

벼 약배양 효율의 품종간 차이와 식물체 재분화 능력의 유전

권용삼* · 손재근
경북대학교 농과대학 농학과

Varietal Difference and Inheritance of Plant Regenerability in Anther Culture of Rice

KWON, Yong-Sham* · SOHN, Jae-Keun

Department of Agronomy, Kyungpook National University, Taegu, 702-701, Koera

ABSTRACT This study was carried out to identify varietal difference and the inheritance of the ability of plant regeneration in anther culture of rice. The anthers of 33 *Japonica*, 11 *Indica/Japonica*, and 3 *Indica* rice cultivars were cultured on N₆-Y₁ medium with 1 mg/L NAA and 2 mg/L kinetin. The remarkable variability in plant regeneration were observed among the genotypes, ranging from 0.0% to 19.4%. Most of *Japonica* rices were resulted to have better culturability than that of *Indica/Japonica* and *Indica* type cultivars. Newly developed *Japonica* rices, 'Ilmibyeo' and 'Hangnambyeo', showed to have higher regenerability with the frequency of 19.4% and 18.1%, respectively. The segregation mode for callus formation and plant regeneration in anther culture of F₂ population of 'Milyang 23/Chucheongbyeo' showed a continuous variation. The variation of plant regeneration frequency in anther culture of F₂ plants ranged from 0% to 33.3% with a mean of 6.3%. The broad-sense heritability estimated from the ability of plant regeneration was considerably high (82.7%).

Key words : anther culture, plant regeneration, rice

서 론

벼 약배양법은 실용 형질의 조기 고정을 통한 육성연한 단축과 유용 열성형질을 쉽게 이용할 수 있다는 점 등의 장점이 있다. 우리 나라의 경우 1970년대 초부터 농촌진흥청의 벼 육종 연구진을 중심으로 약배양에 관여하는 여러 가지 요인에 대한 연구를 수행함과 동시에 이 방법을 품종 개량에 적극 활용하여 지금까지 15품종이 육성 보급될 정도로 그 성과가 큰 편이다. 그러나 아직도 높은 빈도로 출현되는 백색체와 변이체, 배양 효율의 genotype 간 차이 등은 큰 진전을 보이지 못하고 있는 실정이다 (Chung and Sohn 1995). 이 중에서도 genotype 간에 배양효율이 다르다는 것은 다양한 유전자

원의 이용을 제한한다는 점에서 가장 큰 문제점으로 지적되고 있는데, 일반적으로 자포니카형이 인디카형보다 식물체 분화율이 높으며, 동일 품종 생태형내에서도 배양효율의 차이가 뚜렷하다는 것이 공통된 연구결과이다 (Croughan and Chu 1991). 따라서 최근에 육성된 벼 품종에 대한 배양효율의 차이를 구체적으로 밝힌다면 그 결과는 약배양법을 이용한 신 품종 개량에 매우 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

근년에 벼 약배양 효율도 유전적 지배를 받는다는 것이 보고되고 있는데, 식물체 재분화율이 유전적 지배를 받는다면 배양 효율이 높은 품종을 중간모본으로 활용하여 배양 효율이 낮은 유전자원의 분화능력을 개선할 수도 있을 것이다 (Yan et al. 1996). 벼의 약배양에서 식물체 재분화율의 유전에는 환경의 영향을 크게 받는 다수의 유전자가 복잡하게 관여하는 것으로 보고되고 있으며 (Sugimoto and Takeoka 1998), 실제로 약배양의 효율은 배양에 이용되는 배지의 조성, 배양재료의 상태, 배양방법과 배양환경 등에 따라서 큰 차

*Corresponding author. Tel 053-950-5711

E-mail ys4654@naver.com

이를 보이는 것으로 알려져 있다 (Henry et al. 1994).

따라서 본 연구에서는 최근 국내에서 육성된 벼 장려품종을 포함한 47 품종의 약을 배양하여 캘러스 형성과 식물체 재분화율의 품종간 차이를 구명하고, 식물체 재분화 능력이 상이한 '밀양 23호'와 '추청벼'가 교배된 조합의 양친과 F₁ 및 F₂ 집단을 약배양하여 캘러스 형성과 식물체 재분화 능력에 대한 유전분석을 실시하여 얻어진 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

약배양 효율의 품종간 차이

본 실험에는 경북대학교 농과대학 농학과 작물육종학 연구실에 보존된 '일미벼' 등 47 품종을 공시하였다 (Table 1). 공시 품종을 1998년 4월 30일에 파종하여 30일간 육묘한 후 경북대학교 농과대학 실습포장에 30×15 cm의 재식밀도로 주당 1본씩 이앙하였으며, 기타 모든 재배법은 표준 재배법에 준하여 실시하였다. 공시 품종의 1핵성 소포자기의 이삭을 채취하여 12°C에서 10일간 저온처리된 약을 1 mg/L NAA, 2 mg/L kinetin, 30 g/L sucrose, 5 g/L gelrite가 첨가된 N₆-Y₁ 배지 (Chung and Sohn 1986) 에 배양한 다음, 26±1°C에 암상태로 30일간 캘러스를 유도시켰다. 식물체 재분화는 캘러스 이식과정 없이 1일 16시간 명상태 (2,600 Lux)에서 식물체를 재분화시키는 1단계 배양 방법을 이용하였으며, 품종별로 캘러스 형성률, 녹색체 재분화율, 백색체 재분화율을 조사하였다.

약배양 효율 관련 유전분석

벼 약배양에서 캘러스 형성률과 녹색체 재분화율의 유전분석에는 '밀양 23호/추청벼' 조합의 양친, F₁, F₂ 집단을 공시하였다. '밀양 23호/추청벼' 조합은 '96년 하계에 양친을 인공교배하여 '96/'97년 동계 온실에서 F₁을 양성한 다음 '98년 하계에 F₂ 집단을 포장에 전개하여 약배양 재료로 이용하였다. '밀양 23호/추청벼' 조합은 '98년 하계에 양친과 F₁은 20 개체, F₂의 경우 200 개체를 '약배양 효율의 품종간 차이'에서와 동일한 방법으로 약배양하여 캘러스 형성률과 녹색체 재분화율에 대한 빈도분포 양상을 조사하고, $h^2_B = VF_2 - VE / VF_2$ 공식에 의해 광의의 유전력을 추정하였다.

결과 및 고찰

자포니카형 벼 33 품종과 통일형 및 인디카형 벼 14 품종의 약을 배양하여 품종별로 캘러스 형성률과 녹색체 재분화율을 비교한 바 (Table 1), 자포니카형이 통일 및 인디카형보다 캘

러스 형성률이 높게 나타났으며, 자포니카형 33 품종의 평균 녹색체 재분화율이 9.7%로 통일형 및 인디카형 14 품종의 0.8%보다 현저히 높았다. 자포니카형 품종내에서도 '농안벼', '신선찰벼', '장안벼'는 5.0% 이하의 낮은 녹색체 재분화율을 나타내는데 비해, '일미벼'의 녹색체 재분화율은 19.4%로 가장 높게 나타났고, 최근에 육성된 향남벼 (18.1%), 기호벼 (15.1%), 신금오벼 (15.1%), 동해벼 (13.6%), 안산벼 (13.5%) 등은 13% 이상의 높은 분화율을 나타내었다.

벼의 약배양에서 캘러스 형성과 식물체 재분화 능력이 다음 세대로 유전하는지의 여부를 조사하기 위하여 '밀양 23호'와 '추청벼'가 교배된 F₁ 및 F₂ 집단에 대한 캘러스 형성률과 녹색체 재분화율을 양친과 비교한 바 (Table 2), '추청벼'가 '밀양 23호'보다 캘러스 형성률과 녹색체 재분화율이 높게 나타났으며, F₁ 및 F₂ 집단의 평균 캘러스 형성률과 녹색체 재분화율은 양친의 평균치보다 낮게 나타났다.

F₂ 집단에서의 캘러스 형성률에 대한 빈도분포는 정규분포에 가까운 연속적인 분포 양상을 나타내었으며 (Figure 1-A), 녹색체 재분화율의 경우는 전혀 녹색체가 재분화되지 않는 개체가 있는가 하면 최대 33.3%까지 넓게 분포하는 연속적

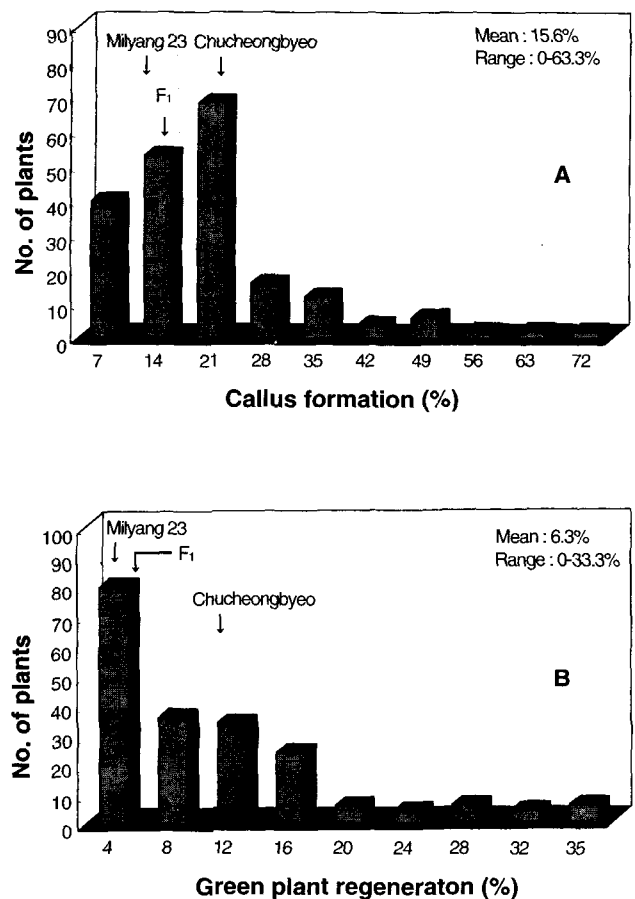


Figure 1. Frequency distribution of the ability of callus formation (A) and plant regeneration (B) in anther culture of F₂ population from the cross between 'Milyang 23' and 'Chucheongbyeo'.

Table 1. Varietal differences of the ability of callus formation and plant regeneration in anther culture of 47 rice cultivars.

Varietal group	Cultivars	No. of anthers inoculated	% of anthers forming callus	% of plant regeneration	
				green	albino
Japonica	Ansanbyeo	453	34.2±4.4 ^{a)}	13.5±2.1	2.7
	Chucheongbyeo	500	25.4±5.5	12.0±3.1	1.5
	Daeribbyeo	400	18.0±3.9	10.0±1.6	1.0
	Donghaebyeo	400	30.0±6.7	13.6±3.5	2.8
	Dongjinbyeo	500	25.7±4.6	12.1±2.1	0.7
	Gancheogbyeo	414	15.0±4.2	10.6±2.1	0.5
	Geumobyeo 1	500	25.0±5.5	10.0±2.1	0.5
	Gihobyeo	600	17.7±2.1	15.1±2.7	1.6
	Hangnambyeo	509	30.5±4.3	18.1±3.7	1.6
	Hwacheongbyeo	438	26.0±3.8	12.8±3.5	0.5
	Hwayeongbyeo	650	25.6±4.6	12.1±2.8	2.1
	Hyacp 39-26-1	616	27.9±3.6	18.2±4.1	1.6
	Ilmibyeo	600	32.5±5.1	19.4±2.8	1.1
	Ilpumbyeo	500	18.2±3.9	4.9±2.4	3.5
	Janganbyeo	400	15.8±3.4	2.9±1.9	2.1
	Jinmibyeo	554	16.6±2.5	5.1±1.8	1.1
	Joreongbyeo	408	39.0±5.8	5.4±3.1	0.0
	Koshihikari	603	21.9±3.5	9.0±2.1	1.0
	Nagdongbyeo	677	20.1±5.1	6.7±1.6	1.2
	Nonganbyeo	278	5.0±1.1	1.8±0.4	0.0
	Palgongbyeo	698	35.2±4.7	9.9±2.1	1.3
	Sambaekbyeo	116	34.5±4.9	10.3±2.0	1.7
	Samcheonbyeo	324	13.9±2.5	7.0±1.9	0.0
	Sangjubyeeo	415	7.7±2.1	4.3±1.1	2.3
	Sangnambatbyeo	448	24.6±4.5	12.5±2.1	0.9
	Sangsanbyeo	656	18.2±3.6	7.0±1.7	0.0
	Sasanishiki	600	18.0±2.9	7.0±1.9	1.2
	Singeumobyeo	350	20.6±5.1	15.1±3.1	0.0
	Sinseonchalbyeo	550	15.4±3.7	3.3±2.1	3.0
	Tohoku 144	300	15.0±1.1	5.9±0.6	2.5
	Tohoku 149	362	19.9±3.6	10.8±1.6	0.1
	Unjangbyeo	300	11.0±3.0	5.0±1.7	1.2
	Yeongnambyeo	300	18.8±5.5	10.0±3.2	2.8
	Mean	467	21.7±7.9	9.7±4.6	1.3±1.0
Tongil & indica	Cheongcheongbyeo	624	6.9±1.2	1.6±0.6	0.0
	Dasanbyeo	490	8.0±2.1	0.0	0.0
	Gayabyeo	694	3.8±0.9	0.3±0.1	0.0
	Hangangchalbyeo	450	17.6±4.5	2.6±0.3	2.1
	Milyang 23	506	8.9±4.0	1.5±1.4	0.3
	Milyang 42	450	11.1±1.9	0.0	0.0
	Milyang 62	440	5.4±2.1	1.0±0.2	0.2
	Milyang 63	153	6.5±1.1	0.0	0.0
	Namcheonbyeo	844	12.9±2.5	1.4±0.9	0.1
	Pungsanbyeo	596	11.1±3.2	0.5±0.3	0.0
	Samgangbyeo	387	4.4±1.0	1.0±0.7	0.0
	IR 29	546	2.0±0.6	0.0	0.0
	IR 36	480	0.0	0.0	0.0
	IR 841-76-1	661	3.5±1.1	0.0	0.0
		Mean	523	7.5±4.7	0.8±0.9

^{a)} Mean ± SD.

Table 2. Mean value and heritability (h^2_B) estimates of callus formation and plant regeneration in anther culture of the cross, 'Milyang 23/Chucheongbyeo'

Parents, F ₁ & F ₂	% of callus formation	% of plant regeneration	
		green	albino
Milyang 23 (P ₁)	8.9 ± 4.0 ^{a)}	1.5 ± 1.4	0.3 ± 0.1
Chucheongbyeo (P ₂)	25.4 ± 5.5	12.0 ± 3.1	1.5 ± 0.4
P ₁ + P ₂ / 2	17.2 ± 4.8	6.8 ± 2.3	0.9 ± 0.3
F ₁ (P ₁ /P ₂)	12.2 ± 5.0	3.7 ± 3.5	0.7 ± 0.6
F ₂	15.6 ± 13.0	6.3 ± 6.6	1.3 ± 1.6
h^2_B (%)	76.8	82.7	62.7

^{a)} Mean ± SD.

인 변이 분포 양상을 나타내었다 (Figure 1-B). 한편, F₂ 집단 의 캘러스 형성률과 녹색체 재분화율에 대하여 추정된 광의 의 유전력은 각각 76.8%와 82.7%로 높게 추정되었다 (Table 2).

벼 약배양에서 식물체 재분화 능력이 genotype 간에 큰 차 이를 보인다는 것은 약배양이 시작된 초기부터 보고되기 시 작하였다 (Shen et al. 1982). 본 연구에서도 자포니카형 품종 들의 녹색체 재분화율이 통일형이나 인디카형 품종에 비해 높게 나타나, 벼 약배양에서 자포니카/waxi > 자포니카/자포 니카 > 자포니카 > 인디카/자포니카 > 인디카/인디카 > 인디카 형 품종의 순으로 식물체 재분화율이 품종 생태형 간에 큰 차이를 나타낸다고 보고한 Shen 등 (1982)의 연구 결과와 같은 경향이였다. 또한 동일한 벼 품종 생태형내에도 캘러스 형성률과 녹색체 재분화율의 차이도 큰 편이었는데 (Table 1), 이는 자포니카형이나 인디카형 품종 상호간에도 배양 효 율의 차이는 크다고 한 Chung과 Sohn (1995) 및 Croughan 과 Chu (1991) 의 보고와 일치되는 경향이였다. 본 연구에서 18.0% 이상의 높은 녹색체 재분화율을 보인 '일미벼'와 '향 남벼'는 금후 조직배양 효율이 낮은 품종의 배양 효율 향상 에 중간모본으로 매우 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각 된다.

벼 약배양에서 배양 효율이 유전적 지배를 받는 것이 보고 되면서, 초기에는 식물체 재분화 능력이 핵내 유전자뿐만 아 니라 세포질의 영향을 받는 것으로 알려졌으나, 그 이후 연구 에서 핵내 유전자에 의해 재분화 능력이 좌우됨이 구체화되 었다 (Croughan and Chu 1991). 최근까지도 벼 약배양의 녹 색체 재분화 능력은 세포질의 효과가 관여한다는 보고도 있 으나 (Yan et al. 1996), 유전자의 상가적 효과와 우성효과가 높은 다수의 유전자에 의해 지배된다는 것이 연구자들의 공 통된 견해이며 (Sohn and Yang 1993; Sugimoto and Takeoka 1998), 또한 재분화 능력에 관여하는 유전자의 작용 효과는 배지의 조성에 따라 다르게 나타났다는 보고도 있다 (Sugimoto and Takeoka 1998). 본 연구에서는 캘러스 형성 률과 녹색체 재분화율에 대한 빈도분포 양상만 비교하였으므

로 배양 효율과 관련된 유전자의 상호작용 효과는 알 수 없 었으나, F₁ 및 F₂ 집단의 평균치가 양친의 평균 재분화율보다 낮게 나타나 재분화율이 낮은 것이 우성으로 추정되었고, F₂ 집단의 캘러스 형성률이나 녹색체 재분화율의 경우 평균치와 변이폭은 두 집단 간에 차이를 보였으나 이들의 빈도 분포는 다같이 연속적인 변이 양상을 보여 (Table 2, Figure 1), 캘러 스 형성과 녹색체 재분화 능력은 1~2개의 주동 유전자에 의 해 지배된다고는 보기 어렵고 상가적 효과가 높은 여러 개의 유전자가 이에 관여하는 것으로 추정되었다.

앞으로 벼 약배양에서 캘러스 형성이나 식물체 재분화율에 관여하는 유전자의 염색체상 위치와 수가 구체적으로 밝혀진 다면 약배양 기법을 이용한 품종 육성효율은 크게 향상될 것 으로 생각된다.

적 요

벼 약배양에서 식물체 재분화 능력의 품종간 차이와 유전 양식에 대해 연구한 결과는 다음과 같다. '일미벼'와 46 품종 의 녹색체 재분화율은 자포니카형이 통일형이나 인디카형보 다 높게 나타났고, 동일 품종 생태형간에도 배양 효율은 다양 한 변이폭을 나타내었다. 자포니카 품종중에서 '일미벼'와 '향남벼'는 각각 19.4%와 18.1%의 높은 재분화 능력을 나타 내었다. '밀양 23호'와 '추청벼'가 교배된 F₂ 집단의 녹색체 재분화율은 평균 6.6%로 나타났고 0~33.3% 까지 넓은 변 이폭을 가지는 연속적인 빈도 분포양상을 나타내었다. 캘러스 형성률과 식물체 재분화 능력에 대해 추정된 광의의 유전력 은 각각 72.8%와 82.7%로 추정되었다.

인용문헌

- Chung GS, Sohn JK (1986) Application of anther culture techniques to rice improvement. Research Report Yeongnam Crop Experimental Station, Rural Development Administration, Korea, Milyang, pp 277-286
- Chung GS, Sohn JK (1995) Anther culture technology in rice. In : Rice Management Biotechnology, Kannaiyan S (ed), Associated Publishing Co. New Delhi, pp 1-9
- Croughan TP, Chu QR (1991) Rice (*Oryza sativa* L.) : Establishment of callus culture and the regeneration of plants. In : Rice, Bajaj YPS, (ed), Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol 14, Springer-Verlag, Berlin, pp19-37
- Henry Y, Vain P, De Buyser (1994) Genetic analysis of in vitro plant tissue culture responses and regeneration capacities. Euphytica 79:45-58
- Shen JH, Li MF, Chen YQ, Zhang ZH (1982) Breeding by anther culture in rice varieties improvement. Sci Agricult Sin 2:15-19

Sohn JK, Yang SJ (1993) Genetic analysis of callus formation and plant regeneration in anther culture of rice. *Korean J Breed* **25**:102-107

Sugimoto K, Takeoka Y (1998) Genetic analysis of plant regeneration ability in anther culture of rice (*Oryza sativa* L.).

Breeding Sci **48**:115-121

Yan J, Xue Q, Zhu J (1996) Genetic studies of anther culture ability in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **45**:253-258

(접수일자 2000년 5월 18일)