

# 들잔디 종자배양시 식물생장조절물질과 배지첨가물질이 배발생 캘러스 유도에 미치는 영향

전찬호 · 김경희 · 박충훈 · 김용구 · 이효진 · 알람 이프테칼 · 샤르민 샤미마 · 이기원\* · 이병현

## Effects of Plant Growth Regulators and Culture Medium Supplements on Embryogenic Callus Induction from Seeds of Zoysiagrass

Chan-Ho Jeon, Kyung-Hee Kim, Choong-Hoon Park, Yong-Gu Kim, Hyo-Jin Lee, Iftekar Alam,  
Shamima Sharmin, Ki-Won Lee\* and Byung-Hyun Lee

### ABSTRACT

In order to optimize tissue culture conditions for genetic transformation of zoysiagrass (*Zoysia japonica* Stued.), the effect of plant growth regulators and culture medium supplements on embryogenic callus induction from mature seeds of a cultivar 'Zenith' were investigated. The optimal concentration and treatment period of NaOCl is 30% (v/v) for 60 minutes. Cultivation of mature seed on the callus induction medium containing 3 mg/L 2,4-D and 3 mg/L dicamba showed 17.5% of embryogenic callus formation frequency. Supplementation of 1 g/L casein hydrolysate and 500 mg/L L-proline improved frequency of embryogenic callus induction. Addition of the medium with 5 mg/L AgNO<sub>3</sub> and 20 mg/L cysteine enhanced frequencies of embryogenic callus induction. Efficient callus induction system established in this study will be useful for molecular breeding of zoysiagrass through genetic transformation.

(Key words : Embryogenic callus, Turf, Zoysiagrass)

### I. 서 론

잔디는 주로 경관보호, 토양침식 방지, 수자원 보호, 공원 및 골프장 등에 활용되고 있으나, 우리나라의 경우 가축의 중요한 조사료 자원으로도 많이 활용되어 온 야초자원이기도 하다(이, 1995). 잔디는 한지형 잔디와 난지형 잔디의 두 가지 생태형으로 분류되고 있으며, 한지형 잔디는 페스큐류, 라이그래스류, 블루그래스류 및 벤프그래스류 등 북방형 목초 품종들 중 잔디형으로 개발된 품종들이며, 단점으로는

7~8월의 고온다습한 기후조건에서는 질병이 발생하고 하고현상(summer depression)을 일으켜 생장이 거의 중지된다(전, 1987). 난지형 잔디는 한국잔디(zoysiagrass), 버뮤다그래스 및 위핑러브그래스 등이 있으며, 이들 중 한국잔디류(*Zoysia* spp.)는 초장이 짧아서 예초에 강하고 심근성이어서 내한성, 내서성이 강하며 조직이 강하여 내담압성에 강한 특성을 갖고 있으나, 온도가 10℃ 이하인 계절에는 녹색도 유지기간이 짧고 휴면기간이 길며 음지에서 잘 자라지 못하는 단점이 있다(김, 1994).

경상대학교 응용생명과학부(BK21 program), 농업생명과학연구원(Division of Applied Life Science(BK21 program), Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea).

\*농촌진흥청 축산과학원(National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 330-801, Korea)

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

최근 외국에서는 잔디육종에 관한 연구가 활발하여 전통육종법은 물론 유전자 형질전환에 의한 내병충성, 제초제 저항성 및 각종 환경재해 저항성 등의 신품종 개발 등이 이루어지고 있다 (Chai 및 Sticken, 1998; Hansen 및 Wright, 1999).

우리나라의 경우 공원, 정원, 골프장 등의 급격한 증가와 더불어 수요증가의 폭이 커지고 있으나, 아직까지 각각의 수요 목적에 맞는 다양한 품종개발이 없는 실정이다. 따라서 국내 실정에 맞는 우리 고유의 신품종 개발은 필수적이라 할 수 있다. 고전적인 육종기법과 더불어 분자육종법을 이용한 잔디의 신품종 개발을 위해서는 먼저 체계적이고 효율적인 조직배양을 통한 고효율 식물체 재분화 체계가 확립되어야 한다. 본 실험실에서는 지금까지의 연구를 통하여 잔디의 재분화조건을 확립해 왔다 (Noh et al. 1995). 그러나 좀 더 효율적인 유전자 형질전환체계 확립을 위해서는 재현성 높은 고효율 재분화 체계의 확립이 필수적인 선결조건이다. 따라서 본 연구에서는 식물체 재분화율이 높은 캘러스인 배발생 캘러스를 효율적으로 유도 할 수 있는 조건을 확립함으로써 차후 *Agro-bacterium*을 이용한 고효율 형질전환체계 확립을 위한 기반을 확립하고자 실시하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 식물재료 및 종자 소독

들잔디 종자로부터 배발생 캘러스 유도조건을 확립하기 위한 식물재료로서 들잔디 품종 중 'Zenith'를 이용하였다. 종자의 살균은 이 등 (2003)의 방법에 준하여 다음과 같이 실시하였다. 즉 종자상으로부터 구입한 종자의 종피를 제거하지 않은 그대로의 종자를 70% 에탄올 (v/v)에서 1분간 살균한 후, NaOCl 농도가 각각 5%, 20%, 30%, 40% (v/v)인 용액에서 30분간 처리하여 비교하였다. 처리시간별 살균효과의 비교는 30% NaOCl (v/v) 용액에서 10분, 30분, 60

분간 각각 처리한 후 살균한 종자는 멸균수로 3회 세정한 후 멸균된 filter paper에 옮겨 물기를 제거하였다. 그 후 캘러스 유도를 위한 기본적인 고체 캘러스 유도 배지 [4.4 g/L MS (Murashige & Skoog, 1962), 30 g/L sucrose, 3 g/L Gelrite]를 직경 80 mm 크기의 petri-dish 한 plate당 약 50 ml씩 분주하였다. 50 ml 고체 배지가 들어있는 한 plate에 소독한 종자를 10개씩 32 plate를 치상하고 오염된 종자와 오염되지 않은 종자의 개수를 헤아려 오염정도를 관찰하였다.

### 2. 배발생 캘러스의 유도

캘러스 유도를 위한 기본적인 캘러스 유도배지는 30 g/L sucrose 및 3 g/L Gelrite가 첨가된 MS 기본배지 (Murashige & Skoog, 1962)를 사용하였다. 캘러스 유도시의 식물생장조절제의 종류에 따른 배발생 캘러스의 유도효율을 조사하기 위하여 상기의 캘러스 유도배지에 식물생장조절물질로는 옥신류로 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid), dicamba (3,6-dichloro-o-anisic acid) 및 NAA (naphthalene acetic acid)를 단용 또는 혼용 첨가한 배지를 사용하였다. 배지 첨가물질의 효과를 조사하기 위하여 casein hydrolysate, L-proline, AgNO<sub>3</sub> 및 cysteine을 캘러스 유도배지에 농도별로 첨가한 후 배발생 캘러스의 유도율을 조사하였다. 배발생 캘러스 형성율은 각각의 처리구에 살균된 종자를 치상한 다음, 24±2℃의 성장실에서 암조건으로 4주간 배양한 후, 종자로부터 형성된 캘러스들 중 노란색을 띠며 치밀한 조직 구조의 캘러스인 배발생 캘러스만을 조사하여 치상한 종자에 대한 배발생 캘러스의 수를 백분율로 나타내었다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 종자소독 방법에 따른 배양효과

들잔디의 종자로부터 배발생 캘러스 유도시

에 미치는 종자소독 조건에 따른 효율을 조사하기 위하여, NaOCl의 농도와 처리시간에 따른 종자 오염율을 측정하였다. 그 결과 NaOCl의 처리농도에 따른 오염율은 5% (v/v) 처리구에서 가장 높게 나타났으며, 30% 처리구에서 가장 낮게 나타났다 (Table 1).

Table 1. Effect of NaOCl (v/v) concentration on seed sterilization

NaOCl (%)	No. of seed tested	Frequency of seed contaminated* (%)
5	320	57.5±6.8 <sup>a</sup>
20	320	3.0±0.2 <sup>b</sup>
30	320	1.0±0.1 <sup>b</sup>

\* Values represent mean of percent of seed contaminated. Different superscripts of same row indicate significant differences at 5% level.

한편, 30% NaOCl (v/v) 농도 처리구에서 처리시간을 달리하여 오염정도를 조사한 결과, 60분간 소독처리한 것이 가장 낮은 오염율을 나타내었다 (Table 2). 따라서 배발생 캘러스 유도를 위한 종자소독 조건은 30% (v/v) NaOCl로 60분간 소독하는 것이 배발생 캘러스 유도에 있어 가장 효율적임을 알 수 있었다. 이러한 결과는 이전 보고되었던 연구결과 (이 등, 2004)인 30% NaOCl 30분 처리에 비해 NaOCl의 처리농도는 동일하나, 처리시간은 30분 정도 더 길게 하는 것이 낮은 오염율을 나타내었다. 이와 같은 결과는 이 등 (2004)이 사용한 종자에 비해 저장기간이 장기간 지속된 것에 따른 종자의 오염정도가 더 심했었기 때문으로 추측된다.

## 2. 생장조절물질의 종류와 농도에 따른 배양 효과

들잔디의 종자배양에 있어서 캘러스 유도배지에 첨가되는 생장조절물질의 종류와 농도에 따른 배발생 캘러스의 유도효율을 규명하기 위하여 각각의 옥신 종류와 농도를 단용 또는 혼

Table 2. Effect of treatment time in 30% (v/v) NaOCl on seed sterilization

Treatment time (min)	Percentage of seeds contaminated (%) <sup>*</sup>	Embryogenic callus formation (%) <sup>**</sup>
10	11.8±1.3 <sup>a</sup>	2.5±0.3 <sup>c</sup>
30	3.75±0.3 <sup>b</sup>	6.3±0.9 <sup>b</sup>
60	0±0 <sup>c</sup>	14.5±1.2 <sup>a</sup>

\* and \*\* Values represent mean of percent of seed contaminated and percent of embryogenic callus, respectively. Different superscripts of same row indicate significant differences at 5% level.

용처리하여 첨가한 배지에서 배발생 캘러스의 유도율을 조사하여 본 결과를 Table 3에 나타내었다. 전체적으로 2,4-D, NAA, Dicamba 등의 옥신을 단용처리 했을 때보다 혼용처리 했을 때, 배발생 캘러스 유도에 있어서 효율적인 것으로 나타났다. 옥신 종류별로는 2,4-D가 NAA에 비해 다소 높은 효율을 보였으며, Dicamba의 경우 8.3%로 훨씬 낮은 유도효율을 나타내었다. 이러한 결과는 종자로부터 유도되는 모든 캘러스의 유도율을 조사한 이 등 (2004)의 결과와 유사한 경향을 보였다. 즉 캘러스유도와 배발생 캘러스 유도효율을 직접 비교할 수는 없으나, 전체적으로 2,4-D가 NAA에 비해 다소 높은 캘러스 유도효율을 나타내었다. 옥신류의 혼용처리에 따른 배발생 캘러스 유도효율은 2,4-D와 dicamba를 혼용 처리하였을 때, 17.5%로서 가장 높은 배발생 캘러스 유도효율을 나타내었고, dicamba와 NAA의 혼용처리의 경우 12.9%의 가장 낮은 배발생 캘러스 유도효율이 관찰되었다 (Table 3). 이와 같은 낮은 배발생 캘러스의 유도효율은 종피를 제거하지 않고 캘러스 유도배지에 치상한 것과, 종자 보존기간이 길었던 재료를 사용함에 따른 종자활력의 차이에 기인한 것으로 추측된다. 또한 2,4-D와 dicamba 또는 NAA를 혼용 처리하였을 때의 다소 높은 배발생 캘러스 유도효율은 2,4-D 단용 처리시 얻었던 높은 캘러스 유도효율의 결과와 dicamba 또는 NAA 단용 처리시의 효

Table 3. Effect of auxins on embryogenic callus formation from mature seed

Auxins	No. of seeds tested*	Embryogenic callus formation (%)**
2,4-D 3 mg/L	240	12.5±1.4 <sup>b</sup>
NAA 3 mg/L	240	11.3±1.2 <sup>b</sup>
Dicamba 3 mg/L	240	8.3±2.1 <sup>c</sup>
2,4-D 3 mg/L + NAA 3 mg/L	240	16.6±3.2 <sup>a</sup>
2,4-D 3 mg/L + Dicamba 3 mg/L	240	17.5±2.6 <sup>a</sup>
Dicamba 3 mg/L + NAA 3 mg/L	240	12.9±3.4 <sup>b</sup>

\* Mature seeds were cultured on MS medium containing 3 mg/L auxins, 30 g/L sucrose, 3 g/L gelrite and cultured 5 weeks.

\*\* Values represent mean of percent of embryogenic callus. Different superscripts of same row indicate significant differences at 5% level.

과가 서로 배가됨으로써 배발생 가능성이 높은 세포들의 분열속도를 촉진 했을 것으로 추측된다. 이러한 효과는 2,4-D와 dicamba를 혼용처리 했을 때 더욱 상승되는 것으로 추측된다.

### 3. 배지첨가물질의 종류와 농도에 따른 배양 효과

배지첨가물질 중 질소원의 종류와 농도에 따른 배발생 캘러스 유도효율에 대한 실험 결과는 Table 4와 같다. Casein hydrolysate가 캘러스 유도에 있어서 1 mg/L의 농도로 처리 하였을 때 16.3%의 유도효율로서 3 mg/L의 농도로 처리하였을 때보다 높게 나타났고, L-proline을 500 mg/L의 농도로 첨가했을 때 15.0%로 100 mg/L의 농도로 처리한 것 보다 약간 높은 배발생 캘러스 유도효율을 나타냈다. 이 두 첨가물질의 배발생 캘러스 유도효율에 있어 효과적인 농도인 casein hydrolysate 1g/L과 L-proline 500 mg/L을 혼용처리하여 실험한 결과, 단용처리보다 배발생 캘러스 유도효율에 있어서 큰 차이는 보이지 않았다(Table 4).

Table 4. Effect of casein hydrolysate and L-proline on embryogenic callus formation

Medium supplements	No. of seeds tested*	Embryogenic callus formation (%)**
None	160	8.1±2.4 <sup>c</sup>
Casein hydrolysate 1 g/L	160	16.3±1.7 <sup>a</sup>
Casein hydrolysate 3 g/L	160	10.0±2.1 <sup>b</sup>
L-proline 100 mg/L	160	13.8±2.0 <sup>b</sup>
L-proline 500 mg/L	160	15.0±1.5 <sup>a</sup>
Casein hydrolysate 1 g/L + L-proline 500 mg/L	160	16.9±1.6 <sup>a</sup>

\* Mature seeds were cultured on MS medium containing 3 mg/L auxins, 30 g/L sucrose, 3 g/L gelrite and cultured 5 weeks.

\*\* Values represent mean of percent of embryogenic callus. Different superscripts of same row indicate significant differences at 5% level.

한편 배지첨가물질로서 항산화제를 단용처리와 각각의 농도에 따른 캘러스 유도효율 실험에서는 AgNO<sub>3</sub> 5 mg/L 첨가 하였을 때, cysteine 20 mg/L 첨가 하였을 때가 유도 효율이 높았으며 AgNO<sub>3</sub> 5 mg/L와 cysteine 20 mg/L을 혼용처리 하였을 때 16.9%로 단용 처리시 보다 높은 캘러스 유도 효율을 나타내었다(Table 5).

배지에 첨가되는 탄소원의 종류와 농도에 따른 배발생 캘러스 유도효율을 조사한 결과는 Table 6과 같다. 단용처리구의 경우 30 g/L glucose 첨가구가 15%로서 가장 높은 배발생 캘러스 유도효율을 보였으며, 15 g/L glucose와 maltose 15 g/L를 혼용처리 했을 때 16%의 가장 높은 배발생 캘러스 유도효율을 보였다(Table 6). 본 연구에서 얻어진 배발생 캘러스의 유도효율은 지금까지 보고되었던 결과(이 등, 2004)에 비해 배발생 캘러스의 17.5%로서 비교적 낮은 수준에 속하는 결과이다. 이러한 결과는 연구자들의 배발생 캘러스의 판정기준이 약간씩 다른데 따른 차이로 추측된다. 본 연구에서는 엄밀하게 종자로부터 형성된 캘러

Table 5. Effect of antinecrotic compounds on embryogenic callus formation

Antinecrotic compounds	No. of seeds tested*	Embryogenic callus formation (%)**
None	112	13.4±0 <sup>b</sup>
AgNO <sub>3</sub> 5 mg/L	112	15.2±0 <sup>a</sup>
AgNO <sub>3</sub> 15 mg/L	112	9.0±0 <sup>b</sup>
Cysteine 20 mg/L	112	16.1±0 <sup>a</sup>
Cysteine 40 mg/L	112	11.6±0 <sup>b</sup>
AgNO <sub>3</sub> 5 mg/L+ Cysteine 20 mg/L	112	16.9±0 <sup>a</sup>

\* Mature seeds were cultured on MS medium containing 3 mg/L auxins, 30 g/L sucrose, 3 g/L gelrite and cultured 5 weeks.

\*\* Values represent mean of percent of embryogenic callus. Different superscripts of same row indicate significant differences at 5% level.

스들 중 노란색의 compact한 조직을 가지는 캘러스만을 배발생 캘러스로 판정하였기 때문에 일반적인 캘러스 유도율과 직접비교하면 낮은 효율로 계산되었을 가능성이 큰 것으로 추측된다.

이상과 같은 실험결과를 종합해보면, 종피를 제거하지 않고 효율적인 배발생 캘러스를 유도하기 위해서는 먼저 30% NaOCl (v/v)의 농도로

Table 6. Effect of carbon source on embryogenic callus formation

Combination of carbohydrates	No. of seeds tested*	Embryogenic callus formation (%)**
Glucose 30 g/L	100	15.0±0.6 <sup>a</sup>
Maltose 30 g/L	100	10.2±0.2 <sup>b</sup>
Sucrose 30 g/L	100	10.5±0.4 <sup>b</sup>
Glucose 15 g/L Maltose 15 g/L	100	16.0±1.2 <sup>a</sup>
Glucose 15 g/L Sucrose 15 g/L	100	13.0±1.8 <sup>a,b</sup>
Maltose 15 g/L Sucrose 15 g/L	100	12.0±0.7 <sup>a,b</sup>

\* Mature seeds were cultured on MS medium containing 3 mg/L auxins, 30 g/L sucrose, 3 g/L gelrite and cultured 5 weeks.

\*\* Values represent mean of percent of embryogenic callus. Different superscripts of same row indicate significant differences at 5% level.

60분간 소독을 하고, 옥신류인 2,4-D와 dicamba를 각 3 mg/L의 농도로 처리하는 것이 옥신의 단용 처리보다 효율적인 것을 알 수 있었다. 또한 배지첨가물질로는 1 g/L casein hydrolysate과 500 mg/L L-proline를 첨가해주고, 항산화제인 5 mg/L AgNO<sub>3</sub>와 20 mg/L cysteine을 첨가해주는 것이 가장 효율적이었으며, 탄소원으로는 15 g/L glucose와 15 g/L sucrose를 동시에 첨가해주는 것이 들잔디 종자배양시 배발생 캘러스 유도에 가장 적합한 조직배양조건임을 나타낸다. 본 연구에서 개발된 이와같은 효율적인 배발생 캘러스 유도 체계는 식물체 재분화 및 형질전환 기술을 이용한 들잔디 분자육종기술 개발에 유용하게 이용될 것으로 판단된다.

#### IV. 요약

들잔디의 최적 조직배양 조건을 확립하기 위하여 들잔디 성숙종자로부터 재분화능이 높은 배발생 캘러스 유도효율에 미치는 몇 가지 요인에 관하여 조사하였다. 성숙종자의 소독은 30% (v/v) NaOCl 농도로 60분간 처리 하였을 때 가장 낮은 오염율과 가장 높은 캘러스 유도 효율을 보였다. 옥신류의 혼용처리에 따른 배발생 캘러스 유도효율은 2,4-D와 dicamba를 각각 3 mg/L로 혼용처리 하였을 때 가장 높은 배발생 캘러스 유도효율을 나타내었다. 배지첨가 물질 처리에 따른 캘러스 유도효율은 1 g/L casein hydrolysate와 500 mg/L L-proline를 동시에 첨가해 주었을 때 높은 효율을 나타내었으며, 항산화제로는 5 mg/L AgNO<sub>3</sub>와 20 mg/L cysteine 동시에 첨가해 주었을 때 가장 높은 효율을 나타내었다. 탄소원 종류에 따른 배발생 캘러스 유도효율은 15 g/L glucose와 15 g/L sucrose를 혼용처리 하였을 때 가장 높은 배발생 캘러스 유도효율을 나타내었다. 이와 같은 조직배양조건에 관한 결과들은 금후 고효율 들잔디 형질전환체계 확립에 있어서 매우 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

## V. 사 사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21사업 (과제번호: 20070301034015)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

## VI. 인 용 문 헌

- 김형기. 1994. 잔디학. 선진문화사. 서울. p. 21.
- 배창휴, 이성춘, 임용표, 김호일, 송필순, 이효연. 2001. 성숙종자 유래 캘러스를 이용한 들잔디의 효과적인 식물체 재분화. 식물조직배양학회지. 28(2):61-67.
- 우현숙, 이상훈, 이동기, 김진수, 원성혜, 이병현. 2004. 이탈리아 라이그래스의 성숙종자 유래 캘러스로부터 효율적인 식물체 재분화. 식물생명공학회지. 31(1):43-48.
- 이상훈, 김범수, 원성혜, 조진기, 김기용, 박근제, 성병렬, 이효신, 이병현. 2004. 들잔디 성숙종자로부터 캘러스배양 및 식물체 재분화에 미치는 몇 가지 요인의 영향. 한초지. 24(1):29-36.
- 이상훈, 이동기, 이병현. 2004. 오차드그래스의 종자유래 캘러스배양 및 재분화에 미치는 배지 첨가물질의 영향. 한국작물학회지. 49(3):232-236.
- 이상훈, 이기원, 김도현, 이동기, 원성혜, 김기용, 이병현. 2006. 식물생장조절물질과 배지첨가물질이 켈터키 블루그래스의 식물체 재분화에 미치는 영향. 한초지. 26(2):69-76.
- 임용우, 김기용, 최기준, 임영철, 성병렬. 2001. 들잔디 종자로부터 캘러스 유도 및 식물체 재분화. 한초지. 21(2):49-52.
- 이주삼. 1995. 초지학개론. 향문사. 서울. pp. 67-68.
- 전우방. 1987. 잔디생활의 미래. Kor. J. Turfgrass Sci. 1:79-83.
- 한지학 외 76인 공저. 2007. 식물형질전환. p. 21.
- Asno, Y., Katsumoto, H., Inokuma, C., Kaneko, S., Ito, Y. and Fujie, A. 1996. Cytokinin and thiamine requirements and stimulative effects of riboflavin and a-ketoglutaric acid on embryogenic callus induction from the seeds of *Zoysia japonica* Steud. J. Plant Physiol. 149: 413-417.
- Bai, Y. and R. Qu. 2001. An evaluation on callus induction and plant regeneration of 25turf-type tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) cultivars. Grass Forage Sci. 55:326-330.
- Chai, B. and Stiklen, M.B. 1998. Applications of biotechnology in turfgrass genetic improvement. Crop Sci 38: 1320-1338.
- Gray, D.J. and B.V. Conger. 1985. Influence of dicamba and casein hydrolysate on somatic embryo number and culture quality in cell suspensions of *Dactylis glomerata* (Gramineae). Plant Cell Tiss. Org. Cul. 4:123-133.
- Epan, S. and L. Goerge. 1997. plant regeneration from peduncle segments of oil seed Brassica-species: Influence of silver nitrate and silver thiosulfate. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 51:229-232.
- Enriquez-Obregon, G.A., D.L. prieto-Samsonov, de la Riva, G.A. and R.I. Vanquez-Padron. 1999. agrobacterium-mediated Japonica rice transformation: a procedure assisted by an antinecrotic treatment. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 59:159-168.
- Fang-Yi Jheng, Yi-Yin Do, Yuh-Waan Liauh, Jen-ping Chung and Pung-Ling Huang. 2006. Enhancement of growth and regeneration efficiency from embryogenic callus cultures of *Oncidium* 'Gower Ramsey' by adjusting carbohydrate sources. Plant Sci. 170:1133-1140.
- Hansen, G. and Wright, M.S. 1999. Recent advances in the transformation of plants. Trends Plant Sci 4:226-231.
- Noh, H.Y., Choi, J.S. and Ahn, B.J. 1995. Plant regeneration through somatic embryogenesis in *Zoysiagrass* (*Zoysia* spp.). J. Kor Soc Hort Sci 36:82-587.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revise medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15:473-497.
- Olhoft, P.M. and D.A. Somers. 2001. L-cystein increase Agrobacterium-mediated T-DNA delivery into soybean cotyledonary-node cells. Plant Cell Rep. 20:706-711.
- Sun-Hyung, Lim, Byung-Chorl, Kang and Hong-Kyun Shin 2004. Herbicide resistant turfgrass (*Zoysia japonica* cv. Zenith) plants by particle bombardment- mediated transformation. Kor. J. of Turfgrass Sci. 18(4): 211-219.

(접수일: 2009년 2월 13일, 수정일 1차: 2009년 2월 25일, 수정일 2차: 2009년 3월 5일, 게재확정일: 2009년 3월 16일)