

04-1-29

**Agrobacterium을 이용한 제초제 저항성 Italian ryegrass의 개발**이기원, 이상훈, 이동기, 김진석<sup>1</sup>, 이병현\*경상대학교 농업생명과학대학 동물자원과학부, <sup>1</sup>한국화학연구원**목 적**

남부지방에서 가장 널리 재배되고 있는 중요한 사료작물 중의 하나인 Italian ryegrass에 제초제 저항성 유전자 도입을 위한 종자 유래 callus에 *Agrobacterium* 형질전환법을 이용한 고효율 형질전환시스템을 확립하였다. 이 시스템을 바탕으로 제초제 저항성 유전자 EPSPS를 도입하여 친환경 잡초방제를 통하여 생산성을 극대화하고 최종적으로 사료작물 자급을 증진 및 친환경농업을 구현하고자 한다.

**재료 및 방법**1. 재료: Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) cv. Jeanne.

2. 방법

- 발현벡터: EPSPS가 도입된 *Agrobacterium* EHA105
- 형질전환: 종자로부터 유도한 callus를 *Agrobacterium* 배양액과 현탁한 후 200  $\mu$ M acetosyringone이 첨가된 배지에서 5일간 공동배양 하였다.
- 형질전환체 선발 및 재분화: 감염시킨 callus를 50 mg/L hygromycin과 250 mg/L cefotaxime이 첨가된 재분화배지에 계대배양하여 여분의 *Agrobacterium* 제거한 후, 50 mg/L hygromycin이 첨가된 재분화배지에서 6주간 선발한 후 rooting 배지에 옮겨 형질전환 식물체를 선발하였다.

**결과 및 고찰**

Italian ryegrass의 성숙종자로부터 재분화능이 우수한 캘러스 유도 및 식물체로의 재분화 최적 조건을 바탕으로 *Agrobacterium* 이용한 고효율 형질전환 시스템을 확립하였다. 분자육종 기법을 통한 신품종 형질전환 Italian ryegrass를 생산할 수 있는 기반으로 단자엽 식물에서 발견되는 ubiquitin promoter와 제초제 저항성 유전자인 EPSPS로 구축된 발현벡터를 *Agrobacterium* EHA105를 사용하여 종자유래 캘러스에 감염시켜 형질전환 시켰다. 형질전환개체를 선발하기 위해 hygromycin 50 mg/L이 첨가된 N6 배지에 1 mg/L 2,4-D, 5 mg/L BAP을 첨가하여 6주간 배양한 후 hygromycin 내성을 가진 재분화 개체를 분리하여 hygromycin 50 mg/L 첨가된 1/2 MS 배지로 옮겨 뿌리의 발육과 정상적인 식물체로의 생육을 유도하였다. 그 후 토양으로 이식하여 순화시킨 다음 선발된 형질전환개체로부터 genomic DNA를 분리하여 PCR 분석을 통하여 EPSPS 유전자의 도입을 확인하였다. 현재 형질전환 된 개체는 포장재배를 통해 제초제 저항성을 가지는지 여부를 검토 중에 있으며, 형질전환 효율을 증진시키는 방안에 대해 지속적인 연구를 수행 중에 있다.

\*연락처: 이병현, 전화 055-751-5418, E-mail: hyun@nongae.gsnu.ac.kr