

상추의 자엽 및 제 1엽 절편체들로부터 효율적인 식물체 재분화

손보화 · 박철규 · 안남영 · 전주미 · 김차영 · 오세찬¹ · 이영훈² · 갈상완² · 이성호*

경상대학교 응용생명과학부, 환경생명국가핵심연구센터 및 PMBBRC, ¹경남과학고등학교, ²진주산업대학교 미생물공학과

Received April 20, 2007 / Accepted June 4, 2007

Efficient plant regeneration from cotyledon and primary leaf explants of lettuce (*Lactuca sativa* L.). Bo Hwa Son, Chul Gyoo Park, Nam Young Ahn, Joo Mi Jeon, Cha Young Kim, Se Chan Oh¹, Young Hoon Lee², Sang Wan Gal² and Sung Ho Lee*. *Division of Applied Life Science (BK21 program) and Environmental Biotechnology National Core Research Center, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea, ¹Gyeongnam Science High School, Jinju 660-851, Korea, ²Department of Microbiological Engineering, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea* – The efficient system for plant regeneration from cotyledon and primary leaf explants of lettuce was established. Plant regeneration efficiency was shown 91.3% from cotyledon and 85.9% from primary leaf explants of variety 'Jungtongpogi' in KN medium. Plant regeneration efficiency was also estimated with various plant regeneration media in variety 'Chungchima', which was lowest plant regeneration efficient showing 35.4% from cotyledon and 30.3% from primary leaf explants in KN medium. KI medium increased 77.9% and 80.7% of plant regeneration efficiencies from cotyledon and primary leaf explants of variety 'Chungchima', respectively. Therefore, efficient plant regeneration was obtained when cotyledons of variety 'Jungtongpogi' were cultured on KN medium. In case of variety 'Chungchima', efficient plant regeneration was shown when primary leaf explants were cultured on SH and KI media.

Key words – lettuce, *Lactuca sativa* L., Plant Regeneration, Plant Tissue Culture

서 론

상추는 국화과에 속하는 채소로서 대체로 서늘한 기후를 좋아하며, 고온에는 약하고, 저온에는 상당히 잘 견디는 편이다. 상추는 거의 전 세계에서 재배되고 있으며 재배역사가 오래되어 우리나라에는 고구려시대 때부터 재배되어 온 것으로 추정된다[19]. 우리나라에서는 주로 쌈과 샐러드로 소비되고 있는데 다른 일반 채소류에 비하여 수분(약 90%정도)이 많은 편이며 칼슘과 무기염류가 많이 들어있고 비타민의 함량도 상당히 높다[3]. 최근 소득증가로 육류소비가 증가하면서, 상추의 소비량도 매년 증가하고 있다. 지금까지 상추에 관한 많은 육종 프로그램이 개발되어 왔으나[12], 습한 온대 지역에서 발생하는 병과 고온에 대한 적응성 문제 때문에 상업적인 생산이 어려운 경우가 많았다. 따라서 상추의 육종은 품종 간 교잡에 의한 내서성 또는 병저항성에 초점을 두어왔으나, 종래의 육종방법으로는 해결하기가 쉽지 않다. 이러한 문제점을 해결하기위해 최근 토양 박테리아인 *Agrobacterium*에 의한 형질전환과 같은 유전자 조작기술 등이 새로운 육종 방법으로 각광 받게 되었다[8,15,26]. 상추 (*Lactuca sativa* L.)는 지금까지 다양한 배지와 성장조절제들을 이용한 조직배양이 비교적 쉽게 되는 종으로 알려져 있으며 Doershug과 Miller[9]가 몇몇의 상추 품종들의 다양한 절편체들로부터

shoot 재분화를 처음 보고한 이래로 여러 가지 성장조절제와 무기염류들이 상추 재분화에 미치는 영향들이 조사되었다. Sasaki[21-23]는 다양한 성장조절제와 배지조성, 빛, 온도 등이 상추의 절편체로부터 식물체 재분화에 미치는 영향에 관하여 포괄적으로 조사하였고, Webb등[25]도 자엽 절편체로부터 식물체 재분화는 kinetin 단독으로 첨가된 배지에서 절편체의 나이, 성장조절제, 광주기 등의 영향을 받는다고 보고했다. 빛에 관해서는 phytochrome이 상추의 자엽 절편체로부터 shoot의 재분화에 영향을 미치며 낮은 수준의 적색광이 상추의 bud 형성과 캘러스 형성을 높이며 근적색광은 이와 반대 현상이 나타난다고 보고되었다[10]. 또한 잎 절편체로부터 유도된 세포 현탁 배양체로부터 식물체 재분화와 이들 shoot로부터 뿌리 형성은 IBA에 의해 유도되었다[1]. 그러나 상추의 자엽과 제 1엽 절편체들로부터 재분화 효율에 관해서는 언급되지 않았다. 따라서 본 실험에서는 식물생명공학 기법을 이용한 새로운 가능성 형질전환체 상추 개발을 위한 전 단계로서 상추의 식물체 재분화 효율을 극대화 시킬 수 있는 방법을 개발하고자한다.

재료 및 방법

실험 재료

상추 시판종으로 '칭치마' '고향쪽적측면' '정통포기' 품종들을 대상으로 파종 후 6일과 10일 된 상추 유묘의 자엽과 제 1엽 절편체들을 실험 재료로 사용하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-55-751-5949, Fax : +82-55-754-0086

E-mail : leesh@gnu.ac.kr

생육 조건

상추 종자들을 70% ethanol에서 1분, Triton X-100이 포함된 3% sodium hyperchloride에 5분 vortex한 후, 멸균 증류수로 3~5회 세척하였다. 표면 살균된 종자들은 4℃ 냉장고에서 이틀 동안 저온 처리한 후, 생장조절제가 첨가되지 않은 MS 기본배지[18]에 파종하여 16시간 40 μmol · m⁻² · sec⁻¹의 빛 상태와 8시간 암 상태로 조절된 26℃±1 온도로 유지되는 배양실에서 발아시켰다. 실험에 사용한 절편체들은 끝부분과 양옆, 그리고 엽병 부위는 잘라내어 사각형 모양이 되게 했으며, 자엽과 제 1엽 당 각각 1개의 절편체를 절취하여 MS 기본배지[18]에 kinetin (2 mg/l)과 NAA (0.1 mg/l)가 첨가된 배지(KN 배지)가 들어 있는 Petri dish 당 10개의 절편체들을 치상하여 16시간 빛 상태와 8시간 암 상태로 조절된 26℃±1 온도로 유지되는 배양실에서 배양하였다. 치상된 절편체 수는 3 반복 독립적인 실험에 사용된 절편체 수를 모두 합하여 전체 개수로 나타내었으며, 품종 별 식물체 재분화 효율은 배양 6주 경과 후 비교 조사하였다.

재분화 배지에 따른 식물체 재분화 효율

실험에 사용된 품종 중에서 재분화 효율이 가장 낮은 청치마 품종은 국내의 상추 형질전환 실험에 가장 많이 사용되는 품종으로서 재분화 효율이 낮으면 형질전환 효율도 낮기 때문에 이 품종의 재분화 효율을 높이기 위해 여러 가지 재분화 배지를 사용하였다. 파종 후 6일된 자엽 절편체와 10일된 제 1엽 절편체들을 MS 기본배지에 1.0 mg/l BAP와 2.0 mg/l IAA가 첨가된 배지(MSD₃)[2]와 0.04 mg/l NAA와 0.5 mg/l BAP가 첨가된 배지(NB 배지)에 치상하였다. MSD₃ 배지는 상추 원형질체로부터 유도된 캘러스에서 식물체 재분화를 유도한 배지이다[2]. 또한, 절편체들을 MS 기본배지에 0.5 mg/l kinetin과 1.0 mg/l IAA가 첨가된 배지(KI 배지)에 치상하여 배양 7일 후에 절편체들을 MS 기본배지에 0.05 mg/l kinetin만 첨가된 배지에 옮겨 배양했다. 또 다른 배지로서 SH 기본배지[24]에 0.5 mg/l kinetin과 0.1 mg/l IAA가 첨가된 배지(SH 배지)[17]에 절편체들을 치상하여 배양 12일 후에 SH 기본배지에 0.05 mg/l kinetin과 0.05 mg/l zeatin이 첨가된 배지에 절편체들을 옮겨 배양했다. 치상된 절편체 수는 2 반복 독립적인 실험에 사용된 절편체수를 모두 합하여 전체 개수로 나타내었으며, 4 주 후 그들의 재분화 효율을 조사했으며 기존에 사용한 KN 배지와 비교 분석했다. 재분화된 각 식물체들을 식물호르몬이 첨가되지 않은 MS 기본배지에서 뿌리를 유도한 다음 원에 상토에서 순화시켜 화분에 옮겨 완전한 식물체로 성장 시켰다.

결과 및 고찰

상추 품종별 식물체 재분화 효율

상추 품종 청치마, 고향뚝적측면, 정통포기의 종자들을 생

장조절제가 첨가되지 않은 MS 기본배지에서 발아 시킨 후, 자엽과 제 1엽 절편체들을 MS 기본배지에 2 mg/l kinetin과 0.1 mg/l NAA가 첨가된 KN 배지에 치상 하였다 (Fig. 1a, Fig. 2a). 배양 3주까지는 절편체의 크기가 증가하면서 절단면 주위에 많은 캘러스가 형성 되면서, shoot가 분화되기 시작했다 (Fig. 1b, Fig. 2b). 배양 6주 후에는 많은 shoot들이 재분화 되었으며 (Fig. 1c, Fig. 2c), 이때 품종 별 식물체 재분화 효율을 비교했다. 정통포기 품종에서 150개의 치상한 자엽 절편체수로부터 137개의 절편체에서 shoot가 재분화되어 91.3%의 높은 재분화 효율을 나타내었고, 제 1엽에서는 170개의 치상한 절편체수로부터 146개의 shoot가 재분화되어 85.9%의 역시 높은 효율을 나타내었다 (Table 1, Fig. 3a). 두 번째로 고향뚝적측면 품종으로 자엽에서 52.3%, 제 1엽에서 50.8%의 shoot 재분화 효율 (Table 1, Fig. 3b)을 나타내었고, 청치마품종에서 가장 낮은 효율인 자엽과 제 1엽에서 각각 35.4%, 30.3%의 shoot 재분화 효율을 보였다 (Table 1). 전반적으로 사용된 세 품종 모두에서 제 1엽 보다 자엽에서

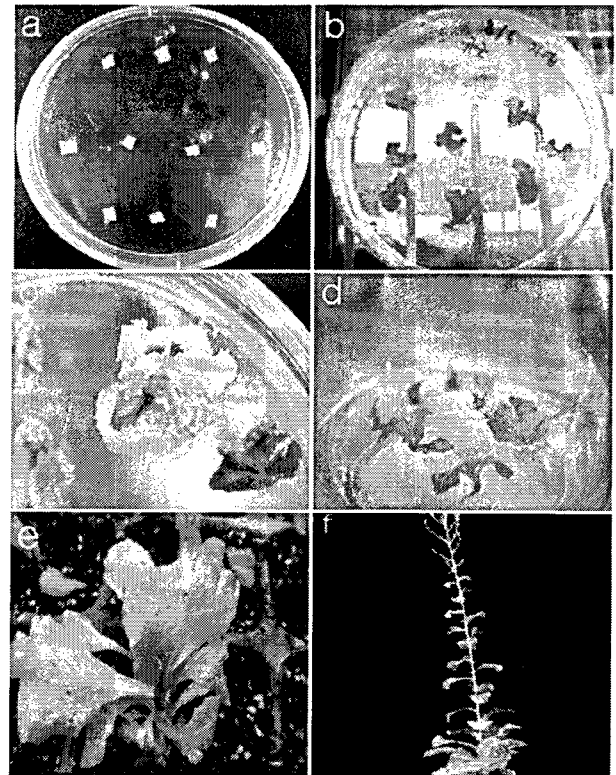


Fig. 1. Plant regeneration from cotyledon explants of lettuce (Chungchima variety) on KN medium. a) Cotyledon explants inoculated on KN medium. b) Cotyledon explants after 3 weeks of culture. c) Plant regeneration from cotyledon explants after 6 weeks of culture. d) Regenerated shoots on MSO medium for root induction after 7 weeks of culture. e) Acclimation of plant regenerated in horticultural soil. f) Flowering fertile plant in pot.

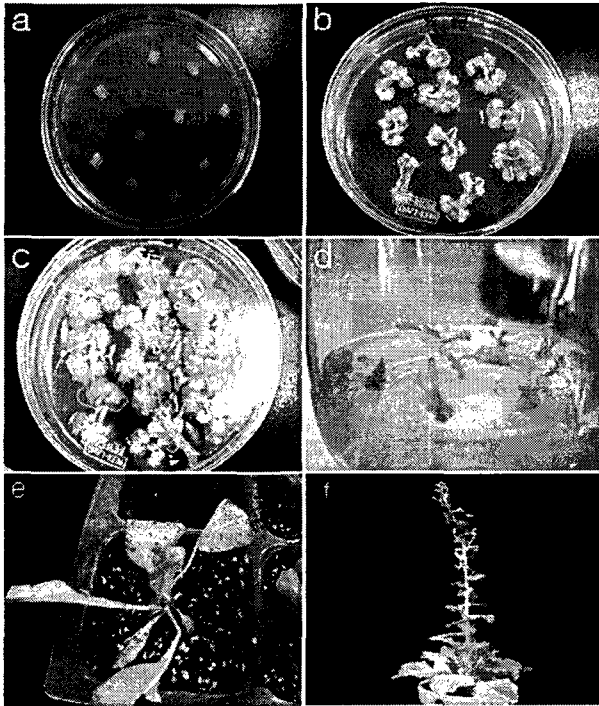


Fig. 2. Plant regeneration from primary leaf explants of lettuce (Chungchima variety) on KN medium. a) Primary leaf explants inoculated on KN medium. b) Primary leaf explants after 3 weeks of culture. c) Plant regeneration from primary leaf explants after 6 weeks of culture. d) Regenerated shoots on MSO medium for root induction after 7 weeks of culture. e) Acclimation of plant regenerated in horticultural soil. f) Flowering fertile plant in pot.

shoot 재분화율이 높게 나타났다. 많은 품종들로부터 다양한 절편체 종류들이 실험 재료로 사용되었으나 비교적 자엽이 많은 연구에서 가장 많이 절편체로 사용되어졌는데 이는 자엽이 쉽고 빠르게 동일한 실험 재료를 얻을 수 있고 재분화도 잘되기 때문이다 [9,10,25]. 자엽의 나이에 관해서는 발아 후 4일된 자엽이 가장 재분화 잠재력이 있고 재분화된 shoot로부터 뿌리 유도도 잘되는 적합한 나이라고 보고 됐지만 [25], 본 실험에서는 발아 후 6일된 자엽을 사용했을 때도

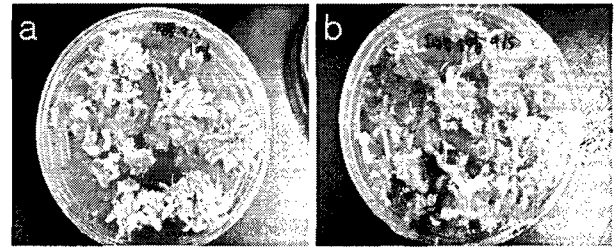


Fig. 3. Plant regeneration from primary leaf explants of lettuce, varieties 'Jeongtongpogi' (a) and 'Gohyangdookjukchukmyeon' (b).

shoot의 높은 재분화율을 나타내었다. Doershug과 Miller[9]는 Iceberg head 상추 잎 절편체 40개로부터 60%의 재분화율을 획득했고 Grand Rapids 상추 품종 자엽 절편체 20개로부터 100%의 재분화율을 보고했다. 이 결과는 본 실험에서도 비슷한 양상으로 관찰되었다. 품종별 재분화 차이는 일찍이 Doershug와 Miller[9]가 8 품종의 상추를 대상으로 재분화 실험을 한 결과, 모든 품종에서 재분화가 일어났다고 보고 했지만 품종별 비교는 보고하지 않았다. Alconero[1]는 *Lactuca* 야생종 2 종과 *L. sativa* 3 품종을 대상으로 실험 했는데 이 중 야생종인 *L. serriola* Acc. #500-4 품종에서 세포 현탁 배양체들을 고형 배지에 배양 했을 때 가장 높은 shoot 분화율을 보고 했다. 본 실험에서는 *L. sativa* 3 품종에 대하여 자엽과 제 1엽을 대상으로 실험한 결과 정통포기 품종에서 두 종류의 절편체 모두에서 재분화율이 가장 높게 나타났다. 재분화율이 가장 낮게 나타난 청치마 품종은 국내 연구자들에게 *Agrobacterium*을 이용한 형질전환 실험에 가장 많이 사용되는 품종이며[4,7,11,14,20], 이 품종에 대한 재분화 효율이나 형질전환 효율에 관해서는 보고되지 않았다. 따라서 재분화 효율이 낮은 청치마 품종을 대상으로 다양한 배지를 사용하여 재분화 효율을 높이는 최적의 조건을 규명하였다.

재분화 배지에 따른 상추 자엽과 제1엽으로부터 식물체 재분화 효율

재분화 효율이 가장 낮은 청치마 품종의 재분화 효율을 높이기 위해 파종 후 6일된 청치마 품종의 자엽 절편체들과

Table 1. Plant regeneration efficiency from cotyledon and primary leaf explants in varieties of lettuce in KN medium

Variety	Cotyledon			Primary leaf		
	No. of inoculated explants	No. of regenerated explants	Regeneration efficiency(%)	No. of inoculated explants	No. of regenerated explants	Regeneration efficiency(%)
Chungchima	350	124	35.4	350	106	30.3
Gohyangdookjukchukmyeon	300	157	52.3	250	127	50.8
Jungtongpogi	150	137	91.3	170	146	85.9

Number was implied total number from 3 time repeat experiments

Table 2. Plant regeneration from cotyledon and primary leaf explants of lettuce (Chungchima variety) in various plant regeneration media

Media	Cotyledon			Primary leaf		
	No. of inoculated explants	No. of regenerated explants	Regeneration efficiency(%)	No. of inoculated explants	No. of regenerated explants	Regeneration efficiency(%)
KI	190	148	77.9	197	159	80.7
SH	190	145	76.3	200	170	85.0
MSD ₃	180	110	61.1	190	116	61.0
NB	178	138	77.5	190	128	67.4

Explants, cultured on MS basal medium solidified with 0.25%(w/v) phytigel supplemented with 0.5 mg/l kinetin and 1.0 mg/l IAA (KI medium) for 7 days, were transferred to MS basal medium solidified with 0.25%(w/v) phytigel supplemented with 0.05 mg/l kinetin. In SH medium, explants, cultured on SH basal medium solidified with 0.25%(w/v) phytigel supplemented with 0.5 mg/l kinetin and 0.1 mg/l IAA for 12 days, were transferred to SH basal medium solidified with 0.25%(w/v) phytigel supplemented with 0.05 mg/l kinetin and 0.05 mg/l zeatin. MSD₃ medium is MS basal medium solidified with 0.25%(w/v) phytigel supplemented with 1.0 mg/l BAP and 2.0 mg/l IAA. NB medium is MS basal medium solidified with 0.25%(w/v) phytigel supplemented with 0.5 mg/l BAP and 0.04 mg/l NAA. Number was implied total number from 2 time repeat experiments.

발아 후 10일된 제 1엽 절편체들을 다양한 식물체 재분화 배지에 치상하여 4주 후 각 배지 당 그들의 재분화 효율을 조사했다. 각 배지 당 식물체 재분화 효율은 2회 반복 실험을 합산하여 Table 2에 나타내었다. 자엽에서 재분화 효율은 KI 배지와 SH 배지, NB 배지에서 거의 평균 77.2%의 높은 재분화 효율을 나타내었고, MSD₃ 배지에서는 그 보다 조금 낮은 61.1% 효율을 나타내었다(Fig. 4). 그러나 식물체 재분화 배지로 사용된 KN 배지에서는 청치마 품종 자엽으로 식물체 재분화 효율이 35.4%인데 반하여 사용한 모든 배지에서 KN 배지보다 높게 나타났다. 청치마 품종 제1엽 절편체로부터 재분화 효율은 KI 배지와 SH 배지에서는 각각 80.7%와 85.0%의 높은 재분화 효율로 자엽보다도 높게 나타내었고, MSD₃ 배지와 NB 배지에서는 그 보다 낮은 61.0%와 67.4%의 효율을 나타내었다(Fig. 5). 제 1엽에서도 식물체 재분화 배지로 사용된 KN 배지에서 재분화 효율이 30.3%인데 반하여

사용한 모든 배지에서 KN 배지보다 높게 나타났다. 재분화된 shoot들을 자엽과 제1엽 절편체로부터 분리하여 캘러스를 제거한 후 뿌리유도를 위해 성장조절제가 첨가되지 않은 MS 기본배지가 들어 있는 배양병에 옮겨주었다 (Fig. 1d, Fig. 2d). 뿌리가 유도된 재분화 식물체들을 원예상토 (토실 이)가 담긴 원예 트레이에 옮겨 순화 시켰고 (Fig. 1e, Fig. 2e), 화분에 옮겨 개화된 완전한 식물체로 성장 시켰다 (Fig. 1f, Fig. 2f).

많은 연구자들에 의해 상추의 shoot 재분화에 대한 성장 조절제들의 영향에 관해 보고되었는데 Doershug과 Miller[9]는 Miller 배지에 28.5 μM IAA와 2.3 μM kinetin을 첨가한 배지에서 자엽 절편체들로부터 많은 수의 bud를 획득했고, kinetin을 첨가하지 않은 배지에서는 bud가 형성되지 않았다고 보고했으며, 또한 adenin을 kinetin 대신 사용했을 때 kinetin 보다 낮은 효과를 보였다고 보고했다. 그러나 다른

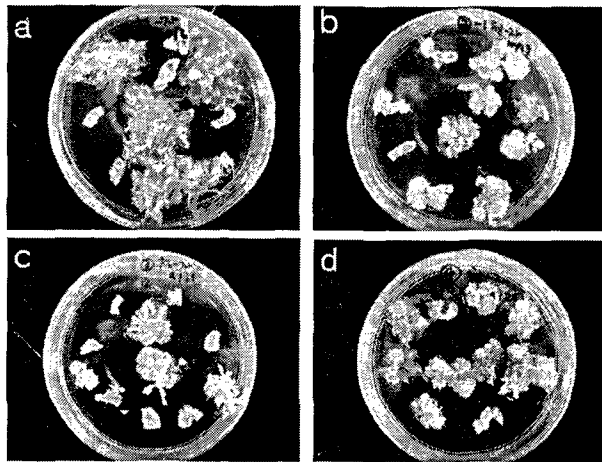


Fig. 4. Plant regeneration from cotyledon explants of lettuce (Chungchima variety) on KI medium (a), SH medium (b), MSD₃ medium (c) and NB medium (d).

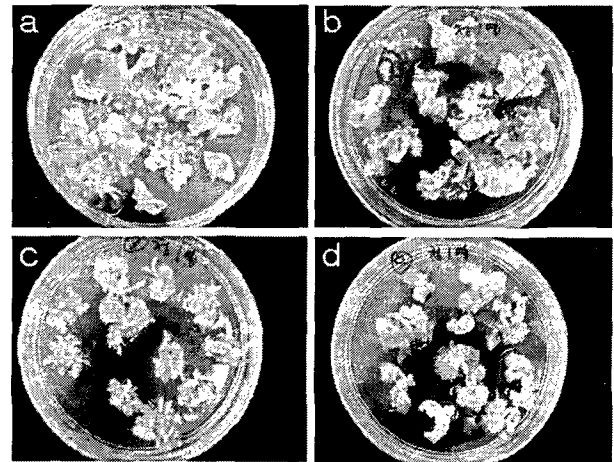


Fig. 5. Plant regeneration from primary leaf explants of lettuce (Chungchima variety) on KI medium (a), SH medium (b), MSD₃ medium (c) and NB medium (d).

연구에서는 같은 농도로 kinetin (2.3 μM)과 IAA (28.5 μM)을 사용하고 배지를 Miller 배지 대신에 MS 배지를 사용했을 때 자엽 절편체로부터 bud의 형성율이 3배나 증가 하였다 [25]. 잎 조직에서는 28.5 μM IAA와 2.3 μM kinetin을 사용하여 shoot를 재분화 시켰다고 Koevary[13] 등이 보고했지만, Michelmore와 Each[16]는 자엽 절편체들로부터 shoot 형성은 IAA (0.06 - 28.5 μM)와 kinetin (4.0 μM) 또는 NAA (0.54 - 5.4 μM)와 BA (0.44 - 2.2 μM)에서 유도 될 수 있으나 같은 농도에서 잎 조직으로부터 shoot 형성은 극히 드물다고 보고했다. 본 실험에서는 처음에 사용한 식물체 재분화 배지인 KN 배지는 2 mg/l kinetin (9.3 μM)과 0.1 mg/l NAA (0.54 μM)가 첨가 되었으며, 실험한 모든 품종의 자엽과 제 1엽 절편체로부터 shoot가 재분화되었다. 그 중 정통포기 품종의 자엽 절편체로부터는 91.3%의 높은 재분화율을 나타내었다. Chung등[6]의 보고에서는 품종은 언급되지 않았으나, 본 실험과 동일한 MS 기본배지에 1.0 mg/l kinetin과 0.1 mg/l NAA를 첨가한 배지에서 자엽 절편체로부터 23.3%의 재분화율을 3.0 mg/l kinetin과 0.1 mg/l NAA에서는 12.3%의 효율을 보고 했고, 본 실험과 동일한 2 mg/l kinetin과 0.1 mg/l NAA를 첨가한 배지는 언급되지 않았다. Choi등[5]도 kinetin과 NAA의 농도조절이 상추 절편체로부터 shoot 재분화에 가장 효과적이라고 보고 했지만 이것은 아마 사용한 품종에 따라 다르게 나타날 것이라 추정된다고 보고했다. 본 연구에서 KN 배지에서 재분화율이 낮은 청치마 품종을 대상으로 재분화 효율을 높이기 위해 다양한 배지를 사용하여 재분화율을 조사 했는데 KI 배지, SH 배지, NB 배지에서 KN 배지 보다 거의 2배 이상 재분화율이 향상되었다. KI 배지와 SH 배지는 kinetin과 auxin 종류로는 NAA 대신에 IAA를 첨가한 배지이며 두가지 배지 시스템을 사용했다. KI 배지 경우에는 절편체들을 7일 동안 kinetin과 IAA가 첨가된 배지에 배양 후 낮은 농도의 kinetin (0.05 mg/l)이 첨가된 배지에 옮겨고, SH 배지에서는 12일 동안 kinetin과 IAA 배지에 배양 후 kinetin (0.05 mg/l)와 zeatin (0.05 mg/l)이 첨가된 배지에 옮겨 주었다. 두가지 배지 시스템은 Sasaki[21, 22,23]가 상추의 하배측으로부터 bud 형성을 위해 처음으로 사용했으며 가장 효율적인 재분화 조건은 2,4-D (0.45 μM)와 kinetin (0.46 μM)이 첨가된 배지에서 7일 동안 배양 후 kinetin (0.46 μM)만 첨가된 두 번째 배지로 옮겨졌을 때 가장 효율적이라고 보고했다. 또한 2,4-D 대신에 IAA, IBA나 NAA를 사용 했을 때는 낮은 효율을 보였다고 보고했다. 상추의 뿌리 형성은 일반적으로 shoot 형성 후에 유도되며 외부로부터 어떠한 성장조절제를 첨가하지 않아도 가끔씩 유도될때도 있지만 풍부한 뿌리 형성은 캘러스나 shoot들을 육신 단독으로 첨가된 배지 또는 높은 농도의 육신과 낮은 농도의 시토키닌을 첨가된 배지에서 유도된다고 보고되었다[16]. Koevary등[13]은 재분화된 shoot를 IBA (4.9 μM)가 첨가된 배지에 배양했을 때 뿌리 형성율이 80%였다고 보고 했고,

Alconero[1]는 NAA (5.4-10.8 μM)에 배양 했을 때 뿌리를 유도 했다고 보고했다. 하지만 본 실험에서는 성장조절제가 첨가되지 않은 MS 기본배지에 재분화된 shoot를 배양 했을 때 모든 식물체에서 건강한 뿌리가 형성되었으며, 비슷한 결과들을 여러 연구자들에 의해 상추로부터 보고 되었다[4,11,14, 20]. 따라서 본 연구는 상추 종자 파종 후 6일째와 10일째의 유효가 자엽과 제1엽 절편체의 실험체료로 사용하기에 적당했으며, 또한 자엽이나 제1엽의 절편체들로부터 재분화 효율을 높일 수 있는 배지를 규명하였으며 개화된 완전한 식물체들을 성장시킴으로써 이 기술을 이용하여 *Agrobacterium*을 매개로 하는 높은 효율의 형질전환체 상추를 개발할 수 있는 기초실험을 확립하였다.

요 약

KN 배지에서 상추 자엽과 제1엽 절편체로부터 식물체 재분화율을 품종별 비교 했을 때, 자엽에서 정통포기 품종이 91.3%로 가장 높게 나타났고, 고향뚝적측면 품종이 52.3%, 청치마 품종이 35.4%로 가장 낮게 나타났다. 제1엽에서도 정통포기 품종이 85.9%로 가장 높게 나타났고, 고향뚝적측면 품종이 50.8%, 청치마 품종에서 30.3% 효율을 나타내었다. 재분화 효율이 가장 낮은 청치마 품종의 재분화 효율을 높이기 위해 다양한 재분화 배지를 사용하여 청치마 품종의 자엽과 제1엽의 식물체 재분화 효율을 비교했다. 자엽에서 재분화 효율은 KI 배지와 SH 배지, NB 배지에서 거의 평균 77.2%의 높은 재분화 효율을 나타내었고, MSD₃ 배지에서는 그 보다 낮은 61.1%의 효율을 나타내어 모든 배지에서 KN 배지 보다 높게 나타났다. 제1엽에서도 SH 배지에서 85.0%로 가장 높게 나타났고, KI 배지에서 80.7%, NB 배지에서 67.4%, MSD₃ 배지에서 61.0%의 효율을 나타내어 KN 배지보다 모두 높게 나타났다. 따라서 본 실험의 결과 상추의 자엽과 제 1엽 절편체들로부터 효율적인 재분화는 정통포기 품종의 자엽을 KN 배지에 배양했을 때 가장 효율적으로 나타났으며, 청치마 품종에서는 제 1엽을 SH 배지와 KI 배지에 배양했을 때 재분화가 효율적인 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 과학재단의 환경생명 국가핵심연구센터 연구비 (grant # : R15-2003-012-02003-0)와 농림부의 첨단기술과제 생명공학분야 연구비 (grant no. 203069-032-2-CG000), 교육인적자원부의 'BK21' 프로그램 지원에 의해 수행되었음.

참 고 문 헌

1. Alconero, R. 1983. Regeneration of plants from cell suspensions of *Lactuca saligna*, *Lactuca sativa*, and *Lactuca*

- serriola*. *HortScience* **18**, 305-307.
2. Brown, C., J. A. Lucas and J. B. Power. 1987. Plant regeneration from protoplasts of a wild lettuce species (*Lactuca saligna* L.). *Plant Cell Rep.* **6**, 180-182.
 3. Campbell, R. M. 1984. Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Phytopathology News* **17**, 86.
 4. Cho, E. A., C. A. Lee, Y. S. Kim, S. H. Baek, B. G. de los Reyes and S. J. Yun. 2005. Expression of γ -tocopherol methyltransferase transgenic improves tocopherol composition in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Mol. Cells* **19**, 16-22.
 5. Choi, U. O., M. S. Yang, M. S. Kim and J. S. Eun. 1994. Genetic transformation of lettuce (*Lactuca sativa* L.) with *Agrobacterium tumefaciens*. *Korean J. Plant Tissue Culture* **21**, 55-58.
 6. Chung, J. D., C. K. Kim and K. M. Kim. 1998. Expression of β -glucuronidase (GUS) gene in transgenic lettuce (*Lactuca sativa* L.) and its progeny analysis. *Korean J. Plant Tissue Culture* **25**, 225-229.
 7. Chung, J.-D., B.-J. Lee, H.-S. Lee and C.-K. Kim. 2000. Transformation of chinese cabbage glutathione reductase (GR) gene into lettuce (*Lactuca sativa* L.) with particle bombardment. *Korean J. Plant Tissue Culture* **27**, 475-478.
 8. Curtis, I. S., C. He, R. Scott, J. B. Power and M. R. Davey. 1996. Genomic male sterility in lettuce, a baseline for the production of F1 hybrids. *Plant Sci.* **113**, 113-119.
 9. Doershug, M. R. and C. O. Miller. 1967. Chemical control of adventitious organ formation in *Lactuca sativa* explants. *Amer. J. Bot.* **54**, 410-413.
 10. Kadkade, P. and M. Seibert. 1977. Phytochrome-regulated organogenesis in lettuce tissue culture. *Nature* **270**, 50-51.
 11. Kim, M. J., S. H. Baek, N. H. Yoo and S. J. Yun. 2000. Transformation of *Arabidopsis* gamma-tocopherol methyltransferase into lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Korean J. Plant Tissue Culture* **27**, 435-439.
 12. Kim, Z.-H. 2004. Inheritance and characteristics of a new dwarf mutant in lettuce. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **45**, 277-280.
 13. Koevary, K., L. Rappaport and L. L. Morris. 1978. Tissue culture propagation of head lettuce. *HortScience* **13**, 39-41.
 14. Lee, Z. A., H. Y. Kim, K. H. Chung and Y. D. Park. 2004. Introduction of two types of human ferritin gene into lettuce plants. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **45**, 330-335.
 15. McCabe, M. S., U. B. Mohapatra, S. C. Debnath, J. B. Power and M. R. Davey. 1999. Integration, expression and inheritance of two linked T-DNA marker genes in transgenic lettuce. *Mol. Breed.* **5**, 329-344.
 16. Michelmore, R. W. and J. A. Eash. 1986. Lettuce, pp. 512-551, In Evans, D. A., W. R. Sharp, P. V. Ammirato and Y. Yamada (eds.), *Handbook of plant cell culture*, Vol. 4, Macmillan Publishing Company, New York.
 17. Michelmore, R., E. Marsh, S. Seely and B. Landry. 1987. Transformation of lettuce (*Lactuca sativa* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Rep.* **6**, 439-442.
 18. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A reversed medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum* **15**, 473-497.
 19. Ryder, E. J. 1979. *Leafy salad vegetables*. pp. 13-94. AVI Publishing, Westport, Conn.
 20. Ryu, J. A., C. K. Kim, H. S. Lee, K. B. Choi and D. C. Yang. 2001. Transformation of PAT gene into lettuce (*Lactuca sativa* L.) using *Agrobacterium tumefaciens*. *Korean J. Plant Tissue Culture* **28**, 197-200.
 21. Sasaki, H. 1979. Physiological and morphological studies on development of vegetable crops. IV. Effect of various media on the adventitious bud formation of lettuce hypocotyl tissue cultured *in vitro*. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* **47**, 479-484.
 22. Sasaki, H. 1979. Physiological and morphological studies on development of vegetable crops. VI. Effect of several auxins, cytokinins and cytokinin-ribosides on the adventitious bud formation of lettuce hypocotyl tissue cultured *in vitro*. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* **48**, 67-72.
 23. Sasaki, H. 1982. Effect of temperature and light on the adventitious bud formation of lettuce hypocotyl tissue cultured *in vitro*. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* **51**, 187-194.
 24. Schenk R. V. and A. C. Hildebrandt. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can. J. Bot.* **50**, 199-204.
 25. Webb, D. T., L. D. Torres and P. Fobert. 1984. Interactions of growth regulators, explant age and culture environment controlling organogenesis from lettuce cotyledons *in vitro*. *Can. J. Bot.* **62**, 586-590.
 26. Wroblewski, T., A. Tomczak and R. Michelmore. 2005. Optimization of *Agrobacterium*-mediated transient assays of gene expression in lettuce, tomato and *Arabidopsis*. *Plant Biotech. J.* **3**, 259-273.