

나누어 조직 부위별 재분화율을 조사하였다. 배양 20일 후 distal과 proximal의 식물체 재분화율은 각각 41.8%와 55.5%였으며, NAA 0.2 mg/l 와 BA 3 mg/l 조합에서 재분화율이 80.3%로 가장 좋았다.

4. Alfalfa (*Medicago sativa* L.)의 하배축 (hypocotyl)으로부터 다량의 이차체세포배 발생과 식물체 재분화

원성혜^o · 이병현 · 김기용* · 이효신 · 김미혜 · 이현정 · 조진기
경북대학교 동물공학과, 축산기술연구소*

알팔파의 하배축 (hypocotyl)으로부터 캘러스 유도 및 식물체 재분화를 위하여 2,4-D와 kinetin이 조합 처리된 MS배지에 조직을 치상하였을 때 4주 후 캘러스가 유도되었으며, 2,4-D 4 mg/l 와 kinetin 0.1 mg/l 그리고 2,4-D 4 mg/l 와 kinetin 0.5 mg/l 조합에서 체세포배가 형성되었다. 성숙한 체세포배를 MS기본배지로 계대배양 하였을 때 정상적인 식물체로 재분화 하였다. 이차체세포배 발생을 위하여 재분화된 기내식물의 자엽으로부터 이차캘러스를 유도하였다. 2,4-D의 농도에 따라 배발생캘러스의 형성률에 차이를 보였으며, 2,4-D 4 mg/l 의 MS배지에서 배양하였을 때 배발생캘러스의 유도가 가장 좋았다. 배발생캘러스로부터 이차체세포배의 발생률은 2,4-D 0.1 mg/l 첨가한 MS 배지에서 가장 좋았으며, 캘러스당 배발생률이 일차캘러스 보다 평균 18배 증가하여 이차체세포배 배양에 의한 재분화 식물체의 대량증식이 가능하였다. 성숙한 이차체세포배는 MS기본배지에 계대배양 하였을 때 뿌리가 유도되었으며 정상적인 식물체로 발달하였다.

5. Orchardgrass의 종자유래 캘러스로부터 부정배형성과 식물체 재분화

이효신^o · 이병현 · 원성혜 · 김기용* · 김미혜 · 정동민 · 조진기
경북대학교 동물공학과, 축산기술연구소*

Orchardgrass의 종자배양 유래의 캘러스를 현탁배양하여 현탁배양기간별 부정배형

성정도와 식물체 재분화율 등에 대한 몇가지 실험을 수행한 바, 2주간격으로 4회계 대배양 하였을 때 계대배양 횟수가 증가됨에 따라 식물체 재분화율이 증가되었다. 종자배양에서 형성된 캘러스의 현탁배양에서 모양이 등근세포와 그들의 세포피는 배양 30일 후에 최대치를 나타내었고, 그 이후는 감소하였다. 현탁배양 기간에 따른 캘러스의 부정배형성은 배양기간이 줄어들수록 증가하였으나, 식물체 재분화율은 감소하는 경향을 나타내었다.

6. 유전자총 및 *Agrobacterium*을 이용한 Bentgrass의 형질전환

임용우^o · 김기용 · 정영수*

축산기술연구소, 고려대학교*

Bentgrass의 형질전환식물 생산을 위하여 유전자총 (Gene-gun) 및 *Agrobacterium*기법을 이용하여 형질전환을 시도한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 캘러스의 유도 및 증식 : Bentgrass (*Agrostis palustris*)의 종자를 MS-5 배지 (MS 기본배지, 2,4-D 5mg/L, casein hydrolysate 2g 포함)에 치상하여 캘러스를 유도하였다. 유도된 캘러스는 증식을 위하여 MS-3 배지 (MS기본배지, 2,4-D 3mg/L, casein hydrolysate 2g 포함)에서 2주간격으로 subculture 하였다.

2. 형질전환 : 유전자총 (PDS-1000, Bio-rad)을 이용해 bombardment를 시행하여 캘러스에 상처를 입히고, binary Vector pCAMBIA 1300-smGFP (Hygromycin 및 GFP 유전자 포함)를 포함한 *Agrobacterium tumefaciens*, LBA4404 를 이용하여 2일간 co-cultivation한 후, 캘러스를 200mg/L의 cefotaxime 및 acetosyringone (50 μ M)이 포함된 MS medium 으로 세척한 후 선발배지인 MS 배지 (hygromycin 50mg/L, 2g casein hydrolysate, 200mg cefotaxime)에서 저항성 캘러스를 선발하였다. 저항성캘러스의 형질전환 확인을 위하여 UV 현미경에서 조사한 결과 GFP의 발현을 확인하였으며 재분화배지인 MS-0 (20mg/L hygromycin, 2g casein hydrolysate, 200mg/L cefotaxime)에서 재분화 하였다. 재분화 식물체에 대한 Southern blot 분석이 진행중에 있다.