장수형 밀의 계통 특성 분석 I. 농업 형질과 관련 유전자 특성

손재한¹ · 강천식¹ · 정영근¹ · 김경훈¹ · 김학신¹ · 박종철¹ · 김경호¹ · 김보경¹ · 박철수^{2*}

¹국립식량과학원, ²전북대학교 농업생명과학대학 작물생명과학과

Characterization of Korean Wheat Line with Long Spike. I. Agronomic Traits and Genetic Variations

Jae-Han Son¹, Chon-Sik Kang¹, Young-Keun Cheong¹, Kyeong-Hoon Kim¹, Hag-Sin Kim¹, Jong-Chul Park¹,
Kyoung-Ho Kim¹, Bo-Kyoung Kim¹, and Chul Soo Park^{2*}

¹National Institute of Crop Science, RDA, Wanju 565-851, Korea

²Department of Crop Science and Biotechnology, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

Abstract : One hundred sixty four wheat (*Triticum aestivum* L.) lines expressing the long spike were developed by the National Institute of Crop Science, Rural Development Administration. Six of 11 genes showed allelic variation among 164 lines and they were highly related to yield traits containing spike and kernel number, kernel length, 1000-kernel weight and grain yield. Analysis of allelic variation of each gene showed high correlation between allelic variation and agricultural characteristics. Coefficient of correlation between culm length and spike length was the highest 0.436. The heading date of the lines expressed *Vrn-D1* allele was late and the lines expressed *Vrn-D1* allele had longer spike length and higher number of kernel per spike than other lines. There was no significant difference in agronomic characteristics of analysis of *Vrn-B1*. *Ppd-D1b* was related to heading date and higher number of spike/m². *Ppd-D1a* was corresponded to number of kernel per spike and 1000-kernel weight. Three haplotypes, *Hap-L*, *Hap-6A-G* and *TaCwi-A1a*, were related to 1000-kernel weight.

Keywords : Agronomic Traits, Allelic variation, Long spike, Wheat

서 언

기상 이변과 병충해로 인해 밀 수량 안정성은 그 어느 때보다 불안한 실정이기 때문에 수량 증대 및 안정성 증진은 매우 중요한 육종목표라고 할 수 있다(Miralles & Slafer 2007, Rosegrant & Cline 2003). 밀 수량은 단위면적당 이삭수, 1수립수, 종자 무게 영향을 가장 많이 받는데, 개별적인 종자의 무게는 차이는 있지만 이삭의 개수와 1수립수는 단위면적당 이삭수의 증가와 밀접한 관련이 있기 때문에 이삭 길이와 1수립수의 증가는 밀 수량 증대에 직접적인 원인이 된다(Brancourt-Hulmel et al. 2003, Ledent & Stoy 1988, Ma et al. 2007, Perry & d'Antuono 1989). 그러므로 밀 육종 프로

그램에서 수량 증진을 위한 이삭에 달린 종자 개수 증가를 유전적으로 조절하는 것이 중요하다고 할 수 있다(Fischer 2007, Foulkes et al. 2011, Reynolds et al. 2005, Reynolds et al. 2012).

국내 밀 생산량은 연간 44,000 톤 정도 생산되고 있지만, 자급률은 2.2% 정도로 매우 낮아 대부분 수입에 의존하고 있는 실정이지만, 최근 국가 정책과 소비자 의식 변화 등에 의해 밀 재배 면적과 생산량이 증가하고 있는 추세이다(MAFRA 2014). 국내 밀 육종프로그램은 수량성 증진, 숙기 단축과 밀가루 품질 향상을 주요 목표로 품종 및 계통 선발과 육성이 이루어지고 있는데, 1970년 이후 35개의 품종이 육성되었다(Kang et al. 2014). 이모작 남부지역에서 주로 재배되고 있는 금강밀과 조경밀은 제분율이 높고 제빵 적성이 양호한 백립계 경질밀이지만, 20년 전에 육성되어 현재 재배 농가에서 요구하는 수량성에 미치지 못하여 재배면적이 점차 감

*Corresponding author (E-mail: pcs89@jbnu.ac.kr, Tel: +82-63-270-2533, Fax: +82-63-270-2640)

(Received on July 27, 2015. Revised on September 15, 2015.

Accepted on September 15, 2015.)

소하고 있다(Kang et al. 2014). 재배 농가의 요구에 부응하는 수량성 높은 밀 품종 개발을 위하여 금강밀과 중국밀 자원인 Xian83의 교배를 통해 이삭 길이와 1수립수가 많은 장수형 계통을 개발하였다(Kang et al. 2013).

Atsmon과 Jacobs (1977)가 개발한 “Gigas”는 최대 30개의 이삭을 갖는 장수형 밀로 종자 1개의 무게는 63 mg이고 한 소수당 9개의 종자가 열린다. 그러나 Gigas는 분얼이 왕성하지 않고 억제되는 경향을 나타냈는데, 이것은 염색체 1AS에 위치하고 있는 *tin* 열성유전자가 원인으로 알려져 있다(Richards 1988, Spielmeier & Richards 2004). *tin*은 수량에 영향을 미치는 유전자로서 1수립수는 9% 정도 증가시키지만, 수수와 립중을 각각 11%와 2% 감소시킨다고 보고되어 있다(Duggan et al. 2005). 장수형 밀은 국제밀육수연구소(CIMMYT)의 밀과 비교했을 때, 1수영화수, 1수립수, 개개의 립중이 각각 4%, 5%, 10%가 증가하는 것으로 보고되었지만, 대비품종인 Bacanora에 비해 수량이 8% 감소하고, 수수가 26% 감소하는 것으로 확인 되었다(Gaju et al. 2009, 2014).

수수 및 1수립수 등 수량성과 관련된 유전자 및 다양한 분자마커 개발은 밀의 육종에 매우 유용하게 사용될 수 있다(Bernardo 2008). 종실의 무게와 크기는 수량에 직접적으로 관련되어 있기 때문에 매우 중요하며 이와 관련된 유전자로 Sucrose synthase 2 (*Sus2*), grain width (*GW2*)와 cell-wall invertase (*CWI*) 등 3개가 보고되어 있다(Liu et al. 2012). 각각의 유전자형에 따라 *TaSus2-2B*의 *Hap-H*과 *TaGW2-6A*의 *Hap-6A-A*는 천립중 증가와 매우 밀접하게 연관되어 있는 것으로 보고되어 있다(Jiang et al. 2011, Su et al. 2011). 또한 Ma et al. (2012)은 *TaCwi-A1*의 분석을 통해 *TaCwi-A1a* 대립유전자의 천립중은 *TaCwi-A1b* 보다 많은 것을 확인하였다. 반왜성 유전자(*Rht*)는 녹색혁명을 이끈 중요한 유전자로서 서로 다른 대립유전자는 식물의 길이 생장에 서로 다른 영향을 미친다(Börner et al. 1996). 특히 밀의 염색체 4B와 4D에 위치하고 있는 *Rht-B1b*과 *Rht-D1b*는 DELLA 단백질을 암호화하고 있고 지베렐린산(GA3)에 둔감한 유전자이다(Tosovic-Maric et al. 2008). 이들 반왜성 유전자는 간장을 감소시키고 고온 등 기후 변화 아래에서도 밀의 수량을 증대를 기대할 수 있게 하였다(Flintham et al. 1997). 파성(vernalization)과 일장(photoperiod)은 밀의 개화를 조절하는 주요한 인자이다. 이들은 생장온도와 반응을 통해 개화를 시작하는 것과 다른 환경적인 자극을 통해 개화의 시기를 앞당

기거나 늦출 수 있다. *Vrn-1* 과 *Ppd-1* 등은 각각 파성과 일장과 관련되어 있는 유전자로서 각각 3개의 상동유전자를 포함하고, 5번과 2번 염색체에 위치하고 있다(Kamran et al. 2014). *Vrn-1*은 개화 시기와 식물의 키 등에 영향을 미치고(Stelmakh 1998), *Ppd-1*는 일장 둔감형 유전자로서 일장에 민감한 유전자보다 개화 시기를 앞당기기 때문에 여름의 고온과 건조 조건에서도 수량을 증대시킬 수 있는 중요한 유전자이다(Snape et al. 2001).

국내 품종들에 대한 품질 관련 유전자와 같이 농업형질과 관련된 *TaCwi-A1*, *TaGW2*, *TaSux2-2B*, *Rht*, *Ppd-1*, *Vrn-1* 등 유전자의 연구가 이루어졌지만, 새로 개발된 장수형 밀 164계통에 대한 연구는 아직 없다. 따라서 다수성 밀 품종 개발을 위한 장수형 밀의 농업적인 분석과 유전적인 구성요소를 함께 분석하여 한국의 밀 육종에서 다수성 밀 품종개발을 위한 중요한 자원으로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

공시재료

2005년도에 숙기는 늦지만 이삭이 길고 립수가 많은 CIMMYT의 수집종인 Xian83을 모본으로 하고, 숙기가 빠르고 다목적용 밀 품종인 금강밀을 부본으로 인공교배하여 IW20050259 조합을 육성하였다. 국립식량과학원 시험포장(전북 익산시)에서 교잡종(F₁)의 분리세대(F₂) 종자를 국립식량과학원 운봉출장소(전북 남원시)에서 일반적인 집단육종법에 의해 내한성이 양호한 계통을 선발하였다. 잡종 제3세대(F₃)이후에는 국립식량과학원 시험포장에 집단 재배하여 이삭이 길고 립수가 많은 계통을 선발하였다. 본 연구에는 잡종 제 8세대(F₈) 164계통을 공시하였다. 부본으로 이용된 Xian83은 CIMMYT에서 중국자원에 대한 붉은곰팡이병 평가를 위해 도입되었지만, 평가 이후 폐기되어 농업형질 및 관련 표지인자와의 비교는 부본인 금강밀과 비교했다.

농업형질 조사

농업 형질 조사는 농촌진흥청 농업 과학 기술 조사 분석 기준(RDA 2012)에 준하여 실시하였다. 출수기는 전체 경수 중에 40%가 출수한 날로 하였으며, 성숙기는 대부분의 이삭이 황화한 날로 조사하였다. 간장은 지면에서 이삭 목까지의 길이로 나타내었고, 수장은 이삭 목에서 이삭 끝까지의 길이를 측정하였고, 단위 면적당 수수는 생육이 고른 3개소에서 25

cm × 50 cm에 있는 총 수수를 측정하여 1 m²당 경수로 환산하였다. 1수립수는 생육이 균일한 장소에서 무작위로 20수를 채취하여 탈곡 후 조사하였다. 리터중은 탈곡한 종자를 2.0 mm 종목체를 통과하지 않은 종자를 리터중 측정기를 이용하여 측정하였으며, 천립중도 탈곡한 종자를 2.0 mm 종목체를 통과하지 않은 종자를 1,000립을 측정하여 무게를 조사하였다. 수량은 수확 탈곡 건조 후(수분 14% 기준) 설립을 제외하고 종실을 평량하여 10a당으로 환산하여 조사하였다.

Genomic DNA 추출

금강밀과 장수형 계통을 온실에 파종하여 3주 간 생육시켰다. 유식물체의 엽을 채취하여 액체질소로 급속냉동 시킨 후 유발을 이용하여 미세분말로 분쇄한 뒤 -70°C에 보관하였다. Genomic DNA는 잎 분말(100 mg)로부터 식물용 Genomic DNA 분리시약(Solgent, Korea)을 이용하여 추출하였다.

PCR 분석

*Rht-B1*와 *Rht-D1* 유전자를 이용한 Polymerase chain reaction (PCR)은 Ellis et al. (2002)의 방법으로 수행되었다. *Vrn-1* 유전자 PCR 분석은 Yan et al. (2004), Fu et al. (2005), Santra et al. (2009), Zhang et al. (2012), Chen et al. (2013)의 연구방법에 따라 수행되었고, *Ppd-1*는 Beales et al. (2007)과 Bentley et al. (2011)의 방법을 이용하였다. PCR 생산물은 1.5% 아가로스젤에 전기영동하여 확인하였고, *TaSus2-2B*, *TaGW2-6A*, *TaCwi-A1* 등의 대립유전자 다양성은 Jiang et al. (2011), Su et al. (2011)과 Ma et al. (2012)의 방법에 의해 분석되었다.

통계 분석

모든 시험은 최소 3회 이상 반복을 두어 실시하였으며, 시험성적은 SAS 프로그램(SAS Institute, Cary, NC)을 이용하여 분산분석을 실시하고 LSD로 유의성을 검정하였으며, 품종과 연차간 변이의 상호작용을 보기 위한 ANOVA (Analysis of variance) 분석은 GLM을 이용하였으며, 품종과 연차 변이의 상호작용 성분은 오차항을 이용하였다. 상관관계는 피어슨의 상관 계수를 이용하였으며, 통계적 유의 수준은 $P < 0.05$ 으로 실시하였다.

결과 및 고찰

장수형 계통의 농업 형질

장수형 계통의 잎색은 녹색이며 폭은 금강밀에 비해 넓은 편이다. 줄기 굵기는 중 정도이며 이삭은 방추형으로 까락은 중간 정도이고, 종실 크기는 중 정도에서 대립크기의 분포를 보였다(Fig. 1). 장수형 계통은 출수까지 평균 200.8일이 걸렸고, 금강밀(193일)보다 약 7일 정도 많은 일수가 요구되었다. 장수형의 간장은 88.3 cm로 금강밀보다 약 16 cm 더 길었다(Table 1). 밀의 수량과 관련된 특징 중 이삭길이, 단위면적 당 수수, 1수립수, 리터중, 천립중과 생산량 등은 각각 11.7 cm, 650.7개, 43.4개, 776.8 g, 44.6 g, 480.4 kg/10a으로 나타났다. 비교 품종인 금강밀은 7.0 cm, 711.1개, 27.5개, 843.3 g, 45.1 g, 470.4 kg/10a였는데, 장수형 계통은 단위면적당 수수, 리터중은 금강밀보다 낮았지만 이삭의 길이가 길고, 1수립수가 많아 전체적인 수량은 금강밀보다 약 10 kg/10a 증수되는 것으로 나타났다(Table 1).

Table 1. Agronomic traits in Korean wheat line with long spike and Keumkang.

Agronomic traits	Korean wheat population with long spike length ^z (n = 164)		Keumkang
Days to heading date	200.8 ± 1.3	(197.3 - 204.0)	193.0
Culm length (cm)	88.3 ± 6.8	(66.1 - 102.3)	72.1
Spike length (cm)	11.7 ± 1.1	(9.1 - 14.4)	7.0
Number of spike per m ²	650.7 ± 117.0	(389.0 - 950.0)	711.1
Number of kernel per spike	43.4 ± 4.3	(30.8 - 54.7)	27.5
Test weight (g)	776.8 ± 16.9	(713.0 - 815.0)	843.3
1000-kernel weight (g)	44.6 ± 5.7	(31.6 - 55.9)	45.1
Grain yield (kg/10a)	480.4 ± 74.7	(243.2 - 654.1)	470.4

^zValue indicates average and standard deviation of Korean wheat line with long spike and parenthesis includes ranges of Korean wheat line with long spike

장수형 계통의 농업적 형질 간의 상관관계 분석을 통해 간장은 출수까지의 일수와 수장과 매우 높은 상관을 갖는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 장수형 계통이 금강보다 긴 간장과 수장을 갖고 있기 때문에 그 만큼 이들이 자랄 수 있는 충분한 일장이 요구되기 때문인 것으로 생각된다. 단위면적당 수수는 금강에 비해 50개가 적었지만, 1수립수와 전체적인 수량은 금강보다 많았다. 장수형 계통의 종자 크기는 금강밀과 비슷하고, 긴 이삭에 종자가 많이 형성되기 때문에 수량이 많게 나온 것으로 생각된다(Fig. 1). 이와 같이 수장과

1수립수의 상관도 매우 높게 나타났다. 리터중은 천립중과 생산량과 매우 높은 정의상관을 나타냈지만, 출수까지의 일수와는 부의상관을 나타냈다. 뿐만 아니라 천립중과 생산량도 출수까지 일수와 고도의 부의상관을 나타냈다(Table 2).

잎의 크기는 생산량과 바이오매스 생산에 매우 중요한 요소이다(Gonzalez et al. 2009). 잎의 크기와 관련된 생장은 세포증식과 세포신장의 중첩된 두 단계로 나뉘어져 있고, 큰 잎은 세포의 크기와 관련이 있는 것으로 보고되어 있다(Anastasiou & Lenhard 2007). Shin et al. (2015)은 금강과 비교한 결과

Fig. 1. Image of spike and spikelet (A), heading stage (B), maturing stage (C) and grain (D) of Korean wheat 164 line with long spike and Keumkang.

Table 2. Correlation coefficients among agronomic traits of Korean wheat line with long spike.

Parameters ^z	DHD	CL	SL	NSP	NKPS	TW	TKW
CL	0.30***						
SL	0.13	0.44***					
NSP	0.21**	0.20**	-0.10				
NKPS	0.03	0.08	0.37***	-0.01			
TW	-0.50***	-0.17*	-0.16*	-0.17*	-0.15		
TKW	-0.36***	0.16*	0.20**	-0.48***	-0.13	0.40***	
GY	-0.38***	-0.11	0.06	-0.09	0.14	0.29***	0.26***

^zDHD = days to heading date, CL= culm length, SL= spike length, NSP= number of spike per m², NKPS= number of kernel per spike, TW= test weight, TKW=1000-kernel weight, GY= grain yield

^y* indicates significance at 0.05 level, ** at 0.01 level, and *** at 0.001 level

세포의 크기는 장수형 계통이 금강보다 30% 증가했지만 세포의 수나 광합성 효율은 차이가 없었고, 장수형 계통의 수장은 금강보다 6.0 cm 이상 긴 것으로 보고하였다. 본 연구에서 수장과 1수립수와 고도의 정의상관을 나타내는 것을 알 수 있다. 수장이 길수록 립수가 많고, 줄기는 길었지만 도복에 강한 특성을 나타냈다. 장수형 계통의 줄기 두께는 5.02 cm로서 금강 4.35 cm보다 약 0.8 cm가 더 두껍기 때문에 많은 립수에도 불구하고 줄기가 수를 지탱하는 것으로 생각된다(Son et al. 2014). 장수형 계통의 출수기는 금강보다 8일에서 10일 정도 늦고, 개화기는 5일에서 6일 정도 늦다고 보고되어 있다(Son et al. 2014). 리터중, 천립중과 생산량 등은 출수까지의 일수와 고도의 부의 상관을 나타내는 것은 출수기와 개화가 늦기 때문에 수확기까지 요구되는 충분한 시간이 우리나라 기후 여건에서 충족될 수 없는 환경적 영향에 의한 것으로 생각되고, 이들 장수형 계통의 품종과 유전자원으로서 활용을 위해서는 숙기 단축이 매우 중요하게 요구될 것으로 판단된다.

밀의 농업적 특성과 관련된 유전자 분석

TaCwi-A1, *TaGW2*, *TaSux2-2B*, *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* 등 밀의 농업특성과 관련이 있는 유전자 11개의 다양성을 분석하여 금강밀과 비교하였다. PCR을 통해 증폭된 밴드는 167에서 1,671 bp 범위 안에서 확인되었다(Fig. 2). *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Vrn-B1*, *Ppd-A1*, *Ppd-B1* 등 5개 유전자는 164개 장수형 계통에서 차이가 없고 모두 같은 유전자형으로 나타났다. *Rht-B1*과 *Rht-D1*의 유전자형은 두 가지(237, 264bp)로서 장수형 계통은 *Rht-B1b*와 *Rht-D1b* (null-type) 금강밀은 *Rht-B1a*와 *Rht-D1a*로서 다른 것을 확인하였다. 장수형 164 계통과 금강밀은 모

두 *Vrn-B1b*, *Ppd-A1b*, *Ppd-B1b*를 갖고 있었으며, 각각 1,149 bp, 453 bp, 1,292 bp의 크기의 밴드로 증폭되었다(Fig. 2).

*Vrn-A1*과 *Vrn-D1* 유전자는 각각 *Vrn-A1a*와 *Vrn-A1b*, *Vrn-D1a*와 *Vrn-D1b*의 유전자 형을 갖고 있었으며 1,068bp와 522 bp의 크기로 증폭되었다(Fig. 2). *Vrn-A1a*는 금강을 포함하여 156 계통에서 확인되었고, *Vrn-A1b*는 8개 계통에서 확인되었다. *Vrn-D1*은 금강과 157 계통에서 *Vrn-D1b* (997 bp), 7개 계통에서 *Vrn-D1a* (1,671 bp)가 확인되었다. *Ppd-D1* 또한 *Ppd-D1a* (288 bp)과 *Ppd-D1b* (414 bp) 두 가지 유전자형을 갖고 있었고, 금강과 130개 계통이 *Ppd-D1a*, 34 계통이 *Ppd-D1b*를 갖고 있었다. 164 계통의 농업적 특성과 비교해 보았을 때, *Vrn-A1a*와 *Vrn-A1b*는 유전자형에 따른 특성차이에 유의성이 없었고, *Vrn-D1*은 출수기까지 일수, 수장, 1수립수에서 유의성의 차이가 나타났다. *Vrn-D1*이 *Vrn-D1a*를 갖는 계통이 출수까지 일수와 수장, 1수립수가 많게 나타났다. 일장과 관련이 있는 *Ppd-D1* 유전자 분석에서 *Ppd-D1a*와 *Ppd-D1b*에 따라 출수까지 일수, 단위면적당 수수, 1수립수, 리터중을 제외한 다른 특성에서 *Ppd-D1a*를 갖는 계통이 많게 나타났다(Table 3). 파성과 일장 관련 유전자는 earliness per se (Eps) 유전자와 함께 밀의 환경에 대한 적응을 조절하는 한 요인이다(Kato & Yamagata 1988). 이들 유전자는 밀의 개화를 조절하는 것으로서 특정 환경에서 유전자형에 따라 개화 시기를 앞당기거나 늦추는 것을 조절한다(Worland 1996). 특히 파성은 보통밀에서 *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Vrn4*, *Vrn-B3* 등 적어도 5개 대립유전자에 의해 조절되는 것으로 알려져 있고(Goncharov 2003, McIntosh et al. 1998, Pugsley 1971), 본 연구에서 *Vrn-D1*은 7개 계통에서

Fig. 2. Agarose gel electrophoresis of PCR amplified *Rht-B1* and *Rht-D1* (A), *Vrn-1* (B), *Ppd-1* (C) and *TaSus2-2B*, *TaGW2* and *TaCwi-A1* alleles (D). M, molecular size marker; 1-12, Korean wheat line with long spike (GHW001~GHW012).

Table 3. Difference in agronomic traits of Korean wheat line with long spike carrying different vernalization and photoperiod genotypes using pair-wise t-test.

Agronomic Traits ^z	Vernalization				Photoperiod	
	<i>Vrn-A1</i>		<i>Vrn-D1</i>		<i>Ppd-D1</i>	
	<i>vrn-A1</i>	<i>Vrn-A1b</i>	<i>vrn-D1</i>	<i>Vrn-D1a</i>	<i>Ppd-D1a</i>	<i>Ppd-D1b</i>
No. Line	156	8	7	157	130	34
DHD	200.8a ^y	200.4a	200.7b	201.3a	200.5b	201.8a
CL (cm)	88.3a	90.0a	88.5a	85.7a	88.0a	89.5a
SL (cm)	11.7a	11.8a	11.8a	10.8b	11.8a	11.5a
NSP	651.0a	645.8a	673.8a	649.7a	640.3b	690.5a
NKPS	43.4a	42.6a	43.6a	39.3b	43.7a	41.9b
TW (g)	777.2a	769.7a	776.3a	787.8a	778.5a	770.2b
TKW (g)	44.7a	42.4a	44.7a	42.7a	45.6a	40.5b
GY (kg/10a)	479.9a	490.1a	481.3a	460.0a	501.1a	401.1b

^zDHD = days to heading date, CL= culm length, SL= spike length, NSP= number of spike per m², NKPS= number of kernel per spike, TW= test weight, TKW=1000-kernel weight, GY= grain yield

^yValues followed by same letters within same characteristics at the same locus are not significantly different at $P < 0.05$

확인되었고, 수장과 1수립수와 매우 깊게 연관되어 있는 것으로 확인되었다. *Ppd-D1b*를 가지는 34 계통은 출수기까지 일수와 수수가 많았지만 전체적인 수량은 *Ppd-D1a*보다 적었다. *Ppd-D1a*는 1수립수, 리터중, 천립중, 생산량에서 모두 많은 것으로 확인되었기 때문에 *Ppd-D1a*는 수량에 직접적인 연관이 있는 것으로 생각된다.

TaCwi-A1 유전자 또한 두 가지 유전자형을 가지고 있다. 장수형 164계통 중 75 계통은 a형(402 bp), 89 계통은 b형(404 bp)을 갖고 있었다. *TaGW2* 유전자는 *Hap-6A-A*와 *Hap-6A-G*의 두 대립유전자를 갖고 있으며, *Hap-6A-A*는 167 bp, *Hap-6A-G*는 218 bp의 크기로 각각 확인되었다. 24 계통에서 *Hap-6A-A*가 나타났고 나머지 계통에서 *Hap-6A-G*로 나타났다. *TsSus2-2B* 유전자는 *Hap-L*과 *Hap-H*형의 유전자형을 갖고 있고, 각각 318 bp와 423 bp의 밴드로 증폭되었다. *Hap-L*과 *Hap-H*의 두 유전자형은 164계통에서 각각 134 계통과 30 계통에서 확인되었다. *Hap-L*, *TaCwi-A1b*, *Hap-6A-G* 등 3개의 유전자형을 갖는 계통의 천립중은 다른 유전자형에

비해 현저하게 높게 나타났다(Fig. 3). 본 연구를 통해 *TaCwi-A1*, *TaGW2*, *TaSus-2B*, *Vrn-D1*, *Ppd-D1* 등 5개 유전자는 밀의 농업형질 확인을 위한 분자마커로 매우 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다. *TaCwi-A1* 유전자는 저장조직 발달, 탄소 구매, 종자무게와 깊게 관련되어 있는 효소로 알려져 있는 cell wall invertase (CWI)를 암호화 하고 있다(Miller & Chourey 1992, Sturm 1999, Tang et al. 1999). *TaCwi-A1*은 밀의 염색체 2번에 위치하고 있으며 open reading frame (ORF)는 총 1,767 bp로서 7개의 엑손과 6개의 인트론으로 구성되어 있다(Ma et al. 2012). *TaSus2* 유전자는 염색체 2A, 2B, 2D에 위치하고 있으며 sucrose synthase 2 (SuS2)를 암호화하고 있다(Jiang et al. 2011). *TaSus2*는 내배유에서 발현되는 유전자로서 유전형에 따라 농업적 형질이 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다. 이 유전자는 중국 밀 품종 육종 단계에서 분자표지이용선발(MAS)을 위해 평가되었다(Jiang et al. 2011). *TaGW2*는 종자무게와 연관되어 있는 것으로 보고되었고, 벼의 *OsGw2*와 상동성이 높은 것으로 발견되었다.

Fig. 3. Difference in 1,000-kernel weight according to the genotype of *TaSus2-2B* (A), *TaGW2* (B) and *TaCwi-A1* alleles (C) in Korean wheat line with long spike. Each bar represents the mean $\pm$ standard error. Bars with different letters above are significantly different at $p < 0.05$.

*TaGW2-6A*의 유전자 코딩 지역의 염기서열 내에서는 변이가 발견되지 않았고, 프로모터 지역에서 2개의 single nucleotide polymorphisms (SNPs)가 발견되어 두 가지 유전자형을 갖게 된 것으로 보고되었다(Su et al. 2011). 본 연구 결과를 통해 *TaSus2*는 천립중과 관련이 있는 것을 알 수 있었다. 이들 유전자형과 농업형질이 깊은 연관이 있음이 확인되었지만 생산량과 관련된 여러 형질은 환경적인 영향도 많이 받기 때문에 장수형 계통에 대한 연구가 더욱 필요할 것으로 생각된다.

적 요

국내 밀의 수량 증진을 위해 이삭 길이가 길고 1수립수가 많은 장수형 164계통(F₈)을 육성하였고, 본 연구에서는 이들 계통의 주요 농업형질과 이들 특성과 관련 있는 표지인자에 대한 평가를 수행하였다. 장수형 계통은 모본인 금강밀과 비교했을 때, 단위면적당 수수와 리터중은 적고, 파종 후 출수까지 일수가 길었고, 간장, 수장, 1수립수와 단위면적당 생산량은 높게 나타났다. 농업 특성 관련 표지인자를 평가한 결과, 장수형 계통은 *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Vrn-B1*, *Ppd-A1*, *Ppd-B1* 유전자 좌에서는 같은 유전자를 지닌 것으로 나타났다. 장수형 계통 중 *Vrn-D1*를 지닌 계통은 *Vrn-D1a*를 지닌 계통에 비하여 출수에 걸리는 시간이 길었지만, 이삭길이와 1수립수가 많은 것으로 나타났다. 하지만 *Vrn-B1* 유전자 변이는 장수형 계통의 농업형질의 차이가 없는 것으로 나타났다. 장수형은 *Ppd-D1* 유전자 변이에 따른 간장이나 이삭 길이는 차이가 없었지만, 출수 일수와 수수는 *Ppd-D1b*를 지닌 계통이 많았지만, 1수립수, 천립중, 리터중과 수량은 *Ppd-D1a*를 지닌 계통이 높았다. 종실 특성을 나타내는 표지인자 변이는 출수 일수, 간장, 수장, 분얼이나 1수립수 및 수량에는 영향을 주지 않았지만 *TaSus2-2B* 유전자의 *Hap-L*타입, *TaGW2* 유전자의 *Hap-6A-G*타입과 *TaCwi-A1a*가 각각의 대립 유전자형보다 천립중이 높게 나타났다. 향후 재배환경이 장수형의 농업형질 및 품질에 미치는 영향에 대한 평가가 필요하고, 만숙과 분얼이 적은 장수형의 단점을 보완하기 위한 지속적인 연구가 필요하다.

사 사

본 연구는 2015년도 농촌진흥청 국립식량과학원 박사후연구과정지원사업(PJ008756012015)과 농촌진흥청 연구사업

(세부과제명: 용도별 초다수성 신초형 계통 육성, 세부과제번호: PJ009230012015)에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

1. Beales J, Turner A, Griffiths S, Snape JW, Laurie DA. 2007. A pseudo-response regulator is mis-expressed in photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum*). Theor. Appl. Genet. 115: 721-733.
2. Bentley AR, Turner AS, Gosman N, Leigh FJ, Maccaferri M, Dreisigacker S, Greenland A, Laurie DA. 2011. Frequency of photoperiod-insensitive *Ppd-A1a* alleles in tetraploid, hexaploid and synthetic hexaploid wheat germplasm. Plant Breed. 130: 10-15.
3. Bernardo R. 2008. Molecular markers and selection for complex traits in plants: Learning from the last 20 years. Crop Sci. 48: 1649-1664.
4. Börner A, Plaschke J, Korzun V, Worland AJ. 1996. The relationships between the dwarfing genes of wheat and rye. Euphytica 89: 69-75.
5. Brancourt-Hulmel M, Doussinault G, Lecomte C, Berard P, LeBuanec B, Trottet M. 2003. Genetic improvement of agronomic traits of winter wheat cultivars released in France from 1946 to 1992. Crop Sci. 43: 37-45.
6. Chen F, Gao M, Zhang J, Zuo A, Shang X, Cui D. 2013. Molecular characterization of vernalization response genes in bread wheat from the Yellow and Huai Valley of China. BMC Plant Biol. 13: 199.
7. Duggan BL, Richards RA, van Herwaarden AF, Fettel NA. 2005. Agronomic evaluation of a tiller inhibition gene (*tin*) in wheat. I. Effect of yield, yield components and grain protein. Aust. J. Agric. Res. 56: 169-78.
8. Ellis MH, Spielmeier W, Gale KR, Rebetzke GJ, Richards RA. 2002. "Perfect" markers for the *Rht-B1b* and *Rht-D1b* dwarfing genes in wheat. Theor. Appl. Genet. 105: 1038-1042.
9. Fischer RA. 2007. Understanding the physiological basis of yield potential in wheat. J. Agric. Sci. 145: 99-113.
10. Flinham E, Börner A, Worland A, Gale M. 1997. Optimizing wheat grain yield effects of *Rht* (gibberellin-insensitive) dwarfing genes. J. Agric. Sci. 128: 11-25.
11. Foulkes MJ, Slafer GA, Davies WJ, Berry PM, Sylvester-Bradley R, Martre P, Calderini DF, Griffiths S, Reynolds MP. 2011. Raising yield potential of wheat. III. Optimizing

- partitioning to grain while maintaining lodging resistance. J. Exp. Bot. 62: 469-486.
12. Fu D, Szűcs P, Yan L, Helguera M, Skinner JS, von Zitzewitz J, Hays PM, Dubcovsky J. 2005. Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat. Mol. Gen. Genom. 273: 54-65.
 13. Gaju O, Reynolds MP, Sparkes DL, Foulkes MJ. 2009. Relationships between large spike phenotype, grain number and yield potential in spring wheat. Crop Sci. 49: 961-73.
 14. Gaju O, Reynolds MP, Sparkes DL, Mayes S, Ribas-Vargas G, Crossa J, Foulkes MJ. 2014. Relationships between physiological traits, grain number and yield potential in a wheat DH population of large spike phenotype. Field Crops Res. 164: 126-35.
 15. Goncharov NP. 2003. Genetics of growth habit(spring vs. winter) in common wheat: Confirmation of the existence of dominant gene *Vrn4*. Theor. Appl. Genet. 107: 768-772.
 16. Jiang Q, Hou J, Hao C, Wang L, Ge H, Dong Y, Zhang X. 2011. The wheat (*T. aestivum*) sucrose synthase 2 gene (*TaSus2*) active in endosperm development is associated with yield traits. Funct. Integr. Genomics 11: 49-61.
 17. Kamran A, Iqbal M, Spaner D. 2014. Flowering time in wheat (*Triticum aestivum* L.): a key factor for global adaptability. Euphytica 197: 1-26.
 18. Kang CS, Seo SJ, Kim KH, Jung YG, Kim HS, Park JC, Choi ID, Kim KH, Hyun JN, Kim KJ, Park KH, Lee CK, Park GK, Park CS. 2013. A new plant type wheat “Iksan 370” with long spikes, high yield and hard wheat and breeding method. Korean Patent No. 10-2013-0120136.
 19. Kato K, Yamagata H. 1998. Method for evaluation of chilling requirement and narrow-sense earliness of wheat cultivars. Jpn. J. Breed. 38: 172-186.
 20. Ledent JF, Stoy V. 1988. Yield of winter wheat, a comparison of genotype from 1910 to 1976. Cereal Res. Comm. 16: 151-156.
 21. Liu Y, He Z, Appels R, Xia X. 2012. Functional markers in wheat: current status and future prospects. Theor. Appl. Genet. 125: 1-10.
 22. Ma D, Yan J, He Z, Wu L, Xia X. 2012. Characterization of a cell wall invertase gene *TaCwi-A1* on common wheat chromosome 2A and development of functional markers. Mol. Breed. 29: 43-52.
 23. MAFRA. 2014. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs statistical yearbook. pp.250-293.
 24. McIntosh RA, Hart GE, Devos KM, Gale MD, Rogers WJ. 1998. Catalogue of gene symbols for wheat. pp. 1-235. In A.E. Slinkard (ed.) Proc. 9th Int. Wheat Genet. Symp. Vol. 5. Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, Saskatoon, SK, Canada.
 25. Miller ME, Chourey PS. 1992. The maize invertase-deficient miniature-1 seed mutation is associated with aberrant pedicel and endosperm development. Plant Cell 4: 297-305.
 26. Miralles DJ, Slafer GA. 2007. Sink limitations to yield in wheat : how could it be reduced? J. Agric. Sci. 145: 139-149.
 27. Perry MW, d’Antuono, MF. 1989. Yield improvement and associated characteristics of some Australian spring wheat cultivars introduced between 1860 and 1982. Aust. J. Agric. Res. 40: 457-472.
 28. Pugsley AT. 1971. A genetic analysis of the spring-winter habit of growth in wheat. Aust. J. Agric. Res. 22: 21-23.
 29. RDA. 2012. Standard of research and analysis for agricultural technology. pp. 339-365.
 30. Reynolds MP, Foulkes MJ, Furbank R, Griffiths S, King J, Murchie M, Parry M, Slafer G. 2012. Achieving yield gains in wheat. Plant Cell Environ. 35: 1799-1823.
 31. Reynolds MP, Pellegrineschi A, Skovmand B. 2005. Sink limitation to yield and biomass: a summary of investigations in spring wheat. Ann. Appl. Biol. 146: 39-49.
 32. Richards RA. 1988. A tiller inhibitor gene in wheat and its effect on plant growth. Aust. J. Agric. Res. 39: 749-57.
 33. Rosegrant MW, Cline SA. 2003. Global food security: challenges and policies. Science 302: 1917-1919.
 34. Santra DK, Santra M, Allan RE, Campbell KG, Kidwell KK. 2009. Genetic and molecular characterization of vernalization genes *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, and *Vrn-D1* in spring wheat germplasm from the Pacific Northwest Region of the U.S.A. Plant Breed. 128: 576-584.
 35. Shin DH, Choi MG, Kang CS, Park CS, Choi SB, Park YI. 2015. Preferential expression of cell elongation-related genes in leaves of the new elite wheat line Iksan370 with large spikes. Plant Biotechnol. Rep. 9: 97-105.
 36. Snape JW, Butterworth K, Whitechurch E, Worland AJ. 2001. Waiting for fine times: genetics of flowering time in wheat. Euphytica 119: 185-190.
 37. Son JH, Cheong YK, Kim KH, Kim HS, Choi I, Park JC, Shin S, Lee CK, Park KG, Kang CS. 2014. Agricultural and physiological characteristics of new elite wheat line “Iksan370” with Long Spike. J. Agric. Life Sci. 43: 92-96.

38. Spielmeier W, Richards R. 2004. Comparative mapping of wheat chromosome 1AS which contains the tiller inhibition gene (*tin*) with rice chromosome 5S. *Theor. Appl. Genet.* 109: 1303-10.
39. Stelmakh AF. 1998. Genetic systems regulating flowering response in wheat. *Euphytica* 100: 359-369.
40. Sturm A. 1999. Invertase. Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. *Plant Physiol.* 121: 1-8.
41. Su ZQ, Hao CY, Wang LF, Dong YC, Zhang XY. 2011. Identification and development of a functional marker of *TaGW2* associated with grain weight in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 122: 211-223.
42. Tang GQ, Lu'scher M, Sturm A. 1999. Antisense repression of vacuolar and cell wall invertase in transgenic carrot alters early plant development and sucrose partitioning. *Plant Cell* 11: 177-189.
43. Tosovic-Maric B, Kobiljski B, Obrehti D, Vapa L. 2008. Evaluation of wheat *Rht* genes using molecular markers. *Genetika.* 40: 31-38.
44. Worland AJ. 1996. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats. *Euphytica* 89: 49-57.
45. Yan L, Helguera M, Kato K, Fukuyama S, Sherman J, Dubcovsky J. 2004. Allelic variation at the *Vrn-1* promoter region in polyploidy wheat. *Theor. Appl. Genet.* 109: 1677-1686.
46. Zhang J, Wang Y, Wu S, Yang J, Liu H, Zhou Y. 2012. A single nucleotide polymorphism at the *Vrn-D1* promoter region in common wheat is associated with vernalization response. *Theor. Appl. Genet.* 125: 1697-1704.