

DNA marker를 이용한 벼의 조직배양 효율개선

김홍집* · 김태현* · 손재근*

*경북대학교 응용생명과학부

Improvement of cultural efficiency using DNA markers in anther and seed culture of rice

Hong-Jib Kim* · Tae-Heon Kim* · Jae-Keun Sohn*

Division of Plant Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

The purpose of this study was to improve the culturability of 'IR 36', a *indica* type rice cultivar using DNA marker associated with the ability of plant regeneration in anther and seed culture. The culturability of 6 rice cultivars and 2 *indica/japonica* lines ('MGRI 036', 'MGRI 079') were investigated in anther and seed culture. The culturability of 3 *japonica* rice cultivars were much higher than *tongil* and *indica* rice cultivars, and 'MGRI 036' and 'MGRI 079' has high culturability with 20% regenerability, also. 34 BC₂F₄ lines were selected by marker screening using RZ400 among 90 BC₂F₄ lines derived from a cross between 'MGRI 079' and 'IR 36'. The frequency of callus formation of 10 BC₂F₄ lines were higher than 'IR 36' in anther culture among selected 34 BC₂F₄ lines. The ability of plant regeneration of 10 lines were higher than 'IR 36' in the seed culture among selected 34 BC₂F₄ lines. A promising line, BC₂F₄-28, was selected to have better culturability in the anther and seed culture among selected 34 BC₂F₄ lines. The heading date and grain shape of the BC₂F₄-28 was similar to 'IR 36'. Using the RZ400 DNA marker associated with the culturability will be useful method for improving of *indica* rice cultivar's culturability in rice breeding program.

Key words : Rice, Seed culture, Anther culture, DNA marker, MAS(marker-assisted selection)

서 론

식물 조직배양 기술은 육종학적인 측면에서 신품종 육종연한의 단축, 세포수준에서의 변이의 유기와 선발, 형질전환, 원형질체의 배양과 세포융합을 가능하게 할 뿐만 아니라 영양계의 대량급속증식과 무병식물의 생산에도 유용하게 이용되고 있다. 그중에서 벼

약배양 기법은 자식성 작물의 경우 조기에 homozygous 한 계통을 얻을 수 있어 육종연한을 크게 단축시킬 수 있고, 타식성 작물은 양친을 조기에 homo화시킴으로서 순도 높은 잡종 1세대의 종자 생산이 용이해지며, 특히 반수체는 열성형질의 출현빈도가 높아 유용 열성인자를 쉽게 이용할 수 있는 등의 장점이 있다. 벼의 약배양을 통한 반수체 생산은 1968년에 Niizeki

and Oono(1968)에 의해 처음으로 이루어졌다. 우리나라에서는 1970년대 중반부터 반수체 육종을 시작하여 1986년에 최초의 약배양 품종인 “화성벼”가 육성된 이후 지금까지 19개의 신품종이 육성되었다. 그동안 약의 배양시기와 전처리조건, 배지와 배양방법의 개선 등으로 약배양 효율이 크게 개선되고 있지만 아직도 높은 빈도로 출현되는 백색체와 변이체, 배양 효율의 genotype 간 차이 등은 약배양의 실용화에 큰 장애요인이 되고 있다(Croughan and Chu, 1991). 벼의 약배양 효율은 자포니카형 genotype이 인디카형 벼보다 높은 것으로 보고되어 있다(Seong and Sohn, 1990). 이런 genotype 간 차이는 벼의 약 및 종자배양에서 뿐만 아니라 배양에 이용되는 모든 조직부위에서도 거의 같은 경향으로 나타나며(Croughan and Chu, 1991), 자포니카형이나 인디카형 genotype 간에도 배양효율의 차이는 뚜렷하게 나타나는 것으로 보고되어 있다(Seong and Sohn, 1990). 그동안 인디카형 벼의 조직배양에서 식물체 재분화율을 향상시키기 위한 여러 가지 연구가 수행되어 왔지만 지포니카형에 비해 배양 효율의 개선효과는 저조한 실정이다. 이런 이유 때문에 인디카형 벼의 품종개량에는 조직배양의 이용성도가 그다지 높지 못하다. 벼의 조직배양 효율이 유전적 지배를 받는다는 것이 알려지면서(Miah et al., 1985), 다양한 유전자원을 대상으로 배양 효율이 높은 계통을 선발하고, 이를 중간모본으로 이용하여 인디카형 품종의 낮은 재분화율을 향상시킬 수 있는 방안이 제시되었다(Chung and Sohn, 1995). 하지만 잡종 집단에서 배양효율이 높은 개체를 선발하기 위해서는 개체마다 조직배양을 실시해야 하고, 이를 때 세대 계속해야 하는 어려움이 따른다.

오늘날 분자 생물학이 발달하면서 농작물의 수량이나 수량 구성요소 등과 같이 여러 개의 유전자가 복잡하게 관여하는 양적형질에 대해서도 관련 유전자의 염색체상 위치를 구체적으로 밝히고 이를 질적형질처럼 선발할 수 있는 방법들이 제시되고 있다. 즉 DNA marker를 이용한 유전자지도의 작성과 양적형질 유전자좌 분석(QTL: quantitative trait loci) 및 QTL marker를 이용한 유용형질의 선발방안이 다수의 식물에서 연구되고 있다(Kwon et al., 2001; Ukai, 1999; Yano

and Sasaki, 1997). 특히 양적형질 유전자좌 분석에 의해 목표형질과 관련된 DNA marker를 선발하고, 이를 관련형질의 개량에 직접 이용할 수 있는 MAS(marker-assisted selection)체계는 복잡한 형태적 특성 비교나 생물검정의 과정 없이도 유용한 개체를 선발할 수 있다는 장점이 있다. 또한 MAS의 이용은 잡종 집단에서 목표형질에 대해 유전적으로 homo인 개체와 hetero인 개체를 쉽게 구분할 수 있을 뿐 아니라 환경의 영향을 배제시킬 수 있어서 전통육종에 비해 선발의 효율을 크게 향상시킬 수도 있다. 권(1999)은 통일형 벼인 ‘밀양23호’에 자포니카형인 ‘기호벼’가 교배되어 육성된 164 RIL(recombinant inbred line) 집단의 약과 현미를 배양하여 배양효율과 관련된 QTL을 mapping하였다. 그리고 식물체 재분화율에 관여하는 QTL과 관련된 DNA marker를 선발하고 이 marker에 의해 배양효율을 개선할 수 있다고 하였다.

따라서 본 연구에서는 인디카형 벼인 ‘IR 36’의 조직배양 효율을 개선하기 위하여 양성된 여교잡 집단을 대상으로 약과 현미배양을 실시하고, 각각의 배양 효율과 DNA marker와의 관계를 비교하면서 MAS의 실용성에 대해 검토한 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 배양 효율개선

가. 배양재료

본 실험에는 ‘밀양23호’와 ‘기호벼’가 교배된 재조합자식성 유전집단(MG RIL; Milyang23-Gihobyeo recombinant inbred lines)에서 약배양효율이 높은 계통으로 선발된 ‘MGRI 079’에 ‘IR 36’이 반복친으로 교배되어 양성된 BC₂F₄세대 90계통을 공시하였다. 2004년 하계에 ‘MGRI 079/IR 36’조합의 BC₃F₄ 90계통을 경북대학교 농업생명과학대학 실습포장에 30 × 15 cm의 재식밀도로 주당 1본씩 계통재배 하였다. 최고분얼기 전후에 각 계통별로 DNA를 채취하여 Kwon and Sohn(2000) 및 Kwon et al.(2002)이 선발한 RFLP marker (RZ400) 분석을 실시하고, 밴드가 나타난 계통의 약과 현미를 계통별로 배양하였다.

나. DNA 추출

DNA 추출은 Murray and Thompson(1980)이 제안한 CTAB 방법에 준하여 수행하였다. DNA의 농도는 OD 260의 분광기에서 확인하고 농도를 조절하여 southern hybridization에 이용하였다.

다. Southern hybridization분석

Southern 분석을 위해서 RNA가 제거된 3 μ g의 genomic DNA를 *EcoRI* (Takara)으로 full digestion 처리한 후 0.8%의 agarose gel 상에서 37 V의 전압으로 16~19시간 전기영동을 하였다. 이를 denaturation buffer와 neutralization buffer에서 각각 1시간씩 처리한 다음 nylon membrane(Hybond-N⁺, Amersham)에 transfer 하였다. 이 membrane을 UV cross-linker에 10초 처리한 후 80°C, 1시간 건조하였다. Probe제작은 RZ400을 농촌진흥청 농업과학기술원으로부터 분양받아 marker로 알려진 부분만을 PCR로 증폭한 뒤 probe로 사용하였다. Prehybridization은 prehybridization 용액 (5×SSC, 5×Denhardt's solution, 0.1% SDS, 50 mM Na-Pi<pH 6.5>, 0.1 mg/ml denatured sperm DNA, 50% dextran sulfate)에 42°C용액에서 2시간 동안 incubation하여 α P³²-dCTP로 labeling한 뒤 probe DNA와 42°C, 8시간 hybridization하였다. Hybridization이 끝난 membrane의 세척은 washing용액 (0.2% SSC, 0.1% SDS)으로 3회 이상 세척하여 X-ray film에 장착한 후 -70°C, 3일간 노출시켜 다형성밴드를 조사하였다.

라. 약배양

화분발달단계가 1핵성 소포자기의 이삭을 채취하여 12°C에 10일간 저온처리 된 약을 2 mg/l NAA, 0.2mg/l kinetin, 30g/l sucrose, 5g/l gelrite가 첨가된 N6-Y1배지에 배양한 다음, 26±1°C의 암상태로 30일 동안 캘러스를 유도시켰다. 형성된 캘러스는 직경 1 mm의 크기로 세분하여 0.2mg/l IAA, 2mg/l kinetin, 30g/l sucrose, 5g/l gelrite 가 첨가된 N6-Y1 배지에 이식하여 명상태 (2500lux)에서 식물체를 분화시켰다. 캘러스 형성률은 배양된 총 약 수와 캘러스를 형성한 약 수의 백분율로, 식물체 재분화율은 이식

된 캘러스의 총 수와 식물체가 유기된 캘러스 수의 백분율로 구분하였다.

마. 종자 배양

공시된 계통의 건전한 종자를 외부에 상처가 나지 않도록 외영과 내영을 제거한 다음 70%의 ethanol로 30초 동안 표면 살균하고, 1%의 sodium hypochlorite 용액에서 45분간 소독한 후 멸균수로 3회 수세하였다. 소독된 종자는 배지가 20 ml씩 분주된 petri-dish(φ 9 cm)에 10립씩 10반복으로 26°C의 암상태에서 배양 하였다. 캘러스 형성에는 2mg/l 2,4-D, 2g/l casein hydrolysate(CH), 30g/l sucrose, 5g/l gelrite가 첨가된 N6-Y1배지를 이용하였으며, 하나의 종자에서 형성된 캘러스를 1mm 크기 10조각으로 세분하여 재분화 배지에 이식 하였다. 캘러스 형성률은 배양된 종자수에 대해 캘러스를 형성한 종자수의 백분율로 나타내었으며, 캘러스 생체중은 배양 30일 후에 1립의 종자에서 유기된 캘러스의 무게를 3반복으로 조사하여 그 평균을 채택하였다.

식물체 재분화에는 sucrose와 gelrite농도가 캘러스 형성에서와 동일하고 5mg/l kinetin, 1mg/l NAA가 첨가된 N6-Y1배지를 이용하였고, 2500lux로 조명되는 명조건에서 식물체를 분화시켰다.

2. 생육 특성조사

본 실험에 공시한 'MGRI 079/IR 36'조합의 BC₂F₄ 10계통을 대상으로 출수기, 간장, 수장, 수수를 농촌진흥청의 농사시험 조사기준(1995)에 따라 조사하였고 그중 배양 효율이 높았던 6계통은 현미의 길이, 폭, 두께 및 무게를 조사하고 길이와 폭의 비로 장폭비를 구하였다.

결과 및 고찰

1. Genotype간 재분화능력 비교

품종간 식물체 재분화 능력을 비교하기 위하여 자포니카형 벼 3품종('기호벼', '낙동벼', '일품벼'), 통일형 4품종 및 계통('밀양23호', '삼강벼', 'MGRI

079', 'MGRI 036')과 인디카형인 'IR 36'의 약과 현미를 배양하고 품종별로 캘러스 형성률과 식물체 재분화율을 조사하였다 (표 1, 그림 1, 2).

났으며, 자포니카형 벼의 약배양에서는 '기호벼'의 식물체 재분화율이 8.5%로 가장 높게 나타났다. 권(1999)에 의해 MGRI 164계통 중에서 약배양 효율이

Table 1. Genotypic difference of callus formation and plant regeneration in anther and seed culture of rice

Cultivars	Anther culture			Seed culture			
	No. of anthers inoculated	% of anthers forming callus	% of plant regeneration	No. of seeds cultured	% of seeds forming callus	Callus weight per a seed (mg)	% of plant regeneration
<i>Japonica</i>							
Gihobyeo	588	15.8	8.5	60	86.7	186.6±5.4 ^{a)}	14.8
Nagdongbyeo	329	18.2	5.1	60	93.3	181.8±10.9	69.0
Ilpumbyeo	500	18.2	4.9	60	95.0	161.7±5.6	57.0
<i>Tongil</i>							
Milyang 23	901	11.4	1.0	60	36.7	84.8±7.5	8.7
Samgangbyeo	309	4.4	1.0	60	55.0	79.8±5.2	12.3
MGRI 079	343	43.1	19.8	60	80.0	157.7±8.8	27.0
MGRI 036	357	43.7	19.9	60	95.0	179.0±3.5	52.0
<i>Indica</i>							
IR 36	1000	0.2	0.0	60	56.7	58.7±5.6	0.0

^{a)}Mean ± SD.

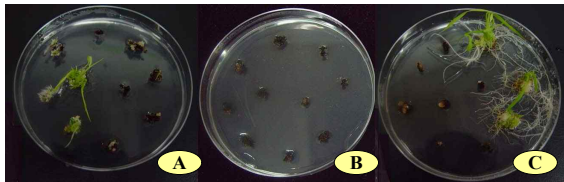


Fig. 1. Varietal differences of the plant regenerability in anther culture of rice.

A : Nagdongbyeo, B : IR 36, C : MGRI 079.

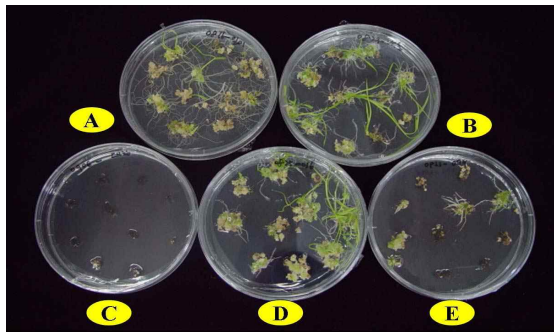


Fig. 2. Varietal difference of the plant regenerability in seed culture of rice.

A : Ilmibyco, B : Nagdongbyeo, C : IR 36, D : MGRI 036, E : MGRI 079.

그 결과 자포니카형이 통일형이나 인디카형 벼에서보다 캘러스 형성률이나 식물체 분화율이 높게 나타

높은 계통으로 선발된 'MGRI 036'과 'MGRI 079'의 약배양에서 조사된 식물체 분화율은 각각 19.8%와 19.9%로 공식품종 중에서 가장 높게 나타났다. 이러한 양상은 현미배양에서도 같은 경향이였다. 이 두 계통을 제외한 품종들의 약 및 현미배양에서의 식물체 재분화율은 자포니카형 > 통일형 > 인디카형의 순으로 나타났다. 특히 세계적으로 가장 넓은 면적에 재배되고 있는 'IR 36'의 약과 현미배양에서는 전혀 재분화 식물체를 얻지 못할 정도로 배양효율이 저조하였다.

벼 약배양에서 식물체 재분화 능력이 genotype간에 큰 차이를 보인다는 것은 약배양 초기부터 알려져 왔는데(Chen et al., 1991; Niizeki and Oono, 1968), Croughan and Chu(1991)는 자포니카형 품종이 인디카형 품종보다 재분화율이 높게 나타나며, 동일 품종 생태형 내에서도 다양한 변이를 나타낸다고 하였다. 본 연구에서도 식물체 재분화능력은 자포니카 > 인디카/자포니카 > 인디카 형 품종의 순으로 나타났다. 권(1999)은 '밀양 23호/기호벼' 조합에서 양성된 RIL 164 계통의 약배양에서 'MGRI 079'와 '036'의 식물체 재분화율은 양친 중 재분화율이 높은 '기호벼'보다

높다고 하였는데 본 연구에서도 이 두 계통의 약배양 효율은 공시된 자포니카형 품종들 보다 훨씬 높게 나타났다.

2. DNA marker를 이용한 식물체 분화능력 개선.

최근 분자생물학이 발전하면서 DNA marker를 이용하여 작물의 유전자지도를 작성하고 유용형질과 연관된 DNA marker를 선발하여 목표형질의 개량에 직접 이용하는 MAS 체계가 벼를 포함한 농작물의 주요 형질개량 방안으로 제시되고 있다(Ukai, 1999; Yano and Sasaki, 1997). 권(1999)은 ‘MGRI 036’ 이나 ‘MGRI 079’는 약배양에서

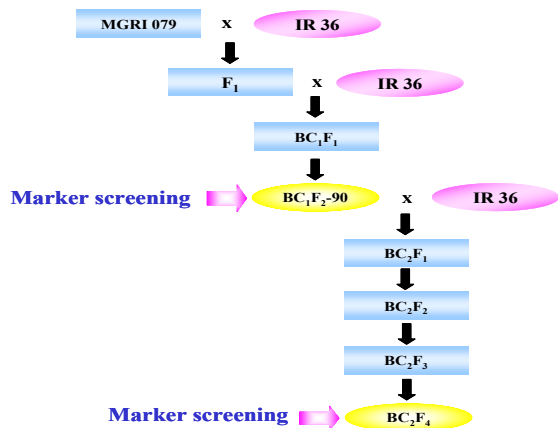


Fig. 3. Development of backcrossed generation from a cross ‘MGRI 079/IR 36’.

녹색체 재분화율이 높아 조직배양 효율이 낮은 유전자원의 분화능력 향상에 중간모본으로 사용될 수 있다고 하고, 조직배양 효율개량에 DNA marker를 이용하는 MAS방안도 제시하였다.

본 연구에서 ‘IR 36’의 조직배양 효율을 MAS에 의해 개량하기 위하여 ‘MGRI 079’에 ‘IR 36’이 반복친으로 여교잡되어 양성된 집단을 대상으로 marker분석과 약배양을 병행하였다(그림 3). ‘MGRI 079/IR 36’ 조합의 BC₁F₁ 종자를 세대 진전시켜 BC₁F₂집단을 양성하고 100개체를 대상으로 marker(RZ400)분석을 실시하여 ‘MGRI 079’ type 11개체를 선발하였다. 선발된 BC₁F₂개체에 ‘IR 36’을 한 번 더 여교배하여 BC₂F₂ 및 BC₂F₃세대를 양성하였다. BC₂F₃세대에서 농업형질이 ‘IR 36’과 유사한 90개체를 선발하여 BC₂F₄계통을 양성하고 marker screening을 실시하여 ‘MGRI 079’형의 밴드 양상을 보이는 34개체를 선발하였다(그림 3, 4).

공시 계통의 교배 모부분인 ‘MGRI 079’와 ‘IR 36’ 및 이들 조합의 BC₂F₄계통에 대해 marker검정을 실시하여 선발된 10 계통의 약 및 현미를 배양한 결과, ‘MGRI 079’는 49.5%의 높은 약배양 캘러스 형성률을 보였으나 인디카형인 ‘IR 36’은 캘러스가 거의 생성되지 않았고, BC₂F₄계통의 대부분은 ‘IR 36’보다 높은 캘러스 형성률을 나타내었다. 현미

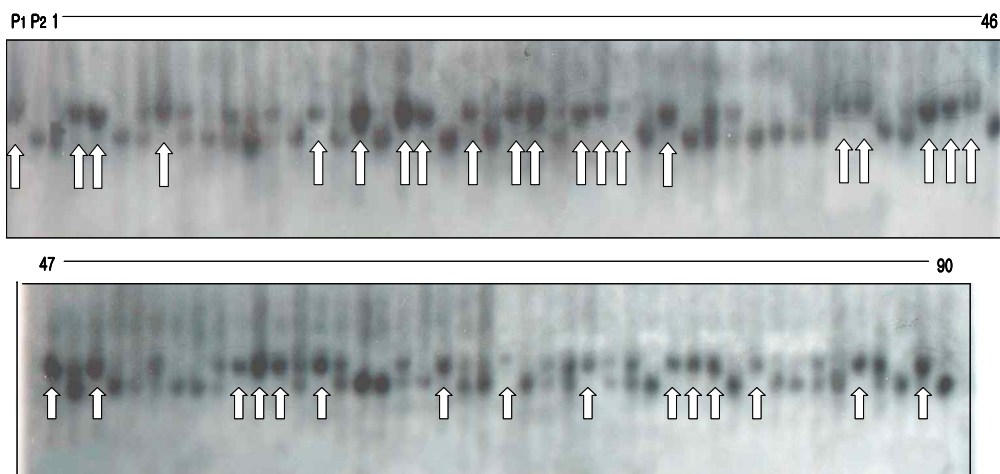


Fig. 4. Autoradiography of southern hybridization of genomic DNAs with radiolabelled probe RZ400 in 90 BC₂F₄ lines derived from a cross ‘MGRI 079/IR 36’.

P₁ : MGR1 079, P₂ : IR 36, ↑ : Designated MGRI 079 allele.

배양에서도 ‘MGRI 079’는 26%의 비교적 높은 식물체 분화율을 보인데 비해 ‘IR 36’은 전혀 식물체가 생성되지 않았다. 현미배양된 BC₂F₄계통 중에서 BC₂F₄-28 외 5계통은 2% 이상의 비교적 높은 식물체 재분화율을 나타내었다(표 2).

다 높고 주요 작물학적 특성이 ‘IR 36’과 유사한 계통을 선발하여 ‘IR 36’을 반복친으로 여교잡을 추가로 실시하고 marker검정과 약배양을 병행한다면 조직배양 효율이 높은 ‘IR 36’의 선발이 가능할 것으로 사료된다.

Table 2. Comparison of cultural efficiency in anther and seed culture of BC₂F₄ lines from a cross ‘MGRI 079/IR 36’

Cultivars	Anther culture		Seed culture		
	No. of anthers inoculated	% of anthers forming callus	No. of seeds cultured	% of seeds forming callus	% of plant regeneration
MGRI 079(P ₁)	800	49.5	196	68.4	26.0
IR 36(P ₂)	1600	0.2	174	49.4	0.0
BC ₂ F ₄ -2	412	2.2	144	69.4	4.3
BC ₂ F ₄ -15	552	1.1	219	58.0	2.0
BC ₂ F ₄ -18	491	1.6	196	66.3	2.1
BC ₂ F ₄ -24	721	4.2	120	75.8	1.3
BC ₂ F ₄ -27	450	0.4	86	70.9	2.0
BC ₂ F ₄ -28	652	5.7	89	40.4	3.1
BC ₂ F ₄ -69	557	3.1	139	76.3	1.6
BC ₂ F ₄ -78	800	0.0	200	78.5	1.5
BC ₂ F ₄ -81	400	0.0	180	70.0	1.7
BC ₂ F ₄ -86	266	1.1	190	69.5	3.5

이상의 결과로부터 벼의 약 및 현미배양에서 DNA marker 이용에 의한 배양 효율 개량 효과를 실험적으로 확인할 수 있었는데, Kwon et al.(2002)도 벼의 약배양과 현미배양에서 MAS에 의해 배양효율을 개량할 수 있다고 하였다. 한편, ‘IR 36’과 농업형질이 유사하면서 조직배양 효율이 높은 계통을 선발하고자 BC₂F₄ 10계통에 대한 주요 특성을 조사한바, ‘MGRI 079’의 출수일수가 109일로 ‘IR 36’의 115일보다 6일이 빨랐으며, BC₂F₄ 10계통의 출수일수는 103일에서 115일까지 넓게 분포하였다. 공시된 계통 중에서 배양 효율이 비교적 높았던 BC₂F₄-28의 출수기, 수장, 수수 등은 ‘IR 36’과 비슷하였으나 간장은 다소 큰 편이었다(표 3, 그림 5). 그리고 조직배양 효율이 비교적 높았던 BC₂F₄ 6계통의 미립특성을 조사한바(표 4), 조사된 계통들의 현미 길이는 대부분 ‘IR 36’과 유사하였고 장폭비도 자포니카형인 ‘낙동벼’보다 높게 나타났다. 그러나 현미의 천립중에서는 아직도 계통 간 차이가 비교적 큰 편이었다. 약 및 현미배양 효율이 ‘IR 36’보

Table 3. Agronomic traits of BC₂F₄ lines from a rice cross ‘MGRI 079/IR 36’

Lines	Days to heading	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	Panicle number
MGRI 079(P ₁)	109	67.3±2.9 ^{a)}	21.8±1.8	16.4±2.6
IR 36(P ₂)	115	58.8±3.6	23.8±1.6	12.5±3.0
BC ₂ F ₄ -2	110	62.8±2.7	25.0±1.6	16.3±2.4
BC ₂ F ₄ -15	108	64.7±2.7	23.2±1.1	11.3±1.2
BC ₂ F ₄ -18	115	69.8±4.0	23.1±1.3	13.2±2.2
BC ₂ F ₄ -24	111	63.4±2.6	24.7±1.0	14.0±2.1
BC ₂ F ₄ -27	109	62.8±4.3	24.3±1.6	10.3±2.2
BC ₂ F ₄ -28	113	66.2±3.8	22.4±1.7	13.4±2.8
BC ₂ F ₄ -69	103	72.0±3.5	22.2±1.7	13.8±2.5
BC ₂ F ₄ -78	127	65.9±5.9	19.4±1.8	15.0±5.0
BC ₂ F ₄ -81	111	77.2±2.6	17.8±1.9	11.8±2.2
BC ₂ F ₄ -86	112	81.4±2.1	20.5±2.2	12.2±3.0

^{a)}Mean ± SD.



Fig. 5. Morphological characteristics of 'MGRI 079 (P₁)', 'BC₂F₄-28 (MGRI 079/IR 36)' and 'IR 36 (P₂)'.

Table 4. Grain characteristics of 6 BC₂F₄ lines from a rice cross 'MGRI 079/IR 36'

Cultivars and lines	Brown rice				1000-grain weight of brown rice (g)
	Grain length (mm)	Grain width (mm)	Length/width	Grain thickness (mm)	
MGRI 079	5.96±0.19 ^{a)}	2.25±0.10	2.65±0.11	1.83±0.07	1.91
IR 36	6.58±0.09	2.11±0.07	3.12±0.10	1.66±0.07	1.89
BC ₂ F ₄ -2	6.02±0.48	2.14±0.10	2.81±0.23	1.69±0.06	1.76
BC ₂ F ₄ -15	6.33±0.24	2.07±0.08	3.06±0.14	1.67±0.10	1.64
BC ₂ F ₄ -18	6.43±0.15	2.23±0.10	2.88±0.22	1.63±0.06	1.84
BC ₂ F ₄ -27	6.07±0.16	2.20±0.13	2.76±0.14	1.65±0.07	1.79
BC ₂ F ₄ -28	6.48±0.88	2.11±0.13	3.07±0.13	1.71±0.08	1.66
BC ₂ F ₄ -86	6.49±0.31	2.10±0.09	3.09±0.18	1.64±0.08	1.82
Nagdongbyeo	5.09±0.11	2.87±0.11	1.78±0.07	2.07±0.08	2.11

^{a)}Mean ± SD.

적 요

벼의 약 및 현미 배양효율과 관련된 DNA marker를 이용하여 인디카형 벼 품종인 'IR 36'의 조직배양 효율을 개선하기 위하여 실험한 결과를 요약하면 다음과 같다.

벼품종 간에 약 및 현미배양 효율을 비교한 결과 자포니카 > 통일형 > 인디카 형의 순으로 나타났다. 그러나 MGRI집단의 약배양에서 식물체분화율이 높은 계통으로 선발된 'MGRI 079'와 'MGRI 036'의 약배양 효율은 각각 19.8%, 19.9%로 가장 높게 나타났다. 'MGRI 079'에 'IR 36'이 여교배되어 양성된 BC₂F₄

90 계통에 대한 marker검정을 실시하여 positive band를 나타내는 34계통을 선발할 수 있었다. 선발된 34계통 중 10 계통의 약배양에서 캘러스 형성률은 'IR 36'보다 현저히 높았다. 선발된 10 계통의 현미배양에서도 캘러스형성 능력과 식물체재분화율이 'IR 36'보다 높게 나타났다. BC₂F₄ 계통 중에서 식물체분화능력이 높은 계통으로 선발된 BC₂F₄-28은 간장이 'IR 36'보다 큰 편이었으나 출수기와 미립특성은 'IR 36'과 비슷하였다.

인용문헌

1. Chen, C., H. Tsay and C. Huang : 1991, Factors affecting androgenesis in rice (*Oryza sativa* L.). In : Rice, Y.P.S. Bajaj(ed), Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 14, Springer-Verlag, Berlin, pp. 193-215.
2. Chung, G. S. and J. K. Sohn : 1995, Anther culture technology in rice, In : Rice Management Biotechnology, S. Kannaiyan(ed), Associated Publishing Co. New Delhi, pp. 1-9.
3. Croughan, T. P. and Q. R. Chu : 1991, Rice(*Oryza sativa* L.) : Establishment of callus culture and the regeneration of plants. In : Rice, Y.P.S. Baja(ed), Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 14, Springer-Verlag, Berlin, pp. 19-37.
4. 權容三 : 1999, 벼의 약 및 종자배양에서 식물체재분화 능력과 관련된 양적형질 유전자좌 (QTL) 의 Mapping, 慶北大學校 博士學位論文.
5. Kwon, Y. S. and J. K. Sohn : 2000, Varietal difference and inheritance of plant regenerability in anther culture of rice, Korean J. Plant Tissue Culture 27 : 163-167.
6. Kwon, Y. S., K. M. Kim., M. Y. Eun. and J. K. Sohn : 2001, Quantitative trait loci mapping associated with plant regeneration ability from seed derived-calli in rice (*Oryza sativa* L.), Mol. Cells, 11 : 64-67.

7. Kwon, Y. S., K. M. Kim., D. H. Kim., M. Y. Eun. and J. K. Sohn : 2002, Marker -assisted introgression of quantitative trait loci associated with plant regeneration ability in anther culture of rice (*Oryza sativa* L.), Mol. Cells, 14 : 24-28.
8. Miah, M. A. A., E. D. Earle and G. S. Khush : 1985, Inheritance of callus formation ability in anther cultures of rice, *Oryza sativa* L., Theor. Appl. Genet. 60 : 113-116.
9. Murray, M. G. and W. F. Thompson : 1980, Rapid isolation of high molecular weight plant DNA, Nucleic Acids Res. 8 : 4321-4325.
10. 농사시험 연구 조사기준 : 1995, 농촌진흥청, pp. 490-510.
11. Niizeki, H. and K. Oono : 1968, Induction of haploid rice plant form anther culture, Proc. Jpn. Acad. 44 : 554-557.
12. Seong, K. S. and J. K. Sohn : 1990, Some factors affecting callus formation and plant regeneration in the seed culture of rice(*Oryza sativa* L.), Korean J. Plant Tissue Culture 17 : 23-27.
13. Ukai, Y. : 1999, Theory of QTL analysis, Breeding Science 1 : 25-31.
14. Yano, M. and T. Sasaki : 1997, Genetic and molecular dissection of quanti-tative traits in rice, Plant Molecular Biology 35 : 145-153.