

톨 페스큐의 성숙종자로부터 효율적인 캘러스 배양 및 식물체 재분화

김도현¹, 이동기¹, 이상훈¹, 우현숙¹, 이기원¹, 최명석², 이병현^{1*}

¹*경상대학교 응용생명과학부, ²산림자원과학부

Efficient Callus Culture and Plant Regeneration from Mature Seed of Tall Fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.)

Do-Hyun Kim¹, Dong-Gi Lee¹, Sang-Hoon Lee¹, Hyun-Sook Woo¹, Ki-Won Lee¹, Myung-Suk Choi²,
Byung-Hyun Lee^{1*}

¹Division of Applied Life Science

²Division of Forest Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

ABSTRACT In an effort to optimize tissue culture conditions for genetic transformation of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.), an efficient plant regeneration system from seed-derived calli was established. MS medium containing 6 mg/L 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) and 0.1 mg/L benzyladenine (BA) were optimal for embryogenic callus formation from mature seed and had a strong effect on successive plant regeneration. The plant regeneration frequency above 50% was observed when embryogenic calli induced in this medium were transferred to N6 medium supplemented with 1 mg/L 2,4-D and 3 mg/L BA. Among several basic media, MS and N6 medium were optimal for callus induction and plant regeneration, respectively. 'Kentucky-31' showed to have high frequencies of embryogenic callus induction and plant regeneration up to 58.3 and 50%, respectively. Addition of sucrose to the regeneration medium as a carbon source increased regeneration frequency up to 55%. A short tissue culture period and high-frequency regeneration system established in this study will be useful for molecular breeding of tall fescue through genetic transformation.

Key words: Callus, forage crop, plant regeneration, tall fescue

서 론

톨 페스큐 (*Festuca arundinacea* Schreb.)는 생육적온이 15~21°C 정도인 아시아 온대지역을 비롯해서 유럽 및 북아메리카 등에서 잘 자라는 다년생의 북방형 화본과 식물로 주로 사료작물로서 많이 이용되고 있으며, 절개지, 공원 등에 있어서 토양보존용 및 잔디용으로 많이 개발되어 이용되고 있는 초분류 중에 하나이다 (Buckner et al. 1979). 또한 다양한 환경 스트레스에도 비교적 잘 적응하여

적박한 토양, 습지 및 음지에서도 잘 성장하여 사료작물로 이용시 수량이 많아 우리나라에서도 널리 재배되고 있다. 그러나 이러한 환경적응성의 우수함에도 불구하고 여름철 기온이 25°C 이상의 고온이 장기간 지속될 때에는 생육이 정지하는 하고현상을 일으켜 사료 품질저하와 생산성을 감소시키는 것으로 알려져 있다 (Fieser and Vanzant 2004). 또한 톨 페스큐는 다른 화본과 사료작물에 비하여 잎이 거칠어서 가축이 즐겨 채식하지 않아 기호성이 낮으며, 특히 출수기 이후에는 사료가치가 급격히 저하되는 등의 단점이 있다 (Fieser and Vanzant 2004).

이러한 단점을 보완하기 위해 전 세계적으로도 선발과 교잡을 통하여 톨 페스큐의 품질을 높이고자 하는 전통적인

*Corresponding author Tel 055-751-5418 Fax 055-751-5410

E-mail: hyun@nongae.gsnu.ac.kr

육종법에 의한 연구가 활발히 진행되고 있으며 (Sleper 1985; Van Wijk et al. 1993), 최근에는 유용유전자의 도입에 의한 분자육종법을 통한 신품종 개발 연구가 많이 시도되고 있다 (Forster and Spangenberg 1999; McKersie 1997; Spangenberg et al. 1998). 그러나 우리나라의 경우는 외국에서 몇몇 품종을 도입하여 이용하고 있으며 아직까지 톨 페스큐에 대한 체계적인 육종이 이루어지지 않고 있는 실정이다. 따라서 소화율을 향상시킨 고품질 톨 페스큐 품종의 육종 등에 관한 연구가 시급히 요구되고 있다. 분자육종법에 의한 톨 페스큐의 신품종 개발을 위해서는 먼저 체계적이고 효율적인 조직배양을 통한 고효율 식물체 재분화 체계가 확립되어야 한다.

지금까지 톨 페스큐의 조직배양에 관한 연구는 성숙배 (Lowe and Conger 1979), 미숙배 (Bai and Qu 2000), 미성숙화서 (Eizanga and Dahleen 1990) 등을 이용한 식물체 재분화에 관한 연구가 보고된 바 있다. 그러나 톨 페스큐는 품종에 따른 캘러스유도, 증식 및 식물체 재분화 능력에 많은 차이를 보이고 있으며 (Bai and Qu 2000), 식물체 재분화 능력이 있는 캘러스유도가 매우 낮기 때문에 실제로 가장 효율적이고 안정적인 유전자 도입 기술인 *Agrobacterium*을 이용한 형질전환에 적용하기에는 효율적이지 못한 측면이 있다.

따라서 본 연구에서는 톨 페스큐의 성숙종자로부터 캘러스유도 조건 및 고효율 재분화 조건을 확립함으로써 외래의 유용유전자 도입에 의한 고품질 신품종 톨 페스큐를 생산할 수 있는 기반을 확립하고자 수행하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 종자살균

식물재료로는 톨 페스큐 (*Festuca arundinacea* Schreb.)의 품종 중 Kentucky-31, Cajun, Fawn 및 Hokuryo 4가지 품종을 사용하였다. 종자살균은 Lee 등 (2003)의 방법에 준하여 다음과 같이 실시하였다. 성숙종자의 종피를 제거한 다음 70% ethanol에서 30초간 살균한 후, 30%로 희석한 sodium hypochlorite 용액 (유효염소농도 12%)에서 30분간 교반하면서 표면살균 하였다. 살균한 종자는 멸균수로 3회 세정한 후 멸균된 filter paper에 옮겨 물기를 제거하고 캘러스유도 배지로 옮겨 치상하였다.

성숙종자로부터 배발생 캘러스유도 및 증식

성숙종자로부터 캘러스를 유도하기 위한 캘러스유도 배지는 MS (Murashige and Skoog 1962) 기본배지에 1 mg/L thiamine-HCl, 100 mg/L myo-inositol, 30 g/L sucrose와 5

g/L gelrite를 첨가한 배지를 사용하였다. 캘러스유도시의 성장조절제의 종류와 농도에 따른 배발생 캘러스유도 효율을 조사하기 위하여 캘러스유도 배지에 성장조절물질로는 옥옥신류로 2,4-D (2,4-dichloro phenoxy acetic acid), dicamba (3,6-dichloro-o-anisic acid), NAA (α -naphthalene acetic acid) 및 IAA (indole acetic acid)와 사이토키닌류로 BA (6-benzyladenine)를 단독 또는 조합 첨가한 배지를 사용하였다. 배지에 살균된 종자를 치상한 다음, 24±2°C의 성장실에서 광조건으로 6주간 배양하였다. 캘러스 형성능은 치상한 종자에 대한 유도된 캘러스의 수를 백분율로 나타내었고 1개의 종자로부터 형성된 캘러스의 생체중을 3반복으로 조사하여 비교하였다.

캘러스로부터 식물체 재분화

성숙종자 유래의 캘러스로부터 식물체 재분화를 위한 적정 성장조절물질의 종류와 농도를 조사하기 위하여 6주령의 배발생 캘러스를 직경 3-4 mm 크기로 잘라 옥옥신과 사이토키닌이 각각 조합 첨가된 재분화 배지 (N6 medium containing 1 mg/L 2,4-D, 3 mg/L BA, 5 mg/L K₂SO₄, 2 mg/L copper sulfate 1 mg/L thiamine-HCl, 100 mg/L myo-inositol, 3% sucrose and 5 g/L Gelite)에 옮겨 24±2°C, 16 h light/8 h dark 조건에서 3주간 배양한 다음 동일한 새 배지에 1회 계대배양한 후, 총 6주 동안 배양하여 각각의 처리구에서 형성된 shoot을 재분화개체로 조사하였다. 식물체 재분화율은 이식된 캘러스에 대한 식물체가 유도된 캘러스의 수를 백분율로 나타내었다. 재분화된 shoot은 1/2 MS배지에 이식하여 뿌리발생을 유도하여 완전한 식물체로 분화시킨 후 토양에 이식하여 온실에서 재배하였다.

기본배지 종류에 따른 배양효과

성숙종자로부터 캘러스유도와 식물체 재분화를 위한 적정 기본배지의 종류를 조사하기 위하여 MS, N6 (Chu et al. 1975) 및 SH (Schenk and Hildebrandt 1972)배지에 살균된 종자를 배양하여 상기와 동일한 방법으로 기본배지종류에 따른 캘러스유도율과 식물체 재분화율을 각각 조사하였다.

탄소원 종류에 따른 배양효과

성숙종자로부터 캘러스유도 배지와 식물체 재분화 배지에 에너지원으로 첨가되는 탄소원의 종류별 배양효과를 조사하기 위하여 캘러스유도 배지 및 재분화 배지에 sucrose, maltose, glucose 및 sorbitol을 각각 30 g/L 농도로 배지에 첨가하여 배양한 후, 상기와 동일한 방법으로 캘러스의 유도율과 식물체의 재분화율을 각각 조사하였다.

결과 및 고찰

생장조절물질의 종류와 농도에 따른 캘러스유도와 배양효율

톨 페스큐 종자배양에 따른 캘러스유도 효율과 식물체의 재분화능에 관여하는 최적 옥옥신의 종류와 농도를 조사하기 위해 4가지 종류의 옥옥신을 6 mg/L 농도로 단독처리하여 캘러스유도 효율을 조사한 결과, 2,4-D 또는 dicamba 처리구에서 각각 57.1%와 54.2%의 높은 캘러스 형성율을 나타내었으며, 종자 한 개로부터 형성된 캘러스의 생체중도 NAA 또는 IAA 처리구에 비해 높게 나타났다 (Table 1). 특히 2,4-D 처리구에서 유도된 캘러스는 embryogenic 캘러스가 많이 형성되었으며, 유도된 캘러스로부터 식물체로의 재분화율도 54%로서 가장 높은 재분화 효율을 나타내었다. 한편 배지에 첨가되는 2,4-D 농도에 따른 캘러스 배양효율과 식물체 재분화율을 비교해 본 결과 6 mg/L 2,4-D 농도에서 가장 높았으며, 이 보다 낮거나 높은 농도에서는 감소하였다 (Table 2). 가장 높은 배양효율을 나타내었던 6 mg/L

2,4-D와 BA의 농도별 조합처리가 배양효율에 미치는 영향을 조사한 결과, 2,4-D 단독처리구보다 0.1 mg/L의 BA를 조합 첨가하여 캘러스를 배양했을 때 종자 1개로부터 형성된 캘러스의 생체중과 식물체로의 재분화율이 증가되는 경향을 나타내었다 (Table 3). 또한 이 배지에서 형성된 캘러스의 경우 형태적으로도 조직이 치밀하며 유백색을 띠는 배발생 캘러스가 가장 많이 형성되었으며, 이러한 결과로 인해 식물체로 재분화율도 증가된 것으로 판단되었다. 이러한 결과는 유사한 화분과 사료작물인 버뮤다그래스의 캘러스 배양에 있어서 저농도의 BA 첨가가 식물체 재분화율을 월등히 증가시킨다는 Chaudhury와 Rongda (2000)의 결과와도 일치하는 것으로서, 톨 페스큐의 종자배양에 있어서도 캘러스유도 배지에 첨가되는 생장조절제의 종류와 농도가 캘러스의 증식뿐만 아니라 식물체로의 재분화에도 많은 영향을 미친다는 것을 의미한다.

생장조절물질에 따른 식물체의 재분화효율

배발생 캘러스유도율이 가장 우수했던 6 mg/L 2,4-D와

Table 1. Effect of auxins on callus formation and plant regeneration from mature seed cultures

Growth regulator (6 mg/L)	No. of seeds transferred ^a	Callus formation (%)	Callus fresh weight per seed (mg)	Plant regeneration (%) ^b
2,4-D	120	57.1	54 ± 2.2	54.0
Dicamba	120	54.2	69 ± 2.6	52.0
NAA	120	26.7	36 ± 2.1	42.0
IAA	120	18.8	21 ± 2.8	36.0

^aDehusked mature seeds were placed on MS medium containing 3% sucrose, 1 mg/L thiamine-HCl, 100 mg/l myo-inositol and 5 g/L Gelite. and cultured for 6 weeks.

^bCalli were transferred to N6 medium containing 3% sucrose, 1 mg/L 2,4-D, 3 mg/L BAP, 1 mg/L thiamine-HCl, 100 mg/l myo-inositol, 5 mg/L K₂S₄, 2 mg/L copper sulfate and 5 g/L Gelite. and cultured for 6 weeks.

Table 2. Effect of 2,4-D and BA on callus formation and plant regeneration from mature seed cultures of tall fescue (cv. Kentucky-31)

Growth regulator (mg/L)		No. of seeds transferred ^a	Callus formation (%)	Callus fresh weight per seed (mg)	Plant regeneration (%) ^b
2,4-D	BA				
0	-	50	0	0	0
3	-	120	22.0	37 ± 1.5	37.0
6	-	120	56.0	58 ± 1.9	55.0
9	-	120	43.0	56 ± 3.2	43.0
6	0.1	120	54.0	66 ± 2.1	57.0
6	0.5	120	47.0	46 ± 1.3	42.0
6	1.0	120	37.0	31 ± 1.8	34.0

^aDehusked mature seeds were placed on MS medium containing 3% sucrose, 1 mg/L thiamine-HCl, 100 mg/l myo-inositol and 5 g/L Gelite. and cultured for 6 weeks.

^bCalli were transferred to N6 medium containing 3% sucrose, 1 mg/L thiamine-HCl, 100 mg/l myo-inositol, 5 mg/L K₂SO₄, 2 mg/L copper sulfate and 5 g/L Gelite. and cultured for 6 weeks.

0.1 mg/L BA가 첨가된 캘러스유도 배지에서 형성된 배발생 캘러스를 이용하여 여러 가지 생장조절물질을 조합첨가한 재분화배지에서의 식물체 재분화율을 예비실험을 통하여 비교해 본 결과 (결과 미제시), 2,4-D와 BA의 조합 처리구에서 재분화 효율이 가장 높게 나타났다. Table 3에 나타낸 바와 같이 여러가지 농도의 2,4-D와 BA의 조합처리구 중 2,4-D의 경우 1 mg/L 처리구가 2 mg/L 처리구 보다 전체적으로 재분화율이 높게 나타났으며, 특히 1 mg/L 2,4-D와 3 mg/L BA 처리구에서 53.5%의 가장 높은 식물체 재분화율을 나타내었다 (Table 3). 그러나 이보다 낮거나 높은 BA 처리구에서는 재분화율이 오히려 저하되는 것으로 나타났다. 또한 2 mg/L 2,4-D 처리구의 경우 재분화가 되지 않고 캘러스의 증식만 왕성하게 나타났다. 따라서 톨 페스큐 종자유래의 캘러스로부터 식물체 재분화에는 저농도인 1 mg/L 2,4-D에 3 mg/L BA를 첨가해 주는 것이 식물체 재분화에 가장 효율적인 것으로 판단되었다. 최근 화분과 식물의 캘러스 배양에 있어서 식물체의 재분화는 낮은 농도의 오옥신과 더불어 사이토키닌으로서 BA를 첨가해주는 것이 배발생 캘러스의 유도율과 재분화율을 개선시킨다는 결과가 잔디용 톨 페스큐의 미성숙 배와 성숙종자 배양 (Bai and Qu 2000), 켄터키 블루그래스 (Griffin and Dibble

1995), 머뮤다 그래스(Chaudhury and Rongda 2000) 등의 식물에서도 보고된 바가 있다.

품종에 따른 배양효율

톨 페스큐 품종간의 배양효율의 차이를 조사하기 위하여 Kentucky-31의 3 품종의 성숙종자를 이용하여 캘러스유도와 식물체 재분화율을 비교한 결과 Table 4와 같이 나타났다. 성숙종자로부터 6주 동안 배양하여 형성된 캘러스의 유도율은 Kentucky-31이 58.3%로 가장 높게 나타났으며, Fawn과 Cajun이 중간정도의, Hokuryo가 가장 낮은 26%의 캘러스유도율을 보였다. 또한 캘러스로부터 식물체로의 재분화율은 Kentucky-31이 52%로서 가장 높았으며 Cajun > Hokuryo > Fawn 순으로 높게 나타났다. 전체적으로는 캘러스유도율이 높은 품종이 식물체 재분화율도 높은 경향을 나타내어 품종 간에 배양효율에 큰 차이가 관찰되었다. 이러한 결과는 잔디용 톨 페스큐 품종들의 캘러스유도율이 품종에 따라 4.4%에서 40.3%까지의 다양한 차이를 보였으며 식물체로의 재분화율도 16.7%에서 54.5%까지 차이를 보인다고 보고한 Bai와 Qu (2000)의 결과와 유사한 결과로서 톨 페스큐 품종 간의 배양효율의 차이가 큰 것을 확인할

Table 3. Effect of 2,4-D and BA on plant regeneration from mature seed culture of tall fescue (cv. Kentucky-31)

Growth regulator (mg/L)		Plant regeneration ^a (%)
2,4-D	BA	
1	0.5	21.5
1	1	25.0
1	3	53.5
1	5	38.6
2	0.5	28.5
2	1	25.0
2	3	21.5
2	5	20.0

^aCalli were transferred to N6 medium containing 3% sucrose, 1 mg/L thiamine-HCl, 100 mg/l myo-inositol, 5 mg/L K₂SO₄, 2 mg/L copper sulfate and 5 g/L Gelite. and cultured for 6 weeks.

Table 4. Effect of cultivars on callus formation and plant regeneration from mature seed cultures of tall fescue

Cultivar	No. of seeds transferred ^a	Callus formation (%)	No. of calli transferred	Plant regeneration (%) ^b
Cajun	120	37.5	100	42.0
Fawn	120	46.5	100	24.0
Hokuryo	120	26.0	100	37.0
Kentucky-31	120	58.3	100	52.0

^aDehusked mature seeds were cultured on the callus induction medium (MS medium containing 6 mg/L 2,4-D, 0.1 mg/L BA, 1 mg/L thiamine-HCl, 100 mg/L myo-inositol, 3% sucrose, 5 g/L Gelrite), and cultured for 6 weeks.

^bCalli were transferred to the regeneration medium (N6 medium containing 1 mg/L 2,4-D, 3 mg/L BAP, 5 mg/L K₂SO₄, 2 mg/L copper sulfate 1 mg/L thiamine-HCl, 100 mg/L myo-inositol, 3% sucrose and 5 g/L Gelite), and cultured for 6 weeks.

수 있었다. 이러한 품종 간의 배양효율의 차이는 품종 자체의 genotype의 차이에 의한 효과이거나, 종자 자체의 활력의 차이 등에 기인한 결과로 추측된다.

기본배지에 따른 배양효율

톨 페스큐의 종자배양에서 캘러스유도 및 식물체 재분화에 가장 적합한 배지를 선발하고자 MS, N6 및 SH 등의 3종의 배지에 상기와 동일한 조건으로 배양하여 배양효율을 조사한 결과는 Table 5와 같이 나타났다. 캘러스유도율은 46.5~55%로서 기본배지의 종류에 따른 큰 차이는 관찰되지 않았으나, MS배지가 N6배지와 SH배지에 비해 비교적 효과적이었다. 캘러스로부터 식물체 재분화에는 MS배지와 SH배지가 각각 43%와 27%의 재분화율을 나타낸 반면 N6배지는 이에 비해 월등히 높은 52%의 재분화율을 나타내어 가장 효과적인 것으로 판단되었다 (Table 5). 일반적으로 화분과 작물의 캘러스배양 및 식물체 재분화에는 N6배지가 효율적인 것으로 알려져 있으나 (Vasil and Vasil 1984), 화분과 작물인 잔디용 톨 페스큐의 미숙배 배양 (Bai and Qu 2000), 페레니얼 라이그래스의 원형질체배양 (Wang et al. 1993), 켄터키 블루그래스의 종자배양 (Griffin and Dibble 1995) 등의 경우에는 MS배지가 배발생 캘러스유도에 더 효과적인 것으로 보고된 바 있다. 본 연구에서도 톨 페스큐의 종자로부터 캘러스유도에는 MS배지가 효과적이며 식물체 재분화에는 N6배지가 MS배지보다 더 효과적인 것으로 나타났다.

탄소원의 종류에 따른 배양효율

성숙종자로부터 캘러스유도와 식물체 재분화시 배지에 에너지원으로 첨가되는 탄소원의 종류에 따른 배양효과를 조사한 결과 Table 6과 같았다. 캘러스유도에는 3%의 sucrose를 첨가했을 때 56.5%의 가장 높은 캘러스유도율을 나타내었으며, maltose 첨가구가 52%의 유도율을, glucose와 sorbitol 첨가구의 경우는 각각 43%, 23.5%의 비교적 낮은 캘러스유도율을 나타내었다. 한편 식물체 재분화의 경우도 sucrose 첨가구가 55%로 가장 높은 효율을 나타내었으며 maltose 첨가구가 51%, glucose가 45%, 그리고 sorbitol 첨가구가 21%로 가장 낮은 효율을 나타내었다. 특히 sucrose 첨가구의 경우 재분화율도 가장 높았을 뿐만 아니라 캘러스 당 재분화되는 식물체의 수도 가장 많은 경향을 나타내었다. 따라서 톨 페스큐의 종자배양에서는 3%의 sucrose가 캘러스 형성 및 식물체 재분화에 효율적인 것으로 판단된다. 이러한 결과는 적정 성장조절제와 배지조건에서 배양하더라도 배지 내에 첨가되는 탄소원의 종류가 재분화율에 미치는 영향이 매우 크다는 것을 의미하며 (Fieser and Vanzant 2004), 지금까지의 연구에서 작물의 종류에 따라서는 glucose나 maltose를 첨가했을 때 배양효율이 향상된다는 보고가 밀, 감자 등에서 보고 된 바 있다 (Vasil and Vasil 1984).

본 실험을 통하여 톨 페스큐의 성숙종자로부터 단기간 내에 효율적으로 재분화 식물체를 획득할 수 있는 조직배양 체계를 확립하였다. 성숙종자를 캘러스유도 배지에서 배양

Table 5. Effect of media on callus formation and plant regeneration in mature seeds cultures of tall fescue (cv. Kentucky-31)

Media	No. of seeds transferred	Callus formation (%) ^a	No. of calli transferred	Plant regeneration (%) ^b
MS	120	55.0	100	43.0
N6	120	53.5	100	52.0
SH	120	46.5	100	27.0

^aCalli cultured on the callus induction medium (see the footnote in Table 4) were used.

^bCalli were transferred to the regeneration medium (see the footnote in Table 4), and cultured for 6 weeks.

Table 6. Effect of carbon sources on callus formation and plant regeneration in mature seed cultures of tall fescue (cv. Kentucky-31)

Carbon source	No. of seeds transferred ^a	Callus formation (%)	No. of calli transferred	Plant regeneration (%) ^b
Sucrose	120	56.5	100	55.0
Maltose	120	52.0	100	51.0
Glucose	120	43.0	100	45.0
Sorbitol	120	23.5	100	21.0

^aDehusked mature seeds were cultured on the MS medium containing 6 mg/L 2,4-D, 0.1 mg/L BA, 1 mg/L thiamine-HCl, 100 mg/L myo-inositol, 5 g/L Gelrite, and cultured for 6 weeks.

^bCalli were transferred to the N6 medium containing 1 mg/L 2,4-D, 3 mg/L BAP, 5 mg/L K₂SO₄, 2 mg/L copper sulfate 1 mg/L thiamine-HCl, 100 mg/L myo-inositol and 5 g/L Gelrite, and cultured for 6 weeks.

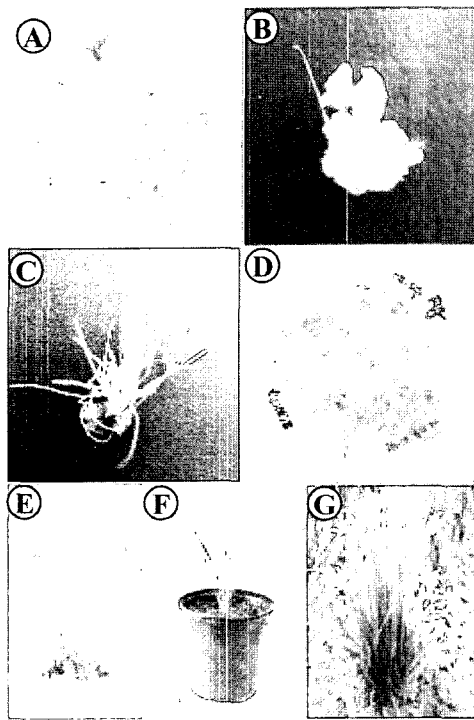


Figure 1. Plant regeneration from mature seed-derived callus of tall fescue. A, Calli induced from mature seeds cultured on the callus induction medium; B, Embryogenic callus formed from a seed; C and D, Plant regeneration from embryogenic calli in the regeneration medium; E, Plantlets cultured in the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

한 결과 배양 5일째부터 배발생 캘러스가 형성되기 시작하여 6주 후에는 50% 이상 형성되었으며 (Figure 1A, B), 재분화 배지에 이식했을 때 배양 6주 후에는 약 50% 이상의 높은 빈도로 신초가 재분화 되었다 (Figure 1C, D). 재분화된 신초는 rooting 배지 (Figure 1E)에서 2주간 배양하여 완전한 식물체로 분화시킨 후 pot에 이식하여 재배할 수 있었다 (Figure 1F, G). 이와 같은 단기간 내의 효율적인 톨 페스큐의 재분화 시스템은 신품종 형질전환 식물체 개발 등에 있어서 유용하게 이용될 것으로 기대된다.

적 요

톨 페스큐의 최적 조직배양 조건을 확립하기 위하여 성숙 종자로부터 최적 배발생 캘러스유도조건 및 효율적인 식물체 재분화 체계를 확립하였다. 배발생 캘러스는 6 mg/L 2,4-D와 0.1 mg/L BA가 첨가된 MS배지에서 가장 높은 빈도로 유도되었으며, 식물체 재분화율도 증가시키는 것으로 나타났다. 식물체 재분화는 배발생 캘러스를 1 mg/L 2,4-D와 3 mg/L BA가 첨가된 N6배지에서 배양했을 때 50% 이상의 재분화율을 나타내었다. 기본배지의 종류에 따른 배양 효율의 차이는 캘러스유도에는 MS배지가, 식물체 재분화

에는 N6배지가 효과적이었다. 품종간 배발생 캘러스의 형성율과 식물체 재분화율은 Kentucky-31 품종이 각각 58.3%와 52%로서 가장 높은 효율을 나타내어 품종 간에 큰 차이를 나타내었다. 탄소원으로는 sucrose를 첨가해주었을 때 식물체 재분화율이 55%로 증가되었다. 본 연구를 통하여 확립된 단기간 고효율 재분화 시스템은 분자유종을 통한 신품종 톨 페스큐의 개발에 유용하게 응용되어질 수 있을 것이다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업의 연구비지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

Bai Y, Qu R (2000) An evaluation on callus induction and plant regeneration of 25 turf-type tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) cultivars. Grass Forage Sci 55: 326-330

Buckner RC, Powell JB, Frakes RV (1979) Historical development. In: Buckner RC and Bush LP (eds), Tall Fescue. Agronomy 20, Am Soc of Agronomy, Madison, pp 1-8

Chaudhury A Rongda Q (2000) Somatic embryogenesis and plant regeneration of turf-type Bermuda grass: effect of 6-benzyladenine in callus induction medium. Plant Cell Tiss Org Cult 60: 113-120

Chu CC, Wang CS, Sun CC, Hsu C, Yin KC, Chu CY, Bi FY (1975) Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources. Scientia Sinic 18: 659-668

Eizanga G C, Dahleen LS (1990) Callus production, regeneration and evaluation of plants from cultured inflorescences of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). Plant Cell Tiss Org Cult 22: 7-15

Fieser BG Vanzant ES (2004) Interactions between supplement energy source and tall fescue hay maturity on forage utilization by beef steers. J Animal Sci 82: 307-318

Forster JW, Spangenberg G (1999) Forage and turf grass biotechnology: principles, methods and prospects. In: Setlow JK (ed), Genetic engineering: principles and methods, Vol 21, Kluwer Academic Publishers, New York, pp 191-237

Griffin JD, Dibble MS (1995) High frequency plant regeneration from seed-derived callus cultures of Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.). Plant Cell Rep 14: 721-724

Lee SH, Lee DG, Kim JS, Lee BH (2003) High-frequency plant regeneration from mature seed-derived callus culture of orchardgrass. Kor J Plant Biotech 30: 341-346

- Lowe KW, Conger BV (1979) Root and shoot formation from callus cultures of tall fescue. *Crop Sci* 19: 397-400
- McKersie BD (1997) Improving forage production systems using biotechnology. In: McKersie BD and Brown DCW (eds), *Biotechnology in Agriculture Series*, No. 17, CAB International, Wallingford, pp 3-21
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497
- Schenk RU, Hildebrandt AC (1972) Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can J Bot* 50: 199-204
- Sleper DA (1985) Breeding tall fescue. *J Plant Breeding Rev* 3: 313-342
- Spangenberg G, Wang ZY, Potrykus (1998) Biotechnology in forage and turf grass improvement. In: Frankel et al (eds), *Monographs on theoretical and applied genetics*, Vol. 23, Springer Verlag, Heidelberg, pp 192-210
- Van Wijk AJP, Boonman JG, Rumball W (1993) Achievements and perspectives in the breeding of forage grasses and legumes. In: Baker MJ (ed), *Grasslands for our world*, SIR, Wellington, pp 116-120
- Vasil V, Vasil IK (1984) Induction and maintenance of embryogenic callus cultures of Gramineae. In: Vasil IK (ed), *Cell culture and somatic cell genetics of plants*, Vol 1, Academic Press, Orlando, pp 36-42
- Wang ZY, Nagel J, Potrykus I, Spangenberg G (1993) Plants from cell suspension-derived protoplasts in *Lolium* species. *Plant Sci* 94: 179-193

(접수일자 2005년 8월 1일, 수리일자 2005년 9월 8일)