



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)



碩士學位論文

제초제 저항성 GM 들잔디(*Zoysia japonica* Steud.)의  
화분에 의한 유전자 이동성 평가

Assessment of pollen-mediated gene flow from  
a genetically modified herbicide-resistant  
zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.)

濟州大學校 大學院

生命工學科

丁 鈺 哲

2012年 2月



Abstract.....3

서론.....4

## 제 1 장. 화분 생존능력 및 방출 특성 조사

### I. 재료 및 방법

1. 식물재료.....8

2. 화분 생존능력 조사.....8

3. 화분의 비산 밀도 조사.....10

4. 방출패턴 및 생존능력 조사.....11

5. 화분 생존능력과 임실율의 상관관계.....11

### II. 결과 및 고찰

1. 화분 생존능력 조사.....12

    가. 온도 및 습도 변화에 따른 화분 생존능력 조사

    나. 맑은 조건 및 흐린 조건에서의 화분 생존능력 조사

2. 화분의 비산 밀도 조사.....15

    가. 높이에 따른 화분의 비산 밀도 조사

    나. 거리에 따른 화분의 비산 밀도 조사

3. 화분의 방출패턴 및 생존능력 조사.....18

    가. 하루 주기의 방출패턴 분석

    나. 하루 주기의 생존능력 분석

4. 화분 생존능력과 임실율의 상관관계.....20

## 제 2 장. 화분에 의한 유전자 이동성 조사

### I. 재료 및 방법

1. 식물재료.....22
2. 유전자 이동성 평가를 위한 실험 설계.....22

### II. 결과 및 고찰

1. 설계 모형을 통한 유전자 이동 빈도 조사.....26
  - 가. 근접 거리 모형에서 유전자 이동을 조사
  - 나. 단방향 모형에서 유전자 이동을 조사
  - 다. 포장 대 포장에서 유전자 이동을 조사
  - 라. 방사형 모형에 유전자 이동을 조사

종합고찰.....35

참고문헌.....37

감사의 글.....42

## Abstract

This study was performed to estimate the possibility of pollen-mediated gene flow of a genetically modified (GM) herbicide-tolerant zoysiagrass, which is required for commercial cultivation of GM crops. Chapter 1, environmental factors affecting on anthesis and pollen viability have been checked. The pollens were released predominantly at 8:00~10:00 in day cycle, their viabilities were greatest as well. The pollen viability or longevity was best at the temperature and humidity of 15~20°C and 80~99%, respectively, which were varied depending on the atmospheric change. Under sunny condition, the pollen was germinable only up to about 120 min after anthesis, but under cloudy condition, up to 450 min after anthesis, extending at least above 2-times compared to that under sunny condition. In addition, no significant difference was found between GM and non-GM zoysiagrass in their pollen viability or longevity. Chapter 2, the pollen-mediated gene flow from the GM zoysiagrass to non-GM zoysiagrass species by measuring crossing-over rate of herbicide-resistant *bar* gene using three experimental models which include unidirectional population combination (UPC), field-to-field, and radial model have been checked from 2007 to 2011. In comparative close distance of below 5m, the gene flow rate was measured around 3~5.7% in the UPC and field-to-field models. The distance from the GM source was longer, the gene flow rate lower. The gene flow was found at very low frequency of 0.25% in 38m, but not found outward longer distance than it. In the radial model, the gene flow rate was 3.7% in the radius of 3m, and that was found to be high toward the directions of northeast, southwest, and west. The local meteorological data supported that the gene flow rate varying according to the position of pollen recipient (non-GM zoysiagrass) might be influenced by wind direction and speed during flowering season.

## 서론

자연 환경의 격심한 변화로 인한 농작물에 대한 생리적 장애와 재배 면적의 감소가 농작물의 가격 폭등을 초래하고 있는 실정이다. 인구증가 및 식량 작물을 이용한 대체 에너지 생산 또한 심각한 식량 문제를 야기하고 있다(Fisher *et al.*, 2002). 이러한 문제를 해결하기 위해서는 기존의 전통 육종방법과 돌연변이 육종방법에 의한 작물개량과 재배기술의 개선이 필요하며 환경 변화에 대한 적응성을 갖는 고기능성 GM (Genetically Modified) 작물의 개발 및 제품의 실용화가 필요한 시점이다.

세계적으로 재배 승인된 GM 작물의 현황을 살펴보면, 2010년, 29개 국가에서 1억4800만 ha에서 재배되고 있으며, 재배 면적은 1996년에 비해 87배 증가한 수준을 보여 주고 있다(James C. 2010). GM 토마토(Flavr Savr)가 상업적으로 재배 승인된 이후 2010년까지 콩, 옥수수, 유채, 면화가 재배되었으며 이외에도 사탕수수, 알팔파, 파파야, 토마토, 포플라 등 22작물의 124개 품종에 대해서 상업적 재배가 승인 되었다(James C. 2010). 국내의 경우에는 GM 작물의 상업적 재배 승인은 단 한 건도 없는 실정이지만, 위해성 심사를 통과한 사료용 및 가공용 수입 작물은 118개 품목이 승인되어 유통되고 있는 실정이다(바이오안전성 정보센터, [www.biosafety.or.kr](http://www.biosafety.or.kr)). 제초제 저항성 GM 들잔디(Bae *et al.*, 2007, 2008) 또한 재배 승인을 위해 약 7년간 환경위해성평가를 수행하였으며, 2010년 11월에 위해성 심사를 농촌진흥청에 신청한 상태이다.

들잔디(*Zoysia japonica* Steud.)는 벼과의 양지에서 자라는 다년초로써, 각종 환경에 대한 적응력이 매우 강한 편이라 척박한 토양을 피복하는 목적으로 많이 이용되어 왔다. 그러나 최근에는 국민의 생활수준이 향상됨에 따라 환경미화의 목적으로도 많이 이용되고 있다. 또한 야외 스포츠에서는 운동선수의 상처를 감소시켜주고 물리적인 충격에 대한 완충효과가 높아 잔디 위에서의 여가 선용과 레저 활동 등에 널리 이용되고 있다(김형기. 1991).

국내 총 잔디 재배 면적은 2000년 805.3ha이었으나 2005년에는 2,398.3ha로(산림청, 2006) 증가 되어 지난 5년간 생산 면적이 약 3배 증가한 것으로 나

타나고 있다(김두환 등., 2006). 이렇게 잔디 재배 면적이 증가한 원인으로는 2002년 월드컵을 기점으로 해서 잔디에 대한 인식이 많이 바뀌었기 때문으로 생각된다. 그러나 아직도 미국 플로리다 주의 잔디 생산 면적 1억8천6백만 $m^2$ 에 비해 1/7 수준에 불과하다(Hodges *et al.*, 1994; 이재필 등, 2001). 그리고 미국을 비롯한 유럽, 일본 등의 선진국에서는 제초제(Toyama K *et al.*, 2003, Ge *et al.*, 2006) 또는 병해충저항성(Zhang *et al.*, 2007), 내한성, 내서성, 내염성 등을 지닌 고기능성 잔디 품종의 개발은 물론 식재 용도에 따른 다양한 잔디가 유통되고 있다. 그러나 현재 우리나라의 재배 잔디 류의 시장 환경은 품종이나 용도에 크게 구분 없이 거래되고 있는 실정이다. 이는 신품종 잔디 개발과 보급 및 유통에 대한 연구가 부족한 원인에 기인한다고 판단된다. 따라서 변화하는 세계 잔디의 시장 환경과 증가하는 고기능성 잔디에 대한 수요에 대비하기 위해 다양한 잔디 품종에 대한 연구개발이 필요하며, 기존의 교배육종, 돌연변이 육종기술 개발과 생명공학을 이용한 고기능성 들잔디 품종개선에 대한 연구가 절실히 필요한 시점이다.

생명공학을 이용하여 개발한 고기능성 GM 들잔디를 실용화하기 위해서는 GM 식물이 환경생태계에 미치는 위해성을 사전에 파악하기 위해 다양한 방법으로 환경 위해성 평가를 수행해야 한다. 이와 같은 평가과정은 환경생태에 대한 위해성의 사전차단은 물론 시장에 유통하기 전에 일어날 수 있는 막연한 정서적 우려와 부정적 정보에 따른 소비자들의 불안감을 해소하기 위해 필수적이다. 이러한 문제들을 해결하기 위한 국내에서의 과학적이고 실증적인 환경위해성평가 실험기준은 1999년 8월 처음으로 식품의약품안전청에서 ‘유전자재조합 식품 및 식품첨가물 안전성 평가자료 심사지침’에서 제정되었다. 그 후 2004년 2월에 안전성 의무화 제도에 따른 개정된 지침에 입각하여 생명공학 기술을 이용하여 개발한 제초제 저항성 GM 들잔디에 대한 환경 위해성 평가 또한 현재 진행되고 있는 중이다, 그 중에 유전자 이동성에 관한 연구가 본 실험에서 선행되었다. 한 예로 벤투 그라스 유전자 이동성에 대한 보고에 의하면 21km까지 유전자가 이동한다는 보고로 인하여 재배 승인이 되지 않은 사례가 있다(Watrud *et al.*, 2004). 이와 같이 환경 위해성 평가 중 유전자 이동성 부분이 중요하게 부각되고 있는 시점이다.

본 연구는 제 1장에서 제초제 저항성 GM 들잔디와 야생형 들잔디 화분의 생존능력과 방출 특성 평가를 하였으며, 제 2장에서는 자연 상태의 격리된 필드에서 설계모형을 통한 유전자 이동빈도를 평가 하였다. 이러한 평가를 통하여 제초제 저항성 GM 들잔디의 격리 거리를 추정할 수 있을 것으로 기대되며 GM 들잔디의 상업적 재배에도 기여할 것으로 보여진다.





## 제 1 장. 화분 생존능력 및 방출 특성 조사

# I. 재료 및 방법

## 1. 식물재료

본 연구에 사용된 식물 재료는 Toyama 등(Toyama K *et al.*, 2003)이 개발한 유전자변형 제초제 저항성 들잔디(*Zoysia japonica* Steud. JG21)를 사용하였고, 대조구로는 비유전자변형 들잔디 야지(*Zoysia japonica* Steud.)를 사용하였다.

## 2. 화분의 생존능력 조사

### 가. 화분 수집

화분 수집을 위해 개약(anthesis)시기인 4월 25일 ~ 5월 20일에 제주대학교 격리 포장(GPS; N33°27'35.4", E126°33'49.9")과 남원 격리 포장(GPS; N33°17'43.3", E126°40'30.9")에 식재된 들잔디를 이용하였다. 또한 개약(anthesis) 시간대인 8:00~10:00의 수술을 Petri-dish (size 35 x 10mm)에 수집하였다.

### 나. 온도 및 습도 변화에 따른 화분의 생존능력

화분이 들어 있는 Petri-dish를 Growth chamber (Model GC-300 TLH, LUX4600)에 넣고 뚜껑을 개봉하여 온도(15, 20, 25, 30, 35, 40°C) 및 습도(40, 60, 80, 99%) 변화 조건에서 시간(10, 30, 60, 180 분)을 경과 시키면서 일정량의 화분을 인공배지(Kang *et al.*, 2009)에 옮겨서 화분관 신장을 관찰하였다. 온도변화에 따른 화분 생존능력조사는 습도를 60%로 고정한 후 조사를 진행하였으며, 습도 조건에서의 화분 생존능력 조사는 온도를 20°C로 고정한 후 조사를 진행하였다.

### 다. 맑은 날과 흐린 날에 따른 화분의 생존능력

화분은 맑은 날(평균 온도 17°C, 평균 습도 RH 55%)과 흐린 날(평균 온도 15°C, 평균 습도 RH 85%)을 구분하여 각각 수집하였으며, 수집한 대기 조건에 화분을 노출하여 30분 간격으로 인공배지로 옮겨 화분관 신장을 관찰하였다.

### 라. 화분관신장의 관찰 및 통계처리

모든 실험은 3반복으로 진행되었으며, 광학현미경(Axiostar plus, Carl Zeiss, x50, x100)을 통해 관찰하였다(Figure 1).

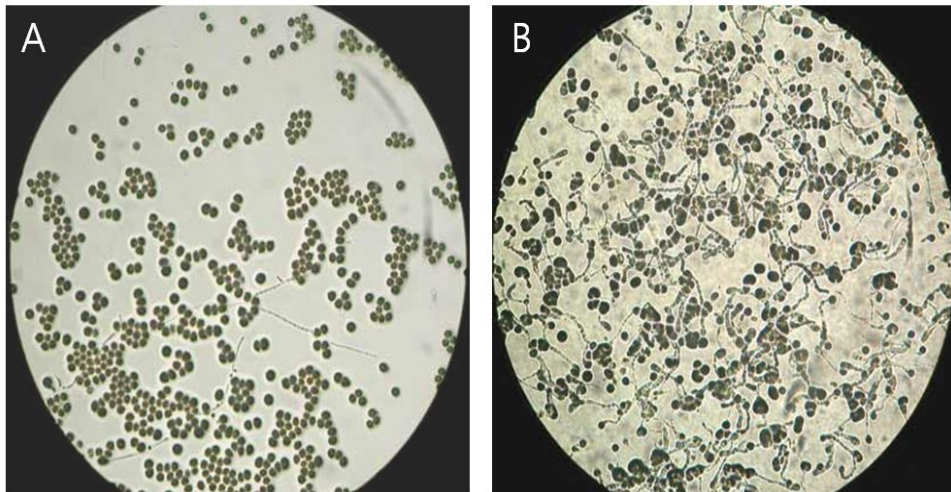


Figure 1. Shedding pattern of zoysiagrass pollen based on in vitro tests. A, before pollen germination; B, after pollen germination.

### 3. 화분의 비산밀도 조사

#### 가. 화분의 비산 높이

제주대학교 캠퍼스의 한 잔디공원에서 3개 지점에 샘플러(Figure 2A)를 10:00~18:00까지 설치하였다. 샘플러는 화분수집을 위한 바세린을 얇게 도포한 슬라이드 글라스(Figure 2B)가 지면에서부터 25~200cm 사이 4곳(25, 50, 100, 200cm)에 장착되도록 제작하여 이용하였다. 포집된 화분은 광학현미경(Axiostar plus, Carl Zeiss, x50, x100)을 통해 관찰하였으며 3일에 걸쳐서 실험을 진행하였다.

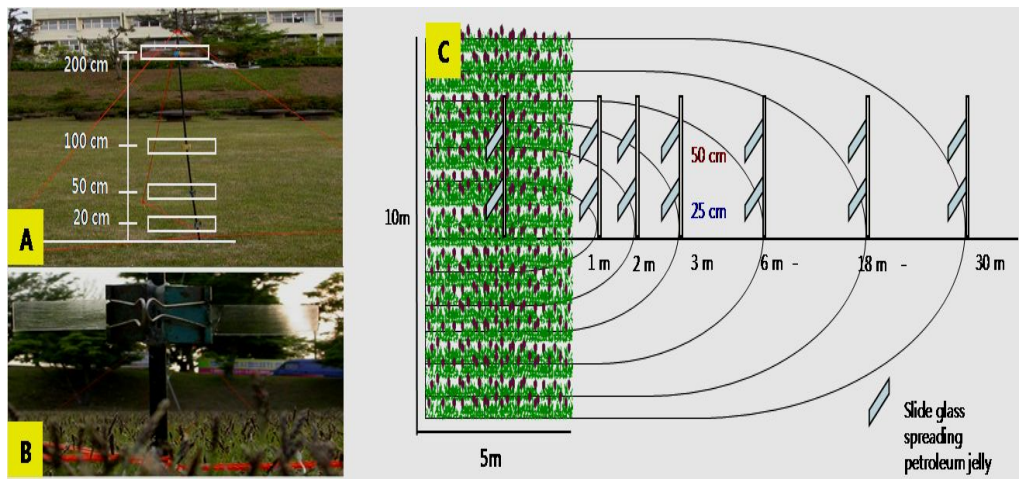


Figure 2. An investigation on the density of zoysiagrass pollen flying.

A, An investigation on the height of pollen flying; B, Vaseline-spreaded slide glass installed on at the sampler; C, An experimental model to measure the distance of pollen flying.

#### 나. 화분의 비산 거리

남원 격리 포장에 조성된 5 x 10m 면적에 제초제 저항성 GM 들잔디 구역 내부를 0m로 하고 가장자리로부터 일정 간격(0, 1, 2, 3, 5, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30m)에 따라 샘플러를 Figure 2C와 같이 설치하여 비산높이 실험과 동일한 방법으로 관찰하였다. 샘플러는 지면에서부터 25cm와 50cm의 높이에 슬라이드가 장착된 것을 사용하였다.

#### 4. 화분의 방출패턴 및 생존능력 조사

화분방출패턴은 지면으로부터 25cm 높이에 4방향의 슬라이드 글라스가 장착된 샘플러를 이용하여 1시간 간격으로 수집하여 관찰하였다. 또한 일출 30분 전부터 일몰 30분 후까지 1시간 간격으로 화분의 방출패턴을 조사하였다. 화분의 생존능력은 개약 직후 배지에 직접 털어 배양하였으며 24시간 동안 1시간 간격으로 조사하였다. 두 실험 모두 3일 동안 진행(3반복) 하였고, 광학현미경(Axiostar plus, Carl Zeiss)을 통해 관찰하였다.

#### 5. 화분의 생존능력과 임실율의 상관관계

동형접합(homozygote)의 제초제 저항성 GM 들잔디(Sun *et al.*, 2010)의 화분을 야생형 들잔디의 암술에 인공수분 하였다. 야생형 들잔디의 암술은 개약하기 전에 교배봉투를 씌워 격리하였으며, 인공수분 직전(암술이 갓 출현된 시기)에 교배봉투를 벗겼다. 화분은 활력이 좋은 오전에 수집하였고, 수집 후 자연광 조건에 방치하여 30분 간격으로 화분의 생존능력을 확인함과 동시에 인공수분에 이용하였다. 성숙 종자의 채종은 인공수분일로 부터 약 70일 후에 종자를 수확하여 건조 시킨 후  $-4^{\circ}\text{C}$ 에 약 30일 저온 처리하였고, 또한 파종하기 전 30% KOH에 10분(Yeam *et al.*, 1985)처리 후 4~5회 수세하였다. 종자 살균 소독을 위해  $60^{\circ}\text{C}$ (Park *et al.*, 2008)에 10분 정도 온탕 침지하였다. 토양에 파종한 종자는  $30^{\circ}\text{C}$  (Yu *et al.*, 1975)에서 발아를 유도 하였으며, 발아 후 본 엽이 2~3장 형성 됐을 때 제초제 Basta를 처리 하여 GM 들잔디 화분에 의한 임실율을 조사하였다.

## II. 결과 및 고찰

### 1. 화분 생존능력 조사

#### 가. 온도 및 습도 변화에 따른 화분 생존능력 조사

10~20°C 범위에서, 개약 후 약 60분까지는 60% 이상의 화분 생존율을 보였지만, 그 후 온도가 상승할수록 생존율이 감소되었다(Figure 3). 특히 35°C에서 급격하게 감소되었고, 40°C에서는 단 10분도 생존할 수 없는 것으로 조사되었다(Figure 3). 10~25°C 범위에서, 개약 후 약 180분이 경과할 때까지 비록 낮지만 (5~20%) 발아가 가능한 화분이 관찰되었다(Figure 3). 본 실험에서는 15°C가 화분 저장을 위한 가장 최적 온도로 조사되었다.

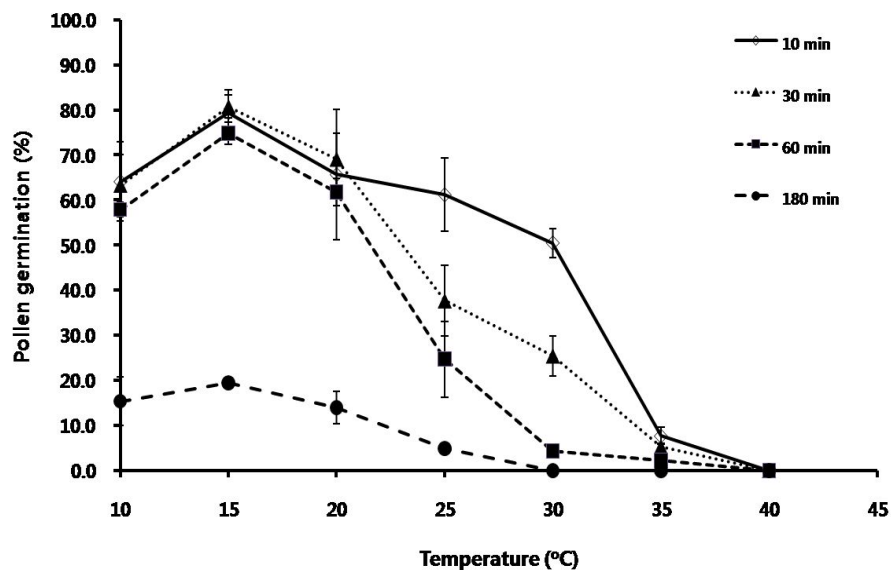


Figure 3. Effects of temperature on *in vitro* pollen germination rate in zoysiagrass. Pollen was immediately dispensed on to germination medium(0min) or stored for 10, 30, 60, and 180 min at different temperatures before being dispensed to medium. Vertical bars show standard error.

습도변화에 따른 들잔디의 화분 생존능력 조사에서는 저장 습도가 높을수록 생존율이 증가하는 것으로 조사되었다. 특히 상대습도 80~99%에 저장하였을 때, 180분이 경과하더라도 75%이상의 화분이 생존하는 것으로 나타났다 (Figure 4).

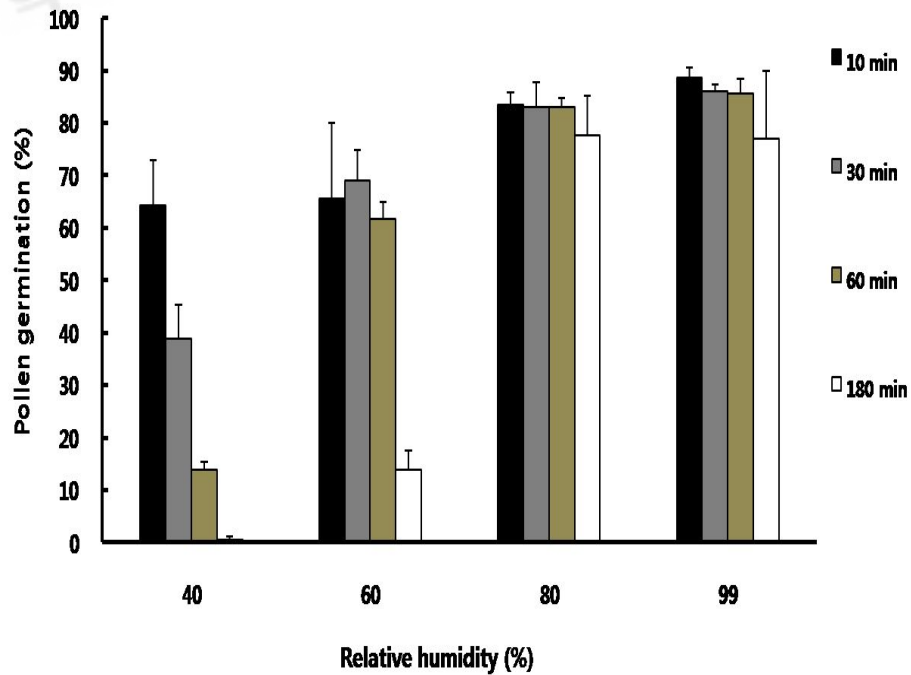


Figure 4. Effects of relative humidity (RH) on *in vitro* pollen germination rate in zoysiagrass. Pollen was incubated for 10, 30, 60, and 180 min at different RH before being dispensed to germination medium. Vertical bars show standard error.

이러한 결과는 올리브 식물에서 보고(Koubouris *et al.*, 2009)된 바와 유사하며, 다른 식물처럼 들잔디의 화분 생존능력도 온도, 습도 등의 환경에 의해 크게 영향을 받는 것으로 사료된다.

## 나. 맑은 날 및 흐린 날 조건에서 화분의 생존능력 조사

들잔디 화분은 맑은 날 보다 흐린 날에 훨씬 높은 생존율을 보였다. 맑은 날 태양 아래에서는 방치 후 약 60분에서 20%, 120분에서 0%로 급격하게 화분의 생존율이 감소되었다. 하지만 흐린 날 조건에서는 이 보다 훨씬 오랜 시간인 300분 까지도 30% 이상의 생존능력을 유지하는 것으로 관찰되었다(Figure 5).

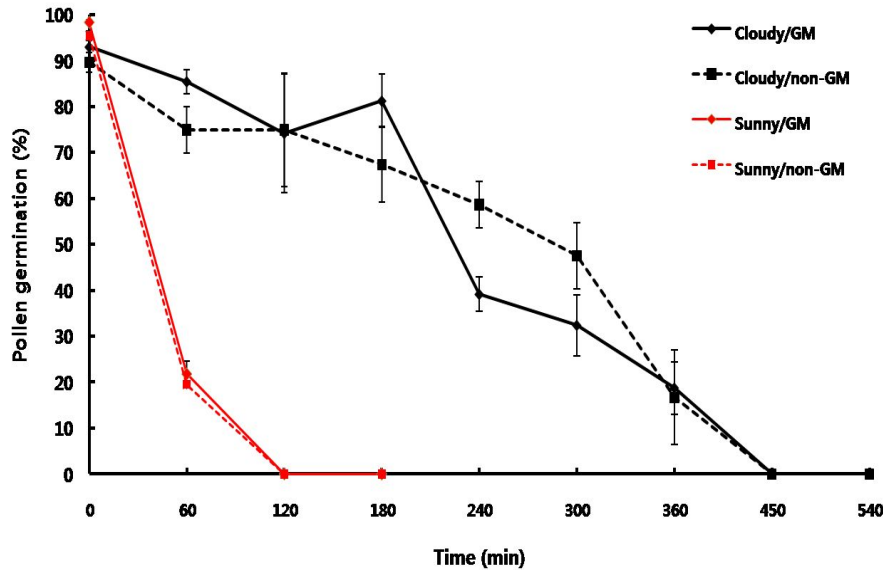


Figure 5. Longevity of zoysiagrass pollen under ambient atmospheric conditions. *In vitro* germination rate of pollen from GM and non-GM zoysiagrasses was evaluated comparatively under sunny and cloudy conditions.

이와 같이 들잔디의 화분의 생존능력은 개약 후 대기환경조건에 의해서도 크게 영향을 받는 것으로 보여 진다(Wang *et al.*, 2004). 제초제저항성 GM 들잔디와 non-GM 들잔디 간에는 유의성있는 차이를 보이지 않았다. 흐린 날 실험에서 다소 차이를 보이는 것처럼 보이지만, 이와 같은 차이는 GM과 non-GM 들잔디 간의 차이가 아니라 맑은 날에 비해 흐린 날은 대기가 일정하지 않기 때문인 것으로 사료된다(Wang *et al.*, 2004). 따라서 들잔디 화분의 생존능력은 개화시기의 대기 환경 조건에 의해 영향을 받고 있음을 본 실험을 통해서 확인할 수 있었다.



## 2. 화분의 비산 밀도 조사

### 가. 개화 시기의 주변식물 화분 관찰

화분의 비산 밀도를 조사하기 전, 들잔디 화분과 같은 시기에 개화하는 주변식물의 화분을 구분하기 위하여 4월말~5월초에 꽃이 피는 제주대학교 캠퍼스 내의 화분들을 채취하여 요오드염색(Song *et al.*, 2001)을 통해 관찰 하였다. 대부분의 화분들은 모양과 염색반응에서 다른 것들과 뚜렷하게 구분되었다(Figure 6). 하지만 들잔디와 동일한 벼과 식물 중의 하나인 독새풀(Figure 6A)은 들잔디(Figure 6B)의 모양과 염색반응이 유사하였다. 그러나 크기가 들잔디에 비해 현저하게 작으므로 이 둘을 구분할 수 있었다.

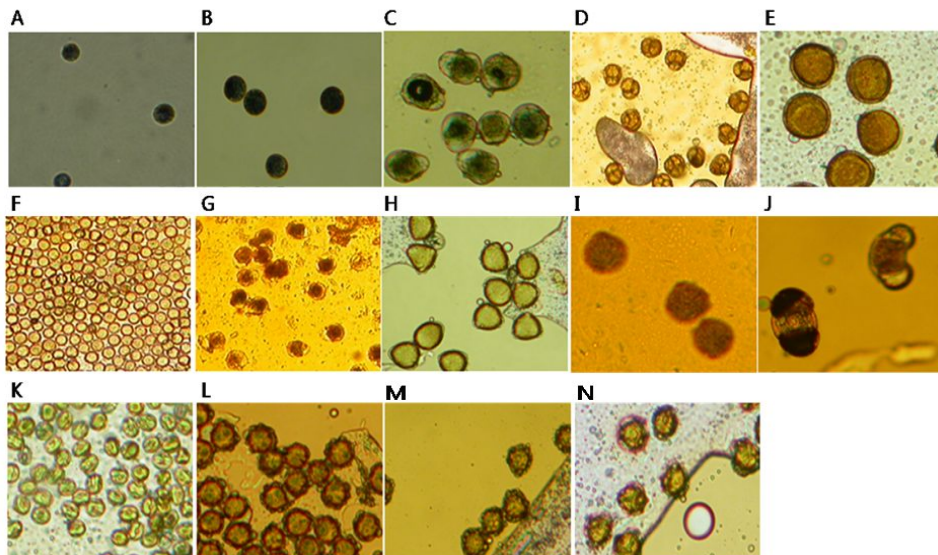


Figure 6. Microscopic morphology of various pollens in flowering season from other plants of which overlaps with zoysiagrass among plants living around the campus. A, *Alopecurus aequalis* Sobol.; B, *Zoysia japonica* Steud.; C, *Spergula arvensis* L.; D, *Rhododendron schlippenbachii* Maximovicz.; E, *Iris nertschinskia* Lodd.; F, *Arisaema peninsulae* Nakai.; G, *Carex transversa* Boott.; H, *Camellia japonica* L.; I, *Trifolium pratense* L.; J, *Pinus densiflora* Sieb.; K, *Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii* Nakai.; L, *Dendranthema grandiflorum* Kitamura.; M, *Ixeris chinensis* var. *Strigosa*.; N, *Taraxacum platycarpum* Dahlst.

## 나. 높이에 따른 화분의 비산밀도 조사

들잔디 화분은 지면으로부터 25, 50, 100, 200cm 높이에 설치된 각각의 sampler에서 포집되었으나 높이에 따라 포집량이 감소하는 것을 알 수 있었다(Figure 7).

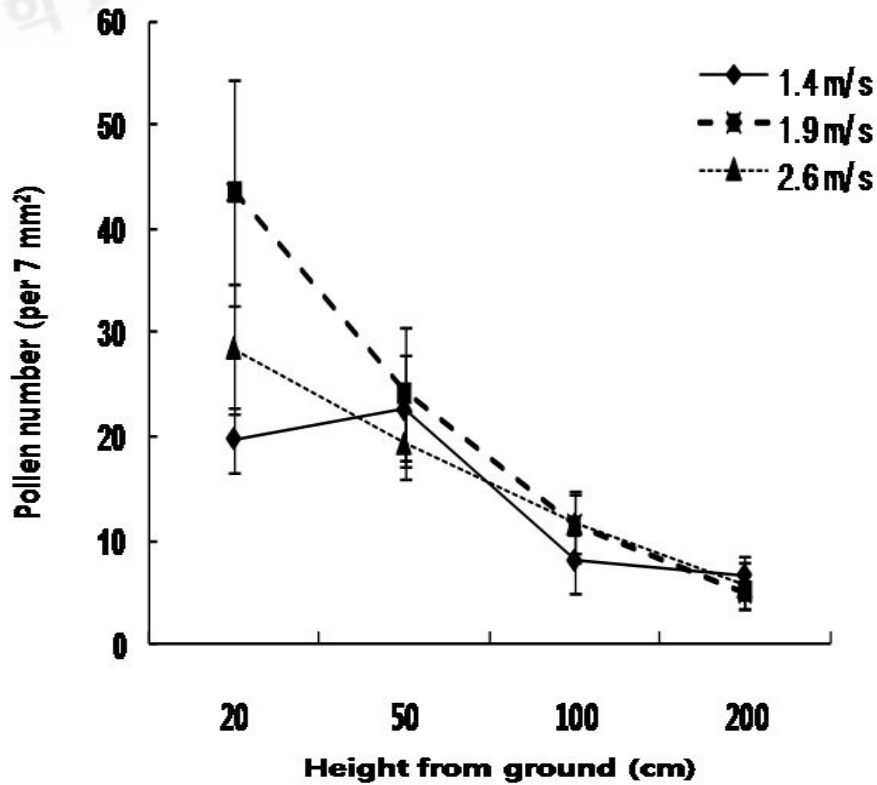


Figure 7. The density of pollen measured according to the height in turf zoysiagrass field. Pollens of zoysiagrass were collected very rarely in the spots out of 100cm from ground.

본 실험에서 들잔디 화분은 25~50cm 범위에서 주로 포집되었고 100cm 이상에서는 현저하게 희석되었다. 그러므로 다음 실험인 화분의 비산거리와 방출패턴 실험에서는 25cm와 50cm 두 높이에서만 조사를 실시하였다.

## 다. 거리에 따른 화분의 비산밀도 조사

제초제 저항성 GM 들잔디 포장 가장자리(0m)에서 sampler에 포집된 화분의 밀도는 약 70개/7mm<sup>2</sup>로 비교적 높았지만, 1m 거리에서는 35개/7mm<sup>2</sup>로 감소하였고, 5~30m에서는 거리 간에 유의성 없이 10개/7mm<sup>2</sup> 미만으로 감소하였다. 즉, 들잔디 포장에서 거리가 멀어질수록 포집율이 감소하는 것을 알 수 있었지만, 본 실험방법으로는 포장으로부터 5m이상의 거리에 대한 비산 특성은 알 수 없었다(Figure 8).

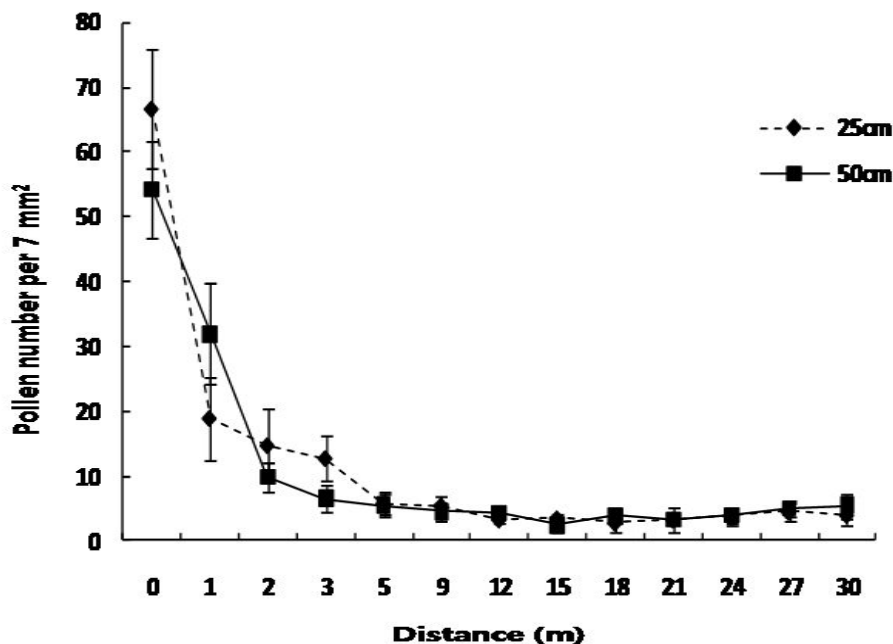


Figure 7. The density of pollen measured according to the height in turf zoysiagrass field. Pollens of zoysiagrass were collected very rarely in the spots out of 100cm from ground.

또한, 화분의 비산밀도는 풍속 및 풍향의 영향을 받을 것이므로 기상자료를 고려하지 않은 본 연구결과의 해석은 크게 제한적일 수밖에 없다. 그러므로 추후에 기상장비를 설치한 후 재 실험을 통해 확인해 볼 필요성이 있을 것으로 보여진다. 지면에서 25cm와 50cm의 두 지점에서 포집된 결과를 비교하면 앞의 실험에서와 동일하게 지면에 가까운 25cm에서 포집율이 조금 더 높은 것으로 조사되었다.

### 3. 화분의 방출패턴 및 생존능력 조사

#### 가. 하루 주기에 따른 화분 방출패턴 조사

식물은 자신에게 가장 유리한 조건에서 꽃을 피우고, 수분하도록 진화되어 왔으며, 같은 지역에 살고 있는 식물이라도 종에 따라 다양한 개화생리 및 화분방출패턴을 가지고 있다(Bhattacharya and Datta, 1992). 본 실험은 들잔디가 하루 중 언제 화분을 방출하는지를 일출 30분 전과 일몰 30분 후까지 조사하여 관찰하였다. 8시30분 경에 가장 많은 양의 화분이 포집되었고, 8시30분 이전과 이후의 다른 시간에서는 포집 되는 양이 현저하게 적은 것을 관찰 할 수 있었다(Figure 9).

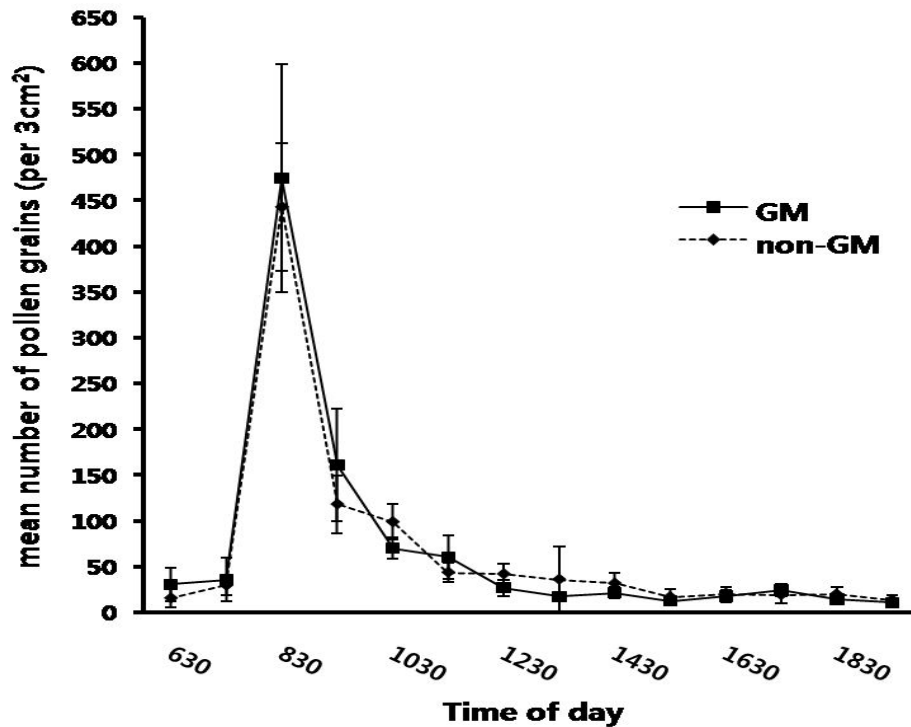


Figure 9. Patterns of pollen emission in the air 25cm from 6:30 to 19:30. No significant difference was found between GM and non-GM zoysiagrasses.

이 결과는 들잔디의 꽃은 8~9시 사이에 우점적으로 개약(anthesis)한다는 사실을 의미한다. 제초제 저항성 GM 들잔디와 non-GM 야생형 들잔디는 유사한 화분방출 패턴을 보이는 것으로 조사되었다.

## 나. 하루 주기의 화분 생존능력 조사

들잔디의 개약 패턴을 좀 더 자세히 알기 위해, 한 시간 간격으로 24시간 동안 화분을 포집하여 발아능력(생존능력)을 관찰하였다. 그래프에서 보는 것처럼, 8:00~10:00 사이에 수집한 화분이 가장 높은 생존율을 보여 주었다(Figure 10). 그러나 화분방출실험에서는 발견할 수 없었던 정점이 19:00~20:00에서 한 번 더 발견되었다. 비록 30%이하의 낮은 생존율이지만 유의성 있는 결과라 생각된다(Figure 10).

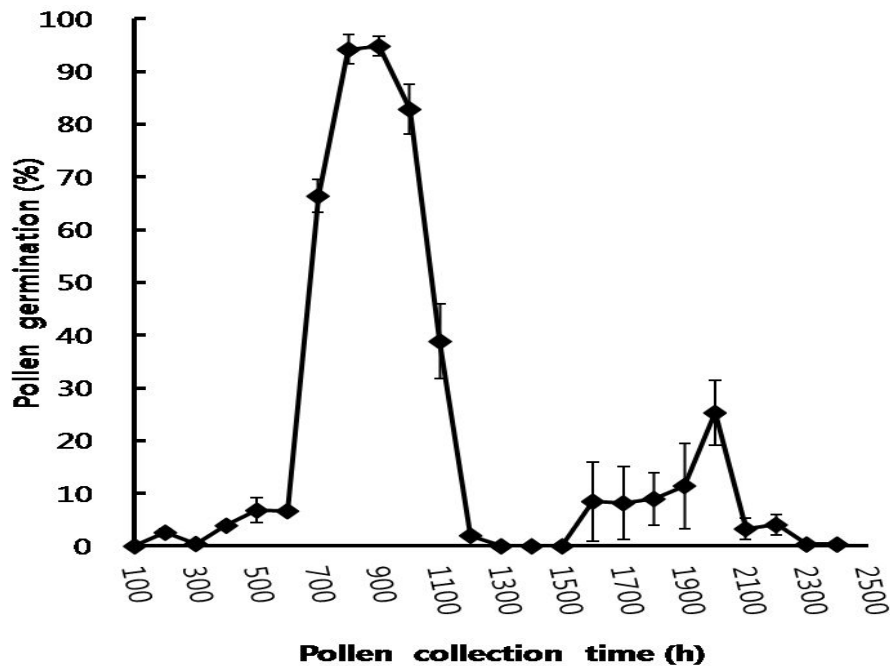


Figure 10. Pollen germination percentage during diurnal period.

이러한 결과를 통해 들잔디는 아주 소량이지만 19:00~20:00 대의 저녁 무렵에도 개약하는 경우가 있음을 알 수 있다. 또한 Figure 3과 Figure 4의 결과에서 알 수 있었던 것처럼, 화분의 생존능력에 온도 및 습도가 영향을 미치는 것으로 사료되어 기상청(<http://www.kma.go.kr>) 자료를 통해 들잔디 개약 시기인 5월 01일~5월 31일, 한 달 동안 6:00~14:00까지 온도와 습도를 확인한 바 평균 온도는 17°C, 습도는 80% 정도임을 알 수 있었다. 그러므로 이 시간대가 하루 중 들잔디가 가장 수정을 성공하기 적합한 온도 및 습도 조건인 것으로 사료된다. 이러한 결과를 종합해 보면, 들잔디의 개화시기에 8:00~10:00 시간대가

수분이 가장 유리한 조건이지만, 19:00~20:00 시간대에도 이와 유사한 기상조건을 형성하는 것으로 추측된다.

화분 방출이 하루 중 빈번하게 일어 날 경우 유전자 이동 확률 또한 높게 형성 될 수 있으므로(Pfender *et al.*, 2007) 이러한 연구결과는 들잔디 화분에 의한 유전자 이동성 조사에 많은 정보를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

#### 4. 화분의 생존능력과 임실율의 상관관계

체초제 저항성 GM 들잔디를 가지고 화분생존능력과 임실율과의 상관관계를 조사하였다. 생존력이 높을 수록 임실율도 비례하여 높게 나타났다. 90% 생존능력을 가진 화분은 60% 정도의 임실율을 보였고, 20% 생존능력을 가진 화분은 20% 정도의 임실율을 보여 주었지만, 생존력을 상실한 화분은 종자를 전혀 맺을 수 없었다(Figure 11). 이러한 결과는 Tall fescue에서 보고(Wang *et al.*, 2004)된 바와 같이 들잔디 화분의 생존능력과 임실율도 거의 정비례 관계임을 알 수 있었다

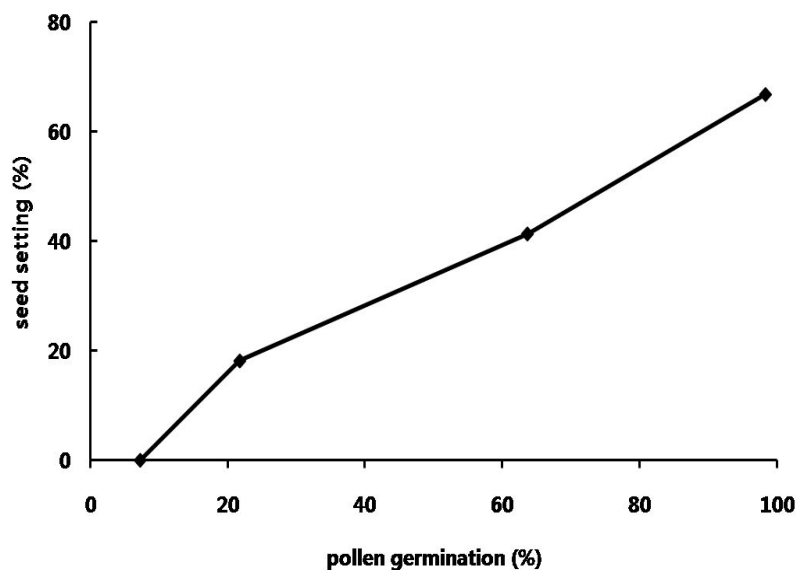


Figure 11. Percentage of seed setting of the emasculated florets in control zoysiagrass plants after pollination with donor panicles with various levels of pollen viability. The donor panicles were from primary transgenics ( $F_1$ ) that had different levels of pollen germination.



## 제 2 장. 화분에 의한 유전자 이동성 평가

# I. 재료 및 방법

## 1. 실험 재료

서귀포시 남원읍에 조성된 3000m<sup>2</sup>격리 포장에 설계모형에 따라 식재 된 동종 (야생형 들잔디, *Zoysia japonica* Steud.) 및 근연종(금잔디, *Zoysia matrella* Merr.)을 이용하여 제초제 저항성 GM 들잔디의 유전자 이동성을 검정하였다.

## 2. 유전자이동성 평가를 위한 실험설계

### 가. 근접거리 모형

본 실험은 근접 거리에서 제초제 저항성 GM 들잔디가 야생형 들잔디와 금잔디로의 유전자 이동 유무를 확인하고 근접 거리에서 타가 수정율을 통해 다른 설계모형에서 유전자 이동성 조사에 기초자료로 이용하기 위하여 설계모형을 조성하였다.

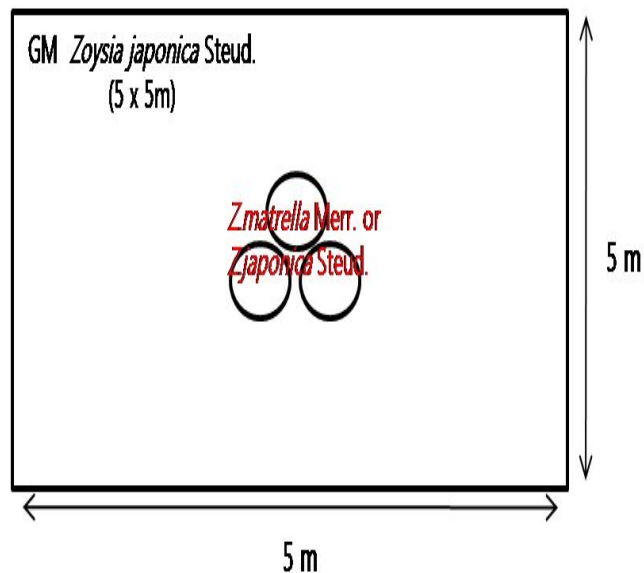


Figure 12. Experimental design for the evaluation of gene flow in very close distance. Source, herbicide-resistant GM zoysiagrass; Recipient, *Zoysia japonica* Steud. and *Zoysia matrella* Merr..



근접거리 모형은 제초제 저항성 GM 들잔디가 5 x 5m 면적으로 조성 된 포장 중앙에 지름이 60cm인 원형 plot 3개를 설치하여 야생형 들잔디와 금잔디를 각각 식재하여 유전자 이동성을 조사하였다(Figure 12). 또한 야생형 들잔디와 금잔디의 개약기간에 암술과 수술의 출현 시기를 관찰하였다.

### 나. 단방향 모형

3개의 설계 모형 중 단방향 모형은 제초제 저항성 GM 들잔디의 최대 유전자 이동 거리를 알아 볼 수 있는 설계 모형으로 제초제 저항성 GM 들잔디가 5 x 9m 면적으로 식재되었으며, 야생형 들잔디와 금잔디는 1 x 4m 면적으로 1m간격 씩 40m까지 순차적으로 식재되었다. 또한 동쪽과 서쪽 방향으로 나누어 포장을 조성하여 양 방향에 대한 유전자 이동성을 조사 하였다(Figure 13).

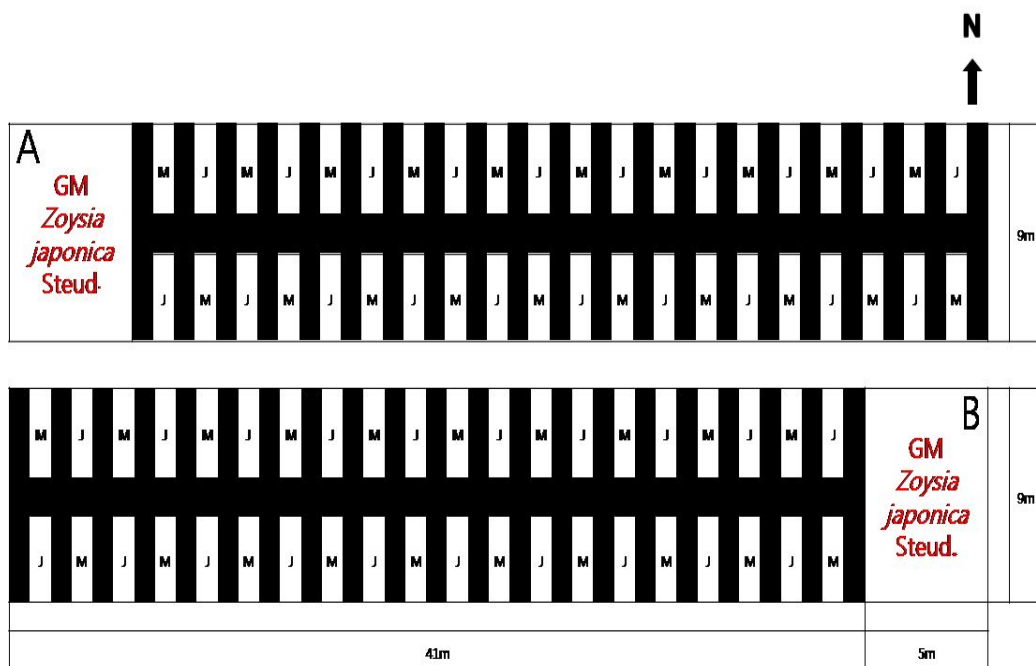


Figure 13. UPC (Unidirectional population combination) field model for the evaluation of gene flow by the distance. Field size, GM zoysiagrass, 5 x 9m; non-GM, 40 x 9m. A, West direction field model; B, East direction field model; M, *Zoisia matrella* Merr.; J, *Zoisia japonica* Steud..

#### 다. 포장 대 포장

단방향모형(5 x 9m)과 포장 대 포장(12 x 25m)의 차이점은 재배면적의 차이 있다. 제초제 저항성 GM 들잔디의 재배면적이 증가 하였을 경우 유전자 이동에 어떠한 변화가 있는지를 알아 볼 수 있는 설계 모형이다.

포장 대 포장은 12 x 25m 면적으로 제초제 저항성 GM 들잔디와 야생형 들잔디를 조성하였으며, 동쪽과 서쪽 방향으로 나누어서 각각 설계하였다. 2007, 2008년에는 동쪽포장에서 채종한 종자를 유전자 이동성 조사에 이용하였으며, 2010년에는 서쪽포장에서 채종한 종자를 유전자 이동성 조사에 이용하였다(Figure 14).

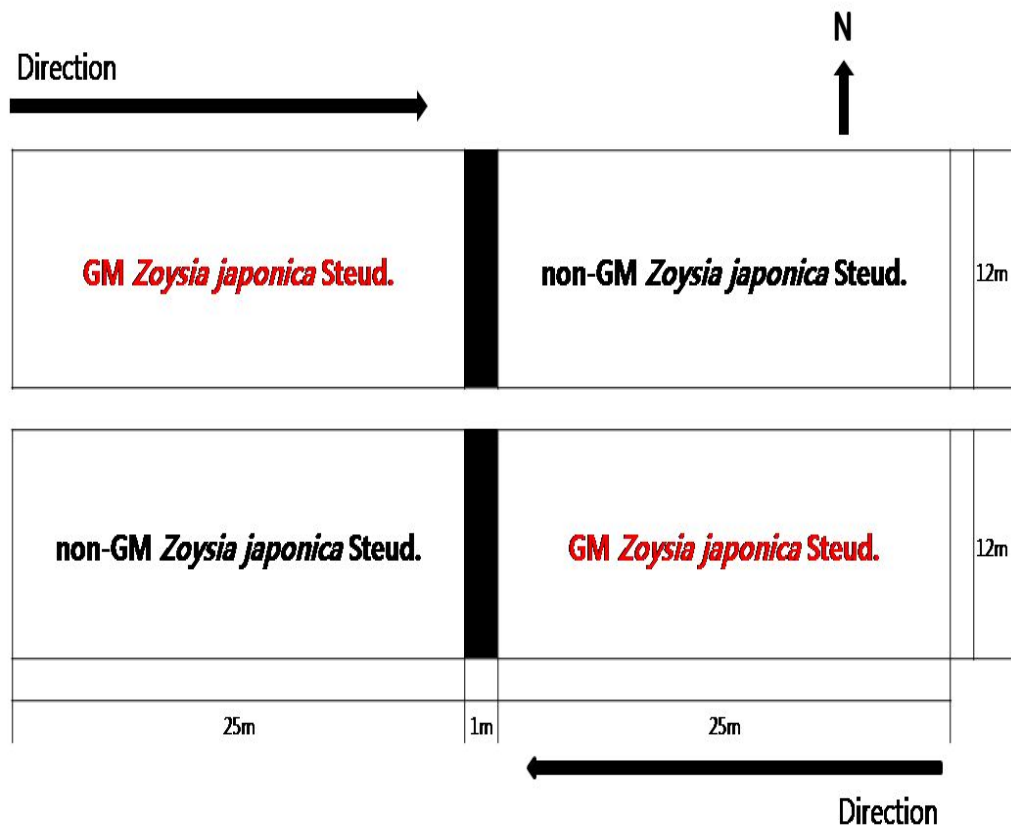


Figure 14. A Field-to-Field model for the evaluation of gene flow under the field condition of the same size of source (GM) and recipient (non-GM). Field size: GM zoysiagrass, 12 x 25 m; non-GM zoysiagrass, 12 x 25 m. A, West direction field model; B, East direction field model.

## 라. 방사형 모형

자연 조건에서는 바람이 동·서 방향 뿐 아니라 사방에서 불어오므로 앞의 두 모형으로는 바람에 의한 유전자 이동을 설명하는데 한계가 있으므로 본 모형을 설계하였다. 방사형 모형은 중앙에 제초제 저항성 GM 들잔디를 지름 60cm plot 5개에 식재하였으며, 중앙으로부터 3, 6, 9m 떨어진 거리에 야생형 들잔디를 지름 60cm plot 3개에 8방향으로 식재하여 유전자 이동성을 조사하였다(Figure 15).

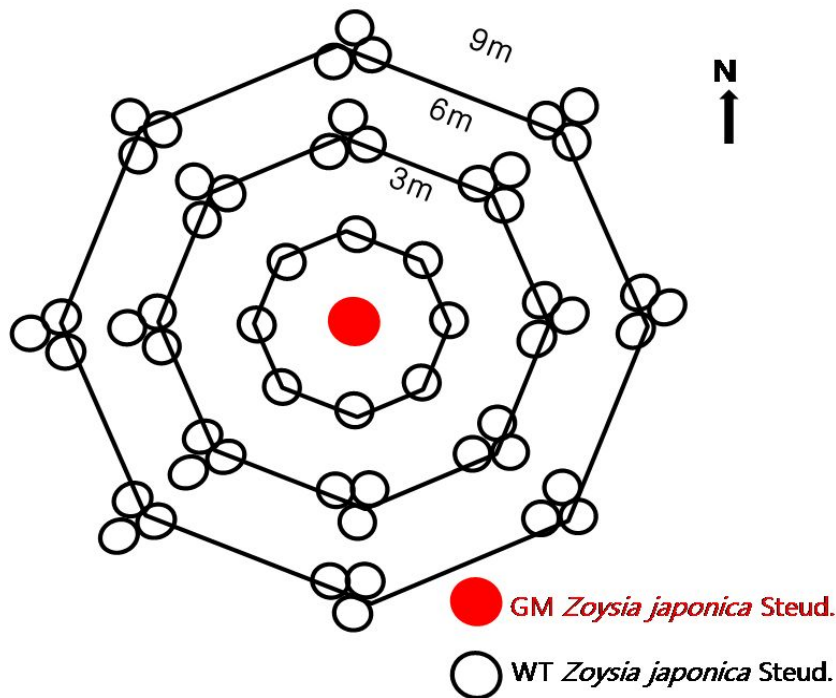


Figure 15. Radial model for the consideration of meteorological factors such as wind direction and speed. Central plot of transgenic plants was surrounded by exclosures containing recipient non-transgenic plants.

## 마. 유전자이동성 평가 방법

제초제저항성 GM 들잔디(heterozygote 계통)는 바스타(제초제)에 대한 저항성 형질을 가지고 있으므로 각각의 설계모형에서 채종한 종자(F1)를 발아 시켜 육묘단계까지 육묘한 다음 바스타에 대한 저항성율을 조사하였다.

## II. 결과 및 고찰

### 1. 설계모형을 통한 유전자 이동 빈도 조사

#### 가. 근접 거리 모형에서 동종 및 근연종의 유전자 이동 빈도 조사

근접 거리 모형에서 동종(야생형 들잔디)의 유전자 이동율은 평균 28.4%, 최고 약 35.6%로 비교적 높게 나타난 반면, 근연종(금잔디)에서는 평균 2.21%, 최고 약 4%로 낮게 나타났다(Table 1). 제초제 저항성 GM 들잔디와 금잔디 간의 유전자 이동율이 낮게 나타난 원인은 동종이 아닌 근연종이기 때문에 동종간의 교배보다는 교배율이 낮을 것으로 생각되며, 또한 두 종간에는 개화기간의 차이가 발생되어 암술과 수술의 중복 일수에 대한 기간의 차이가 타가수분율에 영향을 준 것으로 생각된다.

금잔디 암술의 개화기간과 GM 들잔디 수술의 개화기간의 중복 일수는 5일 이었으며 들잔디 암술의 개화기간과 GM 들잔디 수술의 개화기간의 중복 일수는 12일로 관찰되었다(Figure 16).

개화 기간에 암술과 수술의 중복 일수에 차이에 의해 타가수정율에 차이를 보인다고 보고(Honda *et al.*, 1963; 최동근 등., 2008)된 바 있으며, 본 연구에서도 금잔디 암술과 GM 들잔디 수술의 중복 일수 차이로 금잔디의 유전자 이동율에 차이를 보인 것으로 판단된다.

Table 1. Gene flow of herbicide-tolerant GM to non-GM zoysiagrasses in very close distance. Non-GM zoysiagrasses include two species within the same Genus, *Z. japonica* and *Z. matrella*. Values are the number of basta painting seedlings/numbers of germinated seeds examined. Numbers in parentheses are the gene flow frequencies (%).

Replication	<i>Zoysia matrella</i>			<i>Zoysia japonica</i>		
	NO. Herbicide tolerant plants	NO. Herbicide sensitive plants	Hybrid Frequency (%)	NO. Herbicide tolerant plants	NO. Herbicide sensitive plants	Hybrid Frequency (%)
1	2	48	4	83	233	35.6
2	1	37	2.62	56	226	24.8
3	0	33	0	57	229	24.9
Total	3	118	2.21	196	688	28.4

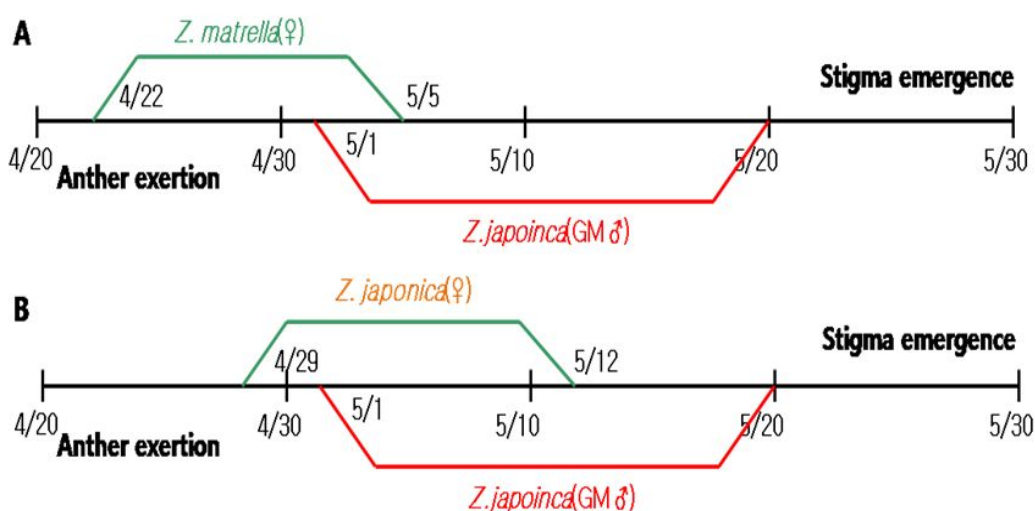


Figure 16. Diagrams of the stigma emergence and anther exertion of 2 zoysiagrass combination in natural open-pollination. A, *Z. matrella* Merr.(♀) x *Z. japonica* Steud.(♂), B, *Z. japonica* Steud.(♀) x *Z. japonica* Steud.(♂).

## 나. 단방향 모형에서 유전자 이동 빈도 조사

단방향 모형은 동종에 관한 것이며 근연종에 관한 결과는 2011년도에 종자 채종에 어려움으로 조사하지 못하였다. 본 설계모형에서 유전자 이동성 조사는 2m 거리에서 3%정도의 유전자 이동 빈도를 보이는 것으로 조사되었으며, 낮은 빈도지만 38m에서도 유전자의 이동(0.25%)이 확인되었다(Table 2; Figure 17).

또한 동쪽 방향과 서쪽 방향에 대한 유전자 이동 빈도에 차이를 보이는 원인이 무엇인지 정확하게 파악할 수는 없었지만 풍향과 풍속의 영향을 받을 것으로 사료되어 기상청의 지역별 상세 관찰 자료를 WRPLOT View ver. 7.0 프로그램에 입력하여 분석하였다.

들잔디 개약시기인 2010년 5월 1일~5월 31일까지 조사하였으며 화분의 생존 능력이 높게 형성된 6:00~14:00까지의 풍향 및 풍속을 조사하였다. 동쪽과 서쪽방향의 풍향 빈도는 8.9%로 동일하였지만 풍속 빈도에서 동쪽 1.89m/s, 서쪽 1.69m/s로 작은 수치이지만 차이를 보이는 것으로 조사되었다(Figure 18).

이러한 풍속의 차이가 화분 이동성에 영향을 미쳐 결과적으로 유전자 이동율에 차이를 보이는 것으로 보여 진다.

고추의 경우 본 모형과 유사하게 설계된 연구에서 유전자 이동거리가 20m까지 이동한다고 보고(Kim *et al.*, 2009)된 바 있으며, 본 연구에서 들잔디의 경우는 38m까지 이동하는 것으로 조사되었다. 그러나 두 종의 유전자 이동성을 비교하기 위해서는 다른 환경적 요인까지 비교, 분석하여야 할 것으로 사료된다.

Table 2. Gene flow from GM to non-GM zoysiagrass at a range of distances in UPC model in the 2011. Values are the number of basta painting seedlings/numbers of germinated seeds examined. Numbers in parentheses are the gene flow frequencies (%).

Distance from GM plot (m)	East	West	Pooled date
2	6/586(1.02)	24/405(5.93)	30/991(3.03)
4	2/536(0.37)	6/468(1.28)	8/1004(0.80)
6	2/511(0.39)	7/491(1.43)	9/1002(0.90)
8	0/476	1/372(0.27)	1/848(0.12)
10	0/377	1/351(0.28)	1/728(0.14)
12	0/450	2/389(0.51)	2/839(0.24)
14	0/264	1/278	1/542(0.18)
16	0/198	1/357(0.28)	1/555(0.18)
18	0/165	2/372(0.54)	2/537(0.37)
20	1/640(0.16)	1/571(0.18)	2/1211(0.17)
22	0/729	0/341	0/1070
24	1/540(0.19)	2/467(0.43)	3/1007(0.30)
26	0/299	1/315(0.32)	1/614(0.16)
28	0/250	0/311	0/561
30	0/388	0/259	0/647
32	0/484	2/481(0.42)	2/965(0.21)
34	0/278	0/417	0/695
36	0/484	1/421(0.24)	1/905(0.11)
38	–	1/395(0.25)	1/395(0.25)
40	–	0/291	0/291

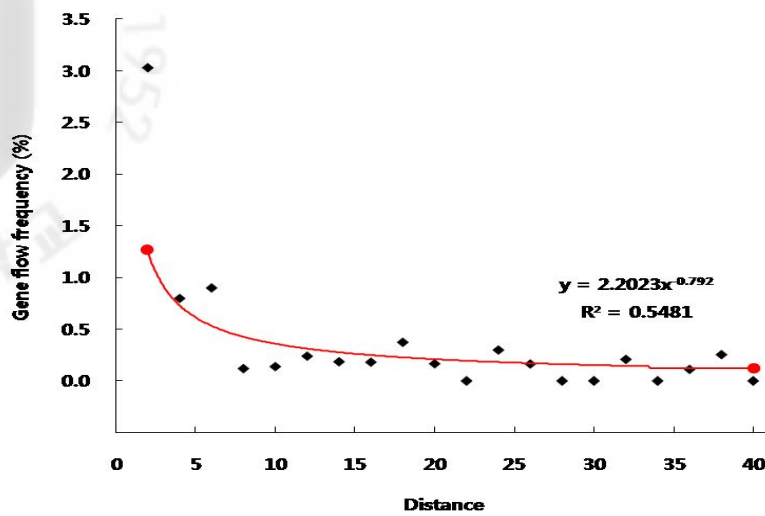


Figure 17. Mean frequencies of gene flow from herbicide-tolerant GM to non-GM zoysiagrass in UPC model.

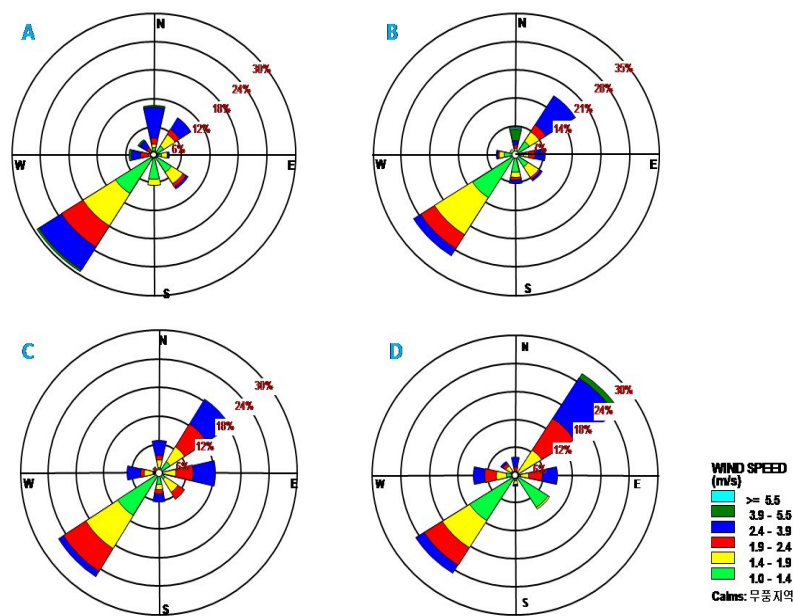


Figure 18. Local meteorological data on wind percentage and direction during days overlapping with flowering season at the test location(Namwon, Seogupo). Data were downloaded on the web site (<http://jeju.kma.go.kr/>) of Korean meteorological administration. A, 2007; B, 2008; C, 2010; D, Year 2011



## 다. 포장 대 포장에서 유전자 이동 빈도 조사

포장 대 포장에서 유전자 이동 거리는 짧을수록 높은 빈도를 보였으며, 유전자 이동 거리가 증가 할수록 빈도는 낮아졌다. 2m내에서는 유전자 이동 빈도가 9.7%로 일어났으며, 6m 내에서도 3%의 빈도로 유전자 이동이 일어나는 것으로 조사되었다. 20m에서도 낮은 빈도(0.8)이지만 유전자 이동이 확인 되었다 (Table 3; Figure 19). 또한 연도별 유전자 이동성에 차이가 나타난 원인이 무엇인지 정확하게 파악할 수는 없지만, 풍향과 풍속에 영향을 받을 것으로 사료되어 기상청의 지역별 상세 관찰 자료를 WRPLOT View ver. 7.0 프로그램에 입력하여 분석하였다(Figure 18). 풍향은 북동풍이 우세하였으며 대체로 비슷한 경향을 보였다. 하지만 설계모형과 같은 방향에서 풍향과 풍속에 있어서 뚜렷한 차이를 보이는 경우도 있음을 알 수 있다.

본 검정시험포장과 관련시켜 풍향 및 풍속을 검토해 보면, 2007년의 경우 순풍 (서 → 동; GM → non-GM)의 빈도는 약 5.2% 정도이고 풍속은 2.69m/s 였던 반면에 2008년의 경우는 순풍의 빈도가 4.8% 정도이고 풍속은 1.32m/s 정도였다. 2010년에는 순풍(동 → 서; GM → non-GM)의 빈도는 약12.3% 정도이고 풍속은 2.96m/s였다. 대체적으로 제초제 저항성GM 들잔디에서 야생형 들잔디 식재구역 방향으로 풍향의 빈도가 많아지고, 풍속 또한 높았다. 이는 들잔디의 유전자 이동율에 영향을 미칠 수도 있을 것으로 보여 진다.

단방향 모형과 포장 대 포장의 경우 짧은 거리에서 유전자이동 빈도에 차이를 보였는데 이는 제초제 저항성 GM 들잔디의 재배 면적의 크기에 영향을 받은 것으로 보여 지며, 옥수수의 경우에도 재배면적이 증가 하였을 때 유전자 이동에도 영향을 미친다고 보고(Henry *et al.*, 2003)된 바 있기 때문에 들잔디의 경우에도 재배면적이 증가하였을 때 유전자 이동율이 증가 할 것으로 사료된다.

Table 3. Gene flow from GM to non-GM zoysiagrass at a range of distances in field-to-field model in the 2007, 2008 and 2010. Values are the number of basta painting seedlings/numbers of germinated seeds examined. Numbers in parentheses are the gene flow frequencies (%).

Distance from GM plot (m)	East(2007)	East(2008)	West(2010)	Pooled date
2	3/115(2.6)	21/249(8.4)	53/426(12.4)	77/790(9.7)
4	4/196(2.0)	26/358(7.2)	32/412(7.7)	62/966(6.4)
6	9/586(1.5)	25/515(4.8)	23/542(4.2)	57/1643(3.4)
8	3/543(0.9)	11/632(1.7)	29/677(4.2)	43/1852(2.3)
10	6/305(1.9)	9/583(1.5)	18/535(3.3)	33/1423(2.3)
12	2/797(0.2)	4/483(0.8)	23/597(3.8)	29/1877(1.5)
16	4/592(0.6)	5/489(1.0)	21/647(3.3)	30/1728(1.7)
18	0/492	2/514(0.3)	15/692(2.2)	17/1698(1.0)
20	0/405	2/508(0.3)	11/590(2.3)	13/1596(0.8)
24	0/553	0/273	0/586	0/1412

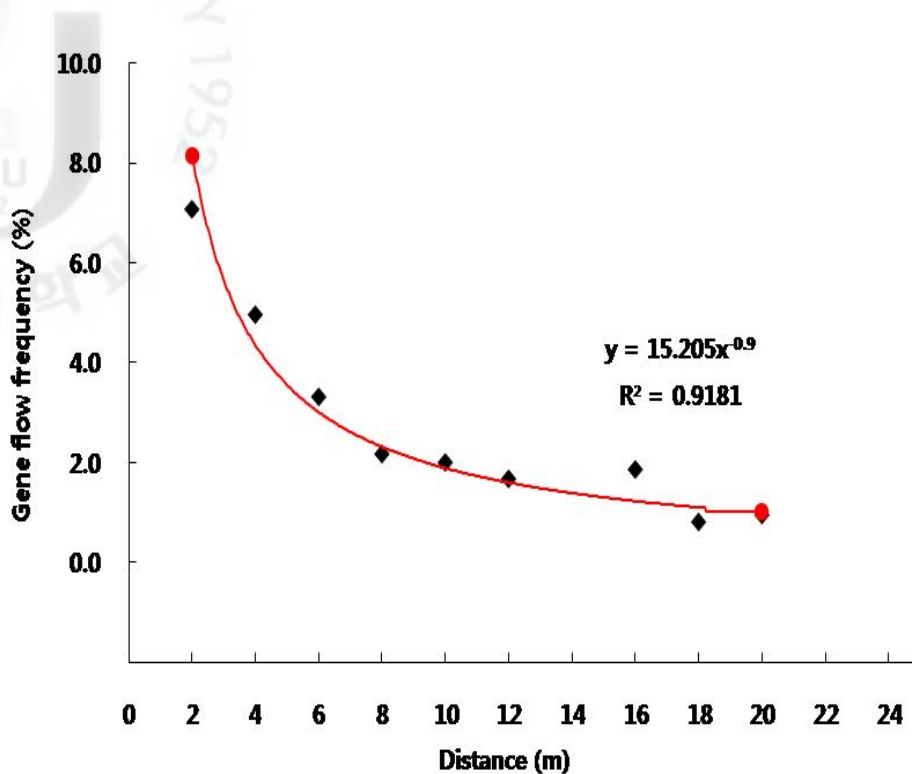


Figure 19. Mean frequencies of gene flow from herbicide-tolerant GM to non-GM zoysiagrass in Field to Field model.

#### 라. 방사형 모형에서 유전자 이동 빈도 조사

방사형 모형에서 거리에 따른 유전자 이동 빈도는 3m에서는 3.7%의 유전자 이동 빈도를 보였으며, 6m에서는 1.7%의 유전자 이동 빈도를 보였다(Table 4). 또한 3m에서 방향에 따른 유전자 이동 빈도를 보면, 전체적으로 북동, 남서, 서 방향에서 높은 유전자 이동 빈도를 가지는 것으로 조사되었으며 기상청 자료를 통한 풍향 및 풍속의 빈도 또한 순풍인 북동, 동, 남서 방향(북동 → 남서; GM → non-GM, 남서 → 북동; GM → non-GM, 동 → 서; GM → non-GM)에서 높은 빈도를 보이는 것으로 조사되었다(Figure 18). 이러한 결과는 본 설계 모형과 유사한 벼의 경우에도 풍향 및 풍속에 의해 유전자 이동에 영향을 미친다고 보고(Song *et al.*, 2004)되었으며, 들잔디의 경우에도 풍향 및 풍속 등과 같은 기상 조건에 영향을 받는 것으로 사료된다.

Table 4. Gene flow study in the 2010 from GM to non-GM zoysiagrass at a range of distances in radial model. Values are the number of basta painting seedlings/number of germinated seeds examined. Numbers in parentheses are the gene flow frequencies(%).

Distance from GM plot (m)	N	NE	E	ES	S	SW	W	WN	Pooled data
3	16/540(3.0)	50/693(7.2)	17/447(3.8)	10/563(1.8)	11/751(1.5)	41/754(5.4)	33/596(5.5)	2/142(1.4)	180/4486(3.7)
6	4/322(1.2)	19/501(3.8)	7/591(1.2)	3/231(1.3)	3/334(0.9)	17/712(2.4)	15/536(2.8)	0/3	68/3230(1.7)
9	1/172(0.6)	3/308(1.5)	3/579(0.2)	4/677(0.1)	1/605(0.2)	5/746(0.7)	5/648(0.8)	2/158(1.3)	24/3893(0.7)

## 종합고찰

제초제 저항성 GM 들잔디의 유전자 이동은 화분의 생존능력에 의해 많은 영향을 받는다. 유전자 이동성을 검정하기 전 화분의 생존능력 및 방출패턴을 확인하였으며, 기내 조건에서 온도 및 습도 변화에 따른 화분의 생존능력과 대기조건에서 화분의 생존능력에 대해 조사하였다.

제 1장은 들잔디 화분 생존능력은 온도 및 습도 변화에 민감하게 반응하였으며, 생존 수명 또한 영향을 받는 것으로 조사되었다. 다른 작물들에서도 화분은 온도 및 습도변화에 민감하게 반응한다고 보고되고 있다(Koubouris *et al.*, 2009). 또한 들잔디 화분의 수명은 맑은 날 보다는 흐린 날에 더 길게 생존능력을 가지는 것으로 조사되었는데 Tall fescue(Wang *et al.*, 2004)에서도 이와 비슷한 결과를 보인다고 보고되고 있다. 잔디류들의 화분의 생존능력은 대체적으로 3시간 정도 생존 하는 것으로 보고되고 있는데(Huang *et al.*, 2004; Teare *et al.*, 1969) 들잔디도 이와 비슷하게 화분의 생존능력을 가지는 것으로 조사되었다.

들잔디의 하루 주기에 따른 화분의 생존능력과 방출패턴은 비슷한 시간에 높게 형성되었으며, 벤투그라스(Fei *et al.*, 2003), 옥수수(Luna *et al.*, 2001) 그리고 사탕수수(Stephens *et al.*, 1934)에서도, 약간의 시간에 차이는 있지만 들잔디와 비슷한 시간에 높은 생존능력을 가지는 것으로 보고되었다. 화분의 생존능력 및 방출 패턴은 유전자 이동 빈도를 조사 하는데 중요한 정보가 될 것으로 사료되며, 전통 육종을 통한 형질을 개량하여 우수한 품종을 개발할 때 인공수분의 시기 및 조건을 확립할 수 있을 것으로 기대된다.

제 2장은 설계모형을 통한 유전자 이동 빈도에 대해 조사를 진행하였다. 이는 환경위해성 평가 항목 중 가장 중요한 부분으로써 최근에 보고된 GM 벤투그라스의 유전자이동성을 살펴보면 재배면적에서 약 3.8km 떨어진 자연서식지에서 근연종 및 타종 식물체로 유전자 이동성이 확인 되었고(Reichman *et al.*, 2006), 4,453 ha의 재배면적에서 약 21km 외부까지 화분 비산에 의한 유전자 이동 가능성이 확인되어(Watrud *et al.*, 2004) 미국에서 재배 승인이 보류되고

있는 실정이다. 그러므로 제초제 저항성 GM 들잔디 또한 유전자 이동성 부분에 대한 검정이 중요하게 작용하고 있는 실정이다.

유전자 이동성을 평가하기 전 자연방임상태에서 동종 및 근연종의 근접거리에서 유전자 이동율을 확인 하였다. 동종에서는 높은 유전자 이동율을 보였으며, 근연종에서도 낮은 빈도이지만 유전자 이동율을 보였다. 근접거리에서 유전자 이동율을 기반으로 설계모형에서 유전자 이동성을 확인하였다.

단방향, 포장 대 포장, 방사형 모형 등 3개의 설계 모형을 통한 유전자 이동성은 제초제 저항성 GM 들잔디의 재배 면적이 증가 하였을 경우 유전자의 이동 빈도 또한 증가 하였으며, 풍향 및 풍속이 증가 하였을 경우에도 유전자의 이동 빈도가 증가 하였다.

다른 작물들에서도 본 실험과 동일 한 설계모형에서 유전자 이동성을 보면, 단 방향 모형인 고추(5 x 5m)의 유전자 이동성은 약 20m 였으며(Kim *et al.*, 2009), 포장 대 포장인 옥수수(150 x 150m)에서 유전자 이동성은 약 200m 정도 였다(Henry *et al.*, 2003). 그리고 방사형 모형에서 벼의 유전자 이동성은 약 32.4m 였다(Song *et al.*, 2004). 작물 마다 유전자 이동성에 차이를 보이는 원인으로 화분을 매개하는 방법, 화분의 생존 수명, 기상 조건 등 여러 가지 요소들에 의해 영향을 받는 것으로 보고되었다. 따라서 제초제 저항성 GM 들잔디의 유전자 이동성은 재배면적이 큰 필드에서 조사할 필요가 있을 것으로 보여지며, 이 연구를 통해 비록 짧은 거리 이지만 격리 거리를 추정하는데 중요한 정보를 제공할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 한정된 재배면적에서 추정할 수 없는 유전자 이동성은 격리 필드 주변의 동종과 근연종에 대한 모니터링을 통한 유전자 이동성을 조사 하여 이결과로 유전자 이동성을 분석 할 수 있을 것으로 사료 된다.

## 참고 문헌

Bae T.W, Lee H.Y, Ryu K.H, Lee T.H, Lim P.O, Yoon P.Y, Park S.Y, Riu K.Z, Song P.S, and Lee Y.E (2007) Evaluation of horizontal gene transfer from genetically modified zoysiagrass to the indigenous microorganisms in isolated GMO field. Kor. J. Plant Biotechnol. 34:75-80.

Bae T.W, Vanjildorj E, Song S.Y, Nishiguchi S, Yang S.S, Song I.J, Chandrasekhar T, Kang T.W, Kim J.L, Koh Y.J, Park S.Y, Lee J, Lee Y.E, Ryu K.H, Riu K.Z, Song P.S, Lee H.Y (2008) Environmental Risk Assessment of Genetically Engineered Herbicide-Tolerant *Zoysia japonica*. J Environ Qual 37:207-218

Bhattacharya K and Datta B.K, (1992) Anthesis and pollen release of some plants of West Bengal, India. Grana 31:67-71

최동근, 양근모, 최준수 (2008) 자연 방임수분 상태에서 한국잔디류의 개화기간, 유전특성 및 타가수분율. Kor. turfgrass Sci.,22(1)13~24

Ficher G, Shah M, Velthuizen H(2002) Climate change and agricultural vulner ability. IIASA, Vienna, Austria

Fei S, and Nelson E (2003) Estimation of Pollen Viability, Shedding Pattern, and Longevity of Creeping Bentgrass on Artificial Media. Crop Sci. 43:2177-2181

Ge Y.X, Norton T, Wang Z.Y(2006) Transgenic zoysiagrass (*Zoysia japonica*) plants obtained *Agrobacterium* by -mediated transformation Plant Cell Rep.25:792-798

Henry C, Morgan D and Weekes D (2003) Farm scale evaluations of GM crops: monitoring gene flow from GM crops to non-GM equivalent crops in the vicinity: part I: forage maize. DEFRA report EPG 1/5/138, [http://www.defra.gov.uk/environment/gm/research/pdf/epg\\_1-5-138.pdf](http://www.defra.gov.uk/environment/gm/research/pdf/epg_1-5-138.pdf)

Hodges A.W, Haydu J.J, van Blokl P.J, and Bell A.P (1994) Contribution of the turfgrass industry to florida's economy, 1991-1992. University of Florida.

Honda M, Kono M (1963) 芝の形態並びに解剖學的研究. 特に日本芝 *Zoysia japonica* Steud. について. 千葉大園藝學部學術報告 11: 1-22.

Huang, Z, Zhu J, Mu X, and Lin J (2004) Pollen dispersion, pollen viability and pistil receptivity in *Leymus chinensis*. Ann. Bot. (London) 93:295-301.

James C(2010) Global status of Commercialized Biotech/GM Crop. ISAAA report No.40

Kang H.G, Bae T.W, Jeong O.C, Sun H.J, Lim P.O, Lee H.Y (2009) Evaluation of viability, Shedding Pattern, and Longevity of Pollen from Genetically Modified (GM) Herbicide-tolerant and Wild-type Zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.). J Plant Biol 52:630-634

Kim C.G, Park KW, Lee B, Kim D.I, Park J.Y, Kim H.J, Park J.E, An J.H, Cho KH, Jeong S.C, Choi K.H, Harn C.H, Kim H.M (2009) Gene flow from genetically modified to conventional chili pepper(*Capsicum annuum* L.) plant sci 176: 406-412



김형기(1991) 잔디학. 선진문화사. 25쪽.

Kitamura F (1967) 芝生と芝生用植物, 加島喜代志, 東京, pp 45-65

Koubouris Georgios C, Metzidakis Ioannis T, Vasilakakis Miltiadis D (2009) Impact of temperature on olive (*Olea europaea* L.) pollen performance in relation to relative humidity and genotype. J Exp. Bot. 67:209-214

이재필, 김석정, 서한용, 이상재, 정종일, 한인송, 김두환 (2001) 미국 플로리다 주의 잔디업 기여도와 한국 잔디산업의 현황 및 전망. 한국잔디학회지 15(4):187-198.

Luna S, Figueroa J.M, Baltazar M.B, Gomez L.R, Townsend R, and Schoper J.B. (2001) Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. Crop Sci. 41:1551-1557.

Park W.S, Yeh W.H, Lee S.W, Han S.S, Lee J.S, Lim C.K, Lee Y.H (2008) Electron Microscopic Study for the Influence of Soaking in Hot Water and Prochloraz Solution on Spore and Mycelium of *Fusarium fujikuroi* Infected in Rice Seed Res. Plant Dis. 14: 176-181

Pfender W, Graw R, Bradley W, Carney M, Maxwell L (2007) Emission Rates, Survival, and Modeled Dispersal of Viable Pollen of Creeping Bentgrass. Crop Sci. 47:2529-2539.

Reichman J.R, Watrud L.S, Lee E.H, Burdick C.A, Bollman M.A, Storm M.J, King G.A and Smith C.M (2006) Establishment of transgenic herbicide-resistant creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera* L.) in non agronomic habitats. Molecular Ecology 15:4243-4255

산림청 (2006) 2005년 임산물 생산통계.

Song Z.P, Lu B.R, Chen J.K (2001) A study of pollen viability and longevity in *Oryza ufiogon*, *O. sativa*, and their hybrids. IRR26:31-32

Song Z.P, Lu B.R, Zhu Y.G, Chen J.K (2004) Gene flow from cultivated rice to the wild species *Oryzaru fipogon* under experimental field conditions. New Phytologist157: 657-665

Song Z, Lu B.R and Chen J (2004) Pollen flow of cultivated rice measured under experimental conditions. Biodiversity and Conservation 13: 579-590.

Stephens J.C, and Quinby J.R (1934) Anthesis, pollination, and fertilization in sorghum. J. Agric. Res. (Washington, DC) 49:123-136.

Sun H.J, Kanng H.G, Bae T.W, Cho T.G, Kim J.K, Lim P.O, Riu K.Z, Lee H.Y (2010) Assessment of Phosphinothricin Acetyltransferase (PAT) Degradation From Transgenic Zoysiagrass Digested with Simulated Gastric Fluid (SGF). J. Plant Biol. 53(2):113-120

Teare I.D, Anwar Maun M, and Canode C.L (1969) Viability of Kentucky bluegrass pollen (*Poa pratensis* L. 'Newport') as influenced by collection time and temperature. Agron. J. 62:515-516.

Toyama K, Bae C.H, Kang J.G, Lim Y.P, Adachi T, Riu K.Z, Song P.S, and Lee H.Y (2003) Production of herbicide-tolerant zoysiagrass by *Agrobacterium*-mediated transformation. Mol. Cells 16:19-27.

Watrud L.S, Henry L.E, Fairbrother A, Burdick C, Reichman J.R, Bollman M,

Storm G, King and Van P.K de Water (2004) Evidence for landscape-level, pollen-mediated gene flow from genetically modified creeping bentgrass with CP4 EPSPS as a marker. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:14533-14538.

Wang Z.Y, Ge Y, Scott M, German S (2004) Viability and longevity of pollen from transgenic and non-transgenic tall fescue (*Festuca arundinacea*) (Poaceae) plants. American Journal of Botany 91: 523-530.

Yeom D.Y, Murray J.J, Plortz H.L, Joo Y.K (1985) Optimum seed coat scarification and light treatment for the germination of zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.) seed. Kor. Soc. Hort. Sci 26: 179-185

Yu T.Y, Kim D.Y, Joong Y (1975) Promoting of low temperature and dark germinating potentiality in red light treated seeds of Zoysia grass (*Zoysia japonica* Steud.) Kor. Soc. Hort. Sci 16:225-232

윤정호, 이재필, 김두환 (2006) 잔디 생산특허기술의 현황 및 산업화. 한국잔디학회지 20(1): 107-118.

Zhang L, Wu D, Zhang L, Yang C (2007) *Agrobacterium*-mediated transformation of Japanese lawngrass (*Zoysia japonica* Steud.) containing a synthetic *cryIA(b)* gene from *Bacillus thuringiensis*. Plant breeding 126 (40):428-432

## 감사의 글

학부생 4학년 때부터 시작한 오랜 연구소 생활에서 많은 분들이 함께 해주셨습니다. 힘들어 포기하고 싶은 시기 때마다 그 분들이 해주시는 짧은 조언이 저를 더 채찍질하여 학위과정을 포기하지 않고 이렇게 끝까지 올 수 있게 하였습니다. 그 많은 은인을 만나게 된 것이 저에게 큰 행운이 아닐까 싶습니다.

호랑이 이 효 연 교수님, 공부 안하는 저를 끝까지 포기 하지 않고 학위 과정을 마칠 수 있도록 힘을 실어 주신 것에 대한 감사는 말로 표현 할 수가 없는 것 같습니다. 학위 하는 3년 동안 몇 번이고 그만 둘까 했는지 모르겠습니다. 하지만 저를 지탱해주고 챙겨주신 은혜 때문에 끝까지 할 수 있었던 것 같습니다. 그 은혜 잊지 않도록 노력하겠습니다.

저의 영원한 멘토 진 일 두 교수님, 포장에서 교수님께서 제게 해주신 말씀들이 저에게 용기가 되어 힘든 시기를 극복 할 수 있도록 하였습니다

3세부 팀장 강 홍 규 교수님, 기본에 대한 중요성을 알게 해주신 고마우신 우리 팀장님!! 말도 잘 안 듣고 잘 찾아 가지도 않아서 미우셨을 텐데 끝까지 친절하게 아들처럼 챙겨주셔서 감사합니다.

제겐 너무 시크한 최 정 근 교수님, 조금 일찍 교수님을 만났더라면, 저에게 더 큰 행운 이었을 텐데 졸업하는 시기에 만나서 교수님을 귀찮게 하네요. 죄송합니다.

아직도 소년 같으신 선 현 진 교수님, 내색은 안하시지만 묵묵히 걱정해 주신 것 또한 저에게는 큰 행복 이었습니다.

저의 영원한 사부 배 태 웅 교수님, 친형과 동생 사이처럼 편안하게 연구 할 수 있도록 인도해주신 것 감사합니다.

의리로 뭉친 송 인 자 교수님, 어머니와 같은 자상함으로 저희를 보살펴 주신 것 감사합니다. 앞으로 뒤에서 잘 서포터 하도록 하겠습니다.

마지막으로 제가 가장 사랑하는 부모님과 누나 형들, 공부할 때 마다 뒤에서 묵묵히 뒷바라지 하시느라 고생 많이 하셨습니다. 이제 그 고생에 대한 보답을 하도록 하겠습니다. 또한 감사합니다!!

많은 사람들은 힘든 시기가 있다고 합니다. 그 힘든 시기를 어떻게 극복하는가는 자기 노력도 중요하지만 지인들의 작은 조언이 큰 힘이 된다고 합니다. 저 또한 여러 많은 지인들의 격려와 조언으로 그 힘든 시기를 극복하였으며 저를 한 단계 더 발전 시켜 이 논문을 완성한 것 같습니다. 학위과정 중 저에게 힘을 실어준 모든 분께 진심으로 감사의 말씀을 드리며 이 논문을 올립니다.