

식물생장조절물질이 레드 톱 밴트그래스 (*Agrostis alba* L.)의 종자로부터 캘러스 유도과 식물체 재분화에 미치는 영향

박충훈 · 김경희 · 이동기 · 알람 이프테칼 · 이기원 · 이상훈* · 김기용* · 원성혜 · 이병현

Effect of Plant Growth Regulators on Callus Induction and Plant Regeneration from Mature Seeds of Red Top Bentgrass (*Agrostis alba* L.)

Choong-Hoon Park, Kyung-Hee Kim, Dong-Gi Lee, Iftekhar Alam, Ki-Won Lee,
Sang-Hoon Lee*, Ki-Yong Kim*, Sung-Hye Won and Byung-Hyun Lee

ABSTRACT

In order to develop a simple and reproducible protocol for red top bentgrass (*Agrostis alba* L.), effect of different growth regulators was investigated for embryogenic calli induction and subsequent plant regeneration using mature seeds. MS medium containing 2 mg/L 2,4-D was optimal for embryogenic callus induction from mature seeds. The highest plant regeneration frequency (64.4%) was showed when the embryogenic callus tissues were cultured on N6 medium supplemented with 0.5 mg/L 2,4-D and 2 mg/L BA. Regenerated plantlets were grown normally when shoots transplanted to the soil. A high-frequency and efficient regeneration system from mature seeds would be helpful for molecular breeding of new variety of red top bentgrass through *Agrobacterium*-mediated genetic transformation.

(Key words : Callus, Plant regeneration, Red top bentgrass)

I. 서 론

레드 톱 밴트그래스 (*Agrostis alba* L.)는 유럽이 원산지이며 한지형 목초로서 C3 식물이고, 타화수정을 하고 산지에서 자라는 영년생 초종 중에 하나이다 (Naoko 등, 2006). *Agrostis* 속에 속하는 목초 및 잔디류에 사용되는 품종으로는 레드 톱 밴트그래스, 크리핑 밴트그래스, 콜로

니얼 밴트그래스 및 벨벨 밴트그래스 등이 있으며, 레드 톱 밴트그래스를 제외한 밴트그래스는 그린 및 스포츠 경기장과 같은 집약적인 잔디초지에서 광범위하게 사용되고 있다. 레드 톱 밴트그래스는 식물체의 조직감이 섬세하고 경합력과 잦은 예취에도 견디는 힘이 강할 뿐만 아니라, 땅을 기는 습성이 있고 잔디를 형성하는 힘이 강하여 잔디 품종으로도 활용되고

경상대학교 응용생명과학부 (Division of Applied Life Science (BK21), Gyeongsang National University)

*농촌진흥청 축산과학원 (National Institute of Animal Sciences, RDA)

Corresponding author : Byung-Hyun Lee, Division of Applied Life Science (BK21), Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Tel : +82-55-751-5418, Fax : +82-55-751-5410, E-mail: hyun@gsnu.ac.kr

있다. 초지에 재배할 경우 레드 톱 밴트그래스는 다양한 종류의 *Agrostis* 속 중에서 가장 수량성이 높고 사료가치가 높은 초종 중에 하나이며 한번초이므로 주로 방목용 초지에 콩과목초와 혼파하여 방목용으로 이용하거나 진초용 및 토양 보존용으로 이용되며 최근에는 잔디로도 널리 이용되고 있다. 그러나 고온과 건조에 대한 저항성이 낮아 건조지대나 더운 지방에서는 재배하기 어렵고 특히 여름철 고온이 장기간 지속될 때에는 하고현상(summer depression)이 심하여 생육저하를 일으켜 사료의 품질저하와 생산성이 감소되며 병해에 약해지는 단점이 있는 것으로 알려져 있다. 특히 잔디로 이용할 경우에는 하고현상을 방지하기 위하여 자주 물을 뿌려주어야 하며 건조한 지역에서는 수분공급을 충분히 해주어야 한다(박, 2005).

최근 형질전환 기술의 발달로 화분과 작물에 의해 유전자를 도입함으로써 사료작물의 신종 개발에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다(Cheng 등, 1997; Denchev 등, 1997; McKersie, 1997; Spangenberg 등, 1998; van der Mass 등, 1994; Wang 등, 1997). 이러한 유전자 형질전환에 의한 신종 사료작물의 분자육종을 위해서는 우선 단기간 내에 높은 재분화율을 나타내는 고효율 조직배양 기술체제 확립이 필수적이라 할 수 있다(Forster와 Spangenberg, 1999). 그러나 지금까지 레드 톱 밴트그래스의 조직배양에 대한 연구 보고는 많지 않다. 레드 톱 밴트그래스의 식물체 재분화에 대한 연구는 원형질체로부터 식물체 재분화에 관한 연구(Asano와 Ugaki, 1994)가 있을 뿐이며, 레드 톱 밴트그래스와 유사한 초종인 크리핑 밴트그래스에 관한 조직배양 및 형질전환 연구(Fu 등, 2007; Jayaraj 등, 2008)가 보고되고 있는 실정이다. 화분과 작물의 식물체 재분화는 유전적 요인이나 배양조건에 따라 많은 영향을 받는 것으로 알려져 있으며, 그 중에서도 특히 식물생장조

절물질의 종류와 농도 등의 조합이 가장 많이 영향을 받는 것으로 알려져 있으므로(George 등, 1987), 각 품종에 대한 최적 배양조건의 확립은 매우 중요한 단계 중에 하나라고 할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 레드 톱 밴트그래스의 성숙종자로부터 캘러스의 유도과 식물체 재분화를 위한 최적의 조건을 규명함으로써 연중 이용가능한 성숙종자로부터 캘러스를 유도하여 단기간 내에 완전한 식물체로 재분화시킬 수 있는 고효율의 재분화 시스템을 확립하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 성숙종자 살균 및 식물재료

식물재료로는 레드 톱 밴트그래스(*Agrostis alba* L.)의 Streaker 품종을 사용하였다. 캘러스 유도를 위한 종자의 살균은 이 등(2004)의 방법에 준하여 실시하였다. 성숙종자의 종피를 제거한 다음 70% ethanol에서 30초간 표면살균하고 멸균수로 3회 세정한 후, 다시 30% (v/v) sodium hypochlorite 용액을 첨가하여 30분간 교반하면서 표면살균 하였다. 살균된 종자는 멸균수로 3회 이상 세정하고 멸균된 filter paper에서 수분을 완전히 제거하고, 캘러스 유도배지에 치상하였다.

2. 배발생 캘러스 유도 및 계대배양

성숙종자로부터 캘러스를 유도하기 위하여 MS 기본배지(Murashige와 Skoog, 1962)에 1 mg/L thiamin-HCl, 250 mg/L myo-inositol, 500 mg/L prolin, 30 g/L sucrose 및 2 g/L Gelrite가 첨가된 배지를 사용하였다. 캘러스 유도배지에 첨가되는 식물생장조절물질의 종류와 농도에

다른 배양효과를 규명하기 위하여 auxin으로서 NAA (α -naphthalene acetic acid)와 2,4-D (2,4-dichloro phenoxy acetic acid)를, cytokinin으로서 BA (6-benzyladenine)와 kinetin을 다양한 농도와 조합으로 첨가한 배지를 사용하여 4주간 암상태에서 배양한 다음, 종자로부터 유도된 캘러스를 동일성분의 새 배지에 계대한 후 2주간 배양하여 캘러스를 증식시켰다. 종자로부터 캘러스 유도효율은 치상한 종자에 대한 캘러스의 수를 백분율로 나타내었다.

3. 배발생 캘러스로부터 식물체 재분화

치상 후 6주령의 배발생 캘러스를 N6 기본배지 (Chu 등, 1975)에 1 g/L casein hydrolysate, 1 mg/L thiamin-HCl, 100 mg/L myo-inositol, 500 mg/L proline, 30 g/L sucrose 및 2 g/L Gelrite가 첨가된 배지를 기본으로 하여 다양한 식물생장호르몬 조합을 처리함으로써 성숙종자 유래의 캘러스로부터 식물체를 재분화 시키기 위한 최적조건을 조사하였다.

배발생 캘러스로부터 식물체 재분화 배지에 첨가되는 식물생장조절물질의 종류와 농도에 따른 배양효과를 규명하기 위하여 auxin류로 2,4-D와 NAA, cytokinin류로 BA와 kinetin을 다양한 농도와 조합으로 혼용 첨가한 배지에 배발생 캘러스를 치상하여 $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 16 h light / 8 h dark 조건에서 3주간 배양하고 동일성분의 새 배지에 계대한 후 3주간 더 배양하여 각각의 처리구에서 1 cm 이상으로 자란 싹을 재분화 개체로 조사하였다. 재분화된 싹은 식물생장조절물질이 포함되지 않은 1/2 MS 배지에 이식하여 뿌리발생을 유도하여 완전한 식물체로 분화시킨 후 화분에 이식하여 온실에서 재배하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 성숙종자로부터 배발생 캘러스 유도에 있어서 식물생장조절물질의 첨가효과

레드 톱 벨트그래스의 종자배양에 있어서 캘러스 유도배지에 첨가되는 식물생장조절물질의 종류와 농도에 따른 효과를 규명하고자 2,4-D와 cytokinin (BA 또는 kinetin)을 단용 또는 혼용 처리한 후 캘러스 유도효율을 조사해 본 결과는 Table 1과 같다. 종자로부터의 캘러스 유도율은 2 mg/L의 2,4-D 단용 처리구에서 78.7%로 가장 높게 나타났으며, 4 mg/L의 2,4-D 단용 처리구도 76%로 비슷한 유도율을 보였다. 그러나 이 보다 낮은 1 mg/L의 2,4-D 농도에서는 감소하는 추세를 보였다. 한편 cytokinin을 혼용 첨가했을 경우의 배양효과를 조사하기 위하여 2 mg/L 또는 4 mg/L의 2,4-D 첨가구에 BA를 0.1 mg/L 첨가해준 처리구에서 72% 이상의 높은 캘러스 유도율을 보였으며, kinetin과의 조합 처리의 경우 BA와의 조합 처리구에 비해 낮은 캘러스 유도율이 관찰되었다.

또한 NAA 단용 또는 cytokinin (BA 또는 kinetin)과의 혼용처리 한 다음 캘러스 배양효과를 조사해 본 결과 전체적으로 2,4-D와 cytokinin 처리구에 비해 낮은 효율을 나타내었다 (Table 2). 즉 NAA 단독 처리구의 경우 2 mg/L 또는 4 mg/L 처리구에서 54% 이상의 유도효율을 나타낸 반면에 BA 또는 kinetin과의 혼용 처리구에서는 이보다 낮은 효율을 나타내었다. 그러나, 4 mg/L의 NAA와 0.1 mg/L의 BA 혼용 처리구에서 53% 이상의 비교적 높은 캘러스 유도율을 나타내었다. NAA와 kinetin 혼용처리구의 경우 NAA 단독 또는 BA와의 혼용 처리구에 비해 낮은 캘러스 유도효율을 나타내었다. 이와 같은 Table 1과 2의 결과를 종합해보면, 전체적으로는 auxin으로서는 2,4-D가

Table 1. Effect of 2,4-D and cytokinins on callus formation from mature seed culture of red top bentgrass

Growth regulators (mg/L)			No. of seeds transferred ^a	Callus formation (%) ^b
2,4-D	BA	Kinetin		
1	—	—	150	56.7
2	—	—	150	78.7
4	—	—	150	76.0
1	0.1	—	150	52.0
2	0.1	—	150	76.7
4	0.1	—	150	72.0
1	—	0.1	150	46.0
2	—	0.1	150	62.7
4	—	0.1	150	59.3

^a Dehusked mature seeds were placed on callus induction medium.

^b Calli cultured on the callus induction medium for 6 weeks.

Table 2. Effect of NAA and cytokinins on callus formation from mature seed culture of red top bentgrass

Growth regulators (mg/L)			No. of seeds transferred ^a	Callus formation (%) ^b
NAA	BA	Kinetin		
1	—	—	150	36.7
2	—	—	150	54.7
4	—	—	150	59.3
1	—	0.1	150	28.0
2	—	0.1	150	41.3
4	—	0.1	150	43.3
1	0.1	—	150	34.7
2	0.1	—	150	52.0
4	0.1	—	150	53.3

^a Dehusked mature seeds were placed on callus induction medium.

^b Calli cultured on the callus induction medium for 6 weeks.

NAA에 비해 높은 캘러스 유도효율을 나타내었으며, cytokinin류인 BA 또는 kinetin과의 혼용처리보다 2 mg/L의 2,4-D 단독처리가 배발생 캘러스 유도에 가장 효율적인 것으로 판단되었

다. 따라서 식물체 재분화를 위한 배발생 캘러스는 2 mg/L의 2,4-D를 단용처리한 배지에서 유도한 배발생 캘러스를 이용하였다.

2. 배발생 캘러스로부터 식물체 재분화

레드 톱 벤프그래스의 성숙종자 유래의 캘러스로부터 식물체 재분화를 위한 적정 식물생장 조절물질의 종류와 농도를 조사하기 위하여 2 mg/L의 2,4-D가 첨가된 캘러스 유도배지에서 형성된 배발생 캘러스를 2,4-D와 BA가 다양한 농도로 첨가된 N6 재분화 배지에 옮겨 배양한 후, 식물체 재분화율을 조사하였다 (Table 3). 캘러스로부터 식물체 재분화에는 0.5 mg/L의 2,4-D와 2 mg/L의 BA 혼용처리구가 64.4%의 가장 높은 재분화율을 나타내었으며, 2 mg/L 이상의 BA 처리구에서는 감소하는 경향을 나타내었다 (Table 3). 반면 2,4-D 농도를 1 mg/L로 하여 BA와의 혼용처리 효과를 조사해 본 결과, 42% 이하의 재분화율을 나타내어 0.5 mg/L의 2,4-D 조합에 비해 낮은 재분화율을 나타내었다. 이와 같은 결과는 종자로부터 캘러스 유도시에는 2 mg/L의 2,4-D가 효율적인데 비해, 캘러스로부터 재분화를 통한 신초형성에는 0.5 mg/L의 2,4-D와 2 mg/L의 BA가 더 효율적임을 나타내는 결과이다. 이와 같은 결과는 다른 화본과 목초의 배양결과와도 비슷한 결과이다 (이 등, 2005a; 2005b; 2006; 2007).

한편 NAA에 kinetin 또는 BA의 혼용처리가 식물체 재분화율에 미치는 영향을 조사한 결과, 0.5 mg/L의 NAA와 2 mg/L의 BA 첨가구가 41.5%의 재분화율을 나타내었으나, 전체적으로는 2,4-D에 kinetin 또는 BA 혼용처리구에 비해 월등히 낮은 식물체 재분화율을 나타내었다 (결과 미제시). 따라서 레드 톱 벤프그래스의 효율적인 재분화를 위한 적정 식물생장조절물질의 처리는 캘러스 유도시에는 2 mg/L의 2,4-D를 단독으로 첨가해주어 재분화효율이 우수한 배발생 캘러스를 형성시키고, 이 캘러스를 0.5 mg/L의 2,4-D와 2 mg/L의 BA가 첨가된 배지에서 배양함으로써 64% 이상의 높은 재분화율을 얻을 수 있을 것으로 판단된다. 이와 같은 높은 재분화율은 효율적인 형질전환시스템 확립에 매우 유용하게 이용될 수 있을 것이다. 이러한 경향은 화본과 목초인 이탈리아인 라이그래스, 오차드그래스 및 센터키 블루그래스 (우 등, 2004; 이 등, 2003, 이 등, 2005b)의 경우에도 보고된 바 있어서 이들 화본과 목초들의 경우, 2~5 mg/L의 2,4-D를 첨가한 배지에서 배발생 캘러스를 유도한 후, 식물체를 재분화시에는 2,4-D의 농도를 감소시키고 BA를 첨가시켜 줌으로써 높은 재분화효율을 나타내는 것으로

Table 3. Effect of 2,4-D and BA on plant regeneration from mature seed culture of red top bentgrass

Growth regulators (mg/L)		No. of calli transferred ^a	Plant regeneration (%)
2,4-D	BA		
0.5	1	90	27.8
	2	90	64.4
	4	90	50.0
1	1	90	22.2
	2	90	42.2
	4	90	27.8

^a Calli were transferred to the plant regeneration medium and cultured for 6 weeks.

판단된다. 화본과 목초인 켄터키 블루그래스를 이용한 이 등(2005b)의 연구에서는 2,4-D와 BA를 첨가한 N6 배지에서 배양했을 때 본 실험의 결과와 비슷한 정도의 재분화율을 보였다고 보고하였으나, 본 실험의 결과에는 미치지 못하는 재분화율을 나타내었다.

본 실험을 통하여 레드 톱 밴트그래스에 있어서 식물생장조절물질의 종류가 배발생 캘러스 유도 및 배발생 캘러스로부터 식물체 재분화에 미치는 영향을 조사하였다. 레드 톱 밴트그래스의 성숙종자를 2 mg/L의 2,4-D가 첨가된 캘러스 유도배지에 배양했을 때, 배양 4일째부터 캘러스가 형성되기 시작하여 6주 후에는 79% 정도가 형성되었으며 (Fig. 1A), 이들 배발생 캘러스를 0.5 mg/L의 2,4-D와 2 mg/L의 BA가 포함된 식물체 재분화 배지에 이식했을 때 배양 6주 후에는 64% 이상의 높은 빈도로 싌초가 재분화 되었다 (Fig. 1B, C). 재분화된 싌초는 1/2 MS 배지로 구성된 rooting 배지에서 2주간 배양하여 완전한 식물체로 분화시킨 후 화분에 이식하여 온실에서 재배할 수 있었다 (Fig. 1D). 본 연구에서 개발한 레드 톱 밴트그

래스의 성숙종자로부터 배발생 캘러스를 유도하고, 이들로부터 식물체를 재분화시킬 수 있는 고효율 재분화 체계는 금후의 유전자 형질 전환기술을 활용한 싌품종 목초 개발을 위한 효율적인 형질전환시스템 확립에 있어서 매우 유용한 자료로 활용될 수 있을 것이며, 나아가 기능성 목초로서 뿐만 아니라, 사막화방지 소재, 초본류 바이오에너지 작물자원 및 경관보존용 소재개발 등에도 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

IV. 요약

레드 톱 밴트그래스의 성숙종자로부터 최적 조직배양조건을 확립하기 위하여 종자로부터 배발생 캘러스 유도 및 식물체 재분화 체계를 확립하였다. 종자로부터 배발생 캘러스 유도시 첨가되는 auxin으로는 2,4-D가 가장 효율적이었으며, 2 mg/L의 2,4-D가 첨가된 MS 배지에서 가장 높은 빈도로 배발생 캘러스가 유도되었다. 배발생 캘러스로부터 식물체 재분화는 0.5 mg/L의 2,4-D와 2 mg/L의 BA가 첨가된 N6 배지에서 배양했을 때 64.4%의 높은 재분화율을 나타내었다. 본 연구를 통하여 확립된 성숙종자로부터의 고효율 재분화 시스템은 유전자 형질전환기술을 이용한 싌품종 분자육종기술개발에 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

V. 사사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업의 연구비지원 (과제번호: 20070301-034-015)에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

VI. 인용문헌

1. 박병훈. 2005. 초사료자원학. 향문사. pp. 53-59.

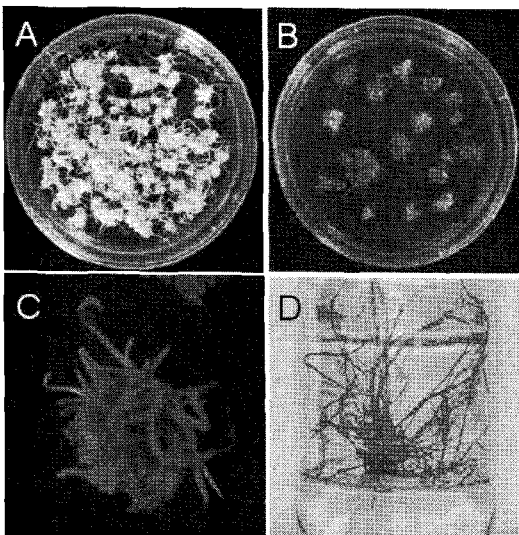


Fig. 1. Plant regeneration from seed-derived callus of red top bentgrass.

2. 우현숙, 이상훈, 이동기, 김진수, 원성혜, 이병현. 2004. 이탈리아 라이그래스의 성숙종자 유래 캘러스로부터 효율적인 식물체 재분화. 한국식물생명공학회지 31(1):43-48.
3. 이기원, 이동기, Nagib Ahsan, 원성혜, 이상훈, 김기용, 이병현. 2007. 식물생장조절물질이 페레니얼 라이그래스 (*Lolium perenne* L.)의 캘러스 유도과 식물체 재분화에 미치는 영향. 한국초지학회지 27:235-240.
4. 이기원, 이상훈, 김도현, 이동기, 원성혜, 이효신, 이병현. 2006. 캘러스의 형태와 항산화물질 첨가가 톨 페스큐의 식물체 재분화와 형질전환효율에 미치는 영향. 한국초지학회지 26:77-82.
5. 이기원, 이상훈, 이동기, 우현숙, 김도현, 최명석, 김기용, 이효신, 이병현. 2005a. 오차드그래스의 종자배양에 있어서 식물생장조절물질과 항산화제가 캘러스유도와 식물체 재분화에 미치는 영향. 한국초지학회지 25:191-198.
6. 이기원, 이상훈, 이동기, 우현숙, 김도현, 최명석, 원성혜, 서성, 이병현. 2005b. 켄터기 블루그래스에 있어서 캘러스 배양 및 식물체 재분화에 미치는 요인의 영향. 한국동물자원과학회지 47(6): 1067-1074.
7. 이상훈, 이동기, 이병현. 2004. 오차드그래스의 종자유래 캘러스배양 및 재분화에 미치는 배지 첨가물질의 영향. 한국작물과학회지 49(3):232-236.
8. 이상훈, 이동기, 김진수, 이병현. 2003. 오차드그래스 성숙종자로부터 캘러스 유도 및 고효율 식물체 재분화. 한국식물생명공학회지 30(4):341-346.
9. Asano, Y. and M. Ugaki. 1994. Transgenic plants of *Agrostis alba* obtained by electroporation-mediated direct gene transfer into protoplasts. *Plant Cell Rep.* 13:243-246.
10. Cheng, M., J.E. Fry, S. Plang, H. Zhou, C.M. Hironaka, D.R. Duncan, T.W. Conner and Y. Wan. 1997. Genetic transformation of wheat mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Physiol.* 115:971-980.
11. 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.* 18:659-666.
12. Denchev, P.D., D.D. Songstad and J.K. McDaniel. 1997. Transgenic orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) plants by direct embryogenesis from microprojectile bombarded leaf cells. *Plant Cell Rep.* 16:813-819.
13. Forster, J.W. and G. Spangenberg. 1999. Forage and turf grass biotechnology: principles, methods and prospects In: setlow, J. K.(Eds.), *Genetic engineering: principles and methods.* Kluwer Academic Publishers, New York, pp. 21:191.
14. Fu, D., B. Huang, Y. Xiao, S. Muthukrishnan and G.H. Liang. 2007. Overexpression of barley *hva1* gene in creeping bentgrass for improving drought tolerance. *Plant Cell Rep.* 26:467-477.
15. George, E.F., D.J.M. Puttock and H.J. George. 1987. Effect of medium acidity on growth and rooting of different plant growing *in vitro*. *Plant Cell Tissue Cult. Org. Cult.* 30(4):171-179.
16. Jayaraj, J., G.H. Liang, S. Muthukrishnan and Z.K. Punja. 2008. Generation of low copy number and stably expressing transgenic creeping bentgrass plants using minimal gene cassette bombardment. *Biol. Plant.* 52(2):215-221.
17. McKersie, B.D. 1997. Improving forage production systems using biotechnology. In: McKersie, B.D. and D.C.W. Brown (Eds.), *Biotechnology in Agriculture Series, No. 17,* CAB International, Wallingford, p. 3.
18. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol.* 15:473-497.
19. Naoko, T.O., K. Sukeo, O. Toshio, S.I. Itagaki, M. Onozawa and S. Masumi. 2006. Comparison of the abilities of redtop (*Agrostis alba* L.) and zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.) to purify liquid animal waste. *Grassland Sci.* 52:15-21.
20. Spangenberg, G., Z.Y. Wang and Potrykus. 1998. Biotechnology in forage and turf grass improvement. Frankel, R. and E. Galunl. *Monographs on*

- theoretical and applied genetics. Springer Verlag, Heidelberg, pp. 23: 192-221.
21. van der Mass, H.M., E.R. de Jong, S. Rueb, L.A.M. Hensgens and F.A. Krens. 1994. Stable transformation and long-term expression of the *gusA* reporter gene in callus lines of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Plant Mol. Biol. 24:401-405.
22. Wang, G.R., H. Binding and U.K. Posselt. 1997. Fertile transgenic plants from direct gene transfer to protoplasts of *Lolium perenne* L. and *Lolium multiflorum* Lam. J. Plant Physiol. 151:83-90.
- (접수일: 2008년 10월 27일, 수정일 1차: 2008년 11월 5일, 수정일 2차: 11월 13일, 게재확정일: 2008년 11월 15일)