

잔디의 캘러스 형성 및 재분화에 미치는 식물생장조절제,
탄소원 및 AgNO₃의 영향

한성수 · 임요섭 · 정재훈*

**Effect of Growth Regulators, Carbon Sources and
Silver Nitrate on Callus Formation and
Plant Regeneration of Turf Grass**

Han, S.S., Y.S. Rim, and J.H. Jeong*

ABSTRACT

This study was carried out to determine the effects of growth regulators, carbon sources and silver nitrate on callus formation and plant regeneration of turfgrass. The results were summarized as follows :

Callus from Korean lawngrass (*Zoysia japonica* Steud.) and penncross creeping bentgrass (*Agrostis palustris* Huds.) induced better in MS medium than in N6 medium and by addition of 2,4-D than by that of NAA. Callus formation from Korean lawngrass and penncross creeping bentgrass was very effective at MS medium adding 1mg/L 2,4-D and at the medium adding 2mg/L 2,4-D, respectively.

Growth of callus was good at MS medium containing 2mg/L 2,4-D+0.2mg/L NAA. Callus growth of Korean lawngrass and penncross creeping bentgrass was good when kinetin was added 0.2mg/L and 0.3mg/L, individually, to MS medium containing 2mg/L 2,4-D+0.2mg/L NAA.

Regeneration rate from leaf and stock callus of Korean lawngrass was 44% at MS medium adding 2,4-D 2mg/L+NAA 0.2mg/L+kinetin 0.3mg/L and 32% at the medium containing 2,4-D 2mg/L+NAA 0.2mg/L+kinetin 0.3mg/L, each and that from leaf and stock callus of penncross creeping bentgrass was 80% and 67%, each, at the medium adding 2,4-D 2mg/L+NAA 0.2mg/L+kinetin 0.3mg/L.

Regeneration rate of Korean lawngrass and penncross creeping bentgrass increased by 3 to 4% and by 10 to 16%, respectively, when added AgNO₃ 1~2mg/L to the above-mentioned regeneration medium.

Key words : callus formation, plant regeneration, Korean lawngrass, penncross creeping bentgrass, stock callus

* 원광대학교 농화학과(Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea)

<1996. 5. 18 접수>

서 언

주로 하천제방의 보존, 묘지 주변의 피복용 및 도로변 등의 토양 보존용으로 사용되었던 잔디는 최근에 와서 공원, 정원 등의 조경과 경관 조성용으로까지 그 활용범위가 확대되고 있으며, 골프장, 테니스장 등 운동경기장의 잔디화, 주택이나 공업단지 주변의 녹화, 고속도로 경사면의 피복용 등으로 잔디식물이 많이 이용되고 있다.¹⁾ 특히 난지형 잔디 Korean lawn-grass(*Zoysia japonica* Steud)와 한지형 잔디 penn-cross creeping bentgrass(*Agrostis palustris* Huds.)는 공원, 운동장, 정원, 사방 공사 및 골프장, 테니스장 등의 지피식물로 많이 이용되고 있으며, 그 수요가 날로 증가됨에 따라 작물로서의 중요성이 대두되고 있기 때문에 내병성, 내환경성 등 고품질의 잔디 품종육성의 필요성이 인식되고 있다.

최근의 식물분자생물학 및 세포생물학이 발달함에 따라 유전자 조작에 의한 유용유전자의 cloning과 획득된 유용유전자의 식물체내 형질전환을 가능하게 하여 내한성, 병충해 저항성, 제초제 저항성 작물 및 새로운 식물체를 개발하는 등 생물의 형질을 다양하게 변화시킬 수 있게 되었다. 이러한 유전자 도입에 의한 신품종의 육종은 새로운 종자 생산에 직접 활용 가능함으로써 그 잠재력은 매우 광범위하다. 화분과 식물의 외래유전자 도입 방법에는 *Agrobacterium*속을 이용한 방법^{2,3)}과 원형질체를 배양하여 electroporation^{4,6)}하는 방법을 사용하고 있고, 근래에 와서는 외래 유전자를 coating한 particle을 particle gun⁷⁻¹¹⁾을 사용하여 식물체 조직에 직접 도입하는 방식이 많이 시도되고 있다. 그러나 잔디의 형질전환 체계 확립에 앞서서 재분화 체계가 확립되어야만 효율적으로 이러한 기술이 활용될 수 있는데, 화분과 식물은 비교적 재분화 정도가 낮을 뿐만 아니라 품종간 변이가 크며 캘러스를 장기간 계대배양했을 때 식물체 분화능력이 급속히 저하되는 등 그의 재분화가 용이하지 않는 특

징을 보이고 있다.¹²⁾

Krans 등¹³⁾은 penn-cross creeping bentgrass의 완속종자로부터 캘러스를 유도하여 14개월 동안 유지된 stock callus를 사용하여 식물체 재분화 실험을 수행하였는데 캘러스 유도효율은 광조건에서 2,4-D 1.0mg/L 및 암조건에서 2,4-D 1.0과 10mg/L를 MS배지에 각각 첨가했을 때 좋았고, 광조건에서 보다는 암조건에서 좋은 캘러스유도 효율을 나타냈다고 하였으며, 식물체 재분화실험에서는 대체로 2,4-D 농도가 낮을 때 재분화가 잘 되었고 배지에 kinetin 0.1 또는 1.0mg/L첨가에서 뿌리와 싹초형성이 가장 좋았다고 하였다. Al-khayris 등¹⁴⁾은 Korean lawn-grass 완속종자를 절편체로 사용하여 배지별, 2,4-D 농도별, 광조건과 암조건에서 캘러스유기양상을 보았으며, 재분화시 2,4-D 억제 방법에 따른 실험을 수행하여 잔디를 재분화시켰지만 이들 실험에는 식물생장조절제별 및 그들의 조합처리에 따른 캘러스증식에 관한 연구가 이루어지지 않았다.

한편, 국내에서는 유 등¹⁵⁾이 5가지 잔디류의 경정배양시 생장조절제에 따른 기관분화에 관한 연구결과를 발표하였으며, 노 등¹⁶⁾은 체세포 배발생을 통한 한국잔디류의 배발생 배양에 대한 보고가 있지만 이들 결과는 재분화율이 낮으며, 탄소원에 따른 캘러스 증식양상이나 에틸렌 작용억제제로써 작물 재분화율을 증가시키는 효과가 있는 것으로 알려진 AgNO₃의 첨가에 따른 잔디 재분화에 대한 연구 결과는 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 유용 외래 유전자를 광범위하게 사용되고 있는 잔디에 도입시켜 새로운 형질의 신품종을 창출하는 선행조건인 잔디의 재분화 체계를 확립하고자 한지형 잔디와 난지형 잔디를 각 1종씩 선택하여 배지별 및 식물생장조절제별로 캘러스 유도과 증식양상을 조사하였고, 재분화 효율을 향상시키기 위하여 기내 배양을 통해 탄소원 및 AgNO₃ 농도의 차이에 따른 재분화 실험을 수행하였는 바 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

본 실험에 사용한 공시 잔디종자는 Korean lawngrass(*Zoysia japonica* Steud.)와 penncross creeping bentgrass(*Agrostis palustris* Huds.)로써 삼성 중앙 개발 잔디연구소에서 분양받아 사용하였다.

잔디종자의 종피를 제거하여 70% ethyl alcohol에 30초간 소독한 후 Korean lawngrass는 6% NaOCl용액에 20분간 그리고 penncross creeping bentgrass는 3% NaOCl용액에 15분간 표면을 살균하여 멸균수로 3-5회 세척한 다음 캘러스 유기 배지에 치상하였다. 또한 MS배지에서 무균발아된 잔디조직으로부터 엽원기를 포함하지 않는 엽절편을 2,4-D, NAA, Kinethin이 조합처리된 MS고체 배지에 치상하였다.

배지는 MS기본배지와 N6배지를 사용하였고 30g/L sucrose와 8g/L의 agar를 첨가한 후 pH 5.8로 조절하여 120℃의 고압증기멸균기에서 15분간 살균하였다. 배양실의 온도는 25±1℃, 광도는 2000Lux이었다.

1. 캘러스 유기

식물생장조절제의 종류별 및 농도 차이에 따른 잔디 캘러스 유기를 조사하기 위하여 MS배지 및 N6 기본배지에 2,4-D(0~5mg/L)와 NAA(0~5mg/L)를 각각 첨가한 캘러스 유도배지에 전처리한 잔디종자를 치상하여 암조건에서 8주후 형성된 캘러스 유기율과 생체중을 조사하였다.

2. 캘러스 증식

식물생장조절제에 의한 캘러스 증식을 조사하기 위해 일정량의 캘러스를 2,4-D 2mg/L에 NAA를 농도별(0~2mg/L)로 조합첨가한 MS배지에 치상하였고, 앞의 실험결과에서 캘러스 증식에 효과적이었던 2,4-D 2mg/L+NAA 0.2mg/L에 kinetin농도별(0~1mg/L) 그리고 탄소원별(starch, mannitol, sucrose 각 30g/L)로 각각 첨가한 MS배지에서 캘러스 증식량을 조사하였다.

3. 잔디의 재분화

전처리한 잔디 종자를 2,4-D 2mg/L과 NAA 0.2mg/L가 첨가된 MS배지에서 4주간격으로 계대배양하면서 8주동안 배양시킨 stock callus와 MS배지에서 무균발아시켜 2~3엽이 된 잔디의 자엽절편을 2,4-D 1mg/L+NAA 0.2mg/L에 kinetin을 농도별(0~1 mg/L)로 첨가한 재분화 배지에 치상하여 잔디의 재분화를 조사하였다. 또한 AgNO₃의 잔디 재분화 효과를 조사하기 위하여 앞의 실험에서 효과적이었던 재분화 배지 구성에 AgNO₃를 농도별(0~2 mg/L)로 첨가하여 만든 재분화배지에 stock callus와 자엽절편을 치상하여 재분화율을 조사하였다.

결과 및 고찰

1. 캘러스 유기

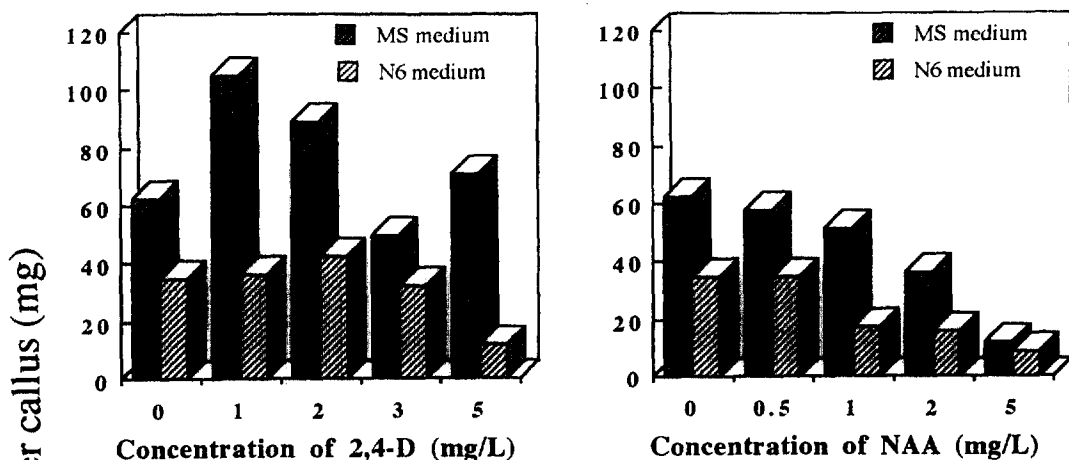
2,4-D와 NAA를 MS배지와 N6배지에 각 농도별로 첨가하여 Korean lawngrass와 penncross creeping bentgrass의 성숙 종자를 치상한 후 암

Table 1. Rate of callus induction from mature caryopsis of Korean lawngrass and penncross creeping bentgrass.

Concentration added to medium (mg/L)	Rate of callus induction (%)				
	Korean lawngrass		Penncross creeping bentgrass		
	MS medium	N6 medium	MS medium	N6 medium	
2,4-D	1	80	73	30	30
	2	77	67	50	43
	3	70	53	37	33
	5	60	53	30	33
NAA	0.5	63	63	27	33
	1	73	67	33	33
	2	60	50	43	40
	5	57	43	37	37

Data consist of 3 duplicates containing 30 mature caryopsis each.

Zoysia japonica Steud.



Agrostis palustris Huds.

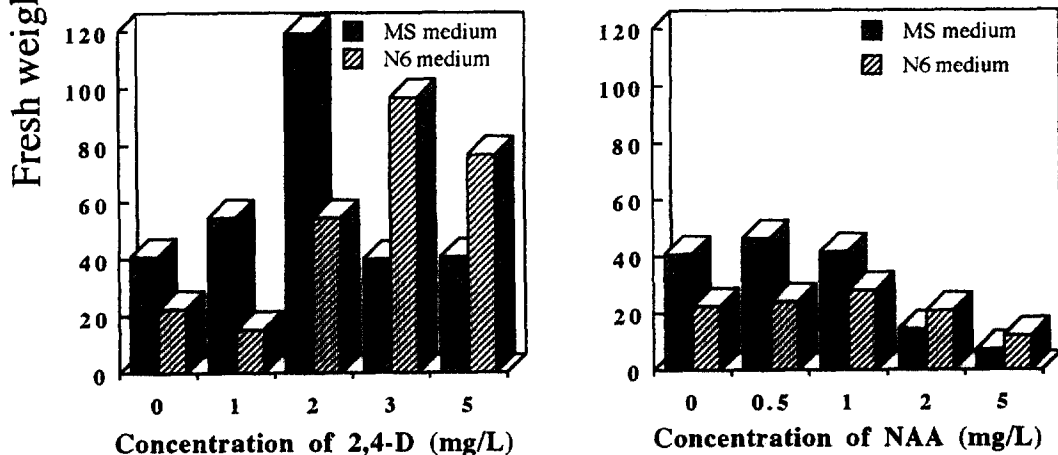


Fig. 1. Effect of medium, 2,4-D and NAA on callus induction from *Zoysia japonica* Steud. (upper) and *Agrostis palustris* Huds.(below) incubated in dark room at 25°C for 8 weeks.

조건에서 8주간 배양하여 생성된 캘러스의 유기율과 생체중을 조사한 결과는 각각 Table 1 및 Fig. 1과 같다.

배양 7일째부터 일부에서 캘러스가 유기되기 시작되었으며(Fig. 8-A, F) 배양 8주 후의 캘러스 유기율은 Korean lawngrass의 경우 2,4-D 1mg/L첨가한 MS와 N6배지에서 80%, 73%이었고, NAA 1mg/L첨가 MS와 N6배지에서 각각 73%, 67%이었다. penncross creeping bentgrass의 경우 2,4-D 2mg/L첨가 MS와 N6배지에서 캘러스 유기율은 각각 50%, 43%이었으며 NAA 2mg/L 첨가 MS, N6배지에서는 각각 43%, 40%이었

다. 전체적으로 MS배지가 N6배지보다 그리고 2,4-D가 NAA보다 캘러스유기에 좋았으며 Korean lawngrass가 penncross creeping bentgrass보다 캘러스유기율이 높았다. 한편, 캘러스 생체중을 보면 Korean lawngrass의 경우 MS배지에 2,4-D 1~2mg/L와 NAA 0~0.5mg/L을 첨가했을 때 그리고 N6배지에 2,4-D 2mg/L와 NAA 0~0.5 mg/L를 각각 첨가했을 때 캘러스 형성이 양호하였고(Fig. 1의 상단), penncross creeping bentgrass의 경우 MS배지에 2,4-D 2mg/L와 NAA 0~1mg/L을 첨가 했을 때와 N6배지에 2,4-D 3~5mg/L와 NAA 1mg/L를 첨가했을 때 캘러스

형성이 효과적이었다(Fig. 1의 하단). 캘러스 생체중에 미치는 식물생장 조절제의 효과는 두 품종과 두 배지 모두에서 NAA첨가가 보다 2,4-D 첨가가 더욱 효과적이었으며 이 결과는 5품종의 잔디류와 Red Fescue를 공시잔디로 식물생장조절제에 따른 캘러스 생체중을 조사한 결과 2,4-D가 NAA보다 효과적이었다는 보고^{15,17)}와 일치하였다. 배지별 캘러스의 생체중은 전체적으로 볼 때 N6배지보다 MS배지에서 좋았으나 penncross creeping bentgrass의 경우 2,4-D 3~5mg/L농도와 NAA 2~5mg/L 농도범위에서 MS배지보다 N6배지에서 발생한 캘러스의 생체중이 더 많은 경향을 나타냈다. 이 결과는 Ahn 등¹⁸⁾이 common bermudagrass의 미숙화서를 2,4-D 1mg/L첨가한 배지에 치상하였을 때 MS배지보다 N6배지에서 캘러스형성이 더 좋았다는 보고와 상반되었고, 노 등¹⁶⁾과 Al-khayri 등¹⁴⁾이 Korean lawngress를 사용하여 실험한 결과에서 embryogenic callus가 2,4-D 1mg/L를 첨가한 N6배지에서 보다 MS배지에서 훨씬 잘 유기되었다는 보고와는 유사한 경향으로써 이와 같이 잔디품종에 따라서는 callus 유기배지가 다를 수 있음을 시사하는 결과라 생각된다.

2. 캘러스 증식

Krans 등¹³⁾은 penncross creeping bentgrass의 stock callus를 이용 2,4-D 1mg/L를 첨가한 MS 배지에서 치상하여 배양하였을 때 캘러스 증식이 가장 좋았다고 하였으며, Torello 등¹⁷⁾은 red fescue의 캘러스를 2,4-D, 2,4,5-T, NAA를 농도별로 첨가한 1/2MS배지에 치상하였을 때 2,4-D 20 μ M 첨가시 캘러스의 증식이 가장 좋았다고 하였다. 또한 Mc Donnell 등¹⁹⁾은 3가지 종류의 합성옥신류를 사용하여 kentucky bluegrass의 캘러스증식에 미치는 효과를 측정하였는 바, 이들 실험들은 각 식물생장조절제의 단독 첨가시 캘러스증식을 조사한 것으로 조합처리에 따른 캘러스 증식효과에 관한 실험은 없는 실정이다. 따라서 식물생장조절제의 조성과 농도에 따른 캘러스증식을 향상시키기 위하여 캘러스유기에 좋았던 2,4-D 2mg/L 함유 MS배지에

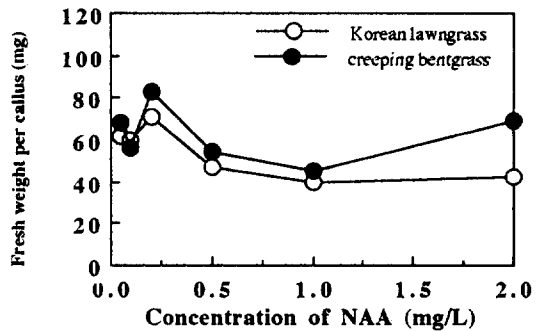


Fig. 2. Effect of NAA on growth of callus from Korean lawngress(*Zoysia japonica* Steud.) and Pennncross creeping bentgrass(*Agrostis palustris* Huds.) at MS medium containing 2mg/L 2,4-D.

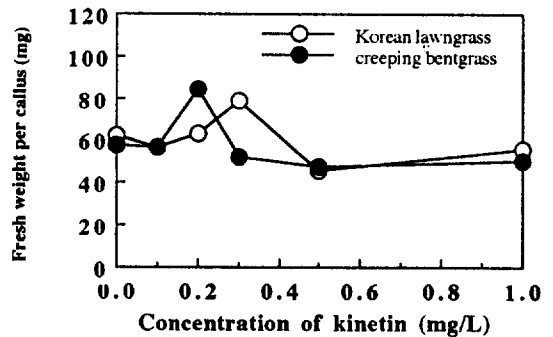


Fig. 3. Effect of kinetin on growth of callus from Korean lawngress(*Zoysia japonica* Steud.) and Pennncross creeping bentgrass(*Agrostis palustris* Huds.) at MS medium containing 2mg/L 2,4-D and 0.2mg/L NAA.

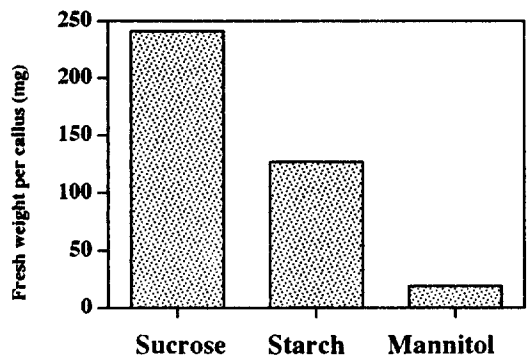


Fig. 4. Effect of carbon source on growth of callus from *Zoysia japonica* Steud. at MS medium containing 2mg/L 2,4-D and 0.2mg/L NAA.

NAA를 각 농도별로 첨가하여 증식량을 조사한 결과는 두 공시잔디 모두 NAA 0.2mg/L을

첨가하였을 때 좋은 증식을 나타냈다(Fig. 2). 한편 2,4-D 2mg/L+NAA 0.2mg/L 함유 MS배지에 kinetin을 각 농도별로 첨가하여 조사한 Korean lawngrass와 penncross creeping bentgrass의 캘러스 증식량은 kinetin을 Korean lawngrass의 경우 0.2mg/L 그리고 penncross creeping bentgrass의 경우 0.3mg/L를 첨가했을 때 가장 좋은 증식량을 보였다(Fig. 3).

잔디 캘러스 증식에 효과적인 탄소원을 찾기위해 sucrose, starch, mannitol을 MS배지에 각각 30g/L씩 첨가하여 8주간 광조건에서 배양한 후 그 증식을 조사한 결과를 Fig. 4에 나타낸 바와 같이 mannitol은 처음 이식했던 상태에서 더 이상 증식하지 못했고, starch 역시 증식이 좋지 않았으며, 광범위하게 사용되고 있는 sucrose가 다른 탄소원들 보다 캘러스 증식에 가장 효과가 있었다. 이 결과는 Kishor 등²⁰⁾이 벼를 공시작물로 이용하여 탄소원으로써 sobitol이나 mannitol을 첨가한 배지에서도 sucrose 함유 배지에서와 동일한 캘러스 증식량과 뿌리와 배발생 캘러스의 발생 빈도를 높인 결과와는 상이하였다. 이는 각 연구자들이 공시작물로 사용한 벼와 잔디의 생리·생태적인 특성에 기인하는 것이라 사료된다.

3. 잔디의 재분화

잔디의 재분화를 유도할 목적으로 stock callus

와 잔디잎 절편을 2,4-D 1mg/L+NAA 0.2mg/L 함유 MS배지에 kinetin 농도별로 첨가한 재분화 배지에 치상하여 신초 재분화율을 조사한 결과 Korean lawngrass의 경우 잎 절편체는 kinetin 0.1 mg/L에서 그리고 stock callus는 kinetin 0.3mg/L 농도에서 각각 44%와 32%이었으며, kinetin 0.3 mg/L 농도에서 penncross creeping bentgrass의 잎 절편체와 stock callus의 재분화율은 각각 80%와 67%로 신초 재분화율이 좋았다(Fig. 5). Fig. 6과 Fig. 7은 전술한 실험결과에서 가장 좋았던 재분화 배지조성에 에틸렌 생합성저해제로써 식물의 재분화율을 향상시키는 것으로 알려진²¹⁾ AgNO₃를 첨가하여 신초 재분화율을 조사하여 나타낸 것으로 잎 절편체의 경우 Korean lawngrass는 AgNO₃ 1mg/L에서 그리고 penncross creeping bentgrass는 AgNO₃ 2mg/L에서 각각 48%와 90%의 재분화율을 나타냈고 stock callus의 경우는 각각 35와 83%의 재분화율을 나타냈다. 이는 재분화배지에 AgNO₃를 첨가함으로써 첨가하지 않았을 때보다 Korean lawngrass는 3~4% 그리고 penncross creeping bentgrass는 10~16%의 재분화율이 증가되었다. 이와 같이 재분화 배지에 AgNO₃를 첨가함으로써 재분화율이 증가하는 것은 Songstad 등²²⁾의 에틸렌이 orchardgrass의 embryogenic callus형성을 방해한다는 결과와 Purnhouse 등²¹⁾이 AgNO₃가 미숙배에서 분화된 밀(*Triticum aestivum* L.)의 신

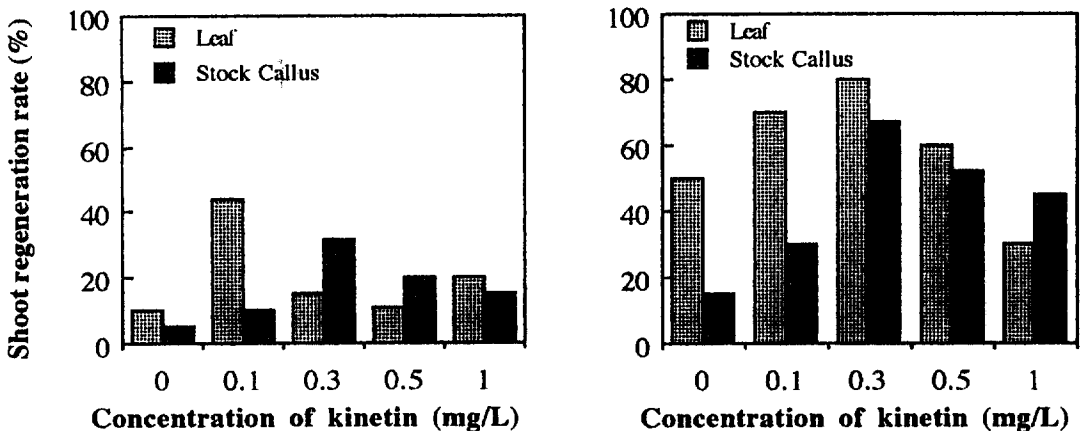


Fig. 5. Effect of kinetin on regeneration of *Zoysia japonica* Steud.(left) and *Agrostis palustris* Huds.(right) at MS medium containing 1mg/L 2,4-D and 0.2mg/L NAA.

요 약

잔디의 형질전환체계를 확립하기에 앞서 효율적인 재분화 체계를 확립하고자 식물생장 조절제, 탄소원 및 $AgNO_3$ 가 재분화에 미치는 영향을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 배지(MS와 N6) 및 식물생장조절제(2,4-D와 NAA)에 따른 Korean lawngrass(*Zoysia japonica* Steud.)와 penncross creeping bentgrass(*Agrostis palustris* Huds.)의 캘러스유기는 두 품종 모두 N6배지에서 보다 MS배지에서 좋았으며, Korean lawngrass는 2,4-D 1mg/L 첨가 MS배지에서 그리고 penncross creeping bentgrass는 2,4-D 2mg/L첨가 MS배지에서 가장 좋았다.
2. 캘러스증식은 두 품종 모두 2,4-D 2mg/L 함유 MS배지에 NAA 0.2mg/L 첨가하였을 때 가장 좋았고, kinetin을 Korean lawngrass의 경우 0.2mg/L, penncross creeping bentgrass의 경우 0.3mg/L를 첨가하였을 때 가장 좋았다.
3. 식물체 재분화 실험에서 Korean lawngrass 잎 절편체의 재분화율은 MS배지에서 2,4-D 2mg/L+NAA 0.2mg/L+kinetin 0.1mg/L 조합 처리시 44% 그리고 stock callus의 재분화율은 2,4-D 2mg/L+NAA 0.2mg/L+kinetin 0.3 mg/L 조합처리시 32%이었다. penncross creeping bentgrass의 잎 절편체와 stock callus의 재분화율은 kinetin 0.3mg/L 농도에서 각각 80%와 67%이었다.
4. Korean lawngrass의 경우 전술한 재분화 배지에 $AgNO_3$ 1mg/L를 첨가하였을 때 3~4% 그리고 penncross creeping bentgrass의 경우 2mg/L를 첨가하였을 때 10~16%의 재분화율이 향상되었다.

참 고 문 헌

1. 전우방. 1985. 잔디 조성 관리. 구민사 : 1-145.
2. Raineri, D.M., P. Bottino, M.P. Gordon, and E.W. Nester. 1990. *Agrobacterium*-mediated transformation of rice(*Oryza sativa* L.). Bio/

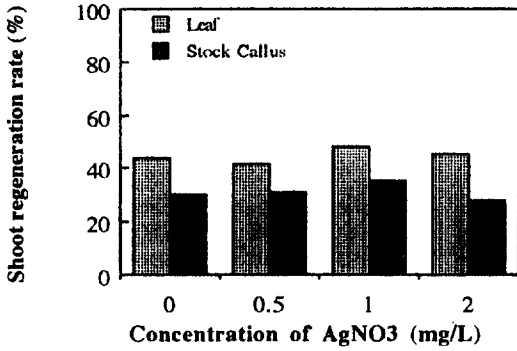


Fig. 6. Effect of $AgNO_3$ on regeneration of *Zoysia japonica* Steud. at MS medium containing 1mg/L 2,4-D, 0.2mg/L NAA and 0.1mg/L kinetin.

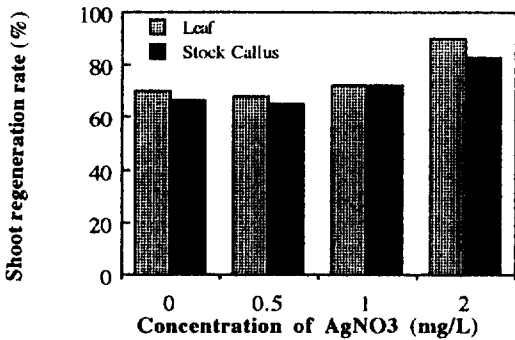


Fig. 7. Effect of $AgNO_3$ on regeneration of *Agrostis palustris* Huds. at MS medium containing 1mg/L 2,4-D, 0.2mg/L NAA and 0.3mg/L kinetin.

초 재분화를 효과적으로 촉진하였다는 사실로 미루어 볼 때 $AgNO_3$ 가 재분화를 억제하는 에틸렌의 생합성을 저해함으로써 재분화율을 높여주기 때문이라고 생각된다.

배발생 캘러스들은 배양기간이 penncross creeping bentgrass는 5주, Korean lawngrass는 10주 이상되면서 식물체 재분화를 관찰할 수 있었으며 penncross creeping bentgrass가 Korean lawngrass보다 더 빠르게 재분화되었다. 이들 배발생 캘러스들은 호르몬 free배지에 옮겨졌을 때, 싹초와 뿌리가 동시에 발달하였으며 재분화됨을 관찰할 수 있었다.(Fig. 8-C, H) 재분화된 식물들은 토양에 이식되어 온실에서 완전한 식물체로 성장하였다.(Fig. 8-E, J)

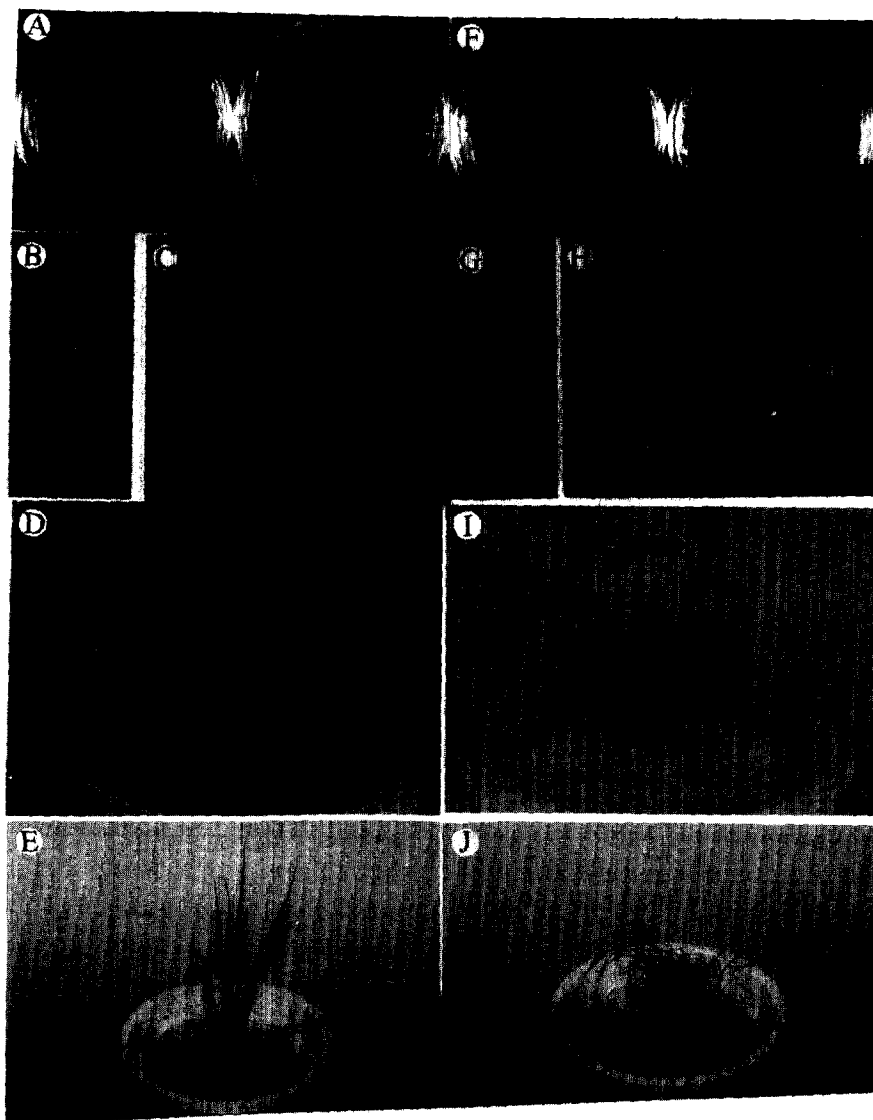


Fig. 8. Callus induction and plant regeneration from Korean lawngrass(left) and penncross creeping bentgrass (right). (A, F) Callus induction from mature caryopsis : (B, G) Shoot regenerated from callus : (C, H) Shoot and root regeneration in hormone free MS medium : (D, I) Root establishment : (E, J) Regenerant growing in soil.

Technology. 8 : 33-38.

3. Hiei, Y., S. Ohta, T. Komari, and T. Kuma-

shiro. 1994. Efficient transformation of rice(*Oryza sativa* L.) mediated by *agrobacterium* and

- sequence analysis of the boundaries of the T-DNA. *The Plant Journal* 6(2) : 271-282.
4. Toriyama, K., Y. Arimoto, H. Vchimiya, and K. Hinata. 1988. Transgenic rice plants after direct gene transfer into protoplasts. *Bio/Technology* 6 : 1072-1074.
 5. Vchimiya, H., T. Fushimi, H. Hachimoto, H. Harada. K. Syono, and Y. Sugawara, 1984. Expression of a foreign gene in callus derived from DNA-treated protoplasts of rice(*Oryza sativa* L). *Mol Gen Gente* 204 : 204-207.
 6. Shimamoto, K., R. Terada, T. Lzawa, and H. Fujimoto. 1989. Fertile transgenic rice plants regenerated from transformed protoplasts. *Nature* 338(16) : 274-276.
 7. Klein, T.M., E.P. Wolf, R. Wu, and J.C. Sanford. 1987. High-velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. *Nature* 327(7) : 70-73.
 8. Somers, D.A., H.W. Rines, W. Gu, H.F. Kaeppler and W.R. Bushnell. 1992. Fertile, transgenic oat plants. *Bio/Technology* 10 : 1589-1594.
 9. Christou, P., T.L. Ford and M. Kofron. 1991. Production of transgenic rice(*Oryza Sativa* L.) plants from agronomically important indica and japonica varieties via electric discharge particle acceleration of exogenous DNA into immature zygotic embryos. *Bio/technology* 9 : 958-962.
 10. Vasil, V., A.H. Castillo, M.E. Fromm and I.K. Vasil. 1992. Herbicide resistant fertile transgenic wheat plants obtained by microprojectile bombardment of regenerable embryogenic callus. *Bio/technology* 10 : 667-674.
 11. Klein, T.M., L. Kornstein, J.C. Sanford, and M.E. Fromm. 1989 Genetic transformation of maize cells by particle bombardment. *Plant Physiology* 91 : 440-444.
 12. Wernicke, W. and R. Brettelle. 1980. Somatic embryogenesis from *sorghum bicolor* leaves. *Nature* 287 : 138-139.
 13. Krans, J.V., V.T. Henning, and K.C. Torres. 1982. Callus induction, maintenance and plantlet regeneration in creeping bentgrass. *Crop Science* 22 : 1193-1197.
 14. AL-khayri, J.M., F.H. Huary, L.F. Thompson, and J.W. King. 1989. Plant regeneration of zoysiagrass from embryo-derived callus. *Crop Science* 29 : 1324-1325.
 15. 유용권 · 김기선. 1991. 다섯가지 잔디류의 경정배양시 생장조절제가 캘러스 형성 및 기관 분화에 미치는 영향. *한원지* 32(2) : 237-246.
 16. 노희영 · 최준수 · 안병준. 1995. 체세포발생을 통한 한국잔디류(*Zoysia* app.)의 식물체 재분화. *한원지* 36(4) : 582-587.
 17. Torello, W.A., A.G. Symington, and R. Rufner. 1984. Callus initiation, plant regeneration, and evidence of somatic embryogenesis in red fescue. *Crop Sciene* 24 : 1037-1040.
 18. Ahn, B.J., F.H. Huang, and J.W. King. 1985. Plant regeneration through somatic embryogenesis in common bermudagrass tissue culture. *Crop Science* 25 : 1107-1109.
 19. McDonnell, R.E., and B.V. Canger. 1984. Callus induction and plantlet formation from mature embryo explants of kentucky bluegrass. *Crop Science* 24 : 573-578.
 20. Kishor, P.B.K. and G.M. Reddy. 1986. In "Gene structure and function in higher plants". Oxford & IBH Publ., New Delhi. 253-255.
 21. Songstad, D.D., P.D. Detracek, C.E. Sams, and B.V. Conger. 1989. Effect of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid and aminoethoxyvinylglycine on ethylene emanation and somatic embryogenesis from orchardgrass leaf cultures. *Plant Cell Reports* 7 : 677-679.
 22. Purnhause, L., P. Medgyesy, M. Czako, P.J. Dix, and L. Marton. 1987. Stimulation of shoot regeneration in *Triticum aestivum* and *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. tissue cultures using the ethylene inhibitor AgNO₃. *Plant Cell Reports* 6 : 1-4.