

형질전환 톨 페스큐 개발의 최근 동향

이기원 · 이상훈 · 김경희 · 이병현

Recent advance in genetic transformation of tall fescue

Ki-Won Lee · Sang-Hoon Lee · Kyung-Hee Kim · Byung-Hyun Lee

Received: 27 November 2009 / Accepted: 5 December 2009
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Tall fescue is an open-pollinated, perennial, cool season grass species widely used for forage and turf. Tremendous progress has been made in genetic transformation of tall fescue in the past decade. Methods for generating transgenic tall fescue plants have been developed based on biolistic transformation and *Agrobacterium*-mediated transformation. Potentially useful agronomic genes have been tested to environmental stress tolerance, herbicide tolerance and improve forage quality in tall fescue plants. We review progress in biotechnological improvement of tall fescue and discuss future molecular breeding of this species.

Keywords Tall fescue, genetic transformation, molecular breeding, transgenic plants

서론

톨 페스큐 (*Festuca arundinacea* Schreb.)는 기온이 15~21°C 정도인 아시아 온대지역, 유럽 및 북아메리카 등에서 잘 자라는 다년생의 한지형 화본과 작물로서 절개지, 사방공사, 공원, 골프장 등에 있어서 토양보존용 및 잔디용으로 많이 개발되어 이용되고 있는 초종 중에 하나이다 (Buckner et al. 1979). 톨 페스큐는 척박한 토양, 습지

및 음지에서 잘 성장하며, 다양한 환경 스트레스에도 비교적 잘 적응하여 우리나라에서는 주로 초지조성에 이용되고 있는 주요한 사료작물에 속한다. 그러나 이러한 환경적응성의 우수함에도 불구하고 여름철 기온이 25°C 이상의 고온이 장기간 지속될 때에는 생육이 정지하는 하고현상을 일으켜 사료의 품질저하와 생산성이 감소되는 것으로 알려져 있다 (Fieser and Vanzant 2004). 또한 톨 페스큐는 다른 화본과 사료작물에 비하여 잎이 거칠어서 가축이 즐겨 채식하지 않아 기호성이 낮으며, 특히 출수기 이후에는 사료가치가 급격히 저하되는 등의 단점이 있다 (Fieser and Vanzant 2004). 이러한 단점을 보완하기 위해 전 세계적으로도 선발과 교잡을 통하여 톨 페스큐의 품질을 높이고자 하는 전통적인 육종법에 의한 연구가 활발히 진행되고 있으며 (Sleper 1985; Van Wijk et al. 1993), 지금까지 국내에서는 외국에서 도입한 품종을 이용하고 있었으나, 최근 농촌진흥청 국립축산과학원에서 관행의 전통육종방법을 이용하여 국내 최초로 톨 페스큐 ‘그린마스터’ 신품종을 육성하여 농가 공급을 위한 종자를 증식 중에 있다. 그러나 톨 페스큐와 같은 대부분의 화본과 목초들은 자가불화합성 특성으로 인해 종래의 관행 육종방법을 이용하여 신품종을 개발하는 것은 넓은 공간과 오랜 시간이 소요되어 현실적으로 많은 어려움이 있다.

최근에는 목초 또는 사료작물로의 유용유전자의 도입에 의한 분자육종법을 통한 신품종 개발 연구가 많이 시도되고 있다 (Spangenberg et al. 1998).

따라서 본 논문에서는 전 세계적으로 활발하게 추진되고 있는 대표적인 화본과 목초인 톨 페스큐의 국내외 연구동향, 주요 연구결과 및 향후 전망에 대해 살펴보고자 한다.

K.-W. Lee · K.-H. Kim · B.-H. Lee (✉)
경상대학교 응용생명과학부, 농업생명과학연구원
(Division of Applied Life Science (BK21), Institute of
Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University)
e-mail: hyun@gnu.ac.kr

K.-W. Lee · S.-H. Lee
농촌진흥청 국립축산과학원 초지사료과
(Grassland & Forages Division, National Institute of Animal
Science, RDA)

톨 페스큐 조직배양에 관한 연구 동향

형질전환 기술을 이용한 신품종 톨 페스큐를 개발하기 위해서는 우선 효율적인 조직배양체계가 확립되어 있어야 하며 이는 매우 중요한 핵심기술이다. 식물의 조직배양기술은 우량종묘 생산, 유용물질 생산, 유용유전자 도입을 통한 저항성 및 기능성 신품종 개발 등의 목적으로 널리 이용되고 있다 (Doran 2000). 조직배양 기술에 의한 식물체 재분화 효율은 초종에 따라 큰 차이를 보이며 동일한 초종에서도 품종, 배양 조직, 식물생장조절물질의 종류와 농도, 배양 배지에 첨가되는 물질에 따라 많은 차이가 있다 (Somers et al. 2003; Zhang and Rouf Mian 2003). 지금까지 톨 페스큐의 조직배양에 관한 연구는 성숙배 (Lowe and Conger 1979), 미숙배 (Bai and Qu 2000), 미성숙화서 (Eizanga and Dahleen 1990) 등을 이용한 식물체 재분화에 관한 연구가 보고된 바 있다. 그러나 톨 페스큐는 품종에 따라 캘러스 유도, 증식 및 식물체 재분화 능력에 많은 차이를 보이고 있으며 (Bai and Qu 2000), 특히 식물체 재분화 능력이 있는 배발생 캘러스가 유도되는 효율이 매우 낮기 때문에 실제로 형질전환에 적용하기에는 효율적이지 못한 측면이 있다. 최근 톨 페스큐 조직배양의 방법으로는 성숙종자를 유래의 캘러스를 이용하여 재분화하는 방법이 많이 이루어지고 있다 (Zhang et al. 2006). 또한 국내에서는 김 등 (Kim et al. 2005)에 의해 성장조절물질의 종류와 농도에 따른 톨 페스큐의 캘러스 유도도와 배양효율, 성장조절물질에 따른 식물체의 재분화효율, 품종에 따른 배양효율, 기본배지 및 배지에 첨가되는 탄

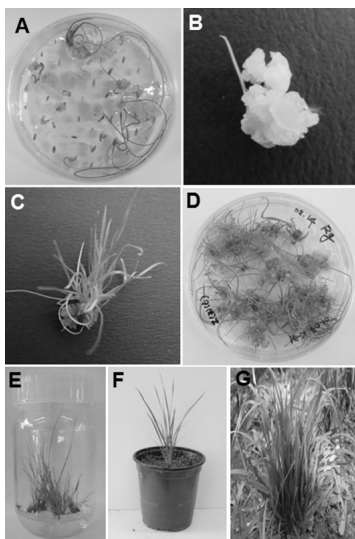


Fig. 1 Plant regeneration from mature seed-derived callus of tall fescue. (A) Calli induced from mature seeds cultured on the callus induction medium. (B) Embryogenic callus formed from a seed. (C) and (D) Plant regeneration from embryogenic calli in the regeneration medium. (E) Plantlets cultured in the rooting medium. (F) and (G) Whole plants grown in pots under green house

소원의 종류에 따른 배양효율 등에 관한 체계적인 연구 결과가 보고된 바 있다 (Fig. 1).

톨 페스큐 형질전환 방법에 관한 연구 동향

지금까지 톨 페스큐의 형질전환을 위해 사용된 방법에는 protoplast를 이용한 유전자의 직접도입법 (Wang et al. 1992; Ha et al. 1992; Dalton et al. 1995; Kuai et al. 1999), 현탁배양 세포로부터 선발한 재분화율이 높은 특이 품종을 선발한 후, 미분화 세포에 bombardment를 이용한 형질전환 (Spangenberg et al. 1995; Cho et al. 2000; Wang et al. 2001; Wang et al. 2003; Chen et al. 2003; Chen et al. 2004; Hu et al. 2005) 등이 보고된 바 있다 (Table 1). 그러나 이러한 형질전환기법은 고가의 장비를 요구하고 특히 식물체의 genome내에 도입유전자가 복수의 copy 수로 삽입되어 내재성 유전자의 불활성화, 도입유전자의 크기에 따른 제한, 염색체의 재배치, 유전성의 복잡성 등으로 인해 널리 보급되고 있지 못한 실정이다.

이에 비해 *Agrobacterium*을 이용한 형질전환 기법은 가장 경제적이며 genome 내에 1~2 copy의 적은 copy 수로 도입되며, 특히 비교적 분자량이 큰 DNA 단편도 안정적으로 도입하는 것이 가능한 매우 효율적인 형질전환 기법 중에 하나로 알려져 있다. 지금까지의 *Agrobacterium*법에 의한 형질전환은 주로 쌍자엽 두과식물에는 많이 이용되어 왔으나, 단자엽 화본과 식물 형질전환에는 낮은 형질전환 효율로 인하여 제한적으로 이용되어 왔다. 하지만 최근 *Agrobacterium*법에 의한 화본과 식물의 형질전환에 대한 보고가 벼, 밀, 보리, 사탕수수 및 수수 등에서도 보고되어 다른 화본과 작물로의 응용범위가 점점 넓어지고 있다. 한편 *Agrobacterium*을 이용한 톨 페스큐의 형질전환은 Lee 등 (Lee et al. 2004)에 의해 최초로 보고되었으며 (Fig. 2), 그 형질전환 프로토콜과 배지조성은 Table 2에 나타난 바와 같다.

그 이후로 지난 몇 년 동안 Table 1에 나타난 바와 같이 다양한 유용 유전자들이 도입된 톨 페스큐 형질전환체가 *Agrobacterium* 형질전환법을 이용하여 개발되었다 (Lee et al. 2004; Dong and Qu 2005; Wang and Ge 2005; Lee et al. 2007; Zhao et al. 2007; Lee et al. 2008; Cao et al. 2009).

톨 페스큐 형질전환식물체 개발에 관한 연구 동향

환경 스트레스 저항성 톨 페스큐

목초나 사료작물들은 초지나 사료포장에 파종되는 순간부터 병충해와 같은 생물적 스트레스뿐만 아니라 건

Table 1 Genetic transformation of tall fescue plants

Transgenes	Method	Outcome	References.
<i>hph, bar</i>	Protoplasts	Transgenic plants	Wang et al. (1992)
<i>hph, gusA</i>	Protoplasts	Transgenic plants	Ha et al. (1992)
<i>hph</i>	Biolistics	Transgenic plants	Spangenberg et al. (1995)
<i>hph</i>	Protoplasts	Transgenic plants	Dalton et al. (1995)
<i>hph, gusA</i>	Protoplasts	Transgenic plants	Kuai et al. (1999)
<i>hph, bar, gusA</i>	Biolistics	Transgenic plants	Cho et al. (2000)
<i>sfa8, hph</i>	Biolistics	Transgenic plants	Wang et al. (2001)
<i>hph, gusA</i>	Biolistics	Transgenic plants	Wang et al. (2003)
<i>CAD, hph</i>	Biolistics	Transgenic plants	Chen et al. (2003)
<i>COMT, hph</i>	Biolistics	Transgenic plants	Chen et al. (2004)
<i>Ipt, bar</i>	Biolistics	Transgenic plants	Hu et al. (2005)
<i>MxPPO</i>	<i>Agrobacterium</i>	Transgenic plants	Lee et al (2008)
<i>DREB1A/CBF3</i>	<i>Agrobacterium</i>	Transgenic plants	Zho et al. (2007)
<i>AtHDG11</i>	<i>Agrobacterium</i>	Transgenic plants	Cao et al. (2009)
<i>CuZnSOD, APX</i>	<i>Agrobacterium</i>	Transgenic plants	Lee et al (2007a)
<i>hph, gusA</i>	<i>Agrobacterium</i>	Transgenic plants	Lee et al. (2004)
<i>hph, gusA</i>	<i>Agrobacterium</i>	Transgenic plants	Dong and Qu (2005)
<i>hph, gusA, gfp</i>	<i>Agrobacterium</i>	Transgenic plants	Wang and Ge (2005)

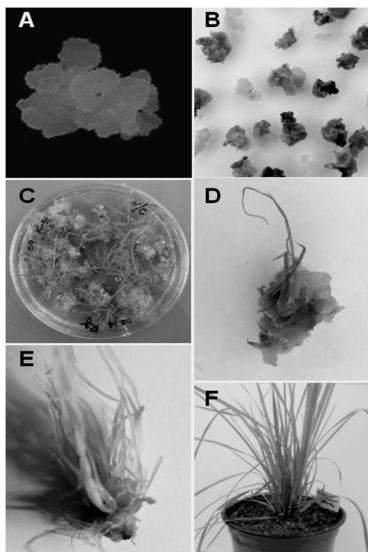


Fig. 2 Tall fescue transformation mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. (A) Mature seed-derived embryogenic callus used for *A. tumefaciens* co-cultivation. (B) GUS staining of hygromycin-resistant calli. (C) Regeneration of hygromycin-resistant tallfescue plantlets on the selection medium. (D) GUS staining of a shoot regenerated from hygromycin-resistant callus. (E) GUS staining of whole plant of transgenic tall fescue. (F) A transgenic plant established in the green house

조, 고온, 저온, 염 및 중금속 등의 물리·화학적 환경스트레스에 직면하게 된다. 이와 같은 각종 스트레스에 노출되면 생체 내에서 필수원소인 산소 (O_2)가 superoxide

radical ($\cdot O_2$), hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radical ($\cdot OH$) 등과 같은 반응성이 높은 독성의 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)으로 변하게 된다 (Foyer et al. 1994; Asada 1999). 이들 ROS는 강력한 산화력을 가지고 있어서 세포막의 파괴, 단백질 분해, DNA 합성 억제, 광합성반응 억제, 엽록체 파괴 등 생체 내에서 심각한 생리적인 장애를 주며 심할 경우는 식물체가 고사하게 된다. 이러한 환경스트레스에 대해 방어하기 위해 superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) 등과 같은 항산화효소와 ascorbate (vitamin C, ascorbic acid), 비타민 E (tocopherol), glutathione 등의 저분자 항산화물질이 식물체내에서 활성산소 제거에 관여한다 (Foyer et al. 1994; Noctor and Foyer 1998). 특히 식물세포에 있어서 엽록체는 고농도의 산소와 광합성 전자전달계가 존재하는 세포내 소기관이기 때문에 외부의 환경스트레스를 받으면 다량의 활성산소가 생성되어 직접적으로 손상을 받아 작물의 생산성 감소를 초래한다. 따라서 복합적인 환경스트레스 하에서도 내성을 가지도록 엽록체의 항산화기구를 효율적으로 제어할 수 있다면 식물의 생산성 향상에 크게 기여할 수 있을 것이다.

최근 목초 및 사료작물에 유용유전자의 도입을 통한 신 품종 개발 연구가 많이 시도되고 있으며 특히, 환경스트레스에 대한 내성을 향상시키기 위한 톨 페스큐의 형질 전환 식물체 개발에 관한 연구가 많이 보고되고 있다. 즉, 건조 스트레스 저항성에 관한 보고 (Zhao et al. 2007),

Table 2 Composition of the media used for tall fescue transformation

Steps	Period	Media
Callus induction	6 weeks	MS medium containing 6 mg/L 2,4-D, 0.1 mg/L BA, 1 g/L casein hydrolysate, 100 mg/L myo-inositol, 500 mg/L L-proline, 30 g/L sucrose, 3 g/L Gelrite.
Co-cultivation	5 days	MS medium containing 100 uM acetosyringone, 5 mg/L AgNO ₃ , 20 mg/L ascorbic acid, 500 mg/L L-proline, 30 g/L sucrose, 2 g/L Gelrite.
Post-culture	1 week	MS medium containing 3 mg/L 2,4-D, 1 mg/L BA, 250 mg/L cefotaxime, 30 g/L sucrose, 500 mg/L L-proline, 5 g/L Gelrite
Selection-I	3 weeks	N6 medium containing 1 mg/L 2,4-D, 3 mg/l BA, 25 mg/L hygromycin, 250 mg/L Cefotaxime, 30 g/L sucrose, 500 mg/L L-proline, 5 g/L Gelrite.
Selection-II	4 weeks	N6 medium containing 1 mg/L 2,4-D, 3 mg/l BA, 50 mg/L hygromycin, 250 mg/L cefotaxime, 30 g/L sucrose, 500 mg/L L-proline, 5 g/L Gelrite.
Rooting	2 weeks	1/2 MS, 30 g/L sucrose, 50 mg/L hygromycin, 2 g/L Gelrite

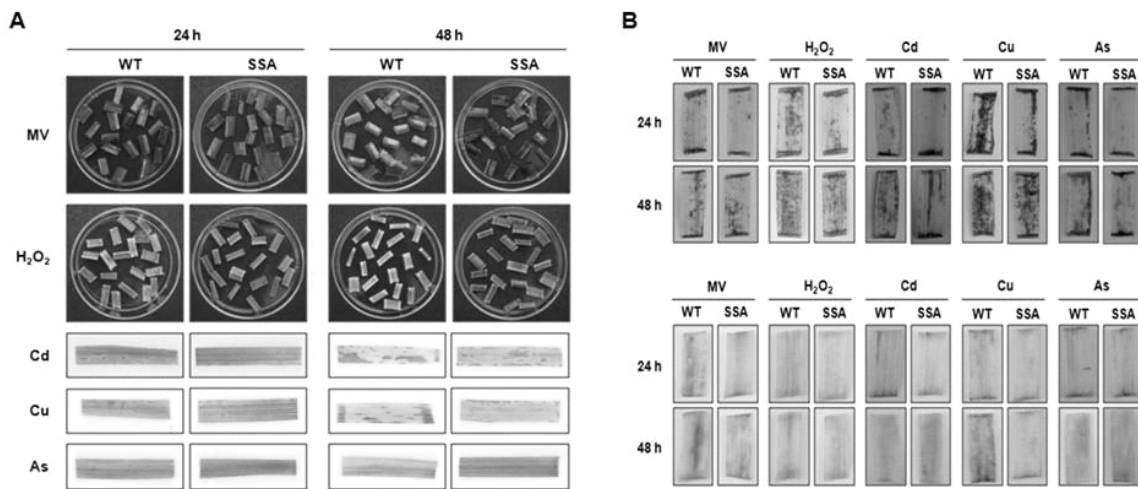


Fig. 3 (A) Visible damage in detached leaves of wild-type and SSA transgenic tall fescue plants (expressing both SOD and APX) exposed to MV, H₂O₂, and heavy metals for 24 h or 48 h. (B) Histochemical detection of H₂O₂ and O₂ in detached leaves of wild-type and SSA plants exposed to MV, H₂O₂, and heavy metals for 24 h or 48 h

건조와 염의 복합스트레스 저항성에 관한 보고 (Cao et al. 2009) 및 기타 다양한 중금속 스트레스 저항성 (Lee et al. 2007a; Lee et al. 2007b) (Fig. 3)에 대해 많이 보고되고 있다.

제조제 저항성 톨 페스큐

톨 페스큐는 점점 아열대 기후로 변해가고 있는 우리나라의 기후조건에 있어서 재배하기에 가장 알맞은 목초 품종 중에 하나이다. 그러나 초지 조성 시 잡초 종자의 혼입으로 인한 잡초발생은 초지에서의 목초의 초기생장과 정착을 방해하고 전 생육기간에 걸쳐 생육을 방해함으로써 초지의 생산성을 급격히 떨어뜨릴 뿐 아니라, 수확 후의 조사료의 품질을 현격히 떨어뜨리는 요인으로 작용한다. 특히 종자로의 잡초종자 혼입은 종자의 판매나 수출 또한 불가능하게 하는 요인으로 작용한다. 더욱이 잔디 식재지에서의 잡초의 혼입은 잔디면의 불균일성

과 품질저하의 직접적인 요인이 되고 있다. 이러한 잡초들을 제거하기 위한 비용은 광활한 면적에 재배되는 톨 페스큐와 같은 목초 또는 잔디용 작물의 경우 더욱 막대한 비용이 소요된다. 지금까지 목초지에 있어서 잡초방제는 잡초로 오염된 초지의 표토를 깊이 경운하여 초지를 갱신하거나, 인력에 의한 잡초제거가 주를 이루고 있으나 이러한 방법은 막대한 비용과 시간을 요하는 비효율적인 방법이다. 따라서 가장 효율적인 잡초방제 방법은 제조제에 대해서 저항성을 가지는 목초를 개발하여 재배하면서 비선택성 제조제를 이용하는 것이다. 그러나 지금까지의 관행 육종법으로는 제조제 저항성 신품종 개발에 관한 접근은 불가능하다. 이와 같은 기존의 관행육종의 한계를 극복하기 위한 유일한 대안으로서 최근 급속히 발달하고 있는 분자수준의 생명공학기술을 식물육종에 접목하여 응용하는 것이 필수적이라 하겠다. 따라서 유전자 형질전환기술을 이용한 제조제 저항성 톨 페스큐 신품종을 개발하게 되면 효율적인 잡초방제가 가능

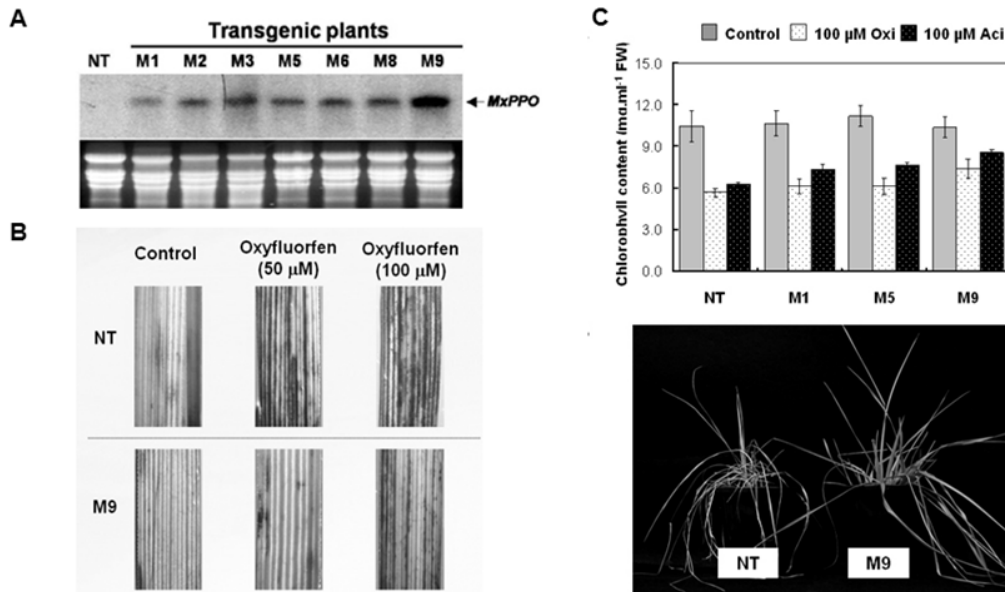


Fig. 4 Herbicide resistant transgenic tall fescue plants. (A) Northern analysis of *MxPPO* in non-transformant (NT) and transgenic tall fescue plants expressing a *MxPPO* gene. (B) Effect of herbicide (oxyfluorfen and acifluorfen) treatments on *in vivo* H₂O₂ production. (C) Effect of herbicide (oxyfluorfen and acifluorfen) treatments on chlorophyll content and Comparison of the phenotype of oxyfluorfen-treated transgenic plant and non-transgenic plant

한 목초 및 잔디종자를 생산할 수 있음으로 해서 국내의 부족한 조사료자원의 자급을 향상 및 우수 잔디식재지 조성을 위한 우량 잔디 종자생산에 활용될 수 있을 것이다.

톨 페스큐에 있어서 제초제 저항성 식물체 개발에 관한 보고는 거의 없는 실정이다. 최초의 보고는 protoplast를 이용한 marker 유전자로 알려진 *bar* 유전자를 이용한 제초제 저항성 보고가 최초이다 (Kuai et al. 1999). 그 이후로 본 실험실에서 *Agrobacterium*을 이용한 형질전환기법으로 *Myxococcus xanthus*에서 분리한 diphenyl-ethers계 제초제 저항성 유전자인 *protoporphyrinogen oxidase* (PPO)가 도입된 형질전환 톨 페스큐를 개발하였으며, 개발된 형질전환체는 PPO에 대해 높은 제초제 저항성을 나타내었다 (Lee et al. 2008; Fig. 4).

또한, 더욱 효율적인 잡초방제를 위해 이용하고자 현재 포장에서 가장 많이 이용되고 있는 비선택성 제초제인 근사미 (Glyphosate)와 Basta (glufosinate)에 대해 동시에 저항성을 가지는 형질전환체를 개발하고자, glyphosate 저항성 유전자인 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS)와 Basta® 저항성 유전자인 *bar* 유전자가 동시에 도입된 벡터를 구축한 후, 톨 페스큐에 도입한 결과 두 가지 제초제를 동시에 처리했을 때에도 높은 저항성을 나타내었다 (김 등. 2008; Fig. 5).

소화율을 높인 형질전환 톨 페스큐

지금까지 목초와 사료작물에 있어서 사료품질을 개선

시키기 위한 연구는 자연 돌연변이체를 이용한 전통적인 육종방법에 의해 진행되어져 왔다. 현재는 생명공학 기술의 발달로 인해 목초의 품질개선에 관한 새로운 육종방법이 가능하게 되었다. 즉 조사료 품질에 있어서 가장 큰 제한인자인 낮은 소화율의 요인인 식물세포벽의 lignin 성분을 감소시키기 위하여 lignin 생합성에 관여하는 유전자의 발현을 down-regulation시킴으로서 목초의 사료가치를 개선시키는 것이다. 이러한 접근법은 제지산업 분야에서 일찍이 펄프의 수율을 높이기 위해 사용되었었으며, 목본류에서는 상당한 성공사례가 보고된 바 있다.

가축들 중에서 초식동물, 특히 반추위를 가지는 소와 같은 반추동물들에 있어서 목초나 사료작물의 반추위 내에서의 건물소화율은 식물체의 노화 및 숙기가 진행됨에 따라 10% 이상 감소한다 (Stone 1994). 이러한 건물소화율의 저하는 여름철 목초의 사료 영양적 가치를 현저히 저하시키는 주된 요인이 되고 있다. 지금까지 목초 및 사료작물의 건물소화율을 증가시켜 영양가치를 향상시키기 위한 연구가 한우 및 낙농산업에 있어서 가장 중요한 육종목표 중의 하나로 추진되어 왔다 (Smith et al. 1997). 그러나 목초의 건물소화율에 관여하는 유전자들의 유전력이 낮을 뿐만 아니라, 많은 수의 유전자가 관여하고 있음으로 인해 교잡에 의한 전통적인 육종방법으로는 개량하는데 장기간이 소요되어져 왔다 (Baucher et al. 1998).

목초에 있어서 숙기가 진행됨에 따라 소화율을 저하시키는 가장 주된 요인 중의 하나는 목초의 생육과정에 있어서 숙기가 진행되는 동안 세포벽 lignin 함량이 증가됨으로 인한 목질화 (lignification) 때문으로 알려져 있다 (Buxton

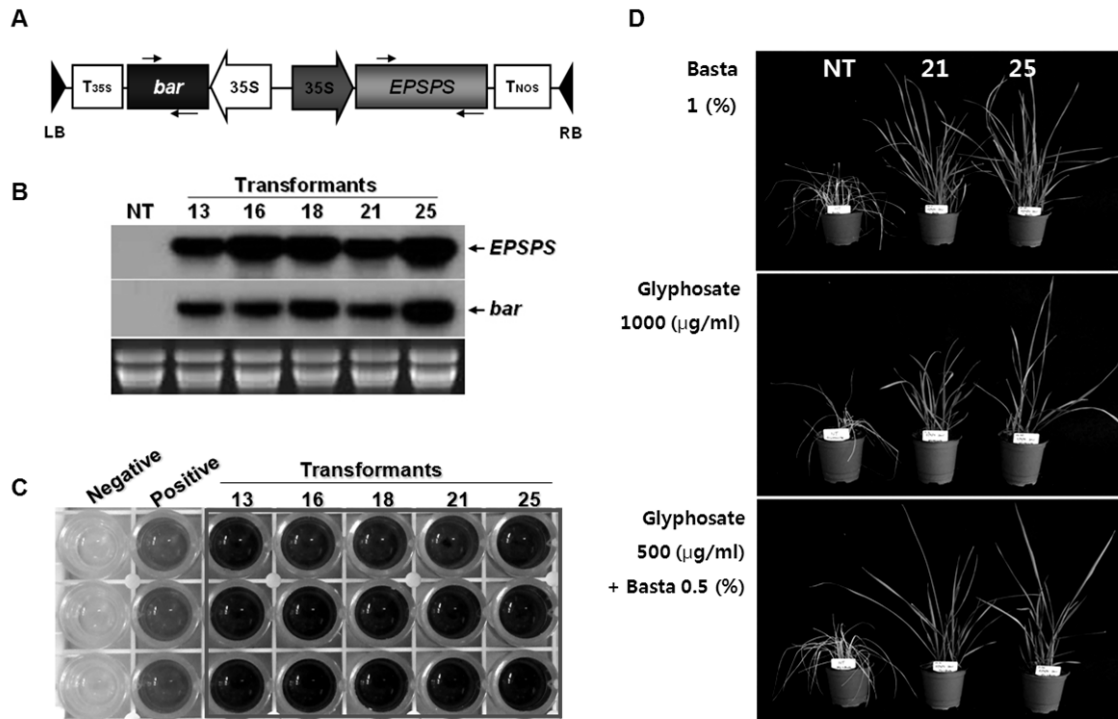


Fig. 5 Generation of dual herbicides-resistant transgenic tall fescue plants. (A) T-DNA region of two herbicides expression vector. (B) Northern analysis of non-transgenic (NT) and transgenic tall fescue plants expressing EPSPS and *bar* genes. (C) ELISA analysis of EPSPS using transgenic tall fescue plants. (D) Phenotype comparison of non-transgenic plant (NT) and transgenic plants with 10 days after spraying herbicides treatments

et al. 1988). 식물 세포벽의 목질화 반응은 lignin과 lignin 전구체인 monolignols의 생합성 과정의 복잡한 대사경로를 통하여 조절 합성되며 (Dixon et al. 1996), 아직도 그 경로가 완전히 밝혀지지 않은 상태이다. 지금까지 밝혀진 바에 의하면 식물에 있어서 lignin은 coniferyl alcohol에서 유래한 guaiacyl lignin (G-unit), sinapyl alcohol에서 유래한 syringyl lignin (S-unit), 및 p-coumaryl alcohol로부터 유래된 p-hydroxyphenyl lignin (H-unit)으로 구성되어 있다. 식물의 세포벽 구성 성분 중 조섬유 성분은 직접 분해하지 못하고 반추위 내의 미생물에 의해 분해되어져 부분적으로 소화가 가능하다. 그러나 lignin 성분은 소화가 전혀 불가능할 뿐만 아니라, 단백질, cellulose, hemicellulose등의 세포벽 성분들의 소화작용을 방해한다. 따라서 lignin 함량이 많은 목초는 소화율을 감소시키고, 건물섭취량을 감소시킴으로서 결과적으로 가축의 생산성을 감소시키는 결과를 초래한다. 그러므로 목초의 lignin 함량을 저하시키면 소화율을 향상시킬 수 있을 것이다. 최근 lignin 생합성에 관여하는 유전자들 중 caffeic acid 3-O-methyltransferase (COMT) 유전자 (Chen et al. 2004)와 cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD) 유전자 (Chen et al. 2003)를 RNAi로 down regulation 시킨 형질전환 톨 페스큐가 개발된 바 있으며, 이들의 실용적 활용 가능성을 제시한 바 있다.

결론

지금까지 유전자 변형 농산물의 안전성에 대한 국제적 논란이 제기되고 있음에도 불구하고 유전자 변형 작물의 재배면적은 점차 확대되고 있는 추세이다. 이와 더불어 유전자원의 독점화 및 유전자원 확보의 국가 간 경쟁이 치열해지고 있는 상황 하에서 우리나라도 지적 재산권 확보의 강화와 미래 식량안보차원에서 축산선진국에 대한 비교우위를 확보하기 위한 미래기술 개발이 시급하다. 최근에는 축산선진국을 중심으로 분자육종법에 의한 목초 및 사료작물의 신품종 개발이 활발하게 진행되고 있으며, 그 결과 알팔파 (Week et al. 2008; Montague et al. 2007), 화이트 클로버 (Voisey et al. 1994; Schmidt et al. 2004), 톨 페스큐, 페레니얼 라이그라스 (Sato and Takamizo. 2006; Hisano et al. 2005) 등의 형질전환에 의한 신품종 개발에 관한 많은 연구 결과가 보고되고 있다. 따라서 국내에서도 최근 확립된 여러 가지 분자육종 원천기술을 바탕으로 우리나라에서 많이 재배되고 있는 사료작물에 적용시켜 양질의 사료작물 개발 연구를 시급히 수행하여야 할 것이다. 나아가 최근 본격적으로 시작된 축산선진국들의 목초와 사료작물을 대상으로 하는 게놈 프로젝트를 비롯한 사료작물분야의 분자육종연구에 대비한 국제경쟁력을 가지기 위해서도 이러한 시도는 더욱 중요하며,

국내 자급조사료 생산기반을 확립을 위해서도 필수적인 연구 분야라 할 수 있겠다.

사 사

본 연구는 노촌진흥청 바이오그린21 사업의 연구비 지원 (과제번호: 20070301034015) 및 KRIBB 주요사업의 연구비 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- 김진석, 최정섭, 이병현, 이기원, 이상훈 (2008) 두 가지 제초제에 대하여 저항성을 가지는 항생제 마커프리 형질전환 페스트카속 식물체. 특허출원. 10-2008-0100802
- Asada K (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 50:601-639
- Bai Y and Qu R (2000) An evaluation on callus induction and plant regeneration of 25 turf-type tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) cultivars. *Grass Forage Sci* 55: 326-330
- Buckner RC, Powell JB, Frakes RV (1979) Historical development. In: Buckner RC and Bush LP (eds), *Tall Fescue*. *Agronomy* 20, Am Soc of Agronomy, Madison pp 1-8.
- Baucher M, Bernard VMA, Chavert B, Besle JM, Opsomer C, Van Montagu M, Botterman J (1998) Down-regulation of cinnamyl alcohol dehydrogenase in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.) and the effect on lignin composition and digestibility. *Plant Molecular Biology.* 39:437-447
- Buxton DR and Russell JR (1988) Lignin constituents and cell-wall digestibility of grass and legume stems. *Crop Science.* 28:553-558
- Cao Y-J, Wei Q, Liao Y, Song H-L, Li X, Xiang C-B, Kuai B-K (2009) Ectopic overexpression of *AtHDG11* in tall fescue resulted in enhanced tolerance to drought and salt stress. *Plant Cell Rep* 28:579-588
- Chen L, Auh C, Dowling P, Bell J, Chen F, Hopkins A, Dixon RA, Wang Z-Y (2003) Improved forage digestibility of tall fescue (*Festuca arundinacea*) by transgenic down-regulation of cinnamyl alcohol dehydrogenase. *Plant Biotechnol J* 1:437-449
- Chen L, Auh C, Dowling P, Bell J, Lehmann D, Wang Z-Y (2004) Transgenic down-regulation of caffeic acid O-methyltransferase (COMT) led to improved digestibility in tall fescue (*Festuca arundinacea*). *Funct Plant Biol* 31:235-245
- Cho MJ, Ha CD, Lemaux PG (2000) Production of transgenic tall fescue and red fescue plants by particle bombardment of mature seed-derived highly regenerative tissues. *Plant Cell Rep* 19:1084-1089
- Dalton SJ, Bettany AJE, Timms E, Morris P (1995) The effect of selection pressure on transformation frequency and copy number in transgenic plants of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Plant Sci.* 108:63-70
- Dixon RA, Lamb CJ, Masoud S, Sewalt VJH, Paiva NL (1996) Metabolic engineering-prospects for crop improvement through the genetic manipulation of phenylpropanoid biosynthesis and defense responses-a review. *Gene* 179:61-71
- Dong S and Qu R (2005) High efficiency transformation of tall fescue with *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Sci* 168: 1453-1458
- Doran PM (2000) Foreign protein production in plant tissue cultures. *Current Opinion in Biotech.* 11:199-204
- Eizanga GC and Dahleen LS (1990) Callus production, regeneration and evaluation of plants from cultured inflorescences of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Plant Cell Tiss Org Cult* 22:7-15
- Fieser BG, Vanzant ES (2004) Interactions between supplement energy source and tall fescue hay maturity on forage utilization by beef steers. *J Animal Sci* 82:307-318
- Foyer CH, Descourviere P, Kunert KJ. (1994) Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environ.* 17:507-523
- Ha SB, Wu FS, Thorne TK (1992) Transgenic turf-type tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) plants regenerated from protoplasts. *Plant Cell Rep* 11:601-604
- Hisano HA, Kanazawa A, Kawakami M, Yoshida Y, Shimamoto, Yamada T (2004) Transgenic perennial ryegrass plants expressing wheat fructosyltransferase genes accumulate increased amounts of fructan and acquire increased tolerance on a cellular level to freezing. *Plant Sci.* 167:861-868
- Hu Y, Jia W, Wang J, Zhang Y, Yang L, Lin Z (2005) Transgenic tall fescue containing the *Agrobacterium tumefaciens* ipt gene shows enhanced cold tolerance. *Plant Cell Rep* 23:705-709
- Jeong JJ and Han S-S (2000) Molecular Breeding of Herbicide Resistance in Higher Plants. *J Kor Weed Sci* 20(3):159-173
- Kim D-H, Lee D-G, Lee S-H, Woo H-S, Lee K-W, Choi M-S, Lee B-H (2005) Efficient Callus Culture and Plant Regeneration from Mature Seed of Tall Fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Korean J Plant Biotechnol.* 32(3):187-193
- Kuai B, Dalton SJ, Bettany AJE, Morris P (1999) Regeneration of fertile transgenic tall fescue plants with a stable highly expressed foreign gene. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 58:149-154
- Lee K-W, Ahsan N, Lee S-H, Lee D-G, Kim K-H, Alam I, Kwon S-Y, Kim J-S, Back K, Lee SS, Lee B-H (2008) Responses of *MxPPO* overexpressing transgenic tall fescue plants to two diphenyl-ether herbicides, oxyfluorfen and acifluorfen. *Acta Physiol Plant* (2008) 30:745-754
- Lee S-H, Lee D-G, Woo H-S, Lee B-H (2004) Development of transgenic tall fescue plants from mature seed-derived callus via *Agrobacterium*-mediated transformation. *Asian Aust J Anim Sci.* 17:1390-1394
- Lee S-H, Ahsan N, Lee K-W, Kim D-H, Lee D-G, Kwak SS, Kwon S-Y, Kim TH, Lee B-H (2007a) Simultaneous overexpression of both CuZn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in transgenic tall fescue plants confers increased tolerance to a wide range of abiotic stresses. *J Plant Physiol.* 164:1626-1638
- Lee S-H, Lee K-W, Kim K-Y, Choi GJ, Seo S, Kwak SS, Kwon

- S-Y, Yun D-J, Lee B-H (2007b) Characterization of transgenic tall fescue plants expressing two antioxidant genes in response to environmental stresses. *J Korean Grassl Sci.* 27(2): 109-116
- Lowe KW, Conger BV (1979) Root and shoot formation from callus cultures of tall fescue. *Crop Sci* 19:397-400
- Montague, A., A. Ziauddin, R. Lee, W.M. Ainley and J. Strommer (2007) High-efficiency phosphinothricin-based selection for alfalfa. *transformation. Plant Cell Tiss Organ Cult.* 91:29-36
- Noctor G and Foyer CH (1998) Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 49:249-279
- Sato H and Takamizo T (2006) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of forage-type perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Grassland Sci.* 52:95-98
- Schmidt MA, Martin GS, Artelt BJ, Parrott WA (2004) Increased transgene expression by breeding and selection in white clover. *Crop Sci.* 44:963-967
- Sleper DA (1985) Breeding tall fescue. *J Plant Breeding Rev* 3: 313-342
- Smith KF, Reed KFM, Foot JZ (1997) An assessment of the relative importance of specific traits for the genetic improvement of nutritive value in dairy pasture. *Grass Forage Sci.* 52: 167-175
- Somers DA, Samac DA, Olhoft PM (2003) Recent advances in legume transformation. *Plant Physiol.* 131:892-899
- Spangenberg G, Wang ZY, Potrykus (1998) Biotechnology in forage and turf grass improvement. In: Frankel et al (eds), *Monographs on theoretical and applied genetics*, Vol. 23, Springer Verlag, Heidelberg, pp 192-210
- Spangenberg G, Wang Z-Y, Wu XL, Nagel J, Iglesias VA, Potrykus I (1995) Transgenic tall fescue (*Festuca arundinacea*) and red fescue (*F. rubra*) plants from microprojectile bombardment of embryogenic suspension cells. *J. Plant Physiol* 145:693-701
- Stone BA (1994). Prospects for improving the nutritive value of temperate, perennial pasture grasses. *New Zealand J. Agric. Res.* 37:349-363
- Van Wijk AJP, Boonman JG, Rumball W (1993) Achievements and perspectives in the breeding of forage grasses and legumes. In: Baker MJ (ed), *Grasslands for our world*, SIR, Wellington, pp 116-120
- Voisey CR, White DWR, Dudas B, Appleby RD, Ealing PM, Scott AG (1994) *Agrobacterium*-mediated transformation of white clover using direct shoot organogenesis. *Plant Cell Rep.* 13: 309-314
- Wang Z-Y, Takamizo T, Iglesias VA, Osusky M, Nagel J, Potrykus I, Spangenberg G (1992) Transgenic plants of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) obtained by direct gene transfer to protoplasts. *Bio/Technology* 10:691-696
- Wang Z-Y, Ye XD, Nagel J, Potrykus I, Spangenberg G (2001) Expression of a sulphur-rich sunflower albumin gene in transgenic tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) plants. *Plant Cell Rep* 20:213-219
- Wang Z-Y, Bell J, Ge YX, Lehmann D (2003) Inheritance of transgenes in transgenic tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *In Vitro Cell Dev Biol Plant.* 39:277-282
- Wang Z-Y, and Ge Y (2005) *Agrobacterium*-mediated high efficiency transformation of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *J Plant Physiol* 162:103-113
- Weeks JT, Ye J, Rommens CM (2008) Development of an *in planta* method for transformation of alfalfa. *Transgenic Res.* 17:587-597
- Zhao J, Ren W, Zhi D, Wang L, Guangmin X (2007) Arabidopsis *DREB1A/CBF3* bestowed transgenic tall fescue increased tolerance to drought stress. *Plant Cell Rep* 26:1521-1528
- Zhang Y and Rouf Mian MA (2003) Functional genomics in forage and turf-present status and future prospects. *African J of Biotech.* 12:521-527
- Zhang W-J, Dong J-L, Liang B-G, Jin Y-S, Wang T (2006) Highly efficient embryogenesis and plant regeneration of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) from mature seed-derived calli. *In Vitro Cell Dev Biol Plant.* 42:114-118