

사업구분	기본	Code : LS0208	수행구분	전반기	연구기간	'00 ~ '01(2년차완결)
연구과제명	시설채소 실용화 기술 개발				과제책임자	정 병 찬
세부과제명	mRNA를 이용한 토마토의 실시간 영양진단법 개발					
구 분	성 명	소속	전 화 번 호		담 당 임 무	
세부과제책임자	전신재	원예연구과	(033) 258-5731		과제총괄	
공동연구자	방순배	"	(033) 258-5731		자료해석 및 협의	
	강원희	강원대학교	(033) 250-7221		자료해석 및 협의	
	함봉주	원예연구과	(033) 258-5731		자료해석 및 협의	
색 인 용 어	토마토, 양분, cDNA library					

## 1. 연구배경

우리나라의 시설원에 단지는 비료등을 다량 투입하여 단일작물을 연작 재배함으로써 토양의 염류 집적등으로 인한 생리장해 현상이 빈번이 일어나고 있다. 그러나 이러한 생리장해는 어느 한가지 원인으로만 나타나는 것이 아니고 주로 몇가지의 복합적인 원인에 의하여 그 증상이 외부로 나타나게 되므로, 원인을 진단하는데는 제반 환경등에 대한 사항과 함께 상당한 경험과 어려움이 따른다. 이것은 작물을 둘러싸고 있는 여러 환경요인들, 즉 온도, 수분, 토양과 각종 생물적 환경 등이 상호관계에 의해 작물의 생육에 대한 차이가 나타나기 때문이다. 작물을 재배하는데 있어서 적절한 양분을 공급해 주는 것은 매우 중요한 일이다. 작물의 생육에 필요한 필수 원소는 그 중 한 성분이라도 많거나 적으면, 생육은 건전하지 못하게 되며, 이것이 원인이 되어 작물의 수량과 품질에 큰 영향을 미치게 된다. 따라서 본 시험에서는 양분결핍의 외적인 증상이 나타나기전에 결핍을 진단할수 있는 방법으로 결핍시 특이 발현유전자를 찾아내고, 이미 기능이 밝혀져 있는 인산결핍 특이 발현 유전자를 실제 진단에 이용할수 있는지를 검토하기 위하여 실시 되었다.

## 2. 재료 및 방법

### (시험 1) 양분 요소별 부족에 의해 발현되는 유전자의 클로닝

양분 요소별 부족에 의해 발현되는 유전자를 클로닝하기 위하여 양액재배 방식을 취하였다. 작목은 토마토(하우스모모타로)를 이용하였고, 펄라이트에서 야마자끼 배양액을 기본배양액으로 하여 재배를 하였다. 급액농도는 EC2.0ds/m내외로 맞추어 사용하였고, 급액 pH는 NaOH, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub>등을 이용하여 6.0내외로 관리하였다. 정식 15일 경과후에 N, P, K, Ca, Mg 가 결핍된 배양액으로 급액하였다. 처리개시 30일 후에 유전자 클로닝용 재료를 샘플링하여 cDNA Library작성에 이용하였다.

### (시험 2) TPS1(인산결핍) 유전자의 특성검정

TPS1(인산결핍) 유전자의 특성을 검정하기 위하여 저온(4℃), 낮은 pH(4.0), 인산반량, 인산결핍의 처리를 두고 유전자의 발현을 조사하였다. 작목은 토마토(하우스모모타로)를 사용하였

고, 담액수경재배로 시험을 수행하였다. 사용한 TPS11 primer는 5'-ggg CgC ATT CCC TgC ACC Ag-3' 였고, 분석용 시료의 부위는 잎과 뿌리를 사용하여, total RNA를 추출한후 cDNA를 합성하여, PCR을 실시하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### (시험 1) 양분 요소별 부족에 의해 발현되는 유전자의 클로닝

정상적인 양액을 공급하다가 양분이 결핍된 양액을 급액하고 30일 경과후의 식물체분석 결과는 표 1과 같다. 각 양분별로 부족한 원소의 함량이 K는 8.1, Ca는 1.75%등으로 매우 낮아졌다.

표 1. 처리별 식물체 성분 분석(처리30일후)

구 분	K <sub>2</sub> O (%)	CaO (%)	MgO (%)	T-N (%)	P <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (%)
N결핍	10.1	2.42	1.21	3.21	0.62
P결핍	10.6	1.85	1.36	4.42	0.45
K결핍	8.1	2.63	1.21	4.61	0.58
Ca결핍	11.7	1.75	1.24	5.24	0.56
Mg결핍	12.6	2.21	1.01	4.87	0.72
야마자끼토마토액	11.8	2.26	1.23	4.55	0.68

또한 표 2에서 보는 바와 같이 수량성에 있어서도 큰 차이를 나타냈는데, 과중이 낮아지는 것은 특히 질소에서 차이가 컸다. Ca결핍구의 경우 배꼽썩음과의 발생이 많은 것이 수량성을 떨어뜨리는 요인으로 작용하였다.

과실의 품질은 결핍구가 당도와 산도 모두 낮아지는 것으로 조사되었다. 그러나, 결핍원소간의 차이는 나타나지 않았다.

표 2. 배양액 종류별 생육 및 수량성

구 분	당도 (brix)	산도	과중 (g)	수량지수 (%)
N결핍	6.25	4.32	155	73
P결핍	6.33	4.58	159	75
K결핍	6.42	4.68	157	74
Ca결핍	6.37	4.44	167	70
Mg결핍	6.27	4.38	159	85
야마자끼토마토액	6.15	4.11	180	100

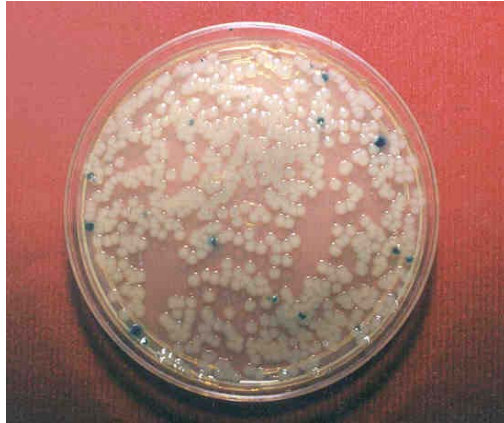


그림 1. 양분 과부족관련 cDNA library

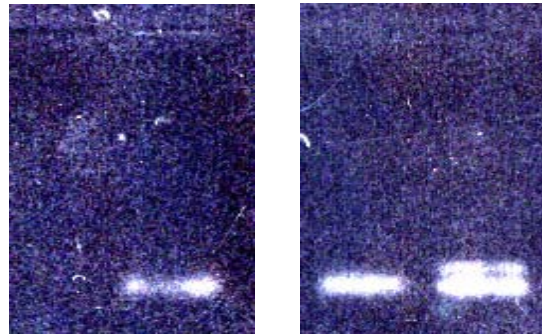
그림 1은 양분 부족시 발현되는 cDNA library이다. 얻어진 library를 이용하여 유전자를 cloning 해 본결과 표 3와 같은 결과를 얻을 수 있었다.

표 3. cDNA library에서 cloning한 유전자의 유사성 분석

유 전 자	상동성
<i>Nicotina tabacum</i> mRNA for chloroplast ribosomal protein	88%
<i>Arabidopsis thaliana</i> mRNA for 2-oxoglutarate dehydrogenase	81%
Rapeseed mitochondrial rpoB gene	89%
<i>Lycopersicon esculentum</i> atpB gene	99%
<i>Solanum lycopersicum</i> phytochrome F (PHYF) gene	97%
Tobacco Gap B mRNA for glyceraldehyde-3-P dehydrse	88%
<i>Solanum tubersome</i> mRNA for glycine hydroxymethyltransferase	98%

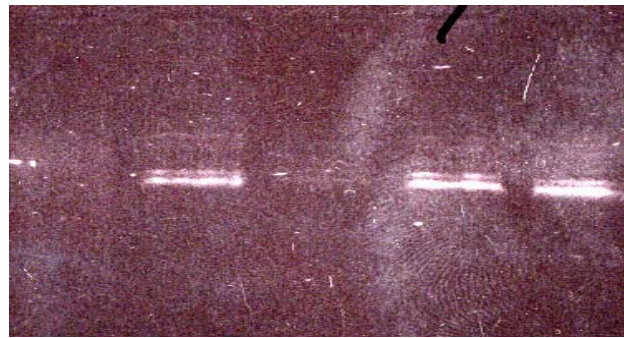
#### (시험 2) TPS11(인산결핍) 유전자의 특성검정

인산 결핍시 특이하게 발현하는 것으로 알려진 TPS11유전자의 발현특성을 검정하여 본 결과 그림 2에서 보는 바와 같이 잎에서는 발현하지 않고, 뿌리에서만 발현하는 것으로 조사되었다. 따라서 앞으로 이 유전자를 양분결핍의 마커로 사용하기 위해서는 잎이 아닌 뿌리부위를 사용해야 하는 것으로 나타났다. 그러나 인산결핍시 발현되는 또 다른 유전자인 Lept유전자는 뿌리와 잎 모두에서 발현하는 것으로 나타나 금후 Lept유전자가 마커로 사용하기에 좋을 것으로 생각되었다.



앞 뿌리                      앞 뿌리  
 TPSII 유전자              Lept 유전자

그림2. 토마토의 부위별 TPSI와 Lept유전자의 발현 양상  
 (Lept 유전자(5'-ATg gAA gAg gTg gTC T-3')



4°C pH4.0      Con      P-1/2 P-0

그림3. 인산결핍 조건에 따른 Lept유전자의 발현양상

또한, Lept유전자를 이용하여 인산결핍이 될 수 있는 조건을 인위적으로 만들어 주고 발현을 조사한 결과 pH 4인 경우와 인산이 기준량의 1/2, 그리고 인산이 결핍된 구에서는 Lept 유전자가 발현하는 것을 볼수 있었으나, 저온처리에 의한 것에서는 유전자의 발현이 확인되지 않았다.

#### 4. 적 요

##### (시험 1) 양분 요소별 부족에 의해 발현되는 유전자의 클로닝

가. 수량은 N, P, K, Ca, Mg결핍구가 각각 73, 75, 74, 70, 85%로 야마자끼 표준액대비 낮게 나타났음.

나. 처리별 cDNA library를 작성 완료 하였음.

##### (시험 2) TPSI1(인산결핍) 유전자의 특성검정

가. TPSI1유전자는 토마토에서 인산결핍시 뿌리에서는 발현이 되었으나, 잎에서는 발현되지 않았음.

나. Lept유전자는 인산 결핍시 뿌리와 잎 모두에서 발현되었음.

다. 인산결핍 조건에 따른 유전자의 발현은 저온(4℃)에서는 유전자의 발현이 없었으나, pH4.0, 인산50%, 인산0% 처리구에서 Lept유전자가 발현되었음.

## 5. 인용문헌

**Eric J. Biddinger. 1998.** Physiological and Molecular Responses of Aeroponically Grown Tomato Plants to phosphorus Deficiency. J. Amer. soc. Hort. sci. 123(2) : 330-333

**Chunming Liu. 1997.** Differential expression of TPS11, a Phosphate starvation-induced gene in tomato. plant molecular Biology 33:867-874.

**Yi-Hong Wang. 2001.** Nitrate-Induced Genes in tomato Roots. Plant Physiology. Vol 127. p345-359.

## 6. 연구결과 활용제목

- 학회발표
- 인산결핍 진단용 Primer개발의 기초자료로 활용