

오차드그래스(*Dactylis glomerata* L.)의 품종에 따른 종자유래의 캘러스 형성률과, 캘러스 크기 및 식물체 재분화 효율의 비교

배은경 · 이인애 · 김기용* · 이병현** · 손대영*** · 이효신**** · 정민섭 · 조진기

Comparison of Callus Formation Ratios from Seed Explants, Callus Sizes and Regeneration Efficiency Among Several Ochardgrass (*Dactylis glomerata* L.) Varieties

Eun-Kyung Bae, In-ae Lee, Ki-Yong Kim*, Byung-Hyun Lee**, Daeyoung Son***,
Hyoshin Lee****, Min-Sup Chung and Jinki Jo

ABSTRACT

Comparison results of callus formation ratio from seed explants, callus sizes, regeneration ratios from callus and regeneration efficiency [calculated by following formular; callus formation ratio(%) × regeneration ratio(%) / 100] for 27 ochardgrass (*Dactylis glomerata* L.) varieties imported and Hapsung 2 developed in Korea are as follows;

1. Among ochardgrass varieties showing more than 50% callus formation ratios, the descending order of callus formation ratio after bedding the seed explants for 4 weeks was 93M> Sparta> Pizza> Condor> Lidaglo> Glorus> Hapsung 2> Frode.
2. The callus sizes after bedding for 4 weeks were in the range of ϕ 0.43cm~4.2cm in which there was 10 times size difference between the largest one and the smallest one but most of them were between ϕ 2.5cm~4cm.
3. The regeneration ratio from callus among varieties were in the range of 0~36% and descending order of the upper 6 varieties was Plano>Akimidori>Justus>Lidacta>Currie>Hall mark.
4. The regeneration efficiency which is calculated by the ratios of regeneration from seed explant numbers was between 0 to 17.4% among which Justus showed the highest value in the 4-week treatment.
5. The correlation between callus formation ratios and the callus sizes, callus formation ratios and regeneration efficiency, and callus sizes and regeneration efficiency were $r=0.5765$, $r=0.6365$ and $r=0.6246$, respectively in 4-week callus and all the correlations were significant on the 1% level.
6. In 6-week callus, the descending order callus formation ratios from seed sxplants for the best 6 varieties was Condor>Sparta>93M>Justus>Potomac>Lidaglo>Frode.
7. The callus sizes formed were between ϕ 1.5~5.7cm in which Sparta, the largest one of ϕ 5.7cm was five times larger than the smallest one. The callus size of the control variety, Hapsung 2 was ϕ 3.8cm, which belonged to a larger size.

이 논문은 한국학술진흥재단 중점연구소과제(2000-005-G00003)의 연구비에 의하여 수행된 결과의 일부입니다.
경북대학교 농생명과학대학(College of Life Sci. & Agriculture, Kyungpook Natl. Univ, Daegu 702-701, Korea,
e-mail: jkjo@knu.ac.kr).

* 축산기술연구소 초지사료과(National Livestock Research Institute, Suwon, 441-350, Korea).

** 경상대학교 대학원 분자생물학과(PMBBRC and Dept. Molecular Biology, Gyeongsang Natl. Univ. Jinju 660-701, Korea).

*** 경상대학교 축산과학부(Division of Animal Husbandary, Gyeongsang Natl. Uni., Jinju 660-701, Korea).

**** 임목육종연구소(Korea Forest Research Institute, Omokchun-Dong, 451-350, Korea).

8. Regeneration ratio showed a great deviation among varieties from 6-week old calli by showing from 0% to 100% in which all the calli were regenerated in Plano while no callus was regenerated in Juno.
 9. The range of regeneration efficiency was between 0~28% among varieties in which the values from 6-week callus treatment were larger than those from 4-week callus treatment. Especially, the value of Potomac in 6-week was 3 times larger than that in 4-week.
 10. The correlation between callus formation ratios and the callus sizes, callus formation ratios and regeneration efficiency, and callus sizes and regeneration efficiency were $r=0.8369$, $r=0.6683$ and $r=0.5937$, respectively in 6-week callus, and all the correlations were significant on the 1% level.
- (Key words : Orchardgrass, Callus, Regeneration, Correlation)

I. 서 론

조직배양을 통한 작물의 개량은 육종에 의한 방법보다 시간이 적게 소요될 뿐 만 아니라 육종에서는 전혀 불가능한 다른 생물의 유전자를 유용작물에 직접 도입할 수 있다는 이점이 있으므로 현재는 물론이고 장차 더욱 활발하게 이 방법이 이용되리라 생각된다. 다른 경제작물의 경우에는 일찍부터 식물의 조직배양 기법이 도입되어 연구가 시작되었으나 목초류의 경우는 타 작물에 비하여 이 분야의 연구가 늦게 시작되었고 특히 오차드그래스의 연구는 알팔파 등의 쌍자엽 식물보다도 더 늦게 1980년대에 들어와서야 비로소 연구가 시작되었으며 그 이후 다양한 조건에서의 연구결과가 발표되었다(Conger와 Hanning, 1991, Gray 등, 1984, Hanning과 Conger, 1986. Horn 등, 1988).

식물의 조직배양연구에서 캘러스로부터 식물체로의 재분화는 여러 가지 물리적 및 화학적 요인에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 그 중에서도 특히 사용하는 배지의 종류(Kim 등, 1998), 생장 조절물질의 조합 및 농도(George 등, 1987), 습도(Adams와 Holder, 1992) 및 배지의 pH 등의 영향을 받는다. 그밖에 본 연구실의 연구에서는 미량요소인 구리의 농도를 $70 \mu\text{mol}$ 이 되게 배지에 첨가하였을 때 오차드그래스의 재분화는 대조구에 비하여 2.5배 증가하는 것도 확인되었고, 또한 구리의 첨가로 재분화의 재료인 캘러스가 재분화 되기 용이한 백색이면서 조직이 치밀한 것들이 형성된

다는 사실을 밝혔다(Lee 등, 2000).

식물의 조직편들이 캘러스화 되고 캘러스가 다시 줄기와 뿌리로 되는 재분화는 위에서 언급한 바와 같이 배지의 물리적 및 화학적인 요인에 의해서도 영향을 받지만 식물의 품종 더 나아가서는 식물개체간의 유전적인 차이에 의해서도 많은 영향을 받는다는 사실을 실험경험을 통해서 알 수 있다. 재분화율이 높은 개체를 선발한다는 것은 매우 어려운 일이므로 여러 가지 품종들 중에서 재분화율이 높은 품종을 선택하여 식물 조직배양 연구를 하는 것이 훨씬 효율적이다. 오차드그래스는 북방형 목초로서 질이 매우 좋을 뿐 아니라 우리나라의 토양 및 기후 환경에 매우 적합하므로 어느 지방에서나 재배가 가능하다. 그러므로 우리는 우리나라에 도입되어 있거나 우리나라에서 개발된 오차드그래스의 여러 품종들 중에서 재분화능력이 가장 높은 품종을 선발하기 위하여 본 연구를 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시품종

본 연구에서는 Able, Amba, Ambassador, Benchmark, Condor, Currie, Filippa, Frode, Glorus, Hall mark, Hay-King, Jesper, Juno, Justus, Kay, Lidacta, Lidaglo, Pizza, Plano, Potomac, Rancho, Sampson, Sparta, Tna, Kitamidori, Akimidori, 93M 등 도입품종과 국

내품종인 합성 2호(Hapsung 2)를 포함한 28종의 오차드그래스(*Dactylis glomerata* L.) 품종을 사용하였으며 이들 모든 품종들은 농촌진흥청 축산기술연구소로부터 분양 받았으며 이들 중 Hapsung 2는 축산기술연구소 초지사료과에서 개발한 품종이다.

2. 종자소독 및 캘러스 유도

껍질을 제거한 종자를 50 ml 삼각 flask에 넣은 후, 70% 에탄올로 30초간, 그리고 2%의 NaOCl용액 중에서 50분간 강하게 흔들어 주면서 소독하였다. 소독 후 즉시 멸균수로서 3~5회 씻어준 뒤 멸균된 거름종이에 옮겨 물기를 제거하였으며, 이 종자들을 캘러스 유도 배지에 15~20 립/plate씩 치상하였다.

3. 캘러스 유도배지 및 배양

캘러스 유도배지의 조성은 MS배지를 기본으로 하여 아래 Table 1과 같은 성분들을 첨가하였으며 pH는 5.8로 조정하였다.

Table 1. Constituent for callus formation

Constituent	ℓ ⁻¹
Sucrose	30 g
Casein	1 g
Thiamin	1 mg
Myo-Inositol	0.25 g
Proline	0.69 g
2,4-D	2 mg
Copper	1.25 mg
BAP	0.0157 mg
Gellan gum	5 g

앞에서 치상한 소독종자들을 위의 배지로 암 상태에서 24~25℃의 온도로 하여 5~7일간 배양하고 이 기간 중에 생겨난 싹과 뿌리를 제거하고 형성된 캘러스 만을 분리한 후 다시 동일한 조성의 새 배지로 옮겨주었다. 옮겨진

캘러스들을 다시 암 상태의 24~25℃에서 4~6주간 계속하여 배양하였다.

4. 품종별 캘러스의 크기와 형성률 조사

품종별 캘러스 크기의 조사는 4개월 또는 6개월 배양 후에 캘러스의 장축의 지름을자로 측정하여 cm로 표시하였다.

5. 재분화 유도

형성된 4주령의 캘러스와 6주령의 캘러스를 MS배지를 기본으로 하여 아래 표와 같은 성분들을 첨가하여 pH는 5.8로 조정된 재분화 유도 배지(표 2)에 plate당 10개씩 치상하여 24~25℃의 광조건하에서 싹이 나올 때 까지 약 2~4주간을 배양하였다. 재분화율은 치상 캘러스로부터 형성된 싹의 수를 백분율로 표시하였다.

6. 재분화 유도 배지

재분화 유도 배지의 조성은 MS 배지를 기본으로 하여 아래 Table 2와 같은 성분들을 첨가하였으며 pH는 5.8로 조정하였다.

Table 2. Constituent for regeneration

Constituent	ℓ ⁻¹
Sucrose	20 g
Sorbitol	20 g
Maltose	20 g
NAA	1 mg
Kinetin	5 mg
Copper	2.5 mg
Gellan gum	5 g

III. 결과 및 고찰

1. 캘러스와 재분화의 관찰

오차드그래스의 품종별 캘러스 형성과 재분

화율을 조사하기 위하여 MS 배지를 기본으로 한 캘러스 형성 배지에서 치상 5일 이후에 유백색의 점액성 캘러스의 형성이 관찰되다가, 배양 4주 경에는 유백색의 치밀하고 견고한 조직의 캘러스가 형성되었고, 6주령의 캘러스는 4주령의 캘러스에 비해 어두운 황백색의 캘러스가 형성되었다. 유도된 캘러스를 NAA (1 mg/l)와 kinetin (5 mg/l)이 첨가된 MS 배지에 치상하여 식물체의 재분화를 유도한 결과, 배양 4~5일 후부터 캘러스 주위에 녹색의 spot이 형성되기 시작하여 식물체의 재분화가 관찰되기 시작하였으며, 식물체의 재분화가 완전히 이루어진 치상 후 4주 경에는 재분화가 되지 않은 대부분의 캘러스는 암갈색으로 갈변하였다. 그러나, 재분화가 되지 않은 캘러스에서도 뿌리와 비슷한 조직의 발생이 관찰되었다.

2. 4주령 캘러스로부터의 재분화

국내에 도입된 오차드그래스 27 품종과 국내 합성 품종인 Hapsung 2의 종자로부터의 캘러스 형성율, 형성된 캘러스의 크기, 캘러스로부터의 재분화율 및 재분화 효율을 4주령의 캘러스에 대하여 얻은 결과는 아래 Table 3와 같았다. 4주령의 캘러스에 대한 종자로부터 캘러스의 형성율은 치상 종자의 50% 이상이 캘러스를 형성한 형성을 상위 품종들은 93M> Sparta> Pizza> Condor> Lidaglo> Glorus> Hapsung 2> Frode의 순으로서 대조품종으로 제시한 Hapsung 2보다 캘러스 형성율이 높은 품종들이 많았다. 이들 중 93M과 Sparta의 두 품종은 치상 종자의 90% 이상이 캘러스화 됨을 확인하였다. 4주령 캘러스의 크기를 직경(cm)으로 표시하였을 때, 최저 0.43cm, 최고 4.2cm로서 약 10배의 직경크기의 차이가 있었으나, 대부분은 2.5cm와 4cm의 범위 내에 있었다. 크기 순서로 보면 Justus>Condor>Potomac>Lidaglo>93M이었으며 대조품종인 Hapsung 2의 직경이 0.43cm로서 가장 낮은 값을 보였다. 캘러스의

형성을 무게(mg)로 표시한 본 연구실의 앞서 연구에서(Kim 등, 1998) 본 연구에서 사용한 대조품종인 Hapsung 2와 비슷한 값을 보인 합성19호, 합성20호, 합성21호 및 본 연구에서 공시한 것과 동일 품종인 Potomac에 대한 결과를 본 연구의 결과들과 비교해 보면 본 연구에서 공시한 품종인 Justus 및 Condor에서 훨씬 더 큰 캘러스들이 형성되었음을 알 수 있었다. 4주령 캘러스로부터의 재분화는 0~36%의 꽤 넓은 범위의 차이를 보였는데 재분화율이 높은 것으로부터의 순서는 Plano>Akimidori>Justus>Lidacta>Currie>Hall mark의 순이었고, Filippa와 Juno의 경우에는 형성된 캘러스로부터 재분화가 전혀 일어나지 않았다. 대조품종인 Hapsung 2는 8.4%로서 거의 중간정도의 재분화율을 보였다.

한편, 종자로부터 캘러스의 형성과, 신초 및 뿌리의 형성과정을 거쳐 완전한 식물체로 재분화 되는 단계로서 재분화 효율을 다음 괄호 안의 식[캘러스 형성율(%) × 재분화율(%) / 100]으로 계산하였을 때, 그 범위는 0~17.4%로서 재분화율의 범위보다 그 폭이 훨씬 좁았다. Justus는 재분화 효율이 17.4%로서 비교품종들 중에서 가장 높았으며 다음이 Lidacta의 12.4%, Condor의 11.4%, Potomac의 8.9%의 순이었으며 대조품종인 Hapsung 2의 5.5%보다 최고 3배 이상의 높은 효율을 보였다.

각 parameter들간의 관계를 상관계수로 표시하면 캘러스 형성율과 캘러스 크기 사이에는 $r=0.5765$ 였고, 캘러스 형성율과 재분화 효율 사이에는 $r=0.6365$ 였으며, 캘러스 크기와 재분화 효율 사이에는 $r=0.6246$ 이었는데, 이 값들은 모두 1%의 높은 유의성이 있었다. 이 사실은 캘러스 형성율이 높으면 캘러스의 크기가 크며, 캘러스 형성율이 높으면 재분화 효율이 높고, 캘러스의 크기가 크면 재분화 효율도 높다는 사실을 말해주고 있는데, 이들 중 캘러스 형성율과 재분화 효율사이에서 $y=4.53284x + 26.124$ 의 관계식을 가지는 회귀곡선을 얻을 수가 있

Table 3. Comparison result of callus formation ratio, callus diameter, regeneration ratio and regeneration efficiency in 28 orchardgrass varieties for 4-week treatment

Variety	4-week callus				
	Numbers of seeds tested	Callus formation(%)	Callus diameter(cm)	Regeneration (%)	Regeneration efficiency(%)
Able	210	12	1.8 ± 0.72	12	1.4
Amba	200	37.5	2.8 ± 0.56	5.3	1.9
Ambassador	190	40	2.75 ± 0.72	2.5	1
Benchmark	200	51	2.85 ± 0.49	8.8	4.4
Condor	200	82	4.15 ± 1.0	14	11.4
Currie	200	17	3.15 ± 0.72	17	2.8
Filippa	190	3.6	1.64 ± 0.31	0	0
Frode	200	59	1.65 ± 0.53	3.4	2
Glorus	200	66.5	3.4 ± 0.44	10.5	6.9
Hall mark	200	7	1.85 ± 0.45	14.3	1
Hay-King	200	58	3.55 ± 0.54	8.6	4.9
Jesper	200	12.5	2.2 ± 0.66	12	1.5
Juno	200	6	1.5 ± 0.42	0	0
Justus	200	84	4.2 ± 0.66	20.8	17.4
Kay	210	33.8	3.25 ± 0.78	12.7	4.3
Lidacta	210	67.1	3.65 ± 0.35	18.6	12.4
Lidaglo	200	79.5	3.75 ± 0.64	1.9	1.5
Pizza	200	83	3.45 ± 0.54	5.4	4.4
Plano	200	5.5	2.88 ± 0.76	36	1.9
Potomac	200	58	3.9 ± 0.62	15.5	8.9
Rancho	190	17.9	2.4 ± 0.62	8.8	1.5
Sampson	200	63	3.2 ± 0.7	4.8	3
Sparta	200	91.5	3.15 ± 0.91	6.0	5.4
Tna	200	19	2.2 ± 0.45	2.6	0.4
Kitamidori	200	38	2.5 ± 0.56	3.9	1.4
Akimidori	200	26.5	2.9 ± 0.62	26.4	6.9
93M	200	96	3.7 ± 0.87	7.3	7
Hapsung 2	200	65.5	0.43 ± 0.39	8.4	5.5

었다(Fig. 1).

3. 6주령 캘러스로부터의 재분화

동일한 품종들에 대하여 종자로부터 6주간 캘러스를 유도한 후, 캘러스의 형성율, 형성된

캘러스의 크기, 캘러스로부터의 재분화율 및 종자로부터의 재분화 효율을 조사하여 다음 Table 4와 같은 결과를 얻었다. 종자로부터의 캘러스 형성율은 Condor> Sparta> 93M> Justus> Potomac> Lidaglo> Frode의 순으로서 4주령의 순위와 다소 다른 결과를 보였다, 그러나 90%

Table 4. Comparison result of callus formation ratio, callus diameter, regeneration ratio and regeneration efficiency in 28 orchardgrass varieties for 6-week treatment.

Variety	6-week callus				
	Numbers of seeds tested	Callus formation(%)	Callus diameter(cm)	Regeneration (%)	Regeneration efficiency(%)
Able	200	6	3.3 ± 0.95	42	2.5
Amba	200	26.5	3.4 ± 0.87	20.8	5.5
Ambassador	200	55	3.6 ± 0.92	10	5.5
Benchmark	200	70	4.7 ± 1.2	34.3	24
Condor	200	94.5	4.9 ± 0.87	5.3	5
Currie	200	15	3.9 ± 0.78	46.7	7
Filippa	200	4	3.1 ± 0.93	25	1
Frode	200	66.5	4.1 ± 0.70	18.8	12.5
Glorus	200	55	3.8 ± 0.83	10	5.5
Hall mark	200	4.5	4.2 ± 1.06	11	0.4
Hay-King	200	65	4.6 ± 0.95	16.9	10.9
Jesper	200	2	1.8 ± 0.86	25	0.5
Juno	200	3	1.2 ± 0.26	0	0
Justus	200	90.5	5.5 ± 1.02	28.7	25.9
Kay	210	53.8	4.7 ± 1.15	13.3	7.15
Lidacta	210	64.8	4.8 ± 0.97	10.3	6.6
Lidaglo	200	68.5	4.1 ± 0.81	14.6	10
Pizza	200	82	4.8 ± 1.13	27.4	22.4
Plano	200	0.5	2.75 ± 1.49	100	0.5
Potomac	200	71.5	4.3 ± 0.82	39.2	28
Rancho	190	11.1	2.58 ± 0.87	9.5	1
Sampson	200	63	4.1 ± 0.83	15.1	9.5
Sparta	200	91.5	5.7 ± 1.11	13.7	12.5
Tna	200	12	3.3 ± 1.88	45.8	5.4
Kitamidori	200	55	4.5 ± 0.88	13.6	7.4
Akimidori	200	59.5	4.0 ± 0.73	7.6	4.5
93M	200	91	5.6 ± 1.20	8.2	7.4
Hapsung 2	200	55	3.8 ± 0.79	10.9	5.9

이상의 캘러스 형성율을 보인 Condor, Sparta, 93M은 4주령의 캘러스와의 비교에서 순위 변동은 있었으나 높은 형성율은 여전히 유지되었다. 대조품종인 Hapsung 2의 캘러스 형성율은 55%로서 전체 비교품종들 중에서 중간정도의 순위를 보였다. 형성된 캘러스의 크기는 1.2~

5.7 cm로서 가장 큰 것과 가장 작은 것 사이에 약 5배의 크기 차이를 보였다. 6주 배양후 캘러스의 크기는 Sparta>93M>Justus>Condor>Pizza의 순이었고 이 순서는 4주령 캘러스의 크기 순서와 다소 차이를 보였다. 대조품종인 Hapsung 2는 3.8cm로서 비교품종들 사이에서

다소 큰 편이었다. 캘러스의 재분화율은 0%에서 100%까지 큰 편차를 보였는데, Plano가 100%의 재분화율을 보여 치상한 종자가 모두가 캘러스 형성이 되었고 Juno는 전혀 캘러스화 되지 않았다. 4주령에서도 Plano는 재분화율 36%로서 최고의 값을 보였다. 전체 27개 품종 중 Condor, Glorus, Hall mark, Lidacta의 다섯 품종을 제외한 모든 품종들은 4주령의 캘러스에 비해 6주령의 캘러스로부터의 재분화율이 더 잘 되었고 이들 중, Plano, Able, Currie, Tna 등은 월등하게 재분화율이 높아졌다.

종자로부터 캘러스를 거쳐 재분화되는 재분화 효율의 범위는 0~28%로서 4주령의 범위보다 더 커졌으며 전체적으로 4주령의 재분화 효율보다 6주령의 재분화 효율이 더 높아졌다. 특히 Potomac의 경우 4주령에 비하여 6주령의 것이 3배 이상 재분화 효율이 높아졌다. 공식 품종인 Hapsung 2는 4주령에서 5.5%이던 것이 6주령에서는 5.9%로서 0.4%의 증가에 그쳤다. 재분화 효율의 상위 5 품종은 Potomac 28%, Justus 25.9%, Pizza 22.4%, Sparta 12.5% 및 Frode 12.5%의 순이었는데 이들 중 Pizza, Sparta 및 Frode는 4주령에서는 낮은 값을 보였으나 6주령에서는 월등하게 그 값이 높아졌는데, 이 사실로 미루어 볼 때 이들 품종의 재분화 실험에서는 6주령의 캘러스로부터 재분화를 유도하는 것이 훨씬 유리할 것으로 판단되었다. 이와는 반대로 Condor, Glorus, Lidacta, 아끼미도리 등은 4주령의 캘러스로부터의 재분화율이 6주령의 재분화율보다 낮아졌으므로 이들 품종을 재분화 할 때는 4주령의 캘러스를 사용하는 것이 더 좋을 것으로 판단되었다.

각 parameter들간의 상관 관계를 보면 캘러스 형성율과 캘러스 크기 사이에는 $r=0.8369$ 였고, 캘러스 형성율과 재분화 효율 사이에는 $r=0.6683$ 이었으며, 캘러스 크기와 재분화 효율 사이에는 $r=0.5937$ 이었는데, 이들 모든 처리간에도 1%의 높은 유의성이 있었다. 이 사실은 4주령의 캘러스에서와 마찬가지로 6주령의 캘러스를

사용할 때에도 캘러스 형성율이 높으면 캘러스의 크기가 크며, 캘러스 형성율이 높으면 재분화 효율이 높고, 캘러스의 크기가 크면 재분화 효율도 높다는 것을 의미한다. 그러나 통계적인 의미에서는 모든 parameter 사이에 높은 유의성이 인정된다고 할지라도 개별품종에서는 통계적인 유의성과 반대일 경우가 많았으므로 실제 실험에서는 개별 품종의 능력을 고려하는 것이 타당할 것으로 생각된다. 캘러스 형성율과 재분화 효율사이에서 $y=2.7515x + 24.701$ 의 관계식을 가지는 회귀곡선을 얻을 수가 있었다 (Fig. 1).

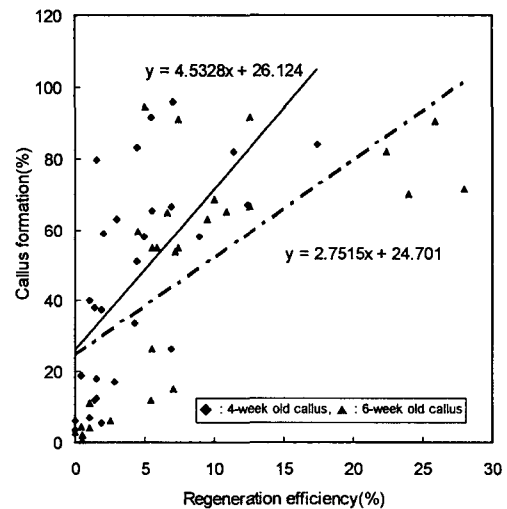


Fig. 1. Correlation between callus formation ratio and regeneration efficiency in both 4-week old callus and 6-week old callus treatments.

IV. 요약

국내에 도입된 오차드그래스 27 품종과 국내 합성 품종인 Hapsung 2호의 종자로부터의 캘러스 형성율, 형성된 캘러스의 크기, 캘러스로부터의 재분화율 및 재분화 효율을 4주령 및 6주령의 캘러스에 대하여 얻은 결과는 아래와 같았다.

1. 4주령의 캘러스에 대한 종자로부터 캘러스의 형성율은 치상 종자의 50% 이상이 캘러스를 형성한 형성을 상위 품종들은 93M> Sparta > Pizza> Condor > Lidaglo > Glorus > Hapsung 2 > Frode의 순이었다.

2. 4주령 캘러스의 크기를 직경(cm)으로 표시하였을 때, 최저 0.43cm, 최고 4.2cm로서 약 10 배의 직경크기의 차이가 있었으나, 대부분은 2.5cm와 4cm의 범위 내에 있었다.

3. 4주령 캘러스로부터의 재분화는 0~36%의 꽤 넓은 범위의 차이를 보였고, 재분화율은 Plano> 아끼미도리> Justus> Lidacta> Currie> Hall mark의 순으로 높았다.

4. 종자로부터의 재분화율을 계산한 재분화 효율의 범위는 0~17.4%였으며 그 중 Justus가 17.4%로서 비교품종들 가장 높았다.

5. 캘러스 형성율과 캘러스 크기 사이에는 $r=0.5765$ 의 상관 관계가 있었고, 캘러스 형성율과 재분화 효율 사이에는 $r=0.6365$, 캘러스 크기와 재분화 효율 사이에는 $r=0.6246$ 였으며, 이 값들은 모두 1%의 높은 유의성이 있었다.

6. 6주령의 캘러스에 대한 종자로부터의 캘러스 형성율은 Condor > Sparta > 93M > Justus > Potomac > Lidaglo > Frode의 순이었다.

7. 6주령 캘러스의 크기는 1.2~5.7 cm로서 품종간에 가장 큰 것과 가장 작은 것 사이에 약 5배의 크기 차이를 보였고, 대조품종인 Hapsung 2호는 직경이 3.8cm로서 비교품종들 사이에서 다소 큰 편이었다.

8. 6주령의 캘러스의 재분화율은 0%에서 100%까지 큰 편차를 보였는데, Plano가 100%의 재분화율을 보여 치상한 종자가 모두가 캘러스 형성이 된 반면 Juno는 전혀 캘러스화 되지 않았다.

9. 종자로부터 캘러스를 거쳐 재분화되는 재분화 효율의 범위는 0~28%로서 4주령의 범위보다 더 커졌으며 전체적으로 4주령의 재분화 효율보다 6주령의 재분화 효율이 더 높아졌다. 특히 Potomac의 경우 4주령에 비하여 6주령의

것이 3배 이상 재분화 효율이 높아졌다.

10. 6주령의 캘러스 형성율과 캘러스 크기 사이에는 $r=0.8369$ 의 상관관계가 있었고, 캘러스 형성율과 재분화 효율 사이에는 $r=0.6683$, 캘러스 크기와 재분화 효율 사이에는 $r=0.5937$ 였으며, 이 값들은 모두 1%의 높은 유의성이 있었다.

V. 인 용 문 헌

1. Adams, P. and R. Holder. 1992. Effect of humidity, Ca, and salinity on the accumulation of nutrients in the leaves of tomato (*Lycopersicon esculentum*). J. Hort. Sci. 66:545-550.
2. Conger, B.V. and G.E. Hanning. 1991. Regeneration of embryogenic Orchardgrass germplasm with a high capacity for somatic embryogenesis from *in vitro* cultures. Crop Sci. 31:885.
3. George E.F., D.J.M. Puttock and H.J. George. 1987. Plant culture media, Vol. 1 Formulation and uses. Exergetics Ltd. Edington UK. Leifort, C., S. Pryce, P.J. Lumsden and W.M. Waits. 1992. Effect of medium acidity on growth and rooting of different plants growing growing *in vitro*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 30:171-179.
4. Gray, D.J., B.V. Conger and G. E. Hanning. 1984. Somatic embryogenesis in suspension and suspension derived callus cultures of *Dactylis glomerata* L. Protoplasma 122 :196-202.
5. Hanning G.E. and B.V. Conger. 1986. Factors influencing somatic embryogenesis from cultured leaf segment of *Dactylis glomerata* L. Plant Physiol. 123:23-29.
6. Horn M.E., B.V. Conger and C.T. Harms. 1988. Plant regeneration from protoplasts of embryogenic suspension cultures of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), Plant Cell Report 7:371-374.
7. Kim K.Y, Y.W. Rim, G.J. Choi, J.S. Shin, J.G. Kim and J.K. Jo. 1998, Rapid Reneration of Plants on N6 Medium from Orchardgrass Calli, Korean J. Grassl. Sci. 18(3):267-272.
8. Lee, H., B.H. Lee, S. Won, S. Lee and J. Jo. 2000. Effect of Copper on the Plant Regeneration from Seed Derived Callus of Orchardgrass(*Dactylis glomerata* L.), Korean J. Grassl Sci. 20(4): 259-264.