

재래종 쌀보리의 형태적 특성 및 RAPD에 의한 유연 관계 분석

조원경 · 이정민 · 권무식 · 정태영*

성균관대학교 생명공학부 유전공학과

Evaluation of Morphological Characteristics and RAPD Analysis in Korean Landraces of Naked Barley

CHO, Wonkyong · LEE, Jeongmin · KWON, Moosik · CHUNG, Taeyoung

Department of Genetic Engineering, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

ABSTRACT Barley varieties collected from 1940 to 1951 all over the Korean peninsula by Dr. Takahashi Ryuhei were reintroduced from the Research Institute for Bioresources in Okayama University, Japan, and the evaluation of morphological characteristics and RAPD analysis were performed. Totally, 493 varieties of Korean barley landraces were planted in the green house, from which seeds of 491 varieties were harvested and conserved in the seedbank of the Rural Development Administration. Majority of the naked barley varieties showed dense spikes with long awn, late heading, winter habits, and long plant height. However, variants having various phenotypes such as short awn, blue aleurone color, brachytic type and waxyness were also identified. Plant height, spike length, and cold-tolerance in the varieties were also highly variable among them. Homogeneity tests on the variation of growth habits, spike density, anthocyanin pigmentation on the seed coat, and hairiness on leaf sheath between naked and covered barley showed that the variations of naked barley were similar to those of covered barley. It maybe indicate that the most of naked barley landraces were mutated from the covered barley landraces. Korean landraces of naked barley were broadly divided into 4 groups by the dendrogram produced by morphological characteristics; however, the identities of the group were rather indistinct. Many varieties, belonged to the same group, were showed different band patterns in RAPD analysis using 5 different primer sets. These results indicate that the 112 varieties of naked barley landraces were different genotypes.

Key words: Dendrogram, morphological characteristics, naked barley, RAPD analysis

서 론

보리는 겨울철 유후 농지에서 식량 또는 사료를 생산할 수 있고 월동 작물로써 한밭 및 동해 저항력 등 재해에 강한 특성을 갖고 있는 유용한 자원이다. 우리나라 보리 유전 자원은 2001년을 기준으로 외국에서 도입된 것이 10,275점, 국내 육성종이 1,585점 등 총 17,469점이 등록되어 있으나, 해방과 한국 전쟁 등 혼란한 시기를 거치는 동안 기록과 보존이 소홀하여 과거에 재배되었던 재래종 보리의 유전자원은 충실치

못한 실정이다.

최근 생명공학 분야의 연구 발전으로 지적 재산권의 보존이 강화되고 식물 신품종 보존에 관한 국제연맹 (UPOV)에서 육종가의 권리보호가 확대됨으로써 유전자원의 독점화 및 유전자원 확보의 국가 간 경쟁이 치열해지고 부존 유전 자원의 중요성이 부각되고 있다. 특히 FAO에서 결의한 식물 유전자원 규약은 유전자원 개발 이익의 배타적 주권을 갖도록 명시하였으며, 재래종과 전통지식을 배타적 주권의 범주에 포함시킴으로써 작물 재래종의 가치가 더욱 높아지고 있다. 다행히 보리 재래종 유전자원은 1940년을 전후하여 일본인들이 전국적으로 수집 분류 및 증식 보존하여 493 품종이 일본 Okayama

*Corresponding author Tel 031-290-7867 Fax 031-290-7870

E-mail chung@skku.ac.kr

대학 자원 연구소에 보존되고 있다. 본 연구는 과거 일본이 수집하여 간 재래종 보리를 2000년 11월 17일 일본으로부터 공식적으로 도입 증식하여 재래종 유전자원을 복구시킬 뿐 아니라 우량품종을 개발 할 수 있도록 육성 모본을 제공하는 것을 목적으로 자원의 중복성 유무와 유연 관계에 초점을 맞추어 각 품종의 형태적 특성과 RAPD 다양성을 분석하였다. 특히 이 논문에서는 작업의 편이성과 기호성의 차이 때문에 겉보리와 구분 재배되어 온 재래종 쌀보리 112품종의 조사성 적을 중점적으로 정리, 보고하는 바이다.

재료 및 방법

우리나라 재래종 보리는 일본의 Takahashi (高橋隆平) 박사가 1940년 전후로 전국 156개소 곡물 검사소 및 시험 연구 기관을 통하여 수집하여간 품종들을 Okayama 대학 자원 연구소 (Research Institute for Bioresources, Japan)에서 분류, 증식, 보관하던 것을 1977년 일차 도입하였으나, 증식 중 121품종이 동사하였으므로 2000년 재도입하였으며 농촌진흥청 유전자원과 비닐 온실에서 2000년 12월 7일 작물시험장 표준재배법에 의거 파종, 특성검정 및 증식하여 종자은행에 영구 보존토록 기탁하는 한편, 재래종 쌀보리 112품종의 RAPD 검정을 실시하여 유전적 다양성을 분석하였다.

재래종 보리의 특성은 작물시험장 표준조사법에 의하여 수형(Spike density), 까락의 형태 (Awn type), 엽초모용 (Leaf sheath hairness), 종피색 (Aleurone color), 과성 (Growth habits), 출수기 (Heading time) 및 초형 (Plant type)의 7가지 형태적 특성과 내한성 (Cold tolerance), 간장 (Culm length), 수장 (Spike length), 천립중 (1000grain weight), 망장 (Awn length), 소수장 (rachis-internode length), 1수립수 (grains per

spike) 형질을 조사하였다. 내한성은 2001년 11월 10일에 10개체씩 파종 및 발아시킨 뒤 3~4엽까지 포장에서 경화 재배한 후, -10°C 저온실에서 5~10일간 처리하고 포장조건에서 7일간 회복시킨 후 10개체의 평균적 반응을 조사하였다.

과성 검정은 Okayama대학에서 파종기 이동에 따른 출수기 지연 방법으로 I ~VII등급으로 분류한 성적을 인용하여 I, II 등급은 춘파, III등급은 양절형, IV등급 이상은 추파로 간주 분류하였다 (Ha 1976).

유전적 다양성에 대한 RAPD 검정은 농촌진흥청 생물자원부에서 개발한 20 base pairs (bp)의 Universal Rice Primer 12종과 10 bp primer 4종을 사용하였으나, 다양성이 잘 나타난 URP 3, 4, 5, 11 및 10mer-R primer의 RAPD 성적만을 사용하였으며, primers의 염기서열은 Table 1과 같다.

PCR 반응시, annealing temperature는 URP primer의 경우 58°C, 10 bp primer의 경우 36°C에서 PCR을 수행하였으며 성적의 분석은 농촌진흥청 생물자원부에서 사용하는 Gel Compar II, NTSYS program을 이용하였다.

결과 및 고찰

우리나라 재래종 쌀보리 품종의 다양성을 과성 (Growth

Table 1. Primers used in RAPD.

Primer name	Sequence 5' 3'
URP* 3	5' GTGTGCCATCAGTTGCTGGG 3'
URP 4	5' AGGACTCGATAACAGGCTCC 3'
URP 5	5' GGCAAGCTGGTGGGAGGTAC 3'
URP 11	5' GGACAAGAAGAGGATGTGGA 3'
R	5' CCCAAGGTCC 3'

*URP - Universal Rice Primer.

Table 2. Distributions of genotypes on growth habits, spike density, awn length, plant type, leaf sheath hairiness, aleurone color, and heading time in Korean landraces of naked barley.

Characteristics	Genotypes	Number of varieties	Expressed gene reported
Growth habits	Spring	24	<i>sh, Sh-2, Sh-3</i>
	Winter	76	
	Intermediate	12	
Spike density	Loose	46	<i>dsp1, dsp9, dsp10</i>
	Dense	66	
Awn type	Long	108	<i>lks2, lks5</i>
	Short	4	
Leaf sheath hairlines	Absent	74	<i>Hsh</i>
	Hairy	38	
Aleurone color	Blue	6	<i>ant1, ant2</i>
	Yellow	106	
	Early	9	
Earliness	Medium	46	<i>eam1, eam7, eam8, eam9, eam10</i>
	Late	57	
	Normal	102	
Plant type	Brachytic type (uzu)	10	<i>Uzu</i>

habits), 수형 (Spike density), 까락의 길이 (Awn length), 엽초 모용 (Leaf sheath hairiness), 종피색 (Aleurone color), 출수기 (Heading time) 및 초형 (plant type)의 차이로 분석하였다 (Table 2). 파성은 춘파, 추파 및 양절형으로 나눌 수 있었으며 추파 품종이 월등히 많았고, 이삭의 형태는 소수형보다는 열성인 밀수형이 많았으며, 엽초의 모용도 모용이 없는 것이 있는 것보다 많이 분포하고 있었다. 까락, 종피색, 엽초모용은 소수의 품종이 단망, 자색 및 엽초모용을 보였으며 장망, 황색 및 엽초모용이 없는 품종이 많았다. 이 결과를 재래종 곁보리 품종의 분포와 일양성을 검정한 결과 파성, 이삭형태, 엽초모용에서 곁보리의 변이와 쌀보리의 변이가 같은 것으로 나타났다. 단지 파성에서는 양절형이, 종피색에서는 자색 종피가 일양성이 없었으나 그 수는 매우 적었다 (Table 3).

우리나라 보리는 삼국시대 이전부터 재배되어오던 것으로 추정되지만 쌀보리의 기록은 1700년의 산림 경제지에 처음으로 나타나며 그 후 증보 산림 경제 (1766), 고산신서 (1771), 해동농서 (1799)에 미모로 기술되다가 과농소초 (1799), 임원 경제지 (1845)에 미모와 청과맥 (青顆麥)이 따로 기술 (Kim 1998)된 것으로 보아 1700년 이후에는 쌀보리가 재배되었을 것으로 추정되었다. 쌀보리의 특성인 과성 (hulles, naked caryopsis)은 내외영이 과실에 밀착되어 있지 않고 성숙기에 잘 분리되는 특성으로서 자연적으로 돌연변이가 잘 일어나는 열성 단인자 특성으로 밝혀져 있다 (Ha 2000). 또한 쌀보리와 곁보리 재래종에서 파성, 이삭형태, 종피색, 엽초모용 변이에 대하여 품종 분포의 일양성을 검정한 결과 (Table 3), 파성에서 중간형과 적자색 종피에서만 일양성이 없었고 다른 유전 형질에서는 같은 유전 집단으로 추정할 수가 있었다. 그러므로 우리나라 재래종 쌀보리는 대개 곁보리로부터 자연적인 돌연변이로 발생, 재배되었던 것으로 추정되나 이점에 대한 다각적인 연구 검토가 필요하다고 사료된다. 재래종 쌀보리의 내한성 정도는 저온 처리 기간이 짧을 때에는 중간 정도의 내한성 품종이 많은 것으로 나타났지만, 저온 처리 기간이 길면 내한성이 약한 4, 5등급이 많아 내한성이 약한 경향이었으

며, 중 정도의 내한성으로 분류되었던 품종들은 일부 봄에 재생되었으나 생육이 부진하고 종자 수확량이 극히 저조하였다 (Figure 1). 그러나 저온 처리 기간이 긴 처리에서도 내한성이 비교적 강한 품종도 8품종이 있어서 수원에서도 월동이 가능한 품종으로 보였다. 쌀보리 내한성 정도는 월동기간 중 -10°C 이하 온도에서 작물 체내 수분 함량 감소, 당 및 지질합량 증가로 내한력이 증가된다 (Nam et al. 1983). 또한 춘파성 보리는 내한력이 전혀 없으나 추파성 보리는 내한력이 강한 품종도 있고, 동해가 심한 품종도 있다. 따라서, 과거의 쌀보리 재배는 주로 남부지방에서 추파재배가 성행하였고 중·북부 지방에서는 한해로 추파재배가 어려웠던 것으로 생각되었으며 이러한 경향은 수집지역의 분포에서 경기, 강원, 충북, 경북 산간 지역에서 춘파성 쌀보리가 수집된 것으로 보아 이 지역에서 춘파 재배가 많았던 것과 같은 경향이라고 생각되었다 (Figure 2).

미국에서는 보리의 파성을 춘파성, 양절형 및 추파성으로 대별하고 있으나 일본, 한국에서는 추파성 정도를 7등급으로 구분하고 있다 (Ha 1976). Takahashi는 이른 봄부터 초여름까지 7~10일 간격으로 파종기를 이동하여 출수기를 조사하여 출수 촉진 한계 파종기와 좌지 한계 파종기를 고려하여 파성 I, II 등급은 춘파형, III 등급은 양절형, IV 등급 이상은 추파형으로 분류하였으며 파성과 출수조절성과는 밀접한 관계가 없다고 보고한 것 (Cho et al. 1980)와 같은 결과라고 추측되었다.

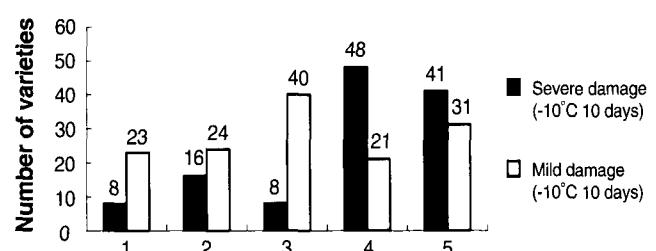


Figure 1. Distributions of winter damages in the Korean landraces of

Table 3. Distributions of genotypes on growth habits, spike density, aleurons colors and hairiness in Korean landraces of naked and covered barley.

Mutants		Number of varieties		
		Naked	Covered	X ₂
Growth habits	Spring	24	66	NS
	Winter	75	256	NS
	Intermediate	12	12	8.0**
Spike density	Loose	45	104	NS
	Dense	66	230	NS
Anthocyanin pigmentation	Blue aleurone	6	49	5.8**
	Yellow aleurone	105	285	NS
Hairy leaf-sheath	Hairs	38	129	NS
	Hairless	74	233	NS

**Significantly differences between naked and covered barley population

NSNo differences between naked and covered barley population

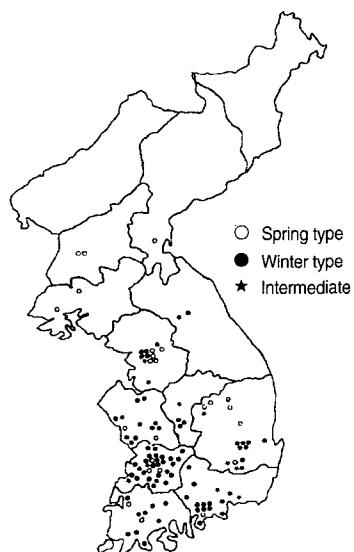


Figure 2. Collection sites of Korean landraces of naked barley.

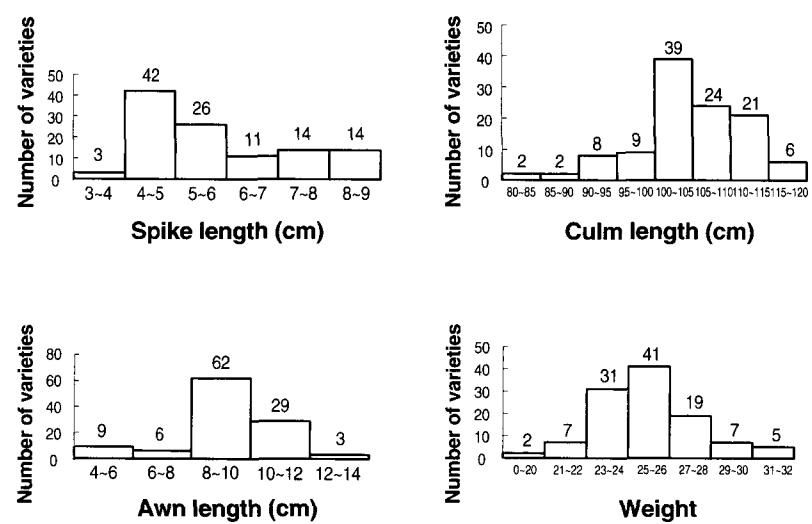


Figure 3. Distributions of culm length, spike length, awn length and 1000 grain weight in Korean landraces of naked barley.

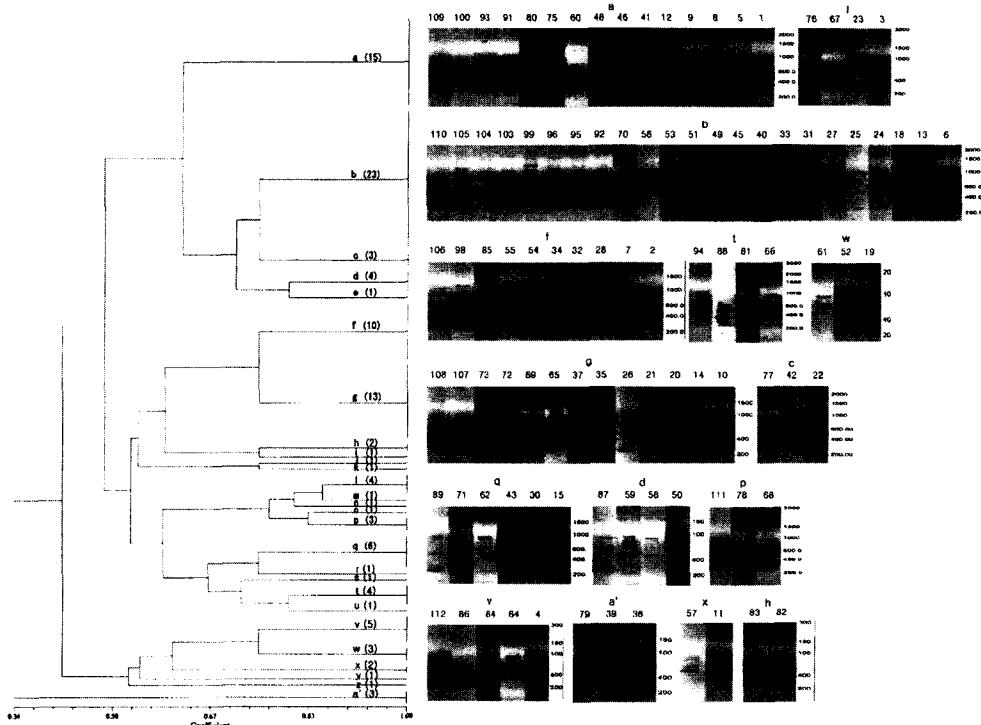


Figure 4. Dendrogram produced by morphological characteristics and RAPD variations in Korean landraces of naked barley (* Used primer : URP 4). a (15): 1-Kohungkwamaek2, 5-Pokwamaek2, 8-Kumsankwamaek2, 9-Kyemjuel, 12-Junbukkwamaek2ho, 41-Chupadongmimaek, 46-Jinandongkwa, 48-Hungdukkwamaek5, 60-Sachunkwamaek, 75-Bounkwamaek1, 80-Chupamimaek, 91-Jinankwamaek2, 93-Imsildongkwa, 100-Daegukoyangjaerae2, 109-Koyangjaerae. b (23): 6-Buan Koekwa, 13-Kwikwajunbuk53ho, 18-Namjikwikwa, 24-Youngjukwamaek1, 25-Kwikwa, 27-Janghangbaekdong, 31-Sunghwandonw1, 33-Dowon, 40-Jadaemadaek, 45-Youngkwangkwamaek1, 49-Buyongkwikwa2, 51-Dongsankwika2, 53-Suwonkwa2ho, 56-Junbukkwa4ho, 70-Salbori, 92-Jinandongkwa, 95-Junbukkwalho, 96-Junbukkwa5ho, 99-Kyongsankwika2, 103-Jaeraeyukkak, 104-Yonpokwamaek1, 105-Chunghwankwongkikwa3, 110-Midaemaek. c (3): 22-Andongkwamaek1, 42-Bumaek, 77-Hwansilkwa. d (4): 50-Kimjekwamaek3, 58-Namhaekwamaek3ho, 59-Jinkyokwamaek1, 87-Chunchangkwamaek4. f (10): 2-Chunchunkwamaek2, 7-Buyongkwamaek5, 28-Yunsankwamaek3, 32-Hongsungjaerae, 34-Bounkwamaek4, 54-Jangsudongkwa, 55-Youngwolchukwa, 85-Koksungkwamaek4, 98-Jinjukwa, 106-Jamaek156ho. g (13): 10-Chusi36ho, 14-Tongyoungkwamaek2, 20-Kuchangjaerae, 21-Daegukwamaek3, 26-Koyangjaerae, 35-Kwangjuyukkokmaek, 37-Chulwonkwamaek1, 65-Kyongsansuwon1ho, 69-Jaeraekwa, 72-Sunghwankwamaek2, 73-Sangsalbori, 107-Bounkwamaek3, 108-Baedong38ho. h (2): 82-Janghamkwamaek2, 83-Youngamjukha1. i (4): 3-Hakkyokwamaek4, 23-Jumchonkwamaek3, 67-Yechunkwamaek, 76-Ichonkwamaek. p (3): 68-Youngjukwamaek2, 78-Jaeraebaekpi, 111-Chunpachunmaek7ho. q (6): 15-Hadongkwamaek3, 30-Chungyangbaekdong2, 43-Hakkyokwamaek1, 62-Mulkumkwamaek1, 71-Daeckunkwamaek4, 89-Baeksankwamaek. t (4): 66-Daegusalbori1, 81-Jungkanmimaek, 88-Mankyongkwamaek3, 94-Jewondongkwa. v (5): 4-Buan Salbori, 64-Chungmaek, 84-Hakkyokwamaek3, 86-Chungmaek, 112-Chosunbaekkwa. w (3): 19-Milyangkwamaek3, 52-Kumsankwamaek3, 61-Kupokwamaek6. x (2): 11-Kumsanjaerae, 57-Youngchung3348ho. a' (3): 38-Jaeraebaekwa, 39-Omyosasuk2ho, 79-Jaeraebaekwa

쌀보리 재래종에 대한 양적 형질 특성의 품종 분포를 보면 (Figure 3) 간장에서는 80 cm부터 120 cm까지 다양한 분포를 보였으며 100~105 cm의 간장을 갖는 품종이 가장 많았다. 비교적 간장이 짧은 품종들은 uzu 유전자가 없는 품종도 비교적 짧은 것이 있어 uzu 유전자 이외에도 단간을 나타내는 유전자가 있는 것으로 추측되었다. 수장은 4~6 cm 정도 되는 밀수형 품종이 많았으며 28품종은 7 cm 이상인 소수형이였다. 밀수형은 소수형에 대하여 열성 단인자를 나타내는 형질로서 *dsp1*, *dsp9*, *dsp10* 유전자가 보고되고 있으며 (Ha 2000), 이러한 열성 유전자가 수장을 짧게 한 것으로 추측되나 실제 수장의 장단은 재배 환경에 영향이 커서 수밀도와 일치하지 않는 품종도 많이 있는 것으로 나타났다. 천립중은 20 g에서 32 g까지의 변이를 보였으나, 정규분포를 하고 있고 변이간의 차이가 품종간 차이인지, 재배환경 차이인지 명확히 못하였다.

Figure 4는 유전적으로 비교적 단순한 파성, 수형, 망형태, 염초모용, 종피색, 출수기 및 초형을 가지고 dendrogram을 작성한 결과이다. 재래종 쌀보리는 대체로 4군으로 대별되었고, 27 세부 군으로 나누어졌으나 제c군에 춘파성 품종이 구분된 것 외에는 군별 특별한 차이는 발견할 수가 없었다. 또한 27 개 세부군에는 많은 품종들이 같은 것으로 분류되었으나 이들간에 형태적 특성차이가 현저하여 같은 품종으로 볼 수 없었다.

Figure 4에서 전기 영동 사진은 제 1군부터 27군까지로 분

류된 품종들에서 2개 이상이 같은 품종으로 분류된 품종들을 URP4를 사용하여 분석한 RAPD결과이다. URP 3, 4, 5, 11, R 을 모두 사용하여 RAPD를 분석하였으나 이들 결과도 URP4 와 같이 군별 품종간에 다양한 DNA band 차이를 보여 품종들이 유전적으로 상이한 것으로 추정되었다. 대체로 10mer primer를 사용하였을 경우 20 mer primer보다 품종간 DNA band 차이가 적게 나타나면서 반복 실험에서 일률성이 낮아 신빙성이 다소 떨어지는 것으로 보였으며 URP primer 간에는 URP 4, 5가 다양한 DNA band 차이를 보여 보리 RAPD검정에 좋은 primer라고 생각되었다. Figure 5는 백동 이름으로 등록된 품종들의 RAPD결과이다. 이들 품종들도 유전적 배경이 같지 않음이 나타났다. 이외에도 동과, 귀과, 재래종 등 유사한 이름으로 수집된 것을 RAPD 검사를 실시하였으나 유사한 band를 갖고 있는 품종은 없었다 (Figure 6). 또한 수집 당시의 이름을 보면 수집 지역의 명칭을 사용하였고 같은 품종명 뒤에 번호를 붙였던 것으로 보아 여러 가지 genotype이 한 품종 속에서 혼종되었던 것을 전체적인 면에서 중복된 자원을 버리고 다양한 genotype들만을 보존하였기 때문에 같은 이름으로 등록되었던 것이 다른 genotype으로 보존되었던 것으로 추정할 수 있으나 확실한 경위는 확인할 수가 없었다.

Figure 7은 URP primer5로 재래종 쌀보리 전부를 RAPD한 결과이다. DNA band는 180 bp부터 1,100 bp까지 15개의 band 차이를 보였고, 품종간 차이가 심하였다. 따라서 이들 재래종

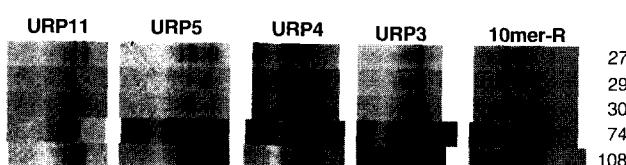


Figure 5. RAPD variations of varieties named baekdong using URP 3, 4, 5, 11, R primers. 27: Janghangbaekdong, 29: Daechunbaek-dongkwamaek1, 30: Chungyangbaekdong2, 74: Baekdong, 108: Baekdong38.

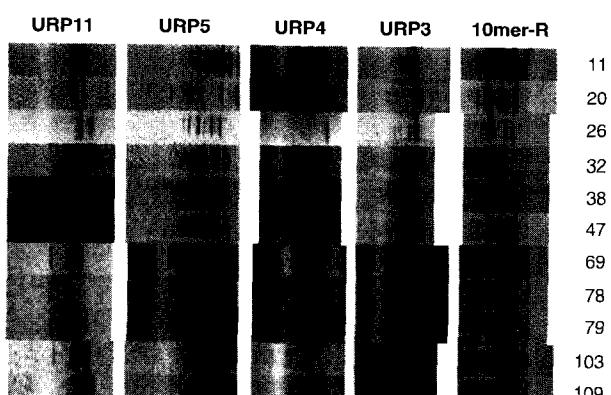


Figure 6. RAPD variations of varieties named Jaerae using URP 3, 4, 5, 11, R primers. 11: Kumsanjaerae, 20: Kuchangjaerae, 26: Koyangjaerae, 32: Hongsungaerae, 38: Jaeraebaekkwa, 47: Kumsungaerae, 69: Jaeraekwa, 78: Jaeraebaekpi, 79: Jaerae-baekkwa, 103: Jaeraeyukkak, 109: Koyangjaerae.

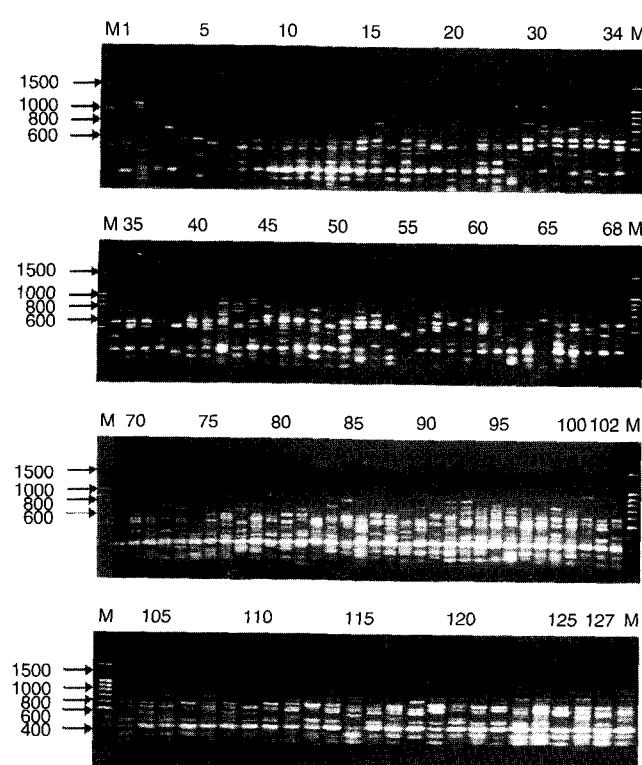


Figure 7. RAPD variations of Korean landraces of naked barley by URP primer 5.

쌀보리 112품종은 모두 유전적 차이가 있음이 확인되었다.

적  요

재래종 쌀보리 들은 주파형이며 내한성이 약하고 장간이면서 밀수, 장망으로 출수가 늦은 품종이 많았다. 그러나 파성, 내한성, 출수기, 간장, 수장의 변이가 컸으며, 내한성이 강한 품종, uzu 유전자, 찰성, 자색종피 등 다양한 유용 돌연변이를 보였다. 재래종들의 유연관계를 형태적 특성과 RAPD 분석 결과, 112품종 모두 다른 품종으로 밝혀졌으며, 재래종 쌀보리와 겉보리의 유전적 특성을 비교한 결과, 일양성이 인정되어 쌀보리 품종들이 겉보리 재래종으로부터 돌연변이 되었던 것으로 추정할 수 있었다.

사사 - 이 논문은 성균관대학교의 2000학년도 성균학술연구비에 의하여 연구되었음.

인용문헌

- Baek HJ** (1999) Periodic changes of morphological and molecular biological traits of Korean cultivated barley (*Hordeum vulgare L.*). Ph.D. thesis, Department of agronomy, Chonnam National University, Korea
- Becker J, Vos P, Kuiper M, Salamini F, Heun M** (1995) Combined mapping of AFLP and RFLP markers in barley. Mol

Gen Genet 249:65-73

- Candice C, Rouse DT, Finnegan EJ, Peacock WJ, Dennis ES** (2000) The molecular basis of vernalization: The central role of flowering locus C (FLC). Proc Natl Acad Sci USA 97:3753-3758

Chang KY (1988) Old references related to agriculture in Korea. Kinds and varieties of cereal crops (1492-1886). Korean J Breed 20:341-354

- Cho CH, Park MW, Ahn WS, Nam JH, Seong BY, Ha YW** (1980) Studies on the completion of vernalization requirement in the fall sown wheat and barley varieties at Suwon, Korea. Korean J Breed 12:156-162

Cho YC, Chung TY, Suh HS (1995) Genetic characteristics of Korean weedy rice (*Oriza sativa L.*) by RFLP analysis. Euphytica 86:103-110

Chung TY (1977) 8-Patents diallel cross analysis on heading data of Barley. Korean J Crop Sci 22:71-79

Ha YW (1976) Studies of some basic problems in barley breeding in Korea, with special reference to the geographical characters of native and commercial varieties. Kinki Chugoku Agri Res 53 (separated volume)

Kim YT (1998) Review of barley cultivation in Korean peninsular according to the old references. Korean Wheat and Barley Res 5:117-125

Lee ES, Jeong DH, Chun JE, Nam JH (1986) Effects of hulled and hullless barley isogenic lines on germination and emergence rate. Korean J Crop Sci 31:78-83

Newman PK, Newman CW (1991) Barley as a food grain. Cereal Foods Worlds 36:800-805

(접수일자 2002년 7월 31일)