

#### 4. 화분과 목초 종자피복기술에 관한 연구

권찬호 · 김종덕 · 허삼남\* · 이병생 · 박진길 · 김종관\*\* · 김동암\*\*\*

연암축산원예대학, 전북대학교\*, 현대사료(주)\*\*, 서울대학교\*\*\*

본 시험에서는 화분과목초의 발아율 향상과 피복종자의 파손을 방지하기 위하여 대형피복기와 펠렛제조기를 혼합 이용하는 기술을 개발하고자 수행하였다. 종자피복기와 펠렛제조기를 혼합이용하는 피복기술은 종자피복시간을 기존의 1시간보다 40분 단축하여 20분에 종자피복을 완성할 수 있었다. 립당 종자수는 coating이 1립인데 비하면 pelleting은 3~4개 피복하였으며, 종자의 크기도 pelleting이 coating보다 2~3배 컸다. 그러나 발아율은 coating종자보다 pelleting 종자가 크게 향상되었다. 한편 종자의 파괴율을 개선하기 위하여 건조온도와 피복시간의 비교에서는 건조온도는 40℃보다 60℃가 많이 파괴되었으며, 피복시간은 시간을 단축할수록 종자파괴가 덜 되었다. 피복시간과 온도가 발아세 및 발아율의 비교에서는 40℃가 60℃보다 높았으며, 피복시간은 단축할수록 발아세와 발아율이 높았다. 펠렛(pelleting)종자의 크기에 따른 발아세 및 발아율은 펠렛종자의 크기가 커질수록 감소하였다. 크기에 따른 펠렛종자의 배합량과 경제성 비교에서는 종자의 크기가 증가함에 따라 피복물질과 소요시간이 많았는데 펠렛지름이 1mm 증가함에 따라 소요경비는 평균 1.5배 증가하였다. 정착율 및 초기생육은 화분과목초 모두 피복종자보다 펠렛종자가 높았다. 피복종자의 크기에 따라서는 tall fescue는 펠렛종자의 크기가 증가할수록 감소하였으나 orchardgrass는 증가하였다. 이상의 결과를 볼 때 화분과목초를 종자피복기와 펠렛제조기를 혼용하면 피복기만을 사용하는 것보다 효과적으로 파복할 수 있으며, 발아율, 정착율 및 초기생육이 개선되었다.

**Key Words** : Coating, Pelleting, Tall fescue, Orchardgrass, 발아율, 초기생육, 경제성

#### 5. 딸기 cytosolic ascorbate peroxidase (ApxSC)유전자를 이용한 담배의 형질전환

이인애<sup>o</sup> · 배은경 · 이효신\* · 김기용\*<sup>1</sup> · 조진기

경북대학교 동물공학과, 영남농업시험장\*, 축산기술연구소\*<sup>1</sup>

최근 산업화에 따른 환경의 파괴로 그 발생빈도가 급증하고 있는 오존과 같은 oxidative stress에 내성을 가지는 식물체의 구축을 위하여 항산화 효소계의 중심효소인 ascorbate peroxidase (ApxSC) 유전자의 형질전환을 시도하였다. 딸기 유래의 ApxSC 유전자를 식물 형질 전환용 binary vector pLG 121-Hm의 CaMV 35S promoter

하류에 있는 *XbaI*과 *SacI* restriction enzyme site에 삽입하여 형질전환용 발현벡터인 pIGAp8를 구축한 다음 freeze & thaw방법으로 *Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404에 도입하여 형질전환 된 clone들을 얻었다. 이들 clone의 배양액에 모델 식물인 담배 잎 disc를 20분 정도 담귀 감염시킨 후 2 mg/L BAP, 30 g/L sucrose, 0.2 mg/L NAA, 5 g/L gelrit가 첨가된 MS-n/b 배지에서 28°C, 3일 동안 암 상태로 공동 배양하여 감염을 유도하였다. 감염시킨 담배 잎 disc의 선발을 위해서 250 mg/L cefataxime과 100 mg/L kanamycin이 첨가된 MS-n/b 배지에서 4주 동안 명 상태에서 배양하여 선발하였다. 선발된 shoot을 항생제가 첨가된 1/2 strength의 MS-n/b 배지로 기내 배양하여 뿌리를 유도시켜 완전한 식물체로 재분화시킨 다음, 순화과정을 거쳐 화분에 옮겨 완전한 식물체로 생육시킨 식물체의 잎으로부터 genomic DNA를 분리하여 PCR 및 Southern blot 분석을 실시하여 이들 유전자가 도입되었음을 확인하였다. 또한 이들의 total RNA를 분리하여 Northern blot 분석을 실시하여 도입된 유전자가 형질 전환된 식물체에서 정상적으로 발현되는지 확인하였다.

**Key words** : ascorbate reductase, oxidative stress, 형질전환.

## 6. Monodehydroascorbate reductase (MDHAR) 유전자의 형질전환

이인애 · 이명희<sup>○</sup> · 배은경 · 이효신\* · 조진기

경북대학교 동물공학과, 영남농업시험장\*

Ascorbate-glutathione cycle을 구성하는 유전자들의 sense 및 antisense constructs를 구축 후 형질전환 식물체의 oxidative stress에 대한 내성의 획득 및 소실정도를 규명하기 위하여 배추 library로부터 선발한 *BcMdhar1* clone을 이용하여 sense constructs를 구축하고, 구축된 재조합 vector pGA-M27을 freeze-thaw method를 이용하여 *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404에 도입하였다. 형질전환된 *Agrobacterium*을 이용하여 모델식물인 담배를 Horsch 등 (1988)의 leaf disc transformation 방법으로 형질전환 한 다음, 식물체의 재분화를 유도하였다. 4 line의 MDHAR sense 형질전환 담배 (S1-4)로부터 종자 (T1)를 채종하여 tetracycline (10 mg/L)이 첨가된 MS 배지에 과종하여 배양한 다음, tetracycline 저항성에 대한 분리비를 조사한 결과 약 3:1로 나타났다. 이들 식물체의 형질전환 여부를 다시 확인하기 위하여 CaMV 35S promoter와 NOS terminator의 염기서열로부터 sense 및 antisense primer를 각각 합성한 다음, genomic PCR한 결과 예상크기와 동일한 1.6 Kb의 특이적인 PCR 증폭산물을 관찰할 수 있었다.

**Key words** : Ascorbate-glutathione cycle, monodehydroascorbate reductase, 형질전환, *Agrobacterium*.