와 일치하는 결과이다.

한편 배발생 캘러스로부터 식물체 재분화에 미치는 기본배지의 종류에 따른 효과를 조사하기 위하여 0.1 mg/L 2,4-D와 5 mg/L BA, 1 g/L casein hydrolysate, 1 mg/L thiamin-HCl, 0.25 g/L myo-inositol, 0.7 g/L proline, 30 g/L sucrose 및 4 g/L gelrite가 동일하게 첨가된 MS, N6 및 SH 배지에 치상하여 3주간 배양한 후의 식물체 재분화율을 조사하여 본 결과 N6 배지에서 73%로 가장 높게 나타났으며 MS와 SH 배지가 각각 63%와 56%의 재분화율을 각각 나타내었다(Table 4). 따라서 들잔디의 배발생 캘러스의 유도에는 MS 배지가, 식물체 재분화에는 N6 배지를 기본배지로 이용하는 것이 효과적일 것으로 판단되었다. 이상의 결

Table 4. Effect of basic medium on callus induction and plant regeneration from mature seed culture of *Zoysia japonica* Steud

Medium	No. of seeds tested <sup>a</sup>	No. of calli induced (%)	No. of calli cultured <sup>b</sup>	Plant regeneration (%)
MS	120	101 (84.2)	100	63.0
N6	120	97 (80.8)	100	73.0
SH	120	93 (77.5)	100	56.0

<sup>a</sup> Mature seeds were cultured on media containing 3 mg/L 2,4-D, 1 g/L casein hydrolysate, 1 mg/L thiamin-HCl, 0.25 g/L myo-inositol, 0.7 g/L proline, 30 g/L sucrose and 4 g/L gelrite, and cultured for 6 weeks.

<sup>b</sup> Calli were transferred to each basic medium containing 0.1 mg/L 2,4-D, 5 mg/L BA, 1 g/L casein hydrolysate, 4 mg/L thiamine-HCl, 0.7 g/L L-proline, 0.25 g/L myo-inositol, 30 g/L sucrose and 4 g/L gelrite, and cultured for 3 weeks.

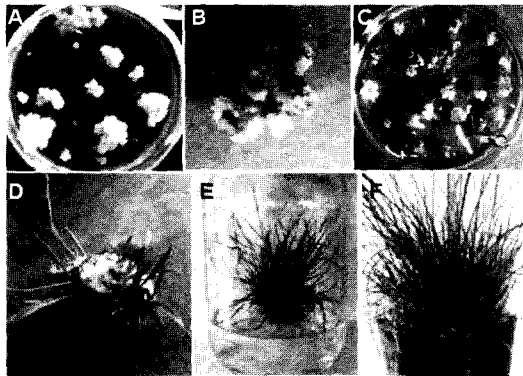


Fig. 1. Plant regeneration from seed-derived callus of zoysiagrass. A, Calli induced from mature seeds cultured on the callus induction medium; B, Embryogenic callus formed from a seed; C, Plant regeneration from embryogenic calli in the regeneration medium; D, Development of multishoots cultured in the regeneration medium; E, Plantlets cultured in the rooting medium; F, Whole plants grown in pots under green house.

과를 요약하면 들잔디 성숙종자로부터 캘러스 유도에는 3 mg/L 2,4-D를 첨가한 MS 배지에서 6주간 배양했을 때 캘러스의 유도율이 가장 높았으며 배발생 캘러스의 형성에도 가장 효율적이었다(Fig. 1A, B). 식물체 재분화는 0.1 mg 2,4-D와 5 mg/L BA가 함유된 N6 배지에서 3~4주간 배양하는 것이 가장 효과적인 것으로 판단되었으며 (Fig. 1C), 이러한 조건에서 재분

화된 신태를 (Fig. 1D) rooting 배지에 옮겨주었을 때 정상적인 완전한 식물체로 분화되었다 (Fig. 1E, F).

본 연구를 통하여 확립된 들잔디의 성숙종자로부터 배발생 캘러스의 효율적인 유도방법 및 70% 이상의 높은 효율을 나타내는 고효율 재분화체계는 고품질 또는 환경스트레스에 대해 강한 내성을 가지는 신품종 형질전환 식물체 개발 등에 있어서 유용하게 이용될 것으로 기대된다.

#### IV. 요약

들잔디 (*Zoysia japonica* Steud.)의 최적 조직 배양 조건을 확립하기 위하여 성숙종자로부터 최적 캘러스 유도 및 효율적인 식물체 재분화에 미치는 몇 가지 요인의 영향을 조사하였다. 성숙종자로부터 배발생 캘러스 유도율은 3 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 배지에서 85%로 가장 높았으며 NAA 또는 IAA를 첨가한 처리구보다 높게 나타났다. 배발생 캘러스로부터 식물체 재분화는 0.1 mg/L 2,4-D와 5 mg/L BA가 첨가된 N6 배지에서 73.3%로 가장 높게 나타났다. 기본배지의 종류에 따른 배양효율의 차이는 배발생 캘러스 유도에는 MS 배지가, 식물체 재분화에는 N6배지가 가장 효과적이었다. 재분화 된 식물체는 1/2 MS rooting 배지에서 뿌리를 형성되어 pot에 이식하였을 때 정상적

으로 분화되어 성장하였다. 본 연구를 통하여 확립된 단기간 고효율 재분화 시스템은 분자육종을 통한 신품종 들잔디의 개발에 유용하게 응용되어질 수 있을 것이다.

## 사 사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업의 연구비 지원에 의해 이루어진 것임.

## V. 인 용 문 헌

- Asano, Y. 1989. Somatic embryogenesis and protoplast culture in Japanese lawngrass (*Zoysia japonica* Steud.). *Plant Cell Reports* 8:141-143.
- Bae, C.H., K. Tohyama, S.C. Lee, Y.P. Lim, H.I. Kim, P.S. Song and H.Y. Lee. 2001. Efficient plant regeneration using mature seed-derived callus in zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.). *Kor. J. Plant Tissue Culture* 28:61-67.
- Chai, B. and M.B. Sticklen. 1998. Applications of biotechnology in turfgrass genetic improvement. *Crop Sci.* 38:1320-1338.
- Chu, C.C., C.S. Wang, C.C. Sun, C. Hsu, K.C. Yin, C.Y. Chu and F.Y. Bi. 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources. *Scientia Sinica* 18:659-668.
- Forster, J.W. and G. Spangenberg. 1999. Forage and turfgrass biotechnology: principles, methods and prospects. In: Setlow JK (eds), *Genetic engineering: principles and methods*, Vol. 21. Kluwer Academic Publishers, New York, pp. 191-237.
- Han, S.S., Y.S. Rim and J.H. Jeong. 1996. Effect of growth regulators, carbon sources and silver nitrate on callus formation and callus formation of turfgrass. *Kor. J. Weed Sci.* 16:221-229.
- Hansen, G. and W.S. Wright. 1999. Recent advances in the transformation of plants. *Trends Plant Sci.* 4:226-231.
- Inokuma, C., K. Sugiura, C. Cho, R. Okawara and S. Kaneko. 1996. Plant regeneration from protoplasts of Japanese lawngrass. *Plant Cell Reports* 15:737-741.
- Lee, S.H., D.G. Lee, J.S. Kim and B.H. Lee. 2003. High-frequency plant regeneration from mature seed-derived callus culture of orchardgrass. *Kor. J. Plant Biotechnology* 30:341-346.
- Masahiko, T., L. Huibao and K. Shunji. 1997. Callus induction and plant regeneration from shoot tip of zoysiagrass. *J. Japanese Soc. Turfgrass Sci.* 25:154-156.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15:473-497.
- Noh, H.Y., J.S. Choi and B.J. Ahn. 1995. Plant regeneration through somatic embryogenesis in zoysiagrass (*Zoysia* spp.). *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 36:582-587.
- Rim, Y.W., K.Y. Kim, G.J. Choi, Y.C. Lim and B.Y. Sung. 2001. Callus induction and plant regeneration from seeds of *Zoysia japonica* Steud. *Kor. Grassl. Sci.* 21:49-52.
- Schenk, R.U. and A.C. Hildebrandt. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can. J. Bot.* 50:199-204.
- Shim, J.S., D.C. Kim and B.K. Seo. 1994. The effects of plant growth substances on the callus induction and multiple shoot formation of Korean lawngrass (*Zoysia japonica* Steud.). *Kor. Turfgrass Sci.* 8:137-147.
- Yoo, T.K. and K.S. Kim. 1991. Effects of plant growth regulators on callus formation and organogenesis from the shoot-tip cultures of five turfgrass species. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 32: 237-246.
- 김형기. 1994. 잔디학. 선진문화사. 서울. p. 21.
- 이주삼. 1995. 초지학개론. 향문사. 서울. pp. 67-68.
- 전우방. 1987. 잔디생활의 미래. *Kor. Turfgrass Sci.* 1:79-83.