

학술발표 1

한국잔디 우수계통들의 생육특성 연구 및 DNA 표지인자 개발

임용우* · 김기용 · 김맹중 · 성병렬 · 임영철 · 정의수 · ¹신흥균 · ¹김용선
축산기술연구소, ¹삼성에버랜드 잔디환경연구소

Comparison Study on the Growth Characteristics of Superior Lines of Joysiagrass and Development of its DNA markers

Y. W. Rim* · K. Y. Kim · M. J. Kim · B. R. Sung · Y. C. Lim · E. S. Chung · ¹H. K. Shin · ¹Y. S. Kim

*National Livestock Research Institute, ¹Turfgrass and Environment Research Institute

실험목적

본 연구는 한국형 우량 잔디품종을 개발하기 위한 기초단계로 2001년부터 수집된 한국잔디계통들의 생육특성을 조사하여, 그 중에서 우수한 계통들을 선발하고 한국잔디 품종개발을 위한 기초자료로 활용하고자 수행하였다.

재료 및 방법

2001년 수집된 한국잔디 133계통들 중에는 101계통이 삼성에버랜드 잔디환경연구소로부터 수집되었으며, 나머지 32계통은 전국의 여러지역을 돌며 수집되었다. 수집된 계통들은 2002년 4월초 축산기술연구소 축산기술부(수원)의 잔디시험포장에서 홀커터기(지름10cm)로 채취된 양만큼 1.8 x 1.8m²의 격자관내에 이식되었다(Fig. 1). 한국잔디의 시비량은 수집되어 시험포에 이식된 1년차인 2002년도에는 시비 및 농약은 일체하지 않았으며, 2년차인 2003년도에는 복합비료 N-P₂O₅-K₂O = 210-150-180(kg/ha)를 4월부터 10월까지 매월 m²당 30g 씩 시비하였다.

주요 생육특성으로 초장, 엽장, 엽폭, 밀도(품질), 포복경 4번째 마디의 길이와 두께, 피복성, 녹색기간, 출수유무(종자수), 내건성, 내한성, 내충·내병성 등이 조사되었다. 각각의 생육특성을 조사하기 위하여 격자관내에서 생육중인 10개체의 샘플을 무작위로 채취하여 조사하였고, 피복성은 격자관내의 피복정도를 상중하로 나누어 조사하였다. 수집된 계통들간의 dendrogram 작성을 위하여 초장, 엽장, 엽폭,

포복경의 두께 및 길이에 대한 조사자료를 SPSS10.0 통계패키지에서 군집분석부분의 계층적군집분석방법으로 분석하였으며, 거기에 이용된 방법은 와드(Ward)의 방법이었다.

DNA 표지인자 개발을 위하여 우수계통으로 선발된 6계통에 대하여 농촌진흥청에서 개발된 12개의 URP primer(20mer)를 이용하여 PCR 증폭으로 특이 band를 찾아, 이 특이 band의 염기서열분석을 통하여 새로운 특이 primer를 제작하였고, 이를 이용하여 PCR 증폭으로 특이 band를 확인하였다.

본 연구의 결과는 수집된 133계통들 중에서 생육특성이 우수한 6계통들에 한하여서 국내품종인 건희, 안양중지 및 외국품종인 Belare, Sunburst, Meyer, S-94 등을 대조품종으로 사용하여 기술하였다.

결과 및 고찰

본 연구에 사용된 수집된 133계통들 중에서 우수한 6계통들의 주요 생육특성 결과를 Table 1에 종합하였다. 우수계통으로 선발된 기준은 밀도(품질), 피복성, 녹색기간, 내병성, 출수유무(종자수) 등의 주요특성과 그 외 생육특성들을 종합하여 선발하였다. 수집된 133계통들 중에서 가장 녹색기간이 긴 계통은 J01067으로 11월 초까지 녹색도를 유지하였으며, 특이한 사항은 포복경의 줄기색깔이 보통의 경우는 적갈색을 띠나 이 계통의 경우는 녹색을 나타내었다(Fig. 2). J01106 및 J01129 계통들의 경우는 한국 잔디품종인 건희와 비슷한 생육특성을 나타내었다. 이 계통은 엽폭이 각각 1.5mm 및 2mm 정도로 매우 좁으며, 밀도가 높고, 피복성도 좋은 것으로 나타났으며, 내병성도 강해서 고품질의 잔디로서 이용되면 좋을 것으로 사료된다. J01106 계통은 김두환 등(2000)의 세엽 한국잔디류 신품종 건희(Konhee)의 육성보고에 나타난 건희(Konhee)의 생육특성과 비슷하여 엽이 세엽이고 밀도가 높은 고품질의 잔디이었다(Fig. 3).

J01122 계통의 경우는 수집된 133계통들 중에서 외국품종인 Belare 와 함께 들잔디 계통들 중에서 유일하게 내병성이 강한 계통으로 선발되었으며, 엽폭이 4.6mm로 대조품종인 Belare, 안양중지 및 Meyer와 비슷한 것으로 나타났다. J01128 계통의 경우는 엽폭이 3.2mm로 중엽에 속하였으며, 대비품종인 Sunburst와 비슷하였다. 이 계통의 경우도 J01106, J01122, J01129 계통들과 마찬가지로 밀도가 높고 내병성이 강한 것으로 나타났다. 그 외의 생육특성으로 내건성 및 내한성이 조사되었으나 모든 계통들에서 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

Table 1. Growth characteristics of 6 superior lines in the collected 133 lines of Joysiagrass

Cultivar (line)	Plant height (cm)	Leaf length (cm)	Leaf width (mm)	Leaf hair (HML)	Covering speed (HML)	Internode thickness (mm)	Internode length (cm)	Density (Quality) (1~9)	Disease (1~9)	Green period (HML)
Konhee	9	5.2	1.8	Low	High	1.0	2.5	1	1	High
Anyang-Jungji	29	12.0	3.8	Low	High	1.9	5.4	3	5	Medium
Belare	24	13.3	4.4	Medium	High	1.7	5.2	1	1	Medium
Sunburst	25	11.9	3.6	Low	High	1.2	3.3	3	5	Medium
Meyer	26	9.1	4.2	Medium	High	1.8	4.9	3	5	Medium
S-94	27	12.8	5.2	Medium	High	2.1	4.5	3	5	Medium
J01067	24	9.3	3.8	Medium	Midium	2.1	5.1	3	3	Very high
J01105	43	24.3	6.0	High	High	1.7	5.2	3	3	Medium
J01106	14	5.2	1.5	Low	High	1.3	2.7	1	1	High
J01122	23	8.7	4.6	High	High	1.8	3.6	1	1	Medium
J01128	23	8.9	3.2	Medium	High	1.3	5.8	1	1	Medium
J01129	21	11.6	2.0	Medium	High	1.4	3.5	1	1	Medium

* 1: Strong(High), 9: Weak(Low)

수집된 계통들간의 dendrogram 작성을 위하여 초장, 엽장, 엽폭, 포복경의 두께 및 길이를 포함한 5가지 형질특성 자료를 와드(Ward)의 방법을 이용한 군집분석부분의 계층적군집분석방법으로 분석한 결과, 수집된 133계통들 중에서 대비품종으로 사용된 6품종들과 선발된 우수 6계통의 dendrogram을 Fig. 5에 종합하였다. Fig. 5에서 보는 바와같이 12품종 및 계통들은 크게 세가지 군집으로 분류되었다. 제 1군집에 속하는 품종 및 계통은 외국품종인 Belare, Meyer와 국내품종인 안양중지(Anyang-jungji) 그리고 선발된 우수계통인 J01067, J01112 등이 포함되었으며, 제 2군집으로는 외국품종 S-94와 우수계통인 J01105가 포함되었고, 제 3군집에는 외국품종인 Sunburst, 국내품종인 건희(Konhee) 그리고 우수계통인 J01106, J01128, J01129 등이 포함되었다.

양 등(1995)은 우리나라에 자생하는 한국잔디를 *Zoysia japonica*, *Z. matrella*, *Z. sinica*, *Z. tenuifolia*, *Z. macrostachya* 등의 5가지 종이 있다고 보고하였으며, 형태학적 특성 및 동위효소 표지분석을 통해서 7개의 group으

로 분류하였다. 김 등(1996)의 경우도 수집된 계통들과 그들의 교잡종을 포함한 91계통에 대하여 형태적 특성들의 변이를 조사하여 91계통들을 분류하였다. 최춘수 등(1997)은 한반도 내에 분포하고 있는 자생 한국잔디류의 생태를 조사하고, 육종모재로 활용할 유전자원을 수집·보존하며, 형태적 특징을 이용한 분류를 하였다. 수집된 69계통들의 잔디를 이용하여 분류의 특징이 될 수 있는 엽폭, 종자형태, 털의 유무, 잎의 각도 등 9개 형질을 조사하였다. 종자의 특성 3개 형질을 이용한 분류에서 크게 3개군, 엽폭 등 7개 형질을 이용한 분류에서는 4개군으로, 그리고 화수길이 등 9개형질을 이용한 분류의 경우도 4개군으로 분류하였다. Choi et. al(1997)은 또한 RAPDs를 이용하여 증폭된 DNA 밴드를 이용한 분류에서도 수집된 68계통을 크게 4개군으로 분류하였다.

본 연구에서는 수집된 133계통들을 5가지의 생육특성을 가지고 분류를 해보았으나, 생육특성들이 비슷하여 군집의 수를 많이 할 경우에 군집간 생육특성들의 구분이 불분명하였으며, 본 연구를 위하여 수집된 계통들의 경우는 크게 3개의 군집으로 분류하는 것이 적당한 것으로 사료되었다. 좀더 많은 특성형질들을 이용하여 분류할 경우에 좀 더 정확한 분류를 할 수가 있다고 하겠다.

수집된 한국잔디 133계통 중에서 출수를 하여 종자를 채종한 계통은 88계통이었고, 나머지 45계통들은 출수를 하지 않았다. 출수한 계통들 중에서 종자의 무게가 가장 많이 나가는 계통은 J01021 과 J01119로 종자 1립당 평균 1.34g 이었고, 가장 적게 나가는 계통은 종자 1립당 평균 0.01g이하를 나타내었다. 수집된 계통들 중에서 이삭당 종자의 수가 가장 많은 계통은 J01105으로 이삭당 평균 71.4립이었으며, 이 계통은 종자번식을 위한 육성계통으로 활용할 가치가 높다고 하겠다(Fig. 4).

우수계통으로 선발된 6계통의 경우는 외국 및 국내품종들과 비교하여 생육특성면에서 우수한 것으로 평가되어, 앞으로 한국형 잔디품종개발을 위한 육종모재로 활용하면 좋을 것으로 사료된다.



Fig. 1. Experimental field for Zoysiagrass

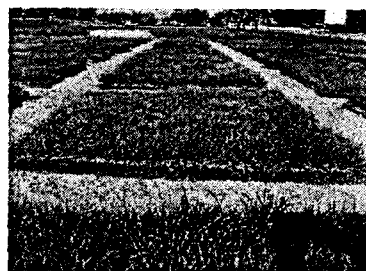


Fig. 2. J01067, superior line for

green period

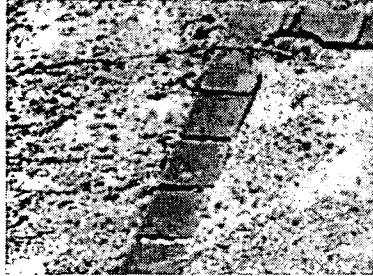


Fig. 3. J01106, superior line for density(quality) for seed



Fig. 4 J01105, superior line

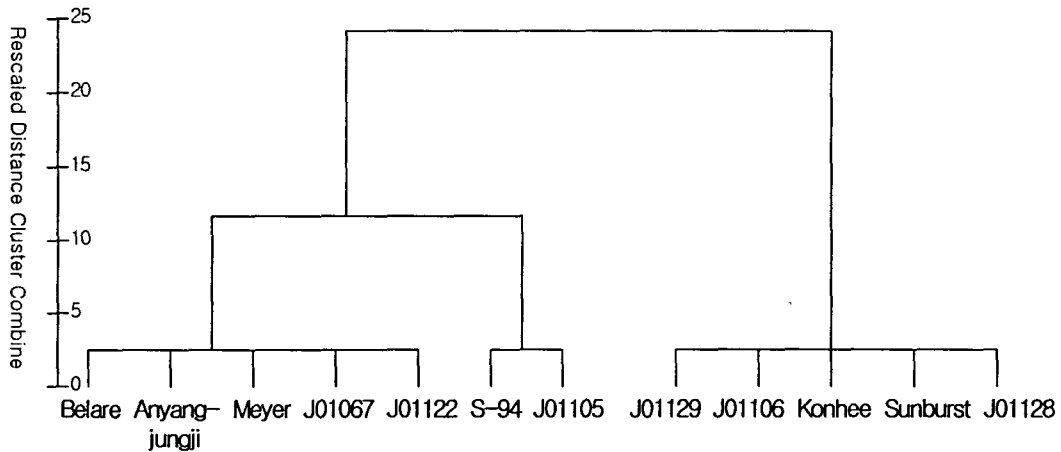


Fig. 5. Dendrogram of 6 cultivars and 6 superior lines of Zoysiagrass

Fig. 6은 URP 6번 primer로 PCR 증폭된 사진으로 lane 6에 특이 band (화살표)를 확인하였으며, 이 band의 DNA fragment를 이용하여 염기서열을 분석하였다(Fig. 7). 분석된 염기서열을 근거로 특이 primer(Primer 5F: 5-AGC CTT GAA GTG TTC GAG TG-3, 5R: 5-ACC ATG CAT AGC GTA GCT TC-3)를 제작하였다. 제작된 특이 primer를 이용하여 다시 PCR 증폭한 결과 5번 lane에서 band가 missing 된 것을 발견하였고(Fig. 8), 이것이 실험상의 오류가 아닌가 생각하여 반복 실험한 결과 같은 결과를 얻었다.

이것이 실험상의 오류가 아니라는 것을 확인하기 위하여 URP primer 12번을 이용하여 PCR 증폭한 결과 모든 lane에서 동일한 band를 발견하였다 (Fig. 9). DNA 표지인자로서 positive band 뿐만 아니라 negative band도 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

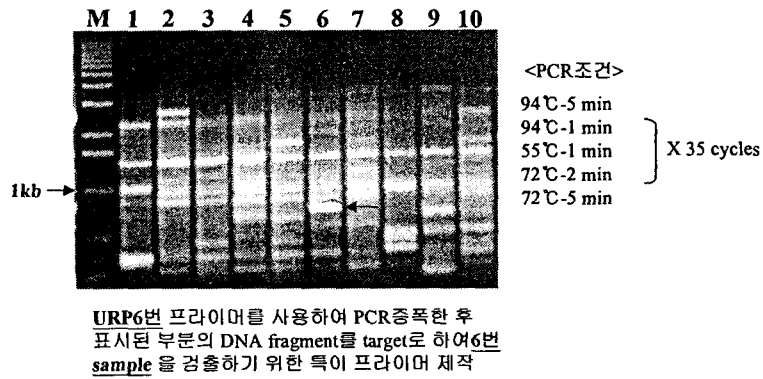


Fig. 6. PCR amplification using URP primer No. 6 (20mer, GC50%)
(lane 1: Konhee, lane 2: Anyang-jungji, lane 3: Meyer, lane 4: S-94,
lane 5: J01106, lane 6: J01067, lane 7: J01122)

```

GGCAAGCTGGTGGGAGGTACGGAAAAGCCTTGAAAGTGTTCGAGTGCAGAGCTGGCACA
GGCATAATAGAGATTCTTTAGTCCACCTAGAAAACAGAGGATAAAAATCACTTCTCATGGGA
AATGTGTACAACCTCTGCAGAGTTAAACTGTCTTGACAGCCGTGCTCACGGTCATGAGCG
TTGCAATGACCCTCATATGATTAGCGAGATTTTGGTATGGTTTGGTTGGTGATCACAAGGG
GAGACTGTGATTGGGCTTATGTTGGTGTTCAGCCAGGTAGGCTGTAGGTATGTTGGTCT
ATAGGTGCGATGTCTATCACTTAGTAAATAAGTGCTTAA TAGGAAGTGTGTATCTATTGTG
TGCTTTTATGCAACAGAACCCCTACATTGCCTTTGCCTTTGTTTGTGGCCATGTCATCTTTT
CTCACACTTGCTGAGTACATCCCGTACTCAACCTTGCTTTTATAAATGCTGCCCGTTGAAA
GAAAAGTTAATAGGACATTGAAGACACATGAGCTGAAGTCTAGGCTTGCTGTCTCTCAA
TCGACTGCCTGTGGAAGCTACGCTATGCA TGGTTTTCTTTTCCGCTGCATTCCGTAATCAC
TTATTTTCTCTTTTATTGTGACATTGTCTGTTTACCATTAATGAAGTCACTTTATGTGTGA
AACTTGATTCTGGGCACACATAAATGGTCACTTGGTTTTAGCCTTAAAACCGGGTGTGAC
AACAAACTATTTTCAACCTCATTGTCAGTCCAATGCTTTGTTAGTACCTCCACCAGCTTG
CC
  
```

<염기서열분석 결과 및 제작된 프라이머(표시된 부분)>

Fig. 7. Sequencing of unique band and making of unique primer

Unique Primer 5F: 5-AGC CTT GAA GTG TTC GAG TG-3

5R: 5-ACC ATG CAT AGC GTA GCT TC-3

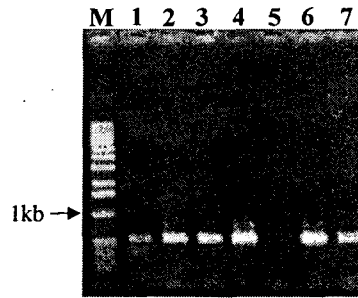


Fig. 8. Unique DNA marker of J01106(lane 5)
 (lane 1: Konhee, lane 2: Anyang-jungji, lane 3: Meyer, lane 4: S-94,
 lane 5: J01106, lane 6: J01067, lane 7: J01122)

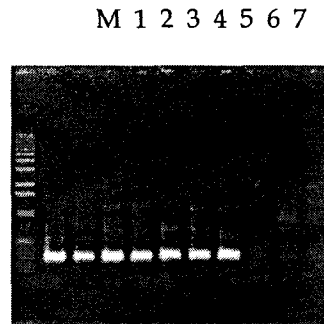


Fig. 9. PCR amplification using URP primer No. 12
 (lane 1: Konhee, lane 2: Anyang-jungji, lane 3: Meyer, lane 4: S-94,
 lane 5: J01106, lane 6: J01067, lane 7: J01122)

인용문헌

1. 김두환. 2002. 한국 그린기퍼협회보.
2. 김두환, 이재필, 김종빈, 모숙연. 2000. 세엽 한국잔디류 신품종 '건희(Konhee)' 육성. 한국잔디학회지 13(3):147-152.
3. 김형기, 김두선, 주영규, 홍규현, 김경남, 이재필, 모숙연, 김두환. 1996. Zoysiagrass 수집계통들과 중간교배 계통들의 형태적 특성들의 변이. 한국잔디학회지 10(1):1-11.
4. 양근모, 안병준, 최준수. 1995. 형태적 특성 및 Estase 동위효소를 이용한

- Zoysiagrass류(*Zoysia* spp.)의 식별. 한국원예학회지 36(2):240-247.
5. 주영규, 김두환, 이재필, 모숙연. 1997. 한국잔디류(*Zoysiagrass*)의 육종현황. 한국잔디학회지 11(1):73-85.
 6. 최춘수, 안병준, 양근모. 1997. 남서해안 및 도서지역에 자생하는 한국잔디류의 분포 및 형태적 특성을 이용한 분류. 한국잔디학회지 38(4):399-407.
 7. Choi, Joon Soo, B. J. Ahn, G. M. Yang. 1997. Classification of zoysiagrasses(*Zoysia* spp.) native to the southwest coastal regions of Korea using RAPDs. J. K. Soc. Hort. Sci. 38(6):789-795.