

11. Effects of Mycorrhizal Inoculation on Plant Growth and N Metabolites in relation to drought-stress tolerance

Mycorrhiza 접종이 가뭄 스트레스하의 식물성장과 질소 대사산물에 미치는 영향

이복례^o · 정우진 · 김대현 · 김태환

전남대학교 농업생명과학대학 동물자원학부

페레니얼 라이그라스의 가뭄스트레스 저항성과 관련하여 균근균(mycorrhiza) 접종이 작물생장 및 질소대사 산물에 미치는 영향을 조사하였다. 균근균 접종에 의한 잎의 수분퍼텐셜, 건물량 및 인의 함량의 유의적인 증가가 인정되었다. 가뭄 스트레스 상태에서 뿌리의 질산염 농도는 증가하였으며, 균근균 비접종구가 접종구에 비하여 현저하였다. 잎의 수용성 단백질 함량은 가뭄 스트레스 하에서 균근균 비접종구가 접종구에 비해 현저히 감소하였다. 전 실험기간 동안 가뭄 스트레스 처리구의 암모니아와 proline의 농도는 현저히 증가하였으며, 균근균 접종구에서는 증가가 현저히 완화되었다. 가뭄 스트레스 하에서 잎의 건물량 감소는 암모니아($p < 0.01$)와 proline($p < 0.001$) 농도의 증가와 부의 유의적인 상관성을 보였다. 이상의 결과로 볼 때, 균근균의 접종 효과는 가뭄 스트레스 하에서 작물의 성장 억제를 완화시켰으며, 인의 함량과 질소의 동화 작용을 증가 시켰다.

Key words : Perennial ryegrass, Drought, Mycorrhizal inoculation, N metabolites

12. Isolation and characterization of heat shock genes in orchardgrass(*Dactylis glomerata* L.)

Joon-Yung Cha · Young Jin Choi · Ying Shi Liang · Sun Gil Kim and Daeyoung Son
Plant Molecular Biology and Biotechnology Research Center (PMBBRC) and Department of Molecular Biology, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Heat stress causing dramatic changes in key metabolic and developmental processes leading to injury or cell death is harmful for the temperate grasses. In response to heat stress, the transcription of heat shock (HS) genes is activated and transcribed HS mRNAs are immediately translated into heat-shock proteins (HSPs). HSPs are highly conserved in a broad range of living organisms including animal, bacteria, and plants, and are known to function as molecular chaperones sharing the property of binding with

other proteins. Therefore HSPs are believed to act in preventing irreversible protein denaturation and confer the thermotolerance.

The aim of the present work is to produce transgenic orchardgrass with thermotolerance. As a first step, we isolated several genes using mRNA differential display. Two weeks old orchardgrass grown in liquid MS medium under constant shaking at 25°C was treated various range (25, 30, 35, 40, 45 and 50°C) of heat stress to induce heat shock genes. We obtained 16 partial cDNA clones showing increased transcription level at 35 and 40°C treatment, and four(*DgHS5-14*, *DgHS13-3*, *DgHS13-4*, and *DgHS14-7*) of them were screened from cDNA library. By the results of BLAST database search, *DgHS5-14* shares 89% nucleotide sequence homology with *TaHSP101C*. *DgHS13-3* and *DgHS14-7* are homologs of *Brassica napus* p23 and *Pennisetum glaucum* HSP17.9, respectively. Here we will present the molecular characterization of four genes that involved in the thermotolerance.

13. 조숙 내한성 이탈리아 라이그라스 합성계통의 생육특성과 수량성

최기준* · 임용우 · 임영철 · 김기용 · 성병렬 · 김맹중 · 박근제 · 김상록

축산기술연구소

본 연구는 중북부지역의 답리작에 적응성이 높은 숙기가 빠르고 내한성이 강한 이탈리아 라이그라스 신품종을 육성하기 위하여 실시하였다. 2000년 기존 육성된 조생종 이탈리아 라이그라스를 주간 -1~+1°C, 야간 -10~12°C로 15일간 냉동처리 후 온실에서 재생시켜 생존계통을 선발하고 조숙 내한성 계통을 조성하였다. 2001년 조숙 내한성 계통들 중에서 생육특성이 우수하고 숙기가 유사한 5개의 영양계통으로 교배조합을 작성하고 삼각 polycross법으로 종자를 합성하여 5개의 합성계통(내한 15, 16, 17, 18, 19호)을 육성하였다. 2002년 화산 101호 등 13개 품종 및 계통을 공시하여 실내조건과 경기 연천에서 포장조건(고휴재배)으로 내한성 검정을 실시하였으며, 수원과 연천에서 생육특성 및 수량성을 검정하였다.

생육특성에서 출수기는 조생종인 Florida 80 4월 29일보다 내한 15호는 1일 빨랐고 내한 16, 17, 18호는 1~2일 늦은 조생종이었으며 내한 19호는 7일 정도 늦은 중생종이었다. 내한성 검정에 있어서 실내검정에서의 생존율은 화산 101호 품종이 5%, Florida 80 품종이 6.5%에 비해 내한 18호와 19호가 각각 11.3, 12.5%로 높았다. 포장검정(고휴재배)에서 월동율은 화산 101호와 Florida 80이 26.7%인 반면 내한 15, 16, 17, 18, 19호는 각각 60.0, 65.7, 75.2, 39.0, 92.4%로 월등히 높았다. 또한 생산력

검정시험 포장에서 월동율은 수원지역에서는 품종 및 계통간에 뚜렷한 차이가 없었으나, 연천지역에서는 화산 101호가 83%, Florida 80는 80%에 비해 내한 15, 16, 17, 18, 19호는 각각 94, 93, 94, 98, 96%로 높은 월동율을 보였다. 생산력에 있어서 1차 생육의 건물수량은 수원에서는 Florida 80 품종 7.9톤/ha에 비하여 내한 15, 16, 17, 18, 19호는 1~13% 증수하였고, 연천에서는 Florida 80품종 8.7톤/ha에 비하여 16~38% 증수하였다.

14. 내재해성 유전자 도입한 알팔파의 온실 순화재배 및 생육조사

김기용[○] · 성병렬 · 임영철 · 최기준 · 임용우 · 강경민 · 박근제 · 조진기*

축산기술연구소, 경북대학교*

내재해성 유전자인 *BcHSP17.6* 유전자를 알팔파 (*Medicago sativa* L. cv. Vernal)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 알팔파에 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 SH-nk-c 배지 (SH 배지에 NAA 4.7 mg/l, kinetin 2.2 mg/l, cefotaxim 500 mg/l 첨가)에서 28~30일 배양, SH-11b-c 배지 (SH 배지에 2,4-D 11.1 mg/l, kinetin 1.1 mg/l, cefotaxim 500 mg/l 첨가)에서 3~5일 배양, SH-sp-c 배지 (SH 배지에 (NH₄)₂SO₄ 1.6g/l, proline 5.75g/l, cefotaxim 500 mg/l 첨가)에서 21~25일 배양, SH-IBA 배지 (SH 배지에 IBA 1 mg/l 첨가)에서 약 1개월간 배양하여 완전한 식물체로 재분화를 완성하였다.

재분화된 알팔파의 genomic DNA를 분리한 후, PCR 분석 및 Southern blot 분석을 실시하였을 때, 도입한 유전자의 크기에 해당하는 band를 확인함으로써 알팔파의 형질전환을 확인하였다. 뿌리가 유도된 형질전환체는 모래에 옮겨 심어 빛, 온도, 습도가 조절되는 생장실에서 1개월 이상 배양하며 충분한 뿌리를 유도하였고, 다시 흙이 담긴 화분에 옮겨 심어 온실에서 2개월 이상 순화재배 과정을 거쳤다. 형질전환 알팔파는 형태적으로 정상이었으나, 생육속도가 대조구에 비해 느리게 나타났다.

Key words : 알팔파 (*Medicago sativa* L.), 형질전환 식물체, Southern blot 분석, 생육조사