

|   |                                      |        |        |           |            |
|---|--------------------------------------|--------|--------|-----------|------------|
| 전략체계                                    | 혁신 - 3 - 1                           |        | 구분     | 완결        |            |
| 기술분야코드                                  | V1                                   | 기술유형코드 | S02    | 작목구분코드    | FC-04-0401 |
| 과제종류                                    | 공동연구                                 |        | 과제번호   | PJ016268  |            |
| 과제명                                     | 옥수수 배가반수체 기술 및 분자표지 활용 내건성 기능성 품종 개발 |        |        |           |            |
| 과제책임자                                   | 성명                                   |        | 직급     | 소속기관 및 부서 |            |
|   | 박경철                                  |        | 교수     | 강원대학교     |            |
| 연구기간                                    | 2021 ~ 2022                          |        | 참여연구기관 | -         |            |
| 세부과제명                                   |                                      |        | 부서     | 세부책임자     | 연구기간       |
| 1) 옥수수 배가반수체 기술 및 분자표지 활용 내건성 기능성 품종 개발 |                                      |        | 옥수수연구소 | 한정현       | '21~'22    |
| 색인용어                                    | 옥수수, 옥종, 내건성, 배가 반수체 옥종 기술, 분자마커     |        |        |           |            |

## ABSTRACT

Recently, the occurrence of abnormal climate frequencies is increasing due to continuous global warming, and the frequency of large and small spring droughts is increasing in Korea. Maize is known to be a crop that uses moisture efficiently due to its low transpiration ratio compared to other crops, but drought stress is a major factor in yield reduction because it reacts very sensitively to dry environments. Most of the maize cultivation environments in Korea are dependent on rainfall for water supply, making it difficult to cope with drought. Installing irrigation facilities can be a direct solution, but it is not suitable as a realistic solution because the input cost is high. In order to preemptively respond to drought, it is necessary to breed drought-resistant varieties. In this study we tried to breed drought-resistant lines by synthesizing the breeding technology of doubled haploid, molecular marker, and the results of previous studies. In order to establish a population for the selection of drought tolerant lines, doubled haploid technology was applied, and at the same time, research was conducted to improve the efficiency of doubled haploid system. Accurate selection of haploid seeds is closely related to the improvement of breeding efficiency. In practice, selecting haploid seeds through human eyes has a large variation in selection accuracy depending on the expression level of anthocyanins and the worker's experience. A fluorescent image system was used to select for anthocyanins that were expressed in such a small amount that they cannot be distinguished by visual selection. The fluorescent image system is equipped with a camera that can identify wavelengths of 400nm to 1,000nm, so it can measure the degree of anthocyanin expression at a specific wavelength. In this test, the accuracy of haploid seed selection was measured and the visually selected haploid seeds were reselected with a fluorescence image system to verify the visual selection error rate. As a result, when using

the fluorescence image system, the accuracy of selection of haploid seeds was 77.1%, which was 14.1% higher than that of visual selection, so using the fluorescence image system was judged to be a suitable method to increase the efficiency of selection of haploid seeds. In order to develop drought-resistant lines during the seedling period, we used two hybrids which were crossed between drought resistance and sensitive line. At the first population, 00hf19(S)/05S10032(R), 250 pure lines were constructed by doubled haploid and 22DHF358 which has excellent agriculture traits and drought resistance at seedling stage was selected. At the second population, 02S8027(S)/04S8077(R), 100 pure lines were established but the additional line selection is required through drought resistance evaluation at seedling stage. When the evaluation of the two populations is completed, SNPs related to seedling drought tolerance will be verified. In relation to the drought stress of maize, yield loss caused by the drought stress of the seedling period has been reported, but the most affected growing period for yield decrease is known as the reproductive growth stages. In this study we also conducted drought resistant line selection at the reproductive growth stages. In this test, 15 tolerant and susceptible lines were evaluated drought tolerance at reproductive growth stage for two years. As a result, 00hf29 which has less than 5 days of the Anthesis silking interval(ASI) and 100% ear formation was selected as a drought tolerance line at the reproductive growth stage. It is intended to be used as a resource for developing drought tolerant varieties and researching molecular markers related to drought tolerance.

## 1 연구목표

옥수수는 세계 3대 작물중 하나로 전체 생산량이 가장 많은 작물이다(McCann 2009). 옥수수는 상대적으로 다른 작물들에 비해 증산비가 적어 수분을 효율적으로 이용하는 작물로 알려졌지만 건조한 환경에 매우 민감하여 건조 스트레스에 매우 심각한 영향을 받는다(Ribaut, Betran et al. 2009). 최근 지속적인 지구온난화로 이상 기후 빈도 발생이 증가하고 있으며 국내에서는 크고 작은 봄철 가뭄의 빈도가 증가하고 있다. 봄철 가뭄은 옥수수와 같이 봄에 파종하는 작물들의 초기 생육에 피해를 주며 이는 수량성 감소의 주요인으로 작용한다. 국내 옥수수 재배 면적은 약 15,633ha로 면적 중 논 989ha, 밭 14,644ha로 밭이 차지하는 비율이 93.6%이다. 대부분 관개시설이 없는 천수답으로 기후변화로 인한 가뭄 현상에 대처하기 어렵다(국가통계포털, <http://kosis.kr>). 관개시설을 설치하는 것은 직접적인 해결책이 될 수 있으나 막대한 투입비용이 소요되므로 현실적인 해결책으로는 적합하지 않아 가뭄에 선제적으로 대응하기 위해서는 가뭄 저항성 품종육성이 필요한 실정이다.

1908년 Shull에 의해 단교잡종 옥수수의 우수성이 밝혀진 이후 자식계통을 육성하는 것은

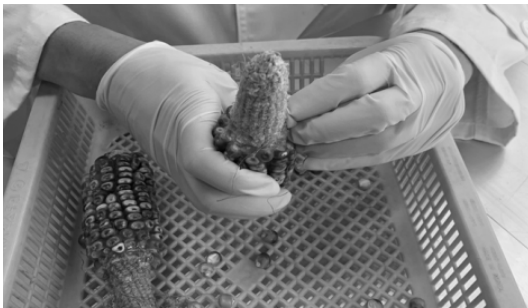
옥수수 육종에 필수적인 요소이다(Shull 1908). 자식계통을 육성하기 위해서는 7세대 이상 인공교배 및 선발 과정이 필요하다. 자식계통 육성에는 많은 투입비용이 소요되므로 전통적인 인공교배 방식을 대체할 육종방법이 요구됐다. 최근 옥수수에서 배가반수체 기술의 등장은 전통적인 방식에서 7세대 이상 소요되는 계통 육성 과정을 단 2~3세대 이내에 완전한 동형 접합체를 육성할 수 있어 육종 기간을 획기적으로 단축할 수 있다. 배가반수체 육종기술은 크게 반수체 유기, 반수체 종자 선발, 염색체 배가, 인공교배를 통한 배가반수체 종자 생산의 단계로 나눌 수 있다. 이때 반수체 종자 선발은 R1-nj유전자의 발현 여부로 판별하게 되는데 이배체에서는 종자의 호분층과 배의 배반 부위에 안토시아닌이 발현되어 색이 나타나고 반수체의 배에서는 안토시아닌이 형성되지 않으므로 반수체 유무를 확인할 수 있다. 반수체 종자를 정확하게 선발하는 것은 배가반수체 육종 효율을 증진 시키는데 있어 굉장히 중요한 부분이다. 육안으로 선발 시 거짓 양성의 비율이 높아 염색체 배가 및 인공교배단계에서 이배체를 제거하는 노력이 많고 포장을 효율적으로 사용할 수 없으므로 반수체 종자를 신속 정밀하게 선발하는 방법이 필요하다.

품종육성은 육성된 계통 간의 교배를 통해 이루어지는데 우수한 계통을 선발하는 것이 중요하다. 지금까지 계통 선발은 육종가의 경험에 의존하였다. 최근 분자생물학적 기술의 발전으로 분자 마커를 이용하여 작물을 선발하는 MAS 기술이 개발되었다(Fraley et al., 1983; Herrera-Estrella et al., 1983). 분자 마커 중 SNP는 유전자상에 가장 풍부하게 존재하며 DNA의 염기 서열의 단일 위치에서 발생하는 변이를 말한다. 자동화된 high-throughput 유전자형 분석이 가능하며 작물의 유전자 연구 및 분자 육종을 위해 다양한 기술 플랫폼을 이용하는 여러 분석 옵션에 적용이 가능한 장점이 있다. 선행연구를 통해 유묘기 내건성 계통 및 감수성 계통을 선발하여 SNP 분석을 진행해 분류 계통 사이에 차이가 나며 아미노산 염기서열을 변화시키는 Asynonymous SNP들을 1차 선발했다. 선발된 SNP 중에서 비생물적 스트레스 반응에 관여하는 유전자에 속하는 SNP를 최종 선발하였다. 본 연구는 선행연구로 찾아낸 유묘기 내건성 SNP 마커를 검증하고자 배가반수체 육종방법을 이용하여 검증 집단을 구축하고, 배가반수체 육종 효율을 증진시키기 위해 반수체 종자 선발 효율성을 높이고자 하였다. 추가로 생식생장기 내건성 평가를 진행하여 내건성 계통을 선발하고 육종 소재 및 생식생장기 내건성 관련 유전자 탐색을 위한 자원으로 활용하고자 하였다.

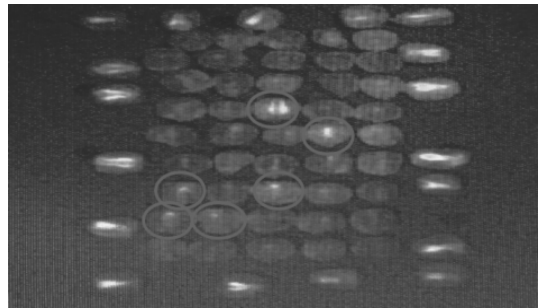
### 〈제1세부과제: 옥수수 배가반수체 기술 및 분자표지 활용 내건성 기능성 품종 개발〉

#### (시험 1) 반수체 종자 선발 효율성 향상 기술 개발

본 연구는 육안으로 선발된 반수체 유기 종자 1,130립을 형광이미지분석 장치로 재선별 후 발생하는 반수체, 이배체 비율을 조사하여 장치의 정확성을 측정하였다. 육안 반수체 종자 선발 방법은 안토시아닌 색소 표지(R1-Navajo)를 활용하였다. 유기체에 의해 반수체 유기가 성공적으로 이루어지면 반수체 종자의 배에는 안토시아닌이 발현되지 않고 배유에만 안토시아닌이 발현된다. 이배체는 배와 배유에 모두 안토시아닌이 발현되므로 종자를 육안으로 구별할 수 있다. 형광이미지분석 선발방법은 400~1,000nm 범위의 파장대역을 감지하는 카메라를 사용하였다. 안토시아닌이 발현되면 형광을 띄므로 배와 배유의 형광 유무를 확인하여 선발하였다. 형광이미지분석으로 선발된 반수체 종자가 실제 반수체 식물체인지 확인하기 위해 종자를 발아시켰고 2엽기경 0.07%콜히친에 5시간 침지하여 염색체를 배가한 후 옥수수연구소 DH육묘시설에 정식하였다. 반수체 식물체는 직립형 잎을 보이며 주경 수, 화분량, 자수 등이 이배체 보다 작거나 적고 반수체 식물체에서 생성된 종자는 안토시아닌이 형성되지 않는 표현형적인 차이를 보인다. 이를 통해 생육과정 중 발생하는 이배체 개체를 제거하여 선발된 반수체 종자와 실제 반수체 식물체 비율을 측정하였다.



육안 선발



형광분석 장치를 활용한 종자 선발

(그림 1) 반수체 종자 선발방법



이배체 선발(출웅전)



이배체 선발(출웅후)

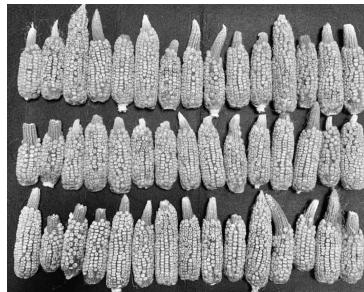
(그림 2) 이배체 개체 선발방법

## (시험 2) 배가반수체 기술과 분자마커를 활용한 건조 저항성 집단 구성 및 계통 육성

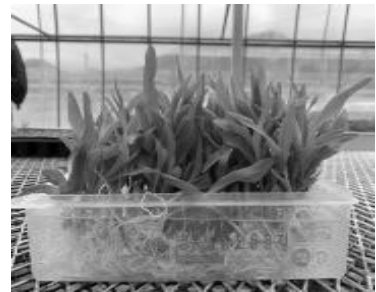
본 연구는 '21~'22년 2년간 진행되었으며 재료는 선행연구로 분류된 내건성 계통 및 감수성 계통의 교잡종을 사용하였다. 1집단은 00hf19(S)/05S10032(R)을 조합으로 한 집단으로 Tails로부터 반수체 유기까지 진행된 종자를 활용하였다. '21년도 00hf19/05S10032 조합의 배가반수체 집단 구축을 위해 반수체 종자는 육묘포트에 파종 한 후 온실에서 발아시켰으며 2.5엽기가 될 무렵 상토로부터 분리하여 흐르는 물에 뿌리를 세척하여 0.07% 콜히친 용액에 5시간 침지시켰다. 콜히친 처리 후 6×6cm 지피포트에 육묘하여 DH시설에 정식하였다. 정식 후 인공교배를 진행하여 최종적으로 순계100% 건조형질 관련 계통을 250개 육성하였다. 2년차에는 육성된 250계통을 포장에 정식하여 생육조사 및 종자증식을 진행하였으며 종자 사용이 가능한 48계통에 대해서 유묘기 내건성 계통 평가를 진행하였다. 내건성 계통 평가는 40구 포트에 각 계통을 대조구와 실험구로 나누어 7립씩 파종했으며 생육이 좋은것만을 솟아내어 계통마다 대조구, 실험구 각각 5개체씩을 활용하였다. 파종 후 3엽기까지 일정량의 수분을 공급하였고 3엽기부터 6일간 단수 후 재관수하여 생존율을 측정하였다. 2집단인 02S8072/04S8077집단 구축을 위해 21년도 Tails와 교배하여 반수체를 유기하였고 22년도 반수체 종자 선발, 염색체 배가, 인공교배 등 일련의 과정을 거쳐 배가반수체 집단을 구축하였다.



Tails 교배



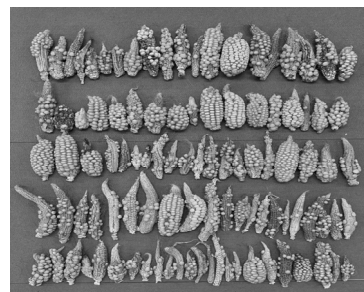
반수체 선발



염색체 배가



인공 교배

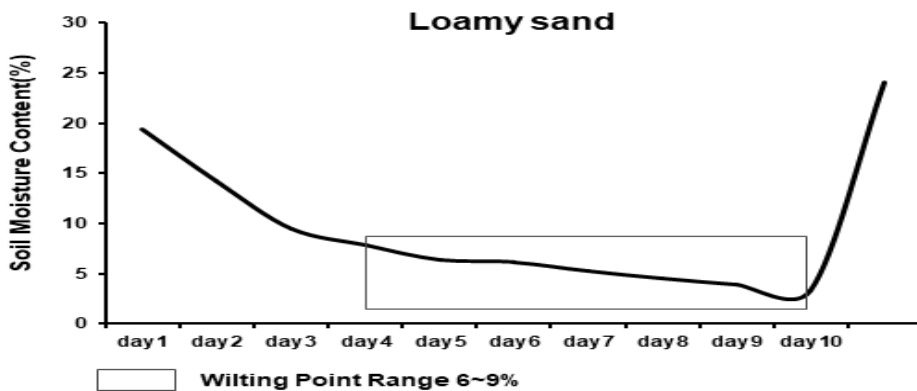


계통 육성

(그림 3) 배가반수체 육종과정

### (시험 3) 생식생장기 건조 저항성 검정 평가

본 연구는 선행연구로 분류된 옥수수 유묘기 건조 저항성 및 감수성 계통 15개에 대해 생식생장기 건조 저항성을 평가하여 유묘기 건조 저항성과의 연관성을 조사하고자 '21~'22년 2년간 시험을 진행하였다. 외부 환경으로부터 유입되는 수분을 억제하기 위해 비가림하우스 시설에서 진행하였다. 식물체는 균일적인 데이터 수집을 위해 대조구, 실험구 각각 15립씩 파종하여 생육이 왕성하고 균일한 개체만 골라 1개의 화분에 1개체씩 정식하였고 각 계통마다 대조구와 실험구는 5개체씩 사용하였다. 실험구의 처리는 출용 이전에 응수가 잡힐 무렵 단수하였으며 대조구는 전 생육기간 일정 수분을 공급하여 건조스트레스에 노출되지 않았다. 그 외의 모든 재배법은 표준재배법을 적용하였다. 처리 이전까지 수분스트레스에 노출되지 않게 하기 위해 화분 위에 점적호스를 설치하여 매일 일정한 양의 물을 공급하였다. 건조 정도를 확인하기 위해 호보가 설치된 화분에 관수 후 일정 기간 단수하여 수분함량을 조사하였다. 내건성 평가는 형태생리학적 형질을 조사하여 평가하였으며 조사항목으로 상대적수분함량, 엽록소함량, ASI(anthesis silking interval), 이삭중, 초장을 조사하였다. 상대적수분함량은 단수 10일 째 실험구, 대조구 식물체 최상위 다음으로 전개된 잎을 채취하여 생 중량(FW)을 측정된 다음 물이 담긴 페트리디쉬에 24시간 담근 후 물기를 제거하여 포화중량(TW)을 측정하였다. 이 후 70℃ 설정된 건조기에 48시간 동안 건조 후 잎의 건물중량(DW)을 측정하여 다음과 같은 식으로 계산하였다. 상대적수분함량  $RWC(\%) = (FW - DW) / (TW - DW) \times 100$  엽록소함량은 단수 10일 째 실험구, 대조구 식물체 최상위 다음 전개 잎을 엽록소 측정기(SPAD-502 Plus, Konica Minolta, Inc, Japan)를 이용해 잎의 상단, 중단, 하단 부위를 측정된 값의 평균치를 조사하였다. 출용 출사기의 간격인 ASI 및 옥수수 초장은 농업 과학기술 연구 조사 분석 기준에 명시되어있는 조사 기준에 따라 각 계통별 실험구, 대조구의 출용일수, 출사일수를 측정된 평균값의 차이를 계산하였고 이삭중은 이삭의 무게를 측정하여 평균값을 계산하였다. 결과는 ASI가 5일 이내이며 조사항목에 대해 대조구와 실험구의 값에서 유의한 차이를 보이지 않는 계통을 최종 선발하였다.



단수 기간동안의 토양수분함량 변화

(그림 4) 토양수분함량 변화량

### <제1세부과제: 옥수수 배가반수체 기술 및 분자표지 활용 내건성 기능성 품종 개발>

#### (시험 1) 반수체 종자 선발 효율성 향상 기술 개발

옥수수 배가반수체 육종 기술을 활용한 계통육성은 크게 4가지 단계인 반수체 유기, 반수체 종자 선발, 염색체 배가, 인공교배로 이루어진다. 배가반수체 육종 효율을 증진시키기 위해서는 유기율이 높은 유기체, 반수체 종자 선발의 높은 정확성이 요구된다. 관행적인 방법인 육안 선발 방법은 표현형적 표지인 R1-nj 색소에 의한 안토시아닌 발현 여부로 반수체 종자를 선발한다. 반수체 종자의 배에는 안토시아닌이 형성되지 않고 배유에만 안토시아닌이 형성되므로 육안 선발이 가능하나 배에 희미하게 발현되는 안토시아닌을 사람의 눈으로 감지하기 어려워 거짓양성 비율이 높다. 육안 선발은 선발자의 경험 및 실력에 따라 정확도의 오차가 크므로 정확도를 높이고 오차를 줄일 수 있는 방법이 요구됐다. 본 연구는 안토시아닌이 특정 파장대에서 형광으로 발현되는 원리를 이용하였다. 육안으로 선발된 반수체 종자를 형광분석장치로 재선별하여 실제 육안 선발의 오차율 및 형광분석장치의 반수체 종자 선발 정확도를 2년간 측정하였고 결과는 아래와 같다.

<표 1> 형광이미지시스템 활용 반수체 종자 판별 결과

| 형광 선발('21)      | 출사 후  |      |    | 수확 전  |        |       | 수확 후  |      |
|-----------------|-------|------|----|-------|--------|-------|-------|------|
|                 | 2n(주) | n(주) | 고사 | 교배(n) | 무교배(n) | 임성(n) | 불임(n) | 2n이삭 |
| 정식주수(n)<br>350주 | 50    | 288  | 12 | 232   | 56     | 144   | 70    | 18   |
| 정식주수(2n)<br>26주 | 20    | 6    | -  | 5     | 1      | 5     | -     | -    |

'21년도 형광이미지시스템 정확도 측정을 위해 육안으로 선발된 반수체 유기종자 630립을 사용하였다. 반수체 식물체를 확인하기 위해서는 일련의 생육과정부터 수확 후 이삭의 안토시아닌 여부를 확인해야 한다. 반수체 식물체는 임성이 없으므로 종자를 수확하기 위해서는 임성을 회복해야 한다. 630립을 받아 시킨 후 2.5엽기가 되었을 때 임성회복을 위해 0.07%콜히친에 5시간 침지 후 원형지피포트에 재육묘 하여 정식하였다. 정식 과정에서 독성물질인 콜히친 침지에 의해 254개체가 고사하였다. 이때 형광장치로 n으로 판별된 개체가 350주였으며 2n으로 판별된 개체는 26주였다. 정식 이후 초기 생육단계를 지나 이배체 식물체와의 표현형적 차이가 뚜렷한 시점인 출사 이후부터 이배체 개체의 비율을 조사하였다. 1차 조사 결과 형광시스템에서 반수체라고 판별한 350개의 종자 중 50개체는 이배체로 판별되어 제거하였다. 반수체 식물체라고 추정된 288개체는 인공교배를 실시하였고 288개체 중 232개체는 교배가 가능 하였으나 56개체는 출사지연, 응수불량등의 이유로 교배가 되지 않았다. 이배체의 경우 출용, 출사 간격이

4일 이내이므로 정상적인 교배가 가능하나 반수체인 경우 콜히친에 의해 정상적으로 염색체가 배가되지 않은 경우 임성이 회복되지 않아 교배가 불가하였다. 이러한 경우는 반수체 식물체로 판별하였다. 교배가 이루어진 232개체를 수확하여 조사한 결과 18개의 이삭에서는 안토시아닌 색소가 발현되어 이배체로 판별하였고 144개체는 안토시아닌이 발현되지 않아 반수체로 판별하였다. 70개의 이삭은 알곡이 형성되지 않았는데 이는 마찬가지로 반수체 식물체가 임성을 회복하지 못해 종자를 생산하지 못한 것으로 반수체로 판별하였다. 형광이미지시스템으로 반수체 종자를 재선발하여 이배체라 판별된 종자 중 정식된 개체는 26주였다. 26주 중 생육 과정에서 반수체의 표현형을 보이는 개체는 6개체였다. 6개체 중 5개체가 교배 되었으며 최종적으로 안토시아닌이 없는 이삭을 수확하여 6개체 모두 반수체로 판별하였다. 1년차 시험 결과는 아래의 표와 같다.

<표 2> 육안 선별 반수체 종자 판별 결과

| 육안 선별(21)       | 출사 후  |      |    | 수확 전  |        | 수확 후  |       |    |
|-----------------|-------|------|----|-------|--------|-------|-------|----|
|                 | 2n(주) | n(주) | 고사 | 교배(n) | 무교배(n) | 임성(n) | 불임(n) | 2n |
| 정식주수(n)<br>376주 | 70    | 294  | 12 | 238   | 57     | 149   | 70    | 18 |

<표 3> 방법 별 반수체 종자 선별 정확도 결과

| 집 단(21)         | 구분 | 정식주수 | 수확 전<br>n주수(a) | 수확 후<br>2n 이삭(b) | n 개체<br>(a-b) | n비율<br>(n/정식주수) |
|-----------------|----|------|----------------|------------------|---------------|-----------------|
| 00hf19/05S10032 | 형광 | 350  | 288            | 18               | 270           | 77.1%           |
|                 | 육안 | 376  | 294            | 18               | 276           | 73.4%           |

육안으로 선별된 반수체 종자 중 시험에 사용된 개체는 376주였으며 이 중 형광으로 재선발된 종자는 반수체 350, 이배체 26주였다. 육안 선별 결과 376주 중 생육기간 및 수확 후 확인한 이배체 개체는 100주로 육안 선별 정확도는 n개체/정식주수로 계산하여 73.4%였다. 형광이미지 시스템의 반수체 종자 선별 정확도 결과는 n으로 재판별된 350주수에서 2n 식물체가 80개로 나타나 77.1%의 선별 정확도를 보였다. 1년차 결과 형광시스템에서 종자 선별 정확도가 3.7% 높게 나타났으나 육안 선별 정확도와 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 형광시스템 이용시 종자의 배부분에 안토시아닌이 형성되지 않아도 종자의 배부분의 굴곡이 미세한 형광으로 발현되어 반수체 종자 판별 기준이 명확히 이뤄지지 못한 점으로 사료된다. 2년차 시험은 육안 선발로 반수체라고 판별된 690개의 종자를 사용하였다. 이때 형광으로 재판별된 반수체 종자는 431개, 이배체 종자는 259개였다. 1년차 실험과 마찬가지로 선발된 종자가 실제 반수체 식물체인지 조사하기 위해 690개의 종자를 염색체 배가처리하여 포장에 정식하였다. 정식 이후 반수체 식물체의 표현형적 특징을 이용하여 생식생장기 이후 수확기까지 이배체 개체를 제거하였고 결과는 표 4와 같다. 형광으로 재선발된 반수체 종자 431개 중 출사 단계까지 고사한 개체는 17개였으며 2n개체는 76개체로 나타나 포장에서 1차 제거하였다. 이후 인공교배 단계에서 교배가

이루어진 개체는 202개였고 교배가 되지 않은 개체는 136개였다. 136개의 개체는 임성을 회복하지 못한 개체로 n으로 추정하였다. 교배가 이루어진 202개의 개체중 불임개체는 126개, 임성을 회복하여 수정이 이루어진 개체 중 안토시아닌이 형성되지 않아 반수체라 판별된 개체가 71개, 안토시아닌이 발현되어 이배체로 판별된 개체는 5개체였다. 형광에 의해 이배체라고 판별된 종자는 259주를 정식하였고 고사한 개체는 없었다. 이중 생육과정 중 n으로 판별된 개체는 28주였다.

<표 4> 방법 별 반수체 종자 선발 정확도 결과

| 형광 선발('22)       | 출사 후  |      |    | 수확 전  |        | 수확 후  |       |      |
|------------------|-------|------|----|-------|--------|-------|-------|------|
|                  | 2n(주) | n(주) | 고사 | 교배(n) | 무교배(n) | 임성(n) | 불임(n) | 2n이삭 |
| 정식주수(n)<br>431주  | 76    | 388  | 17 | 202   | 136    | 71    | 126   | 5    |
| 정식주수(2n)<br>259주 | 231   | 28   | -  | -     | -      | -     | -     | -    |

2년차 결과는 표 5, 6과 같다. 육안으로 선발된 반수체 종자 중 시험에 사용된 개체는 690주였으며 이 중 형광으로 재선발된 종자는 반수체 431, 이배체 259주였다. 육안 선발 결과 690주 중 생육기간 및 수확 후 확인한 이배체 개체는 329주로 육안 선발 정확도는 n개체/정식주수로 계산하여 53.0%였다. 형광이미지 시스템의 반수체 종자 선발 정확도 결과는 n으로 재판별된 431주수에서 2n 식물체가 98개로 나타나 77.2%의 선발 정확도를 보였다. 2년간 방법별 반수체 종자 선발 정확도는 육안 선발이 63%, 형광분석장치 77.1%의 정확도를 보였다. 육안선발의 결과 53 ~ 73.4%로 안토시아닌 발현정도에 따른 연차간 편차가 컸으나 형광이미지 시스템의 경우 77.1 ~ 77.2%로 연차간 변이가 적게 나타났으며 육안 선발보다 14.1% 높은 정확도를 보였다. 2년동안 형광 분석 장치를 이용하였을 때 육안 선발 시 발생하는 오류 검정 정확도를 측정하였고 결과는 다음과 같다. 1년차 육안 선발된 반수체 종자를 형광분석 장치를 활용하여 재선발하였을 때 2n으로 판별된 개체는 26주였다. 26주가 실제 2n 식물체인지 생육기간 조사하였고 결과적으로 26개체 중 20개체가 이배체로 판별되었다. 따라서 육안 선발에서 최종 확인된 2n 100개체 중 20개체는 형광분석 장치로 판별되었고 육안 선발 오류 검증도는 20%였다. 또한 형광분석 장치의 2n선발 오류율은 23%로 나타났다. 2년차에 690개의 육안 선발 반수체 종자 중 형광 장치에 의해 2n으로 재판별된 종자는 259주였으며 그 중 실제 2n으로 판별된 개체는 231개였다. 2년차 형광 분석장치의 육안 선발 오류 검증도는 70%로 나타났으며 2n선발 오류율은 10%였다. 형광 분석장치의 오류 검증도의 연차간 변이가 발생한 이유는 명확한 판별기준이 없었기 때문이라 사료되며 2년차에는 명확한 판단 기준이 정립되어 오류 검정율이 증진되었다고 판단된다. 반수체 종자 선별은 배가반수체 육종방법의 효율을 높이는데 있어 가장 중요한 단계 중 하나이다. 따라서 형광 분석장치를 활용하여 신속 정밀한 선발이 이루어진다면 육종 효율을 최대화 할 수 있다고 판단하였다.

<표 5> 육안 선발 반수체 종자 판별 결과

| 육안 선발('22)      | 출사 후  |      |    | 수확 전  |        | 수확 후  |       | 2n |
|-----------------|-------|------|----|-------|--------|-------|-------|----|
|                 | 2n(주) | n(주) | 고사 | 교배(n) | 무교배(n) | 임성(n) | 불임(n) |    |
| 정식주수(n)<br>690주 | 307   | 366  | 17 | 202   | 136    | 71    | 126   | 5  |

<표 6> 방법 별 반수체 종자 선발 정확도 결과

| 집 단('22)        | 구분 | 정식주수 | 수확 전<br>n주수(a) | 수확 후<br>2n 이삭(b) | n 개체<br>(a-b) | n비율<br>(n/정식주수) |
|-----------------|----|------|----------------|------------------|---------------|-----------------|
| 02S8072/04S8077 | 형광 | 431  | 338            | 5                | 333           | 77.2%           |
|                 | 육안 | 690  | 366            | 5                | 361           | 53.0%           |

(시험 2) 배가반수체 기술과 분자마커를 활용한 건조 저항성 집단 구성 및 계통 육성

본 시험은 선행연구로 밝혀진 유묘기 내건성 관련 SNP마커를 검증하고 SNP마커와 배가반수체 육종기술을 활용하여 유묘기 내건성 계통을 육종하는 것이다. SNP마커 검증 집단은 2개의 F<sub>1</sub> 집단을 활용하였다. 1집단(00hf19/05S10032)은 Tails 유기체로부터 반수체 유기된 집단을 사용하였다. 반수체는 임성이 없으므로 배가반수체 종자를 획득하기 위해서 염색체 배가를 진행하였고 독성 물질인 콜히친으로부터 영향을 최소화하기 위해 지피포트에 2차 육묘 후 옥수수연구소 DH시설하우스에 정식하였다. 정식 이후 옥수수 표준재배법에 따라 재배하였으며 인공교배를 통해 D<sub>0</sub> 식물체 250계통을 수확하여 순계 100% 내건성 형질 관련 집단을 구축하였다. 각 계통별 생산량은 표 7과 같으며 생성된 계통의 이삭 사진은 그림 5와 같다. 2년차 실험은 육성된 계통들의 종자 증식 및 농업형질, 유묘기 내건성을 평가하였다.

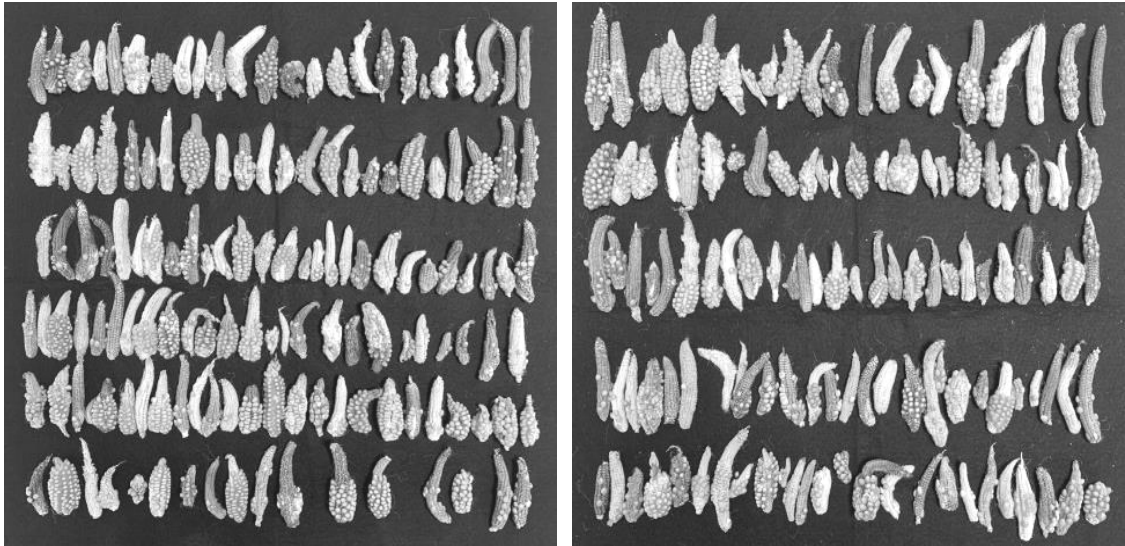
<표 7> 00hf19/05S10032 내건성 집단 종자 생산량

| 계통명    | SOURCE          | 생산량  | 계통명     | SOURCE          | 생산량  |
|--------|-----------------|------|---------|-----------------|------|
| DHD-1  | 00hf19/05S10032 | 130립 | DHD-126 | 00hf19/05S10032 | 008립 |
| DHD-2  | "               | 113립 | DHD-127 | "               | 008립 |
| DHD-3  | "               | 109립 | DHD-128 | "               | 008립 |
| DHD-4  | "               | 104립 | DHD-129 | "               | 008립 |
| DHD-5  | "               | 086립 | DHD-130 | "               | 008립 |
| DHD-6  | "               | 076립 | DHD-131 | "               | 007립 |
| DHD-7  | "               | 076립 | DHD-132 | "               | 007립 |
| DHD-8  | "               | 071립 | DHD-133 | "               | 007립 |
| DHD-9  | "               | 069립 | DHD-134 | "               | 007립 |
| DHD-10 | "               | 067립 | DHD-135 | "               | 007립 |
| DHD-11 | "               | 065립 | DHD-136 | "               | 007립 |
| DHD-12 | "               | 065립 | DHD-137 | "               | 007립 |

| 계통명    | SOURCE          | 생산량  | 계통명     | SOURCE          | 생산량  |
|--------|-----------------|------|---------|-----------------|------|
| DHD-13 | 00hf19/05S10032 | 060립 | DHD-138 | 00hf19/05S10032 | 007립 |
| DHD-14 | "               | 059립 | DHD-139 | "               | 007립 |
| DHD-15 | "               | 058립 | DHD-140 | "               | 007립 |
| DHD-16 | "               | 056립 | DHD-141 | "               | 007립 |
| DHD-17 | "               | 051립 | DHD-142 | "               | 007립 |
| DHD-18 | "               | 049립 | DHD-143 | "               | 007립 |
| DHD-19 | "               | 048립 | DHD-144 | "               | 006립 |
| DHD-20 | "               | 044립 | DHD-145 | "               | 006립 |
| DHD-21 | "               | 044립 | DHD-146 | "               | 006립 |
| DHD-22 | "               | 043립 | DHD-147 | "               | 006립 |
| DHD-23 | "               | 043립 | DHD-148 | "               | 006립 |
| DHD-24 | "               | 042립 | DHD-149 | "               | 006립 |
| DHD-25 | "               | 042립 | DHD-150 | "               | 006립 |
| DHD-26 | "               | 041립 | DHD-151 | "               | 006립 |
| DHD-27 | "               | 041립 | DHD-152 | "               | 006립 |
| DHD-28 | "               | 041립 | DHD-153 | "               | 005립 |
| DHD-29 | "               | 039립 | DHD-154 | "               | 005립 |
| DHD-30 | "               | 038립 | DHD-155 | "               | 005립 |
| DHD-31 | "               | 036립 | DHD-156 | "               | 005립 |
| DHD-32 | "               | 036립 | DHD-157 | "               | 005립 |
| DHD-33 | "               | 036립 | DHD-158 | "               | 005립 |
| DHD-34 | "               | 036립 | DHD-159 | "               | 005립 |
| DHD-35 | "               | 035립 | DHD-160 | "               | 005립 |
| DHD-36 | "               | 034립 | DHD-161 | "               | 004립 |
| DHD-37 | "               | 033립 | DHD-162 | "               | 004립 |
| DHD-38 | "               | 033립 | DHD-163 | "               | 004립 |
| DHD-39 | "               | 033립 | DHD-164 | "               | 004립 |
| DHD-40 | "               | 033립 | DHD-165 | "               | 004립 |
| DHD-41 | "               | 032립 | DHD-166 | "               | 004립 |
| DHD-42 | "               | 032립 | DHD-167 | "               | 004립 |
| DHD-43 | "               | 032립 | DHD-168 | "               | 004립 |
| DHD-44 | "               | 031립 | DHD-169 | "               | 004립 |
| DHD-45 | "               | 029립 | DHD-170 | "               | 004립 |
| DHD-46 | "               | 028립 | DHD-171 | "               | 004립 |
| DHD-47 | "               | 028립 | DHD-172 | "               | 004립 |
| DHD-48 | "               | 027립 | DHD-173 | "               | 004립 |
| DHD-49 | "               | 027립 | DHD-174 | "               | 004립 |
| DHD-50 | "               | 026립 | DHD-175 | "               | 003립 |

| 계통명    | SOURCE          | 생산량  | 계통명     | SOURCE          | 생산량  |
|--------|-----------------|------|---------|-----------------|------|
| DHD-51 | 00hf19/05S10032 | 024립 | DHD-176 | 00hf19/05S10032 | 003립 |
| DHD-52 | "               | 024립 | DHD-177 | "               | 003립 |
| DHD-53 | "               | 023립 | DHD-178 | "               | 003립 |
| DHD-54 | "               | 023립 | DHD-179 | "               | 003립 |
| DHD-55 | "               | 023립 | DHD-180 | "               | 003립 |
| DHD-56 | "               | 023립 | DHD-181 | "               | 003립 |
| DHD-57 | "               | 023립 | DHD-182 | "               | 003립 |
| DHD-58 | "               | 022립 | DHD-183 | "               | 003립 |
| DHD-59 | "               | 022립 | DHD-184 | "               | 003립 |
| DHD-60 | "               | 022립 | DHD-185 | "               | 003립 |
| DHD-61 | "               | 022립 | DHD-186 | "               | 003립 |
| DHD-62 | "               | 021립 | DHD-187 | "               | 003립 |
| DHD-63 | "               | 021립 | DHD-188 | "               | 003립 |
| DHD-64 | "               | 020립 | DHD-189 | "               | 003립 |
| DHD-65 | "               | 020립 | DHD-190 | "               | 003립 |
| DHD-66 | "               | 020립 | DHD-191 | "               | 003립 |
| DHD-67 | "               | 019립 | DHD-192 | "               | 003립 |
| DHD-68 | "               | 019립 | DHD-193 | "               | 003립 |
| DHD-69 | "               | 019립 | DHD-194 | "               | 003립 |
| DHD-70 | "               | 019립 | DHD-195 | "               | 003립 |
| DHD-71 | "               | 018립 | DHD-196 | "               | 003립 |
| DHD-72 | "               | 017립 | DHD-197 | "               | 003립 |
| DHD-73 | "               | 017립 | DHD-198 | "               | 002립 |
| DHD-74 | "               | 017립 | DHD-199 | "               | 002립 |
| DHD-75 | "               | 017립 | DHD-200 | "               | 002립 |
| DHD-76 | "               | 017립 | DHD-201 | "               | 002립 |
| DHD-77 | "               | 016립 | DHD-202 | "               | 002립 |
| DHD-78 | "               | 016립 | DHD-203 | "               | 002립 |
| DHD-79 | "               | 015립 | DHD-204 | "               | 002립 |
| DHD-80 | "               | 015립 | DHD-205 | "               | 002립 |
| DHD-81 | "               | 014립 | DHD-206 | "               | 002립 |
| DHD-82 | "               | 014립 | DHD-207 | "               | 002립 |
| DHD-83 | "               | 014립 | DHD-208 | "               | 002립 |
| DHD-84 | "               | 014립 | DHD-209 | "               | 002립 |
| DHD-85 | "               | 014립 | DHD-210 | "               | 002립 |
| DHD-86 | "               | 014립 | DHD-211 | "               | 002립 |
| DHD-87 | "               | 014립 | DHD-212 | "               | 002립 |
| DHD-88 | "               | 013립 | DHD-213 | "               | 002립 |

| 계통명     | SOURCE          | 생산량  | 계통명     | SOURCE          | 생산량  |
|---------|-----------------|------|---------|-----------------|------|
| DHD-89  | 00hf19/05S10032 | 013립 | DHD-214 | 00hf19/05S10032 | 002립 |
| DHD-90  | "               | 013립 | DHD-215 | "               | 002립 |
| DHD-91  | "               | 013립 | DHD-216 | "               | 002립 |
| DHD-92  | "               | 013립 | DHD-217 | "               | 002립 |
| DHD-93  | "               | 013립 | DHD-218 | "               | 002립 |
| DHD-94  | "               | 012립 | DHD-219 | "               | 002립 |
| DHD-95  | "               | 012립 | DHD-220 | "               | 002립 |
| DHD-96  | "               | 012립 | DHD-221 | "               | 002립 |
| DHD-97  | "               | 012립 | DHD-222 | "               | 002립 |
| DHD-98  | "               | 012립 | DHD-223 | "               | 001립 |
| DHD-99  | "               | 012립 | DHD-224 | "               | 001립 |
| DHD-100 | "               | 012립 | DHD-225 | "               | 001립 |
| DHD-101 | "               | 012립 | DHD-226 | "               | 001립 |
| DHD-102 | "               | 011립 | DHD-227 | "               | 001립 |
| DHD-103 | "               | 011립 | DHD-228 | "               | 001립 |
| DHD-104 | "               | 011립 | DHD-229 | "               | 001립 |
| DHD-105 | "               | 011립 | DHD-230 | "               | 001립 |
| DHD-106 | "               | 011립 | DHD-231 | "               | 001립 |
| DHD-107 | "               | 011립 | DHD-232 | "               | 001립 |
| DHD-108 | "               | 011립 | DHD-233 | "               | 001립 |
| DHD-109 | "               | 010립 | DHD-234 | "               | 001립 |
| DHD-110 | "               | 010립 | DHD-235 | "               | 001립 |
| DHD-111 | "               | 010립 | DHD-236 | "               | 001립 |
| DHD-112 | "               | 010립 | DHD-237 | "               | 001립 |
| DHD-113 | "               | 010립 | DHD-238 | "               | 001립 |
| DHD-114 | "               | 010립 | DHD-239 | "               | 001립 |
| DHD-115 | "               | 010립 | DHD-240 | "               | 001립 |
| DHD-116 | "               | 010립 | DHD-241 | "               | 001립 |
| DHD-117 | "               | 010립 | DHD-242 | "               | 001립 |
| DHD-118 | "               | 010립 | DHD-243 | "               | 001립 |
| DHD-119 | "               | 009립 | DHD-244 | "               | 001립 |
| DHD-120 | "               | 009립 | DHD-245 | "               | 001립 |
| DHD-121 | "               | 009립 | DHD-246 | "               | 001립 |
| DHD-122 | "               | 009립 | DHD-247 | "               | 001립 |
| DHD-123 | "               | 008립 | DHD-248 | "               | 001립 |
| DHD-124 | "               | 008립 | DHD-249 | "               | 001립 |
| DHD-125 | "               | 008립 | DHD-250 | "               | 001립 |



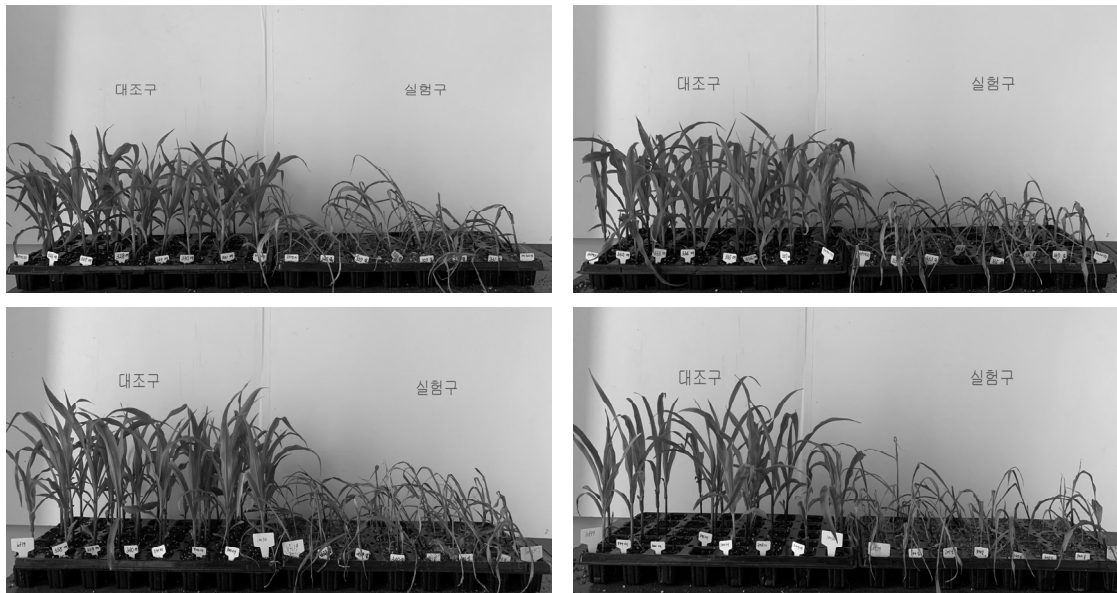
(그림 5) 배가반수체 육성 계통

2년차에 250계통으로 이루어진 내건성 DH 집단을 옥수수연구소 포장에 계통 당 최대 8주, 최소 1주 씩을 정식 하였고 계통증식 및 농업 형질 조사를 수행하였다. 재배법은 옥수수 표준 재배법에 준하였으며 조사항목은 6개로 출사일수, 도복, 깨씨무늬병, 매문병, 착수고율, 수량 특성을 조사하였다. 조사는 출사 이전 생육상황, 초형, 균일성, 출사 이후 도복, 깨씨무늬병, 매문병, 착수고율을 조사했으며 수확 후 수량특성을 조사하여 최종 20계통을 선발하였다. 선발 결과는 표 8과 같다. 선발 계통들의 출사일수는 85~91일로 나타났으며 평균 88일이였다. 선발 계통에서 도복된 개체는 보이지 않았으며 깨씨무늬 및 매문병은 다양한 지수를 보였다. 병발생이 많았던 이유는 식물체가 심긴 포장의 물빠짐이 좋지 않아 습한 환경이 조성되었기 때문이라 사료된다. 착수고율은 평균 39%였으며 g/주 생산량은 25g으로 나타났다. 유묘기 내건성 평가는 D<sub>0</sub> 식물체 특성상 많은 종자량이 형성되지 않아 종자 사용이 가능한 48계통을 대상으로 평가를 진행했으며 과정은 그림 6과 같다.

<표 8> 22DHF 선발 계통 성적

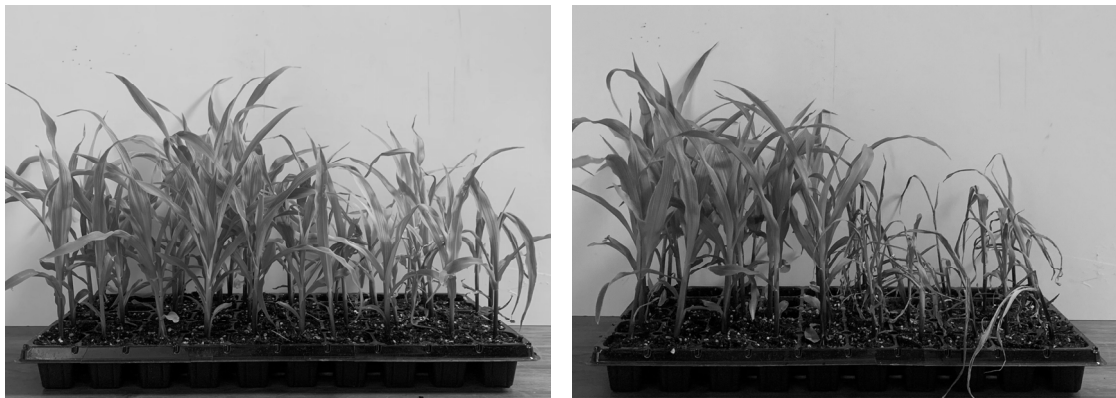
| 교잡종명     | 생육특성        |           |              |            |             | 수량특성<br>생산량<br>g/주 |
|----------|-------------|-----------|--------------|------------|-------------|--------------------|
|          | 출사일수<br>(일) | 도복<br>0-9 | 깨씨무늬병<br>0-9 | 매문병<br>0-9 | 착수고율<br>(%) |                    |
| 22DHF317 | 87          | 1         | 5            | 4          | 34.9        | 68                 |
| 22DHF331 | 87          | 1         | 4            | 2          | 38.6        | 40                 |
| 22DHF338 | 87          | 1         | 2            | 3          | 37.5        | 37                 |
| 22DHF358 | 87          | 1         | 3            | 2          | 37.4        | 49                 |
| 22DHF389 | 85          | 1         | 5            | 3          | 36.8        | 47                 |

| 교잡종명     | 생육특성        |           |              |            |             | 수량특성<br>생산량<br>g/주 |
|----------|-------------|-----------|--------------|------------|-------------|--------------------|
|          | 출사일수<br>(일) | 도복<br>0-9 | 깨씨무늬병<br>0-9 | 매문병<br>0-9 | 착수고율<br>(%) |                    |
| 22DHF392 | 87          | 1         | 5            | 2          | 17.3        | 30                 |
| 22DHF393 | 91          | 1         | 4            | 2          | 40.5        | 40                 |
| 22DHF394 | 87          | 1         | 5            | 2          | 40.7        | 44                 |
| 22DHF399 | 87          | 1         | 5            | 3          | 43.1        | 60                 |
| 22DHF404 | 87          | 1         | 5            | 4          | 31.0        | 52                 |
| 22DHF406 | 87          | 1         | 4            | 3          | 34.7        | 46                 |
| 22DHF409 | 85          | 1         | 4            | 3          | 38.5        | 37                 |
| 22DHF410 | 87          | 1         | 4            | 2          | 41.3        | 58                 |
| 22DHF435 | 85          | 1         | 5            | 2          | 27.4        | 27                 |
| 22DHF460 | 87          | 1         | 4            | 3          | 43.9        | 86                 |
| 22DHF469 | 89          | 1         | 0            | 3          | 29.1        | 8                  |
| 22DHF500 | 89          | 1         | 3            | 2          | 38.2        | 23                 |
| 22DHF523 | 91          | 1         | 4            | 2          | 37.9        | 50                 |
| 22DHF533 | 87          | 1         | 4            | 4          | 37.2        | 66                 |
| 22DHF542 | 87          | 1         | 3            | 4          | 38.0        | 47                 |
| 전체 평균    | 88          | 1         | 5            | 4          | 39.0        | 25                 |



(그림 6) 유묘기 내건성 평가

유묘기 내건성 평가는 50구 포트에 각 계통마다 대조구와 실험구를 5개체씩 사용하였으며 균일성을 위해 10개체를 파종하여 생육이 우수한 5개체를 사용하였다. 시험은 3엽기 전까지 일정량의 수분을 공급하였고 3엽기부터 6일간 단수하였다. 단수 이후 식물체의 잎이 말리고 줄기가 꺾여 건조에 의한 고사가 진행되어 건조스트레스가 발생했음을 확인하였다. 단수는 6일간 진행하였고 재관수하여 식물체의 회복율을 측정하였다. 결과는 그림 7과 같다. DHF325, 330, 358, 359, 361 5계통은 처리 후 100% 회복율을 보였으며 대조구와 유의한 차이를 보이지 않아 내건성 계통으로 평가하였다. DHF318, 326, 339, 341, 355 5계통은 말린잎과 꺾인 줄기가 회복되지 않고 고사하여 감수성 계통으로 평가하였다. 결과적으로 농업형질 및 유묘기 내건성 우수 계통으로 평가된 22DHF358을 최종 선발하였다. 유묘기 내건성 평가는 48계통만 사용되었으므로 202계통에 대해 추가적인 유묘기 내건성 평가와 농업형질의 반복적인 조사가 필요하다. 202계통에 대해 유묘기 내건성 평가가 완료되면 건조 저항성 계통을 대상으로 선행연구로 밝혀진 SNP marker 존재 여부를 통해 실제 SNP marker가 유묘기 내건성 계통을 선발할 수 있는 marker인지 검증단계가 필요하다.



내건성 계통

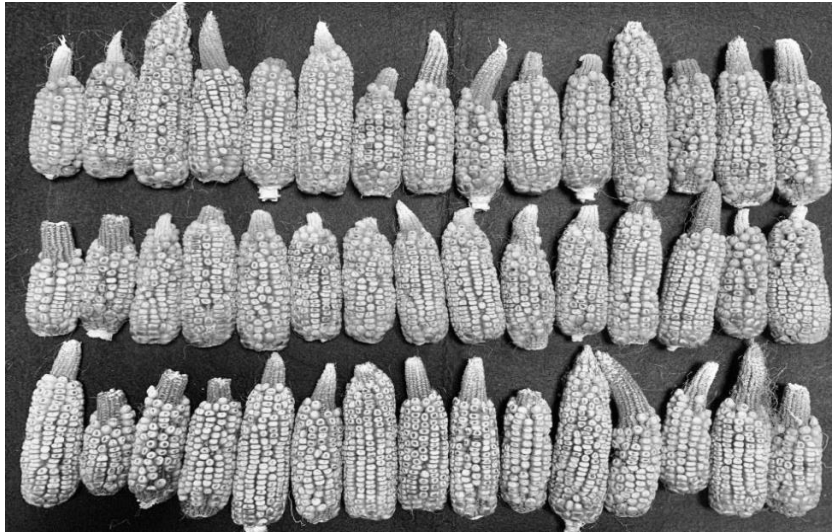
감수성 계통

[그림 7] 유묘기 내건성 평가 결과

다음 2집단인 (02S8072/04S8077)의 마커 검증을 위한 집단구축 과정은 1년차 Tails와의 교배를 통해 반수체를 유기하였다. 반수체 유기 결과는 표 9와 같고 반수체 유기 이삭 사진은 그림 8과 같다. Tails와 교배하여 245개의 이삭을 수확하였으며 탈립 후 반수체 종자를 선별하여 이배체 종자 18.1kg, 반수체 종자 2.3kg, 미확인 종자 432g을 수확하였다.

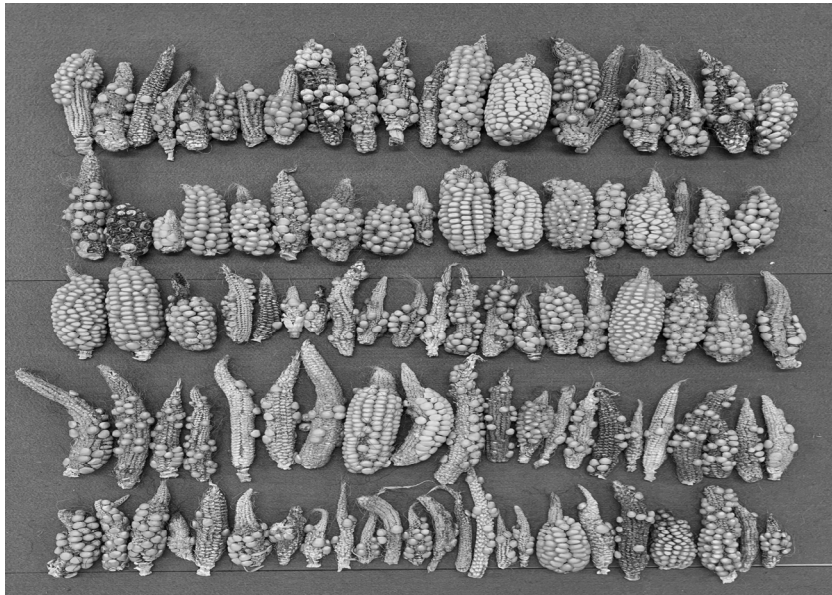
<표 9> 02S8072/04S8077 반수체 유기 결과

| 집단              | 이삭 수(개) | 2n 종자(kg) | n 종자(kg) | 미확인 종자(g) | 계(kg) |
|-----------------|---------|-----------|----------|-----------|-------|
| 02S8072/04S8077 | 245     | 18.1      | 2.3      | 432       | 20.8  |



(그림 8) 반수체 유기 이삭 사진

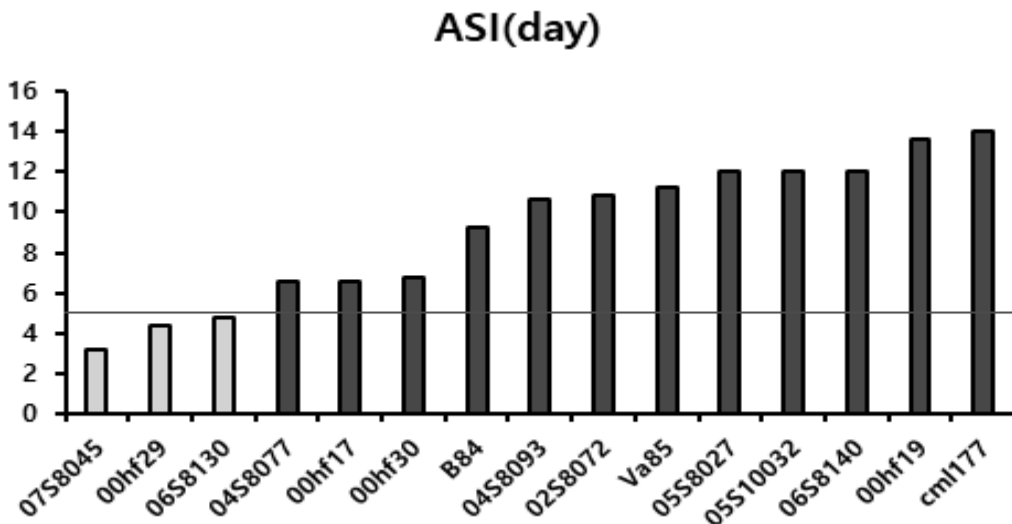
2년차에는 순계집단을 구축하였다. 반수체는 임성이 없으므로 배가반수체 종자를 획득하기 위해서 염색체 배가를 진행하였고 독성 물질인 콜히친으로부터 영향을 최소화하기 위해 지피포트에 2차 육묘 후 옥수수연구소 DH시설하우스에 정식하였다. 정식 이후 옥수수 표준재배법에 따라 재배하였으며 인공교배를 통해 D<sub>0</sub> 식물체 100계통을 수확하여 순계 100% 내건성 형질 관련 집단을 구축하였고 육성 계통 사진은 그림 9와 같다. 제 2 집단은 1집단과 같은 방법으로 유묘기 내건성 계통 선발이 필요하다.



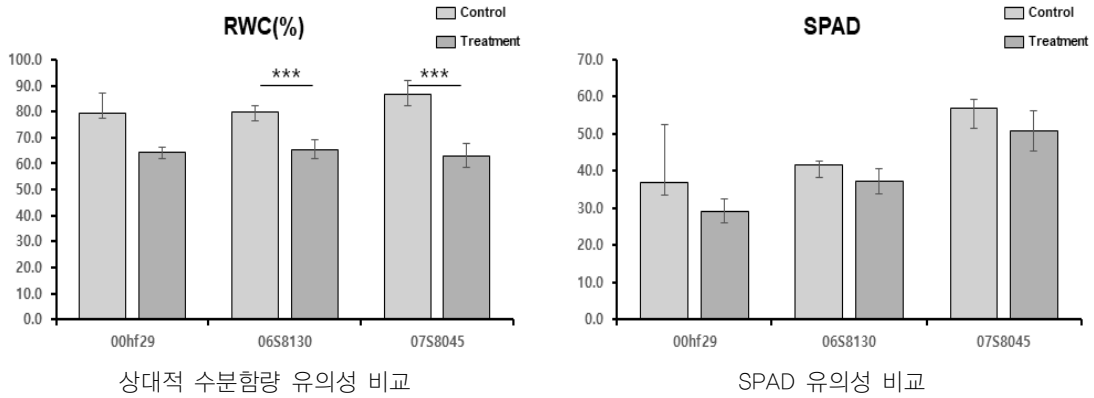
(그림 9) 02S8072/04S8077 배가반수체 집단 계통

### (시험 3) 생식생장기 건조 저항성 검정 평가

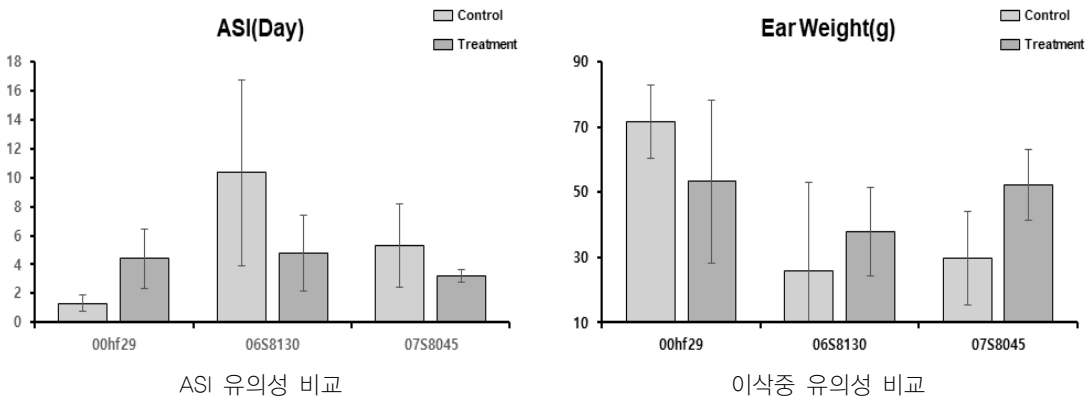
유묘기 옥수수 건조 스트레스에 의한 수량 감소가 발생하나 유묘 단계보다 생식생장기의 건조 스트레스가 수량성에 큰 영향을 미친다고 알려져 있으며 대부분의 연구는 생식생장기를 중심으로 이루어져 있다. 본 연구는 선행연구로 밝혀진 옥수수 유묘기 내건성 및 감수성 계통에 대해 생식생장기 내건성 평가를 진행하여 연관성을 조사하고자 하였다. 1년차 결과는 그림 10, 11, 12와 같다. ASI는 출웅, 출사의 간격을 뜻한다. 일반적으로 스트레스가 발생하지 않을 시 ASI는 3일 이내로 옥수수가 수정하는데 문제가 발생하지 않는다. 건조 스트레스가 발생하면 수염 발생이 지연되어 ASI가 증가한다고 알려져 있다. ASI가 6일 이상 길어지면 꽃가루가 활력을 잃게 되며 남은 화분량도 많지 않아 수량성 감소의 큰 요인으로 작용한다. 본 연구는 수량성과 관련이 깊은 ASI를 1차 선발 지표로 활용하여 내건성 계통을 선발하였다. 실험구의 ASI는 2일부터 14일까지 다양하게 나타났다. 1년차 결과 07S8045, 00hf29, 06S8130은 ASI가 5일 미만으로 나타나 1차 저항성 계통으로 평가하였다. 1차 저항성 계통 중에서 가장 우수한 계통을 선발하기 위해 형태생리학적 형질을 조사하였다. 각 형질에 대해 대조구 측정값과 실험구 측정값의 유의한 차이를 보이지 않는 형질의 수가 많을수록 저항성 계통으로 평가하였다. 유의성 비교는 대조구와 실험구 데이터를 t-test를 통해 측정값 사이에 유의성이 있는지 조사하였다. 조사항목 중 상대적 수분함량은 3개의 계통 중 00hf29계통에서 대조구와 유의한 차이를 보이지 않았다. 나머지 3개의 항목에서 모든 계통은 대조구와 유의한 차이를 보이지 않았다. 따라서 1년차에서는 ASI가 5일미만이며 모든 조사항목에 대해 대조구와 유의한 차이를 보이지 않는 00hf29를 생식생장기 내건성 계통으로 선발했다.



(그림 10) ASI 측정 결과(21)



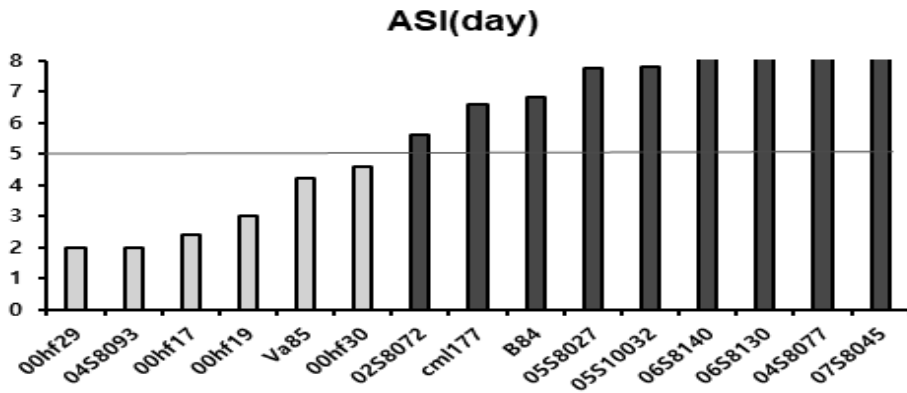
(그림 11) 형질 측정 결과(상대적 수분함량, SPAD)



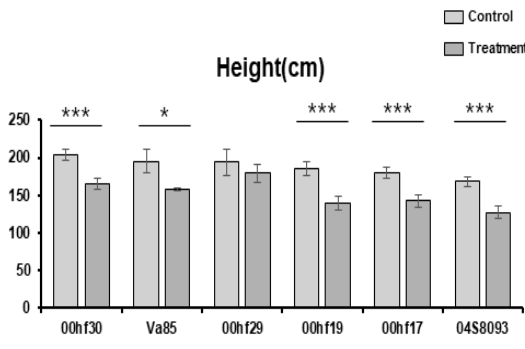
(그림 12) 형질 측정 결과(ASI, 이삭중)

2년차 실험은 1년차 실험과 같은 방법으로 옥수수연구소 비가림하우스에서 실시하였다. 표준 재배법에 따라 재배하였으며 출용 이전 옹수가 잡힐 무렵 실험구의 건조처리를 진행하여 4개 항목을 조사하였고 결과는 그림 13, 14, 15와 같다. 건조 처리하였을 때 실험구 계통의 ASI는 2일부터 9일까지 다양하게 나타났으며 이중 ASI가 5일 미만인 계통은 00hf29, 04S8093, 00hf17, 00hf19, Va85, 00hf30 6계통으로 1차 생식생장기 내건성 계통으로 선발했다. 1차 저항성 계통 중에서 가장 우수한 계통을 선발하기 위해 형태생리학적 형질을 조사하였다. 각 형질에 대해 대조구 측정값과 실험구 측정값의 유의한 차이를 보이지 않는 형질의 수가 많을수록 저항성 계통으로 평가하였다. 유의성 비교는 대조구와 실험구 데이터를 t-test를 통해 측정값 사이에 유의성이 있는지 조사하였다. 조사항목 중 초장은 6개의 계통 중 00hf29 계통에서 대조구와 유의한 차이를 보이지 않았다. SPAD의 경우 Va85, 00hf29 두 계통에서 대조구와 유의한 차이를 보이지 않았다. ASI는 모든 계통이 대조구와 차이를 보이지 않았으며 이삭중은 00hf30, Va85에서 유의한 차이를 보이지 않았다. 따라서 2년차에서는 ASI가 5일미만이며 조사항목에 대해 대조구와 유의한 차이가 적은 00hf29, Va85를 생식생장기 내건성 계통으로 선발했다. 2년간의 결과를 통해서 ASI가 5일미만인 계통은 00hf29가 유일하였으며 형태생리학적 항목 조사결과

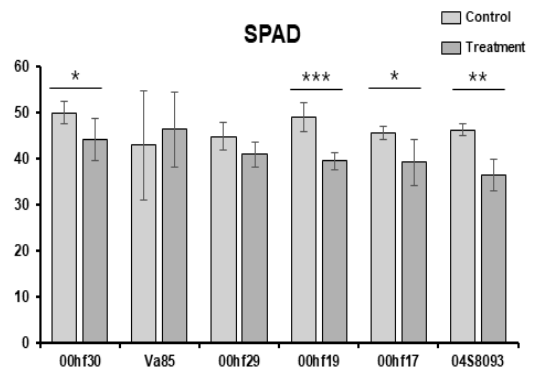
에서도 대조구와 유의한 차이를 크게 보이지 않아 내건성 계통으로 최종 선발하였다. 감수성 계통과 비교하여 00hf29의 이삭사진 및 식물체 사진은 그림 16, 17번과 같다.



(그림 13) ASI 측정 결과(22)

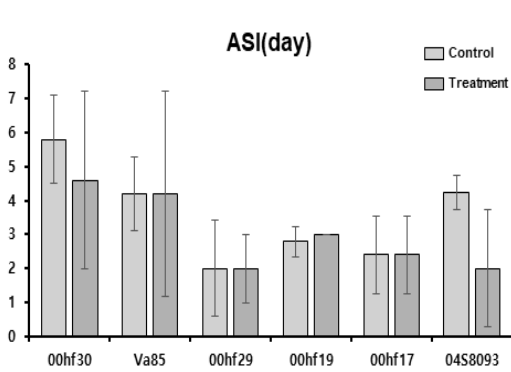


옥수수 초장 유의성 비교

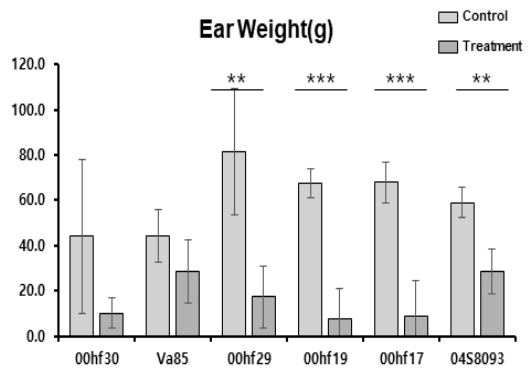


SPAD 유의성 비교

(그림 14) 형질 측정 결과(옥수수 초장, SPAD)



ASI 유의성 비교

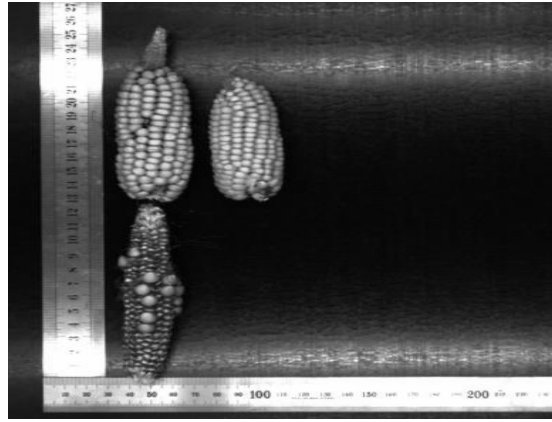


이삭중 유의성 비교

(그림 15) 형질 측정 결과(ASI, 이삭중)



00hf29 <대조구 위, 실험구 아래> 이삭사진



05S8027 <대조구 위, 실험구 아래> 이삭사진

(그림 16) 생식생장기 내건성 및 감수성 계통 이삭사진



내건성 계통



감수성 계통

(그림 17) 생식생장기 내건성 및 감수성 계통 식물체 사진

그림 16번 내건성 계통의 이삭 사진에서 보이듯이 00hf29는 대조구와 실험구에서 유의한 차이를 보이지 않았으나 05S8027은 대조구와 비교하여 5개 식물체중 1개의 식물체에서 이삭이

형성되었다. 그림 17번 식물체 사진은 수분스트레스 처리 후 화분 및 수염 발생을 관측한 사진으로 00hf29의 경우 대조구와 실험구에서 정상적으로 화분 및 수염이 발생함을 확인했으나 감수성 계통의 경우 화분은 생성되나 수염이 발생하지 않아 건조스트레스에 취약함을 확인하였다. 따라서 00hf29는 생식생장기 건조스트레스에 저항성을 보이는 우수 계통으로 최종 평가하였다.

## 4 적 요

### 〈제1세부과제: 옥수수 배가반수체 기술 및 분자표지 활용 내건성 기능성 품종 개발〉

#### (시험 1) 반수체 종자 선발 효율성 향상 기술 개발

가. 형광 이미지 시스템 활용 시 반수체 종자 선발 정확도는 77.1%로 육안선발과 비교하여 14.1% 높은 정확도를 보였고 오류 검정율은 45%로 높은 수준을 나타내 형광 이미지 시스템 활용 시 반수체 종자 선발 효율이 우수하였음.

#### (시험 2) 배가 반수체 기술과 분자마커를 활용한 건조 저항성 집단 구성 및 계통 육성

가. 제 1집단인 00hf19/05S10032로 부터 250계통의 건조 형질 관련 배가반수체 집단을 구축하였고 농업형질 및 유묘기 내건성이 우수한 22DHF358을 선발하였음.

나. 제 2집단인 02S8072/04S8077로부터 100계통의 건조 형질 관련 배가반수체 집단을 구축하였음.

#### (시험 3) 생식생장기 건조 저항성 검정 평가

가. 2년간 생식생장기 건조 저항성 검정 평가를 진행하였으며 최종적으로 ASI가 5일 미만이며 100% 이상 형성율을 보이는 00hf29를 생식생장기 건조 저항성 계통으로 선발하였음.

## 5 인용문헌

- McCann, J. (2009). *Maize and grace*, Harvard University Press.
- Ribaut, J.-M., et al. (2009). Drought tolerance in maize. *Handbook of maize: its biology*, Springer: 311-344.
- Shull GH (1908) The composition of a field of maize. *J Hered* 1:296-301.
- Fraley, R. T., S. G. Rogers, R. B. Horsch, P. R. Sanders, J. S. Flick, S. P. Adam, M. L. Bittner, L. A. Brand, C. L. Fink, J. S. Fry, G. R. Galluppi, S. B. Goldberg, N. L. Hoffmann, and S. C. Woo. 1983. Expression of bacterial genes in plant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 80: 4803-4807.

Herrera-Estrella, L., M. D. Block, E. Messens, J. -P. Hermalsteens, M. V. Montagu, and J. Schell. 1983. Chimeric genes as dominant selectable markers in plant cells. EMBO J. 2(6) 987-995

## 6 연구결과 활용

| 연도(연차)   | 활용방안 | 제 목                             |  |
|----------|------|---------------------------------|--|
| 2021(1년) | 학술발표 | 옥수수 반수체 종자 선발 효율성 향상 기술 개발의 필요성 |  |
|          |      | 옥수수 생식생장기 건조 스트레스 저항성 계통 선발     |  |
| 2022(2년) | 계통출원 | 옥수수 생식생장기 내건성 계통 HF5 육성         |  |

| 성과지표     |    | 연도 |    | 1년차(2021) |    | 2년차(2022) |    | 계 |   |
|----------|----|----|----|-----------|----|-----------|----|---|---|
|          |    | 목표 | 실적 | 목표        | 실적 | 목표        | 실적 |   |   |
| 학술<br>발표 | 국제 |    |    |           |    |           |    |   |   |
|          | 국내 | 1  | 2  |           |    | 1         | 2  |   |   |
| 계통       | 출원 |    |    | 1         | 1  |           |    | 1 | 1 |
|          | 등록 |    |    |           |    |           |    |   |   |
| 계        |    | 1  | 2  | 1         | 1  | 2         | 3  |   |   |

## 7 연구원 편성

| 구분    | 소속     | 직급    | 성명  | 수행업무      | 참여년도 |     |
|-------|--------|-------|-----|-----------|------|-----|
|       |        |       |     |           | '21  | '22 |
| 과제책임자 | 옥수수연구소 | 농업연구사 | 한정현 | 과제 총괄     | ○    | ○   |
| 공동연구자 | 옥수수연구소 | 농업연구관 | 류시환 | 계통선발 및 평가 | ○    | ○   |
|       | 옥수수연구소 | 농업연구관 | 홍대기 | 현장조사 지원   | ○    |     |
|       | 옥수수연구소 | 농업연구관 | 김기선 | 현장조사 지원   | ○    | ○   |
|       | 옥수수연구소 | 농업연구사 | 최승출 | 계통선발 및 평가 | ○    |     |
|       | 옥수수연구소 | 농업연구사 | 최재근 | 계통선발 및 평가 | ○    | ○   |
|       | 옥수수연구소 | 농업연구사 | 김희연 | 계통선발 및 평가 | ○    | ○   |
|       | 옥수수연구소 | 농업연구사 | 남궁민 | 현장조사 지원   | ○    |     |
|       | 옥수수연구소 | 농업연구사 | 김문중 | 현장조사 지원   | ○    | ○   |
|       | 옥수수연구소 | 농업연구사 | 왕승현 | 현장조사 지원   | ○    | ○   |
|       | 옥수수연구소 | 공업주사  | 용우식 | 생육관리      | ○    | ○   |
|       | 옥수수연구소 | 공업서기보 | 이승훈 | 생육관리      | ○    | -   |
|       | 옥수수연구소 | 운전서기  | 심재남 | 시설관리      | ○    | ○   |