

15. 내재해성 유전자 도입한 버즈풋 트레포일의 온실 순화재배 및 생육조사

김기용[○] · 신재순 · 정의수 · 윤세형 · 김종근 · 장요순 · 배은경* · 조진기*

축산기술연구소, 경북대학교*

내재해성 유전자인 *BcHSP17.6* 유전자를 버즈풋 트레포일 (*Lotus corniculatus* L. cv. Empire)에 도입하여 형질전환 식물체를 생산하였다. *BcHSP17.6* 유전자를 가지는 발현벡터 pIGH4를 제작하여 agarose gel 전기영동으로 벡터 제작을 확인하였으며, pIGH4 벡터를 *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404에 도입 후, *Agrobacterium*과 알팔파 캘러스의 공배양을 통해 *BcHSP17.6* 유전자를 버즈풋 트레포일에 도입하였다.

유전자가 도입된 캘러스만을 선별하기 위해 *Agrobacterium*으로 감염시킨 캘러스를 100 µg/ml의 kanamycin과 500 µg/ml의 cefotaxim을 첨가한 SH-kc 배지에서 배양하며 살아남는 캘러스만을 선별하였다. 선별된 캘러스는 BOi2Y 배지와 SH-IBA 배지 (SH 배지에 IBA 1 mg/l 첨가)에서 3~4개월간 배양하여 완전한 식물체로 재분화를 완성하였다.

재분화된 버즈풋 트레포일의 genomic DNA를 분리한 후, PCR 분석 및 Southern blot 분석을 실시하였을 때, 도입한 유전자의 크기에 해당하는 band를 확인함으로써 버즈풋 트레포일의 형질전환을 확인하였다. 뿌리가 유도된 버즈풋 트레포일 형질전환체는 모래에 옮겨 심어 빛, 온도, 습도가 조절되는 성장실에서 1개월 이상 배양하며 충분한 뿌리를 유도하였고, 다시 흙이 담긴 화분에 옮겨 심어 온실에서 2개월 이상 순화재배 과정을 거쳤다. 형질전환 버즈풋 트레포일은 형태적으로 정상이었으며, 생육속도 또한 대조구와 차이가 없었다.

Key words : 버즈풋트레포일 (*Lotus corniculatus* L.), 형질전환 식물체, Southern blot 분석, 생육조사

16. 약 배양 기법 이용한 이탈리아 라이그라스 신품종 육성

김기용[○] · 강경민 · 성병렬 · 임영철 · 최기준 · 장요순 · 김맹중 · 이효신*

축산기술연구소, 영남작물시험장*

개화전 출수기 때의 이탈리아 라이그라스 (*Lolium multiflorum* Lam.) 꽃차례에서 약(葯)을 취하여 기내에서 약(葯) 배양을 실시하는 방법으로 이탈리아 라이그라스 식물체를 생산하였다.

먼저 배양적기의 약(葯)을 가진 꽃차례(花序)를 채취한 다음, 멸균수를 채운 용기

에 배양재료를 꽃아 비닐로 외부를 밀봉하고, 8℃로 유지되는 chamber에서 암조건으로 10일 이상 전처리를 실시하였다. 전처리를 마친 꽃차례를 꺼내어 약(藥)이 들어 있는 영(穎)을 떼내어 70% EtOH에서 5분간, 1~5% NaOCl 용액에서 10~20분간 살균한 다음, 멸균수로 2~3회 헹구고, 멸균된 filter paper로 옮겨 물기를 제거 후, 캘러스 준비된 유도배지에 치상하여, 빛이 차단된 24~28℃ 온도에서 배양하였다. 캘러스 유도배지는 MS배지에 sucrose 30 g/l, NAA 2.0 mg/l, kinetin 1.0 mg/l, gelrite 5 g/l를 첨가하여 제조하였으며, 배지의 pH는 5.8로 조절하였다. 약(藥) 유래의 캘러스는 1개월 정도 배양했을 때 유도되기 시작하였다.

약(藥) 유래의 캘러스로부터 식물체로 재분화 하기 위한 배지는 MS배지에 sucrose 30 g/l, IAA 1.0 mg/l, kinetin 2.0 mg/l, gelrite 5 g/l를 첨가하고 pH 5.8로 조절한 배지를 사용하였다. 캘러스를 재분화 배지에 치상하여 1개월 정도 배양하였을 때 재분화된 식물체가 보이기 시작하였으며, 현재 계속적으로 식물체 재분화 과정을 진행하고 있다.

약 배양의 장점으로서는 1) 목초의 품종 육성 년한 단축 (8~10년 → 4~5년), 2) 유전적 고정 계통 집단을 이용하므로 선발효율 극대화, 3) 고세대 분리집단에서 우량형질 조기 고정, 4) 열성형질 관련 유전변이 확대 등을 들 수 있다.

Key words : 이탈리아 라이그라스 (*Lolium multiflorum* Lam.), 약(藥)배양, 식물체 재분화

17. 약 배양기법 이용한 이탈리아 × 툴페스큐 속간 교잡종의 임성회복

강경민[○] · 김기용 · 임용우 · 장요순 · 김원호 · 손대영* · 이병현* · 박근제

축산기술연구소, 경상대학교*

이탈리안 라이그라스 (*Lolium multiflorum* Lam.)와 툴페스큐 (*Festuca arundinacea* Schreb.)의 속간 교잡종은 대부분이 임성이 없거나 매우 약한 편이어서, 초형 및 사료가치가 양호하다 할지라도 목초로 등록이나 이용이 불가능하다. 속간 교잡종의 임성을 회복하는 하나의 방법으로 약(藥) 배양을 실시함으로써, 불안정한 상태의 유전자형을 고정하고 임성을 높여주어 이용가능한 계통을 선발코자 하였다. 약(藥) 배양 방법은 이탈리아 라이그라스의 약(藥) 배양 방법과 동일하게 실시하였으며, 현재 약(藥) 배양을 통해 5개체의 식물체를 생산하였다.

먼저 배양적기의 약(藥)을 가진 꽃차례(花序)를 채취한 다음, 멸균수를 채운 용기에 배양재료를 꽃아 비닐로 외부를 밀봉하고, 8℃로 유지되는 chamber에서 암조건으로 10일 이상 전처리를 실시하였다. 전처리를 마친 꽃차례를 꺼내어 약(藥)이 들

어 있는 영(穎)을 떼내어 70% EtOH에서 5분간, 1~5% NaOCl 용액에서 10~20분간 살균한 다음, 멸균수로 2~3회 헹구고, 멸균된 filter paper로 옮겨 물기를 제거 후, 캘러스 준비된 유도배지에 치상하여, 빛이 차단된 24~28℃ 온도에서 배양하였다. 캘러스 유도배지는 MS배지에 sucrose 30 g/l, NAA 2.0 mg/l, kinetin 1.0 mg/l, gelrite 5 g/l를 첨가하여 제조하였으며, 배지의 pH는 5.8로 조절하였다. 약(藥) 유래의 캘러스는 1개월 정도 배양했을 때 유도되기 시작하였다.

약(藥) 유래의 캘러스로부터 식물체로 재분화 하기 위한 배지는 MS배지에 sucrose 30 g/l, IAA 1.0 mg/l, kinetin 2.0 mg/l, gelrite 5 g/l를 첨가하고 pH 5.8로 조절한 배지를 사용하였다. 캘러스를 재분화 배지에 치상하여 1개월 정도 배양하였을 때 재분화된 식물체가 보이기 시작하였으며, 현재 계속적으로 식물체 재분화 과정을 진행하고 있다. 약(藥) 배양을 통해 이탈리아 라이그라스와 툴페스큐의 속간 교잡종의 임성이 회복된다면, 환경적응성이 강하고 수량성이 높으면서도 툴페스큐의 거친 특성을 완화시켜 사료가치를 높일 수 있을 것으로 사료된다.

Key words : 이탈리아 라이그라스 (*Lolium multiflorum* Lam.), 툴페스큐 (*Festuca arundinacea* Schreb.), 속간 교잡종, 약(藥) 배양, 식물체 재분화

18. 오차드그라스 우량계통 “합성 20호”의 생육특성 및 수량성

임용우 · 최기준 · 임영철 · 성병렬 · 김맹중 · 정종원 · 이종경 · 박남근*

축산기술연구소, 제주농업시험장*

오차드그라스 양질 다수성 신품종을 육성하기 위하여 Ambassador를 표준품종으로 하여 4개지역(수원, 남원, 대관령(평창) 및 제주도)에서 지난 2년간 수행한 시험결과를 요약하면 아래 표와 같다.

오차드그라스 합성20호의 생육특성들 중 한해, 풍엽성, 도복정도는 모두 양호하였으며, 표준품종인 Ambassador에 비하여 다소 우수하였다. 재생력은 합성20호가 Ambassador에 비하여 양호하였고, 초장은 합성20호가 88.8cm로 Ambassador 86.3cm에 비하여 약간 컸다. 출수기는 합성20호가 5월 14일로 Ambassador에 비하여 하루 정도 빨랐다. 합성20호의 건물수량은 2년 평균 10,720Kg/ha로서 Ambassador의 건물수량 9,138Kg/ha에 비해 많았으며, Ambassador의 수량지수를 100으로 볼 때 합성20호가 117정도를 나타내었다.

2002년 8월 현재 2차 수확까지 완료되었으며, 4차수확 후 3년차 시험이 완료 되는대로 오차드그라스 우량 품종으로 출원할 예정에 있다.