

***Agrobacterium* 매개에 의한 고구마 형질전환 및 식물체 재분화**

임 순^{1,3}, 양경실¹, 권석윤², 백기엽³, 곽상수², 이행순^{1*}

¹한국생명공학연구원 식물세포공학연구실, ²환경생명공학연구실, ³충북대학교 원예학과

***Agrobacterium*-mediated Genetic Transformation and Plant Regeneration of Sweetpotato (*Ipomoea batatas*)**

Soon Lim^{1,3}, Kyoung-Sil Yang¹, Suk-Yoon Kwon², Kee-Yoeup Paek³, Sang-Soo Kwak², Haeng-Soon Lee^{1*}

¹Laboratory of Plant Cell Biotechnology, ²Laboratory of Environmental Biotechnology, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), 52 Oun-dong, Yusong, Daejeon 305-806, Korea

³Department of Horticulture, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

ABSTRACT Transformed sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam. cv. Yulmi) plants were developed from embryogenic calli following *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. *A. tumefaciens* strain EHA105/pCAMBIA2301 harboring genes for intron β -glucuronidase (GUS) and kanamycin resistance. Transient expression of GUS gene was found to be higher when embryogenic calli were co-cultivated with *Agrobacterium* for 2 days. The co-cultured embryogenic calli transferred to selective MS medium containing 1 mg/L 2,4-D, 100 mg/L kanamycin, and 400 mg/L claforan. These embryogenic calli were subcultured to the same selection medium at 4 weeks interval. Kanamycin-resistant calli transferred to hormone-free MS medium with kanamycin gave rise to somatic embryos and then converted into plantlets in the same medium. Southern blot analysis confirmed that the GUS gene was inserted into the genome of the sweetpotato plants. A histochemical assay revealed that the GUS gene was preferentially expressed in the leaf, petiole, and vascular tissue and tip of root.

Key words: *Agrobacterium tumefaciens*, β -glucuronidase, embryogenic callus, somatic embryo, sweetpotato

서 론

고구마 (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)는 세계 7대 식량작물로 특히 아시아에서는 탄수화물의 중요한 공급원일 뿐만 아니라 메탄이나 에탄올 등의 연료 생산에 있어서 주요한 대체 에너지원으로 이용되고 있다. 그러나 고구마는 6배체 영양번식 작물로 유전적으로 복잡하고 종자 형성이 극히 불량하여 재래적인 육종방법으로는 품종개량에 어려움이 많다. 따라서 무병주의 확보뿐만 아니라 재래육종 한계를 극복하기 위한 분자유종을 위해서는 식물체 재분화 및 형질전환기술 확립이 매우 중요하다.

고구마는 모든 부위를 이용할 수 있는 작물로서 척박한 토양에 적합한 구황작물뿐 아니라 산업용 식물로서 각광받을 수 있는 21세기형 작물로 평가된다. 따라서 분자유종을 통한 재해내성 형질전환 고구마 등 신기능성 고구마 개발이 요구된다. 저자들은 국내 주요 고구마 품종인 자미, 울미 및 신허미를 대상으로 정단 및 측아 분열조직 배양에 의한 배발생 캘러스 유도 및 체세포배발생을 통한 고빈도 식물체 재분화 체계를 확립한 바 있다 (Kwon et al. 2002).

고구마의 조직배양에 의한 식물체 재분화는 주로 체세포배발생 시스템이 가장 널리 이용되는데, 특히 정단분열조직으로부터 유도된 배발생 캘러스를 유도하여 이로부터 식물체가 재분화된다 (Liu and Cantliffe 1984; Chee and Cantliffe 1989; Liu et al. 1989; Min et al. 1994; Otani and Shimada 1996). 이와같은 고구마의 체세포배발생에

*Corresponding author Tel 042-860-4439 Fax 042-860-4608
E-mail hslee@kribb.re.kr

의한 식물체 재분화는 기관발생보다는 높은 재분화 빈도를 나타낸다. 고구마의 형질전환은 *Agrobacterium* (Otani et al. 1993, 1998; Newell et al. 1995; Gama et al. 1996)과 particle bombardment를 이용한 방법 (Prakash and Varadarajan 1992; Min et al. 1998)이 보고되었다. 그러나 국내품종의 경우 particle bombardment 방법에 의해서만 형질전환 고구마 식물체가 개발되었을 뿐 *Agrobacterium* 매개에 의한 형질전환체 생산은 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 국내 주요 고구마 품종인 '율미 (Yulmi)'의 배발생 캘러스를 이용하여 *Agrobacterium*를 매개로 GUS 유전자를 도입하고 체세포배발생을 통하여 형질전환 식물체를 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

배발생 캘러스

고구마 식물체 정단분열조직으로부터 유도된 배발생 캘러스를 MS (Murashige and Skoog 1962) 기본배지 무기염에 100 mg/L myo-inositol, 0.4 mg/L thiamine · HCl, 30 g/L sucrose, 1 mg/L 2,4-D 및 4 g/L Gelrite (MS1D)가 첨가된 배지에서 4주 간격으로 계대배양하여 유지하였다 (Kwon et al. 2002). 이러한 배발생 캘러스를 형질전환 재료로 사용하였다.

Agrobacterium 매개에 의한 형질전환 및 식물체 재분화

MS1D 고체배지에서 계대배양한지 1주일 된 배발생 캘러스를 형질전환 재료로 이용하였다. 형질전환에 이용할 *Agrobacterium tumefaciens* EHA105는 intron 영역을 포함하는 β -glucuronidase (GUS) reporter 유전자가 CaMV 35S promoter에 연결되어 있고 kanamycin 저항성 neomycin phosphotransferase (nptII) 유전자를 선발표지로 가진 pCAMBIA2301 벡터를 함유하고 있다. 1일 동안 배양한 *Agrobacterium*를 원심분리하여 모은 후 10 mL의 MS1D 액체배지에 현탁하여 배발생 캘러스와 30분 동안 공동배양한 후 2, 3, 5일 동안 각각 공동배양기간을 달리하여 MS1D 배지에 배양하여 형질전환 효율을 비교하였다. 이후에 100 mg/L kanamycin과 400 mg/L claforan이 함유된 선발배지 (MS1DCK)에서 4주 간격으로 계대배양하면서 kanamycin 저항성 캘러스를 선발하였다. 선발된 배발생 캘러스로부터 체세포배 및 식물체를 유도하기 위하여 2,4-D를 제거한 MS 기본배지 (100 mg/L kanamycin, 400 mg/L claforan 함유: BMCK)에 옮겨 25°C, 약 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ 의 cool-white 형광, 광주기 16시간 조건에서 배양하였다.

형질전환은 약 150-200 여개의 배발생 캘러스 덩어리를 대상으로 실시하였으며 실험은 3회 반복하였다. Kanamycin 저항성 캘러스 및 재분화된 식물체는 배발생 캘러스를

*Agrobacterium*과 공동배양한 후 MS1DCK 선발배지에서 4주 배양한 후 살아남은 배발생 캘러스 덩어리 숫자를 계산하였으며 BMCK 배지에서 4주 배양하여 재분화된 식물체를 조사하였다.

PCR 및 Southern blot 분석

Kanamycin 함유배지에 일차적으로 선발된 재분화 식물체를 PCR로 확인하였다. PCR에 사용된 primer는 GUS 유전자의 특이 염기서열 부분을 사용하였다. PCR로 GUS 유전자의 도입이 확인된 고구마 식물체를 대상으로 Southern 분석을 실시하였다. 배양기에서 생육중인 고구마 식물체의 잎으로부터의 DNeasy Plant Maxi Kit (Qiagen, Germany)를 이용하여 genomic DNA를 분리하였다. 분리한 DNA (30 μg)를 *EcoRI*으로 각각 절단하여 0.8% agarose gel에 전기영동한 후, Zeta Probe membrane (Bio-Rad 제품)으로 전이시켰다. Probe는 GUS 유전자 특이부분에서 제작된 primer를 이용하여 PCR로 합성하여 이용하였다 (1.2 kb). 이 DNA를 동위원소 [α - ^{32}P] dCTP로 labelling시켜 prehybridization용액 (Zeta Probe membrane 용)에 첨가하여 60°C에서 24시간 동안 혼성화시켰다. 반응을 마친 membrane을 세척하고 X-ray 필름에 노출시켜 밴드를 확인하였다.

GUS 활성 분석

PCR로 외래유전자 도입이 확인된 캘러스 및 재분화된 식물체의 각 조직을 대상으로 GUS 활성의 조직화학적 분석을 Jefferson 등 (1987)의 방법에 따라 실시하였다. 배발생캘러스와 식물체의 잎, 엽병, 뿌리 조직을 5-bromo-4-chloro-3-indole-glucuronide (X-Gluc)가 포함된 용액에 37°C에서 16시간 반응시킨 후 70% 알코올로 세척한 후 해부현미경으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

Agrobacterium 매개에 의한 형질전환 및 식물체 재분화

pCAMBIA2301 벡터가 도입된 배발생 캘러스를 2일 동안 MS1D 배지에서 배양한 후 100 mg/L kanamycin과 400 mg/L claforan이 첨가된 MS1DCK 선발배지에서 4주 간격으로 계대배양하면서 선발하였다. 선발배지에서 계대배양이 진행되면서 대부분의 캘러스는 점액질화 되고 비배발생 캘러스로 전환되었으나 일부 캘러스가 배발생능을 그대로 유지하면서 증식되었다. 선발배지에서 4주 동안 배양된 캘러스로부터 체세포배를 유도하였다 (Figure 1A-C). 배발생 캘러스로부터 유도된 체세포배는 2,4-D를 제거한 BMCK 배지에서 1-2개월 배양 결과 shoot와 뿌리가 유도되어 소식

물체로 재분화되었다 (Figure 1D-F).

*Agrobacterium*과 공동배양 시킨 고구마 배발생 캘러스의 kanamycin 저항성 캘러스의 형성율을 MS1DCK 선발배지에서 배양 4주 후에 조사한 결과 10% 미만으로 나타났으며 이중 2일간의 공동배양 결과 8.3%로 가장 높은 효율을 보였다 (Table 1). 이러한 결과는 9.5%의 형질전환 효율을 나타낸 오갈피 배형성 캘러스의 경우와 같은 양상으로 생각된다. 하지만 구형배 시기의 배양체를 재료로 이용할 경우 형질전환 효율이 54%로 향상되었다 (Jeong et al. 2003). 따라서 고구마의 경우에도 배발생 캘러스 이외에 체세포배를 이용하여 형질전환 효율을 향상시킬 필요가 있는 것으로 생각한다. Kanamycin 배지에서 살아남은 배발생 캘러스를 BMCK 배지로 옮겨 배양한 결과 4-8주 배양 후에 shoot와 뿌리가 완전히 발달한 소식물체로 재분화되었다.

*Agrobacterium*과 공동배양 기간이 고구마 배발생 캘러스의 형질전환 효율에 미치는 영향을 조사하였다. 계대배양 7일된 배발생 캘러스를 대상으로 공동배양 기간을 2, 3, 5일로 각각 달리하였을 경우 GUS 발현율은 2일 동안 공동배양 하였을 때 100 mg 배발생 캘러스당 120개의 GUS spot 수를 나타내어 최적의 조건을 나타내었다 (Figure 2A). 배발생 캘러스의 계대배양 기간이 GUS 단백질의 일시적인 발현은 *Agrobacterium*

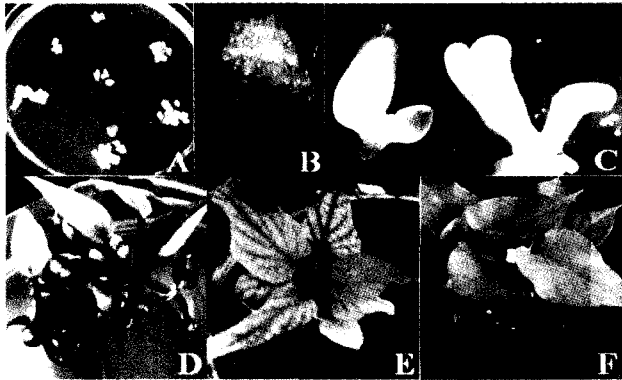


Figure 1. Somatic embryogenesis and plant regeneration from embryogenic calli after *Agrobacterium* co-cultivation of sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam. cv. Yulmi]. A and B, Kanamycin-resistant embryogenic calli on selection medium with 100 mg/L kanamycin; C and D, Somatic embryos derived from embryogenic calli on selection medium; E and F, Plantlets developed from somatic embryos; F, Transgenic plants growing in potting soil.

Table 1. Transformation efficiency by *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 in embryogenic calli of sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam. cv. Yulmi].

Co-culture period (days)	No. of embryogenic callus co-cultivated	No. of kanamycin resistant callus (%) ^a	No. of regenerated plant ^b
2	156	13 (8.3)	3
3	169	7 (4.1)	0
5	208	15 (7.2)	3

^aCo-cultivated embryogenic calli were cultured on medium with 100 mg/L kanamycin for 4 weeks. ^bKanamycin-resistant somatic embryos developed into plantlets on hormone-free medium with 100 mg/L kanamycin after 4 weeks of culture.

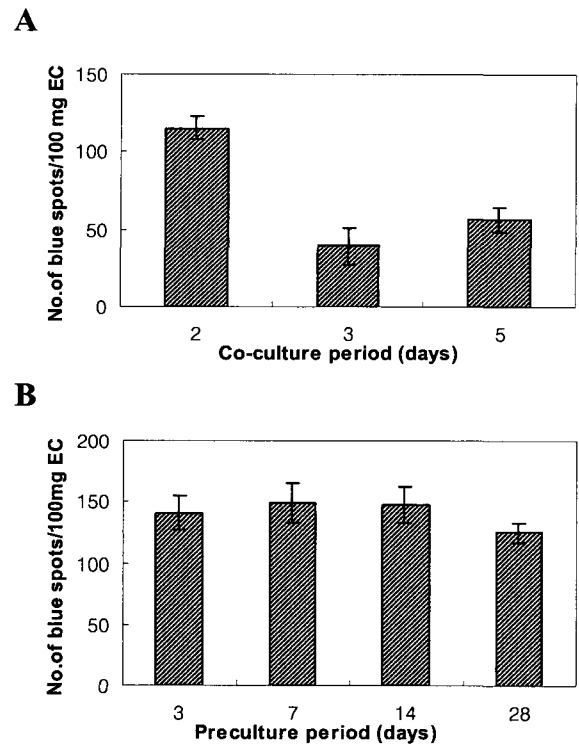


Figure 2. Effect of co-culture (A) and pre-culture (B) period on transient expression of GUS gene. Number of blue spots per 100 mg of embryogenic calli (fresh weight) were counted after 3 days of culture on medium with 100 mg/L kanamycin. EC, embryogenic calli.

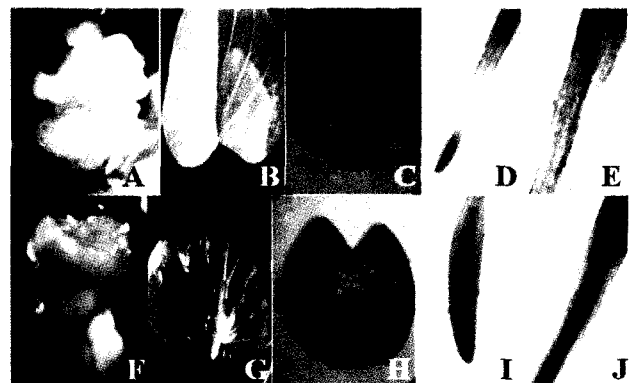


Figure 3. Histochemical assay of GUS activity in transformed tissues of sweetpotato. A-E, Embryogenic calli, leaf, petiole and root of non-transformed sweetpotato; F-J, Transformed embryogenic calli, leaf, petiole, and root tissue.

과 2일 공동배양 후 선발배지에서 3일 동안 배양한 다음 조사하였다. 그 결과 계대배양 7-14일 된 배발생 캘러스의 경우 100 mg 배발생 캘러스당 약 120-150 개의 GUS spot이 나타났다 (Figure 2B). 따라서 고구마 배발생 캘러스의 형질전환은 계대배양 7일된 배발생 캘러스를 *Agrobacterium*과 2일 동안 공동배양 조건을 적용할 수 있을 것이다.

공동배양기간이 형질전환 효율에 미치는 영향에 대한 연구는 여러 식물체에서 보고되었다. 일반적으로 2일에서 3일간의 공동배양기간이 최적인 것으로 알려지고 있으나 (Holford et al. 1992; Muthukauar et al. 1996; Jeong et al. 2003), 아마와 같이 7일간의 공동배양에서 좋은 결과를 나타낸 식물체도 있다 (Dong and McHughen 1991; Suzuki et al. 2001). 따라서 높은 효율로 형질전환 식물체를 얻기 위해서는 사용하는 식물체의 특성에 맞는 조건을 추가로 확립할 필요가 있다고 생각된다.

형질전환체의 특성분석

Kanamycin 첨가배지에서 선발된 배발생 캘러스 및 재분화된 식물체의 잎, 엽병, 뿌리 등의 조직 및 형질전환 시키지 않은 배발생 캘러스, 식물체의 각 조직을 함께 X-Gluc 기질용액에 반응시켜 GUS 단백질의 활성을 분석하였다. 선발배지에서 1개월 동안 배양한 캘러스 및 체세포배에서 청색의 GUS 활성을 관찰할 수 있었으나 형질전환시키지 않은 대조구의 캘러스에서는 청색반응이 나타나지 않았다 (Figure 3). MS1DCK 배지에서 선발된 배발생 캘러스 전 부위에서 청색 반응이 나타났으며 특히 잎, 엽병에서 강한 청색을 띄었다 (Figure 3F-H). 특히 엽병에서는 관다발계와 표피층에서 강한 발현을 보였고, 뿌리에서도 마찬가지로 중심부와 뿌리분열조직에서 GUS 단백질이 강하게 발현하였다 (Figure 3I,J). 그러나 형질전환시키지 않은 대조구 식물체의 어떤 조직에서도 청색반응을 나타내지 않았다 (Figure 3A-E). Particle bombardment에 의해 형질전환된 고구마에서도 이와 비슷한 결과가 보고된 바 있다. 하지만 잎의 주맥 및 절단면에서 가장 강한 GUS 발현을 보인 것은 상이한 결과이다 (Min et al. 1998).

Kanamycin 저항성 캘러스로부터 체세포배발생을 거쳐 재분화된 식물체에서 도입된 유전자를 확인하기 위하여 기내에서 생육중인 식물체의 잎으로부터 genomic DNA를 추출하여 PCR 분석을 실시하였다. PCR에는 GUS 유전자 특이 프라이머를 사용하였으며 그 결과 재분화된 모든 식물체에서 1.2 kb 크기 밴드를 확인할 수 있었으나 형질전환시키지 않은 식물체에서는 밴드가 합성되지 않았다 (결과 미제시). PCR 분석으로 외래 유전자의 도입이 확인된 3개의 식물체에서 GUS 유전자를 probe로 하여 genomic Southern 분석을 실시한 결과 선발된 개체에서 각각 1-3 copy 유전자가 고구마 염색체 안에 삽입되었음을 확인하였다 (Figure 4).

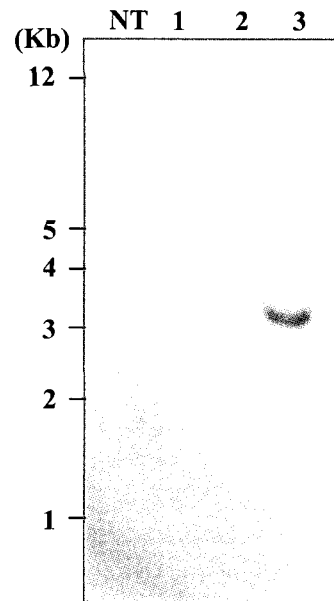


Figure 4. Southern analysis of genomic DNA prepared from transgenic and non-transgenic sweetpotato plants. Equal amounts (30 μ g) of genomic DNA were digested with the *Eco*RI, electrophoresed in 0.8% agarose gel, and blotted onto a membrane. The blot was hybridized with the 1.2 kb fragment of GUS as a probe. NT, non-transgenic plants. 1-3, Transgenic plants. The positions of molecular weight markers are shown on the left.

이러한 결과는 particle bombardment 방법에 의해서만 가능하였던 형질전환 고구마 식물체가 국내 품종으로는 처음으로 *Agrobacterium*에 의해서 개발되었음을 보여주는 것이다. *Agrobacterium*을 이용한 형질전환은 particle bombardment 방법에 비해 손쉽게 이용할 수 있는 것 이외에 소수 copy의 유전자가 도입되는 등 여러 가지 장점이 있다.

본 연구자들은 현재 본 형질전환 시스템을 이용하여 스트레스에 내성을 지닌 고구마 식물체를 생산하고자 복합스트레스 관련 nucleoside diphosphate kinase 2 유전자 (Moon et al. 2003) 및 superoxide dismutase, ascorbate peroxidase 유전자들을 산화스트레스 유도성 *SWPA2* 프로모터 (Kim et al. 2003)에 연결한 벡터를 이용하여 형질전환을 시도하고 있으며 현재 PCR로 확인된 소식물체를 확보하였다. 따라서 고구마를 대상으로 하여 particle bombardment에 의한 형질전환 뿐만 아니라 *Agrobacterium tumefaciens*를 매개로 하는 형질전환 식물체 개발이 가능할 것으로 생각된다.

적 요

국내 고구마 울미 품종의 배발생 캘러스를 *Agrobacterium* 매개 방법을 이용하여 형질전환 식물체를 개발하였다. 배발생 캘러스를 7일 동안 전배양 한 후 *Agrobacterium*과 2일간 공동배양할 경우 일시적인 형질전환 효율이 가장 높았다. *Agrobacterium*과의 공동배양 후 배발생 캘러스를 1

mg/L 2,4-D, 100 mg/L kanamycin, 400 mg/L claforan이 첨가된 선발배지에서 4주 간격으로 계대배양하였다. 선발된 kanamycin 저항성 캘러스를 2,4-D를 제거한 선발배지로 옮겨 체세포배를 유도하였으며 이후 소식물체로 발달하였다. Southern 분석으로 1-3 copy의 GUS 유전자가 고구마 염색체내로 도입되었음을 확인하였다. 또한 조직학적 분석으로 GUS 유전자가 형질전환 고구마의 배발생 캘러스, 재분화 식물체의 잎, 엽병, 및 뿌리 조직에서 강하게 발현됨을 알 수 있었다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업과 과학기술부 국제공동연구사업(FGM0100411)의 연구결과이다. 고구마 식물재료를 제공하여 준 농촌진흥청 작물과학원 목포시험장 구근작물연구실에 감사를 드립니다.

인용문헌

- Chee RP, Cantliffe DJ (1989) Composition of embryogenic suspension cultures of *Ipomoea batatas* Poir and production of individualized embryos. *Plant Cell Tiss Org Cult* 17: 39-52
- Dong JZ, McHughen A (1991) Patterns of transformation intensity on flax hypocotyl inoculated with *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Rep* 10: 555-560
- Gama MICS, Leite Jr RP, Cordeiro AR, Cantliffe DJ (1996) Transgenic sweetpotato plants obtained by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. *Plant Cell Tiss Org Cult* 46: 237-244
- Holford P, Hernandez N, Newbury HJ (1992) Factors influencing the efficiency of T-DNA transfer during co-cultivation of *Antirrhinum majus* with *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Rep* 11: 196-199
- Jefferson RA, Kavanagh TA, Bevan MW (1987) GUS fusion β -glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. *EMBO J* 6: 3901-3907
- Jeong JH, Han SS, Choi YE (2003) *Agrobacterium*-mediated transformation of *Eleutherococcus sessiliflorus* using embryogenic calli and the regeneration of plants. *Korean J Plant Biotechnol* 30: 233-239
- Kim KY, Kwon SY, Lee HS, Hur YK, Bang JW, Kwak SS (2003) A novel oxidative stress-inducible peroxidase promoter from sweet potato: molecular cloning and characterization in transgenic tobacco plants and cultured cells. *Plant Mol Biol* 51: 831-838
- Kwon EJ, Kwon SY, Kim MZ, Lee JS, Ahn YS, Jeong BC, Kwak SS, Lee HS (2002) Plant regeneration of major cultivars of sweetpotato (*Ipomoea batatas*) in Korea via somatic embryogenesis. *Korean J Plant Biotechnol* 29: 189-192
- Liu JR, Cantliffe DJ (1984) Somatic embryogenesis and plant regeneration in tissue cultures of sweetpotato (*Ipomoea batatas* Poir). *Plant Cell Rep* 3: 112-115
- Liu JR, Cantliffe DJ, Simonds SC, Ruan JF (1989) High frequency somatic embryogenesis from cultured shoot apical meristem domes of sweetpotato (*Ipomoea batatas*). *SABRAO J* 21: 93-101
- Min SR, Liu JR, Rho TH, Kim CH, Ju JI (1994) High frequency somatic embryogenesis and plant regeneration in tissue culture of Korean cultivar sweetpotato. *Korean J Plant Tiss Cult* 21: 157-160
- Min SR, Jeong WJ, Lee YB, Liu JR (1998) Genetic transformation of sweetpotato by particle bombardment. *Korean J Plant Tiss Cult* 25: 329-333
- Moon HJ, Lee BY, Choi G, Shin DJ, Prasad T, Lee OS, Kwak SS, Kim DH, Nam JS, Bahk JD, Hong JC, Lee SY, Cho MJ, Lim CO, Yun DJ (2003) NDP kinase 2 interacts with two oxidative stress-activated MAPKs to regulate cellular redox state and enhances multiple stress tolerance in transgenic plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 358-363
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497
- Muthukauar B, Mariamma M, Veluthambi K, Gnanam A (1996) Genetic transformation of cotyledon explants of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) using *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Rep* 15: 980-985
- Newell CA, Lowe JM, Merrywether A, Rooke LM, Hamilton WDO (1995) Transformation of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) with *Agrobacterium tumefaciens* and regeneration of plants expressing cowpea trypsin inhibitor and snowdrop lectin. *Plant Sci* 107: 215-227
- Otani M, Mii M, Handa T, Kamada H, Shimada T (1993) Transformation of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) plants by *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Sci* 94: 151-159
- Otani M, Shimada T (1996) Efficient embryogenic callus formation in sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) using *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Biotechnol* 15: 11-16
- Otani M, Shimada T, Kimura T, Saito A (1998) Transgenic plant production from embryogenic callus of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) using *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Biotechnol* 15: 11-16
- Prakash CS, Varadarajan U (1992) Genetic transformation of sweetpotato by particle bombardment. *Plant Cell Rep* 11: 53-57
- Suzuki S, Supaibulwatana K, Mii M, Nakano M (2001) Production of transgenic plants of the Liliaceous ornamental plant *Agapanthus praecox* ssp. *orientalis* (Leighton) Leighton via *Agrobacterium*-mediated transformation of embryogenic calli. *Plant Sci* 161: 89-97

(접수일자 2004년 10월 14일, 수리일자 2004년 11월 20일)