벼 중생 다수성 중간모본 ‘화원6호’

강주원^{1,4} · 김동민^{1,5} · 윤여태² · 이현숙¹ · 박인규³ · 안상낙^{1*}

¹충남대학교 농업생명과학대학, ²충청남도 예산군 충청남도농업기술원

³대전시 유성구 한의학연구원, ⁴국립식량과학원 남부작물부, ⁵김천시 국립종자원

A New High-yielding Rice Variety developed from an Interspecific cross, ‘Hwaweon 6’

Ju-Won Kang^{1,4}, Dong-Min Kim^{1,5}, Yeo-Tae Yun², Hyun-Sook Lee¹, In-Kyu Park³, and Sang-Nag Ahn^{1*}

¹Dept. of Agronomy, College of Agri. & Life Sci., Chungnam National Univ., Daejeon 34134

²Chungcheongnamdo Agricultural Research and Extension Services, Yesan 340-861, Korea

³K-Herb Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 34054, Korea

⁴Dept. of Southern Area Crop Sci., Nat'l Institute of Crop Sci., Milyang 50424, Korea

⁵Korea Seed & Variety Service, Gimcheon, Korea

Abstract : ‘Hwaweon 6’ was developed from a cross between ‘Hwaseongbyeon’ and a wild species, *Oryza minuta* L. (Acc. No. 101154) based on marker-assisted selection and backcrossing. The recurrent parent ‘Hwaseongbyeon’ is a high grain quality cultivar with medium maturity. Hwaweon 6 is nearly isogenic to Hwaseongbyeon except a small *O. minuta* introgressed segment on chromosome 7 harboring genes related with spikelets per panicle. The preliminary and replicated yield trial was conducted at Chungnam National University and Chungcheongnamdo Agricultural Research & Extension (CARES), Yesan in 2009 and 2010. The local adaptability test was carried out by the National Seed Management Office (NSMO) in 2011 and 2012. This cultivar was registered to NSMO with a cultivar designated as Hwaweon 6. This cultivar averaged 80cm in culm length and has a medium growth duration. Milled rice of Hwaweon 6 is translucent and the grain quality traits are comparable to those of the recurrent parent. The average yield potential of Hwaweon 6 in grain was about 6.57 MT/ha at the ordinary fertilizer level for two years about 3.0% higher than that of Hwaseongbyeon due to an introgression of the quantitative trait locus (QTL) for spikelets per panicle (*qSPP7*) from *O. minuta*. This variety is comparable to Hwaseongbyeon in low temperature germinability and cold tolerance. The *qSPP7* QTL would be useful in enhancing yield potential in rice breeding program.

Keywords : Rice, Hwaweon 6, Marker-assisted selection, Spikelets per panicle, Interspecific cross

서 언

벼 속에는 20여 개의 야생종과 2개의 재배종인 *Oryza sativa*와 *O. glaberrima*가 속해 있는데(Vaughan et al. 2003), *O. sativa*는 전세계적으로 재배되는 반면 *O. glaberrima*는 서아프리카에 국한적으로 재배되고 있다(Khush 1997). 최근 DNA 표지를 이용, 재배종인 *O. sativa*의 유전적 배경에 내재해성 등 야생벼의 유용 유전자를 이입하는 연구가 진행되고 있다(Sanchez et al. 2014). 야생벼의 유용유전자를 재배벼로 도입할 경우 발생하는 대표적인 문제는 재배벼는 2배체인 AA genome의 변이체들인데 비해

야생종에서는 AA 게놈 변이체를 위시하여 BB, CC, DD, EE 및 FF 게놈의 2배체와 이들이 조합된 이질 4배체가 많으므로 재배벼와의 교잡종 생산이 어려운 점이다. 그러나 BB 게놈과 CC 게놈은 재배벼의 AA 게놈과 부분적인 동질성을 나타내므로 배배양 기술을 활용하여 잡종 후대를 얻을 수 있게 되었고 연속적인 여교잡으로 야생벼의 유용형질을 재배벼로 이전시킬 수 있는 것이 가능해졌다.

식량과학원에서는 화성벼와 *O. minuta*(Acc. No. 101141) 간 여교잡을 통해 반복친인 화성벼와 출수기, 간장, 1,000립중, 임실율 등 여러 작물학적 특성에서 차이를 보이는 염색체단편치환 계통 ‘WH79006’을 육성하였는데, 화성벼와 WH79006의 차이는 WH79006에 이전된 *O. minuta* 염색체단편에 의한 것이라고 할 수 있다(Kang et al. 2002).

*Corresponding Author (E-mail: ahnsn@cnu.ac.kr, Tel: +82-42-821-5728, Fax: +82-42-822-2631)

(Received on June 10, 2017. Accepted on July 11, 2017.)

Year	'90 - 2001	'02	'03	'04	'05	'06	'07 - '08	'09	'10
Gen	F ₁ - BC ₅ F ₁	BC ₅ F ₂ BC ₆ F ₁	BC ₆ F ₂	BC ₆ F ₃	BC ₇ F ₁	BC ₇ F ₂	BC ₇ F ₃	BC ₇ F ₄	BC ₇ F ₅
	Hwaseong/ <i>O. minuta</i>	WH29001/ Hwaseong	Phenotyping and genotyping 197 BC ₆ F ₂ plants.	Select F3-64 based on genotyping and phenotype	F3-64 /Hwaseong	Genotyping	Selection	CR1135-64-2	CR1135-64-2
No. lines								1	1
(No. plants)		(10)	(197)	197	(10)	(3700)			
Remarks ^z	NCES							PYT	PYT

^zNCES: National Crop Experiment Station, PYT: Preliminary Yield Trial

Fig. 1. Pedigree diagram of 'Hwaweon 6'.

수당립수는 종자중, 임실율과 함께 벼의 중요한 수량 구성요소인데, 지금까지 수당립수에 관여하는 몇몇 유전자(*Gn1a*, *APOL*, *OsSPL14*)가 분리되고 그 기능이 분석되었으며(Ashikari et al. 2005, Miura et al. 2010, Ikeda et al. 2007), 이들 외에도 다양한 교배조합 후대를 이용하여 수당립수를 조절하는 QTL(quantitative trait loci)을 탐지하였다(Ookawa et al. 2010). 이러한 관점에서 재배벼의 유전적 다양성증진과 수당립수 증가를 통한 수량성 증진을 위해 중간잡종 후대를 이용하는 연구가 요구된다.

본 연구진은 화성벼를 반복친, *O. minuta* 을 공여친으로 이용하여 육성된 근동질계통을 이용하여 수량구성요소, 출수기 등에 관여하는 양적형질 유전자를 분석하고 이들 계통들을 평가하는 연구를 수행하고 있다. 본 연구는 화성벼와 *O. minuta* 조합에서 유래한 이입계통 중에서 출수기 등 주요 농업적 특성은 화성벼와 유사하며 수당립수가 증가한 중간모본 신품종 '화원6호'를 개발하였기에 육성 경위와 주요 특성을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

작물학적과 병해충저항성

본 시험은 '화원6호'와 화성벼를 공시하여 2009, 2010년 2년 간 충남대학교와 예산 충남 농업기술원에서 실시하였다. 재배방법은 4월 30일 파종하여 30일간 육묘한 후 5월 30일에 30 × 15 cm의 재식거리로 주당 1-3본씩 이앙하고, 시비량은 N-P₂O₅-K₂O = 9-4.5-5.7 kg/10a로 재배하였다. 시험구 배치는 완전임의배치법 3반복으로 하였다. 기타 재배 관리와 주요 농업적 특성, 흰잎마름병 등 병해충 저항성은 농촌진흥청 신품종개발 공동연구사업 조사 기준에 준하여 실시하였다(RDA 2010,

2011). 내냉성 성적은 춘천출장소 포장에 공시하여 적고와 추출도를 조사하였고, 수량성은 반복별 중앙의 20개체를 수확하여 조사하였다.

농업특성의 비교를 위한 통계분석은 t-검정을 이용하여 '화원6호'와 화성벼의 2년간의 평균성적을 비교하였다.

미질특성

미질특성 조사를 위한 종자시료는 종자 수확 후 종자 수분함량이 15%가 될 때까지 건조한 후에 도정하였다. 백미기(Toyo, Japan)를 이용하여 현미 시료를 현백율 92%로 조정하여 백미를 만든 후에 시료를 15°C의 냉장고에 보관하였다. 완전미 비율, 심복백, 피해립비율(피해립과 변색립)은 RN-300(Kett, 일본)을 사용하여 1,000립의 종자를 이용하여 조사하였다. 아밀로스 함량은 Juliano(1971) 방법, 알칼리붕괴도(alkali digestion value: ADV)는 IRRI 표준평가방법(1988) 그리고 단백질함량은 100g의 시료를 이용하여 grain analyzer(AN700 Kett, 일본)로 측정하였다.

결과와 고찰

육성경위

'화원6호'의 육성 경위를 Fig. 1에 제시하였다. 양질인 화성벼를 반복친, *O. minuta* (Acc. No. 101154)를 공여친으로 이용하여 BC₅F₁ 개체들을 육성하였으며(Kang et al. 2002), 이들을 자식시켜 전개시킨 후 표현형적으로 고정된 한 계통(BC₅F₁)을 선정하여 WH29001으로 명명하였다. WH29001을 선발하고 화성벼와 여교배를 실시하여 BC₆F₁ 식물체를 확보하였다. 이 개체를

Table 1. Comparison of agronomic traits and yield components between Hwaweon 6 and Hwaseongbyeon at two sites. Data are the averages of two year evaluation.

(RYT : '09-'10)

Variety	Year	Heading date (n = 10) ^z	Culm length(cm) (n = 10)	Panicle length (cm) (n = 10)	Panicle no.(no.) (n = 10)	Spikelets per panicle(no.) (n = 3)	Ripened grain ratio (%) (n = 3)	1,000 grain weight (gr) ^y
Hwaweon 6 (A)	2009	Aug. 12	80	20	12	176	90.7	21.7
	2010	Aug. 11	80	22	12	172	92.3	21.9
	Mean	Aug. 12	80	21	12	174	91.5	21.8
Hwaseongbyeon (B)	2009	Aug. 11	81	20	12	131	91.0	21.5
	2010	Aug. 12	79	20	11	139	93.6	20.6
	Mean	Aug. 12	80	20	12	135	92.3	21.1
Difference bet/n A and B ^x		ns	ns	ns	ns	*	ns	ns

^zNo. of plants evaluated. ^ybrown rice, ^{*}Significant at the 5%, ns: not significant.

자식시켜 197개의 BC6F2 개체를 육성하고 이들 개체들의 특성 조사와 SSR 분자표지를 이용한 유전자형을 검정하였다. 표현형 성적과 DNA 유전자형 성적을 이용하여 양적형질 유전자좌 분석을 실시한 결과, 화성벼의 유전적 배경에 이입된 *O. minuta*의 염색체 단편이 출수기, 간장, 수당립수 등에 관여함을 알 수 있었다. DNA 검정 결과 WH29001에 이입된 *O. minuta*의 염색체단편은 2, 5, 6, 7번 염색체에 분포하였다. 이들 *O. minuta* 단편 중에서 7번 염색체에 위치한 SSR 마커 RM21596과 연관을 보인 단편이 수당립수의 증가와 관련이 있었다. 이 결과를 확인하기 위해 197개 F2 개체에서 유래한 197개 F3 계통을 포장에 재식하여 수당립수 등 형질을 평가한 결과, F2 세대와 같이 7번 염색체에 이입된 *O. minuta* 단편이 화성벼 대립유전자에 비해 수당립수를 증가시키는 결과를 재확인할 수 있었다(Linh et al. 2008).

197개 F3 계통 중에서 염색체 7번에만 *O. minuta* 단편이 이입된 1계통을 선발하여 화성벼에 여교배하고 BC7F1 개체를 육성하였다. BC7F1 개체를 자식시켜 3,700개의 BC7F2 개체를 육성하고 이들의 유전자형을 검정하였다. 목표 지역에서 *O. minuta* 단편이 이입된 계통 CR1135-64-2을 선발하고 이 계통을 포장에 전개하여 출수기 등 작물학적 특성을 평가하였다. 마이크로새터라이트 마커를 이용하여 ‘화원6호’에 이입된 *O. minuta*의 염색체단편을 검정한 결과, 1개의 염색체단편이 7번 염색체의 마이크로새터라이트 마커 RM500 - RM418 부근에 위치하였다(Linh et al. 2008).

선발 계통을 2009년과 2010년에 충남대학교와 예산 충남농업기술원(CARES: Chungcheongnamdo Agricultural Research & Extension)에서 생산력검정을 실시한 결과 품종보호원 출원 조건에 부합하여 ‘화원6호’로 명명하고 품종보호원을 출원하였다.

Hwaweon 6 Hwaseongbyeon

Fig. 2. Phenotype difference between Hwaseongbyeon and Hwaweon 6 in panicle. Refer to Linh et al. (2008)

출수기와 주요 농업 특성

‘화원6호’의 출수기는 보통기 보비재배에서 평균 8월 12일로 ‘화성벼’와 유사한 중생종이며, 간장은 80cm로 ‘화성벼’와 동일하였다. ‘화원6호’의 이삭길이는 20.5cm로 ‘화성벼’보다 약간 길었으나 유의한 차이는 없었다. 주당수수, 임실율, 현미 1000립 중은 화성벼와 유사하였다(Table 1). 그러나 ‘화원6호’의 수당립수는 화성벼보다 많았으며 두 품종간 유의한 차이를 보였고 이로 인해 수량성이 화성벼에 비해 증가하였다(Fig. 2).

병해충저항성

‘화원6호’는 도열병, 흰잎마름병, 오갈병과 검은줄오갈병에 화성벼 수준으로 약하였고, 벼멸구 등 충해에도 약하였으나

Table 2. Reactions to major biotic and abiotic stresses.

(NCES, CNU, CARES)

Variety	Bacterial leaf blight			Stripe virus disease	BPH ^y	Low temp. germination ^x	Cold tolerance (Chuncheon substation)	
	K1	K2	K3				Discoloration (1-9)	Panicle exertion (cm)
Hwaweon 6	S ^z	S	S	MR	S	83	3	6
Hwaseongbyeon	S	S	S	R	S	85	3	5

^zR: Resistant, MR: Moderately resistant S: Susceptible, ^yBPH: Brown planthopper, ^xGermination after 10 days at 15°C.**Table 3.** Milling properties and grain quality of 'Hwaweon 6'. Data are the averages of two year evaluation.

(CARES: '09-'10)

Variety	Milling recovery		Brown rice			
	Brown/Rough (%)	Head rice ratio (%)	WC/WB (0-9)	Amylose content (%)	Protein content (%)	ADV (1-7)
Hwaweon 6	83.5	81.2	1/2	18.8	6.1	6.8
Hwaseongbyeon	83.8	84.6	1/1	19.2	6.2	6.8

Table 4. Summarized results of Replicated Yield Trials ('09-'10).

(CNU)

Culture season	Year	Grain yield (MT/ha)		
		Hwaweon 6 (A)	Hwaseongbyeon (B)	Index (A/B)
Ordinary planting	2009	6.72ns ^z	6.40	105
	2010	6.42ns	6.34	101
	Mean	6.57	6.37	103

^zNot significant between Hwaseongbyeon and Hwaweon 6.

호엽고병 저항성은 화성벼 수준이었다(Table 2).

도정과 미질 특성

'화원6호'는 쌀 심복백이 화성벼에 비해 약간 높고, 완전미율은 낮은 편이다(Table 3). 아밀로스 함량, 단백질함량, 정현비는 화성벼와 유사한 값을 보였다(Table 3).

수량성

'화원6호'의 수량은 '09~'10년 2개년간 실시한 생산력검정시험 결과 대전 포장에서 6.57MT/ha로 화성벼에 비해 약 3.1% 증수를 보였으나 통계적인 유의차는 없었다(Table 4).

화원6호의 이용 분야

벼에서 여교배를 통해 병해충저항성 등 질적유전자를 반복적으로 이전한 예는 많이 보고되었다(Khush 1997). 그러나 수량구성요소 등 양적형질은 여러 개의 유전자가 관여하기 때문에

목표유전자의 이전이 매우 어렵고 그 효율이 낮다. 화원6호는 여교배와 분자표지를 이용하여 화성벼의 유전적배경에 *O. minuta*의 수당립수에 관여하는 염색체단편이 도입된 근동질계통으로, 수당립수에 관여하는 유전자의 특성을 밝히는데 중요한 자원으로 이용될 수 있다. 지금까지 벼에서 수당립수를 조절하는 몇몇 유전자(*Gn1a*, *APOL*, *OsSPL14*)가 분리되고 그 기능이 분석되었는데 (Ashikari et al. 2005, Miura et al. 2010, Ikeda et al. 2007), 화원6호의 *spp7* 유전자가 이들 유전자들과 수당립수 조절에서 동일한 경로에 있는지 그리고 어떤 상호작용을 하는지에 대한 정보의 획득이 가능하다. 수당립수 유전자들의 상호작용 등에 대한 정보는 최종적으로 벼의 수량성 향상을 위한 육종계획 수립에 필요할 것으로 판단한다.

적 요

화성벼의 유전적 배경에 *O. minuta*의 유용유전자가 도입된 근동

질계통을 육성하기 위해 화성벼와 *O. minuta*를 교배하고, 계속적인 여교배와 MAS를 병행 실시하여 유망계통 CR1135-64-2를 선발하였다. CR1135-64-2는 생산력검정 시험 결과 조사된 형질 중 수당립수를 제외한 기타 형질은 화성벼와 유사한 근동질계통으로, 품종보호 출원 조건에 부합하여 ‘화원6호’로 명명하고 품종보호원을 출원하였다. ‘화원6호’는 출수기가 보통기재배에서 8월 12일로 화성벼와 유사한 중생종 품종이다. 현미천립중은 21.9g으로 화성벼보다 무거웠으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. ‘화원6호’는 줄무늬잎마름병을 제외한 다른 병해충에는 약한 반응을 보였으며, 완전미율은 화성벼에 비해 약간 낮았고, 아밀로스 함량은 화성벼와 유사하였으나 통계적인 차이는 없었다. ‘화원6호’의 정조수량은 '09~'10년 2개년간 실시한 생산력검정 시험에서 평균 6.57 MT/ha로 화성벼 대비 103% 수준이었다. ‘화원6호’는 화성벼에 비해 수당립수가 많았는데 이는 *O. minuta*에서 도입된 *qSPP7* 유전자의 영향으로 판단된다.

(품종보호권 등록번호: 제 5133호)

사 사

본 논문은 2015년도 충남대학교 자체연구과제 지원에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

- Ashikari M, Sakakibara H, Lin SY, Yamamoto T, Takashi T, Nishimura A, Angeles ER, Qian Q, Kitano H, Matsuoka M. 2005. Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science* 309: 741-745.
- Ikeda K, Ito M, Nagasawa N, Kyojuka J, Nagato Y. 2007. Rice ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1, encoding an F-box protein, regulates meristem fate. *Plant J.* 51: 1030-1040.
- IRRI. 1988. Standard evaluation system for rice. IRRI, International Rice testing Program, 3rd ed. pp. 54.
- Juliano BO. 1971. A simplified assay for milled rice amylose. *Cereal Sci. Today* 16: 334-340.
- Kang KH, Kim KH, Ahn SN, Choi IS, Jeong EG, Jeong OY, Hwang HG. 2002. Production and evaluation of agronomic characters of introgression lines from the cross of Hwaseongbyeo $\times$ *O. minuta* in rice. *Korean J. Breed.* 34(2): 123-129.
- Khush GS. 1997. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. *Plant Mol. Biol.* 35: 25-34.
- Linh LH, Hang NT, Jin FX, Kang KH, Lee YT, Kwon SJ, Ahn SN. 2008. Introgression of a quantitative trait locus for spikelets per panicle from *Oryza minuta* to the *O. sativa* cultivar Hwaseongbyeo. *Plant Breeding* 127(3): 262-267.
- Miura K, Ikeda M, Matsubara A, Song XJ, Ito M, Asano K, Matsuoka M, Kitano H, Ashikari M. 2010. *OsSPL14* promotes panicle branching and higher grain productivity in rice. *Nat. Genet.* 42: 545-549.
- Ookawa T, Hobo T, Yano M, Murata K, Ando T, Miura H, Asano K, Ochiai Y, Ikeda M, Nishitani R, Ebitani T, Ozaki H, Angeles ER, Hirasawa T, Matsuoka M. 2010. New approach for rice improvement using a pleiotropic QTL gene for lodging resistance and yield. *Nat Communications* 1:132. doi: 10.1038/ncomms1132
- Rural Development Administration. 2010. Project plan for collaborative research program to develop new variety summer crop. pp. 5-44.
- Rural Development Administration. 2011. Project plan for collaborative research program to develop new variety summer crop. pp. 5-52.
- Sanchez PL, Wing RA, Brar DS. 2014. The Wild Relatives of Rice: Genomes and Genomics. In *Genetics and Genomics of Rice*, Zhang Q and Wing RA (eds.), Springer, New York. pp. 9-25.
- Vaughan DA, Morishima H, Kadowaki K. 2003. Diversity in the *Oryza* genus. *Curr. Opin. Plant Biology* 6: 139-146.