

어젠다코드	3 - 3 - 1		구분	세부완결	
기술분야코드	V1	기술유형코드	S02	작목구분코드	FC-04-0401
과제종류	기관고유		과제번호	LP003430-	
과제명	배가반수체 육종효율 증진연구				
과제책임자	성명		직급	소속기관 및 부서	
	한정현		농업연구사	강원도원 옥수수연구소	
연구기간	2014 ~ 계속		참여연구기관	-	
세부과제명			부서	세부책임자	연구기간
1) 육성효율 증진을 위한 육묘방법 개선			옥수수연구소	한정현	'18~'20
색인용어	옥수수, 반수체, Doubled Haploid, 자식계통, 선발				

## ABSTRACT

Excellence of hybrid corn was revealed by Shull. Since it was revealed, production of homozygous inbred lines as parental lines of hybrids has become essential element. During the twentieth century, development of inbred lines in maize is relied on six to eight generations of recurrent selfing and selection to reach the desired level of homozygosity. Since a lot of time, labor, and cost are invested to making inbred lines, a method that can replace the traditional artificial breeding method was needed. The discovery of doubled haploid technology has emerged as an effective alternative to traditional methods. The doubled haploid technology is that induces a haploid from a diploid plant and then doubles the chromosomes to create a complete homozygous. With this technology, it is possible to create complete homozygous within 2 to 3 generations. In Korea, developing the inbred lines has been relied on traditional methods but recently Maize Research Institute secured the right to use Tails, a haploid inducer, for the first time and has been trying to establish a new system for inbred lines using doubled haploid technology. This study aims to increase the efficiency of inbred line development through doubled haploid technology by studying the chromosome doubling process and the method of improving field adaptability after doubling processing. Four populations were used to determine the doubling efficiency according to the treatment period during the chromosome doubling process. Doubling treatment was performed at 1.5 leaf stage, 2.5 leaf stage, and 3.5 leaf stage and the doubling efficiency was 17.1%, 13.5%, and 12.0% respectively. Doubling treatment earlier than 2.5 leaf period was the best. In the field adaptability test after doubling treatment, the method of second seeding after treatment showed higher doubling rate than the direct transplant method. We compared the treatment methods between immersion and injection. The doubling ratio were 13~33% and 8~9% at the immersion and injection method, so the doubling efficiency of the immersion method was higher than that of the injection method. It is thought that the efficiency of developing the doubled haploid lines can be improved through this research results.

## 1 연구목표

1908년 Shull에 의해 단교잡종 옥수수의 우수성이 밝혀진 이후 순도 99%이상의 자식계통을 육성하는 것은 옥수수 육종에 필수적인 요소가 되었다(Shull 1908). 자식계통을 육성하기 위해서는 7세대 이상 인공교배와 선발 과정이 필요하다. 자식계통을 육성하려면 많은 시간, 노동, 비용이 투입되기 때문에 전통적인 인공교배 방식을 대체할 수 있는 방법이 필요했다. 최근 배가반수체 기술의 개발은 전통적인 방식을 효과적으로 대체할 수 있는 방법으로 등장했다. 배가반수체 기술은 정상적인 2배체 식물로부터 반수체를 유도한 후 염색체를 배가시켜 순도 100%의 동형접합체를 만들 수 있는 기술로 기존의 7세대 이상 소요되는 계통육성 과정을 2~3 세대 이내에 완전한 동형접합체를 육성할 수 있어 육종기간을 3년 이내로 단축할 수 있다(Forster and Thomas, 2005; Geiger and Gordillo, 2009; Chang and Coe, 2009). 현재 배가반수체 기술은 반수체 유기체라는 것을 이용한 in vivo 방식을 사용하고 있다. 유기체는 Coe가 Stock6(유기율1~3%)를 최초로 보고 하였고 이 후 높은 반수체 유기율을 나타내며 종자 또는 유묘단계에서 반수체를 구분 할 수 있는 형태적, 생리적 마커가 도입된 유기체들이 개발되었다(이장용 등, 2014). 현재 세계적으로 이용되는 유기체들은  $R1-nj$  색소표지 유전자가 도입되어 있다(Chaikam and Prasanna 2012; Melchinger et al. 2013).  $R1-nj$  유전자는 이배체에서 종자의 호분층과 배의 배반부위에 안토시아닌이 발현되어 색이 나타나게 되는데 배에서의 착색 유무로 반수체 유무를 확인 할 수 있다. 유기된 반수체 종자는 감수분열을 일어나지 않아 생식세포를 형성하지 못하므로 임성이 없다. 반수체로부터 100% 동형접합체 개체를 만들기 위해서는 염색체를 배가하여 배가반수체를 만들어 임성을 갖게 해야 한다. 염색체 배가는 자연에서 낮은 빈도로 일어나지만 지속적이며 높은 효율의 배가를 위해서는 유사분열 억제제라는 화학물질을 처리 한다. 대표적으로 콜히친이라 불리는 화학물질을 사용하는데 콜히친은 유사 분열 중기에 베타 튜블린과 결합하여 튜블린 이량체 형성을 방해하여 미세소관 형성을 억제한다. 결과적으로 염색체가 양극으로 분리되지 않은 체 세포 중심에 머무르게 되어 염색체가 배가된 세포가 형성된다. 임성이 회복된 배가반수체 식물체를 인공교배하여 종자를 얻으면 배가 반수체 계통이 육성된다. 지금까지 국내에서는 전적으로 전통적인 방식에 의존하여 계통을 육성해 왔다. 최근 강원도농업기술원 옥수수연구소에서 국제 옥수수·밀 연구소(CIMMYT) 및 독일의 Hohenheim 대학과 계약을 통해 반수체 유기체인 Tails의 사용 권리를 확보하였고 국내 최초로 배가반수체 기술을 도입하여 계통 육성에 활용하고 있다. 본 연구에서는 배가반수체 기술을 적용함에 있어 필요한 여러 단계들 중 염색체 배가 과정과 배가 처리 후 포장 적응성 증진 방법을 연구하여 배가 반수체 기술을 통한 계통 육성의 효율성을 높이고자 한다.

## 2 재료 및 방법

### 〈제1세부과제: 육성효율 증진을 위한 육묘방법 개선〉

#### (시험 1) 염색체 배가처리 시기 구명

본 시험에는 찰옥수수 교잡종인 HW3/16유전, 종실옥수수 교잡종인 32W86/P8521, 강원30호F1,

15S6339/15S6067 등 4개의 집단을 육성하여 종자친으로 활용하였다. 화분친은 국제옥수수·밀 연구소(CIMMYT) 및 독일의 Hohenheim 대학과 계약을 통해 확보한 반수체 유기체인 Tails를 사용하였다. 유기체와 교배 후 종자친으로부터 획득한 이삭을 탈립 후 배유에만 안토시아닌 색소( $R1-n$ )가 발현되고 배에는 발현되지 않는 반수체 종자만을 선별하여 이용하였다. 염색체 배가처리 작업은 반수체 종자를 받아서 유묘단계에서 콜히친용액에 침지시켜 이루어진다. 본 연구에서는 콜히친 처리시기를 엽기별로 달리하여 처리시기별 배가된 식물체의 비율을 조사하여 배가처리 시기를 구명하고자 하였다. 시험은 강원도 홍천의 옥수수연구소 DH육묘 하우스에서 실시하였으며 콜히친 농도는 0.07%로 처리 하였다.

### (시험 2) 염색체 배가 처리 후 포장 정식 적응성 검토

본 시험에 사용한 재료는(시험 1)과 동일한 교잡종을 종자친으로 이용하였고 유기체인 Tails를 화분친으로 활용하였다. 종자친으로부터 획득한 이삭을 탈립하여 (시험 1)과 동일한 방법으로 반수체 종자를 선발 하였다. 상토가 담겨있는 128구 육묘포트에 반수체 종자를 파종 한 후 온실에서 발아 시켰으며 2.5엽기가 될 무렵 상토로부터 분리하여 흐르는 물에 뿌리를 세척하였다. 깨끗이 세척한 식물체를 투명한 용기에 옮기고 0.07%콜히친 용액을 뿌리가 잠길 정도로 넣은 후 5시간 침지시켰다. 콜히친 처리 후 식물체의 뿌리를 흐르는 물에 깨끗이 세척하였다. 이후 시험의 목적인 포장 정식 적응성 검토를 위해 배가된 식물체를 두 집단으로 나누어 한 집단은 포장에 바로 정식 하였고 나머지 한 집단은 6×6cm 지피포트에 재 육묘한 후 정식 하였다. 본 시험은 강원도 홍천의 옥수수연구소 DH육묘하우스에서 수행하였으며 정식방법에 따른 DH 육성 계통수를 조사하였다.

### (시험 3) 염색체 배가처리 효율 증진을 위한 처리방법 구명

본 시험에 사용한 재료는 찰옥수수인 조생대학찰과 흰찰F1을 교배한 집단과 종실용 옥수수인 17모 A와 P8521을 교배한 집단을 사용하였다. 콜히친을 이용한 염색체 배가 방법은 크게 침지방법과 주사 방법으로 나누어진다. 침지 방법은 반수체 종자를 포트에 육묘하여 일정 시기가 되면 뿌리를 세척 후 콜히친 용액에 침지하는 과정으로 이루어진다. 주사 방법은 반수체 종자를 육묘하여 포트상에서 일정 처리시기가 되었을 때 콜히친용액을 주사기를 이용해 생장점 부근에 주사하는 방법이다. 침지 처리 시에는 0.07% 콜히친용액을 사용하였으며 주사 처리 시에는 1.25% 콜히친용액을 사용하였다. 처리 시기는 2.5엽기로 동일하였으며 처리별 생육특성, 배가비율, 투입 비용 등을 조사하여 효율적인 처리 방법을 구명하고자 하였다. 본 시험은 강원도 홍천의 옥수수연구소 DH육묘하우스에서 수행되었다.

## 3 결과 및 고찰

### 〈제1세부과제: 육성효율 증진을 위한 육묘방법 개선〉

#### (시험 1) 염색체 배가처리 시기 구명

배가 반수체 기술을 이용한 계통육성 과정 중 반수체 식물체의 임성을 회복하여 D(0) 식물체를 획득하는 것은 필수적인 과정이다. 콜히친을 이용하여 염색체를 배가 하는 방법에 있어서는 크게 침지 방

법과 주사방법이 있으나 본 실험에서는 침지 방법을 사용하였다. 일반적인 침지방법으로는 종자를 발아시킨 후 유아가 2cm 정도 신장했을 때 유아의 선단 부분을 잘라 콜히친의 침투를 용이하게 한 후 0.04%의 콜히친 용액에 12시간 동안 침지하여 염색체를 배가하는 방법이다(Chaikam and Mahuku 2012; Prigge and Melchinger 2012).

다른 방법으로는 발아종자 단계가 아닌 반수체 종자를 파종하여 2엽기 정도까지 유묘 후 이 유묘에 콜히친을 침지하여 염색체를 배가하는 방법이 있다. 이전 연구에 따르면 유묘단계에서 콜히친 처리 시 발아종자 단계에서 보다 높은 계통육성의 효율이 나타났다. 본 연구에서는 유묘단계 중 어떤 시기에 콜히친을 처리 하였을 때 가장 높은 배가 효율이 나타나는지 구명하고자 했다. 시험은 2년간 진행되었으며 찰옥수수 계통 간 교잡종인 HW3/16유전, 종실옥수수 계통 간 교잡종인 32W86/P8521, 강원30호F1, 15S6339/15S6067 등 4개의 집단을 사용했다. 4개의 집단을 종자친으로 이용하였고 반수체 유기체인 Tails를 화분친으로 사용하여 인공교배를 실시 한 후 탈립하여 반수체 종자들을 선별하였다. 각 집단 별로 선별된 반수체 종자는 포트에 파종하였고 콜히친 처리시기를 달리하여 배가 효율 특성을 관찰했다. 결과는 표 1, 2와 같다.

표 1. 처리시기별 배가 효율 특성

집 단	처리시기(엽)	정식주(수)(A)	n개체	n개체비율(%)	수확이삭(B)	B/A비율(%)
32W86/ P8521	1.5	165	118	71.5	36	30.5
	2.5	148	95	64.2	18	18.9
	3.5	155	92	59.4	20	21.7
HW3/ 16유전자원	1.5	165	99	60.1	14	8.4
	2.5	158	82	51.9	10	6.3
	3.5	136	52	38.2	12	8.8

표 2. 처리시기별 배가 효율 특성

집 단	처리시기(엽)	정식주수(A)	교배	수확이삭(B)	B/A비율(%)
강원30F1	1.5	164	88	56	34.1
	2.5	155	89	49	31.6
	3.5	163	66	28	17.1
15S6339/ 15S6067	1.5	129	80	23	17.8
	2.5	111	64	15	13.5
	3.5	91	37	11	12.0

집단 별로 배가 효율 특성을 보면 32W86/P8521은 1.5엽기에 콜히친을 처리 하였을 때 정식주수에 대한 육성된 DH 계통수의 비율이 30.5%로 가장 높았고 3.5엽기 처리 시 21.7%, 2.5엽기 처리 시 18.9%로 나타났다. HW3/16유전자원 집단에서는 3.5엽기 처리 시 8.8%로 나타났으며 1.5 엽기 처리 시에는 8.4%, 2.5엽기 처리 시에는 6.3%로 나타났다. 강원30F1집단에서는 1.5엽기 처리 시 34.1%로 가장 높게 나타났으며 2.5엽기 처리 시 31.6%, 3.5엽기 처리 시 17.1%의 배가효율을 보였다.

15S6339/15S6067집단 에서는 1.5엽기에서 17.8%로 가장 높았으며 2.5엽기 처리 시 13.5%, 3.5엽기 처리 시 12.0% 순으로 이어졌다.

육묘일수는 1.5엽기 까지는 평균 13~14일, 2.5엽기 까지는 17일, 3.5엽기 까지는 20~21일이 소요되었다. 콜히친 처리 시 배가 효율은 집단 간에서 차이를 나타냈으며 종실용옥수수 집단에서 배가효율이 전체적으로 높았다. 반면 찰옥수수 집단에서는 배가효율이 전체적으로 낮게 나타나는 것으로 보아 배가 효율은 집단의 유전자형과도 관계가 있음을 확인했다. 종실용옥수수 집단에서는 2.5엽기 이내 처리 시 배가 효율이 가장 높았으며 3.5엽기 처리 시 보다 육묘일수 기간이 적어 콜히친 처리까지의 소요시간이 감소해 전체적인 작업시간에서도 효율적인 것을 확인 하였다.

### (시험 2) 염색체 배가처리 후 포장정식 적응성 검토

반수체 유기체와의 교배를 통해 얻어진 이삭 중 선별을 통해 반수체 종자를 획득 하였다.

반수체 식물체는 일반적으로 약하며 생물적 비 생물적 스트레스에 취약하다(Mahuku 2012).콜히친은 독성이 강한 물질로 염색체 배가 처리 시 반수체 식물체에 큰 스트레스를 가하기 때문에 온실 또는 포장에서 육묘의 고사율이 높아진다. 배가 된 식물체는 스트레스로 부터의 안정성이 필요하다. 본 연구에서는 배가 처리 후 두 가지 조건을 처리하여 배가 식물체의 DH 육성계통수 비율을 확인하여 효율적인 정식 방법에 대해 연구 하였다. 재료는 시험 1과 동일한 4개의 집단을 이용 하였고 처리 시기는 2.5엽기, 콜히친 농도는 0.07%로 동일하였으며 2년간 실험을 진행 하였다. 염색체 배가 후 정식 방법은 두 가지로 진행하였다. 배가 처리 후 곧 바로 비 가림 하우스에 정식하는 것과 배가 처리 후 일정기간 육묘 후에 비 가림 하우스에 정식하는 것으로 나누어 실험을 진행 하였으며 과정에 따른 정식 기간과 작업소요 시간은 표 3, 4와 같다.

표 3. 콜히친 처리 후 처리 과정 및 정식기간

구 분	처리 과정				정식기간 (일)
	1단계	→ 2단계	→ 3단계	→ 4단계	
처리 후 정식	1차 육묘	콜히친처리	정식	-	17
처리 후 육묘	1차 육묘	콜히친처리	2차 육묘	정식	27

표 4. 콜히친 처리 후 처리 과정 및 소요시간

구분	처리 과정				150주 정식 시간(분/4명)
	1단계	→ 2단계	→ 3단계	→ 4단계	
처리 후 정식	1차 육묘	콜히친처리	정식	-	10
처리 후 육묘	1차 육묘	콜히친처리	2차 육묘	정식	80

정식기간과 소요시간은 다음과 같다. 반수체 종자를 받아 시킨 후 2차 육묘 과정을 거치지 않고 곧 바로 정식하는 방법은 정식까지 평균 17 일이 소요되며 평균 노동시간은 4명의 인력이 투입되어 10 분이 소요되었다. 콜히친 처리 후 2차 육묘과정을 거쳐 정식하는 방법은 정식 까지 평균 27일이 소요

되었으며 2차 육묘 및 정식에 소요되는 노동시간은 4명의 인력이 투입되어 80분이 소요되었다. 다음은 처리 과정의 차이에 따른 DH육성 계통수의 비율을 확인했고 결과는 표 5, 6과 같다.

표 5. 정식방법에 따른 배가비율 특성

집 단	처리시기	정식방법	정식주수(A)	n개체	수확이삭(B)	B/A비율(%)
32W86/ P8521	2.5엽	처리 후 정식	180	108	3	1.6
		처리 후 육묘	148	95	18	12.1
HW3/ 16유전자원	2.5엽	처리 후 정식	165	59	1	0.6
		처리 후 육묘	158	82	10	6.3

표 6. 정식방법에 따른 배가비율 특성

집 단	처리시기	정식방법	정식주수(A)	교배	수확이삭(B)	B/A비율(%)
강원30F1	2.5엽	처리 후 정식	149	47	27	18.1
		처리 후 육묘	155	89	49	31.6
15S6339/ 15S6067	2.5엽	처리 후 정식	43	18	3	6.9
		처리 후 육묘	111	64	15	13.5

32W86/P8521집단에서는 처리 후 곧 바로 정식 하였을 때 정식주수에 대한 DH육성 계통수의 비율이 1.6%였으며 2차 육묘 후 정식 하였을 때는 12.1%였다. HW3/16유전자원 집단에서는 처리 후 곧 바로 정식 하였을 때 0.6% 2차 육묘를 하였을 때는 6.3%로 나타났다. 강원30F1 집단에서는 바로 정식 하였을 때 18.1% 육묘 후 정식 하였을 때는 31.6% 나타났으며 15S6339/15S6067 집단에서는 처리 후 정식 시 6.9% 육묘 후 정식 시 13.5%로 나타났다.

4집단의 결과를 보면 유전자형의 차이에 따라 배가 비율의 차이는 있으나 모든 집단에서 처리 후 육묘 과정을 거치는 것이 곧 바로 정식하는 것에 비해 정식주수에 대한 DH육성 계통수의 비율이 높게 나타났음을 확인하였다. 콜히친 처리는 반수체 식물체에 있어 스트레스를 일으킨다. 콜히친 처리 후 곧 바로 정식 하였을 때는 식물체의 뿌리가 스트레스로부터 회복되지 않은 채 정식 이 이루어지므로 식물체의 활력이 떨어진다. 2차 육묘 과정을 거치면 뿌리가 스트레스로부터 회복된 후 정식 이 이루어져 식물체의 활력을 유지할 수 있어 배가 효율도 높게 나타난 것으로 사료된다. 정식까지의 기간 및 노동시간은 2차 육묘 과정에서 높게 나타나지만 정식 후 포장 적응성이 높아 배가 효율이 높게 나타나므로 처리 후 2차육묘하는 것이 DH계통 생산에 있어 필수적이라 판단된다.

### (시험 3) 염색체 배가처리 효율 증진을 위한 처리방법 구명

본 시험에 사용된 재료는 사료용 옥수수인 17모A/P8521와 찰옥수수인 조생대학찰/흰찰F1 2개의 집단을 사용하였다. 콜히친을 이용한 배가방법은 크게 침지방법과 주사방법으로 나누어진다. 배가방법에 따라 배가효율 및 투입비용의 차이가 있으므로 어떤 배가방법이 효율적인 배가 처리 방법인지에 대해 구명하고자 했다. 침지 방법은 유묘처리와 발아종자에 처리하는 방법이 있다(Gayen et al. 1994). 이전 옥수수연구소에서 진행한 침지 방법 간 배가효율 비교 연구에 따르면 유묘처리가 발아종자 처리

시 보다 배가 효율이 높게 나타났다. 본 연구에서는 유묘처리 침지 방법을 이용하여 주사처리 방법과 배가효율을 비교 하였다.

배가 처리 방법에 따른 배가효율 특성은 표 7과 같다.

표 7. 배가 처리 방법에 따른 배가효율 특성

집단	구 분	처리 방법	
		침지	주사
17모A/P8521	정식(주)	455	423
	2주후 생존(주)	445	396
	생존주(%)	97	93
	DH 육성 계통수	61	40
	DH 육성 계통/정식주(%)	13	9
조생대학찰/흰찰F1	정식(주)	579	521
	2주후 생존(주)	578	521
	생존주(%)	99	100
	DH 육성 계통수	193	46
	DH 육성 계통/정식주(%)	33	8

17모A/P8521은 종자친으로 Tails를 화분친으로 교배하여 얻어진 이삭으로부터 탈립하여 반수체 종자를 선별하였다. 선별된 반수체 종자는 포트에 파종 후 2.5엽기까지 키워 2개의 처리구로 나누어 침지 및 주사 방법을 진행하였다. 침지 처리 후 비가림 하우스에 455주를 정식 하였고 2주 후 생존율은 97%였다. 주사 처리에서는 비가림 하우스에 423주를 정식 하였고 2주 후 생존율은 93%로 침지 처리와 주사 처리 간에 생존율의 차이는 보이지 않았다.

반수체식물이 배가되어 임성을 회복하더라도 화분의 양이 매우 적고 활력이 낮아 반복적인 인공교배 작업이 필요하다. 교배시기에 지속적인 교배작업을 통해 DH육성 계통을 수확하였다. 침지 방법에서는 61개의 계통을 수확하여 정식주수에 대한 계통수 비율이 13%였으며 주사 방법에서는 40개의 계통을 수확하여 8%의 비율을 보였다. 조생대학찰/흰찰F1을 종자친으로 활용 하였고 Tails를 화분친으로 하여 얻어진 이삭을 탈립하여 얻어진 반수체 종자를 17모A/P8521 집단과 같은 방법으로 배가시켰다. 침지 방법으로는 579주를 정식 하였으며 2주후 생존주는 578주로 99% 생존율을 나타냈으며 주사 방법에서는 521주를 정식 하였고 2주후 521주 모두 생존하여 100%의 생존율을 보였다. 이전 17모A/P8521집단과 마찬가지로 생존율에서는 차이를 보이지 않았다. 교배시기에 반복적인 인공교배 작업으로 육성계통을 수확하였다. 침지 방법에서는 578주에서 193계통을 수확하여 33%의 계통 육성율을 보였으며 주사 방법에서는 521주에서 46계통을 수확해 8%의 계통 육성율을 보였다. 콜히친 배가 비율은 집단의 유전자형에 따라 다르게 나타난다. 두 집단에서 침지방법을 통해 육성된 계통수의 비율은 13~33%로 나타났으며 주사방법을 통해 육성된 계통수의 비율은 8~9%로 나타나 배가효율은 침지방법이 주사방법보다 우수하였다. 그러나 파종부터 DH하우스에 정식할 때 까지 처리과정을 보면 침지 방법은 파종, 세척, 염색체배가, 세척, 재 육묘, 관리 및 정식의 6단계를 거친다. 주사 방법은 파종, 재 육묘, 염색체 배가, 정식의 4단계 작업만이 필요해 노동력과 시간을 절약할 수 있는 장점이 있다.

그러므로 본 연구에서는 침지 방법과 주사 방법 간 처리 방법에 따른 투입비용을 비교하고자 했다. 결과는 표 8과 같다.

표 8. 처리 방법에 따른 투입비용

방법	목표DH계통수 (주)	배가효율 (%)	필요개체수 (주)	작업시간 (h)	인건비 (원)	콜히친	
						소요량(g)	금액(원)
침지	1,000	23	4,350	40	1,620,000	7.6	1,730,000
주사	1,000	8.5	11,760	86	3,483,000	1.5	341,400

두 집단 간 침지 처리의 배가효율은 평균 23%, 주사 처리의 배가효율은 평균 8.5%로 나타났다. 이 효율을 통해 1000개의 DH계통수를 육성하기 위해 필요한 투입비용을 조사 하였다. 침지 방법에서는 반수체 식물체 4,350주를 2.5엽기에 처리 하였을 때 1,000개의 DH계통을 육성할 수 있다. 이때 발아부터 4,350주를 포장에 정식하기 까지 4명이 작업 하였을 때 40시간이 소요된다. 이를 인건비로 환산했을 때 1,620,000원이 소요된다. 침지 방법은 0.07% 콜히친을 뿌리가 잠길 정도의 깊이까지 침지 시키는데 4,350주를 배가시키기 위해서는 약 7.6g의 콜히친이 필요하다. 이때 콜히친의 비용은 1,730,000원으로 나타났다. 주사 처리 방법에서는 평균 8.5% 배가효율이 나타나므로 1,000개의 DH육성계통을 획득하기 위해서는 반수체 식물체가 11,760주가 필요하다. 발아부터 11,760주를 포장에 정식하기 까지 4명이 작업하였을 때 86시간이 소요되며 필요 인건비는 3,483,000원이다. 주사처리 방법은 1.25%의 콜히친 용액을 만들어 한 개체 당 0.1mm만을 투여하므로 콜히친 1L용액으로 10,000주를 투여 할 수 있다. 11,760주를 주사하기 위해서는 약 1.5g의 콜히친이 필요하며 비용은 341,400원이다. 주사방법은 재 육묘 과정이 필요하지 않아 작업 과정은 침지방법 보다 간단 하지만 배가 효율이 낮아 목표 DH계통수를 확보하기 위해서는 많은 반수체 종자가 필요하며 정식과정까지 많은 노동력과 인건비가 필요하다. 1,000개의 DH육성계통을 확보하기 위해서는 침지방법에서는 3,350,000원이 소요되며 주사방법에서는 3,824,400원이 소요되므로 배가효율과 투입비용을 비교 하였을 때는 침지방법이 주사방법보다 우수하였다. 하지만 이 결과는 단순히 두 집단 간에 비교를 통해 나온 결과로 표준화하기에는 무리가 있다.

또한 투입비용에는 콜히친 시약 처리비용 등 여러 항목이 존재하므로 투입비용을 비교하기 위해서는 더 많은 항목들에 대해 조사가 필요하다. 현재 결과로는 침지방법이 주사방법 보다 우수하지만 주사 방법은 콜히친량과 처리과정이 침지방법 보다 적다. 주사방법의 배가효율을 증진시키는 연구가 이루어진다면 주사방법도 매우 효율적인 배가 처리방법이 될 수 있다고 사료된다.

## 4 적 요

### <제1세부과제: 육성효율 증진을 위한 육묘방법 개선>

#### (시험 1) 염색체 배가처리 시기 구명

가. 배가반수체 기술을 이용하여 4개의 집단으로부터 반수체 종자를 유기하였음. 2년간 4개의 집단

에서 1,854개의 반수체 식물체를 유기하였으며 각 집단별로 콜히친 처리시기를 달리하여 염색체 배가작업을 진행하였음.

나. 각 집단의 유전자형에 따라 배가 비율은 상이하였으나 4개 집단에서 처리시기 별 평균 배가효율은 1.5엽기 22.7%, 2.5엽기 17.6%, 3.5엽기 14.9%로 각각 나타났음.

### (시험 2) 염색체 배가 처리 후 포장 정식 적응성 검토

가. 시험 1 과 동일한 집단을 재료로 사용하여 배가 처리 이후 포장 정식 적응성 검토를 진행하였음. 처리는 콜히친 침지 후 바로 정식하는 것과 침지 후 2차육묘 과정을 거쳐 정식하는 것으로 실시하였음.

나. 각 집단마다 처리 별 배가효율의 값은 상이하였음. 4개의 집단 간 평균 배가 효율은 콜히친 침지 후 바로 정식 하였을 때 6.8% 2차 육묘 과정을 거쳐 정식하였을 때 15.9%로 2차 육묘를 하는 것이 배가효율이 높게 나타났음.

### (시험 3) 염색체 배가처리 효율 증진을 위한 처리방법 구명

가. 염색체 배가처리하는 침지방법과 주사방법을 통해 진행하였음. 두 처리 간 효율성을 비교하기 위해 배가효율 및 투입비용을 조사하였음.

나. 배가효율은 침지방법에서 23%, 주사방법에서 8.5%로 각각 나타났음. 결과적으로 침지방법이 주사방법보다 배가효율이 높았음.

다. 투입비용은 DH계통수를 1,000주 육성할 때 필요한 비용으로 계산하였음. 침지방법에서는 3,350,000원의 비용이 발생하였고 주사방법에서는 3,824,400원으로 주사방법에서 다소 높은 투입 비용이 발생하였음.

## 5 인용문헌

- 이장용, 류시환, 박기진, 박종열, 서영호, 최재근, 김경희. 2014. 옥수수 육종에 배가반수체 기술의 이용: 이론과 실제. 강원도농업기술원. 춘천: 13~33.
- Shull GH (1908) The composition of a field of maize. *J Hered* 1:296-301.
- Forster BP, Thomas WTB(2005) Doubled haploids in genetics and plant breeding. *Plant Breed Rev.* 25: 57-88.
- Geiger HH, Gordillo GA (2009) Doubled haploids in hybrid maize breeding. *Maydica* 54: 485-499.
- Chang MT, Coe EH (2009) Doubled haploids. In: AL Kriz, BA Larkins (eds) *Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol. 63. Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement.* Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 127-142.
- Chaikam V, Prasanna BM (2012) Maternal haploid detection using anthocyanin markers. In: Prasanna BM, Chaikam V, Mahuku G (eds) *Doubled haploid technology in maize breeding: theory and practice.* CIMMYT, Mexico, DF, pp 20-23
- Melchinger AE, Schipprack W, Wurschum T et al (2013) Rapid and accurate identification of in vivo-induced haploid seeds based on oil content in maize. *Sci Rep* 3:2129

Chaikam V, Mahuku G (2012) Chromosome doubling of maternal haploids. In: B.M. Prasanna, Chaikam V, Mahuku G (eds) Doubled haploid technology in maize breeding: theory and practice. CIMMYT, Mexico, DF, pp 24-29

Prigge V, Melchinger AE (2012) Production of haploids and doubled haploids in maize. In: Loyola-Vargas VM, Ochoa-Alejo N (eds) Plant cell culture protocols. Springer, Berlin, pp 161-172

Mahuku G (2012) Putative DH seedlings: from the lab to the field. In: Prasanna BM, Chaikam V, Mahuku G (eds) Doubled haploid technology in maize breeding: theory and practice. CIMMYT, Mexico, DF, pp 30-38

Gayen P, Madan JK, Kumar R, Sarkar KR (1994) Chromosome doubling in haploids through colchicine. Maize Genet Coop Newsl 68:65

## 6 연구결과 활용

연도(연차)	활용방안	제 목
2018~9(2년)	기초자료	염색체 배가처리시기 구명
		배가처리 후 포장정식 적응성 검토
2020(3년)	기초자료	염색체 배가처리 효율 증진을 위한 처리방법 구명

## 7 연구원 편성

구 분	소 속	직 급	성 명	수행업무	참여년도		
					'18	'19	'20
과제책임자	옥수수연구소	농업연구사	최재근	과제 총괄	○	○	
		농업연구사	한정현	과제 총괄			○
1세부책임자	옥수수연구소	농업연구사	최재근	세부주관 수행	○	○	
		농업연구사	한정현	세부주관 수행			○
공동연구자	옥수수연구소	농업연구관	류시환	조사평가 지원	○	○	○
	옥수수연구소	농업연구사	최재근	조사평가 지원			○
	옥수수연구소	농업연구사	남궁민	조사평가 지원	○	○	○
	옥수수연구소	농업연구관	박종열	평가분석 지원	○	○	
	옥수수연구소	농업연구사	김문중	조사평가 지원	○	○	○
	옥수수연구소	농업연구사	한정현	조사평가 지원		○	
	옥수수연구소	농업연구관	홍대기	평가분석 지원			○
	옥수수연구소	농업연구관	함진관	평가분석 지원		○	
	옥수수연구소	농업연구관	최준근	평가분석 지원	○		