

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2009-0121633 (43) 공개일자 2009년11월26일
(51) Int. Cl. A01H 5/00 (2006.01)	(21) 출원번호 10-2008-0047622 (22) 출원일자 2008년05월22일 심사청구일자 2008년05월22일	(71) 출원인 고려대학교 산학협력단 서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내 (72) 발명자 서용원 서울특별시 성북구 안암동5가 1 고려대학교 생명과학대학 (74) 대리인 이문섭

전체 청구항 수 : 총 4 항

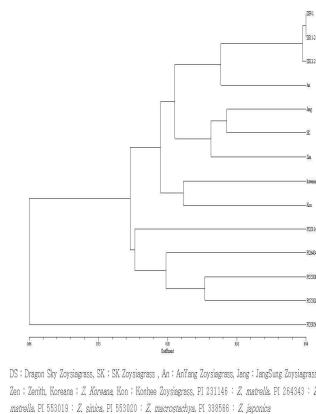
(54) 한국잔디 신품종 용천

(57) 요약

본 발명은 한국 잔디 신품종 용천(Dragon Sky)에 관한 것이다.

본 발명에 따른 한국 잔디 신품종 용천(Dragon Sky)은 잔디의 생육 생태적면에서 초장이 짧고, 꽃대 수가 적으며, 짙은 녹색을 띠고, 잎이 부드러운 특징을 가진다. 또한 포복경의 길이에 비해 많은 포복경의 수와 절간 수를 가지고, 피복 시 피복면적의 잔디 조밀도가 높은 특징을 갖는다. 따라서 빠른 피복속도, 시각적 효과, 및 관리비용의 최소화의 장점으로 인해 골프장용, 조경용, 및 식생피복용 등 널리 활용할 수 있는 특성이 있다.

대표도 - 도4



특허청구의 범위

청구항 1

본 발명은 국내수집 중지계통 간 인공교배하여 선발된 클론을 방임수분하여 선발되고, 하기의 특성을 가지며 줄기 (stolon)나 뿌리 (rhizome)에 의해 영양번식 되는 잔디 신품종 용천(Dragon Sky):

- (a) 초장 : 17 ~ 34 cm ;
- (b) 엽길이 : 12 ~ 24 cm ;
- (c) 엽폭 : 0.3 ~ 0.5 cm ;
- (d) 포복경의 수(개/6000cm²) : 5 ~ 29 ;
- (e) 포복경의 절간수 : 3 ~ 12 ; 및
- (f) 포복경의 길이 : 7 ~ 37 (cm).

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 잔디 신품종 용천(Dragon Sky)은 한국 농업미생물 자원센터([www://kacc.rda.go.kr](http://kacc.rda.go.kr))에 기탁(수탁번호 : KACC 98001P)된 것을 특징으로 하는 잔디 신품종 용천(Dragon Sky).

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 잔디 신품종 용천(Dragon Sky)은 서열번호 1의 프라이머(OPA-08)를 사용하여 RAPD 분석할 경우, 2354 bp의 특이 밴드를 나타내고, 서열번호 2의 프라이머(OPW-02)를 사용하여 RAPD 분석할 경우, 1244 bp의 특이 밴드를 나타내고, 서열번호 3의 프라이머(OPZ-04)를 사용하여 RAPD 분석할 경우, 752 bp의 특이 밴드를 나타내는 것을 특징으로 하는 잔디 신품종 용천(Dragon Sky).

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 잔디 신품종 용천(Dragon Sky)은 초장이 짧고, 엽길이는 길며, 꽃대 수가 적고, 포복경의 수와 절간수가 많으며, 엽색이 진한 녹색이고, 휴면에 이르러서는 심홍색(crimson)계통의 색소가 잎 선단 쪽부터 집적되며, 포복경의 길이 대비 절간수가 많아 단위 면적당 조밀도가 큰 것을 특징으로 하는 잔디 신품종 용천(Dragon Sky).

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

<1> 본 발명은 한국잔디 신품종 용천(Dragon Sky)에 관한 것으로, 국내수집 중지계통 간 인공교배 [청북도 연기군 금남면 봉기리 하천변 수집종 (모본) / 충청북도 영동군 심천면 초강리 하천변 수집종 (부분)]하여, 초장이 17 ~ 34 cm, 엽길이가 12 ~ 24 cm, 엽폭이 0.3 ~ 0.5 cm, 포복경의 수(개/6000 cm²)가 5 ~ 29, 포복경의 절간수가 3 ~ 12, 포복경의 길이가 7 ~ 37 cm인 특성을 가지며, 줄기나 뿌리에 의해 영양번식되는 잔디 신품종 용천(Dragon Sky)에 관한 것이다.

배경 기술

<2> 최근에 잔디의 이용이 늘면서 조성 속도가 빠르고 조성 방법이 용이한 품종, 생육 지속 기간이 긴 품종, 종자형 품종 등 각 목적에 부합되는 다양한 품종의 개발이 절실하게 요구되고 있으며, 이러한 요구를 충족시키기 위해 다수의 영양계 신품종들이 등장하고 있다. 또한 한국잔디는 계통마다 종자의 휴면 정도에 차이가 있어 자연발아율이 높은 품종을 육성하는 것이 가능하고(Forbes & Ferguson, J. Am. Soc. Agron., 40:725-32, 1952), 현재 미국에서 'Zenith', 'J37', 'J36' 등과 같이 종자형 품종이 만들어져 보급되고 있다 (Ruemmele & Engelke, Grounds Maintenance, April, 92-126, 1990).

- <3> 한국잔디의 품종 육성은 미국에서부터 시작되었다. 한국잔디가 탐험가들에 의해 아시아지역으로부터 미국으로 들어간 시기는 1895년부터 1900년 초 사이로 보고되고 있다 (Ruemmele & Engelke, Grounds Maintenance, April, 92-126, 1990; Christians & Engelke, Choosing the right grass to fit the environment. p.99-113. In: A.R. Leslie (ed.). Integrated pest management for turf and ornamentals, CRC Press, Levis Publishers, 1994). 그 당시 미국의 잔디 육종가들은 잎이 거친 들잔디(*Z. japonica*), 잎이 매우 가늘고 내한성이 약한 비단잔디(*Z. tenuifolia*), 그리고 이들의 중간적 특성을 보이는 금잔디(*Z. matrella*)가 잔디로서의 가능성이 있다고 판단했으며, 내염성이 강한 갯잔디(*Z. sinica*)와 왕잔디(*Z. macrostachya*)는 잔디 관리자들로 부터 호응을 얻지 못했다.
- <4> 그러한 이유로 미국에서 처음으로 선발된 계통은 금잔디 계통 중 잎이 곱고, 밀도가 높은 형태인 FC13521이었다. 그러나 FC13521 은 내한성이 낮아(Beard, J.B., Turfgrass: Science and Culture. Pretice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J. p.132-147&511, 1973), 그 이용이 줄어들었으며, 그 이 후 1951년 들잔디로부터 선발된 'Meyer'가 내한성, 진한 녹색, 중엽형의 특성을 보이며 우수한 잔디로 이용되었다. 1955년에는 미국 농무성에서 들잔디와 비단잔디를 인공교배해서 만든 F1 교잡종인 'Emerald'가 개발되었다. 'Emerald'는 들잔디의 특성중 하나인 내한성과 비단잔디의 특성인 높은 밀도의 특성을 공유해 우수한 잔디로 평가되었으나, 내병성이 약하다는 단점을 보였다.
- <5> 국내에서는 1965년부터 서울대학교에서 한국잔디 연구가 시작되었으며, 콜히친(colchicine)처리에 의한 돌연변이 유도에 관한 연구가 보고되었고(Lim, Y.P., Studies on the colchicine induced mutant in zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.), MS Thesis, Seoul National University, 1982), 인공교배를 통해 중간 교배가 가능함을 확인하였다 (Hong & Yeam, J. Kor. Soc. Hort. Sci. 26(2):169-78, 1985). 이들은 한국 잔디류는 5종간에 교배 화합성이 있으며, 중간교잡종들은 형태적인 특성에 있어 대부분 양친의 중간형을 나타내었고, 생육속도에 있어서는 잡종강세 현상을 나타내었다고 보고하였으며, 다수의 인공교배 계통을 작성하였다.
- <6> 이후, 서울대학교에서 육성한 수집 및 인공교배계통 중 47계통을 1990년 단국대학교에서 분양 받아 잔디육종을 시작했으며, 1991년과 1992년에 걸쳐 한반도의 남해안과 서해안에서 총 93개의 지역종을 수집하여, 유전자원을 확보하였다. 이들 수집계통을 동위효소 분석과 RAPD 분석을 통해 한국잔디의 기본 5종의 특성을 확인하였으며 (Yang, et al., 한국원예학회지 36(2):240-7, 1995; Choi, et al., 한국원예학회지 38(4):399-407, 1997; Choi, et al., J. Kor. Soc. Hort. Sci. 38(6):789-95, 1997), 이를 기본으로 하여, 선발, 인공교배, 합성품종, 형질전환 등의 방법으로 한국잔디를 육성하여 왔다.
- <7> 한국잔디는 다년생 초본류로 화본과에 속하며, 포복경 및 지하경을 가지고 번식하는데 지역에 따라 형태나 특성에 있어 많은 변이를 나타내고 있다. 지금까지의 연구에 의하면 한국에는 들잔디 (*Z. japonica*), 금잔디 (*Z. matrella*), 비로드 잔디 (*Z. tenuifolia*), 갯잔디 (*Z. sinica*), 왕잔디 (*Z. macrostachya*)등 5-6종의 잔디가 분포되어 있는 것으로 보고 되고 있다. 한국잔디는 난지형잔디로서 한국을 포함한 극동아시아에 널리 자생하고 있으며, 정원, 공원, 경기장, 골프장, 도로비탈면, 간척지, 공항 등 거의 모든 장소에서 이용되고 있다. 특히, 한국잔디는 우리나라 기후에 있어 가장 적합한 잔디이며, 다른 한지형 양잔디 및 다른 난지형 잔디보다도 환경적응성이 뛰어나다. 특히 내건성, 내담압성, 내한성, 내서성, 내염성등이 강한 것으로 알려져 있다. 그러나, 잔디조성이 늦고, 녹색기간이 짧은 등의 단점을 가지고 있어 그에 따른 우수한 품종에 대한 육종이 요구되어지고 있다.
- <8> 1992년 생물다양성 협약을 계기로 세계 각국이 유전자원의 중요성을 보다 심각하게 인식하기 시작하였고, 우수한 유전자원은 물론, 그의 성능이나 특성이 미처 밝혀지지 않은 유전자원도 나라밖의 반출이나 분양이 갈수록 어려워지고 있다.
- <9> 12월 생물다양성 국제 협약이 발효된 이후 세계 각국은 앞다투어 자국의 종자를 챙기기에 바빴다. 생물다양성 협약이 각국의 고유종자에 대한 소유권을 인정해주기 때문이었다.
- <10> 상기 잔디 중 우리나라의 골프장, 경기장, 공원 등에 이용되는 잔디종은 대부분 들잔디이고, 남부지방에서는 금잔디도 일부 사용되고 있으나, 체계적으로 선발되어 육종된 품종은 거의 개발되지 않은 상태이다.
- <11> 미국과 일본 등의 선진국들이 발 빠르게 우리나라와 동남아시아의 우수한 특성을 보이는 잔디를 수집하고, 이를 이용하여 잔디육종을 수행하고, 우수한 품종을 세계 각국에 판매하여 국제시장에서 우위를 점유하고 있는 데 반하여, 우리나라의 경우는 현재 시장에서 유통되고 있는 한국잔디의 대부분이 임의로 선발하여 증식시킨 것이 대부분이기 때문에, 품종의 구분도 명확하지 않고, 여러 종류의 잔디가 무분별하게 섞여 있어, 균일성도

떨어진다. 또한, 최근에는 외국에서 수입된 잔디가 싼 가격에 유통되고 있어서, 한국 잔디 시장경쟁력을 저하시키고 있다. 따라서, 우수한 유전형질과 생육특성을 보이는 한국잔디를 수집하고 이를 이용하여 우수한 특성을 보이는 잔디를 육성하는 것이 시급히 요구되고 있다.

- <12> 생육 및 생태학적 특성조사는 식재되어있는 재배환경에 따라 변이가 있으므로 유전적으로 고정된 유전체정보를 기초로 한 분자마커의 개발이 필수적이며, 분자마커개발 방법에 있어서도 안정적으로 재현성이 있는 마커 시스템을 이용해야한다. 따라서 잔디의 품종 구별을 위하여 생육 생태학적 특성조사 및 안정적 분자마커의 종합적 정보가 함께 제공되어야한다.
- <13> RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA, Williams JGK et al., 1990, DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers., Nucleic Acids Res., 18:6531-6535)는 최초의 PCR-based marker 라고 할 수 있는데, 이는 genomic DNA 상에서 약 10-mer 로 구성된 primer 와 일치된 부분을 PCR 에 의해 증폭된 DNA 분석하는 마커이다. 이는 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)와는 달리 증폭된 DNA 량이 충분하여 radioisotope 혹은 chemically-labelled 된 probe 를 필요로 하지 않고, 분리된 gel 상에 ethidium bromide 를 처리하여 hybridization 과정 없이 DNA 변이를 분석할 수 있는 방법이다.
- <14> 본 발명자들은 충청북도 연기군 금남면 봉기리 하천변 수집종(모본)과 충청북도 영동군 심천면 초강리 하천변 수집종(부분)을 인공교배를 통해 선발한 후대를 다시 시험포장에서 방임수분을 통하여 얻은 후대에서 생육이 우수한 계통인 신품종 용천을 선발하고, 상기 신품종이 초장이 짧고, 엽길이는 길며, 꽃대 수가 적고, 포복경의 수와 절간수가 많으며, 엽색이 진한 녹색이고, 포복경의 길이 대비 절간수가 많아 단위 면적당 조밀도가 큰 것을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- <15> 따라서 본 발명의 주된 목적은 국내 잔디 신품종을 육성하고, 신품종에 대한 생육 형태적, 분자유전학적 특성을 비교하여 다른 잔디들과의 비교하는데 있다.
- <16> 본 발명의 다른 목적은 초장이 짧고, 엽길이는 길며, 꽃대 수가 적고, 포복경의 수와 절간수가 많으며, 엽색이 진한 녹색이고, 휴면에 이르러서는 심홍색(crimson)계통의 색소가 잎 선단 쪽부터 집적되며, 포복경의 길이 대비 절간수가 많아 단위 면적당 조밀도가 큰 것을 특징으로 하는 상기 한국잔디 신품종 용천(Dragon Sky)을 이용하여 국내 각종 골프장, 공원, 절개지, 또는 녹화 사업 등에 활용하는데 있다.

과제 해결수단

- <17> 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 국내수집 중지계통 간 인공교배[충청북도 연기군 금남면 봉기리 하천변 수집종(모본) / 충청북도 영동군 심천면 초강리 하천변 수집종(부분)]하여 선발된 클론을 증식하여 선택된 클론의 우수계통들을 방임수분하여 선발되고, 하기의 특성을 가지며 줄기(stolon)나 뿌리(rhizome)에 의해 영양번식되는 잔디 신품종 용천(Dragon Sky)을 제공한다:
- <18> (a) 초장 : 17 ~ 34 cm ;
- <19> (b) 엽길이 : 12 ~ 24 cm ;
- <20> (c) 엽폭 : 0.3 ~ 0.5 cm ;
- <21> (d) 포복경의 수(개/6000 cm²) : 5 ~ 29 ;
- <22> (e) 포복경의 절간수 : 3 ~ 12 ; 및
- <23> (f) 포복경의 길이 : 7 ~ 37 (cm).
- <24> 본 발명에 있어서, 중지(中芝)란 중엽형 한국잔디를 의미하며, 야지와 달리 줄기가 직립형이고 엽폭이 3~5mm로 질감이 부드러우며 병해에 강한 장점이 있다.
- <25> 본 발명의 한국잔디 신품종 용천(Dragon Sky)은 종자 500 닢 이상 건조상태에서 발아시험을 수행한 후, 농업생명공학연구원 (<http://www.niab.go.kr>)에 기탁 (수탁번호 KACC 98001P)되었다.
- <26> 본 발명의 한국잔디 신품종 용천(Dragon Sky)은 국내 중부지역에서 수집한 수집 종들을 포장 (충청남도 금산)에

서 평가한 후, 우수계통들을 선발하여 방임수분을 수행하였다. 우수계통들의 방임수분으로 얻어진 종자는 안성 [(주)삼덕 포장]에 파종되었으며 이들로부터 얻어진 식물체의 증식 및 평가가 수행되었다. 그 후 우수한 clone에 대한 runner (stolon)를 확보하여 증식을 하였다. 증식된 용천(Dragon Sky)중지의 봄철녹화속도, 피복률은 타 잔디류와 비교해서 봤을 때 보통으로 나타났으며 잎의 색상은 약간 짙은 편에 속하는 것으로 조사가 되었다. 또한 Genetic Color 는 짙은 녹색을 띠고, fall color 와 winter color 는 일반 잔디들과 비슷한 색상을 보였으며, Leaf texture 는 타 잔디류에 비해서 약간 부드러운 편이다.

<27> 신품종 잔디 용천(Dragon Sky) 34클론에 대한 RAPD 분석결과 동일 포장 내에서 재배되었지만 다소 유전적으로 변이를 보였다. 이러한 경향은 국내 외 잔디 품종에서 똑같이 보인다. 따라서 본 발명에서는 용천품종 내 다수를 대표하고 그들 간에 유전적 근연관계가 가장 높은 집단을 선발하였고, 그 대표종이 용천 9-1, 11-2, 12-2 이다. 선발된 신품종 용천(Dragon Sky) 대표종과 타 잔디류[안양중지, 장성중지, SK중지, 제니스, 건희), 고려잔디(*Z. matrella*, PI231146, PI264343), 갯잔디(*Z. sinica*, PI 553019), 왕잔디(*Z. macrostachya*, PI 553020), 금잔디(*Z. matrella*, PI 338566), 들잔디(*Z. japonica*, PI 338566)와 RAPD 분석을 통하여 다른 잔디류와의 유전적 변이를 조사하였다. 이 결과 신품종 용천(Dragon Sky)은 primer OPA-08(5'-GTG ACG TAG G-3'), OPW-02(5'-ACC CCG CCA A-3')에서 용천 고유의 다형성 밴드(polymorphic bands)를 확인할 수가 있었다.

<28> 본 발명에 있어서 상기 잔디 신품종 용천(Dragon Sky)은 서열번호 1의 프라이머(OPA-08)를 사용하여 RAPD 분석할 경우, 2354 bp의 특이 밴드를 나타내고, 서열번호 2의 프라이머(OPW-02)를 사용하여 RAPD 분석할 경우, 1244 bp의 특이 밴드를 나타내는 것을 특징으로 한다. 본 발명의 상기 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA, Williams JGK, et. al., 1990, DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers., Nucleic Acids Res., 18:6531-6535)는 최초의 PCR-based marker 라고 할 수 있는데, 이는 genomic DNA 상에서 약 10-mer 로 구성된 primer와 일치된 부분을 PCR 에 의해 증폭하여 분석하는 마커다. 이는 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)와는 달리 증폭된 DNA 량이 충분하여 동위원소(radioisotope) 혹은 화학적 표지(chemically-labelled)된 probe 를 필요로 하지 않고, 분리된 gel 상에 ethidium bromide 를 처리하여 hybridization 과정 없이 DNA 변이를 분석할 수 있다.

<29> 본 발명에 있어서, 상기 잔디 신품종 용천(Dragon Sky)은 초장이 짧고, 엽길이는 길며, 꽃대 수가 적고, 포복경의 수와 절간수가 많으며, 엽색이 진한 녹색이고, 포복경의 길이 대비 절간수가 많아 단위 면적당 조밀도가 큰 것을 특징으로 한다. 본 발명에 의한 한국잔디 신품종 용천(Dragon Sky)은 잔디의 생육 생태적인 특성으로 초장이 짧고, 엽길이는 긴 형태를 띠며, 꽃대 수가 적고, 포복경의 수와 절간수가 많은 특징을 보이며, 짙은 녹색을 띠고, 휴면에 이르러서는 심홍색(crimson)계통의 색소가 잎 선단 쪽부터 집적되는 특징을 지니고 있다. 단위면적당 이삭의 수는 타 잔디류에 비해서 적은 편이고, 길이는 들잔디를 제외한 타 잔디류보다 긴 편이다. 하지만 이삭 길이는 이삭을 포함한 꽃대의 길이에 대해서 짧은 편에 속했다. 포복경의 길이는 보통 일반잔디의 평균의 특성을 갖지만, 절간수는 다소 많아서 단위면적당 우수한 피복률에 기여한다. 특히, 신품종 용천(Dragon Sky)은 포복경의 길이 대비 절간수가 많기 때문에 단위 면적당 조밀도가 크다는 장점이 있어서 피복이 고르며 조밀한 특징을 보인다. 또한 잎이 부드러운 특징을 지니고 있어서 골프장과 조경용으로 적합하며, 빠른 피복속도와 시각적 효과 그리고 관리비용을 최소화할 수 있는 효과가 있다.

<30> 신품종 용천(Dragon Sky) 발명에 있어서 생리학적 특징 이외에 유전학적 분석을 통하여 신품종 용천(Dragon Sky)과 한국잔디간의 유전학적 차이를 확인하기 위해 아래의 분석을 사용하였다.

<31> 본 발명은 신품종 용천(Dragon Sky)과 국내 Zoysiagrass 품종 (안양중지, 건희), 국내 Zoysiagrass 계통(장성중지, SK 중지), 국외 Zoysiagrass 품종(제니스) 및 USDA/ARS (National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland 20705, U.S.A.) 에서 분양받은 Zoysia 계통[*Z. matrella* (PI 231146, PI 264343), *Z. sinica* (PI 553019), *Z. macrostachya* (PI 553020), *Z. japonica* (PI 338566)] 간에 있어서 신품종 용천(Dragon Sky)의 고유의 특이성[유전체 (genome), 생육, 생태]을 확인하여 용천중지의 대표종을 선발하고 이들에 대한 분자마커개발을 하고자 본 발명을 수행하였다.

<32> 본 발명에서는 상기 신품종 용천(Dragon Sky)의 형태적, 생리적, 분자유전학적 특성을 연구하기 위하여 기존 특허 출원 시 잔디에 대한 생육 생태학적 조사 항목 이외 추가로 NTEP (National Turfgrass Evaluation Program)의 잔디평가항목에 따른 평가를 수행하였다. 이러한 통계분석을 통하여 생육 생태학적 조사항목의 정확성을 높였다. 또한 신품종 용천(Dragon Sky) 특이 분자마커 개발을 위하여, Operon 10-mer Primer 의 대량검정을 통하여 신품종 용천(Dragon Sky) 개체 특이 RAPD marker 를 확보하였다. RAPD (random amplified polymorphic DNA)를 이용하여 용천중지를 차별화시킬 수 있는 고유의 polymorphic DNA bands 확보하였다.

<33> 본 발명은 신제품 용천(Dragon Sky)과 그 밖의 잔디류의 생육, 형태적 특성 조사, RAPD를 통한 용천중지 집단 내 변이분석, 용천중지 특이 RAPD marker 개발 및 검정을 실시하였다.

<34> 이하, 본 발명의 신제품 용천(Dragon Sky)의 형태적, 생리적, 분자유전학적 특성, 및 신제품 용천(Dragon Sky) 고유의 분자마커 개발에 대하여 본 발명의 구체적인 구성을 실시예에 따라 상세히 설명한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<35> 실시예 1. 잔디 신제품 “용천(Dragon Sky)”의 육성과정

<36> 국내에서 수집(표 1)한 총 34 종의 잔디들을 각 수집집단에서 런너(runner)를 선별하여 포장(대전광역시 유성구 금탄리 시험포)에 줄 때 식재하였다.

<37> [표 1]. 잔디 수집지역

주 소	위 치	비 고
강원도 홍천군 남면 제곡리	하천변	홍천강지류
강원도 홍천군 남면 남노일리	하천변	홍천강지류
경기도 화성시 팔탄면 지월리	하천변	
충청북도 청원군 현도면 중척리	하천변	금강지류
충청북도 청원군 옥산면 환희리	하천변	
충청북도 청원군 강내면 황탄리	하천변	
충청북도 연기군 금남면 봉기리	하천변	금강지류
충청북도 연기군 금남면 도암리	하천변	금강지류
충청북도 영동군 심천면 초강리	하천변	
충청북도 영동군 양강면 구강리	하천변	
충청남도 천안시 풍세면 남관리	하천변	
충청남도 아산시 배방면 갈매리	하천변	
충청남도 금산군 복수면 지량리	하천변	금강지류
충청남도 부여군 장암면 합곡리	하천변	
충청남도 공주시 우성면 옥성리	하천변	
충청남도 공주시 사곡면 호계리	하천변	
충청남도 공주시 유구읍 만천리	하천변	
충청남도 보령시 남포면 삼현리	하천변	
충청남도 보령시 주교면 주교리	하천변	
충청남도 예산군 예산읍 발연리	하천변	
충청남도 예산군 신암면 계촌리	하천변	
경상북도 안동시 임하면 임하리	하천변	
경상북도 안동시 풍산읍 마애리	하천변	
경상북도 의성군 안사면 쌍호리	하천변	
전라북도 진안군 동향면 능금리	하천변	
전라북도 진안군 동향면 학선리	하천변	

<38>

주 소	위 치	비 고
전라북도 무주군 안성면 진도리	하천변	
전라북도 익산시 용안면 용두리	하천변	
전라북도 완주군 봉동읍 신선리	하천변	
전라남도 구례군 구례읍 신월리	하천변	
전라남도 화순군 이서면 창랑리	하천변	
전라남도 화순군 남면 용리	하천변	
전라남도 무안군 몽탄면 당초리	하천변	
전라남도 함평군 나산면 계동마을	하천변	

<39>

<40> 줄 때 식재 후, 증식된 잔디들의 포장평가를 하였고, 포장평가는 주로 생장력, 줄기밀도, 잎의 조밀도, 직립성, 계절별 색채, 내병성, 내한성에 관하여 검정을 하여 종합적으로 평가하였다. 평가를 통하여 선별된 우수한 수집 계통은 교배를 위하여 이식하였고, 이식된 계통들 중 최종 평가를 수행한 후 선별된 계통들 간에 인공교배(표 2)를 하였다.

<41> [표 2]. 우수 수집종 간 교배 조합

모 본	부 본
경기 화성시 팔탄면 지월리 하천변	충북 청원군 현도면 중척리 하천변
충남 아산시 배방면 갈매리 하천변	강원 홍천군 남면 제곡리 하천변 (홍천강지류)
충남 예산군 신암면 계촌리 하천변	경북 안동시 임하면 임하리 하천변
충남 부여군 장암면 합곡리 하천변	충남 공주시 유구읍 만천리 하천변
충남 보령시 주교면 주교리 하천변	경북 의성군 안사면 쌍호리 하천변
충북 연기군 금남면 봉기리 하천변	충북 영동군 심천면 초강리 하천변
충북 연기군 금남면 도암리 하천변	충남 천안시 풍세면 남판리 하천변
전남 구례군 구례읍 신월리 하천변	전남 화순군 이서면 창량리 하천변
전남 무안군 몽탄면 당초리 하천변	전남 함평군 나산면 계동리 하천변
전북 진안군 동향면 능금리 하천변	전북 무주군 안성면 진도리 하천변
전북 익산시 용안면 용두리 하천변	전북 완주군 봉동읍 신선리 하천변

<42>

<43>

인공교배하여 나온 각 교배 조합 별 F1 종자는 대전시 유성구 금탄리 시험포에 파종 되어 F1 식물체 평가 후, 생장력, 줄기밀도, 잎의 조밀도, 직립성, 계절별 색채(질은적색)의 특성을 갖는 우수 교배조합 계통(충청북도 연기군 금남면 봉기리 하천변 수집계통 / 충청북도 영동군 심천면 초강리 하천변 수집계통)을 최종 선발하여 안성[(주)삼덕 포장]에 식재 증식하였다.

<44>

실시에 2. 유전자원의 수집 및 육성

<45>

신품종 용천(Dragon Sky)의 특성 조사 및 DNA Marker 개발을 위하여 실시에 1에 서 선택된 우수계통들의 방임수분으로 얻어진 종자를 안성 [(주)삼덕 포장]에 파종하였다. 이들 종자들을 종자 500 닢 이상 건조상태에서 발아시험을 수행한 후, 농업생명공학연구원(<http://www.niab.go>)에 기탁하여 수탁번호 KACC 98001P를 받았다. 이들 신품종 용천(Dragon Sky)의 증식 및 평가를 수행하였다.

<46>

안양중지, 장성중지, 일동레이크의 SK중지(가칭), 제니스(Zenith), 들잔디(*Z. japonica*, PI 338566)를 분양 받아 고려대학교 포장에서 재배를 하였고, 일부는 유리온실에서 재배 및 유지하였다.

<47>

실시에 3. 신품종 잔디 용천(Dragon Sky)의 생육 형태적 특성 조사

<48>

신품종 용천(Dragon Sky)의 생육 생태적 특성은 고려대학교 실험포장(덕소농장)에서 이루어졌으며, 다른 Zoysiagrass 품종들도 같이 식재되었다. 포장은 식재면적에 따라 모두 3부분(포장 I, II, III)으로 나누었으며, 포장 I 과 II에는 각각 3 반복을 두었다.

<49>

시험포장 I 은 각 잔디별로 30 × 200 cm의 크기로 3반복을 했으며, 조사항목별로 30개체씩 조사를 하였다. 초장, 엽길이, 엽폭, 포복경의 수, 포복경의 절간수, 포복경의 길이, 이삭 출현시기, 이삭/꽃대의 수, 이삭길이, 이삭당 종자수, 종자길이, 종자너비, 및 종자무게에 관하여 조사하였다. 그 결과 신품종 용천(Dragon Sky)은 표 3에 기재된 생육, 형태적 특징을 보였다.

<50> [표 3]. 신품종 용천(Dragon Sky)과 다른 잔디류 간의 형태적 특징 비교

조사항목 품종	초장(cm)	엽길이(cm)	엽폭(cm)	포복경의 수 (개/6000cm ²)	포복경의 절간수(개)	포복경의 길이(cm)	이삭 출현시기
용천중지1	30.39	21.98	0.42	84	8.03	11.02	5월중순~ 6월초순까지
용천중지2	25.51	25.51	0.52	85	8.57	16.92	
용천중지3	34.02	27.42	0.47	82	7.67	16.76	
들잔디1	32.79	26.62	0.50	32	5.37	11.12	5월초~ 6월초순까지
들잔디2	36.20	27.61	0.53	42	5.03	9.31	
들잔디3	34.28	27.55	0.51	54	6.03	15.31	
안양중지1	29.22	19.20	0.45	54	8.53	23.97	5월중순~ 6월초순까지
안양중지2	31.14	21.34	0.44	61	7.17	19.06	
안양중지3	30.14	22.21	0.45	74	7.47	23.62	
SK중지1	26.99	21.72	0.47	4	4.75	7.33	5월초~ 5월중순까지
SK중지2	26.19	19.55	0.46	5	3.40	5.64	
SK중지3	25.33	29.31	0.47	6	4.33	9.33	
장성중지1	34.59	20.06	0.42	114	7.57	37.81	5월초~ 5월말까지
장성중지2	28.59	21.60	0.42	108	7.00	33.54	
장성중지3	30.19	29.31	0.43	136	6.43	52.06	
제니스1	36.81	21.73	0.37	43	6.50	20.11	5월초~ 6월초순까지
제니스2	35.80	25.70	0.44	85	5.90	15.35	
제니스3	27.46	21.76	0.48	58	5.27	15.70	

<51>

조사항목 품종	이삭/꽃대의 수 (개/6000cm ²)	꽃대(이삭포함) 길이(cm)	이삭길이 (cm)	이삭당 종자수(개)	종자길이 (mm)	종자너비 (mm)	종자무게 (mg/20개)
용천중지1	17	9.72	2.73	24.12	2.78	1.02	10.1
용천중지2	8	6.95	2.53	29.25			
용천중지3	21	7.79	2.70	25.48			
들잔디1	218	10.79	3.24	33.07	3.74	1.00	19.9
들잔디2	61	9.06	3.23	34.13			
들잔디3	119	9.84	3.06	35.67			
안양중지1	0	0.00	0.00	0.00	3.84	1.06	13.1
안양중지2	1	5.40	2.00	19.00			
안양중지3	5	3.34	1.62	16.80			
SK중지1	513	7.28	2.46	33.24	3.00	0.98	15.0
SK중지2	644	7.29	2.78	33.87			
SK중지3	832	7.67	2.98	33.23			
장성중지1	112	6.79	2.81	24.87	2.37	1.01	13.5
장성중지2	48	6.92	2.96	23.23			
장성중지3	136	6.58	3.08	25.30			
제니스1	890	7.78	2.69	25.30	2.54	1.06	18.0
제니스2	1110	8.36	2.52	26.60			
제니스3	1480	6.55	2.73	23.40			

<52>

<53> 조사 결과, 신품종 용천(Dragon Sky)는 다른 중지류에 비해서 초장은 짧고, 엽길이는 긴 형태를 띠며, 엽폭은 크게 눈에 띄지는 않지만, 조금 넓은 특징을 띄고 있다. 포복경의 전반적인 특징을 보면, 포복경의 수와 절간수는 많은 편에 속하지만, 포복경의 길이는 보통에 속하는 정도로 조사가 되었고, 포복경 길이에 비해 많은 절간을 가지고 있었다. 이삭(꽃대) 출현 시기는 5월 중순에서 6월 초순까지이며, 이삭/꽃대의 수는 타 잔디류에 비해 적은 편이다. 이삭/꽃대의 길이는 들잔디를 제외한 다른 잔디류 보다 긴 편이지만 이삭의 길이는 이삭/꽃대의 길이에 대해서 짧은 편이다. 종자의 길이는 다른 잔디류에 비해 보통이며, 너비는 짧고 무게는 가벼운 결과를 얻었다.

<54> 시험포장 II에서는 봄철녹화속도, 색상, 피복률, 화서출아시기, 이삭/꽃대의 수, 꽃대(이삭포함)의 길이, 휴면시기, Genetic Color, 및 Leaf Texture 를 조사하였다. 시험포장 II에서 조사된 잔디별 채적면적은 150 × 300 cm 이며, 시험포장 I 과 같이 3반복을 하였다. 시험포장 II에서는 봄철녹화속도, 색상, 피복률, 이삭출현시기, 이삭/꽃대의 수, 꽃대(이삭포함)의 길이, 휴면시기, Genetic Color, Leaf Texture, Fall color, Winter color, 종자길이, 종자너비, 종자무게, 및 종자색을 조사하였다. 미국의 National Turfgrass Evaluation Program

(NTEP)의 잔디평가 항목을 참고하여, 봄철녹화속도, 색상, 휴면시기, Genetic Color, Leaf Texture, Fall color, Winter color 는 측정단위를 0에서 9까지 나누었다. 0은 제일 낮은 것으로 9는 최고를 나타낸다. 시험포장 II에서 조사한 결과를 표 4에 나타내었다.

[표 4]. 신품종 용천(Dragon Sky)과 다른 잔디류간의 형태적 특징 비교

조사항목 품종	봄철녹화속도		색상		피복률		이삭 출현시기	이삭 수(개)		휴면시기		Genetic Color	
	개별 평균	전체 평균	개별 평균	전체 평균	개별 평균	전체 평균		개별 평균	전체 평균	개별 평균	전체 평균	봄	여름
용천중지1	4.56	4.63	4.44	4.48	55.9	49.8	5월 중순	36	19	7.27	7.09	9	9
용천중지2	4.22		4.50		47.0		~6월 초순	12		7.09		9	9
용천중지3	5.11		4.50		46.4			8		6.91		9	8
들잔디1	5.11	5.183	4.44	4.40	53.6	53.8	5월초순	1300	3150	7.09	7.21	8	8
들잔디2	5.22		4.44		50.9		~6월초순	980		7.36		9	9
들잔디3	5.22		4.33		56.8			870		7.18		8	9
안양중지1	3.33	3.33	4.28	4.26	45.5	41.8	5월중순	19	28	7.27	7.12	8	9
안양중지2	3.11		4.22		37.3		~6월초순	56		7.09		8	9
안양중지3	3.56		4.28		42.7			7		7.00		8	9
SK중지1	4.89	5.146	3.56	3.81	61.5	60.6	5월초순	2200	1950	8.36	8.36	7	9
SK중지2	5.22		4.22		60.5		~5월중순	1750		8.27		7	9
SK중지3	5.33		3.67		59.7			1900		8.45		7	9
장성중지1	4.11	4.26	4.22	4.16	52.9	47.5	5월초순	123	148	7.00	7.09	8	7
장성중지2	4.22		4.22		43.2		~5월말	71		7.18		8	7
장성중지3	4.44		4.06		46.3			250		7.09		8	7
제니스1	4.22	4.52	4.89	4.87	48.6	62.6	5월초순	3900	3184	6.73	6.57	9	9
제니스2	4.44		4.83		45.1		~6월초순	2900		6.64		9	9
제니스3	4.89		4.89		45.5			2750		6.36		9	8

조사항목 품종	Leaf Texture		Fall color		Winter color		종자길이 (mm)	종자너비 (mm)	종자무게 (mg/20개)	종자색
	개별 평균	전체 평균	03.10. 27	03.11. 19	03.12. 1	04.22. 6				
용천중지1	7.33	7.33	3	2	1	1	2.78	1.015	10.1	황색
용천중지2	7.33		3	1	1	1				
용천중지3	7.33		3	2	1	1				
들잔디1	8	7.77	3	1	1	1	3.74	1	19.9	황색
들잔디2	8		2	1	1	1				
들잔디3	7.33		3	1	1	1				
안양중지1	7.33	7.33	3	2	1	1	3.835	1.06	13.1	황색
안양중지2	7.33		3	2	1	1				
안양중지3	7.33		3	2	1	1				
SK중지1	8	8	1	1	1	1	2.995	0.98	15	황색
SK중지2	8		1	1	1	1				
SK중지3	8		1	1	1	1				
장성중지1	7	7.22	3	2	1	1	2.37	1.005	13.5	황색
장성중지2	7.67		3	1	1	1				
장성중지3	7		3	1	1	1				
제니스1	8.67	8.44	4	2	2	1	2.54	1.055	18	황색
제니스2	8		4	2	2	1				
제니스3	8.67		5	2	2	1				

그 결과 신품종 용천(Dragon Sky)은 봄철녹화속도와 피복률에 있어서, 타 잔디류와 비교해서 봤을 때 평균치로 보였고, 색상은 약간 짙은 편에 속하는 것으로 조사되었다. 이삭출현 시기는 5월 중순부터 6월 초순이었고, 휴면 시기는 다소 느린 편이었다. Genetic color 는 짙은 녹색을 갖고, Fall color와 winter color 는 대부분 비슷한 경향을 가지며, 용천의 경우는 안양, 장성, 또는 들잔디와 비슷한 경향을 띠었다. SK중지가 가장 빨리 휴면기로 들어가면서 잎의 탈색이 진행되었고, 제니스는 잎의 녹색을 가장 오랫동안 유지하였다. 용천중지의 경우 Leaf Texture는 타 잔디류에 비해서 약간 부드러운 편이며, 종자의 길이와 너비는 평균정도 되지만 무게는 가장

적게 나가는 것으로 조사가 되었다.

<59> 시험포장 III(반지름 10 cm 원모양)은 2003년 10월 9일 대전의 삼덕조경(주)의 농장에서 임의로 선정한 17곳의 신품종 용천(Dragon Sky)을 sampling 하여 시험하였다. 각각의 조사항목은 기존의 국내 잔디품종의 특허출원 시 첨부된 조사 항목 이외에 미국의 NTEP (National Turfgrass Evaluation Program)의 잔디평가항목을 참고해서 국제적 신뢰성 있는 조사가 되도록 하였다. 조사는 크게 계절별로 시행이 되었고, 2003년 10월에 잔디가 식재되어 휴면기에 들어감으로써 2004년 봄부터 체계적인 조사를 시작하였다.

<60> 시험포장III에서는 신품종 용천(Dragon Sky)간의 변이성을 살펴보았다. 본 포장에서는 신품종 용천(Dragon Sky)간에 있어서 유전적 균일성을 확인하고 대표 종을 선발하기 위함이다. 신품종 용천(Dragon Sky)간에 있어서 형태적 변이는 다소 다양하게 나타났으나, 잔디의 재배 상 지역적 조건, 기후적 여건, 그리고 교배상황에 따라서 여러 가지의 상황이 만들어지기 때문에 신품종 용천(Dragon Sky)이 아닌 다른 잔디류에 있어서도 이런 경향을 띠고 있는 것으로 나타났다. 신품종 용천(Dragon Sky) 전체 sample 을 통하여 유전적으로 판단을 하였고, 신품종 용천(Dragon Sky)간 통계적 유의성이 없기 때문에 동일종으로 조사되었다(표5).

<61> [표 5]. 신품종 용천(Dragon Sky)간의 변이성

조사항목 품종	초장(cm)	엽길이(cm)	엽폭(cm)	포복경의 개수(개)	포복경의 길이(cm)	포복경의 절간수(개)
용천중지 1-1	20.04	13	0.4	21	23.8	6.4
용천중지 1-2	18.44	14.7	0.4	21	33.06	9.6
용천중지 2-1	26.2	18.62	0.46	15	29.74	6.8
용천중지 2-2	24.66	17.2	0.48	15	10.8	5.8
용천중지 3-1	22.4	12.74	0.38	8	13.34	6
용천중지 3-2	19.9	12.76	0.36	8	7.8	5.75
용천중지 4-1	17.6	14.3	0.32	5	23.5	8.33
용천중지 4-2	20.3	12.06	0.36	5	5.75	3
용천중지 5-1	18.56	15.86	0.3	16	36.44	10.6
용천중지 5-2	18.18	13.4	0.3	16	23.22	6.2

<62>

조사항목 품종	초장(cm)	엽길이(cm)	엽폭(cm)	포복경의 개수(개)	포복경의 길이(cm)	포복경의 절간수(개)
용천중지 6-1	25.94	21.24	0.32	24	18.82	8.8
용천중지 6-2	24.34	13.82	0.3	24	23.12	7.2
용천중지 7-1	19.16	18.44	0.34	14	25.76	7.8
용천중지 7-2	19.56	14.34	0.36	14	12.44	7
용천중지 8-1	26.08	18.26	0.34	20	25.78	8.2
용천중지 8-2	18.2	13.02	0.32	20	17.02	8.6
용천중지 9-1	28.88	23.06	0.3	19	40.76	8.4
용천중지 9-2	30	20.16	0.32	19	23.98	8
용천중지 10-1	33.38	17	0.34	17	32.86	8.2
용천중지 10-2	28.52	19.94	0.4	17	20.14	7.6
용천중지 11-1	29.18	20.2	0.32	12	16.24	7.2
용천중지 11-2	25.88	20.58	0.32	12	14.5	6.2
용천중지 12-1	24.9	19.46	0.32	12	26.68	9.4
용천중지 12-2	25.68	15.7	0.38	12	18.74	7.8
용천중지 13-1	33.38	26.36	0.4	16	35.18	10.4
용천중지 13-2	32.78	16.6	0.4	16	30.62	11.4
용천중지 14-1	23.98	21.5	0.46	10	19.78	6.4
용천중지 14-2	24.3	18.62	0.52	10	18.12	6.2
용천중지 15-1	23.88	19.22	0.36	10	23.64	9.6
용천중지 15-2	29.28	20.66	0.36	10	12.06	7.2
용천중지 16-1	22.18	15.7	0.36	8	14.64	5
용천중지 16-2	29	17.06	0.36	8	7.66	6.4
용천중지 17-1	24.22	21.18	0.4	29	17.22	7.4
용천중지 17-2	25.96	18.46	0.42	29	13.3	6.8

<63>

<64> 실시예 4. 신품종 용천(Dragon Sky)와 타 품종간 조사 항목별로 통계분석

<65> 시험포장 I에서 조사된 항목별로 자료를 수집했으며 수집된 데이터는 Statistical Analysis System (SAS

Institute Inc., Cary, NC) package 를 이용해서 통계분석하였다. 분산분석법은 PROC ANOVA procedures 를 사용한 데이터로 근거하였다. 또한 다른 조사항목 사이의 유의수준은 최소유의차검정[Least Significant Difference (LSD)]에 따랐으며 상관관계는 PROC CORR procedures 를 이용하였다.

<66> 각각의 특징인 초장[plant height (PH)], 엽폭[width of leaf (WOL)], 엽길이[length of leaf (LOL)], 이삭/꽃대의 수[number of flower (NOF)], 이삭길이[length of inflorescence (LOI)], 꽃대(이삭포함) 길이[length of peduncle (LOP)], 이삭당 종자수 [number of spikes per inflorescence (NSPI)], 포복경의 길이[length of stolon (LOS)], 포복경의 수[number of stolon (NOS)], 포복경의 절간수[number of internode (NOI)]를 통계처리 하였으며 각 잔디별로 30개체씩 조사한 평균값은 아래와 같다(표 6).

<67> [표 6]. 신품종 용천(Dragon Sky)과 타 잔디류 간의 형태적 특성 조사에 따른 비교

Accessions Replication		Characteristics									
		PH (n=30/rep.)	WOL (n=30/rep.)	LOL (n=30/rep.)	NOF (n=30/rep.)	LOI (n=30/rep.)	LOP (n=30/rep.)	NSPI (n=30/rep.)	LOS (n=30/rep.)	NOS (n=30/rep.)	NOI (n=30/rep.)
Dragon Sky	1st	30.39	0.42	21.98	17	2.73	9.72	24.12	11.02	84.00	8.03
	2nd	25.51	0.52	25.51	8	2.53	6.95	29.25	16.92	85.00	8.57
	3rd	34.02	0.47	27.42	21	2.70	7.79	25.78	16.76	82.00	7.67
	Mean	29.97 ^{ab}	0.47 ^{ab}	24.97 ^{ab}	15.33 ^c	2.65 ^a	8.15 ^{ab}	26.28 ^{bc}	14.90 ^{cd}	83.67 ^b	8.09 ^a
Deljandee	1st	32.79	0.50	26.62	218	3.24	10.79	33.07	11.12	32.00	5.37
	2nd	36.20	0.53	27.61	61	3.23	9.06	34.13	9.31	42.00	5.03
	3rd	34.28	0.51	27.55	119	3.06	9.84	35.67	15.31	54.00	6.03
	Mean	34.42 ^a	0.51 ^a	27.26 ^a	132.67 ^c	3.18 ^a	9.90 ^a	34.29 ^a	11.91 ^{cd}	42.67 ^c	5.48 ^c
Anyang	1st	29.22	0.45	19.20	0	0.00	0.00	0.00	23.97	54.00	8.53
	2nd	31.14	0.44	21.34	1	2.00	5.40	19.00	19.06	61.00	7.17
	3rd	30.14	0.45	22.21	5	1.62	3.34	16.80	23.62	74.00	7.47
	Mean	30.17 ^{ab}	0.45 ^b	20.92 ^b	2.00 ^c	1.21 ^b	2.91 ^c	11.93 ^d	22.22 ^b	63.00 ^c	7.72 ^{ab}
SK	1st	26.99	0.47	21.72	513	2.46	7.28	33.24	7.33	4.00	4.75
	2nd	26.19	0.46	19.55	644	2.78	7.29	33.87	5.64	5.00	3.40
	3rd	25.33	0.47	29.31	832	2.98	7.67	33.23	9.33	6.00	4.33
	Mean	26.17 ^b	0.47 ^{ab}	23.53 ^{ab}	663.00 ^b	2.74 ^a	7.41 ^{ab}	33.45 ^{ab}	7.43 ^d	5.00 ^d	4.16 ^d
Jangsung	1st	34.59	0.42	20.06	112	2.81	6.79	24.87	37.81	114.00	7.57
	2nd	28.89	0.42	21.60	48	2.96	6.92	23.23	33.54	108.00	7.00
	3rd	30.19	0.43	29.31	136	3.08	6.58	25.30	52.06	136.00	6.43
	Mean	31.22 ^{ab}	0.42 ^b	23.66 ^{ab}	98.67 ^c	2.95 ^a	6.76 ^b	24.47 ^c	41.14 ^a	119.33 ^a	7.00 ^b
Zenith	1st	36.81	0.37	21.73	890	2.69	7.78	25.30	20.11	43.00	6.50
	2nd	35.80	0.44	25.70	1110	2.52	8.36	26.60	15.35	85.00	5.90
	3rd	27.46	0.48	21.76	1480	2.73	6.65	23.40	15.70	58.00	5.27
	Mean	33.36 ^a	0.43 ^b	23.06 ^{ab}	1160.00 ^a	2.65 ^a	7.60 ^{ab}	25.10 ^c	17.05 ^{cb}	62.00 ^c	5.89 ^c

□□ Duncan's multiple-range test applied to group means, which is followed by same letter were not significantly different at 0.01 probability levels.

PH : plant height, WOL : width of leaf, LOL: length of leaf, NOF : number of flower, LOI : length of inflorescence, LOP : length of peduncle, NSPI : number of spikes per inflorescence, LOS : length of stolon, NOS : number of stolon, NOI : number of internode.

<68>

<69>

<70> Duncan's test 에서 나온 결과로 신품종 용천(Dragon Sky)과 다른 잔디들 사이에 그룹핑이 가능한 것으로 나왔다. 다른 품종들과 눈에 띄게 그룹핑이 가능하지는 않았지만 여러 조사항목별로 타 잔디류와 다른 그룹핑이 가능하였다. 신품종 용천(Dragon Sky)을 제외한 다른 잔디들과 이와 비슷한 결과가 나왔으며 조사 항목별로 판단했을 때 각각 다른 품종인 것을 확인할 수 있는 자료가 되었다(표 6).

<71> 또한 위의 실시예 2에서 나온 결과와 같이 90개체(30개체 × 3반복)를 비교했을 때도 신품종 용천(Dragon Sky)은 다른 증지류에 비해 포장은 짧고 엽길이와 잎폭이 약간 긴 편으로 나왔다. 또한 포복경의 길이는 보통이지만 포복경의 길이에 비해 많은 절간을 가지고 있음으로써 단위 피복률의 조밀도가 다른 잔디보다 높은 결과가 나왔

다(표 7).

[표 7]. 신품종 용천(Dragon Sky)과 타잔디의 조사 항목 당 각각 90개체의 평균값

Accessions	Characteristics									
	LEN (n=90)	WOL (n=90)	LOL (n=90)	NOF (n=90)	LOI (n=90)	LOP (n=90)	NSPI (n=90)	LOS (n=90)	NOS (n=90)	NOI (n=90)
Dragon Sky	29.97	0.47	24.97	15.33	2.65	8.15	26.28	14.90	83.67	8.09
Deljandee	34.42	0.51	27.26	132.67	3.18	9.90	34.29	11.91	42.67	5.48
Anyang	30.17	0.45	20.92	2.00	1.21	2.91	11.93	22.22	63.00	7.72
SK	26.17	0.47	23.53	663.00	2.74	7.41	33.45	7.43	5.00	4.16
Jangsung	31.22	0.42	23.66	98.67	2.95	6.76	24.47	41.14	119.33	7.00
Zenith	33.36	0.43	23.06	1160.00	2.65	7.60	25.10	17.05	62.00	5.89
LSD _{0.05}	5.98	0.05	4.96	241.96	0.80	2.68	7.77	7.55	20.33	0.97

PH : plant height, WOL : width of leaf, LOL: length of leaf, NOF : number of flower, LOI : length of inflorescence, LOP : length of peduncle, NSPI : number of spikes per inflorescence, LOS : length of stolon, NOS : number of stolon, NOI : number of internode.

또한 잔디별로 조사항 항목들간의 상관관계를 살펴본 바에 의하면 꽃대(이삭포함) 길이(LOP)와 이삭당 종자수(NSPI) 사이에서 특별한 상관관계가 있으며($r = 0.85787***$), 이삭길이(LOI)는 꽃대(이삭포함) 길이(LOP) 및 이삭당종자수(NSPI)와 특별한 상관관계가 있었다($r = 0.89151***$, $0.87692***$). 또한 포복경의 길이(LOS)와 포복경의 수(NOS)가 상관관계가 있으며($r = 0.82**$), 포복경의 수(NOS)와 포복경의 절간수(NOI)도 상관관계가 있는 것으로 결과를 얻었다($r = 0.66**$). 위의 통계결과로 판단했을 때 실시예 2의 신품종 용천(Dragon Sky)과 타 잔디류간의 조사항목 결과를 신뢰할 수 있을 것으로 본다(표 8).

<75> [표 8]. 신품종 용천(Dragon Sky)와 타 잔디류 간에서 조사한 항목별 상관분석

	PH	WOL	LOL	NOF	LOI	LOP	NSPI	LOS	NOS	NOI
LEN	1.00	-0.18 ^{NS}	0.17 ^{NS}	-0.09 ^{NS}	0.18 ^{NS}	0.31 ^{NS}	0.04 ^{NS}	0.13 ^{NS}	0.25 ^{NS}	0.15 ^{NS}
WOL		1.00	0.47 ^{NS}	-0.13 ^{NS}	0.18 ^{NS}	0.24 ^{NS}	0.41 ^{NS}	-0.46 ^{NS}	-0.32 ^{NS}	-0.25 ^{NS}
LOL			1.00	-0.38 ^{NS}	0.52 ^{**}	0.50 ^{**}	0.51 ^{**}	0.01 ^{NS}	0.07 ^{NS}	-0.20 ^{NS}
NOF				1.00	0.19 ^{NS}	0.16 ^{NS}	0.22 ^{NS}	-0.29 ^{NS}	-0.36 ^{NS}	-0.58 ^{**}
LOI					1.00	0.89 ^{***}	0.87 ^{***}	-0.07 ^{NS}	0.03 ^{NS}	-0.49 ^{**}
LOP						1.00	0.86 ^{***}	-0.35 ^{NS}	-0.12 ^{NS}	-0.42 ^{NS}
NSPI							1.00	-0.39 ^{NS}	-0.33 ^{NS}	-0.66 ^{**}
LOS								1.00	0.82 ^{***}	0.45 ^{NS}
NOS									1.00	0.66 ^{**}
NOI										1.00

, * : Significant at the 0.01 and 0.001 probability levels, respectively. NS : None significant at $P \leq 0.05$
 PH : plant height, WOL : width of leaf, LOL: length of leaf, NOF : number of flower, LOI : length of inflorescence, LOP : length of peduncle, NSPI : number of spikes per inflorescence, LOS : length of stolon, NOS : number of stolon, NOI : number of internode.

<76>

<77> **실시예 4. Genomic DNA 추출**

<78> 충남 유성근교의 삼덕조경(주)의 농장에서 sampling 한 신품종 용천(Dragon Sky)의 17 계통으로부터 각각 bulk로 2 반복한 식물체들과 안양중지, 장성중지, SK중지(가칭), Zenith, 조이시아 코리아나(*Z. koreana*), 건희(Konhee), 고려잔디(*Z. matrella*, PI231146, PI264343), 갯잔디(*Z. sinica*, PI 553019), 왕잔디(*Z. macrostachya*, PI 553020), 및 들잔디(*Z. japonica*, PI 338566) 식물체의 잎 0.1 g에 1.5 ml의 extraction buffer(100 mM Tris pH 7.6~8.0, 50 mM EDTA pH 8.0, 100 mM NaCl, 1% SDS, 10 mM beta-mecarptoethanol)를 이용하여, 식물체 잎을 마쇄한 후 mixture를 1.5 ml tube 로 옮긴 다음 65℃ 에서 10분간 incubation 하였다. Incubation 후 0.5 ml 의 5 M potassium acetate 를 넣어준 다음 얼음에서 20분간 incubation 시켰다. 그 후 4℃ 14000 rpm 에서 20분간 원심분리를 하였다. 상등액을 filter paper 를 이용하여 한번 걸러준 다음 1 ml isopropanol 과 5 M ammonium acetate 0.1 ml 를 첨가한 후 -20℃ 에서 20분간 incubation 했다. 다시 4℃ 14,000 rpm 에서 20분간 원심분리를 한 후 DNA 침전물이 보이면 상등액을 제거했다. 상온에서 5~10분간 air dry 를 한 다음에 0.3 ml 의 증류수로 녹였다. Phenol : chloroform : isoamyl alcohol (v:v:v 25:24:1) 을 300 ml 넣은 다음 원심분리를 5분간 한 후 상등액을 새로운 tube 로 옮기고 Chloroform : Isoamyl alcohol (v:v 24:1)을 0.3 ml 를 넣어줬다. 다시 원심분리 후 새로운 tube 에 상등액을 옮기고 3 M sodium acetate pH 7.0 32 μ l 와 cold isopropanol 을 214 μ l 넣어줬다. 2분간 원심분리 후 상등액은 버리고 pellet 은 air dry 시켜 준 후 0.1 ml 의 증류수로 녹였다. 얻어진 genomic DNA 는 UV spectrophotometer 를 이용하여 순도측정과 정량을 하였다.

<79>

실시예 5. 첫 번째 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 를 통한 신품종 잔디 용천(Dragon Sky) 변이분석 및 특이적인 RAPD band 분석

<80> 충남 유성근교의 삼덕조경(주)의 농장의 17 곳을 임의로 택하여 용천중지를 sampling 하였으며, 각각의 sample 들로부터 2개의 식물 개체(clone)를 확보하여 총 34개의 용천 클론으로 각각의 변이성을 확인하기 위하여 RAPD 를 시행하였다. 시행함에 있어 안양중지, 장성중지, SK중지(가칭)은 각각 총 4개의 샘플을 사용하였으며, 그 중 3개는 각각 품종의 clone 이고 1개는 품종 bulk이다.

<81>

PCR 반응액 (Takara, Japan) 18.5 μ l 은 실시예 3에서 추출한 genomic DNA(20 ng/ μ l) 1 μ l, Operon random primer (2 μ l/ μ l, Operon Biotechnologis, Germany) 2 μ l, Taq polymerase(5 U/ μ l, Takara, Japan) 0.12 μ l, dNTP (2.5 mM) 1.28 μ l, 10X PCR buffer (2 μ l, Takara, Japan) 및 distilled water 12.1 μ l 로 반응시켰다.

PCR 반응은 94℃ 에서 5분간 denature 시킨 후 94℃ 에서 1분, 37℃ 에서 1분간 annealing, 72℃ 에서 2분간 extension 과정을 39회 반복 후 72℃ 에서 4분, 4℃ 로 PCR 반응을 종료하였다. PCR 이 끝난 후 0.1% agarose gel 과 EtBr 을 이용해서 전기영동(electrophoresis)을 시행하였다. 전기영동이 끝난 다음 UV illuminator 를 이용하여 PCR 반응으로 나타난 band 를 관찰하였고, 사진촬영을 하여 데이터로 사용하였다. PCR products 의 유 무에 따라서 1과 0으로 coding 하였고, 이것을 이용하여 binomial data matrix code 를 작성하여 유연관계를 살펴보았으며, NTSYSpc2 (<http://www.exetersoftware.com>)를 이용하여 근연관계를 살펴보았다.

<82> 신품중 용천(Dragon Sky) 17개 sample 중 각 sample 군별로 식물체를 bulk 로 하여 2반복씩 선발해서 각각 genomic DNA extraction 을 했으며, RAPD를 통한 신품중 용천(Dragon Sky)의 변이분석 결과 총 33개의 primer 를 사용하여 그 중 63.6% 인 21개에서 RAPD band 를 확인하였다. OPAA 1개, OPAD 2개, OPAJ 1개, OPC 4개, OPU 2개, OPV 3개, OPW 1개, OPX 1개, OPY 1개, OPZ 17개를 primer로 사용하였고, 각각의 sequence는 표 9에 나타 내었다.

<83> [표 9] 첫번째 RAPD 분석에 사용한 Operon Primers

Operon primer No.		Sequence	Operon primer No.		Sequence
OPAA	7	5'-CTACGCTCAC-3'	OPZ	1	5'-TCTGTGCCAC-3'
OPAD	2	5'-CTGAACCGCT-3'		2	5'-CCTACGGGGA-3'
	7	5'-CCCTACTGGT-3'		3	5'-CAGCACCGCA-3'
OPAJ	12	5'-CAGTTCCCGT-3'		4	5'-AGGCTGTGCT-3'
OPC	15	5'-GACGGATCAG-3'		5	5'-TCCCATGCTG-3'
	18	5'-TGAGTGGGTG-3'		6	5'-GTGCCGTTCA-3'
	19	5'-GTTGCCAGCC-3'		7	5'-CCAGGAGGAC-3'
	20	5'-ACTTCGCCAC-3'		9	5'-CACCCCAGTC-3'
OPU	1	5'-ACGGACGTCA-3'		11	5'-CTCAGTCGCA-3'
	4	5'-ACCTTCGGAC-3'		13	5'-GACTAAGCCC-3'
OPV	2	5'-AGTCACTCCC-3'		14	5'-TCGGAGGTTTC-3'
	9	5'-TGTACCCGTC-3'		15	5'-CAGGGCTTTC-3'
	11	5'-CTCGACAGAG-3'		16	5'-TCCCCATCAC-3'
OPW	2	5'-ACCCCGCCAA-3'		17	5'-CCTTCCCACT-3'
OPX	5	5'-CCTTTCCCTC-3'		18	5'-AGGGTCTGTG-3'
OPY	18	5'-GTGGAGTCAG-3'		19	5'-GTGCGAGCAA-3'
				20	5'-ACTTTGGCGG-3'

<84>

<85> 신품중 용천(Dragon Sky) 34 클론에 관한 RAPD 에 관한 결과는 PCR product 의 생성유무에 따라서 존재하면 “1 ”, 존재하지 않으면 “0” 로 하여 분석하였으며 그것을 정리한 원 데이터(row data)는 표 10 에 나타내었다.

<86>

[표 10]. 신평종 용천(Dragon Sky) 34 클론의 RAPD분석에 의한 binomial data matrix code

Primer sample	OPC-15	OPC-18	OPC-19	OPC-20	OPZ-3	OPZ-4	OPZ-5	OPZ-6
DS1-1	00010101	101101010	00101101	011011	110100	000110	110000	111010
DS1-2	00010101	101101010	00101101	011011	110100	000110	000000	111010
DS2-1	00000000	000000000	01101101	011111	111100	000000	110000	110110
DS2-2	01100101	000000000	01111110	001111	011100	000000	100110	111011
DS3-1	10010101	101101010	01101101	010011	110010	001110	100100	110110
DS3-2	11010101	001101010	00000000	010011	110100	000011	100010	111010
DS4-1	11010101	101101010	00111101	011111	110100	001110	100100	110010
DS4-2	10010101	101101010	10101101	000011	110010	000011	100100	111010
DS5-1	10010101	001100010	01101101	011011	110100	000011	100100	111010
DS5-2	10010101	101101010	00000000	011011	110100	001111	110100	111010
DS6-1	10010101	101101010	00101101	010101	110010	001111	100101	110110
DS6-2	10010101	101101010	00101101	010011	110010	001111	100100	110110
DS7-1	11010101	001101010	01101101	010011	110101	001011	100110	111010
DS7-2	11010101	001101010	01101101	000000	110101	001011	100110	111010
DS8-1	00010001	000000010	00001101	000011	000000	000000	000000	001010
DS8-2	10010101	001101010	01101101	010011	110100	001111	100100	111010
DS9-1	10010101	101101010	00101101	010011	110010	001110	100100	110010
DS9-2	10010101	101101010	00101101	010011	110010	001110	100100	111010
DS10-1	10010101	001101010	01101101	000000	110101	001011	100100	111010
DS10-2	10110101	101001010	01101101	011011	110010	001010	100100	101010
DS11-1	10010101	001101010	01101101	011011	110101	001011	100110	111010
DS11-2	10010101	101101010	00101101	010011	110010	001010	100100	110010
DS12-1	10010101	001101010	01001101	011011	110100	001011	100100	111010
DS12-2	10010101	101101010	00101101	010011	110010	001111	100100	110010
DS13-1	00000000	101101010	00101101	010011	110010	001111	100100	110010
DS13-2	10011001	001100010	01101101	010011	110100	001111	100100	111010
DS14-1	01100101	101101010	01101101	001001	010010	001111	100110	111011
DS14-2	10010101	101101010	01101101	000011	110100	001111	100100	100010
DS15-1	10010101	001101010	01101101	000000	110100	001010	100100	111010
DS15-2	10010101	101000010	01101101	010011	110010	001110	100100	111010
DS16-1	00000000	001101010	01001101	010011	110100	001011	100100	111010
DS16-2	10010101	000000000	01001101	010011	110100	001011	100100	111010
DS17-1	10010101	101101010	01011101	010011	110010	001110	100100	110010
DS17-2	10010101	001101000	01101101	010011	110100	001011	100110	111010
SK 1	01100001	001001000	10101110	001111	110010	110011	100110	111001
SK 2	01100000	001100000	01001110	001111	110010	110011	110000	111000
SK 3	01100001	001001000	00000000	001111	110010	010011	100000	111000
SK 4	00000000	000000000	00101110	001111	110010	010011	000000	111000
An 1	01100011	001101010	00000000	000011	110100	000000	000000	110000
An 2	01100011	101101010	00101000	010011	110100	100011	110000	110000
An 3	00100011	001100010	01101000	001011	110010	000011	000000	011000
An 4	01100011	001100010	00000000	100011	110010	000011	000000	110000
Jang 1	00000000	000001001	00100001	000000	000000	000000	000000	001000
Jang 2	01100011	011011000	01101110	000101	010010	000011	110000	111000
Jang 3	01100011	000000000	00101110	000011	110100	000010	110000	001000
Jang 4	01100011	101011000	01101110	000001	110100	000011	110000	111000

<87>

[†] 1은 band 존재, 0은 band 존재하지 않음. [†] DS : 신평종 용천(Dragon Sky), SK : SK종지, An : 안양종지, Jang : 장성종지

<88>

Primer sample	OPZ-7	OPZ-11	OPZ-13	OPZ-14	OPZ-17	OPZ-19	OPZ-20	OPU-1
†DS1-1	10011110	0001	011010	000000	10010100	1111110	100	00011110100
DS1-2	10011110	0001	010000	010010	00000000	1111110	100	00011110100
DS2-1	10011110	1001	011010	010010	11010100	1111111	110	00011110100
DS2-2	10001100	1010	001010	010010	00100101	1111110	010	00000000000
DS3-1	10011110	1010	010000	010010	10010100	1111111	100	00011110100
DS3-2	00000000	0000	011010	010010	10010100	1111111	000	00011110100
DS4-1	10011110	1010	011010	010010	10010100	1111111	100	01001110100
DS4-2	10011110	1001	011010	000000	10110100	1111110	000	00011110100
DS5-1	10011111	0001	011010	000000	10011100	1111111	000	00011110100
DS5-2	10011110	0001	010000	010010	10111100	1111110	100	00011110100
DS6-1	11011110	0010	010000	110010	10111100	1111111	100	00011110100
DS6-2	10011110	1110	011010	110010	10011100	1111111	100	00011110100
DS7-1	10011110	1001	011010	110011	10011100	1111111	100	00001110100
DS7-2	10011110	0000	011010	010010	00010010	1111111	100	00001110100
DS8-1	00000110	0000	001100	000000	00011100	0110011	000	10000010100
DS8-2	10011110	1001	011010	000000	10011100	1111111	000	00001110100
DS9-1	10011110	1010	011010	110010	10011100	1111111	110	00001110100
DS9-2	10011110	0010	011010	010010	10011100	1111111	110	00001110100
DS10-1	10011010	1001	011010	110010	11011100	1111111	110	00011110100
DS10-2	10111110	1010	011010	100010	11011100	1111111	110	00001110100
DS11-1	10011010	1001	011010	010010	00011100	1111111	110	00001110100
DS12-1	10011010	1001	011010	110010	00011100	1111111	110	00001110100
DS12-2	10111110	1010	011010	110010	10011100	1111111	110	00001110100
DS13-1	10101110	1010	011010	000000	10011100	1111111	100	00001110100
DS13-2	10011110	0001	011010	010000	11011100	1111111	110	00001110100
DS14-1	10001110	1010	001010	010010	01011101	1111110	010	00000010100
DS14-2	10011110	1010	011010	110010	11011100	1111111	110	00001110100
DS15-1	10101100	1010	011010	010000	10011100	1111111	100	00001110100
DS15-2	10101110	1010	011010	010010	10011100	1111111	100	00001010100
DS16-1	10101110	1001	011010	110010	11011100	1111010	100	00001110100
DS16-2	10011110	1001	011010	000000	00011100	1111111	100	00001010100
DS17-1	10011110	0000	011010	110010	11011100	1111111	000	00011110100
DS17-2	10011110	1001	011010	110010	00011100	1111111	100	00011110100
SK 1	10001110	1010	001011	001011	01001100	1111010	010	00001110011
SK 2	10001110	0001	001010	000111	01001100	1011010	000	00001111011
SK 3	10001110	0010	001010	000011	00000100	1111010	000	00001111011
SK 4	10001110	0010	001010	000010	00000101	0010010	000	00001111011
An 1	10011110	0010	011010	000000	00010100	1111110	000	00000010010
An 2	10011110	0010	011010	000010	10010100	1111110	100	00101110100
An 3	10101110	1010	011010	000000	10010100	1111110	100	00001110100
An 4	10101110	1010	011010	000000	10010101	1111110	100	00001110100
Jang 1	00000000	0000	101010	000000	00001001	0110010	000	00000000000
Jang 2	10101110	1001	001010	000000	01001101	1111110	011	00001111000
Jang 3	10101110	1110	001011	000011	01001101	1111110	011	00001000000
Jang 4	10101110	0010	001010	000010	00010100	1111110	011	00001010000

† 1은 band 존재, 0은 band 존재하지 않음. † DS : 신평종 용천(Dragon Sky), SK : SK중지, An : 안양중지, Jang : 장성중지

sample \ Primer	OPW-2	OPV-11	OPAJ-12	OPAD-2	OPV-2
†DS1-1	010100	1100011001	11111	00011	0001
DS1-2	010100	0100011001	11111	00011	0001
DS2-1	110101	1101010001	11111	00000	0001
DS2-2	000000	0101110000	11111	00011	0011
DS3-1	110101	1100010000	11111	00011	0011
DS3-2	110101	1100011001	11111	00011	0001
DS4-1	010100	1101010100	11111	00000	0001
DS4-2	010100	0010000000	11111	00011	0001
DS5-1	010100	0000000000	00000	00011	0001
DS5-2	010100	0000000000	11111	00000	0001
DS6-1	010100	1100010001	00000	10011	1001
DS6-2	000000	0000000000	11111	10011	1001
DS7-1	110110	1100011001	11111	00000	1101
DS7-2	110111	1100011001	11111	00011	1101
DS8-1	001000	1100010001	11111	10011	1101
DS8-2	110111	1100011001	11111	00000	1101
DS9-1	110111	1100010001	11111	10011	0000
DS9-2	000000	1100010001	11111	10011	1001
DS10-1	110111	1100011001	11111	00111	1111
DS10-2	110111	1100110001	11111	00111	1111
DS11-1	110111	1100111001	11111	00000	1111
DS11-2	110111	1100010001	11111	10111	1111
DS12-1	110111	1100111001	11111	00111	1111
DS12-2	110111	1100110001	11111	10111	1111
DS13-1	010101	1100010001	11110	00000	1111
DS13-2	010100	1100011001	11110	00011	0001
DS14-1	000100	0100111001	00000	10111	1001
DS14-2	010100	1101010001	11110	10111	0001
DS15-1	000000	1100011001	00000	00011	0001
DS15-2	010100	1100011001	11110	10111	1001
DS16-1	010100	1100011001	11110	00111	0001
DS16-2	000000	1100011001	00000	00000	0001
DS17-1	010100	1100011001	11110	10011	1001
DS17-2	000001	1100011001	00000	00011	0001
SK 1	010000	0101010001	01100	01011	0011
SK 2	010000	0101010000	01100	01011	1001
SK 3	010000	0101010001	00000	00011	0011
SK 4	000000	0000000000	00000	00011	0011
An. 1	000000	0000001000	00000	00000	0000
An. 2	010101	1100011001	00100	00011	0001
An. 3	010100	1100010001	00100	00011	0001
An. 4	010100	1100011001	00100	00011	0001
Jang 1	000000	0001000010	00000	00000	0001
Jang 2	000110	1100011001	01111	00000	1001
Jang 3	000110	0100011001	01111	00011	0011
Jang 4	000110	1100011001	00000	00011	0000

† 1은 band 존재, 0은 band 존재하지 않음. † DS : 신포종 용천(Dragon Sky), SK : SK중지, An : 안양중지, Jang : 장성중지

RAPD 결과에 따른 matrix 로 NTSYSp2 를 이용하여 근연관계를 살펴보고, 그 결과로 DS 3-1, 4-1, 6-2, 9-1, 9-2, 10-2, 11-2, 12-2, 13-1, 13-2, 14-2, 15-2, 16-1, 17-1 이 가장 가까운 유전 근연관계를 나타내었다(도 3). 근연관계 분석 결과 DS 9-1, 11-2, 12-2 이 가장 비슷한 유전체 조성을 보였다.

실시에 6. 두 번째 RAPD 를 통한 신포종 용천(Dragon Sky)의 특이적인 RAPD band 분석

근연관계 분석 결과 가장 유전적 연관이 있는 DS 9-1, 11-2, 12-2는 다른 잔디류인 안양중지, 장성중지, SK중지(가칭), Zenith, 조이시아 코리아나(*Z. koreana*), 건희, 고려잔디(*Z. matrella*, PI 231146, PI 264343), 갯잔디(*Z. sinica*, PI 553019), 왕잔디(*Z. macrostachya*, PI 553020)와 RAPD 분석을 통하여 용천(Dragon Sky) 대표 종 특이 RAPD marker 개발을 위한 PCR 을 수행하였다.

2번에 걸쳐 RAPD 를 진행하였고, 1차 RAPD 에서 사용한 Operon primer 는 12개이며, 사용한 primer 의

sequence 는 아래와 같다(표 11).

[표 11]. 1차 RAPD 분석에 사용한 Operon Primers

Operon primer No.		Sequence
OPA	1	5'-CAGGCCCTTC-3'
	2	5'-TGCCGAGCTG-3'
OPAD	2	5'-CTGAACCGCT-3'
OPAJ	12	5'-CAGTTCCCGT-3'
OPC	15	5'-GACGGATCAG-3'
	19	5'-GTTGCCAGCC-3'
	20	5'-ACTTCGCCAC-3'
OPW	2	5'-ACCCCGCCAA-3'
OPZ	4	5'-AGGCTGTGCT-3'
	6	5'-GTGCCGTTCA-3'
	14	5'-TCGGAGGTTC-3'
	19	5'-GTGCGAGCAA-3'

위의 RAPD 결과물 중 OPW-2(5'-ACCCCGCCAA-3') 에서 특히 용천중지만의 고유의 band 를 확인할 수 있었다.

OPW-2 의 1244 bp 에 있는 RAPD bands 는 다른 잔디류에서 보이지 않는 용천중지만의 고유의 RAPD bands 를 보여주고 있기 때문에 이들 마커를 신품종 용천(Dragon Sky)의 특이 RAPD 마커로 확인하였다(도 5).

추가로 2차 RAPD 는 60개의 Operon Primer 로 진행하였으며 진행한 방법은 다음과 같다. 실시예 5의 근연관계 분석 결과 가장 근연관계인 3개체(DS 9-1, DS 11-2, DS 12-2)를 타 잔디들[안양중지, 장성중지, SK중지(가칭), 건희, 제니스, 조이시아 코리아나(*Z. koreana*), 고려잔디(*Z. matrella*, PI231146, PI264343), 갯잔디(*Z. sinica*, PI 553019), 왕잔디(*Z. macrostachya*, PI 553020), 들잔디(*Z. japonica*, PI 338566)]과 RAPD를 통하여 비교를 하였다. 사용된 primer 는 QIAGEN사의 Operon 10-mer Primers (OPA series, OPC series, OPD series 각각 20개) 60개를 사용하였고, PCR band 의 유무에 따라서 1과 0으로 coding 을 하였다. Coding 된 결과는 NTSYSpc2 를 이용하여 신품종 용천(Dragon Sky) 대표종과 타 잔디류간의 근연관계를 살펴보았다(표 12, 13).

<102>

[표 12]. 2차 RAPD 분석에 사용한 Operon Primers

Operon primer No.		Sequence	Operon primer No.		Sequence	Operon primer No.		Sequence
OPA	1	5'-CAGGCCCTTC-3'	OPC	1	5'-TTCGAGCCAG-3'	OPD	1	5'-ACCGCGAAGG-3'
	2	5'-TGCCGAGCTG-3'		2	5'-GTGAGGCGTC-3'		2	5'-GGACCAACC-3'
	3	5'-AGTCAGCCAC-3'		3	5'-GGGGGTCTTT-3'		3	5'-GTCGCCGTCA-3'
	4	5'-AATCGGGCTG-3'		4	5'-CCGCATCTAC-3'		4	5'-TCTGGTGAGG-3'
	5	5'-AGGGGTCTTG-3'		5	5'-GATGACCGCC-3'		5	5'-TGAGCGGACA-3'
	6	5'-GGTCCCTGAC-3'		6	5'-GAACGGACTC-3'		6	5'-ACCTGAACGG-3'
	7	5'-GAAACGGGTG-3'		7	5'-GTCCCGACGA-3'		7	5'-TTGGCACGGG-3'
	8	5'-GTGACGTAGG-3'		8	5'-TGGACCGGTG-3'		8	5'-GTGTGCCCCA-3'
	9	5'-GGGTAAACGCC-3'		9	5'-CTCACCGTCC-3'		9	5'-CTCTGGAGAC-3'
	10	5'-GTGATCGCAG-3'		10	5'-TGTCTGGGTG-3'		10	5'-GGTCTACACC-3'
	11	5'-CAATCGCCGT-3'		11	5'-AAAGCTGCGG-3'		11	5'-AGCGCCATTG-3'
	12	5'-TCGGCGATAG-3'		12	5'-TGTCATCCCC-3'		12	5'-CACCGTATCC-3'
	13	5'-CAGCACCCAC-3'		13	5'-AAGCCTCGTC-3'		13	5'-GGGGTGACGA-3'
	14	5'-TCTGTGCTGG-3'		14	5'-TGCGTGCTTG-3'		14	5'-CTTCCCCAAG-3'
	15	5'-TTCCGAACCC-3'		15	5'-GACGGATCAG-3'		15	5'-CATCCGTGCT-3'
	16	5'-AGCCAGCGAA-3'		16	5'-CACACTCCAG-3'		16	5'-AGGGCGTAAG-3'
	17	5'-GACCGCTTGT-3'		17	5'-TTCCCCCAG-3'		17	5'-TTTCCCACGG-3'
	18	5'-AGGTGACCGT-3'		18	5'-TGAGTGGGTG-3'		18	5'-GAGAGCCAAC-3'
	19	5'-CAAACGTCGG-3'		19	5'-GTTGCCAGCC-3'		19	5'-CTGGGGACTT-3'
	20	5'-GTTGCGATCC-3'		20	5'-ACTTCGCCAC-3'		20	5'-ACCGGTCAC-3'

<103>

<104>

[표 13]. 신품종 용천(Dragno Sky) 대표종 3계통과 타 잔디류 간의 2차 RAPD 분석에 의한 binomial data matrix code

Primer	OPA-1	OPA-2	OPA-3	OPA-4	OPA-5	OPA-6	OPA-7
sample							
DS 9-1	1 0 1 1 0 0 0	0 0 0 1 0 0 0 0 0 1	0 0 0 1 0 1 1 1 0 0 0 1 1	0 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 1	0 1 0 0 0 0 0	0	0 0 0 0 0 1 1 0
DS 11-2	1 0 1 1 0 0 0	0 0 0 1 0 0 0 0 0 1	0 0 0 1 0 1 1 1 0 0 0 1 1	0 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 1	0 1 0 0 0 1 0	0	0 0 0 0 0 1 1 0
DS 12-2	1 0 1 1 1 0 0	0 0 0 1 0 0 0 0 0 1	0 0 0 1 0 1 1 1 0 0 0 1 1	0 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 1	0 1 0 0 0 1 0	0	0 0 0 0 0 1 1 0
AnYang	1 0 1 1 0 0 1	0 0 0 1 0 0 0 1 1 1	0 0 1 0 0 0 0 1 0 0 0 1 1	0 0 0 0 0 0 1 0 1 0 0 0 1	0 1 0 0 0 0 0	0	0 0 1 0 0 1 1 0
JangSung	0 0 0 0 0 1 0	0 0 0 1 0 0 0 1 0 0	1 0 0 1 0 1 0 1 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 1 0 1 0 0 1 0	1 1 0 0 0 0 0	0	0 1 1 0 1 0 1 0
SK	0 0 1 0 1 1 0	0 0 0 1 0 0 0 1 0 0	1 0 0 0 1 1 0 0 0 0 0 0 0	1 0 0 0 0 0 1 0 1 0 0 0 0	1 1 0 1 0 1 0	0	0 1 1 0 1 0 0 0
Zenith	0 0 0 1 1 1 0	0 0 0 1 0 0 1 1 0 0	0 0 1 0 0 0 1 1 0 0 0 0 0	1 0 0 0 1 1 1 0 1 0 0 1 0	0 1 0 0 0 1 0	0	0 0 0 0 0 0 0 0
Z. koreana	1 0 1 1 1 1 0	0 0 0 1 0 0 1 1 0 0	0 0 0 0 1 1 0 1 0 1 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 1	0 1 0 1 0 0 0	0	0 1 0 1 1 0 1 0
Korhee	0 1 0 1 1 0 0	0 0 0 1 0 0 0 1 0 1	0 0 0 1 0 1 0 1 0 1 0 0 0	0 0 0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 1	0 1 0 0 0 0 0	0	1 1 0 0 1 0 1 0
Z. matrella PI 231146	0 0 0 0 0 0 0	0 1 0 1 0 0 0 0 0 1	0 0 0 1 0 1 0 0 1 0 0 0 1	0 0 0 1 0 1 1 1 0 0 0 1 1	0 1 0 0 0 0 0	0	0 0 0 0 1 0 1 0
Z. matrella PI 264343	0 0 0 0 0 0 0	0 0 1 0 0 0 1 1 0 0	0 0 0 1 0 1 0 1 0 1 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 1 1 1	0 0 0 0 0 0 0	0	0 0 0 1 0 0 0 0
Z. sinica PI 553019	1 0 0 0 0 1 0	0 0 0 1 0 0 1 1 0 0	0 0 0 1 0 0 0 1 0 1 0 1 0	0 0 0 0 0 0 1 0 1 0 0 1 0	0 1 0 0 0 0 0	0	0 0 1 0 1 0 0 0
Z. macrostachya PI 553020	1 0 0 0 0 1 0	0 0 0 1 0 0 1 1 1 0	0 0 0 1 0 1 1 1 0 1 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0 1 1 1 0 0 0 1	0 1 0 0 0 0 0	0	0 0 0 1 0 1 1 0
Z. japonica PI 338566	0 0 0 0 0 1 0	1 1 0 0 1 1 0 0 0 1	0 1 0 0 0 0 1 0 0 0 0 1 0 0	0 1 1 0 0 0 1 0 0 0 1 0 0	0 0 1 0 0 0 1	0	0 0 0 0 0 0 0 1

* 1은 band 존재, 0은 band 존재하지 않음.

<105>

sample	Primer	OPA-8	OPA-9	OPA-10	OPA-11	OPA-12	OPA-13	OPA-14	OPA-15
DS 9-1	↑	1 1 1 0 0 1 0 0 1 0 0	1 0 1 1 1 1 0 0 1 0 1	1 1 0 1 1 0 1 0 1 0	0 1 1 0 0 1 1 0 0	1 1	0 1 1 1 1 0 1 0 0	1 1 0 1	0 0 0 0 0 0 0
DS 11-2		1 1 1 0 0 1 1 0 1 0 0	1 0 1 1 1 1 0 0 1 0 1	1 1 0 1 1 0 1 0 1 0	0 1 1 0 0 1 1 0 0	1 1	0 1 1 1 1 0 1 0 0	1 1 0 1	0 0 0 0 0 0 0
DS 12-2		1 1 1 0 0 1 0 0 1 0 0	1 0 1 1 1 1 0 0 1 0 1	1 1 0 1 1 0 1 0 1 0	0 1 1 0 0 1 1 0 0	1 1	0 1 1 1 1 0 1 0 0	1 1 0 1	0 0 0 0 0 0 0
AnYang		0 1 1 0 0 1 1 0 1 0 0	1 1 1 1 1 1 0 0 1 0 1	1 1 0 1 1 0 1 0 1 0	0 1 1 0 1 0 0 1 0	1 1	0 1 1 1 1 0 1 0 0	1 1 0 1	1 0 1 0 0 0 0
JangSung		0 1 1 0 0 1 0 0 1 0 0	1 1 1 1 1 1 0 0 1 0 0	0 1 0 1 1 0 1 0 1 0	1 1 1 0 0 1 0 0 0	1 0	1 0 1 1 1 0 1 0 0	1 1 0 1	1 0 0 0 0 0 0
SK		0 1 0 0 0 1 0 0 1 0 0	1 1 1 1 1 1 0 1 0 1	0 0 0 1 1 0 1 1 1 0	1 1 1 1 0 1 0 0 0	1 0	1 0 0 1 1 0 1 0 0	1 1 0 1	1 0 0 0 0 0 0
Zenith		0 1 1 1 0 1 0 1 1 0 0	1 1 1 0 1 1 0 0 1 0 0	0 1 0 1 1 0 1 0 1 0	1 1 0 1 0 1 1 0 0	1 0	1 0 0 1 1 0 1 0 0	1 1 0 1	1 0 1 0 0 0 0
Z. koreana		0 1 1 1 0 1 0 0 1 0 0	0 1 1 0 1 1 0 0 1 0 1	0 1 0 1 1 0 1 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0 1 0 0	1 0	1 0 1 0 1 0 1 0 0	0 0 0 1	0 0 0 0 0 0 0
Konhee		0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 1 1 1 1 1 0 0 1 0 1	0 1 1 1 0 0 1 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0 1 0 0	1 1	0 0 0 0 1 0 0 0 0	0 0 0 1	1 0 0 0 0 0 0
Z. matrella PI 231146		0 1 1 0 0 1 0 0 0 0 0	1 1 1 0 1 1 0 0 0 0 1	0 1 1 1 0 1 1 0 0 0	1 0 1 0 1 1 0 0 1	0 0	0 1 1 1 0 1 0 0 1	0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
Z. matrella PI 264343		0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0	0 0 1 0 1 1 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 1	0 0 0 0 0 0 0 0 1	0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
Z. sinica PI 553019		0 1 0 1 0 0 1 1 0 0 0	0 0 0 0 1 1 0 0 0 0 0	0 1 0 1 1 0 1 1 1 0 0	0 0 0 1 0 0 0 0 0	1 0	1 0 0 0 1 0 1 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
Z. macrostachya PI 553020		0 1 1 0 0 1 0 0 0 0 1	0 0 1 1 1 1 0 0 1 0 1	0 1 0 1 0 0 1 0 1 0	0 0 1 0 0 0 0 0 0	1 0	0 1 1 1 0 1 1 0 1	1 0 0 0	0 0 1 0 0 0 0
Z. japonica PI338566		0 0 0 0 1 0 0 0 0 1 0	0 0 1 0 0 1 0 1 0 1 0	1 0 0 0 0 1 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0 0 1 0	0 0	0 1 1 1 0 0 0 1 0	1 0 1 1	0 1 0 1 1 1 1

↑ 1은 band 존재, 0은 band 존재하지 않음.

sample	Primer	OPA-16	OPA-17	OPA-18	OPA-19	OPA-20	OPC-1	OPC-2	OPC-3	OPC-4
DS 9-1	↑	0	0	0 0 0 0 1	0 1 0 0 0 1 0 0	0 0 1	1 1 1 0 1 0 1	0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 0 1 0 1	0	0
DS 11-2		0	0	0 0 0 0 1	0 1 0 0 0 1 0 0	0 0 1	1 1 1 0 1 0 1	0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 0 1 0 1	0	1
DS 12-2		0	0	0 0 0 0 1	0 1 0 1 1 1 0 0	0 0 1	1 1 1 0 1 0 1	0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 0 1 0 1	0	1
AnYang		0	0	1 1 0 0 1	1 1 0 0 1 0 1 0	0 0 1	1 0 1 0 1 0 1	0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 1 1 0 1	0	1
JangSung		0	0	0 0 0 0 1	0 1 1 0 1 0 1 0	0 1 1	0 0 1 0 1 0 1	0 1 0 0 1 1 1 0 0 1 0 1 0 1	0	0
SK		0	0	0 1 0 0 1	0 1 1 0 1 0 1 0	0 1 0	0 1 1 0 1 0 1	0 1 0 1 1 1 1 0 0 1 0 1 0 1	0	0
Zenith		0	0	0 1 0 0 1	0 1 0 0 1 0 0 0	0 1 1	0 0 1 0 1 0 1	1 1 0 0 1 1 1 0 0 1 1 0 1 0	0	0
Z. koreana		0	0	0 1 0 1 1	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0	0 0 1 0 1 0 1	0 1 0 0 1 0 0 1 0 1 0 1 0 1	0	0
Konhee		0	0	0 0 0 1 1	0 1 0 0 1 0 0 1	0 1 0	0 1 1 1 1 0 1	0 0 0 0 0 1 1 0 0 1 0 1 0 1	0	0
Z. matrella PI 231146		0	0	0 0 0 0 0	0 1 0 0 0 0 1 0	0 0 0	1 0 0 1 1 0 1	0 0 0 0 0 1 0 0 0 1 0 1 1 0	0	0
Z. matrella PI 264343		0	0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 1 0 0 0 0 1 0 0 0 1 0 1	0	0
Z. sinica PI 553019		0	0	0 0 0 0 1	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0	0
Z. macrostachya PI 553020		0	0	0 0 0 0 1	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0	1 0 1 0 1 0 1	1 0 0 0 0 1 0 0 0 1 0 1 0 1	0	0
Z. japonica PI338566		0	0	0 1 1 0 0	0 1 0 0 0 0 0 0	1 0 0	0 1 0 1 1 1 0	0 0 0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 0 0	0	0

↑ 1은 band 존재, 0은 band 존재하지 않음.

sample \ Primer	OPC-5	OPC-6	OPC-7	OPC-8	OPC-9	OPC-10	OPC-11
DS 9-1	⁺ 1 1 0 1	0 0 0 1 0 1 0 0 0	1 0 1 1 0 0 0 1	0 1 0 1 1 1 1 1 1	0 1 0 0 1 0 1 1	0 1 0 0 1 1 0 0 0 1 1 0 0 1	0 0 1 1 0 1 0 0 1
DS 11-2	1 1 0 1	0 0 0 1 0 1 0 0 0	1 0 1 1 0 0 0 1	0 1 0 1 1 1 1 1 1	0 1 0 0 1 0 1 1	0 0 0 0 1 1 0 0 0 1 1 0 0 1	0 0 1 1 0 1 0 0 1
DS 12-2	1 1 0 1	0 0 0 1 0 1 0 0 0	1 0 1 1 0 0 0 1	0 1 0 1 1 1 1 1 1	0 1 0 0 1 0 1 1	0 0 0 0 1 1 0 0 0 1 1 0 0 1	0 0 1 1 0 1 0 0 1
AnYang	1 1 0 0	1 0 0 1 0 1 0 0 0	1 1 1 1 1 0 1 0	0 1 1 1 1 1 0 1 0	0 1 0 0 1 0 1 1	0 1 0 0 0 1 0 1 0 1 1 0 0 1	1 0 1 1 0 0 0 0 1
JangSung	1 1 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0	1 1 1 1 1 0 1 1	0 1 1 1 1 1 1 1 0	0 1 0 0 1 0 1 1	0 1 0 0 1 1 0 1 0 1 1 0 0 1	0 0 1 1 0 1 0 0 1
SK	1 1 0 0	0 0 0 1 0 0 0 1 0	1 1 1 1 1 0 1 1	1 1 1 1 1 1 1 1 0	0 1 0 0 1 0 1 1	0 1 1 0 1 1 1 0 0 1 1 0 0 1	1 0 1 1 0 0 1 0 1
Zenith	1 1 0 0	1 0 0 1 0 0 0 0 0	1 1 1 1 1 0 1 1	1 1 0 1 1 1 1 1 0	0 1 1 0 1 0 1 1	1 1 0 1 1 1 0 0 0 1 1 0 0 1	1 0 1 1 0 1 0 0 1
Z. korana	0 0 0 0	0 0 0 1 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 1 0 1 0 0 0	0 0 0 1 0 0 0 0	0 0 0 0 0 1 0 0 0 1 0 0 1 0	0 0 1 1 0 0 0 1 1
Konhee	1 1 0 0	0 0 0 1 0 0 0 0 0	1 1 1 1 1 0 0 1	1 1 1 0 0 1 0 1 0	0 1 1 0 1 0 1 1	0 1 1 0 0 1 0 0 0 1 1 0 1 0	1 0 1 1 0 0 1 0 1
Z.matrella PI 231146	0 0 0 0	1 1 1 0 0 1 0 0 0	1 1 0 1 0 0 0 0	0 1 1 0 0 1 0 1 1	0 1 1 0 1 0 1 1	1 1 0 0 0 1 0 0 0 0 1 0 1 0	0 1 1 0 1 1 0 0 1
Z.matrella PI 264343	1 1 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 1	0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 1 1 0 0 1 1 0 1	0 1 0 0 0 0 1 0	0 0 1 0 0 1 0 0 1 0 0 1 0 0	0 0 1 1 0 1 0 0 1
Z. sinica PI 553019	1 1 0 0	0 0 0 1 0 0 0 0 0	1 1 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 1 1 0 1 1 1 1	0 1 0 0 0 1 0 0 0 0 1 1 0 1	1 0 1 1 0 0 0 0 1
Z. macrostachya PI 553020	1 1 0 0	1 0 0 0 0 1 0 0 0	0 0 1 1 1 0 0 0	0 1 1 0 0 1 0 0 1	0 1 0 0 1 0 1 1	1 1 0 0 0 1 0 1 0 0 1 1 0 1	0 0 1 1 0 1 1 0 1
Z. japonica PI338566	0 0 1 0	0 0 0 0 1 0 1 0 0	0 0 1 1 1 1 0 0	0 0 1 1 1 0 0 1 1	1 0 0 1 0 1 1 0	0 1 0 0 0 1 0 0 1 1 0 1 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0

⁺ 1은 band 존재, 0은 band 존재하지 않음.

sample \ Primer	OPC-12	OPC-13	OPC-14	OPC-15	OPC-16	OPC-17	OPC-18	OPC-19	OPC-20
DS 9-1	⁺ 1 1 0 1 0 1 1 1	0 1 0 0 1 0 0 0 0 1 1	0 0 1 1 0 1	1 0 0 1 0 0 1 1 1	0 0 1 0 1 1 1	0	1 1 1 0 1	0	0
DS 11-2	1 1 0 1 0 1 1 1	0 1 0 0 1 0 0 0 0 1 1	0 0 1 1 0 1	1 0 0 1 0 0 1 1 1	0 0 1 0 1 1 1	0	1 1 1 0 1	0	0
DS 12-2	1 1 0 1 0 1 1 1	0 1 0 0 1 0 0 0 0 1 1	0 0 1 1 0 1	1 0 0 1 0 0 1 1 1	0 0 1 0 1 1 1	0	1 1 1 0 1	0	0
AnYang	1 1 0 0 1 1 1 0	1 1 1 1 1 1 0 1 0 1 1	0 0 1 1 0 0	1 1 1 1 0 1 1 0 1	1 0 1 0 1 1 1	0	1 1 1 0 0	0	0
JangSung	1 0 1 1 0 1 1 1	0 1 1 1 1 1 1 0 1 1 1	0 0 1 1 0 0	0 1 1 1 1 1 1 0 1	1 0 1 0 1 1 1	0	0 1 0 1 0	0	0
SK	1 1 1 1 1 0 1 1	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 1 1 1 0 0	0 1 1 0 0 0 1 0 1	1 0 1 0 1 1 1	0	0 1 0 1 0	0	0
Zenith	1 1 1 1 0 0 1 1	0 1 1 1 0 1 1 0 1 1 1	0 0 1 0 0 1	1 1 1 0 0 0 1 0 1	1 0 1 0 1 1 0	0	1 0 0 1 0	0	0
Z. korana	0 0 0 0 0 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 1 0 0	0 0 0 0 0 0 1	0	0 0 0 0 0	0	0
Konhee	1 1 0 0 1 0 1 1	0 1 0 1 1 1 1 0 0 0 1	1 0 1 1 0 1	0 1 1 1 0 0 1 0 1	0 1 1 1 1 1 1	0	0 1 0 0 0	0	0
Z.matrella PI 231146	1 1 0 0 1 0 1 0	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 1	1 1 1 1 0 0	1 1 1 1 0 0 1 1 0	0 1 1 0 1 1 0	0	0 1 0 0 0	0	0
Z.matrella PI 264343	0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 1 1 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 1	0	0 0 0 0 0	0	0
Z. sinica PI 553019	0 0 1 0 0 0 1 1	1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1	0 0 1 0 0 0	0 1 1 0 0 0 1 0 0	0 0 1 0 1 0 0	0	0 0 0 0 0	0	0
Z. macrostachya PI 553020	1 0 1 0 0 1 1 1	1 0 0 1 0 1 0 1 0 0 1	0 0 1 1 0 0	0 1 1 0 0 0 1 0 1	0 0 1 0 1 0 0	0	0 0 0 0 0	0	0
Z. japonica PI338566	0 0 1 0 1 0 0 1	0 0 0 0 1 0 1 0 0 1 0	0 0 0 0 1 0	1 0 0 0 1 1 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0	0	0 0 0 0 0	0	0

⁺ 1은 band 존재, 0은 band 존재하지 않음.

sample \ Primer	OPD-1	OPD-2	OPD-3	OPD-4	OPD-5	OPD-6	OPD-7	OPD-8
DS 9-1	⁺ 0	0 1 0 1 0 1 1 0 0 0	0 1 1 0 1 1	0 0 0 1	1 1 0 1 0 0 0 1 0	0	0 0 1 0 0 1 1 1 1 1 0 1	1 1 1 0 0 1 1 1 0 0 0 0 0 1 1
DS 11-2	0	0 1 0 1 0 1 1 0 0 0	0 1 1 0 1 1	0 0 0 1	1 1 0 1 0 0 0 1 0	0	0 0 1 0 0 1 1 1 1 1 0 1	1 1 1 0 0 1 1 1 0 0 0 0 0 1 1
DS 12-2	0	0 1 0 1 0 1 1 0 0 1	0 0 1 0 1 1	0 0 0 1	1 1 0 1 0 0 0 1 0	0	0 0 1 0 0 1 1 1 1 1 0 1	1 1 1 0 0 1 1 1 0 0 0 0 0 1 1
AnYang	0	0 1 1 1 0 1 0 0 1 0	0 1 1 0 1 1	0 0 0 1	1 1 0 1 0 0 0 0 0	0	1 0 1 1 0 1 1 1 1 1 0 1	1 1 1 0 0 1 1 1 0 0 0 0 0 1 1
JangSung	0	0 0 0 0 0 0 0 0 1 0	0 0 1 0 1 1	0 0 0 1	1 1 0 1 0 0 0 0 0	0	1 0 1 1 0 1 0 1 1 1 1 1	1 1 0 0 0 1 1 1 0 0 1 0 0 0 0
SK	0	0 1 1 0 0 1 1 0 1 0	0 0 1 0 1 1	0 0 0 1	1 1 0 1 0 1 1 0 0	0	0 1 1 0 1 1 0 1 1 1 0 0	1 1 0 0 0 1 1 1 0 0 1 0 0 0 0
Zenith	0	0 1 1 0 0 0 0 0 1 0	0 0 1 1 1 1	0 0 0 1	1 1 0 1 0 0 0 1 1	0	0 0 1 1 0 1 0 1 1 1 0 0	1 1 1 0 0 1 0 1 0 0 1 0 0 1 0
Z. koreana	0	0 1 0 1 0 0 0 0 1 0	0 0 1 0 1 1	0 0 0 1	1 0 0 1 0 1 0 1 0	0	0 1 1 1 0 1 0 1 0 1 0 1	1 1 1 0 0 1 1 1 1 0 1 0 0 0 0
Konhee	0	0 1 0 1 0 0 0 0 1 0	0 0 1 1 1 1	0 0 0 1	1 1 0 1 0 1 0 1 0	0	0 1 1 1 0 1 0 1 0 1 0 1	1 1 1 0 1 1 1 1 1 0 1 0 0 1 0
Zmatrella PI 231146	0	1 1 0 1 0 1 1 0 0 0	1 0 0 1 1 1	1 0 1 0	1 1 0 1 0 1 0 1 0	0	0 0 0 1 0 1 0 1 0 1 0 0	0 1 0 1 1 1 1 1 1 0 1 0 0 0 1
Zmatrella PI 264343	0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 1 1 1 0 0 1	0	0 0 0 1 0 0 0 0 0 1 0 0	0 1 0 1 1 0 1 1 1 0 1 0 0 0 1
Z. sinica PI 553019	0	0 1 1 0 0 0 0 0 1 0	0 1 0 0 0 0	0 0 0 1	1 1 0 0 1 0 0 0 1	0	0 1 1 0 0 1 0 1 0 0 0 1	0 1 1 0 0 1 1 1 0 0 0 0 0 1 0
Z. macrostachya PI 553020	0	0 1 1 0 0 0 0 0 1 0	0 0 1 0 1 0	0 0 0 0	0 1 0 0 1 1 1 1 1	0	0 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0	0 1 1 0 0 0 1 1 0 0 0 0 0 1 1
Z. japonica PI338566	0	0 0 0 0 1 1 0 1 0 0	0 0 1 0 1 0	0 1 1 0	0 0 1 1 1 1 0 0 0	0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 1 0	0 0 0 1 0 0 0 1 1 1 0 1 1 0 0

⁺ 1은 band 존재, 0은 band 존재하지 않음.

sample	Primer										
		OPD-9	OPD-10	OPD-11	OPD-12	OPD-13	OPD-14	OPD-15	OPD-16	OPD-17	OPD-18
DS 9-1	† 0	0	0 0 1 0 1 1 1 0 1 0	0 0	0 0 1 1 0 0 0 1 1	0	0 0 0 0 0 1 1	0 0 0 0	0	1 1 1 1 0 1 1 0 0 0	
DS 11-2	0	0	0 0 1 0 1 1 1 0 1 0	0 0	0 0 1 1 0 0 0 1 1	0	0 0 0 0 0 1 1	0 0 0 0	0	1 1 1 1 0 1 1 0 0 0	
DS 12-2	0	0	0 0 1 0 1 1 1 0 1 0	0 0	0 0 1 1 0 0 0 1 1	0	0 0 0 0 0 1 1	0 0 0 0	0	1 1 1 1 0 1 1 0 0 0	
AnYang	0	0	1 1 1 0 1 1 1 0 0 0	0 0	0 0 1 1 0 0 1 1 1	0	0 0 0 0 0 1 1	0 1 0 0	0	1 1 1 1 1 1 0 0 1 1	
JangSung	0	0	1 1 1 0 1 1 1 0 0 1	0 0	0 0 0 0 0 1 1 1 1	0	0 0 0 1 0 1 1	0 1 0 0	0	0 1 1 1 1 1 0 0 1 0	
SK	0	0	1 1 1 0 1 1 1 0 0 1	0 0	0 0 0 0 0 1 1 1 0	0	0 0 1 0 0 1 1	1 0 1 1	0	0 1 1 1 1 1 0 0 0 0	
Zenith	0	0	1 1 1 0 1 1 1 0 0 1	0 0	0 1 1 1 0 1 1 1 1	0	1 1 0 0 0 1 1	1 1 0 0	0	0 1 1 1 1 1 0 0 1 0	
Z. koreana	0	0	1 1 1 0 1 1 1 0 0 1	0 1	0 1 1 1 0 1 1 1 1	0	0 1 1 0 0 0 0	1 1 0 0	0	0 1 1 1 0 1 0 0 1 0	
Konhee	0	0	1 1 1 0 0 1 0 0 1	0 1	0 1 1 1 0 1 1 1 1	0	0 0 1 0 0 0 1	0 1 0 0	0	0 1 1 1 0 1 0 0 1 0	
Zmatrella PI 231146	0	0	1 1 0 0 1 0 0 1 0	0 1	0 0 0 0 0 0 0 0 0	0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0	0	0 1 1 1 1 1 0 0 0 0	
Zmatrella PI 264343	0	0	0 0 0 0 0 1 1 1 0	0 0	0 0 0 0 0 1 1 1 1	0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0	0	0 1 1 1 0 1 0 0 0 0	
Z. sinica PI 553019	0	0	1 1 1 1 0 1 0 0 0	0 0	0 0 0 1 0 1 1 1 1	0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0	0	0 1 0 1 1 1 0 0 1 0	
Z. macrostachya PI 553020	0	0	1 1 1 0 1 0 0 0 0	0 0	0 0 0 1 0 1 1 1 0	0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0	0	0 1 0 1 1 1 0 0 1 0	
Z. japonica PI338566	0	0	0 0 1 0 1 0 1 0 1	1 0	1 0 0 0 1 1 1 1 0	0	0 0 0 0 1 0 0	0 0 0 0	0	0 1 0 1 0 0 1 1 0 1	

⁺ 1은 band 존재, 0은 band 존재하지 않음.

sample \ Primer	OPD-19	OPD-20
DS 9-1	† 0	0 0 0 0
DS 11-2	0	0 0 0 0
DS 12-2	0	0 0 0 0
AnYang	0	1 0 1 0
JangSung	0	0 1 0 0
SK	0	1 1 0 0
Zenith	0	0 1 0 0
Z. koreana	0	1 0 0 0
Konhee	0	1 0 0 0
Z. matrella PI 231146	0	0 0 0 0
Z. matrella PI 264343	0	0 0 0 0
Z. sinica PI 553019	0	0 0 1 0
Z. macrostachya PI 553020	0	0 0 0 0
Z. japonica PI 338566	0	0 1 0 1

† 1은 band 존재, 0은 band 존재하지 않음.

<112>

<113>

근연관계의 결과로 인해 신품종 용천(Dragon Sky)과 타 잔디류와의 유전적 차이성이 있다는 것을 검증할 수 있었다. PCR product 내 band의 존재 유무에 따라 coding을 했으며 NTSYSpC version 2.0을 이용하여 근연관계를 분석한 다음 신품종 용천(Dragon Sky)과 다른 잔디들간의 상호 유전연관성을 비교한 결과 신품종 용천(Dragon Sky) 대표종 3계통은 다른 Zoysiagrass 류와 다른 품종으로 확인되었다.

<114>

또한 OPA-8의 primer를 사용했을 때 신품종 용천(Dragon Sky) 대표종의 3개체에서만 볼 수 있는 polymorphic band를 확보할 수 있었다(도 6).

산업이용 가능성

<115>

이상 실시예에서 확인된 바와 같이, 본 발명의 신품종 잔디 용천(Dragon Sky)은 생육 형태적, 분자유전학적으로 타 잔디 품종 및 계통들과 구별된다. 또한 국내에서 재배하고 있는 다른 난지형 잔디들과 비교할 때 품질, 색상 및 영양번식상태가 우수하고, 피복률이 높고, 조밀도가 크기때문에 국내 각종 골프장, 공원, 절개지, 또는 녹화 사업 등에 활용될 수 있는 특징이 있다.

<116>

따라서 외국에서 수입되는 난지형 잔디들과 유전학적으로 차별성이 있다고 판단되며, 국내 난지형 잔디의 보존 및 잔디 육성 산업에 유용할 것이다.

도면의 간단한 설명

<117>

도 1은 고려대학교 연구농장 실험포장 I에서 실험중인 발명 신품종 용천(Dragon Sky)과 다른 난지형 잔디들 간의 잎 비교 사진이다.

<118>

도 2는 고려대학교 연구농장 실험포장 I에서 실험중인 발명 신품종 용천(Dragon Sky)과 다른 난지형 잔디들 간의 지하경 비교 사진이다.

<119>

도 3은 신품종 용천(Dragon Sky) 34개 클론의 첫 번째 RAPD products로 Binomial matrix를 작성하여 용천중지 간의 phylogenetic relationship을 본 사진이다.

<120>

도 4는 선발된 신품종 용천(Dragon Sky) 3개 클론(DS 9-1, 11-2, 12-2)과 타 품종 및 종간의 관계를 본 것으로 Operon 10-mer Primer (OPA series, OPC series, OPD series) 총 60개를 사용한 두 번째 RAPD products로 Binomial matrix를 작성하여 선발된 용천중지의 타 품종 및 종간의 Phylogenetic relationship을 본 사진이다.

<121>

도 5는 선발된 신품종 용천(Dragon Sky) 3개 클론(DS 9-1, 11-2, 12-2)과 타 품종간의 RAPD products 비교로서 OPW-02 primer를 사용하였을 때 용천 특이적 Polymorphic product를 확보한 사진이다.

<122>

도 6는 선발된 신품종 용천(Dragon Sky) 3개 클론(DS 9-1, 11-2, 12-2)과 타 품종간의 RAPD products 비교로서

OPA-08 primer를 사용하였을 때 용천 특이적 Polymorphic product를 확보한 사진이다.

도면

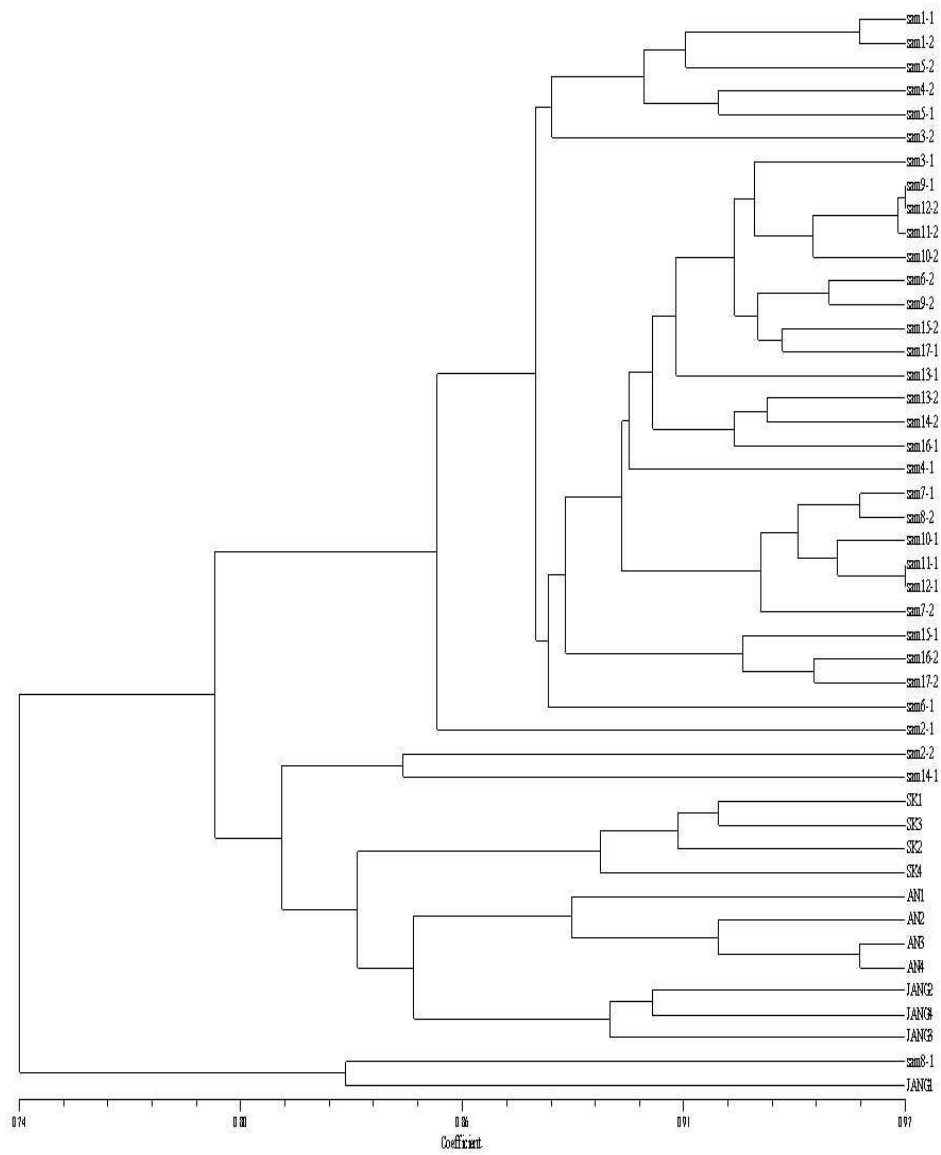
도면1



도면2

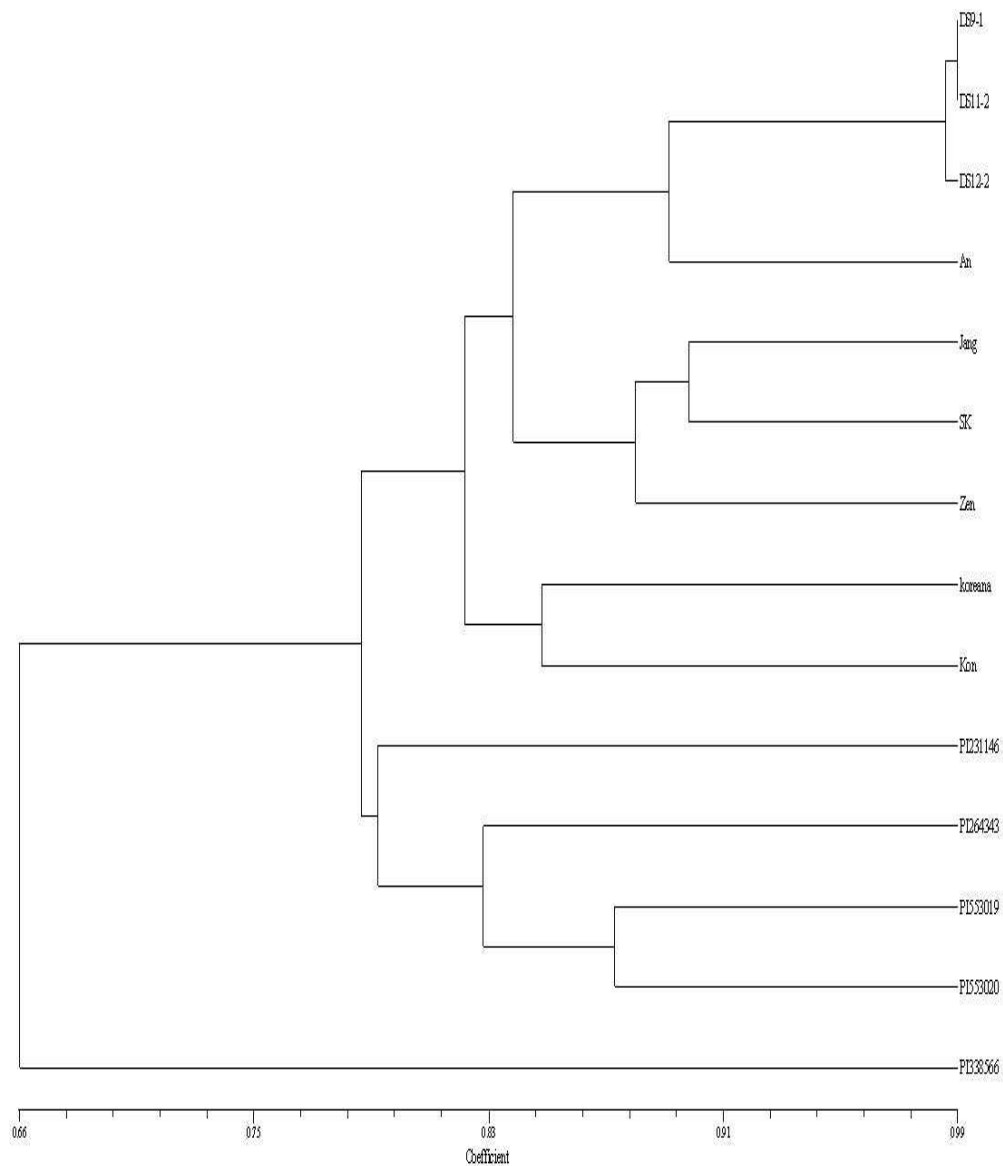


도면3



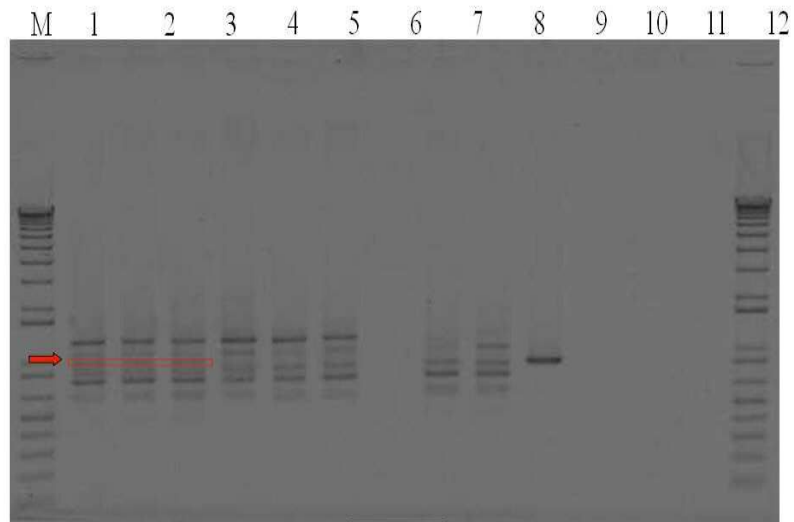
sam : SamDeok Zoysiagrass, SK : SK Zoysiagrass , AN : AnYang Zoysiagrass, JANG : JangSung Zoysiagrass

도면4



DS : Dragon Sky Zoysiagrass, SK : SK Zoysiagrass, An : AnYang Zoysiagrass, Jang : JangSung Zoysiagrass, Zen : Zenith, Koreana : *Z. Koreana*, Kon : Konhee Zoysiagrass, PI 231146 : *Z. matrella*, PI 264343 : *Z. matrella*, PI 553019 : *Z. sinica*, PI 553020 : *Z. macrostachya*, PI 338566 : *Z. japonica*

도면5

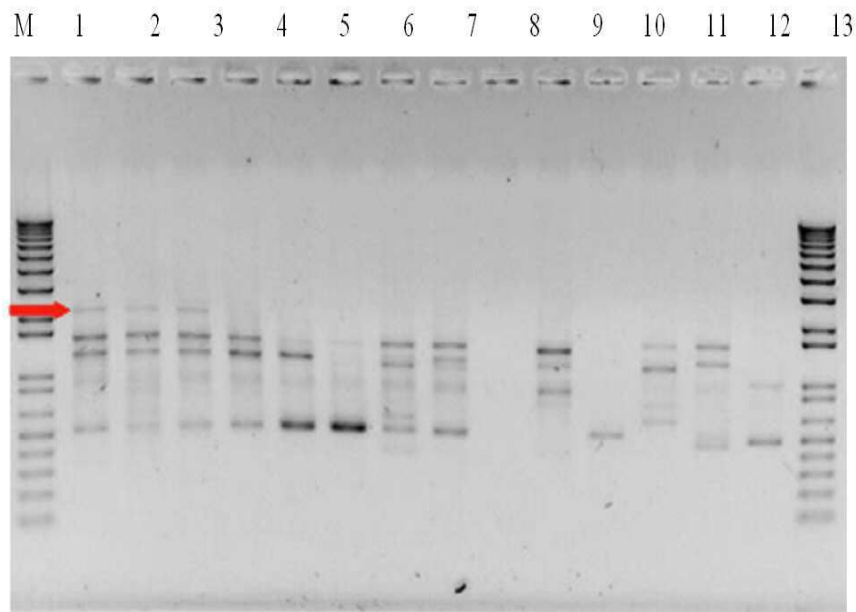


OPW-2

lane 1 : 용천증지 9-1	lane 8 : 조이시아 코리아나(<i>Z. koreana</i>)
lane 2 : 용천증지 11-2	lane 9 : 건희
lane 3 : 용천증지 12-2	lane 10 : 고려잔디(<i>Z. matrella</i> , PI 231146)
lane 4 : 안양증지	lane 11 : 고려잔디(<i>Z. matrella</i> , PI 264343)
lane 5 : 장성증지	lane 12 : 갯잔디(<i>Z. sinica</i> , PI 553019)
lane 6 : SK 증지	lane 13 : 왕잔디(<i>Z. macrostachya</i> , PI 553020)
lane 7 : 제니스	

RAPD primer	Sequence of RAPD primer (5'→3')	Designed primer set	Size(bp)	Designed primer(5'→3')
OPW-2	ACC CCG CCA A	SCAR1F	1244	<u>ACC CCG CCA AAT TGA CAC</u>
		SCAR1R		<u>ACC CCG CCA ACG TCC AGT C</u>

도면6



Lane 1 : Dragon Sky 9-1, lane 2 : Dragon Sky 11-2, lane 3 : Dragon Sky 12-2, lane 4 : AnYang, lane 5 : JangSung, lane 6 : SK, lane 7 : Zenith, lane 8 : *Z. koreana*, lane 9 : KonHee, lane 10 : *Z. matrella*(PI 231146), lane 11 : *Z. matrella*(PI 264343), lane 12 : *Z. sinica*(PI 553019), lane 13 : *Z. macrostachya*(PI 553020), lane 14 : *Z. japonica*(PI 338566), M : 1Kb DNA Ladder

RAPD primer	Sequence of RAPD primer (5'→3')	Designed primer set	Size(bp)	Designed primer(5'→3')
OPA-08	GTG ACG TAG G	OPA08-T7-SCAR	2354	<u>GTG ACG TAG</u> GTG AAG GCG TTG
		OPA08-SP6-SCAR		<u>GTG ACG TAG</u> GGT ATT ACG CCT CG

서열목록

<110> Korea University Industry and Academy Cooperation Foundation
<120> Novel grass species Dragon Sky

<160> 4

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> primer_OPA_08

<400> 1
gtgacgtagg 10

<210> 2
<211> 10
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> primer_OPW_02

<400> 2
accccgccaa 10

<210> 3
<211> 2354
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> PCR product

<400> 3
gtgacgtagg tgaaggcgtt gatgacgtcg gcgtcgctga cgtctcgag ctcgttttgc 60

ttgcgcgaaa atcgtgaat gtagtctcag agggactcac cgggttctg ttgttaattc 120

tacagatctc aggacgtacc cgggcgggta taggtcctct ggaagtggcc gatgaaggca 180

caacgaaggt ccaccagtc gtggatgctg tcctcggaa ggtgttcgag ccaccctctg 240

gccgaatcgg acaggaagag cagcaggtac tggatggcga agaggtggtc ggcgccaccg 300

gctcggcatg cgaggcaata gtcctcgagc cagtgggcgg gaattgtctc agcagtgtac 360

cggatgatgt tggttggagc gcggaacttg tcaggggaagc cggtctttct gatgcgggcc	420
tcgaacgctc gaggtccgat gtcacgggg ccgagggttc aagcgtcgtc gtagctgtgc	480
cgtcgaggac gtcgctcgaa ggatcggtcg cggccggagt cggagtggcg gtcactcctg	540
gcacgccttc gtgcctcgat ggtgtgacga gcgtcacggt gctccccaa gcggtagcgg	600
atgttgccga ccgagtggtc gggttttcgt gtctcagagt cctgacgaag tgatagtctg	660
ggttgttgca gagtccatc aaggtagacg cggagacgat cgtaagtctc cttgaggaca	720
ggttttgtca ggtgtgggag actcataaag gatgcaggcc gctgtcgcta gattctcgta	780
tggcgtatca aaggaaggcg taccaccgtc catgatctgc tgatgagcag tgcgggctcg	840
ggcttgggca ccaccgtcg tcgcggcgac acccttactg gtatggcagt ggctgatccc	900
gatctttcga tgagaggagg atagcttcga tttggggtgg atacgacgtt ggctgtccga	960
ctacaacaac caacagggtt gctgcgcctt agcaacaggt acaccggctc cgatttgttg	1020
ttgtttctgc tgtgccaaga acaacctga acctgcgagc aaccgagaac aagcaagaac	1080
aagacgaaca ggtagacaac tcacagatct ggatataatc acgaaattgg ggttctgaat	1140
caagcaaatc ggggtggtctc gtcgacacac gcgtttacaa ggaagtagct aaggctaaac	1200
ttgcacttga acaaaaccca cctcaaatg acggctgcca caggtttata tagtgggaag	1260
acgtcctgga ggctgtgggg gactcaaacc ctaacttaga gagggcccct aatgggctaa	1320
actggataca atgggcctca gcccacgact gggggtccga acgcctttct gacgtttctg	1380
atcacgtcta gaggagtttg aagctgagat tggaccatc tgaaagtaga ctttagatc	1440
tttctatga gtactcattt gccttcaaca acttccggag tgaaaagttg tgaccgaaac	1500

aatccagccc tgattgatgg tccgatcctg ctttatggtc ctggtgctcc tcccacgttc	1560
ccaatcataa caaaatcacc acaaggattt agtagtaccc cattctgaga agaactacta	1620
tagacagtga gaaatgactt gaccigataa ttaagttgac gcgctcgagc tcgtgtcatg	1680
ggtccttctt gtgcaattgg tttggttttg tctgtggaag tgatgtcctc atcacttacc	1740
cttcaaatcg cccccggctg taagtttgcg tcggagtgcg tactcaatca cagtgagagc	1800
gcgatggtgt ggagaaggat cgtcatgtgc tgccttgccg cgggtttcgt cctgtgcggc	1860
tttggcatgc aacatgaagc actcacggga agggtcgtgg cccaacacgc tgtgaggcaa	1920
agaacgaaga agacggcgtc gaggcaagcg acgtttaggt aaacgccgct ttcgcgagat	1980
ctaaaggtag aggtcgtcgc cgttgtcggc gacgaagtcc gggctcccga agcgggaaggc	2040
ctggcttgca gcgaaatgg gtatgttcca cgatcgaccg tcacgggcga tggcaaccgc	2100
aaaatccccg aaaaacagtc gagagatgga ggaatcttcg actaaagcga aaatcgaagc	2160
catcgaaaca acgagtgaac acgaaccgaa aaccctacc tggcatgcca actgttgggtg	2220
tttcgtacac gaacacagta aattttatat gatcggacgg gggatcgtgc atttccgga	2280
tcgagttagt ctacaagcga gactcaaagg ttagcccgat tcgggccacc tcgaggcgt	2340
ataccctacg tcac	2354

<210> 4
 <211> 1244
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> PCR product

<400> 4

accccgccaa attgacacta agtgccatta tatactccac gagccgtcac accacacgtg	60
gccgcgtacg tctcgttcta ttgtgatgca tactactgca acgaatctcc acggggcccc	120
accgcacagc caaaagctag gccgatctcc ctgacctct cccgttgccg accggaccgg	180
ccgattcccc cggtagagacg gagaccaca cacgcacaga cgaaggccgc aagccaatag	240
atcgcggtg gccgcaggca ctatgatctc cgtggatagc tcgcacatgc gtcgggatcc	300
attgatcagg tcccagatcg ctgcgagatc tgcagtacag tgtagcaacc tgaaaacccc	360
gtccctgttc ccatgcgtgc aagcggacga attcgtagta ctagtagtat ctacgcagc	420
gccctgcgcg ccgcacgctc cactgactgg ggacactacc gtcctgtac agtaaagcct	480
ggccatctac gacgttgaca tctgcctgt gagtgagcga gtgtgagagc cttttgacta	540
ccgcctggcc tgaggtctcg acggatcgtg atgaaaggca ggttgccatc ggagagaaaa	600
gtccatcaa ccaggcgaaa gcgcgggcgc ccgcgatcgc gcggggatag acacgctcag	660
gtcgtgccgc gcgttttatt tagcagctcc gtctctact cgccagtcgc cacagcccat	720
ccatatcgcg tcgccggtgt tggccggttg tggatggggt tggcaggcaa agcggcagcg	780
accaaccga cggagagagg gaggcggagg cggtagtcgc ctttgtgggc cgagggacgt	840
aataatgagg ggctttttgc gcggtgacgc gcgcgagcac tagcaggcag ctcgccccga	900
agcccacgac gcgcggcgtg ggacctctc tcggcccggc aagttgccgc aatttttccc	960
ctccctctc ccgtcgccg ggcagcagtc gcgtcgcgcg cggtgctttg gtccgcccgc	1020
gtgccacgaa cggcgaccaa atgcttagcc cctaagcaag gaagcgcggc aggtggatgg	1080
ccgggctgct gtctcgctc acttacatcg cgcggccggc cgcgcgtcat gcaacacatc	1140
cggtaccgga tgcgcgatga actcatgct tttccgttc gttcattggg tattcgctcc	1200

tggtgccttt tggtaactg gatgggactg gacgttggcg gggt

1244