

오차드그라스 (*Dactylis glomerata* L.)의 치사온도 결정

김기용 · 강경민 · 임용우 · 박근제 · 임영철 · 서 성 · 손대영* · 조진기**

Determination of Heat Killing Temperature of Orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.)

K. Y. Kim, K. M. Kang, Y. W. Rim, G. J. Park, Y. C. Lim, S. Seo, D. Y. Son* and J. K. Jo**

ABSTRACT

To determine lethal temperature of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L. cv. Janbeol 102) developed in Korea at heat-stressed conditions, seedlings grown in a small pots for 4 weeks were treated at 45°C, 50°C or 55°C for 1 h. Heat treatments at 60°C and 65°C for 1 h, several plants were withered and showed damage symptom on their leaves. When the plants were exposed to 70°C for 1 h, most of leaves were severely withered, but it was not lethal conditions for the whole plants. By contrast, most of plants were died within one day after heat treatment at 80°C for 1h. Furthermore, plants exposed to 80°C for 55 min were also died within 7 days. It was found that new shoots were regenerated from the plants that had been treated at 80°C within 50 min. These results indicate that heat treatment at 80°C for 55 min is an optimum condition to distinguish the lethality of orchardgrass plants. Simple viability assay system established in this study will be useful for selection and characterization of heat-tolerant transgenic orchardgrass plants.

(Key words : 오차드그라스 (*Dactylis glomerata* L.), 고온내성, 치사온도, 생육조사)

I. 서 론

오차드그라스 (*Dactylis glomerata* L.)의 생명공학 관련 연구는 국내·외에서 많이 연구되고 있는데, 국내에서는 90년대 후반부터 연구가 시작되어 지금까지 여러 논문들이 발표되어 있으며 (Kim 등, 1998; Lee 등, 2000; Lee 등, 2001; Bae 등, 2002), 국외에서는 1980년대에 연구가 시작되어 지금까지 다양한 연구결과가 발표되고 있다 (Gray 등, 1984; Hanning 및 Conger, 1986; Horn 등, 1988; Conger 및

Hanning, 1991). 우리 나라에서 재배되고 있는 대부분의 오차드그라스 품종은 외국으로부터 도입된 것들로서 하고에 약한 큰 단점을 가지고 있어, 여름철 오차드그라스 생육이 매우 저조하게 되는 원인이 되고 있다. 국내에서 육성된 품종으로는 2002년 농촌진흥청 축산기술연구소에서 품종등록한 장별 101호 (Rim 등, 2003a) 및 장별 102호 (Rim 등, 2003b)를 포함해서 기존의 합성 2호 (농촌진흥청, 2002)와 함께 모두 3품종이 등록되어 있지만, 아직까지 널리 보급되지는 못하고 있는 실정이다.

“이 논문은 농림기획과제 연구비 지원에 의하여 수행된 결과임.”

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

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

** 경북대학교 농업생명과학대학(College of Life Sci. & Agriculture, Kyungpook Natl. Univ., Daegu 702-701, Korea).

Corresponding author : Ph.D. Ki-Yong Kim, Tel: +82-31-290-1756, Fax: +82-31-290-1775, E-mail: kimky77@rda.go.kr

본 연구진은 오차드그라스에 내하고성 유전자를 도입하여 여름철 고온에서도 생육이 우수한 새로운 품종을 개발하기 위해, 오차드그라스로부터 HSP (heat shock protein) 유전자들을 분리하여 기능을 분석 중에 있으며, 내하고성에 관여할 것으로 추정되는 몇몇 유전자를 벡터에 삽입하여 재조합벡터를 제작하였다. 이 유전자들을 오차드그라스에 도입했을 경우 형질전환체의 내하고성을 검정해야 하기 때문에, 본 연구에서는 오차드그라스가 어느 정도의 고온에서 얼마간 처리했을 때 죽게 되는지 정확한 치사온도를 조사하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시품종 및 재배

본 연구에서는 오차드그라스 (*Dactylis glomerata* L.) 품종 중 국내 육성품종인 장별 102호 (Jangbeol 102)를 시험재료로 공시하였으며, 종자를 petri dish에서 발아시켜 작은 화분에 10 개체씩 이식하여 생장실에서 4주 동안 재배하였다. 생장실의 온도는 20℃로 고정하고 16시간의 광주조건과 8시간의 암조건이 되도록 조절하였다.

2. 열처리 조건

오차드그라스 (Jangbeol 102)의 치사온도를 결정하기 위해 파종 후 4주령 된 식물체를 준비하였다. 열처리 온도는 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80℃로 8처리를 두었으며, 열처리 시간은 5분부터 60분까지 5분 간격으로 12처리를 두었다. 열처리는 각 온도별로 설정한 배양기에서 처리시간에 맞추어 실시하였으며, 열처리한 식물체는 적정 생육온도에서 배양하면서 생육조사를 실시하였다.

3. 생육조사

각 온도 및 시간별로 열처리한 식물체를 열처리하지 않은 대조구와 함께 적정 생육온도에

서 배양하면서, 열처리 후 7일까지 매일 생육조사를 실시하여, 각각의 처리에 따른 식물체의 상태를 육안으로 관찰하는 방법으로 조사하였다. 이 때 처리에 따른 영향을 전혀 받지 않은 정상인 상태를 1로 표시하였으며, 열처리에 의해 식물체가 죽은 상태를 9로 표시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 45, 50 및 55℃에서 처리시간별 생육상태

파종 후 4주령 된 오차드그라스 (*Dactylis glomerata* L.)를 45, 50 및 55℃에서 5분 간격으로 60분까지 처리한 결과, 온도 및 시간에 따른 외관상의 식물체 손상은 거의 없었다. Kim 등 (1997)이 담배 (*Nicotiana tabacum* L.)에서 치사온도를 조사했을 때는 50℃에서 15분 이상 처리하면 치사온도에 도달하는 것으로 보고되어 있는데, 오차드그라스의 경우에는 55℃에서 60분간 처리하였을 때에도, 외관상으로 영향을 거의 받지 않은 것으로 나타났다 (Table 1). 45, 50 및 55℃의 온도조건에서 60분까지 처리한 1차 실험에서 치사온도를 결정할 수 없었으므로, 온도를 더 높여 2차 실험을 실시하였다.

2. 60, 65 및 70℃에서 처리시간별 생육상태

오차드그라스를 60, 65 및 70℃에서 5분 간격으로 60분까지 처리한 결과, 60℃에서 30분 이상 처리했을 때에는 잎 끝이 마르고 약간 시들었으나 식물체의 손상은 약한 편이었으며, 65℃에서 처리한 결과에서도 60℃에서 처리했을 때보다는 좀 더 시들었지만 역시 심한 정도는 아니었다. 70℃에서 30분간 처리했을 때에 오차드그라스는 잎의 중간 정도까지 말랐으며, 60분간 처리했을 때에는 지상부의 잎이 2/3 이상 마른 상태였다 (Table 1). 하지만 60, 65 및 70℃의 온도조건에서 60분까지 처리한 2차 실험에서도 치사온도는 결정할 수 없었다. 그래서 온도를 10℃ 더 높여 3차 실험을 실시하였다.

Table 1. Effects of high temperature on heat damage of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) plants at several temperature

Treatment Observation (1~9)*	Temperature of heat treatment for 60 min (°C)						
	45	50	55	60	65	70	80
1 day later	1	1	1	2	2	4	8
2 days later	1	1	1	2	2	5	9
3 days later	1	1	1	2	2	5	9
4 days later	1	1	2	2	2	6	9
5 days later	1	1	2	2	3	6	9
6 days later	1	1	2	2	3	6	9
7 days later	1	1	2	2	3	6	9

* Damage index: 1, normal; 9, death.

Table 2. Determination of killing temperature of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.)

Treatment Observation (1~9)*	Heat treated time at 80°C (min)											
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
1 day later	2	2	2	3	4	5	5	5	6	6	7	8
2 days later	2	2	2	4	5	5	6	6	6	6	8	9
3 days later	2	2	2	4	5	5	6	6	6	6	8	9
4 days later	2	2	2	4	6	6	7	7	7	7	9	9
5 days later	2	2	2	5	6	6	7	7	7	7	9	9
6 days later	2	2	2	5	6	6	7	7	7	7	9	9
7 days later	2	2	2	5	6	6	7	7	7	7	9	9

* 1: normal, 9: death.

3. 80°C에서 처리시간별 생육상태

열처리 온도를 10°C 더 높여 오차드그라스를 80°C에서 5분부터 60분까지 5분 간격으로 처리한 결과, 처리 후 1일 이내에 50분 이상 처리에서 거의 죽어가는 현상이 나타났다. 처리 후

2일에는 60분 처리에서 모두 죽었으며, 처리 후 4일에는 55분 처리에서 모두 죽었으나, 50분 이하의 처리에서는 7일까지 죽은 개체를 발견할 수 없었다. 처리 후 7일부터는 완전히 죽지 않은 식물체의 경우 새로운 shoot가 재생됨을 관찰할 수 있었다. 결론적으로 오차드그라

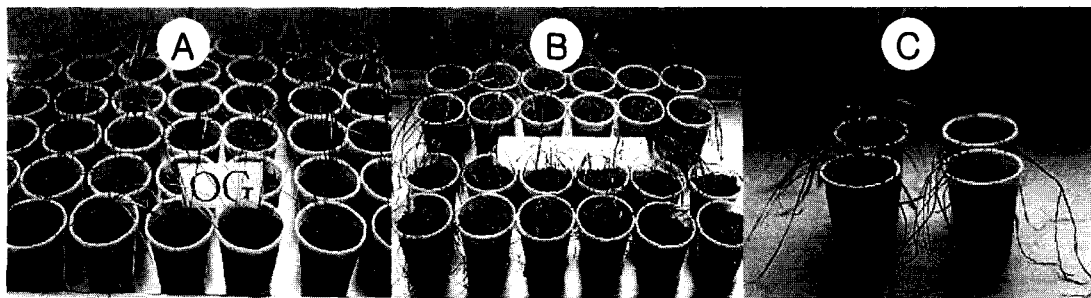


Fig. 1. Determination of killing temperature of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.).

스의 치사온도는 80℃에서 55분 처리하는 것으로 결정되었다(Table 2). 앞으로 내하고성 및 재해저항성 유전자를 도입한 형질전환 오차드그라스가 개발될 경우, 1차적으로 실험실 조건에서 고온내성 정도를 조사할 수가 있으며, 이때 치사온도(80℃에서 55분)보다 조금 약하게 처리하여(80℃에서 45분 또는 50분) 서로 비교할 수 있을 것으로 판단된다.

Fig. 1에서 A는 생장실에서 4주 동안 재배한 상태의 오차드그라스이며, B는 오차드그라스를 80℃에서 5분 간격으로 60분까지 처리 7일 후 생육상태이고, C는 80℃에서 50분 처리 후 7일 된 오차드그라스와 처리하지 않은 오차드그라스를 촬영한 사진이다.

IV. 요약

오차드그라스(*Dactylis glomerata* L.)의 치사온도를 결정하기 위하여, 국내 육성품종인 “장별 102호”(Jangbeol 102) 품종을 시험재료로 하여 종자를 petri dish에서 발아시켜 작은 화분에 10 개체씩 이식, 생장실에서 4주간 재배하였다. 45℃, 50℃ 및 55℃에서 처리한 경우에는 60분간 처리했을 때에도 거의 식물체 손상이 없었다. 60℃에서 30분간 이상 처리했을 때에는 잎 끝이 마르고 약간 시들었으나 식물체의 손상은 약한 편이었으며, 65℃에서 처리한 결과에서도 60℃에서 처리했을 때보다는 좀 더 시들었지만 역시 심한 정도는 아니었다. 70℃에서 30분간 처리했을 때에 오차드그라스는 잎의 중간 정도까지 말랐으며, 60분간 처리했을 때에는 지상부의 잎이 2/3 이상 마른 상태였다. 80℃에서 처리한 결과에서는 처리 후 1일 이내에 50분 이상 처리에서 거의 죽어가는 현상이 나타났다. 처리 후 7일에는 55분 이상의 처리에서만 모두 죽었으며, 50분 이하의 처리에서는 새로운 shoot가 재생됨을 확인하였다. 결론적으로 오차드그라스의 치사온도는 80℃에서 55분 처리하는 것으로 결정되었다.

Key words : 오차드그라스(*Dactylis glomerata* L.), 고온내성, 치사온도, 생육조사

V. 인용문헌

1. Bae, E.K., I.A. Lee, K.Y. Kim, B.H. Lee, D.Y. Son, H.S. Lee, M.S. Chung and J.K. Jo. 2002. Comparison of callus formation ratios from seed explants, callus sizes and regeneration efficiency among several orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) varieties. J. Korean Grassl. Sci. 22(2):93-100.
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. 31:855-893.
3. 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.
4. Hanning, G.E. and B.V. Conger. 1986. Factors influencing somatic embryogenesis from cultured leaf segments of *Dactylis glomerata* L. Plant Physiol. 123:23-29.
5. 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 Rep. 7:371-374.
6. Kim, K.Y., M.S. Chung and J. Jo. 1997. Acquisition of thermotolerance in the transgenic plants with BcHSP17.6 cDNA. J. Korean Grassl. Sci. 17(4):379-386.
7. Kim, K.Y., Y.W. Rim, K.J. Choi, J.S. Shin, J.G. Kim and J. Jo. 1998. Rapid regeneration of plants on N6 medium from orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) calli. J. Korean 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.), J. Korean Grassl. Sci. 20(4):259-264.
9. Lee, H., E.K. Bae, K.Y. Kim, S. Won, M. Chung and J. Jo. 2001. Transformation of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) with glutathione reductase gene. J. Korean Grassl. Sci. 21(1):21-26.
10. Rim, Y.W., G.J. Choi, B.R. Sung, Y.C. Lim, M.J. Kim, G.J. Park, K.Y. Kim, J.W. Chung and N.G. Park. 2003a. Growth characteristics and productivity of new orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) variety “Jangbeol 101”. J. Korean Grassl. Sci. 23(3): 207-210.
11. Rim, Y.W., G.J. Choi, B.R. Sung, Y.C. Lim, M.J. Kim, G.J. Park, K.Y. Kim, J.W. Chung and N.G. Park. 2003b. Growth characteristics and productivity of new orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) variety “Jangbeol 102”. J. Korean Grassl. Sci. 23(3):211-218.
12. 농촌진흥청. 2002년도 동계작물 신품종개발공동 연구 보고서. p. 201-212.