

## 2n配偶子 形成 二倍體 감자의 育成研究

金 惠 英\*

# Studies on 2n gametophyte Producing Diploid Potato Clones

Hei Young Kim\*

### ABSTRACT

This study is to select good diploid clones and develop them into FDR clones. Seventeen diploid clones were selected by tuber plants from the imported diploid potato seeds and from the progenies of the crosses between them. The characteristics of the selected clones were reported. Fifteen clones were crossed among them or open pollinated or bulk pollinated, and 18 selections were made from the seed progenies of these pollinations. Male and female unreduced gametes were searched by crossing 2x, 4x and by microtechnique. Only one clone, D6-21 was found to produce unreduced male gamete with the rate of 27-30% by FDR. Unreduced female gamete has not been found among these diploids.

### 緒 言

감자와 같이 種內 혹은 種間에 倍數性의 차이가 있는 作物에서는 育種을 위한 遺傳子의 轉移가 어려울 이를 극복하기 위하여 colchicine을 사용하여 二重交 配하기도 한다. 塊莖형성 *Solanum* 種에서는 四倍體 和 二倍體를 交配하면 거의 결실하지 않는 것이 많 운데 이들 的 F<sub>1</sub>은 주로 三倍體이다.<sup>5,6)</sup> 그 반면에 많 은 種들이 4X-2X 交配에 의하여 四倍體 F<sub>1</sub>이 생 산되는데 이는 減數分列되지 않은 配偶子가 형성되기 때문에 일어나는 현상이다.<sup>2,3,7,8,10,11)</sup>

FDR(First Division Restitution)이란 遺傳的으로 減數分列期의 第一分列이 일어나지 않은 것과 같 은 결과로 母體의 유전자를 대부분 포함하는 균일한 二倍體 배우자를 생산할 수 있어 四倍體와 교배되었 을 때 균일한 四倍體 자손을 생산할 수 있다.<sup>8)</sup>

현재 도입된 FDR clone을 利用한 育種이 시도되 고 있으나 도입된 FDR clone은 눈색, 표피색, 耐病 性등 개선되어야 할 유전적 형질들을 가지고 있다.<sup>4,9)</sup>

우수한 二倍體를 선발, 육종하고 이들중에서 FDR 을 위한 유전자 "PS"를 찾아내거나 移傳시켜 우수 한 FDR clone을 만들것자 하는데 본시험의 궁극적 인 목적이 있다.

FDR clone은 진정종자재배를 위한 균일한 F<sub>1</sub> 종 자 생산에만 필요한 것이 아니라, 이는 F<sub>1</sub>에서 雜種 強勢 현상을 뚜렷하게 나타내므로 clone育種에도 매 우 중요한 材料가 될 것이므로 우수한 二倍體 FDR clone을 만드는 것은 매우 중요한 문제이다.

### 材料 및 方法

韓國과 氣溫이 비슷한 미국 North Carolina 주에 서 선발된 *Solanum*種의 二倍體 진정종자가 1977年 導入栽培되어 塊莖이 형성된 것은 clone으로 유지되 어 왔다. 이들 二倍體(2X)들중 塊莖의 形態, 형성능 력 등을 고려하여 clone들이 선발되었다. 선발된 cl ione간 交配된 것과 開放受粉, 集團受粉된 것의 次 代는 진정종자 재배법에 따라 포장에서 재배되었다. 이들은 한 hill(포기)당 세계의 苗를 移植하고 각 차

\* 東國大學校 農科大學(College of Agriculture, Dongguk University, Seoul, Korea)

이 연구는 農村振興廳研究造成費(1981)에 의하여 遂行되었음. <1985. 11. 25 接受>

대집단당 15~25포기씩 심었다. 收穫 당시에는 대개 한 포기씩 한 個體만이 남았으나 두 個體이상 남은 것에서도 塊莖의 收穫은 植物個體를 구분하여 이루어졌다. 各 個體의 塊莖形態 生産力을 고려하여 選拔되었다. 이들의 근원은 *Solanum stenotomum*과 *S. phureja*이고 二倍體이므로 괴경재배나 진정중자재배에서 모두 四倍體인 *S. tuberosum*의 재배종과는 그 수확량을 비교할 수는 없다.

일부 선발된 clone에 對하여는 2n 배우자 형성능력이 조사되었고 FDR clone과의 교배도 시도되었다. 雄性二倍體 倍偶子 형성능력은 花粉母細胞의 第二減數分裂時期에 나타난 紡錘糸 혹은 조속세포판형성(Premature Cytokinesis)를 조사하였고 花粉의 크기를 조사하였다. 花분모세포의 관찰은 Methylalcohol 6 : Chloroform 3 : Ironacetate로 포화된 45% Propionic acid 2의 용액에 고정하여 Acetocarmine으로 염색하였고 花분은 Acetocarmine glycerol 용액에 염색하여 검정되었다. 雌性二倍體 倍偶子 형성은 이들을 母親으로 하여 四倍體로 交配하여 조사하였다

### 結果 및 考察

塊莖狀態로 유지되어오면서 耐病性이 매우 약한 것은 제거되고 남은 clone들 중 괴경의 형태, 色, 눈의 깊이 수확량 혹은 耐病性을 감안하여 선발된 clone

의 특성이 표 1과 사진 1에 열거되어 있다. 이들은 그동안 塊莖 3~4 個씩 花분에 심어 온실의 재배상태에서 선발된 것이므로 수확량에 대한 信賴度는 낮다고 보겠다. 이들은 2배체이고, 이들의 수확량은 4배체인 재배종에 比하여 매우 낮으나, 이들 중에서 FDR clone을 선발하거나, FDR clone과 교배하여 FDR clone을 만들 재료이므로 수량은 낮아도 塊莖의 형태가 좋거나 내병성이 강한 것은 선발되었다(Table 1, Photo 1). 그중 D12-1은 다른 clone에 比하여 수량이 많았고, 괴경의 형태가 좋았으며, D6-1, (D10×D21)-1도 괴경의 형태 및 크기가 좋아 육종재료로 선발되었다. 開放受粉種子(DS001~DS004), 集團受粉種子(DSB001~DSB005), 人工交配된 種子

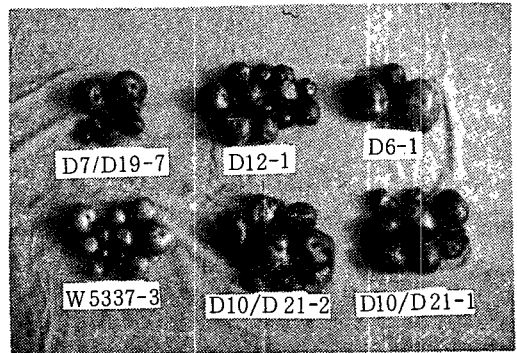


Photo 1. Tubers of selected diploid clones.

Table 1. Yield and characteristics of selected diploid clones.

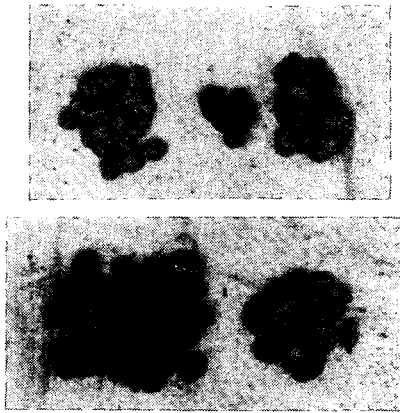
|               | Tuber |     |       |            |           | Plant |        |        |       |
|---------------|-------|-----|-------|------------|-----------|-------|--------|--------|-------|
|               | Wt.   | No. | Shape | Skin Color | Eye Depth | Vigor | Type   | Height | Virus |
| D4-1          | 70    | 3   | R     | W          | M         | str.  | erect  | med    | MM    |
| D4-2          | -     | -   | R     | Red        | S         | weak  | s.ere. | med    | no    |
| D6-1          | 275   | 3   | R     | Y          | M         | med   | open   | short  | MM    |
| D6-21         | -     | -   | R     | LY         | S         | med   | erect  | tall   | no    |
| D7-1          | -     | -   | R     | W          | D         | med   | s.ere. | med    | M     |
| D7-2          | -     | -   | R     | Red        | S         | med   | s.ere. | short  | M     |
| D11-2         | 80    | 15  | R     | W          | M         | weak  | s.ere. | short  | MM    |
| D12-1         | 332   | 12  | R     | Red        | M         | med   | erect  | tall   | MM    |
| (D3×D2)-1     | 162   | 11  | RO    | Red        | S         | str   | open   | med    | no    |
| (D3×D2)-2     | 47    | 3   | RO    | W          | M         | weak  | s.ere. | med    | no    |
| (D7×D4)-1     | -     | -   | RO    | LY         | S         | med   | erect  | tall   | MM    |
| (D7×D4)-2     | 166   | 5   | RO    | P          | S         | str   | erect  | med    | no    |
| (D7×D19)-7    | 179   | 9   | R     | P          | M         | med   | s.ere. | med    | MM    |
| (D10×D21)-1   | 277   | 8   | O     | PW         | S         | weak  | s.ere. | med    | MM    |
| (D10×D21)-2   | 301   | 7   | R     | PW         | D         | med   | erect  | tall   | no    |
| (D4×P3P73)-9  | -     | -   | R     | LY         | M         | weak  | erect  | med    | MM    |
| (D4×P3P73)-12 | 158   | 8   | R     | W          | S         | weak  | erect  | med    | MM    |

\*R:Round O:Oval, RO:Round oval,

W:White, Y:Yellow, LY:Light Yellow

**Table 2.** Number of clones selected and tuber weight from true potato seeds.

| Family            | Seed Source | No. of Clones |           |            | Tube Weight |        |
|-------------------|-------------|---------------|-----------|------------|-------------|--------|
|                   |             | Selected      | 1st (2nd) | Over 150gr | Ave.        | Range  |
| <u>Open Poll.</u> |             |               |           |            |             |        |
| DS001             | D9-1        | 8 (3)         |           | 2          | 111         | 8-180  |
| DS002             | D9-2        | 15 (0)        |           | 0          | 39          | 5- 68  |
| DS003             | D9-3        | 9 (1)         |           | 1          | 85          | 20-340 |
| DS004             | D9-4        | 5 (1)         |           | 0          | 41          | 13- 70 |
| <u>Bulk Poll.</u> |             |               |           |            |             |        |
| DSB0001           | (D3×D2)     | 5 (0)         |           | 0          | 30          | 22- 38 |
| DSB0002           | D4          | 16 (8)        |           | 5          | 111         | 20-230 |
| DSB0003           | D6          | 11 (0)        |           | 0          | 19          | 5- 40  |
| DSB0004           | D7          | 5 (0)         |           | 0          | 17          | 6- 28  |
| DSB0005           | D11         | 3 (2)         |           | 1          | 100         | 3-200  |
| <u>Cross</u>      |             |               |           |            |             |        |
| DC001             | D4×P3 P73   | 15 (3)        |           | 1          | 77          | 35-170 |
| DC002             | D7×D19      | 5 (0)         |           | 0          | 82          | 58-114 |



**Fig. 2.** Tubers harvested from five different true potato seed plants of the open pollinated family DS003.

(DC001~DC002)를 각각 7, 6, 2 집단씩 진정종자 재배법에 따라 파종한 후, 苗時期에 초세가 매우 약한 次代集團들은 제거되고 포장에 이식된 것은 표 2에 나타난 바와 같이 開放受粉, 集團受粉, 人工交配된 것 중 각각 4, 5, 2집단으로 모두 11집단이다. 苗시기에 초세가 약한 것은 포장에 이식하여도 정상적으로 자라지 못하며, 차후에 진정종자 재배를 하기 위한 재료에서는 특히 우수한 초기 生育이 重要시 되므로, 이에 對하여는 皮경 형태나 기타 다른 특성에 대한 선발을 포기하고 초기의 선발에서 제외시켰다.

포장에서 수확 당시 皮경의 형태 및 수량에 기준을 두어 선발된 clone은 開放受粉된 것 中 37, 集團受粉된 것 中 40, 人工交配된 것 中 20으로 모두 97

**Table 3.** The percent of pollen grains of various sizes in diploids and a tetraploids.

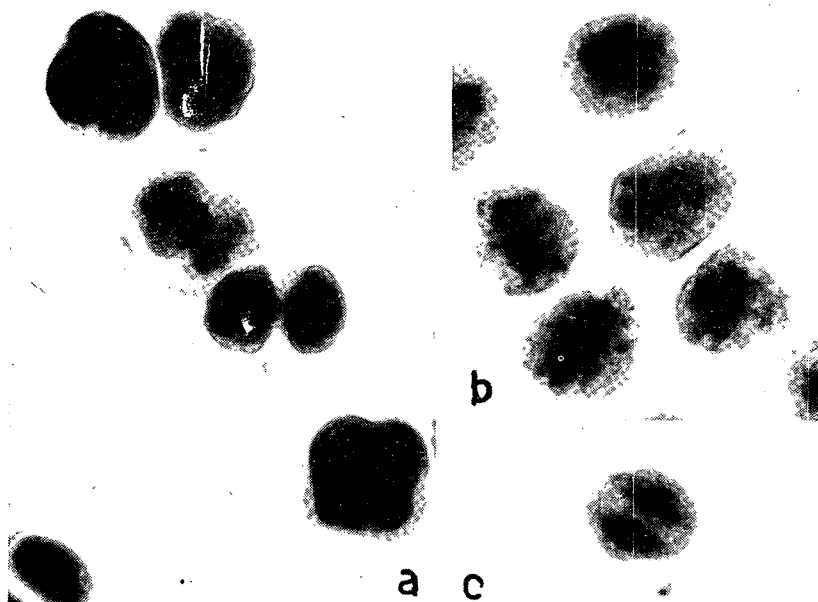
| Clones            | Pollen size ( $\mu\text{m}$ ) |           |           |
|-------------------|-------------------------------|-----------|-----------|
|                   | 17.5-22.5                     | 23.8-25.0 | 26.3-32.5 |
| <u>Diploid</u>    |                               |           |           |
| D4-2              | 91.0                          | 5.6       | 3.4       |
| D6-1              | 93.3                          | 6.5       | 0.3       |
| D6-21             | 16.6                          | 50.3      | 33.8      |
| D7×D4             | 89.3                          | 9.9       | 0.8       |
| (D7×D19)-7        | 90.6                          | 8.2       | 1.7       |
| (D10×D21)-2       | 93.4                          | 5.3       | 1.3       |
| <u>Tetraploid</u> |                               |           |           |
| Dejima            | 6.5                           | 7.4       | 62.4      |

clone이었다. 각 차대집단의 주당 평균 수확량은 17 gram 내지 111 gram이며, 각 주당 수량의 범위는 3 gram~ 340 gram으로 집단에 따라 또 clone에 따라 차이가 컸다. 皮경의 형태 및 색에 對한 차이도 각 clone에 따라 한 집단내에서도 다르게 나타났다. 특히 開放受粉된 집단에서 그 예를 뚜렷이 볼 수 있다. 사진 2는 DS003 집단내의 진정종자에서 자란 식물에서 수확한 주당 皮경인데, clone에 따라 수량과 모양에 큰 차이를 보여준다. 人工交配된 D7×D19집단은 皮경의 형태, 皮경의 색이 모두 均一하게 원형에 자색을 나타내었으며, D4×P3 P73은 皮경의 모양이 장타원형에서 원형까지 여러 形態로 눈의 깊이도 여러가지였으나 皮경의 표피색은 白色으로 均一하였다. 開放受粉된 것과 集團受粉된 것은 皮경의 形態 및 표피색에 변이가 人工交配된 것 보다는 많았으나 집단에 따라 차이가 있었다. 4 배체 감자에서는 포장

**Table 4.** Meiosis of nine diploid clones.

| Clones      | Tetrad stage cells |      |       |        | MII and AII |                  | TII              |
|-------------|--------------------|------|-------|--------|-------------|------------------|------------------|
|             | Total              | Dyad | Triad | Tetrad | Normal      | ps <sup>1)</sup> | pc <sup>2)</sup> |
| D3-2        | 356                | 0    | 0     | 356    |             |                  |                  |
| D4-1        | 516                | 5    | 0     | 511    | 21          | 4                | 0                |
| D6-21       | 176                | 76   | 0     | 100    |             |                  |                  |
| D12-1       | 583                | 19   | 0     | 564    |             |                  |                  |
| (D3×D2)-1   | 473                | 8    | 0     | 465    |             |                  |                  |
| (D3×D2)-2   | 481                | 52   | 13    | 416    | 304         | 36               | 0                |
| (D7×D19)-7  | 57                 | 5    | 0     | 52     | 15          | 4                | 0                |
| (D10×D21)-2 | 186                | 0    | 0     | 186    |             |                  |                  |
| (D12×D21)-1 | 829                | 3    | 0     | 826    |             |                  |                  |

1) ps : parallel spindle, 2) pc : premature cytokinesis



**Photo 3.** Meiosis of dyad producing clones.

- a) Dyads and tetrads at tetrad stage in clone D6-21.
- b) normal and parallel spindle cell at MII in clone D4-1.
- c) parallel spindle cell at MII in clone (D7×D19)-7.

에서 開放受精의 대부분이 自家受精에 依한 것이지만 二倍體 감자는 자가 불화합성이 있으므로 본 실험에 開放受精된 것 中에는 自家受精된 것은 없다고 보는 것이 타당하겠다.<sup>1)</sup>

선발된 2배체 clone의 화분의 크기를 조사한 후 감수분열기의 2분자 생산으로 2n 배우자 형성 가능성 여부를 판별하고자 하였으며, 화분 검경의 결과는 표 3에 제시되었다. 26 $\mu$ m 이상되는 화분은 대개 2

배체 花粉으로 간주되어 왔으나,<sup>5,8)</sup> 이를 확인하기 위하여 4배체 재배품종 大地를 함께 조사하였을 때 大地의 花粉은 62%가 26.3~32.5 $\mu$ m이었다. 調査된 6 clone 中에 D6-21은 33% 以上이 26.3 $\mu$ m 以上의 큰 花粉이었으나 그외의 다른 5 clone들은 큰 花粉이 3.4~0.3% 뿐이었다. D6-21은 감수분열기의 제 2 말기에서 정상으로 四分子(Tetrad)를 형성하는 것 100個에 對하여 二分子(dyad)를 형성하는 것이

76個였다(Table 4). 이 경우 예상되는  $n$  配偶子는 400個이고  $2n$  配偶子는 152個로 27.5%의 花粉이  $2n$  일 것으로 추정된다. ( $D3 \times D2$ )-2는 四分子 416개에서  $n$  配偶子 1,664개, 3分子(triad) 13개에서  $n$  配偶子 26개,  $2n$  配偶子 13개, 2分子 52개에서  $2n$  配偶子 104개로 모두  $n$  配偶子 1,690개와  $2n$  配偶子 117개로 예상되는  $2n$  配偶子는 6.5%이다. 이 clone에서는 특히  $2n$  배우자가 나타난 방추사에 의해 이루어지므로(표 4에서 정상이 304, PS가 36)  $2n$  花粉이 모두 FDR에 의한 화분이라 추정된다. ( $D7 \times D19$ )-7과  $D4-1$ 에서도 PS에 의한  $2n$  배우자 형성되는 것이 확인되었다(Table 4, Photo 3). 자성  $2n$  配偶子 형성 가능성을 알기 위하여 二倍體 13 clone을 四倍體와 151個의 交配를 하였으나 결실된 것은 하나도 없었으며, 이 중에는  $D6-21$ 도 포함되었다. 이 clone에서도 17개의 交配中 결실은 하나도 이루어지지 않았다. 그러므로 조사된 2배체 clone 중에는  $2n$  자성배우체를 생성하는 것이 발견되지 않았다.

### 摘 要

우수 二倍體 clone을 선발하고 이를 FDR clone으로 육성하고자 본 실험이 수행되었다.

1) 도입된 2X種자를 포장 및 온실에서 재배하여 17clone이 선발되었으며 이들의 특성이 조사되었고, 이들 clone을 人工交配, 開放受粉, 集團受粉하여 그 후대에서 18clone이 선발되었다.

2) 선발된 clone들은  $2n$  응성과  $2n$  자성배우자 형성에 대하여 조사되었다. 그중  $D6-21$ 만이 27~30%의  $2n$  응성 배우자를 FDR에 의해 형성하였고, 다른 clone들은  $2n$  응성 배우자 형성율이 7% 미만이었다.

3) 자성  $2n$  배우자를 생성하는 clone은 발견되지 않았다.

### 引 用 文 獻

1. Cipar, M.S., S.J. Peloquin and R. W. Hougas.

1964. Variability in the expression of self-incompatibility in tuber-bearing diploid species. Am. Potato J. 41:155-162.

2. Hanneman, R.E. Jr. and S.J. Peloquin. 1967. Crossability of 24-chromosome potato hybrids with 48-chromosome cultivars. Europ. Potato J. 10:62-72.

3. Hanneman, R. E. Jr. and S.J. Peloquin. 1968. Ploidy levels of progeny from diploid-tetraploid crosses in the potato. Amer. Potato J. 45:225-261.

4. 金惠英. 1982. 감자의 四倍體種과 FDR 계통과의 交雜에 의한 多收性 品種의 育成研究. 韓國育種學會紙 14 : 80-84.

5. Kim, Heiyoung and H. T. Erickson. 1979. Production of triploids and tetraploids by tetraploid  $\times$  diploid crosses in tuber-bearing *Solanum* species. Korean J. Breeding 11:120-126.

6. Mark, G.E. 1966. The enigma of triploid potatoes. Euphytica 15:285-290.

7. Mendiburu, A. O. 1970. The significance of  $2n$  gametes in potato breeding and genetics. Ph. D. Thesis University of Wisconsin.

8. Mok, D. W. S. and S.J. Peloquin. 1972. Three mechanisms of  $2n$  pollen formation in diploid potatoes. Amer. Potato J. 49:362-365.

9. 목일진. 1985. 감자 품종개량의 현황과 문제점. 한국육종학회지 17 : 263-272.

10. Peloquin, S.J., R.W. Hougas and A.C. Gabert. 1966. Haploidy as a new approach to the cytogenetics and breeding of *Solanum tuberosum*. In Riley and Lewis, Chromosome Manipulation and Plant Genetics. Oliver and Boyd, Edinburgh.

11. Wang, H.H., S.J. Peloquin and A.O. Mendiburu. 1971. Cytology of  $2n$  pollen formation in two *phureja* - haploid *Tuberosum* hybrids. Amer. Potato J. 47:361.