분자육종법과 관행육종법을 활용한 고식미계통 선발효율성 비교분석

서정필* · 조영찬 · 원용재 · 이정희 · 안억근 · 전재범 · 이점식 · 김명기 · 정응기 · 김보경

농촌진흥청 국립식량과학원

Comparison of Marker-assisted Selection and Conventional Breeding Methods for Selection of High Palatability Rice

Jung-Pil Suh*, Young-Chan Cho, Yong-Jae Won, Jeong-Heui Lee, Eok-Keun Ahn, Jae-Buhm Chun,

Jeom-Sig Lee, Myeong-Ki Kim, Eung-Gi Jeong, and Bo-Kyeong Kim

National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-857, Korea

Abstract : This paper compares selection efficiency for high palatability breeding lines using marker-assisted selection and conventional selection methods in rice. A total 4 cross combinations of japonica cultivars were selected using marker-assisted selection with a set of 13 DNA markers associated with grain quality and conventional selection methods in F_3 and F_5 generations assessing palatability using the Toyo taste meter. The multiple regression value with a set of 13 DNA markers was utilized as the marker-assisted selection index. The number of polymorphic markers among 13 DNA markers ranged from 3 to 7 between the parental cultivars. Among these cross combinations, there was no significant difference between marker-assisted selection and conventional selection methods for selection of lines with high palatability. This demonstrates that marker-assisted selection by marker-based regression value might not be a good method for selection to apply the all breeding populations for high palatability line selection. While each method allowed equally effective selection of high palatability lines, the regression analysis using polymorphic markers will need to be re-calculated for each cross combination.

Keywords : Rice, Palatability, Marker-assisted selection, Conventional breeding, DNA marker

서 언

벼는 세계인구의 50% 이상이 주곡으로 이용하고 있는 작물로서, 전 세계적으로 쌀의 약 90% 정도가 아시아에서 생산되고 소비되고 있는 실정이다. 최근에는 벼 육종가들은 쌀의 수량뿐만 아니라 미질에 상당히 집중적인 노력을 기울이고 있다. 미질에는 쌀의 모양, 외관, 영양가, 밥맛 등 많은 요인들이 관여하고 있다. 이들은 양적형질로써 육종하는 과정에 많은 어려움이 있으며, 유전연구도 미흡한 실정이다. 여러나라의 문화와 소비자의 선호도에 따라 밥맛의 선호도는 다르게 평가되고 있지만, 이들에 관여하는 주요 요인에는 점성, 호화개시온도, 아밀로스 및 단백질 함량과 같은 물리적·이화학적 특

성들이 직접적으로 관여하고 있다(Cagampang et al. 1973, Juliano 1985, Little et al. 1958, Unnevehr et al. 1992, Webb 1980). 밥맛을 평가하는 기준에는 관능검정과 기계적인 수치에 의한 평가가 주로 이용되고 있다. 쌀의 물리적인 특성을 분석하기 위하여 RVA (Rapid Viscosity Analyzer)를 주로 이용하며, 이들 특성들 간의 관계를 분석함으로써 배유 전분과 식미의 특성을 밝히는 분석이 개발되어 이용되고 있다(Bao et al. 2000, Cho et al. 2013, Zhang et al. 2002). 최근에는 밥의 윤기를 측정함으로써 자포니카 품종의 밥맛을 평가하는 방법이 한국과 일본에서 많이 이용되고 있다(Ebitani et al. 2002, Lee 2003, Suh et al. 2004). 최근 분자 마커를 이용하여 미질관련 형질에 대한 양적형질유전자 (QTLs) 분석이 활발히 진행되고 있다(Bao et al. 2002, Tan et al. 2001, Tian et al. 2004, Zhou et al. 2003). 미질과 관련된 형질인 아밀로스 함량, 호화개시온도, 호응집성에 관여하는 유전자는 6번 염색체에 위치한 wx 유전자에 의해 주로

*Corresponding author (E-mail: suhjp@korea.kr, Tel: +82-31-290-6710, Fax: +82-31-290-6730)

(Received on September 1, 2014. Revised on September 18, 2014.
Accepted on September 18, 2014.)

지배된다(He et al. 1999, Tan et al. 1999). 단백질 함량에 관여하는 QTL은 6번과 7번 염색체에 위치한다는 보고도 있다(Tan et al. 2001). 밥의 윤기치에 관여하는 QTL에 관한 연구도 최근에 보고되고 있다(Cho et al. 2013, Lee 2003, Suh et al. 2004 and 2006). 고품질 벼 품종을 육성하려는 노력이 육종가들에 의해 부단히 진행되고 있으나, 미질을 평가하는 기준과 계통선발을 위한 지표가 미흡한 실정이다. 또한 밥맛을 평가하기 위한 관능검정이나 이와 상당한 상관관계를 가지고 있는 밥의 윤기치를 측정하기 위해서는 많은 시료양이 필요하며, 이러한 방법은 저 세대 계통들을 분석하기에는 불가능하다. 이러한 단점을 해결하기 위하여 지금까지 보고된 밥맛관련 형질과 연관된 유전자부위의 DNA마커를 활용한 회귀식을 산출하여 자포니카품종의 밥맛을 간접적으로 평가하는 방법이 개발되었다(Lestari et al. 2009). 이러한 방법은 고식미계통을 육성하는 과정에서 F₂, F₃세대와 같은 저세대에서 밥맛이 우수한 계통을 선발해 나갈 수 있다는 장점이 있어 육종적으로 활용가능성이 클 것으로 기대된다. 본 연구에서는 자포니카 간의 교잡에서 유래된 저세대 계통을 DNA분석에 의한 회귀식값을 활용한 분자유종법과 관행육종법으로 선발한 계통들을 비교분석하여 선발효율성을 평가하고자 한다.

재료 및 방법

자포니카조합 후대집단 및 계통육성

자포니카조합에서 유래된 분리집단을 육성하기 위하여 주로 조·중생 품종들을 교배모본으로 활용한 인공교배를 통하여 F₁을 육성하였다. 경기1호/주안, 주남조생//운미/고시히카리, 수원527호/해오르미, 오대/조광 4조합을 인공교배하여 F₁을 육성한 후, 자가수정을 통하여 육성된 F₂집단을 국립식량과학원 답작과 시험포장에 공시하였다. 조합별로 F₂집단을 570~650개체를 공시하여 표현형이 양호한 F₂개체를 조합별로 선발하였다(Table 1). 경기1호/주안 조합에서 94개체, 주

남조생//운미/고시히카리 조합에서 70개체, 수원527호/해오르미 조합에서 106개체, 오대/조광 조합에서 105개체를 선발하여 수원시험포장에 F₃계통으로 공시하였다(Table 1). 이들 F₃계통을 이용하여 분자유종법과 관행육종법으로 계통선발과 세대진전을 진행하였다(Fig. 1). 시험재료에 대한 재배방법은 농촌진흥청 표준재배법에 준하여 실시하였다(RDA 2003).

분자유종법에 의한 선발

분자마커를 이용한 고식미계통 선발을 위해서 기존에 보고된 식미관련 분자마커 분석을 통한 회귀식값을 이용하여 계통선발에 활용하였다. 식미회귀식값은 G4, M11, E30, M2CG, P5, B1, J6, WK9, A7, GPA, S3c1, CBG, Ams DNA 마커 분석을 통하여 다음과 같은 회귀식에 의해 값을 구하였다(Lestari et al. 2009).

$$\text{식미회귀식값}(\text{eq값}) = 76.66 - (16.97 \times G4) - (1.94 \times M11) + (26.55 \times E30) - (2.4 \times M2CG) - (21.14 \times GPA) - (1.62 \times S3c1) + (19.01 \times P5) + (6.42 \times B1) + (13.45 \times CBG) + (3.87 \times J6) + (2.62 \times WK9) - (12.33 \times A7) - (8.72 \times Ams)$$

식미회귀식값이 높을수록 식미가 좋은 것으로 추정하여 계통을 선발하였다. 후대계통들은 모부본의 평균 식미회귀식값보다 높은 값을 선발기준으로 하였다. 식미회귀식값에 의한 계통선발은 F₃, F₅세대에서 수행하였으며, F₂세대에서는 관행육종법에 의해 표현형만을 선발하였고, F₄세대에서는 온실에서 세대진전만을 실시하였다(Fig. 1).

관행육종법에 의한 선발

관행육종법은 시험포장에서 표현형적으로 우수한 계통을 선발한 후, 실내에서 현미선발을 병행하여 최종 계통을 선발하였다. 표현형선발 조건으로는 조장이 모본들보다 작거나 비슷하고, 초형이 양호하며, 출수기가 8월10일 이전인 조·중생 위주의 계통을 선발하였다. 현미선발은 심복백이 적고, 쌀이 맑은 계통을 선발하였다. F₂, F₃, F₅ 세대에서 관행육종법에

Table 1. The number of F₂ plants and F₃ lines from each cross combination.

SR number	Cross combination	Numer of F ₂ plants	Numer of F ₃ lines
SR33245	Gyeonggi1/Juan	600	94
SR33107	Junamjosaeng//Unmi/Koshihikari	600	70
SR33312	Suweon527/Haeoreumi	650	106
SR33344	Odae/Jogwang	570	105
Total	4 crosses	2,420	375

의해 계통을 선발하였고, F₄세대에서는 온실에서 세대진전만을 실시하였다(Fig. 1).

밥의 윤기치 검정

본 연구에서는 밥맛의 지표를 밥의 윤기치(Toyo taste value)값을 측정하여 사용하였다. 밥의 윤기치는 토요시험용 정미기(MC-90A)를 이용하여 현백을 91%로 도정한 백미 33g을 평량하여 향온수조(MB-90A)에서 시료를 처리한 후, 토요식미계 식미측정장치(MA-90B)에 넣어 밥의 윤기치를 측정하였다(TRCM Co. Japan). 모든 검정은 3반복으로 시료를 분석하여 통계분석을 실시하였다.

DNA분석

DNA추출은 Murray & Thompson (1980)의 방법을 기반으로 하여 CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) 방법

을 실험실 조건에 맞게 조금 변형하여 수행하였다. DNA추출을 위한 잎샘플은 계통들 각각의 종자를 혼합하여 파종한 후, 유묘기때 잎을 채취하여 사용하였다. PCR반응조건은 Lestari et al. (2009)의 논문에 제시한 방법에 따라 수행하였고, DNA마커분석은 서울대학교 작물육종지원사업단에 의뢰하여 식미회귀식값의 산출에 필요한 G4, M11, E30, M2CG, P5, B1, J6, WK9, A7, GPA, S3c1, CBG, Ams 마커 분석결과를 받아서 사용하였다. PCR 반응조건은 genomic DNA 40 ng, 25 mM MgCl₂ 2 µl, 2.5 mM dNTPs 1 µl, Taq polymerase 1unit, 10 µM 프라이머 1 µl 를 혼합한 후, 반응용액이 총 20 µl 되게 한 후 PCR 분석에 이용하였다. PTC-200 Peltier Thermal Cycler (MJ Research, Ins.)를 이용한 첫 변성은 95°C에 5분간, 그 후의 변성은 95°C에서 30~40초, annealing은 55~62°C에서 30~40초, 그리고 DNA 합성은 72°C에서 30~40초로 총 35cycles를 실행하였으며, 최종

Fig. 1. Scheme for the selection of high palatability line using marker-assisted selection and conventional selection methods in 4 cross combinations.

DNA 합성은 72℃에서 10~15분간 실시하였다. 합성된 DNA는 2~3% agarose gel 상에서 분리하고, EtBr에 염색하여 UV 램프에서 band를 확인하였다.

통계분석

통계처리는 SAS 프로그램(version 9.2, Enterprise Guide 4.2; SAS Institute Inc, Cary, North Carolina)을 이용하여 수행하였다. 품종그룹간 밥의 윤기치 평균값 비교는 t-검정을 실시하여 유의성을 분석하였다. ANOVA분석을 통하여 분자마커와 형질간의 연관관계를 분석하였고, 분산분석에서 처리와 집단에 대해 유의성이 인정되면, LSD로 평균간 비교를 실시하였다.

결과 및 고찰

교배모본들의 식미회귀식값과 밥의 윤기치

분자마커분석에 의한 식미회귀식값을 구하기 위하여 13개 DNA마커를 교배모본들과 후대계통들에 대해서 분석을 실시하였다(Fig. 2). 식미회귀식값을 구하기 위해 분석된 13개 DNA마커 중 G4, B1, GPA, Ams 4개는 본 연구에 사용된 9개 교배모본들간에 다형성이 없었다. 교배조합별로 살펴보면, 경기1호와 주안벼에서는 E30, J6, S3c13개의 DNA마커가 다형성을 보였고, 주남조생, 윤미, 고시히까리 에서는 M11 등 7개 DNA마커가 다형성을 보였고, 수원527호, 해오르미에서는 M2CG등 6개 DNA마커가 다형성을 보였고, 오대, 조광에서는 E30등 4개 DNA마커가 다형성을 보였다. 교배조합별

Fig. 2. PCR band patterns from a cross between Junamjosaeng/Unmi/Koshihikari using the primer set of M2CG.

Table 2. Toyo tasted value and polymorphic markers of parental varieties and eq value of F₃ lines from 4 cross combinations.

SR no.	Parental varieties	Toyo taste value	eq value ^z		No. of polymorphic marker ^y
			Parents	Mean $\pm$ SD of F ₃ lines (Range)	
SR33245	Gyeonggil	76.0	97	108 $\pm$ 13.6	3
	Juan	73.6	118	(72~123)	
SR33107	Junamjosaeng	61.6	104	112 $\pm$ 12.0 (90~132)	7
	Unmi	62.8	101		
	Koshihikari	75.8	95		
SR33312	Suweon527	73.9	97	112 $\pm$ 11.9 (94~125)	6
	Haeoreumi	53.7	75		
SR33344	Odae	69.3	123	94 $\pm$ 9.0 (64~124)	4
	Jogwang	61.7	77		

^zeq value: Palatability value were calculated by the regression equation based on marker genotypes

^yNo. of polymorphic markers among 13 DNA markers for eq value

로 대부분의 다형성을 보인 DNA마커는 3~7개로 나타났다 (Table 2). 위의 4조합은 모두 자포니카/자포니카 교배조합이므로 양친간에 13개의 DNA마커가 모두 다형성을 보인 조합은 찾을 수가 없었다. 주남조생//운미/고시히카리 조합은 3원 교잡으로 3개 모본들간에 다형성을 보인 마커를 찾았기 때문에 가장 많은 마커가 다형성을 보인 것으로 생각된다. 교배모본들의 식미회귀식값과 밥의 윤기치를 분석하여 비교한 결과, 경기1호/주안, 주남조생//운미/고시히카리 조합의 모본들은 식미회귀식값과 밥의 윤기치가 일치하지는 않았다(Table 2). 수원527호/해오르미, 오대/조광 조합의 모본들은 식미회귀식값이 높은 것이 밥의 윤기치도 높게 나타났다. 전체 교배모본들을 가지고 식미회귀식값을 구하기 위해 분석한 13개 DNA마커로 군집분석을 실시하였다. 군집분석결과 2개의 그룹으로 나뉘어졌으며, 1그룹에는 경기1호, 수원527호, 주남조생, 주안, 운미 품종이 속하였고, 2그룹에는 고시히카리, 오대, 해오르미, 조광 품종이 속하였다(Fig. 3). 이들 그룹간에 식미회귀식값과 밥의 윤기치의 평균값을 비교한 t-검정결과 그룹간

에 유의한 차이가 있었다. 식미회귀식값이 높은 그룹이 밥의 윤기치값도 높게 나타났다. 밥의 윤기치는 자포니카 품종에서 밥맛과 상당히 연관이 되어있고(Takeuchi et al. 2007, Azuma et al. 1994), 실제로 육종현장에서 고식미계통선발에 간접선택지표로 활용되고 있는 실정이다. Lestari et al. (2009)은 22개 자포니카품종들을 가지고 식미회귀식값과 밥의 윤기치 및 식미관능검정결과가 일치한다는 결과를 보고하였는데, 본 실험에서도 모본들간에 같은 결과를 보였다. 분자마커에 의한 식미회귀식값은 품종집단의 식미를 구분하는데는 상당히 유용하게 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

관행육종법에 의한 계통선발

표현형선발과 현미선발을 병행한 관행육종법으로 F₃계통을 선별한 결과, SR33245조합에서 39계통(41.5%), SR33107조합에서 32계통(45.7%), SR33312조합에서 36계통(33.9%), SR33344조합에서 35계통(33.3%)을 선발하였다(Table 2). 전체 4조합의 375 F₃계통에서 관행육종법으로 142계통을 선

Fig. 3. Dendrograms of 9 cross parental cultivars clustered by the similarity coefficients of 13 DNA markers. eq value: The value of the regression equation with a set of 13 DNA markers. Toyo taste value: The palatability value according to the Toyo taste meter.

발하였는데, 이는 전체계통의 38.6%에 해당한다. 관행육종법으로 선발된 선발된 F₃계통들을 2012년 동계온실에서 세대진 전시켜 임의로 계통내 한 개체씩을 선발하여 F₄계통을 육성하였으며, 2013년 하계 시험포장에 F₅계통으로 공시하여 표현형선발과 토요식미치를 검정하였다. 관행육종법에 의해 SR33245조합 F₅ 39계통을 공시하여 7계통을 선발하였고, SR33107조합에서 32계통을 공시하여 7계통, SR33312조합에서 36계통을 공시하여 9계통, SR33344조합에서 35계통을 공시하여 8계통을 각각 선발하였다. 선발된 계통들의 밥의 윤기치는 SR33245조합의 계통들은 평균 75였고, 범위는 72~78, SR33107조합의 계통들은 평균 70였고, 범위는 62~77, SR33312조합의 계통들은 평균 73였고, 범위는 64~78, SR33344조합의 계통들은 평균 62였고, 범위는 54~65였다 (Table 4). 관행육종법으로 선발한 계통의 수가 분자육종법으로 선발한 계통수보다 적은 이유는 1차로 표현형선발을 한 후, 현미선발을 할 때 현미외관이 불량한 계통이 2차로 제거

되었기 때문이었다. 조합간 계통들의 밥의 윤기치 평균값이 차이를 보였는데(Table 4), 이는 교배모본의 조합능력에 따른 차이로 추정된다(Kwak 2000).

분자육종법에 의한 계통선발

자포니카 조합인 경기1호/주안(SR33245), 주남조생//운미/고시히카리(SR33107), 수원527호/해오르미(SR33312), 오대/조광(SR33344) 4조합으로부터 육성된 F₃ 계통을 수원 시험포장에 공시하였다(Table 2). F₃계통들에 대해서 각각 13개 DNA마커를 분석하여 식미회귀식값(eq value)을 구하였다 (Table 2). SR33245조합에서 모본인 경기1호는 식미회귀식값이 97, 부분인 주안벼는 118였으며, 이들 조합의 F₃계통들의 평균 식미회귀식값은 108이고, 범위는 72~123 이었다. SR33107조합에서 모본인 주남조생은 식미회귀식값이 104, 부분인 운미, 고시히카리는 각각 101, 95였으며, 이들 조합의 F₃계통들은 평균 식미회귀식값이 112이고, 범위는 90~132

Table 3. The selection size of F₃ lines from 4cross combinations by MAS and conventional breeding methods.

SR No.	No of lines	No. of lines by selection (%)		
		SCB ^z	MAS ^y	SCB+MAS
SR33245	94	39(41.5)	39(41.5)	19(20.2)
SR33107	70	32(45.7)	25(35.7)	18(25.7)
SR33312	106	36(33.9)	55(51.9)	26(24.5)
SR33344	105	35(33.3)	9(8.6)	8(7.6)
Total (Mean)	375	142(38.6)	128(34.4)	71(19.5)

^zSCB: Selection by conventional breeding

^yMAS: Marker assisted selection

Table 4. The selected number and Toyo taste value of F₅ lines from each cross combination.

SR number	Cross combination	Number of F ₅ lines				Mean of Toyo taste value (Range) ^x		
		Total	SCB ^z	MAS ^y	SCB+MAS	SCB	MAS	SCB+MAS
SR33245	Gyeonggi1/Juan	39	7	12	6	75 ^b (72~78)	74 ^b (70~78)	75 ^c (70~78)
SR33107	Junamjosaeng//Unmi/Koshihikari	32	7	13	6	70 ^b (62~77)	72 ^b (62~78)	69 ^b (62~75)
SR33312	Suweon527/Haeoreumi	36	9	14	6	73 ^b (64~78)	74 ^b (67~78)	75 ^c (70~78)
SR33344	Odae/Jogwang	35	8	6	5	62 ^a (54~65)	61 ^a (54~66)	61 ^a (54~65)
Total	4 crosses	142	31	45	23			

^zSCB: Selection by conventional breeding

^yMAS: Marker assisted selection

^xMeans followed by the same letter are not significant at the 5% significance level by the least significant difference test (LSD=0.05).

였다. SR33312조합에서 모본인 수원527호는 97, 부분인 해오르미는 75였으며, 이들 조합의 F₃계통들은 평균 식미회귀식값이 112이고, 범위는 94~125였다. SR33344조합에서 모본인 오대는 123, 부분인 조광은 77였으며, 이들 조합의 F₃계통들의 평균 식미회귀식값은 94이고, 범위는 64~124였다. F₃계통들의 식미회귀식값 평균을 조합별로 비교해 보면, SR33107과 SR33312조합의 평균이 112로 높은 편이고, SR33344조합의 평균값이 가장 낮았다(Table 2). 이러한 결과는 F₂세대에서 표현형선발을 할 때 이들 2조합에서 식미회귀식값이 높은 개체가 주로 선발되었을 것으로 추정된다. 또한 이들 2조합에서는 식미회귀식값이 양친 보다 높은 값을 보이는 계통들도 선발되었는데, 이는 양친의 조합능력에 따른 결과로 생각되며, 식미회귀식값에 적용된 13개 DNA마커에서 양친간에 DNA다형성도 6~7개로 다른 2조합보다 많은 다형성을 보였다. 식미회귀식값을 기준으로 양친의 평균값보다 높은 F₃계통을 선발한 결과, SR33245조합에서 39계통(41.5%), SR33107조합에서 25계통(35.7%), SR33312조합에서 55계통(51.9%), SR33344조합에서 9계통(8.6%)을 선발하였다(Table 3). 전체 4조합의 375 F₃계통에서 식미회귀식값으로 128계통을 선발하였고, 이는 전체계통의 34.4%에 해당한다. SR33344조합에서 다른 조합보다 적은 계통이 선발된 이유는 모본인 오대벼보다 식미회귀식값이 높은 계통이 적게 분포하고 있어 선발기회가 적었기 때문이었다. 선발된 F₃계통들을 2012년 동계온실에서 세대진전시켜 분자마커선발 없이 임의로 계통내 한 개체씩을 선발하여 F₄계통을 육성하였으며, 2013년 하계 수원 시험포장에 F₅계통으로 공시하여 분자마커와 밥의 윤기치를 검정하였다. 식미회귀식값을 기준으로 SR33245조합 F₅ 39계통을 공시하여 12계통을 선발하였고, SR33107조합에서 25계통을 공시하여 13계통, SR33312조합에서 55계통을 공시하여 14계통, SR33344조합에서 9계통을 공시하여 6계통을 각각 선발하였다(Table 4). 선발된 계통들의 밥의 윤기치는 SR33245조합의 계통들은 평균 74였고, 범위는 70~78, SR33107조합의 계통들은 평균 72였고, 범위는 62~78, SR33312조합의 계통들은 평균 74였고, 범위는 67~78, SR33344조합의 계통들은 평균 61였고, 범위는 54~66였다(Table 4). F₅계통들의 밥의 윤기치 평균을 조합별로 비교해 보면, SR33245와 SR33312조합의 평균이 74로 높은 편이고, SR33344조합의 평균값이 가장 낮았다(Table 4). SR33312조합의 계통들은 다른 조합에 비해 식미회귀식값 평균도 높고, 밥의 윤기치 평균도 높은 경향을 보였으나,

SR33344조합은 반대가 되는 경향을 보였다(Table 2 and 4). 관행육종법으로 선발하였을 때도 집단 간의 밥의 윤기치는 분자육종법으로 선발한 계통들과 같은 경향을 보였다. 이는 분자육종법에 의한 선발과 관행육종법에 의한 선발에 차이가 없다는 것을 보여, 식미회귀식값을 가지고 식미계통을 선발하는데는 큰 효과가 없는 것으로 나타났다. 식미회귀식값은 13개의 DNA마커를 가지고 값을 구하게 되는데, 본 실험에 사용된 교배조합에서 양친 간에 다형성을 보이는 DNA마커는 3~7개로 상당히 적어, 식미회귀식값을 구하여 표현형을 설명하기에는 부족한 것으로 생각된다. 13개의 DNA마커가 모두 다형성을 보이는 교배조합을 이용하여 식미회귀식값을 계통선발에 적용한다면, 어느 정도 선발효율성이 있을 것으로 기대되나, 자포니카/자포니카 조합에서 이러한 다형성을 보이는 조합을 찾기는 어려울 것으로 생각된다.

분자육종법과 관행육종법을 병행한 계통선발

분자육종법과 관행육종법을 병행하여 F₃계통을 선발한 결과, SR33245조합에서 19계통, SR33107조합에서 18계통, SR33312조합에서 26계통, SR33344조합에서 8계통을 선발하였다(Table 3). 전체 4조합의 375 F₃계통에서 관행육종과 분자육종법을 병행하여 71계통을 선발하였는데, 이는 전체계통의 각각 19.5%에 해당한다. 분자육종과 관행육종을 병행하여 선발한 F₃계통들을 2012년 동계온실에서 세대진전시켜 임의로 계통내 한 개체씩을 선발하여 F₄계통을 육성하였으며, 2013년 하계 시험포장에 F₅계통으로 공시하여 관행선발과 분자마커선발을 병행하였고, 밥의 윤기치를 검정하였다. SR33245조합 F₅ 19계통을 공시하여 6계통을 선발하였고, SR33107조합에서 18계통을 공시하여 6계통, SR33312조합에서 26계통을 공시하여 6계통, SR33344조합에서 8계통을 공시하여 5계통을 각각 선발하였다. 선발된 계통들의 밥의 윤기치는 SR33245조합의 계통들은 평균 75였고, 범위는 70~78, SR33107조합의 계통들은 평균 69였고, 범위는 62~75, SR33312조합의 계통들은 평균 75였고, 범위는 70~78, SR33344조합의 계통들은 평균 61였고, 범위는 54~65였다(Table 4). F₅계통들의 밥의 윤기치 평균을 조합별로 비교해 보면, SR33245와 SR33312조합의 평균이 75로 높은 편이고, SR33344조합의 평균값이 가장 낮았다. 식미회귀식값에 의한 선발방법은 관행육종법으로 선발하는 방법과 큰 차이를 보이지 않아, 효과가 없는 것으로 생각된다. 분자육종법과 관행육종법을 병행한다면, 육종 집단규모를 최소화할 수 있는 효과는 볼 수 있다는 것을 알

수 있었다. 식미회귀식값에 의한 계통선발을 하려면 교배조합 별로 DNA마커조합과 식미회귀식값을 다시 산출해서 사용을 하거나, 모든 DNA마커에 다형성을 보이는 교배조합을 선정 해서 적용한다면 어느 정도 효과가 있을 것으로 생각된다. 즉, 본 실험에 활용된 식미회귀식값은 모든 조합의 육종집단에서 선발에 활용하기는 어려울 것으로 생각된다.

선발된 계통들의 농업적형질

선발된 F₅계통들의 출수기, 간장, 수장, 수수를 조사한 값을 선발방법에 따라 비교할 때, 출수기, 수장, 수수는 선발방법에 따라 유의한 차이가 없었으나, 간장은 분자유종법 보다 관행육종에 의해 선발한 계통들의 평균값이 작게 나타났다 (Table 5). 이는 관행육종을 할 때 초형과 간장을 모본과 비교 하여 단간위주로 선발한 결과로 생각된다. 출수기는 모본의 출수기를 기준으로 한 조×중생 위주로 선발하였기 때문에 F₅

계통들의 출수기는 빠른 쪽으로 선발된 것을 알 수 있었다. 분자유종법으로 선발한 계통들도 대부분 출수기가 빠른 쪽으로 선발이 되었는데, 본 실험에 사용된 식미회귀식값이 출수기와 어느 정도 연관이 있는 것으로 생각된다. 그 외 수장이나 수수는 양친 간에 차이가 크지 않아 선발방법에 따라 F₅ 계통에서 큰 차이가 없었다고 생각된다.

밥의윤기치와 연관된 분자마커

F₅전체계통을 하나의 집단으로 해서 분석된 분자마커와 밥의 윤기치의 연관분석을 실시한 결과, 밥의 윤기치는 M11, E30, M2CG, P5, WK9, A7, S3c1 DNA마커와 유의성을 보였다(Table 6). 이들 마커 중 M11, M2CG는 전체표현형의 35%이상을 설명해 주는 결과를 보였다. 또한 E30, M2CG, P5, S3c1마커는 밥의 윤기치와 식미회귀식값 모두에서 연관성을 보였다. 이러한 마커를 기준으로 식미회귀식값을 다시

Table 5. Agronomic traits of the F₅ lines selected by three kind of method in Suwon on 2013 year.

Parents and lines	Flowering date (M/D)	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	Panicle number per plant
Gyeonggi1	8/4	80	22	10
Juan	8/14	75	24	10
SCB ^z	8/4	75	21	10
MAS ^y	8/3	77	21	10
SCB+MAS	8/3	77	21	10
Junamjosaeong	8/4	75	22	11
Unmi	7/28	77	22	10
Koshihikari	8/9	86	19	12
SCB	8/3	74	20	11
MAS	8/2	80	21	11
SCB+MAS	8/2	76	21	11
Suweon527	8/6	80	20	9
Haeoreumi	8/11	79	22	9
SCB	8/5	76	21	9
MAS	8/4	77	21	10
SCB+MAS	8/5	76	20	10
Odae	7/31	75	22	10
Jogwang	8/1	72	19	10
SCB	7/31	70	22	9
MAS	7/30	70	22	10
SCB+MAS	7/30	69	22	9

^zSCB: Selection by conventional breeding

^yMAS: Marker assisted selection

Table 6. DNA markers associated with Toyo taste value and eq value in the F₅ lines from 4 cross combinations

Trait	Linked DNA markers	F-value ^y	R ² value (%) ^x	Mean of band type ^w	
				Absent	Present
Toyo taste value	M11	81.6**	35.4	66.7	75
	E30	12**	7.4	68.9	72.8
	M2CG	119.2**	44.4	64.1	73.8
	P5	5.1*	3.3	68.9	71.4
	WK9	24.9**	14.3	68.5	73.9
	A7	44**	22.8	61.4	71.7
	S3c1	47.4**	24.1	74	67.2
eq value ^z	E30	128**	46.2	94.1	111.5
	M2CG	7**	4.5	97.3	102.9
	P5	17.1**	10.3	95.9	104.2
	S3c1	15.7**	9.5	105.1	97.3
	CBG	4.5*	2.9	74.7	101.2

^zeq value: Palatability value were calculated by the regression equation based on marker genotypes

^y*, **: Significant at 0.05 and 0.01 probability

^xR² value: Percentage of the phenotypic variation explained by the DNA marker

^wThe means of absent and present band type, respectively

구하여 자포니카집단에서 고식미계통을 선발한다면 보다 유용하게 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

적 요

지금까지 밥맛특성이 우수한 품종을 육성하려는 노력이 부단히 진행되고 있으나, 저세대에서 미질을 평가하는 기준과 지표가 미흡한 실정이다. 고식미 품종육성과정 중 저세대에서 고식미계통을 선발하기에는 어려운 실정이다. 본 연구에서는 DNA분석에 의한 식미회귀식값을 자포니카 간의 교잡에서 유래된 저세대 계통선발에 적용하여 선발효율성을 관행육종법과 비교분석하였다. 9개 교배모본들을 군집분석하여 그룹 간에 식미회귀식값과 밥의 윤기치의 연관분석을 실시한 결과, 유의성이 있었다. 분자육종법과 관행육종법으로 계통을 선발한 결과 선발집단규모는 각각 34.4%, 38.6%로 비슷하였고, 분자육종법과 관행육종법을 병행하였을 때는 19.5%로 집단 규모가 상당히 줄었다. 밥의 윤기치와 식미회귀식값은 집단 간에는 차이가 있었으나, 육종방법에 따라서는 차이가 없었다. 식미회귀식값은 13개 DNA마커를 가지고 값을 구하게 되는데, 본 실험에 사용된 교배조합에서 양친 간에 다형성을 보이는 DNA마커는 3~7개로 상당히 적어, 식미회귀식값을 구하여 표현형을 설명하기에는 부족한 것으로 생각된다. 식미회귀

식값에 의한 고식미계통선발을 하려면 교배조합별로 DNA마커조합과 식미회귀식값을 다시 산출해서 사용을 하거나, 식미회귀식에 활용되는 모든 DNA마커에 다형성을 보이는 교배조합을 선정해서 적용한다면 어느 정도 효과가 있을 것으로 생각된다. 본 실험에 활용된 식미연관 13개 DNA마커에 의한 식미회귀식값은 모든 조합의 육종집단에서 선발에 활용하기는 어려운 것으로 생각된다.

사 사

본 논문은 농림수산식품기술기획평가원(iPET) 연구사업(세부과제명: 식미관련 분자표지 이용 고식미 벼품종 육성 초기세대 선발법 개발, 세부과제번호: 408529-03-3-SB020)의 지원에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

1. Azuma S, Sasaki Y, Ishizaki K, Kondou T, Hoshi T. 1994. Improvement of grain and eating quality in rice breeding of Niigata Prefecture: VII. Comparison of some measuring methods for effective selection about eating quality. *Hokuriku Crop Sci.* 29: 35-36.

2. Bao JS, Zheng XW, Xia YW, He P, Shu QY, Lu X, Chen Y, Zhu LH. 2000. QTL mapping for the paste viscosity characteristics in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 100: 280-284.
3. Bao JS, Wu YR, Hu B, Wu P, Cui HR, Shu QY. 2002. QTL for rice grain quality based on a DH population derived from parents with similar apparent amylose content. *Euphytica* 128: 317-324.
4. Cagampang GB, Perez CM, Juliano BO. 1973. A gel consistency test for the eating quality of rice. *J. Sci. Food Agric.* 24: 1589-1594.
5. Cho YC, Suh JP, Yoon MR, Baek MK, Won YJ, Lee JH, Park HS, Baek SH, Lee JH. 2013. QTL mapping for paste viscosity characteristics related to eating quality and QTL-NIL development in japonica rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breed. Biotech.* 1: 333-346.
6. Ebitani T, Umemoto T, Yano M. 2002. QTL analysis of "Mido" value, an inbred selection index for eating quality of rice, using progenies from a cross between japonica and indica variety. *Korean J. Breed. Sci.* 52: 371.
7. Juliano BO. 1985. *Rice Chemistry and Technology*, 2nd edn. American Association of Cereal Chemists, Incorporated Saint Paul, Minnesota, USA.
8. Kwak TS. 2000. Inter-relationship and combining ability of growth characters in F1 hybrids of indica and tongil type rice. *Korean J. Breed. Sci.* 32: 58-63.
9. Lestari P, Ham TH, Woo MO, Jiang W, Chu SH, Kwon SW, Ma K, Lee JH, Cho YC, Koh HJ. 2009. PCR marker-based evaluation of the eating quality of japonica rice (*Oryza sativa* L.). *J. Agric. Food Chem.* 57: 2754-2762.
10. Lee MH. 2003. Evaluation of rice grain and eating quality. National Crop Experiment Station, RDA, Korea. pp.3-23.
11. Little RR, Hilder GB, Dawson EH. 1958. Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. *Cereal Chem.* 35: 111-126.
12. He P, Li SG, Qian Q, Ma YQ, Li JZ, Wang WM, Chen Y, Zhu LH. 1999. Genetic analysis of rice grain quality. *Theor. Appl. Genet.* 98: 502-508.
13. Murray MG, Thompson WF. 1980. Rapid isolation of high molecular-weight plant DNA. *Nucl. Acid. Res.* 8: 4321-4325.
14. RDA(Rural Development Administration). 2003. Manual for standard evaluation method in agricultural experiment and research. Suwon(Korea): RDA. p.838.
15. Suh JP, Choi YH, Kim KJ, Cho YC, Kwon SJ, Jeong YP, Jeung JU, Choi IS, Kim YG, Choi HC, Hwang HG. 2004. Genetic diversity and QTLs for grain quality in japonica rice. *Korean J. Breed. Sci.* 36: 31-37.
16. Suh JP, Cho YC, Kwon SJ, Choi IS, Hong HC, Kim YG, Ahn SN, Hwang HG. 2006. Identification of QTLs for grain quality on a RIL population derived from a cross between japonica rices. *Korean J. Breed. Sci.* 38: 105-112.
17. Takeuchi Y, Nonoue Y, Ebitani T, Suzuki K, Aoki N, Sato H, Ideta O, Hirabayashi H, Hirayama M, Ohta H, Nemoto H, Kato H, Ando I, Ohtsubo K, Yano Y, Imbe T. 2007. QTL detection for eating quality including glossiness, stickiness, taste and hardness of cooked rice. *Korean J. Breed. Sci.* 57: 231-242.
18. Tan YF, Li JX, Yu SB, Xing YZ, Xu CG, Zhang Q. 1999. The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, Shanyou 63. *Theor. Appl. Genet.* 99: 642-648.
19. Tan YF, Sun M, Xing YZ, Hua JP, Sun XL, Zhang QF, Corke H. 2001. Mapping quantitative trait loci for milling quality, protein content and color characteristics of rice using a recombinant inbred line population derived from an elite rice hybrid. *Theor. Appl. Genet.* 103: 1037-1045.
20. Tian R, Jiang GH, Shen LH, Wang LQ, He YQ. 2005. Mapping quantitative trait loci underlying the cooking and eating quality of rice using a DH population. *Mol. Breed.* 15: 117-124.
21. Unnevehr LJ, Duff B, Juliano BO. 1992. Consumer demand for rice grain quality. International Development Research Centre, Ottawa, Canada.
22. Webb BD. 1980. Rice quality and grades. In Luh BS (ed) *Rice: production and utilization*. Avi Publication Company, Incorporated, Westport, Connecticut, USA, pp.543-565.
23. Zhang XM, Shi CH, Katsura T. 2002. Correlation analysis between starch characteristics and taste quality in japonica rice (in Chinese with English abstract). *Chinese J. Rice. Sci.* 16: 157-161.
24. Zhou PH, Tan YF, He YQ, Xu CG, Zhang Q. 2003. Simultaneous improvement for four quality traits of Zhenshan 97, an elite parent of hybrid rice, by molecular marker-assisted selection. *Theor. Appl. Genet.* 106: 326-331.