

최 종
연구보고서

쌀 호화점도특성 및 식이섬유
함량 다양화 소재개발

Development of Diverse Novel Breeding Resources
Related with Gelatinization Properties
and Soluble Fiber Content in Rice

연구기관
건국대학교

농림자료실



0012252

농림부

제 출 문

농림부장관 귀하

본 보고서를 “쌀 호화점도특성 및 식이섬유 함량 다양화 소재개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2006 년 7 월 14 일

주관연구기관명 : 건국대학교
총괄연구책임자 : 김 광 호 (건국대학교)
세부연구책임자 : 김 광 호 (건국대학교)
연 구 원 : 배 동 호 (건국대학교)
연 구 원 : 박 효 진 (건국대학교)
연 구 원 : 김 상 현 (건국대학교)
세부연구책임자 : 정 우 석 (건국대학교)
연 구 원 : 김 소 연 (건국대학교)
연 구 원 : 이 지 현 (건국대학교)
협동연구기관명 : 작물과학원
협동연구책임자 : 이 영 태 (작물과학원)
연 구 원 : 황 흥 구 (작물과학원)
연 구 원 : 홍 하 철 (작물과학원)
연 구 원 : 김 명 기 (작물과학원)
연 구 원 : 조 명 찬 (작물과학원)
연 구 원 : 강 경 호 (작물과학원)
연 구 원 : 이 정 희 (작물과학원)

요 약 문

I. 제 목

쌀 호화점도특성 및 식이섬유 함량 다양화 소재개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 목 적

본 연구개발의 목적은 다음과 같다. 첫째, 쌀의 호화점도특성이 다른 찰벼와 메벼 계통을 육성하여, 호화점도특성이 다른 육성계통 쌀의 가공적성을 비교코자 하였다. 둘째, 이미 개발된 고식이섬유 품종 고아미2호보다 농업적 특성이 개량된 고식이섬유 메벼 및 찰벼계통을 육성코자 연구를 수행하였다. 셋째, 쌀 호화점도특성 및 고식이섬유성과 유전적으로 연관된 DNA marker를 개발하여 실제 선발에 적용할 수 있는지를 검토코자 하였다. 넷째, 쌀 호화점도특성 및 고식이섬유성에 대한 DNA microarray 분석을 시도하여 벼의 주요 생리대사에 관여하는 특성화 유전자 database 구축을 목표로 하였고, 다섯째, 쌀의 호화점도특성 또는 고식이섬유성과 연관된 유용유전자를 이용한 형질전환체를 육성코자 하였다.

2. 필요성

가. 국내 쌀 산업의 경쟁력을 높이기 위해서는 다양한 특수품질의 쌀 품종을 개발하여 부가가치가 높은 쌀 가공품을 만들도록 해야 한다. 이에 필요한 것이 가공 밥·떡볶이, 다이어트 등 특수용도에 맞는 품질특성을 가진 여러 가지 종류의 품종을 개발하는 일이다. 쌀 전분의 호화특성은 주로 가열온도 변화에 따른 점성으로 표시되는데 호화과정에서의 점성은 품종에 따라 큰 차이가 난다. 또 가공한 밥이나 떡은 일정한 시간이 지난 후 소비되기 때문에 호화된 전분은

온도강하와 시간경과에 따른 노화과정을 거치며 노화특성도 품종에 따라 차이가 난다. 육종과정에서 다양한 호화특성을 가진 계통을 선발하여 그들의 가공적성을 검토하면 고급 가공 밥이나 떡볶이용 가래떡에 알맞은 품종개발이 가능 할 것이므로 이에 대한 연구가 필요하다.

나. 벼 유전자원 중에서 발견할 수 없었던 고식이섬유성 품종이 돌연변이 육종을 통해서 개발되었으나 수량성과 식미가 모두 낮아 이를 개량할 필요가 있다. 그동안 벼에서는 고식이섬유성에 대한 연구가 없었기 때문에 식이섬유 함량 수준에 따른 실용적인 이용가치를 평가할 필요도 있으며, 벼에서는 최초로 발견된 고식이섬유성의 유전분석과 분자표지개발, 관련 유전자의 특성 등을 분자수준에서 밝힐 필요가 있다.

다. 벼 육종에 효과적으로 이용할 수 있는 생물공학기술로 유용형질과 밀접히 연관된 DNA marker를 이용한 선발, 식물체내에서 일어나는 특수물질의 생리대사와 유전현상에 근거한 관련 유전자의 database 구축, DNA microarray 분석, 그리고 특정유전자의 형질전환 등을 들 수 있다. 그러나 쌀의 호화특성이나 고식이섬유성에 관련된 DNA marker 개발과 이를 이용한 선발, 이들에 관련된 유전자의 database구축과 microarray 분석, 그리고 이들 유전자의 형질전환 연구가 매우 적기 때문에 이에 대한 연구를 활성화시킬 필요가 있다.

라. 우리나라의 벼 육종기술은 국제적으로 고위수준에 있다고 볼 수 있지만 분자수준의 생물공학기술을 벼 육종에 효과적으로 이용하는 부문에서는 앞서 있다고 볼 수 없다. 우리나라의 발전된 벼 육종분야가 분자수준의 생물공학기술을 하루 빨리 포용하여 기존의 육종기술보다 훨씬 정밀한 육종으로의 변화가 필요하다. 따라서 본 연구개발에서 목표로 하고 있는 가공 쌀에 적합한 호화 및 노화특성을 가진 품종개발과 건강기능성의 하나인 고식이섬유성 품종개발에 분자생물학적 기술을 이용하는 연구가 21세기 한국의 육종연구에서는 필수적이라 할 수 있다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 쌀 호화점도특성 다양화 계통 육성

- 가. 잡종집단 및 계통육성
- 나. 여교배 RILs육성과 SSR분석
- 다. 호화점도특성에 대한 MAS효과 분석
- 라. 선발계통의 생산력검정
- 마. 호화점도특성이 다른 쌀의 가공적성 검정

2. 쌀의 고식이섬유 및 호화점도특성 관련 DNA microarray 구축과

형질전환체 모본개발

- 가. 벼의 sucrose, starch, cellulose 합성대사 별 연관 유전자 염기서열확보 및 분석
- 나. 목적형질 관련 합성대사별 유전자 동정 및 유전자 특이적 염기서열 또는 유사염기 서열 부분 증폭을 위한 primer 개발
- 다. 쌀의 고식이섬유 및 호화점도특성 관련 형질 분석 및 분자 수준에서의 계량화 와 형질전환체 벼 개발을 위한 벡터시스템 구축
 - 1) 유전자 database 초기화 작업으로서 우선순위유전자 동정 및 DNA microarray 구축 및 분석을 통한 유전자 발현양상 비교
 - 2) 유전자총을 이용한 형질전환체벼 개발 - 벡터시스템 및 media system 구축
- 라. 쌀의 고식이섬유 및 호화점도특성 관련 형질 분석 및 분자 수준에서의 다면적 계량화 와 육종계통모본으로서 형질전환체 벼 개발
 - 1) 목적형질관련 합성대사별 유전자의 특정부분이 증폭된 제2단계 DNA microarray system 개발
 - 2) 목적형질 관련 우선순위 유용유전자를 이용한 형질전환체 벼 개발
 - 3) 목적형질 관련 유용유전자 database 구축

3. 벼 고식이섬유 소재개발 및 유전연구

- 가. 잡종집단 및 계통육성
- 나. F₁ 약배양 및 Doubled Haploid(DH) 계통 육성
- 다. 쌀 고식이섬유성의 유전분석과 QTL분석
- 라. 쌀 고식이섬유성의 MAS효과 분석
- 마. 선발된 계통의 생산력검정

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 쌀 호화점도특성 다양화 계통 육성

- 가. 본 연구에서는 쌀의 호화점도특성이 다양한 계통선발을 목표로 하였다. 많은 육종재료를 대상으로 포장에서의 농업형질과 실내에서 조사한 호화점도특성에 근거하여 선발을 해왔다. 2005년도 육종포장에 공시한 F6 이후 고세대 계통 중 초형이 우수하고 계통 내 분리가 없는 12계통을 선발하여 2006년도 생산력검정시험에 편입시켰다. 이 밖에도 육종포장에서 초형 등 작물학적특성이 우수하고 호화점도특성이 서로 다른 찰벼 또는 메벼 51계통을 선발하여 2006년도 육종포장에서 재배하고 있다.
- 나. 쌀의 호화점도특성과 알칼리붕괴도 간의 유전적 관계를 알기 위해서 알칼리붕괴도가 다른 근동질유전자 계통 간 교배조합의 F2 개체별 쌀의 알칼리붕괴도와 호화점도특성을 조사한 결과 알칼리붕괴도가 낮은 개체, 분리하고 있는 개체, 그리고 높은 개체가 1 : 2 : 1의 분리비에 적합하게 분리하였다. F2 개체별 알칼리붕괴도에 따른 호화점도특성 분포를 비교한 결과 알칼리붕괴도가 낮은 개체군(ADV 1-2)이 높은 개체군(ADV 5-6)에 비하여 최저점도, 최종점도, 치반점도, consistency는 유의하게 낮은 쪽에 분포하였고, 강하점도는 높은 쪽에 분포하여 알칼리붕괴도와 호화점도특성 간 유전적으로 밀접한 관계에 있음을 알 수 있었다.
- 다. 배유의 투명도에 차이가 뚜렷한 근동질유전자 계통간 교배조합의 F2 개체에서 수확한 F3종자를 이용하여 개체별로 쌀알의 투명도와 호화점도특성을 조사하

였다. 그 결과 뽀얀 쌀이 맑은 쌀에 비하여 최저점도, 최종점도, 치반점도 및 consistency가 유의하게 낮아 쌀알의 투명도와 호화점도특성 간에 유전적인 관계가 성립됨을 알 수 있었다.

라. 쌀의 호화점도특성이 서로 다른 메벼 및 찰벼 계통을 선발하고 호화점도특성 관련 분자마커를 찾기 위해서 2개 여교배 조합의 F8 RILs를 육성하였다. 이 교배조합에서는 찰벼계통과 메벼계통이 분리되었고, 찰벼 또는 계통 간 쌀의 호화점도특성 변이가 매우 크다는것을 확인하였다.

2005년도에 진미/wx202-25-1-5//진미벼 조합에서는 232계통이 수확되었고, 진미/wx185-29-1-3//진미벼 조합에서는 155계통을 수확하여 종자를 보관하고 있다. 이들은 앞으로 벼 분자유전학 연구에서 소중한 재료로 사용될 것이다.

마. RILs를 대상으로 6번과 8번 염색체에 위치한 10종의 RM 프라이머를 사용, SSR분석을 하여 호화점도특성과 연관된 분자마커를 찾고자 하였다. 그 결과 진미벼/wx202//진미벼 교배조합의 메벼계통에서는 쌀가루의 호화점도특성과 연관된 것으로 추정되는 분자마커 RM412, RM42 및 RM230을 선발할 수 있었다. 그리고 진미벼/wx185//진미벼 조합의 메벼 계통에서는 RM42, RM38 및 RM587을 쌀가루의 호화점도특성과 연관된 분자마커로 선발 할 수 있었으며, 이 두 조합에서 선발된 공통 분자마커는 8번 염색체에 있는 RM42였다.

바. 여교배 RILs를 이용하여 선발한 쌀의 호화점도특성과 연관된 RM마커의 실제 선발효과를 조사하였다. 교배조합에 따라 약간의 차이는 있었지만 RM587, RM412, RM230, RM42를 사용하여 나타난 밴드형태를 확인하면 호화점도특성에 대한 잡종개체 또는 계통선발을 효과적으로 수행할 수 있을 것으로 판단하였다.

사. 건국대학교 작물육종학 연구실에서 육성해 오던 찰벼계통 중 2003년부터 생산력검정시험을 실시한 계통에서 찰쌀의 호화점도특성이 대조품종인 진부찰과 상당히 큰 차이가 나는 계통을 발견하였다. 「황금찰」로 명명한 이 계통은 최고점도, 최저점도, 최종점도 및 강하점도가 대조품종보다 훨씬 높았으며 치반점도는 훨씬 낮아 찰쌀의 호화점도특성을 다양화 시키겠다는 본 연구의 목적에 부합하는 특성을 가졌다. 이 계통은 현미의 종피색이 적갈색이면서 현미의 황산화활성이 대조품종보다 월등히 높고 출수기 이후 이삭이 황금색을 띠고 있는 등의 장점을 근거로 하여 2005년 3월에 품종보호출원을 하였다.

아. 2005년도 생산력검정 포장에 공시한 계통 중 「자채찰」로 명명된 계통의 쌀 호화점도특성은 대조품종과 유사하였으나 「황금찰」과는 큰 차이가 났고 단 간·극조생이며 현미의 종피색이 적갈색으로 향산화활성이 높을 것으로 기대 되었다. 따라서 이 계통은 2006년도 생산력검정시험 포장에서 한 번 더 검토 한 후 품종보호출원을 할 예정이다.

표. 신 육성품종 「황금찰」과 「자채찰」의 특성

품종명	잎색	까락		영색	부선 색	현미(mm)		현미 장폭비	현미색도			현미 종피색
		유	무			색	장		폭	L	a	
진부찰(대조)	녹	무	-	황백	갈	4.70	2.81	1.67	46.4	2.0	11.7	담황
오대벼(대조)	녹	무	-	황백	갈	5.10	2.80	1.82	40.6	2.3	10.0	담황
황금찰	녹	무	-	농황갈	황갈	5.08	2.85	1.79	33.5	6.5	9.6	적갈
자채찰	녹	무	-	황백	암갈	4.77	2.65	1.80	32.1	7.4	8.4	적갈

품종명	호화점도특성						SOD %	DPPH %
	호화온도 °C	최고점도 RVU	최저점도 RVU	최종점도 RVU	강하점도 RVU	치반점도 RVU		
진부찰(대조)	68.1	97.7	51.8	67.6	46.5	-30.1	26.3	63.5
황금찰	72.0	239.2	140.7	175.1	98.5	-64.0	55.7	86.1
자채찰	68.1	136.4	73.6	94.7	62.8	-41.7	-	-

품종명	출수기 월.일	간장 cm	수장 cm	주당 수수 개	수당립수 개	등숙 비율 %	현미 천립중 g	제현 비율 %	정조 수량 kg/10a	현미 수량 kg/10a
진부찰(대조)	7. 29	86.6	21.3	15	92	83.3	19.9	80.0	494.5	395.6
오대벼(대조)	8. 3	89.1	19.5	15	87	85.2	20.7	82.4	585.2	482.2
황금찰	8. 6	95.9	18.3	16	89	82.4	20.4	82.9	528.6	438.2
자채찰	7. 30	74.0	21.8	18	87	83.5	19.7	83.5	571.2	477.0
F 값									1.950 ^{ns}	2.108 ^{ns}

* 「황금찰」의 품종보호 출원번호 : 2005-15 (출원일 : 2005. 3. 3)

자. 멥쌀 가공품의 조직감으로 본 가공적성은 쌀 과자용으로는 부착성이 낮고 경도가 높은 주남벼, 가래떡용으로는 응집성과 씹힘성이 높고 치반점도가 낮은 주남벼와 새추청벼, 떡 용으로는 경도와 씹힘성이 낮은 일품벼와 추청벼, 그리고 쌀 빵용으로는 적당한 씹힘성과 경도가 낮은 추청벼가 각각 우수한 것으로 판단되었다. IR50과 IR36은 호화점도특성 중 최종점도가 상대적으로 높아 치반점도와 응집점도가 높기 때문에 떡, 가래떡 및 쌀 빵용으로는 적당치 않고 쌀 과자용으로도 바람직하지 않은 것으로 드러났다.

차. 찹쌀은 쌀 빵이나 쌀 과자 제조에는 적당치 않고, 찰떡용으로는 수원 290호, 자채찰 및 TaichungSen glutinous와 같이 호화점도가 높은 품종이 적합하며, 인절미를 만들 때는 호화점도가 높은 TaichungSen glutinous, 호화점도는 낮지만 부착성이 큰 화선찰벼가 적당한 것으로 판단하였다.

2. 쌀의 고식이섬유 및 호화점도특성 관련 DNA microarray 구축과 형질전환체 모본개발

가. 벼의 sucrose, starch, cellulose 합성대사 별 연관 유전자 염기서열확보 및 분석

총 1600여개의 벼의 전분 및 cellulose 합성관련 염기서열이 GenBank 및 Rice genome sequence database 분석을 통하여 확보되었다. 이 중 Blast, ClustalW등의 프로그램을 이용하여 염기서열 분석을 통하여 131개 유전자의 특정부분을 증폭 할수 있는 프라이머가 제작 되었다.

나. 벼의 전사조절유전자 집단 발굴 및 염기서열 분석

벼의 Myb 전사조절 유전자 집단을 발굴하여 유사성 수준과 이를 근거로 한 집단화를 검정하였으며 66개의 전사조절 유전자의 특정 부분을 증폭할 수 있는 프라이머를 제작하여 배유 및 embryogenic callus에서 추출한 total RNA를 대상으로 RT-PCR을 실시하여 33개의 유전자를 동정하였다.

다. 목적형질의 합성대사별 유전자로 구성된 cDNA microarray system 개발

위 가 및 나에서 발굴하고 증폭한 전분 합성에 관여하는 164개 유전자의 특정부분이 확보되어 냉동보관중이고 이를 microarray chip위에 프린팅을 하기 위해 준비 중이다. 이 들 유전자와 쌀의 고식이섬유성 및 호화점도 특성관련 형질과의 연관성 검정시스템을 개발하여 starch branching enzyme과 관련된 몇 가지 형질을 발견하였으며, 이 검정 방법에 대한 특허를 출원중이다.

라. 벼 형질전환체 개발을 위한 벼 somatic embryo 유도 및 재조합 벡터 개발

유전자총을 이용한 형질전환용 배지 시스템을 확보하였고 벡터개발을 완료하였다. 또한, 성공적으로 기관분화가 되는 체세포 배를 유기하였으며 체세포 배를 이용하여 전분의 구조에 영향을 미치는 유전자의 조기 대량 기능검정시스템을 확보하였다.

3. 벼 고식이섬유 소재개발 및 유전연구

- 본 연구는 벼 식이섬유 소재개발과 유전연구를 위하여 재료를 육성하고 우수한 계통을 조기에 고정하기 위하여 약배양을 실시한 후 수량성 검정과 196개의 SSR 마커를 이용하여 식이섬유 관련 마커를 탐색하였다.
- 가. 잡종집단 및 계통육성을 위하여 백진주벼/수원464호 등 16조합을 인공교배하여 교배립 494립, F₁ 13조합 226개체, F₂ 10조합 810개체, F₃ 4조합 49계통 137개체, F₄ 2조합 10계통 30개체를 선발하였다.
- 나. 수원464호/수원461호 등 5조합에서 총 7,140약을 치상하여 27.5%의 평균 캘러스 형성율을 보였으며, 분화 식물체 1,380개를 분화시켜 평균 18.8%의 식물체 분화율을 보였고 그 중 239개체에서 종자 채종 후 약배양 후대 계통 78계통 78개체를 육성하였다.
- 다. 약배양 후대 계통 중에서 수원461호/수원464호 등 4조합 21계통에 대한 수량성 검정결과 백미 수량이 2.17~5.84MT/ha로 변이의 폭이 매우 컸다.
- 라. 수량성 검정 계통들의 식이섬유 함량은 1.75~3.56%의 범위를 보였으나 수원464호의 56~113 수준이었다.
- 마. SSR 마커 196개를 이용하여 일품벼/수원464호에서 19개(9.2%)가 일품벼에 대해 다형성을 보였고 2번, 11번 염색체 외 10개 염색체 상에서 1~3개 마커에서 다형성 마커가 탐색되었다.

4. 결과활용에 대한 건의

3년간의 연구를 통해서 육성한 계통을 품종으로 확정짓기 위한 2-3년간의 추가연구가 필요하다.

SUMMARY

Title : Development of Diverse Novel Breeding Resources Related with Gelatinization Properties and Soluble Fiber Content in Rice

Background

Development of various rice varieties with characteristics related to rice food processing is needed to strengthen the competitive ability of Korean rice industry. Consumption of ready made cooked rice, slender stick rice cake, and diet rice foods have increased every year. Rice germplasm contained a number of variants for rice starch characteristics included gelatinization properties, and the induced mutation has provided various rice endosperm variants. Therefore, rice breeding efforts are necessary to select the resources or breeding lines suitable for rice food processing as ready made cooked rice, slender stick rice cake, or diet rice foods. Rice breeding efforts to widen the utility area of rice grain are needed to cooperate with molecular biology and food processing. Special efforts to establish MAS and transformation system should be strengthened for future.

Objectives

The objectives of the study are as follows : ① The development of glutinous and non-glutinous breeding lines which are different in gelatinization properties of rice grain, and comparison of the food processing characteristics of rice varieties with different gelatinization properties. ② The improvement of agronomic characteristics of high dietary fiber rice variety "Goami 2", and development of new breeding lines

with high dietary fiber in rice grain. ③ The development of DNA markers related with gelatinization viscosity or dietary fiber content in rice grain, and establishment of MAS system for gelatinization properties or dietary fiber content. ④ The development of high resolution DNA microarray system for breeding of quality rice cultivar mainly focused on the traits related with cellulose, amylose, amylopectin contents and other ingredients in rice grain. ⑤ The establishment of rice transformation system in both aspects, gene delivery and tissue culture.

Summary of the results

1. Development of diverse novel breeding resources related with gelatinization properties of rice grain

- 1) The goal of this research is development and selection of quality lines showing diverse characteristics on gelatinization viscosity of rice grain. We have used numbers of genetic resources to develop and carried selection based on the agricultural characteristics obtained from breeding field and analysis results regarding the properties of gelatinization viscosity of rice obtained in laboratory. Among the breeding lines selected from the year 2005's breeding field, which have shown good agricultural characteristics and didn't show any further segregation, 12 lines were selected and progressed for the year 2006's field performance trial. Beside these selected lines, 51 waxy or non-waxy rice lines showing diverse properties of gelatinization viscosity and good agricultural characteristics have been selected and currently growing in 2006's breeding field.
- 2) To find out the genetic relationship between the properties of gelatinization viscosity and alkali digestibility value(ADV), we screened the properties of gelatinization viscosity and ADV of individual F₂ plants of a cross between near isogenic lines showing clear difference in ADV. We classified individual F₂ plants into three groups based on ADV, those are higher and lower on ADV and still segregating group and we

observed that right tendency of theoretical 1:2:1 segregation ratio. The relationship between ADV and properties of gelatinization viscosity among F2 plants were that minimum viscosity, final viscosity, setback, and consistency biased to F2 plants showing lower ADV (ADV 1-2), whereas breakdown biased to F2 plants showing higher ADV (ADV 5-6). And these tendency was resolved as statistically significant. Consistently, the results indicate there is a genetic relationship between ADV and the properties of gelatinization viscosity.

- 3) Using F3 seeds, which obtained from F2 plants of the cross between near isogenic lines showing clear difference in transparency and clearness of rice endosperm, we analyzed the relationship of transparency and clearness of rice endosperm and the properties of gelatinization viscosity. The results was that the plants with opaque endosperm showed relatively lower minimum viscosity, final viscosity, setback and consistency. Based on this observation, we found there is genetic relationship between transparency of rice endosperm and the properties of gelatinization viscosity.
- 4) We have developed F8 RILs of two back-crossed combinations to identify molecular marker related to the properties of gelatinization viscosity. We observed the segregation of waxy and non-waxy lines among RILs and the great variation of gelatinization viscosity properties was found both in waxy and non-waxy lines. We harvested and stored 232 lines from the cross of Jinmi/wx202-25-1-5//Jinmi and 155 lines from the cross of Jinmi/wx185-29-1-3//Jinmi. These lines will be used as highly valuable genetic resources for further researches of rice molecular genetics.
- 5) We have attempted to find out molecular markers related to gelatinization viscosity properties. F6 RILs and 10 different RM primers, where located on the chromosome number 6 and 8, were used for SSR analysis. We found that RM412, 42 and 230 were potentially related to the gelatinization viscosity properties in non-waxy lines of

Jinmi/wx202//Jinmi. Further, RM42, 38 and 587 were identified as molecular markers which related to the gelatinization viscosity properties in non-waxy lines of Jinmi/wx185//Jinmi. A commonly occurring marker in these two crosses was RM42, which located on the chromosome number 8.

- 6) We studied the effect of selection when we used the RM markers identified as above, which related to the gelatinization viscosity properties, using back-crossed RILs. Obviously, we concluded that we could use RM587, 412, 230 and 42 for selection of hybrid plants and lines based on the amplified DNA band pattern obtained from DNA gel analysis.
- 7) We selected a breeding line showing greater difference in the gelatinization viscosity compared with the standard variety "Jinbupal" in 2003's yield trial field. This is one of the highly generation advanced breeding lines which has been bred in the plant breeding laboratory of Konkuk University. The nomenclature of this line has been done and the name of this line is "Hwangkeumchal". The maximum viscosity, minimum viscosity, final viscosity and breakdown of this line was much higher than standard check variety, whereas setback was much lower. The seed pericarp color of this variety is reddish brown and anti-oxidative activity of brown rice is significantly higher than check variety and hull color turned to golden color during early grain filling stage. By this reason, we submit the plant variety protection application for saving this variety at March of 2005.
- 8) Another line among the highly generation advanced lines in yield trial field was named as "Jachaechal". The characteristics of this line is similar in the gelatinization viscosity with check variety, but it is clearly different with "Hwangkeumchal" and is shorter in stem length and showing very early stage maturity. The seed pericarp color is reddish-brown, therefore we expect this line has higher anti-oxidative activity. We are going to submit the plant variety protection application

at end of 2006's field test.

- 9) Food processing characteristics in term of texture of the non-waxy rice product, "Junambyeo" which has lower adhesiveness and higher hardness is good for rice cookie. "Junambyeo" and "Saechucheongbyeo" which have higher cohesiveness and chewiness and lower setback is good for rice cake particularly for slender stick od rice cake. Ilpumbyeo and Chucheongbyeo have lower hardness and chewiness, therefore they are good for rice cake. And, Chucheongbyeo is good for rice bread. IR50 and IR36 were not good for rice cookie, rice cake and rice bread due to their relatively higher setback and consistency.
- 10) Waxy rices are not good for the rice bread and rice cracker due to their higher adhesiveness. The waxy rices showing higher gelatinization viscosity such as Suwon290, Jachaechal and TaichungSen glutinous may good for extra sticky rice cake. TaichungSen glutinous, which has higher gelatinization viscosity and Hwaseonchal, which has lower gelatinization viscosity and higher adhesiveness may good for glutinous rice cake, so called "Injeolmi".

2. Development of rice edible traits related high resolution DNA microarray system and transgenic rice

- 1) Our research focused on developing rice edible traits related high resolution DNA microarray system and transgenic rice what has an modified metabolic pathway resulted in changes of structure of starch and starch granules of endosperm. We tried to develop high resolution DNA microarray system can be used for breeding of quality rice cultivar mainly focused on the traits related with cellulose, amylose, amylopectin contents and other ingredients those are affected on final edible quality of steamed rice. For this purpose, we identified more than 1600 gene sequences including transcription factors potentially involved in starch, sucrose and cellulose synthesis in rice. Among them, we cloned 164 genes from RT-PCR and certain part of these genes are

amplified for making high resolution DNA microarray system. We have cloned 33 transcription factor genes those are expressed in developing rice endosperm and embryogenic callus.

- 2) Also, we set up rice transformation system in both aspects, gene delivery and tissue culture. We successfully identified and cloned embryogenic callus and observed initiation of organ differentiation, however, we failed to obtain fully grown transgenic rice plant due to a severe contamination problem occurred during 2005 in our laboratory. We use particle bombardment system for gene delivery. These particle bombardment and embryogenic callus provide an unique opportunity to screen the function of a candidate gene, which relates to branching degree of starch found in embryogenic callus. The branching degree of starch found in embryogenic callus showing a tendency of lower branching degree overall. This gene function screening system has some advantages; we can check the function of gene in an early stage of rice transformation and can screening many genes in a short period. In addition, we developed a method to find out relationship between a gene and a certain traits and currently we are working with patent application.

3. Development of high dietary fiber breeding lines and its genetic study

- 1) This experiments were carried out to develop new high dietary fiber varieties with Suweon464 by Ilpumbyeo mutation breeding using *N-methyl-N-nitrosourea*(MNU). The materials of this experiments were used to sixteen crosses by Suweon464 and some varieties. The sixteen crosses were bred 494 cross seeds, F₁ of thirteen crosses 226 plants, F₂ of ten crosses 810 plants, F₃ of four crosses 137 plants, and F₄ of two crosses thirty plants.
- 2) Anther culture was practiced to develop rapidly a new high dietary varieties using the F₁ plants of five crosses. The 78 new breeding lines were obtained from the F₁ plants of five crosses by anther culture. The

grain yield in observation yield trial field showed 2.17 ~ 5.84MT/ha in 21 anther culture lines. The yield indexes of the anther culture lines to Suweon464 were 51 ~ 138. Their dietary fiber in rice grain varied 1.75 to 3.56% in 21 anther culture lines and the dietary fiber indexes were 56 ~ 113 to Suweon464.

- 3) To study dietary fiber locus, we anchored 196 SSR markers on chromosome 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 using Ilpumbyeo and Suweon464. Among the anchored markers, 19 markers showed the polymorphism on Ilpumbyeo. The ten chromosomes were anchored and the 1 ~ 3 markers showed the polymorphism except chromosome 2, 11.

CONTENTS

Summary.....	1
Contents.....	16
Chapter 1. Outline of the research project.....	25
Section 1. Objectives and background of the research project.....	25
1. Objectives of the research project.....	25
2. Background of the research project.....	26
1) Technological scope.....	26
2) Economical scope.....	27
3) Social scope.....	28
Section 2. Category of the research project.....	29
1. Development of diverse novel breeding resources related with gelatinization properties of rice grain.....	29
2. Development of rice edible traits related high resolution DNA microarray system and transgenic rice.....	29
3. Development of high dietary fiber breeding lines and its genetic study.....	30
Chapter 2. Research progress in Korea and other countries.....	31
Section 1. Research progress in Korea and other countries.....	31
1. Research progress in Korea.....	31
1) Gelatinization properties of rice grain and food processing.....	31
2) Dietary fiber in rice grain.....	35
3) DNA microarray analysis system.....	36
2. Research progress in other countries.....	37
Section 2. Status of the research in current technology development.....	38
Chapter 3. Contents of the research project and results of the study.....	40
Section 1. Development of diverse novel breeding resources related with gelatinization properties of rice grain.....	40

1. Introduction.....	40
2. Materials and methods.....	41
3. Results.....	45
1) Development of hybrid populations and pedigree lines.....	45
2) Development of backcross RILs and SSR analysis.....	49
3) Analysis of MAS effect on gelatinization properties of rice grain.....	53
4) Yield trial of selected breeding lines.....	55
5) Rice food processing test of rice varieties with different gelatinization properties.....	57
4. conclusion.....	64
Section 2. Development of rice edible traits related high resolution DNA microarray system and transgenic rice.....	66
1. Introduction.....	66
2. Methods and Results.....	69
1) Sequence analysis of rice sucrose, starch and cellulose synthase-like gene family.....	69
2) EST database mining and analysis of rice MYB transcription factors.....	76
3) Development of cDNA microarray system for rice edible traits....	78
4) Development of rice somatic embryo induction system and recombination vector for transformation of rice plant.....	99
3. Conclusion.....	105
1) Sequence analysis of rice sucrose, starch and cellulose synthase-like gene family.....	105
2) EST database mining and analysis of rice MYB transcription factors.....	105
3) Development of cDNA microarray system for rice edible traits.	105
4) Development of rice somatic embryo induction system and recombination vector for transformation of rice plant.....	105
Section 3. Development of high dietary fiber breeding lines and its	

genetic study.....	106
1. Introduction.....	106
2. Materials and methods.....	106
3. Results.....	108
1) Development of hybrid populations and breeding lines.....	108
2) Anther culture.....	108
3) Yield trial of selected breeding lines.....	110
4) Genetic analysis for high dietary fiber content in rice grain.....	111
4. Conclusion.....	113
Chapter 4. Achievements and contribution to related fields.....	114
Section 1. First year of the research.....	114
1. Objectives of the research.....	114
2. Evaluation points and accomplishment of the research.....	116
3. Contribution to technological development in related fields.....	116
Section 2. Second year of the research.....	118
1. Objectives of the research.....	118
2. Evaluation points and accomplishment of the research.....	120
3. Contribution to technological development in related fields.....	120
Section 3. Third year of the research.....	121
1. Objectives of the research.....	121
2. Evaluation points and accomplishment of the research.....	123
3. Contribution to technological development in related fields.....	124
Section 4. Scientific contribution of the research.....	124
Chapter 5. Application plans of the research results.....	127
Section 1. Needs for further research.....	127
Section 2. Application to other research.....	128
Section 3. Plans for business.....	129
Chapter 6. Information obtained during implementation of the research....	130

Chapter 7. References.....131

목 차

요약문.....	1
목차.....	20
제 1 장 연구개발과제의 개요.....	25
제1절 연구개발의 목적 및 필요성.....	25
1. 연구의 목적.....	25
2. 연구개발의 필요성.....	26
가. 기술적 측면.....	26
나. 경제·산업적 측면.....	27
다. 사회·문화적 측면.....	28
제2절 연구개발 범위.....	29
1. 쌀 호화점도특성 다양화 계통 육성.....	29
2. 쌀의 고식이섬유 및 호화점도특성 관련 DNA microarray 구축과 형질전환체 모본 개발.....	29
3. 벼 고식이섬유 소재개발 및 유전연구.....	30
제 2 장 국내외 기술개발 현황.....	31
제1절. 국내외 관련기술의 현황과 문제점.....	31
1. 국내 기술동향.....	31
가. 쌀 호화점도특성과 가공적성.....	31
나. 쌀의 식이섬유.....	35
다. DNA microarray분석.....	36
2. 외국의 기술현황.....	37
제2절 연구결과가 국내외 기술개발현황에서 차지하는 위치.....	38
제 3 장 연구 개발 수행 내용 및 결과.....	40
제1절 쌀 호화점도특성 다양화 계통 육성.....	40
1. 서언.....	40

2. 연구방법 및 내용.....	41
가. 잡종집단 및 계통육성.....	41
나. 여교배 RILs육성과 SSR분석.....	42
다. 호화점도특성에 대한 MAS효과 분석.....	42
라. 선발계통의 생산력검정.....	43
마. 호화점도특성이 다른 쌀의 가공적성 검정.....	43
3. 연구결과.....	45
가. 잡종집단 및 계통육성.....	45
나. 여교배 RILs육성과 SSR분석.....	49
다. 호화점도특성에 대한 MAS효과 분석.....	53
라. 선발계통의 생산력검정.....	55
마. 호화점도특성이 다른 쌀의 가공적성 검정.....	57
4. 결과 요약.....	64

**제2절 쌀의 고식이섭유 및 호화점도특성 관련 DNA microarray구축과
형질전환체 모본개발.....66**

1. 서언.....	66
2. 연구방법 및 결과.....	69
가. 벼의 sucrose, starch, cellulose 합성대사 별 연관 유전자 염기서열 확보 및 분석.....	69
나. 벼의 전사조절유전자 집단 발굴 및 염기서열 분석.....	76
다. 목적형질의 합성대사별 유전자로 구성된 cDNA microarray system 개발.....	78
라. 벼 형질전환체 개발을 위한 벼 somatic embryo 유도 및 재조합 벡터 개발.....	99
3. 결과요약.....	105
가. 벼의 sucrose, starch, cellulose 합성대사 별 연관 유전자 염기서열 확보 및 분석.....	105
나. 벼의 전사조절유전자 집단 발굴 및 염기서열 분석.....	105
다. 목적형질의 합성대사별 유전자로 구성된 cDNA microarray system 개발.....	105

라. 벼 형질전환체 개발을 위한 벼 somatic embryo 유도 및 재조합 벡터 개발.....	105
제3절 쌀 고식이섬유 소재개발 및 유전연구.....	106
1. 서 언.....	106
2. 재료 및 방법.....	106
가. 시험재료.....	106
나. 재배법.....	107
다. 약배양.....	107
라. 식이섬유 함량.....	107
마. 쌀 식이섬유관련 유전자 분석.....	107
3. 결과 및 고찰.....	108
가. 잡종집단 및 계통육성.....	108
나. 약배양.....	109
다. 수량성 검정.....	110
라. 식이섬유 관련 유전자 분석.....	111
4. 결과 요약.....	113
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도.....	114
제1절 1차년도.....	114
1. 연구개발 목표.....	114
2. 연구평가의 착안점 및 목표 달성도.....	116
3. 관련분야 기술발전예의 기여도.....	116
제2절 2차년도.....	118
1. 연구개발 목표.....	118
2. 연구평가의 착안점 및 목표 달성도.....	120
3. 관련분야 기술발전예의 기여도.....	120
제3절 3차년도.....	121
1. 연구개발 목표.....	121
2. 연구평가의 착안점 및 목표 달성도.....	123
3. 관련분야 기술발전예의 기여도.....	124
제4절 학문발전예의 기여도.....	124

제 5 장 연구개발결과의 활용계획.....	127
제1절 추가연구의 필요성.....	127
1. 품종개발적인 측면.....	127
2. 쌀 가공품개발 측면.....	128
3. 학문적인 측면.....	128
제2절 타 연구에의 응용.....	128
제3절 기업화 추진방안.....	129
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외 과학기술 정보.....	130
제 7 장 참고문헌.....	131

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구의 목적

최근 국민의 쌀 소비패턴 변화는 고품질 쌀 소비의 증가와 함께 전통적인 밥 짓는 용도의 쌀 소비량을 크게 감소시켰다. 밥 짓는 용도의 쌀 소비량이 감소한다면 이를 대신할 수 있는 쌀 가공산업을 육성해야 하는데, 이에 해당하는 것이 최근 그 소비량이 크게 증가하고 있는 레토르트 쌀밥·무균포장밥·김밥 등의 가공 밥과 쌀 떡볶이·떡국 등의 떡류 가공이다. 이들은 모두 우리가 전통적으로 해 먹던 쌀밥에 비하여 간편하게 이용할 수 있다는 장점이 있어 앞으로 그 소비량이 증가할 전망이다. 이들 가공 밥이나 떡의 원료로 이용할 쌀의 품질에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

국민소득이 증가하면서 식품으로부터 섭취하는 각종 영양소의 양이 증가하고 성인병 환자가 늘어나 대부분의 국민이 성인병에 대한 두려움을 갖고 있다. 따라서 주식량으로 이용하고 있는 쌀에 성인병을 예방할 수 있는 여러 가지 종류의 기능성성분을 첨가할 수 있는 육종적인 방안이 강구되고 있으며 그 결과로 영안벼, 고아미2호, 큰눈벼, 각종 유색미 벼 등이 개발되었으나 이들을 이용한 적절한 가공품 개발은 아직까지 초기단계에 머물고 있는 실정이다. 기능성 성분은 그 종류가 많기 때문에 그 모두를 증진시키기는 어렵고, 핵심이 되는 성분 한 가지씩을 대상으로 육종연구를 할 수밖에 없다.

이와 같은 배경 하에서 본 연구에서는 다음과 같은 목적을 가지고 연구를 수행하였다. 첫째, 쌀의 호화점도특성이 다른 찰벼와 메벼 계통을 육성하여, 호화점도특성이 다른 육성계통 쌀의 가공적성을 비교코자 하였다. 둘째, 이미 개발된 고식이섬유 품종 고아미2호보다 농업적 특성이 개량된 고식이섬유 메벼 및 찰벼계통을 육성코자 연구를 수행하였다. 셋째, 쌀 호화점도특성 및 고식이섬유성과 유전적으로 연관된 DNA marker 개발하여 실제 선발에 적용할 수 있는지를 검토코자 하였다. 넷째, 쌀 호화점도특성 및 고식이섬유성에 대한 DNA microarray 분석을 시

도하여 벼의 주요 생리대사에 관여하는 특성화 유전자 database 구축을 목표로 하였고, 다섯째, 쌀의 호화점도특성 또는 고식이섬유성과 연관된 유용유전자를 이용한 형질전환체를 육성코자 하였다.

2. 연구개발의 필요성

국내 쌀 시장이 부분적으로 개방된 현재 국내시장에서 외국쌀과의 품질경쟁을 유리하게 이끌 수 있게 하기 위해서는 다양한 특수품질의 쌀 품종을 개발하여 부가가치가 높은 쌀 가공품을 만들도록 하는 일이 필요하다. 이에 필요한 것이 가공밥·떡볶이, 다이어트 등 특수용도에 맞는 품질특성을 가진 여러 가지 종류의 품종을 개발하는 일이며 본 연구개발에서 목표로 하고 있는 쌀의 식이섬유 함량과 배유전분의 호화특성은 각각 건강기능성 쌀과 가공 밥이나 떡 제조용의 쌀에서 특별히 고려되어야 하는 특성이기 때문에 이에 대한 육종연구가 필요하다.

가. 기술적 측면

가공 밥이나 가래떡은 쌀에 적당한 양의 물을 넣고 가열하여 쌀의 주성분인 전분을 이용하기 알맞은 상태로 호화시켜 만든다. 쌀 전분의 호화특성은 주로 가열온도 변화에 따른 점성으로 표시되는데 호화과정에서의 점성은 품종에 따라 큰 차이가 난다. 또 가공한 밥이나 떡은 일정한 시간이 지난 후 소비되기 때문에 호화된 전분은 온도강하와 시간경과에 따른 노화과정을 거치며 노화특성도 품종에 따라 차이가 난다. 이와 같은 쌀의 호화와 노화특성이 밥이나 떡의 품질에 큰 영향을 미치기 때문에 밥쌀의 식미특성으로 많은 연구를 해 왔으나 레토르트 쌀밥, 냉동쌀 밥, 무균포장밥, 삼각김밥과 같은 가공 밥이나 그 소비량이 점점 증가하는 떡볶이의 원료 쌀의 특성으로는 어떤 것이 좋은가에 대한 연구가 거의 없으며 따라서 고급 가공 밥이나 떡볶이용 쌀 개발도 전무한 실정이다.

쌀에는 셀룰로스, 헤미셀룰로스, 리그닌 등의 조섬유질이 0.2-0.5%, 현미에는 0.6-1.0% 들어 있어 쌀로 지은 밥을 통해서 우리 국민이 섭취하는 총 식이섬유의 20%를 섭취하고 있다(하태열 2001). 유전자원 중에서 발견할 수 없었던 고식이섬유성 품종이 돌연변이 육종을 통해서 개발되었으나 수량성과 식미가 모두 낮아 이를 직접 이용하기 곤란하기 때문에 이를 개량할 필요가 있다(최해춘 2002). 그동안 벼에서는 고식이섬유성에 대한 연구가 없었기 때문에 식이섬유 함량 수준에 따른 실용적인 이용가치를 평가할 필요도 있으며, 벼에서는 최초로 발견된 고식이섬

유성의 유전분석과 분자표지개발, 관련 유전자의 특성 등을 분자수준에서 밝혀 이의 이용가치를 높일 필요가 있다.

벼 육종에 효과적으로 이용할 수 있는 생물공학기술로 유용형질과 밀접히 연관된 DNA marker를 이용한 선발, 식물체내에서 일어나는 특수물질의 생리대사와 유전현상에 근거한 관련 유전자의 database 구축, DNA microarray 분석, 그리고 특정유전자의 형질전환 등을 들 수 있다. 그러나 쌀의 호화특성이나 고식이섬유성에 관련된 DNA marker 개발과 이를 이용한 선발, 이들에 관련된 유전자의 database 구축과 microarray 분석, 그리고 이들 유전자의 형질전환 연구는 매우 적기 때문에 이에 대한 연구를 활성화시킬 필요가 있다.

우리나라의 벼 육종기술은 국제적으로 고위수준에 있다고 볼 수 있지만 분자수준의 생물공학기술을 벼 육종에 효과적으로 이용하는 부문에서는 앞서 있다고 볼 수 없는 상황이다. 선진국들이 생물공학기술을 국가적 전략산업에 접목시키고 있거나 아예 미래핵심기술로 발전시키고 있다는 점을 보면 우리나라의 발전된 벼 육종분야가 분자수준의 생물공학기술을 하루 빨리 포용하여 기존의 육종기술보다 훨씬 정밀한 육종으로 변화하여야 한다. 따라서 본 연구개발에서 목표로 하고 있는 주식용 가공 쌀에 적합한 호화 및 노화특성을 가진 품종개발과 건강기능성의 하나인 고식이섬유성 품종개발에 분자생물학적 기술을 확립하여 이용하는 연구는 21세기의 육종연구에서는 필수적이라 할 수 있다.

나. 경제·산업적 측면

쌀은 아직도 우리나라 농업소득의 약 40%, 국민 1인당 섭취 열량의 약 32%, 그리고 단백질 섭취량의 약 20%를 차지할 만큼 우리나라의 농업경제와 국민 영양에 미치는 영향이 매우 크다. 우리 국민이 쌀을 주식량으로 하고 있으며 우리의 국토를 효율적으로 이용하여 국민을 충분히 부양할 수 있는 유일한 식량작물이 "벼"이기 때문에 쌀은 경제적·산업적 가치가 아주 크다. 국민의 주식량으로 쌀의 소비양상이 고품질성·안전성·편의성·건강식품성 등으로 바뀌고 있다면 국내 생산 쌀의 유전적 특성도 소비자가 원하는 쪽으로 변해야 한다는 것은 당연하다. 국내 쌀 소비자의 요구에 적합한 쌀을 공급하지 못하면 값싼 외국산 쌀과의 경쟁에서 뒤떨어질 것이며 결국 국내 쌀 산업은 크게 위축될 것이기 때문에 국가경제에서 커다란 손실을 입게 된다. 따라서 국내 소비자가 원하는 고품질의 쌀, 가공적성을 갖춘 쌀, 건강기능성을 가진 쌀 생산을 위한 육종연구가 강화되어야 한다.

쌀 가공제품은 그 종류가 많지만 원료 쌀의 소비량이 많은 것은 무균포장밥·각종 김밥 등 주식으로 이용할 수 있는 가공 밥과 떡볶이·떡국 용 가래떡 등의 떡류이다. 햇반이라는 상품명을 가진 무균포장밥과 삼각김밥과 같은 가공 밥 판매량이 최근 2-3년 사이에 크게 증가하고 있으며, 쌀 떡볶이의 판매량도 계속 증가하고 있어 이들의 산업적 중요성이 점점 커지고 있다(금준석 2001). 가공 밥이나 가래떡 제조에 적당한 쌀의 특성에 대한 연구가 강화되어 품질이 우수한 쌀 가공품이 공급된다면 쌀 소비량이 늘어나고 쌀 산업도 활성화될 것이기 때문에 가공적성 쌀 생산을 위한 육종연구가 필요하다.

쌀에는 우리 인체에 섭취되어 다양하고 우수한 기능을 나타내는 여러 가지 성분이 함유되어 있다. 이러한 기능성 성분이 쌀에만 존재하는 것이 아니라 하더라도 우리가 주식으로 매일 먹고 있는 쌀에 콜레스테롤 저하기능, 항산화 기능, 혈압 조절기능, 당뇨예방 효과, 돌연변이 억제 및 암 예방 효과 등의 기능이 있는 물질이 조금씩 있다는 것은 성인병 예방차원에서 대단히 중요하다(하태열 2001). 개인이나 국가가 각종 성인병 예방과 치료를 위해서 지불하는 막대한 경제적 부담을 줄이기 위해서도 기능성이 강화된 쌀을 생산하여 이용해야 하며 이를 위한 육종연구가 필요하다.

생물공학은 21세기의 새로운 산업, 고용 및 부를 창출하는 대표적인 산업으로 부상하여 세계적으로 보아 1995년부터 2005년까지 연평균 성장률이 다른 어떤 산업보다 가장 높을 것으로 전망하고 있다. 선진국을 중심으로 빠른 속도로 발전하고 있는 생물공학기술을 우리나라의 발전된 벼 육종기술 분야에 집중적으로 접목시키는 연구를 하지 않으면 곧 선진국의 기술종속국이 될 수밖에 없으며 이를 통한 고용과 부를 창출할 수 없게 된다. 우리나라에서는 경제적으로나 산업적으로 쌀 산업을 유지·발전시키는데 생명공학기술이 반드시 적용되어야 국제적인 기술경쟁에서 유리한 위치를 점할 수 있다.

다. 사회·문화적 측면

쌀밥을 중심으로 한 우리의 식생활 문화는 쌀로 지은 밥이 김치, 된장국, 생선, 육류 등과 잘 어울려 균형 잡힌 영양을 섭취할 수 있을 뿐만 아니라 서구식 식단에서 문제가 되는 높은 성인병 유발도 쌀밥 중심 식사로서 해결할 수 있기 때문에 전통적인 우리의 식생활 문화가 우수하다는 것을 알게 되었다. 그러나 핵가족사회에서 부부가 함께 일하는 인구가 늘어나면서 외식 또는 편의식이 늘어나게

되었으며 이와 함께 주식으로써 쌀밥의 소비가 크게 줄어들게 되었다. 그동안 「쌀은 밥 짓는 용도」만을 강조하던 전통적인 생각에 「고급 가공식품용 쌀」 또는 「성인병 예방기능용 쌀」의 개념이 추가되어야 할 사회적 여건이 성숙되었기 때문에 이 분야에 대한 육종연구가 강화되어야 한다.

쌀 가공품으로는 여러 가지가 있지만 원래 쌀이 가지고 있는 기능을 고려한다면 기호식품으로의 가공은 한계가 있을 것으로 판단되며 「지어먹는 밥」을 대신할 수 있는 가공 밥이나 떡볶이 등을 고급화·다양화시킨다면 소비자로부터 큰 호응을 받을 것으로 판단된다. 특히 초중고등 학생들이 즐겨 먹는 떡볶이는 우리나라 고유의 쌀 가공품이라는 면에서 이에 대한 다양한 연구가 필요하다고 본다. 간단하고 편리하게 주식의 개념으로 이용할 수 있는 우리나라 고유의 쌀 가공품 개발에는 그 원료가 되는 쌀의 품질다양화가 선행되어야 한다. 지난 15년여 동안 밥 짓는 용도의 쌀 품질 고급화 연구에 쏟았던 노력만큼 쌀의 가공적성에 대한 연구가 앞으로 이루어진다면 전통적인 쌀밥 문화권의 한국에서 국제적으로 경쟁할 수 있는 가공 밥이나 떡류제품이 나올 것으로 전망한다. 국제경쟁력을 가질 수 있는 우리 고유의 음식가공품으로 쌀밥·김치·된장 등이 거론되는 것은 당연한 이치이다.

제 2 절 연구개발 범위

1. 쌀 호화점도특성 다양화 계통 육성

- 가. 잡종집단 및 계통육성
- 나. 여교배 RILs육성과 SSR분석
- 다. 호화점도특성에 대한 MAS효과 분석
- 라. 선발계통의 생산력검정
- 마. 호화점도특성이 다른 쌀의 가공적성 검정

2. 쌀의 고식이섬유 및 호화점도특성 관련 DNA microarray 구축과

형질전환체 모본개발

- 가. 벼의 sucrose, starch, cellulose 합성대사 별 연관 유전자 염기서열확보 및 분석

- 나. 목적형질 관련 합성대사별 유전자 동정 및 유전자 특이적 염기서열 또는 유사염기서열 부분 증폭을 위한 primer 개발
- 다. 쌀의 고식이섬유 및 호화점도특성 관련 형질 분석 및 분자 수준에서의 계량화와 형질전환체 벼 개발을 위한 벡터시스템 구축
 - 1) 유전자 database 초기화 작업으로서 우선순위유전자 동정 및 DNA microarray 구축 및 분석을 통한 유전자 발현양상 비교
 - 2) 유전자총 (gene gun)을 이용한 형질전환체벼 개발 - 벡터시스템 및 media system 구축
- 라. 쌀의 고식이섬유 및 호화점도특성 관련 형질 분석 및 분자 수준에서의 다면적 계량화 와 육종계통모본으로서 형질전환체 벼 개발
 - 1) 목적형질관련 합성대사별 유전자의 특정부분이 증폭된 제2단계 DNA microarray system 개발
 - 2) 목적형질 관련 우선순위 유용유전자를 이용한 형질전환체 벼 개발
 - 3) 목적형질 관련 유용유전자 database 구축

3. 벼 고식이섬유 소재개발 및 유전연구

- 가. 잡종집단 및 계통육성
- 나. F₁ 약배양 및 Doubled Haploid(DH) 계통 육성
- 다. 쌀 고식이섬유성의 유전분석과 QTL분석
- 라. 쌀 고식이섬유성의 MAS효과 분석
- 마. 선발된 계통의 생산력검정

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내외 관련기술의 현황과 문제점

1. 국내 기술동향

가. 쌀 호화점도특성과 가공적성

- 1) 지금까지 한국의 벼 품종개발은 정부기관인 농촌진흥청 산하 작물과학원, 호남 농업연구소 및 영남농업연구소에서 수행하여 왔으며, 대학·기타 연구소·개인기업 체 등에서의 품종육성은 극히 드물었다. 그러나 최근 우리나라에서 신품종보호 제도가 시행되면서 대학·연구소·개인의 벼 품종개발연구가 활기를 띠어가고 있다. 통일형 품종이 재배되고 있던 1980년대부터 쌀의 외관과 식미개선을 위한 육종이 시작되어 동진벼, 오대벼, 일품벼 등의 양질벼가 개발되어 보급되었고, 1990년대에는 수량성이 높고, 동시에 쌀의 외관과 식미가 우수하며, 복합내병성과 내재해성을 갖춘 삼평벼, 화신벼, 대안벼 등의 품종이 개발되어 재배농가로부터 좋은 평가를 받고 있다(최해춘 2002). 이 품종들은 주곡인 쌀의 안정적인 생산을 위하여 개발된 것으로서 주로 밥쌀용으로 현미의 장폭비가 1.7~2.0, 백미천립중이 17~22g, 심복백 정도(0~9)는 0~1이고 아밀로스함량이 20%이하, 현미단백질함량은 7~9%, 알칼리붕괴도(1~7)는 5~7 범위에서 선발된 것들이다. 또 1990년대에 육성된 양질미 품종들은 밥에 윤기가 있고, 밥알이 매끈하며 열은 구수한 냄새가 있고, 상당한 정도의 찰기가 있으며, 씹는 조직감이 부드럽고 탄력이 있고, 밥이 식어도 쉽게 굳어지지 않는 특성을 가진 것들이다.
- 2) 농촌진흥청에서 개발한 가공용 특수미 품종 (찰벼 제외)은 1993년 튀김용 및 양조용으로 개발한 대립벼1호와 쌀에서 구수한 향이 나는 향미벼1호를 육성한 것을 시작으로 하여 2005년 말까지 27 품종이 육성되었다. 이들을 용도에 따라 구분하면 양조용 3품종, 향미 7품종, 유색미 4품종, 중간찰 2품종, 고아밀로

스 1품종, 고라이신 1품종, 고식이섬유 1품종 등이다(최해춘 2002). 이들 중 중간찰 품종은 가공밥 원료 쌀, 고아밀로스 품종은 떡볶이용 원료 쌀, 고라이신 및 고식이섬유 품종은 건강기능성 쌀로 이용이 권장되고 있다.

- 3) 본 연구책임자의 연구실에서도 고급 가공식품용 및 건강기능용 품종개발을 위한 연구를 1990년대 초반부터 시작하였고, 1995~1999년 5년간 농림기술개발 과제인 “가공적성용 찰벼 신소재개발”을 수행하여 건강기능성을 가진 “자광찰”, 유과 및 인절미 가공적성을 구비한 “건향찰 1호·2호” 등 3품종을 육성하여 농가에 보급 중에 있고 협동연구기관에서는 건강기능성 품종 “서농6호”를 개발하는 성과를 거두었다(김광호 등 2000). 본 연구책임자 연구실에서는 지금도 많은 종류의 육종재료를 유지·발전시키고 있으며, 특히 대량가공을 전제로 한 특성을 가진 재료육성에 초점을 맞추고 있다.
- 4) 쌀의 가공품은 그 종류가 대단히 많고 가공품의 종류에 따라 가공적성이 다르기 때문에 쌀의 가공적성은 매우 복잡하다. 쌀 가공품 중 주식으로 이용할 수 있는 「밥류」는 공장에서 대량으로 가공하여 판매하는 레토르트 쌀밥, 쌀밥 통조림, 알파화미, 냉동쌀밥, 동결건조쌀밥, 무균포장밥 등이 있는데 밥류 가공품의 품질에 관여하는 주요요인은 쌀의 호화 및 노화특성을 비롯한 아밀로스함량, 단백질함량 등이다. 「떡류」는 떡국이나 떡볶이와 같이 떡가래를 만들어야 하는 것과 인절미·시루떡·찹쌀떡은 그 제조 및 이용방법이 서로 다르나 모두 쌀가루를 호화시켜 만든다는 점에서 쌀의 호화 및 노화특성이 떡류 가공적성에서 중요한 위치를 차지하고 있다. 「국수류」 제조에는 아밀로스함량이 높으면서 호응집성이 hard인 쌀이 알맞으며, 청주제조에는 단백질, 지방 및 아밀로스함량이 낮고, soft한 쌀이 좋고, 고추장과 같은 「장류」 제조에는 찹쌀이 좋다. 이 밖에도 「과자류」, 「음료류」, 「죽류」 등이 있으나 이들 각각을 제조하는데 가장 좋은 쌀의 특성이 어떤 것인지는 부분적으로만 밝혀져 있다(금준석 2001).
- 5) 찰벼 품종간 유과, 인절미, 식혜 및 미숫가루 제조적성에 차이가 있음이 최근 발표되었는데 육도농립나1호는 인절미 및 유과제조에 알맞은 특성을 가졌고, 본 연구책임자가 육성한 건향찰1호는 유과제조, 그리고 건향찰2호는 인절미 제조에 각각 알맞은 것으로 보고되었다(김광호 등 2000). 인절미 제조에 알맞은 찹쌀특성으로는 인절미의 물성이 좋아야 하고 저장에 따른 경도 변화가 낮아야 하며, 유과제조에 적합한 특성은 유과의 팽화도와 아삭아삭한 정도 커야 하며

이들은 쌀의 전분구조에 의해서 결정된다고 한다. 또 식혜 제조에 적당한 쌀은 제조한 식혜 물의 색이 옅고 투명해야 하며, 부유밥알이 단정하고 질기지 않아야 하며, 단맛이 강해야 하는데, 강원나, 진부찰벼 등이 이런 특성을 가졌다고 하였다. 미숫가루 제조에 알맞은 특성은 수분흡수지수가 크고, 물에 개었을 때의 점도가 높을 것을 들었는데 본 연구책임자가 육성한 유색찰벼 계통과 향미찰 계통 중에 미숫가루 제조적성이 높은 것이 있었다(강미영 등 2000, 성유미 등 2000, 장수민 등 2001, 최영희 등 2001).

6) 본 연구과제 내용과 밀접하게 관련된 쌀 품질관련 특성을 대상으로 한 기존의 연구결과를 특성별로 정리하면 다음과 같다.

① 쌀가루 현탁액에 가열을 하면 전분특유의 결정성이 없어지고 점성이 증가하는 호화현상이 일어난다. 쌀의 식미 및 가공적성과 밀접한 관계를 갖고 있는 호화특성에는 호화온도 또는 알칼리붕괴도(ADV), 호응집성(gel consistency), 아밀로그램(amylogram) 특성 등이 있으며 이 중 호화온도의 고저를 나타내는 알칼리붕괴도는 우리나라 벼 육종과정에서 널리 이용되어 왔다. 일반적으로 벼 육종가들은 품종 및 계통의 특성으로서 알칼리붕괴도를 1에서 7까지 구분하고 있는데 알칼리붕괴도가 1~2이면 호화온도가 높고(74.4~80℃), 3이면 높은 편, 4~5는 중간(70~74℃), 그리고 6~7이면 호화온도가 낮음(<70℃) 것으로 본다. 호화온도가 높은 쌀은 밥 짓는데 더 많은 물과 시간을 요하며 식미와의 관계는 확실치 않지만 우리나라 국민은 호화온도가 낮은 쌀을 좋아한다. 따라서 우리나라에서 육성한 벼 품종은 쌀의 알칼리붕괴도가 대부분 높고 호화온도는 낮은 편이다(김광호 등 1988).

② 쌀의 호응집성(gel consistency)은 호화시킨 쌀가루의 점성을 나타내는 지표이다. 쌀가루 용액을 알칼리용액에 넣고 호화 및 냉각시킨 후 평판 위에서 젤(gel)의 흘러간 길이에 따라 호응집성이 부드러운(soft) 쌀, 중간(media)인 쌀, 딱딱한(hard) 쌀로 구분하는데 인디카 품종이나 자포니카 품종에서 모두 호응집성이 부드러운 쌀이 식미가 더 좋다. 우리나라 재배품종들의 호응집성은 통일형 및 자포니카형 품종의 대부분이 soft에 속하였으나, 품종간 gel길이의 변이가 인정되어 통일형 품종보다는 자포니카형 품종의 gel길이가 평균적으로 더 길었다. 그리고 찰벼품종들의 호응집성은 품종군에 관계없이 모두 soft에 속하였고 gel길이도 메벼품종보다 길었다(김광호·이현석 1989).

③ 본 과제의 연구책임자 연구실에서는 쌀의 호화특성인 호화온도와 호응집성

에 관하여 1980년대 후반~1990년대 초반에 집중적인 연구를 수행한 바 있다. 특히 쌀의 호응집성에 대해서는 국내 최초로 품종간 차이와 선발효과에 대한 연구를 수행하여 학회지에 발표하여 고품질 벼 품종 선발 기준의 하나로 이용하도록 하였다. 즉, 잡종초기세대인 F2에서 호응집성을 hard와 soft로 구분하여 개체선발하는 것은 선발효율이 높으나 soft내에서 gel길이에 따른 선발은 효율적이지 못하며, 아밀로스 함량과 함께 분리하는 집단에서 아밀로스 함량이 20% 이하인 개체 중에는 호응집성이 hard인 것은 거의 출현하지 않았고, 알칼리붕괴도와 함께 분리하는 집단에서는 알칼리붕괴도가 높은 개체 중에는 호응집성이 soft인 개체의 출현비율이 낮았다는 결과를 보고하여(김광호 등 1992) 육종가에게 유용한 정보를 제공하였다.

④ 쌀가루 현탁액에 92~97.5℃가 될 때까지 서서히 열을 가하여 전분을 호화시키는 과정과 호화된 전분용액을 25~50℃까지 서서히 냉각시키는 과정에서 점도변화를 나타낸 것이 아밀로그램특성이다. 아밀로그램특성은 최고점도, 최저점도, 최종점도(냉각점도), 최고점도와 최종점도의 차이인 강하점도(breakdown), 최종점도와 최저점도의 차이인 응집점도(consistency), 최종점도와 최고점도의 차이인 치반점도(setback), 호화개시온도 등으로 나타내며 이들은 쌀의 식미 및 가공적성과 밀접한 관계를 가지고 있다. 쌀가루의 호화특성을 가장 세밀하게 나타낼 수 있는 아밀로그램특성은 품종, 등숙과정 중의 온도 및 저장기간 등에 따라 차이가 나지만 품종간 변이가 매우 커서 육성 중인 쌀의 품질특성을 나타낼 때 반드시 조사해야 할 특성이다(김광호 등 1988).

⑤ 우리나라에서 조사한 바에 의하면 쌀의 알칼리붕괴성과 호응집성은 밥의 점성과 부의 상관성이 성립되며, 아밀로그램특성 중 강하점도는 식미총평과 정의 상관, 응집점도 및 치반점도는 식미총평과 각각 부의 상관성이 성립되었다. 쌀의 알칼리붕괴도, 아밀로스 및 단백질 함량이 거의 비슷하면서 밥맛에 차이가 나는 벼 품종들 중 식미가 좋은 품종들이 그렇지 않은 품종에 비하여 상대적으로 호응집성이 약간 높으면서 강하점도는 높고 응집점도와 치반점도는 낮은 경향을 보여 쌀의 호화특성 중 아밀로그램특성이 식미에 영향을 주는 중요한 요소임을 보였다(김광호·최해춘 1990, 최해춘 2002).

⑥ 쌀을 호화시킨 후 식히면 점차 굳어지는 노화현상(retrogradation)이라 하는데 호화와 노화과정을 거치며 원래의 전분특성은 전혀 다른 형태로 변한다.

쌀로 만든 떡이나 밥을 저온에 장시간 방치해 두면 노화가 진행되어 맛이 떨어지고 소화성도 떨어지는 변화가 발생하는데 노화에 의한 쌀 가공품의 품질 변화정도도 품종에 따라 차이가 난다. 가공 밥이나 떡을 대량으로 제조하여 유통시킬 때 유통기간에 따른 가공품의 품질 변화를 최소화시키기 위해서 원료 쌀의 노화특성을 고려할 이유가 바로 여기에 있다. 노화정도를 간단히 조사하는 방법이 호응집성이나 아밀로그램특성 중 응집점도인데 앞에서 언급한 바와 같이 메벼나 찰벼 품종간 응집점도의 품종변이가 매우 클 뿐만 아니라 호응집성의 품종변이도 매우 커 육종과정에서 이들을 대상으로 선발하는 것이 효과적이다(최해춘 2002). 노화도를 측정하는 방법은 여러 가지가 있으나 육종에서 필요한 대량검정방법으로 응집점도나 호응집성을 이용할 수 있다.

나. 쌀의 식이섬유

- 1) 식이섬유란 인간의 소화효소로 가수분해되지 않는 탄수화물로 인체 내에서 여러 가지 중요한 역할을 한다(하태열 2001, 최해춘 1997). 첫째, 식이섬유는 에너지를 거의 내지 않고 만족감을 주는 동시에 음식물의 장내 통과시간을 단축시킴으로서 비만의 예방과 치료에 효과가 있다. 둘째, 장내의 콜레스테롤이 인체에 흡수되는 것을 억제함으로써 혈중 콜레스테롤이 상승됨을 억제하여 동맥경화증과 허혈성 심장질환을 예방한다. 셋째, 펙틴 등의 수용성 식이섬유는 식사 후 혈당량이 상승되는 것을 억제하여 인슐린 분비를 절약시킴으로 당뇨병 예방에도 유효하다. 넷째, 불용성 식이섬유는 대변의 용적을 증가시키고 음식물의 장내 통과시간을 단축시켜서 변비의 예방에 유효하며, 다섯째, 중금속 등의 유해물질을 흡착시켜 배설시키거나 유해물질의 흡수를 억제한다. 현미 100g에는 조섬유질이 0.6~1.0g, 백미 100g에는 0.2~0.5g 정도 들어 있으며 이들은 주로 셀룰로스, 헤미셀룰로스, 펙틴질, 리그닌 등으로 구성되어 있다.
- 2) 벼 유전자원을 이용하여 식이섬유 함량의 변이를 밝힌 연구는 아직까지 없으나 본 연구과제의 협동연구기관에서 돌연변이에 의하여 육성한 계통 중에서 식이섬유 함량이 월등히 높은 수원464호를 선발하는 업적을 이룬바 있다. 수원464호는 보통 벼에 비하여 조섬유 함량이 약2~3배, 셀룰로스와 헤미셀룰로스 함량도 2~3배로서 식이섬유 함량이 월등히 높을 뿐만 아니라 전분이 호화가 잘 안되고 난소화성인 경향을 보인다. 따라서 수원464호의 쌀가루는 인간의 체내 소화이용 흡수면에서 보면 매우 바람직스럽지 못한 특성을 갖추고 있다고 볼

수 있으나 비만이나 당뇨병으로 고생하고 있는 사람들에게는 효과적인 식품소재가 될 수 있다.

- 3) 수원464호는 식이섬유함량은 높으나 성장속도와 분얼력이 떨어지고 수량성도 낮아서 이것을 직접 이용하기는 어렵다. 또한 고섬유소 및 난소화성 전분으로 배유가 구성되어 있어서 볍씨의 발아능력이 떨어지고 이유기까지 어린모 상태에서 충분한 영양공급이 잘 안되기 때문에 성묘율이 떨어지는 등의 결점이 있다. 따라서 실용적인 작물학적특성과 고식이섬유성을 결합시키기 위한 교배조합(수원464호/동진벼, 수원464호/소비벼, 수원464호/신동진벼, 수원464호/추청벼, 수원464호/수원428호, 수원464호/백진주, 수원464호/설갱, 수원464호/일품벼, 백진주/수원464호, 설갱/수원464호)이 만들어져 F1과 F2가 재배·수확되었으며, 수원464호/거대배//화선찰벼, 수원428호/수원464호//거대배, 수원464호/일품벼//일품벼 등의 여교배조합이 만들어져 있다. 본 연구계획은 고식이섬유성 계통육성연구를 확대시킨 것이다.

다. DNA microarray분석

- 1) DNA microarray 분석을 통한 선발계통에 대한 분석은 각 선발계통이 가지는 유전자의 발현특성을 일목요연하게 관찰함으로써 인공교배 또는 생명공학적인 기법으로서 형질전환체내의 유전자의 도입을 통해 어떤 유전자 집단이 전이되어, 얼마만큼 발현되었으며 형질전환체내로 도입된 특정유전자가 생리대사상 어떤 변화를 초래하였는지에 대한 추론을 가능하게 하는 육종선발기술의 전형적 변화(paradigm shift)의 시도이다. 이 같은 시도는 발현형질의 분석 또는 유전자표지 (DNA marker) 분석에 주로 의존하던 기존의 선발방법의 중요한 선발지표의 한 수단으로서 또는 중요 분석자료로서 보다 효과적이고 합리적인 선발이 가능해지며 유전자표지의 개발이 어려운 특수 상황 하에서는 선발의 주요 수단으로 대체 이용할 수 있다.
- 2) DNA microarray 분석을 위한 소위 유전자 칩 (gene chip)이라 불리는 기술은 유전자의 염기서열 분석이 선행되어야 함은 물론 생리대사에 대한 고도의 지적 기반이 요구되어 그 절대적 필요성은 공론화되어 있으나 실제 개발되어 적용된 사례는 우리나라 생명과학 전 분야에 걸쳐 몇몇 사용된 예가 있으나 전체적으로 아주 미미한 실정이며 농업생명과학분야 또한 몇 개의 DNA microarray system의 개발이 시도되었다.

2. 외국의 기술현황

가. 일본은 최근에 외국벼나 돌연변이계통을 이용하여 많은 신형질 특수미 품종을 개발하였다. 즉, 저아밀로스 중간찰 품종으로 ‘밀키퀸’을 비롯하여 각 지역별로 ‘소프트158’, ‘하나부사’, ‘스노팔’, ‘야와라꼬마찌’ 등 많은 유사한 중간찰 품종을 개발하여 주먹밥이나 가공밥 원료로 이용할 것을 권장하고 있다. 빵이나 국수 등 분식용으로 이용될 ‘호시유타까’ 등 고아밀로스 품종, ‘사리퀸’ 등 향미 품종, ‘베니로만’ 등 유색미 품종, 신장병 환자식용으로 가소화 단백질인 글루테린 함량이 낮은 ‘LG-C-1’, ‘춘양’ 등과 거대배미인 ‘하이미노리’ 등이 육성 보급되었다(최해춘 등 2002).

나. 미국에서는 특수용도 쌀 생산을 위한 찰벼 및 향미 품종 개발이 이루어지고 있다.

표 1. 한국과 일본의 특수가공용 벼 품종 비교

한 국			일 본		
품종명	육성연도	특수형질	품종명	육성연도	특수형질
백진주	2001	중간찰	밀키퀸	1995	저아밀로스 쌀 (중간찰)
만미	2002	중간찰	소프트158	1995	
백진주1호	2005	중간찰	하나부사	1998	
고아미	2000	고아밀로스 쌀	야와라꼬마찌	1995	
고아미2호	2002	고아밀로스 쌀	다끼다테	2001	
설갱	2001	뽀얀메	실키파	2001	
향미벼1호	1993	향 미	밀키프린세스	2000	
향미벼2호	1996		유끼노하나	2004	
향남	1995		미야유다가	2004	
미향	1998		유메또이로	1998	
설향찰	1999		호시니시키	1996	
아랑향찰	1997		다이찌노호시	2003	
흑진주	1997	유색미	하기노까오리	1991	향 미
적진주	2000		끼타까오리	1992	
흑남	1997		찌호노까오리	1999	
흑향	2000		프린세스사리	1996	유색미
흑광	2003		베니로만	1995	
조생흑찰	2004		베니고로모	2001	
흑선찰	2000		아사무라사끼	1996	
흑광찰	2004		오꾸노무라사끼	2000	
양조	1994	양조용(다심백)	순요	2001	저글루테린 쌀
영안	2001	고라이신 쌀	LGC소프트	2001	
대립벼1호	1993	대립미	LGC준	2003	
서농6호	2002	거대배미	하이미노리	1995	거대배미
서농8호	2005		메바에모찌	2001	
큰눈벼	2005		꼬이아즈사	2005	

제 2 절 연구결과가 국내외 기술개발현황에서 차지하는 위치

1. 국내외적으로 쌀 가공품과 쌀의 이화학적 특성간의 관계가 명확하지 않기 때문에 고품질 쌀 가공품개발이 어려운 실정이다. 특히 찰벼 및 중간찰벼의 호화점도 및 노화특성과 가공적성간의 관계를 더 정밀하게 분석할 필요가 있으며 따라서 호화점도특성의 다양화 소재를 개발해야 한다. 최근 크게 발전하고 있는 분자생물학적 기법을 이용하여 호화점도 및 노화 관련 유전자를 찾아 형질전환시켜 변이체를 만든다면 특수 가공품 제조적성에 대하여 확실한 이해를 할 수 있을 것으로 본다.
2. 쌀의 식이섬유 함량이 월등히 높은 변이체를 선발한 것은 세계에서 우리나라가 최초이며, 이 변이체를 이용한 육종연구를 진행하고 있는 연구진도 우리나라에만 있다고 본다. 우리나라에서도 본 연구팀의 연구원들이 이 분야를 집중적으로 연구하고 있다. 따라서 이 변이체에 대한 전통적인 방법과 분자생물학적 방법을 이용한 유전·육종 연구를 꾸준히 하면 국제적으로 자랑할 만한 연구결과를 얻을 수 있을 것으로 생각한다.
3. 쌀 소비 패턴의 변화는 고품질쌀 소비증가와 함께 전통적인 주곡의 위치에서 가공식품의 원료로 이용되는 비율이 증가하는 추세이다. 쌀을 재료로 한 가공품 제조 등 가공산업 원료로서의 쌀 특성의 다양성이 요구되고 있는 실정이며 이에 따른 벼 품종의 가공특성 개량이 활발해 질 것이다. 실제로 한국과 일본에서는 최근 10여년 사이에 각각 16품종 및 29품종을 육성했는데, 가공품은 그 종류가 다양하기 때문에 가공적성의 내용이 서로 다른 다양한 품종을 필요로 할 것이다. 쌀은 밀이나 옥수수에 비하면 가공적성에 대한 연구역사가 짧기 때문에 그 내용이 빈약한 편이어서 앞으로 이에 대한 연구와 품종개량이 확대될 것으로 생각한다.
4. 소득수준이 향상되면서 국민의 건강과 삶의 질에 대한 관심이 크게 높아졌다. 따라서 우리의 주식량인 쌀을 기능성중심으로의 개량, 즉 질적 개량이 필요하다는 새로운 개념도입도 시도되고 있다. 이 같은 식미성이 강조된 고품질, 국민건강과 삶의 질적 측면에서의 기능성이 강조된 nutraceutical로서의 식량외적 기능, 그리고 공업원료로서의 가공특성의 조화를 추구하는 노력은 식량산업분야에

서 세계적으로 보편화된 추세이다. 쌀의 기능성도 그 종류가 많기 때문에 하나씩 해결해 나가야 할 것이며 우리나라에서도 이에 대한 품종개량 연구는 앞으로 확대될 전망이다.

5. 벼를 포함한 농작물의 Genome sequencing 또는 EST database 구축은 초대형규모의 연구투자가 밀반침이 되어야 한다. 그러나 국내의 연구여건상 여러 무리가 따른다 이러한 국내 연구현실에서 그리고 식량안보의 전략적 차원에서 주요 경제작물의 주요 생리대사 특성화 유전자 database 구축 및 DNA microarray 개발은 초대형규모의 연구투자로 얻어지는 연구결과를 부분적으로 이용할 수 있는 유일한 방법이며 국제경쟁력을 갖추는 유일한 방법이다. 또 벼의 주요 생리대사에 관여하는 특성화 유전자 database 구축 및 DNA microarray system의 개발은 고도의, 복합적이고 체계적인 다양한 전문지식기반이 요구되며 유전, 생리, 대사 현상에 대한 체계적 정보축적 및 이를 기반으로 한 물질특허신청 가능성이 가시적으로 증대되는 등 그 결과의 부가가치는 매우 크다고 본다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 쌀 호화점도특성 다양화 계통 육성

1. 서언

쌀가루 현탁액에 92~97.5℃가 될 때까지 서서히 열을 가하여 전분을 호화시키는 과정과 호화된 전분용액을 25~50℃까지 서서히 냉각시키는 과정에서의 점도변화를 나타낸 것이 아밀로그램특성이다. 아밀로그램특성은 최고점도, 최저점도, 최종점도(냉각점도), 최고점도와 최종점도의 차이인 강하점도(breakdown), 최종점도와 최저점도의 차이인 응집점도(consistency), 최종점도와 최고점도의 차이인 치반점도(setback), 호화개시온도 등으로 나타내며 이들은 쌀의 식미 및 가공적성과 밀접한 관계를 가지고 있다. 쌀가루의 호화특성을 가장 세밀하게 나타낼 수 있는 아밀로그램특성은 품종, 등숙과정 중의 온도 및 저장기간 등에 따라 차이가 나지만 품종간 변이가 매우 커서 육성 중인 쌀의 품질특성을 나타낼 때 반드시 조사해야 할 특성이다(김광호 등 1988).

쌀을 호화시킨 후 식히면 점차 굳어지는 노화현상(retrogradation)이라 하는데 호화와 노화과정을 거치며 원래의 전분특성은 전혀 다른 형태로 변한다. 쌀로 만든 떡이나 밥을 저온에 장시간 방치해 두면 노화가 진행되어 맛이 떨어지고 소화성도 떨어지는 변화가 발생하는데 노화에 의한 쌀 가공품의 품질변화정도도 품종에 따라 차이가 난다. 가공 밥이나 떡을 대량으로 제조하여 유통시킬 때 유통기간에 따른 가공품의 품질 변화를 최소화시키기 위해서 원료 쌀의 노화특성을 고려할 이유가 바로 여기에 있다. 노화정도를 간단히 조사하는 방법이 호응집성이나 아밀로그램특성 중 응집점도인데 앞에서 언급한바와 같이 메벼나 찰벼 품종간 응집점도의 품종변이가 매우 클 뿐만 아니라 호응집성의 품종변이도 매우 커 육종과정에서 이들을 대상으로 선발하는 것이 효과적이다(최해춘 2002). 노화도를 측정하는 방법은 여러 가지가 있으나 육종에서 필요한 대량검정방법으로 응집점도나 호응집성을 이용할 수 있다.

쌀의 가공품은 그 종류가 대단히 많고 가공품의 종류에 따라 가공적성이 다르

기 때문에 쌀의 가공적성은 매우 복잡하다. 쌀 가공품 중 주식으로 이용할 수 있는 「밥류」는 공장에서 대량으로 가공하여 판매하는 레토르트 쌀밥, 쌀밥 통조림, 알파화미, 냉동쌀밥, 동결건조쌀밥, 무균포장밥 등이 있는데 밥류 가공품의 품질에 관여하는 주요요인은 쌀의 호화 및 노화특성을 비롯한 아밀로스함량, 단백질함량 등이다. 「떡류」는 떡국이나 떡볶이와 같이 떡가래를 만들어야 하는 것과 인절미·시루떡·찹쌀떡은 그 제조 및 이용방법이 서로 다르나 모두 쌀가루를 호화시켜 만든다는 점에서 쌀의 호화 및 노화특성이 떡류 가공적성에서 중요한 위치를 차지하고 있다. 「국수류」 제조에는 아밀로스함량이 높으면서 호응집성이 hard인 쌀이 알맞으며, 청주제조에는 단백질, 지방 및 아밀로스함량이 낮고, soft한 쌀이 좋고, 고추장과 같은 「장류」 제조에는 찹쌀이 좋다. 이 밖에도 「과자류」, 「음료류」, 「죽류」 등이 있으나 이들 각각을 제조하는데 가장 좋은 쌀의 특성이 어떤 것인지 부분적으로만 밝혀져 있다(금준석 2001).

본 연구에서는 쌀의 가공적성과 밀접한 관계에 있는 쌀가루의 호화점도특성이 서로 다른 메벼 및 찰벼 계통육성을 목표로 하여 수행하였으며, 계통선발과정에서 유용하게 이용할 수 있는 DNA marker 개발과 호화점도특성이 다른 서로 쌀의 가공적성의 비교도 연구내용에 포함시켰다.

2. 연구방법 및 내용

가. 잡종집단 및 계통육성

1) 실험재료

본 연구가 시작된 2003년(1차년도)에는 F1 6조합, F2 4조합, F3 7조합, F4 3조합, F5 4조합, F6 2조합, 총 26교배조합의 잡종집단과 계통, 2차년도인 2004년에는 F2 7조합, F3 1조합, F4 6조합, F5 3조합, F6 5조합, F7 2조합, 총 24교배조합의 잡종집단과 계통, 그리고 3차년도인 2005년에는 F6 3조합, F7 2조합, F8 2조합, 총 7조합의 집단과 계통을 육종재료로 사용하였다.

2) 재배법

2003년부터 2006년까지 매년 육종포장에 재배하는 실험재료는 해에 따라 4월 25일~5월 1일 사이에 파종하고, 5월 말에서 6월 5일 사이에 경기도 여주군 가남면 소재 건국대학교 실습농장에 30×15cm의 재식거리, 주당1본식으로 이앙하였다. 육종포장의 시비량은 10a당 N-P₂O₅-K₂O = 11-7-8 kg 수준이었고 시비법

및 기타 재배관리는 중부지방의 관행방법에 따라 시행하였다.

3) 조사방법

배유의 알칼리붕괴도는 KOH 1.4% 12ml 용액에 백미 6립씩을 침지한 후 30℃ 항온기에서 23시간 경과한 다음 쌀알이 붕괴된 정도를 1~7 등급으로 구분하여 조사하였다. 호화점도특성은 쌀가루 3g을 sample can에 증류수 25ml와 함께 넣어 잘 섞은 후 신속점도측정계 (Rapid Visco Analyzer)를 이용하여 최고점도, 최저점도, 최종점도, 강하점도, 치반점도 등을 조사하였다.

4) 선발방법 : 포장에서 출수기 및 초형을 근거로 개체선발 후 실내에서 배유의 찰메성, 알칼리붕괴도 및 호화점도특성을 조사하여 다시 선발하였다.

나. 여교배 RILs육성과 SSR분석

1) 실험재료

자포니카 품종과 통일형 품종을 교배한 후 자포니카로 여교배한 진미벼/wx202-25-1-5-1-3-2-1-3//진미벼 조합과 진미벼/wx185-29-1-3-3-2-2-2//진미벼 조합 각각의 F7 235계통과 157계통을 잡종집단 및 계통육성실험과 같은 방법으로 포장에 재배하였다.

2) SSR분석

분석에 사용한 벼의 genomic DNA는 2003년도 RILs 포장에서 7월초 각 계통별로 1포기에서 어린잎을 채취하여 -80℃ 냉동고에 보관하였다가 액체질소를 이용하여 막자사발로 곱게 간 후 20% SDS방법을 일부 변경하여 추출하였다. 벼의 6번과 8번 염색체 각각에 고르게 분포하고 있는 총 10개의 RM primer를 선발하여 마커로 사용하였다 (표1-2). PCR mixture와 PCR 조건은 본 실험실에서 그동안 사용하던 방법을 따랐으며 SSR product는 denature polyacrylamide gel로 전기영동한 후 silver staining하여 band를 확인하였다.

다. 호화점도특성에 대한 MAS효과 분석

1) 실험재료

잡종집단 및 계통육성 포장에 공시한 자포니카 품종과 통일형 품종을 교배한 후 자포니카 품종으로 2회 여교배한 안산벼///진미벼/wx199-35-5-3//진미벼 조합의 F₅ 53계통과 진미벼///진미벼/wx209-29-12-2//진미벼 조합의 F₆ 51계통을 실험재료로 사용하였다.

2) 분자표지이용 선발

SSR분석 결과 호화점도특성과 연관된 것으로 밝혀진 5종의 RM primer를 이용하여 SSR분석을 한 후 특정한 band가 나타난 계통을 선발하여 2005년도에 재배한 후 계통별로 수확한 쌀의 호화점도특성을 조사하였다.

라. 선발계통의 생산력검정

1) 실험재료

쌀의 호화점도특성이 다양한 계통을 선발할 목적으로 건국대학교 식물육종학 연구실에서 선발해 온 특수가공용 벼 육성계통 중 특이한 호화점도특성을 가진 계통은 2005년과 2006년의 생산력검정시험에 공시하였다. 그리고 2003년 이후 호화점도특성 다양화를 목표로 하여 선발해 온 고세대 계통은 2006년도 생산력검정 포장에 공시하였다.

2) 재배법

2005년에는 4월 30일 파종, 5월 31일에 이앙하였고, 2006년에는 4월 28일 파종, 5월30일에 경기도 여주군 가남면 소재 건국대학교 실습농장에 30×15cm의 재식거리, 주당3본식으로 이앙하였다. 육종포장의 시비량은 10a당 N-P₂O₅-K₂O = 11-7-8 kg 수준이었고 시비법 및 기타 재배관리는 중부지방의 관행방법에 따라 시행하였다.

마. 호화점도특성이 다른 쌀의 가공적성 검정

1) 실험재료

본 연구에서는 표 1-3에 나와 있는 메벼 6품종(IR36, IR50, 추청벼, 일품벼, 주남벼, 새추청벼)의 쌀과 7품종(wx185, wx199, wx209, 수원290호, 자채찰, Taichung SG 1, 화선찰벼)의 찰쌀을 재료로 하여 연구를 수행하였다. 실험에 사용한 재료 쌀은 건국대학교 실습농장에서 2005년도에 생산한 것이다.

2) 가공적성 평가

가공적성 평가를 위해서 각 품종의 쌀을 이용하여 밥, 떡, 과자, 빵, 가래떡을 만들어 상온에서 냉각시킨 다음 동일한 크기와 모양(1×1×1 또는 2×2×1cm)으로 잘라서 texture analyzer(TAXT2, Stable Microsystem England)로 텍스처를 측정하였다.

● 밥은 각 품종의 쌀 50g을 물 50ml에 넣어 1시간 정도 불려서 사용하였다.

그 후, 세척하여 40~50분 정도 끓여서 밥을 지었다. 1시간동안 상온에서 냉각한 후, 각 낱알을 texture analyzer로 hardness, cohesiveness, springiness, gumminess, chewiness, adhesiveness를 측정하여 비교 분석하였다.

● 떡은 먼저 각 시료를 곱게 분쇄하여 따뜻한 물 8ml에 소금 1g을 넣어 녹인 다음 분쇄된 시료 15g을 섞어 반죽하고 찜통에 넣어서 30~40분간 증숙하였다. 이와 같이 제조된 떡은 1시간 상온에서 냉각시킨 후 동일한 모양(1×1×1cm)으로 절단하여 texture analyzer로 hardness, cohesiveness, springiness, gumminess, chewiness, adhesiveness를 측정하여 비교 분석하였다.

● 빵은 먼저 각 시료를 곱게 분쇄하여 설탕 5g과 소금 0.25g을 물 15ml에 넣어 완전히 녹이고 달걀 3g을 넣어 거품기로 고루 섞었다. 위 재료들이 물에 완전히 혼합되면 생 이스트 1g을 넣고 잘 풀었다. 마지막으로 각 재료 30g과 활성 gluten 10g을 넣어 반죽 하였다. 반죽이 한 덩어리가 되면 버터 4g을 넣어 다시 반죽하였다. 이 반죽을 5분 정도 치대면서 잘 반죽하여 37℃에서 2시간을 숙성시켰다. 그 후 반죽을 일정 크기로 나눈 다음 180℃에서 20분간 구워 빵을 만들었다. 완성된 빵은 1시간 정도 상온에서 식혀서 texture analyzer로 hardness, cohesiveness, springiness, gumminess, chewiness, adhesiveness, springiness를 측정하여 비교 분석하였다.

● 과자는 물 15ml에 소금 0.25g과 설탕 5g을 넣어 녹인 다음 버터 4g을 넣어서 잘 녹이고 각 재료 30g과 활성 gluten 10g, 베이킹파우더 1.2g을 넣어서 잘 반죽 하였다. 반죽을 랍에 싸서 냉장고에서 30분 숙성하고 일정한(0.5mm) 두께로 밀어 크기를 같게 잘라서 180℃에서 10분간 구웠다. 완성된 과자는 1시간 상온에서 냉각하여 texture analyzer로 텍스처를 측정하여 비교 분석하였다.

● 가래떡은 물 15ml에 소금 1g을 넣어 잘 녹이고, 분쇄된 쌀가루(50g)를 넣고 잘 혼합한 후 15분간 증숙하여 가래떡을 뽑아내었다. 맵쌀인 경우에는 가래떡, 찹쌀인 경우에는 인절미 형태로 만들어서 texture analyzer로 떡의 hardness, cohesiveness, chewiness, adhesiveness를 측정하여 비교 분석하였다.

3. 연구결과

가. 잡종집단 및 계통육성

쌀 호화점도특성 다양화계통 육성을 위해서 2003년도 육종포장에는 F1 6조합, F2 4조합, F3 7조합, F4 3조합, F5 4조합, F6 2조합 등 총 26교배조합의 잡종집단 및 계통을 재배하였고, 포장에서의 생육상태와 초형을 고려하여 22교배조합의 잡종개체 및 계통을 선발하였다(표1-1). 선발된 개체에 대하여 실내에서 쌀가루의 gel consistency를 조사하였는데, 배유전분이 찰성인 개체 또는 계통 간에는 gel길이에 차이가 없었고, 메벼의 경우에만 변이를 보였다. 쌀가루의 호응집성과 RVA로 조사하는 호화점도특성 간의 관계를 확인할 필요가 있다고 판단하였다.

2004년도 육종포장에는 F2 7조합, F3 1조합, F4 6조합, F5 3조합, F6 5조합, F7 2조합 등 총 24교배조합의 잡종집단 및 계통을 재배하였다. 이 중 포장에서의 생육상태와 초형을 고려하여 13교배조합의 잡종개체 및 계통을 선발하였으며(표1-1), 선발된 조합의 일부는 개체별 쌀 배유의 아밀로스함량, 알칼리붕괴도 및 호화점도특성을 조사하였고, 일부 잡종계통에 대해서는 쌀의 호화점도특성을 조사하였다(표1-2).

육성 중인 교배조합 중 F5에서 2조합, 그리고 F6에서 1조합은 초형을 비롯한 농업형질이 좋았으며 계통 간 쌀의 호화점도특성 차이가 뚜렷하여 본 연구의 최종 목표인 호화점도특성 다양화 계통 선발에 적합한 특성을 보였다. 표 1-2에서 보면 찰벼의 호화점도가 메벼보다 훨씬 낮을 뿐만 아니라 계통 간 변이도 적지만 최고점도, 최저점도, 최종점도 등에서 큰 차이가 나는 계통들이 발견되었으며, 메벼계통 간에도 강하점도와 치반점도에 큰 차이가 나 이들 계통은 고정시킨 후 가공적성을 평가할 필요가 있다고 본다.

2005년도 육종포장에는 전년도에 포장 및 실내에서 선발한 F6 3조합 37계통, F7 2조합 20계통, 그리고 F7 1조합 20계통을 재배하였다. 포장에 공시한 대부분의 계통들이 전 생육과정에 걸쳐 외형상 계통 내 분리가 없었으며, 계통별 쌀가루의 호화점도특성이 앞 세대와 유사하게 나왔기 때문에 계통별로 집단 채종하여 2006년도에 생산력검정시험에 공시할 수 있을 것으로 판단하였다. 따라서 2005년도에 공시한 F6 고세대 계통 중 초형이 우수한 12계통은 계통별 집단채종을 하였으며, 이들은 모두 2006년도 생산력검정 예비시험에 공시되어 포장에서 생육 중이다. 2005년도 육종포장에서도 총 27계통 85개체를 선발하였고 실내검정을 거쳐 총 51계통이 2006년도 육종포장에서 재배되고 있다.

표 1-1. 연구기간 중 포장에 재배하여 선발한 육종재료

연도	세대	교배조합	재배		선발	비고
			집단 수	계통(개체) 수	계통(개체) 수	
2003	F1	진미벼/KR01004		80개체	35개체	
		KR97033-B-B-77/진미벼		22	20	
		KR97033-B-B-121/진미벼		25	21	
		진미벼/KR97033-B-B-174		20	20	
		다산벼/KR97040-B-B-19		33	30	
	F2	청명벼/진품벼		300	60	
	F3	KR92021-B~/KR92009-125~	1	300	48	유망한 조합
		KR92021-B~/KR92009-125~	1	300	60	"
		KR92021-B~/KR92009-125~	1	300	56	"
		KR92021-B~/KR92009-125~	1	300	63	"
		KR92021-B~/KR92009-125~	1	300	47	
		KR92021-B~/KR92009-125~	1	300	52	
	F4	청명벼/설향찰벼	1	300	66	
		KR92021/KR92009//KR92021	1	300	176	유망한 조합
		안산///진미/wx199-35~//진미	1	300	50	
	F5	KR92021-B~/KR92009-125~	1	75계통	18계통	유망한 조합
진미///진미/wx209-29~//진미			300개체	49개체		
F6	진미///진미/wx185-29~//진미	1	300	46		
	아랑향찰/충북흑미	1	300	67		
	진미벼/wx202-25-1-5~	1	9계통	9계통		
F6	진미벼/wx202-25~//진미벼		241계통	238계통	여교배 RILs	
	진미벼/wx185-29~//진미벼		161계통	160계통	"	
2004	F2	KR92037(HAC)/KR92037(LAC)		300개체	250개체	유전연구용
		KR90013(HAC)/KR90013(LAC)	1	300	250개체	유전연구용
		KR90045(LADV)/KR90045(HADV)	1	300	250개체	유전연구용
	F3	청명벼/진품벼	1	300	65개체	초형 좋음
	F5	KR92021-B-B-234/KR92009-125	1	100계통	30계통	유망한 조합
		안산벼///진미벼/wx199-35//진미벼		10계통	15계통	유망한 조합
	F6	진미벼///진미벼/wx209-29//진미벼		52계통	20계통	유망한 조합
		진미벼///진미벼/wx202-25//진미벼		11계통	5계통	
		진미벼/wx202-25-1-5~//진미벼		24계통	3계통	
		진미벼/wx185-29-1-3~//진미벼		20계통	2계통	
F7	아랑향찰/충북흑미		21계통	5계통		
	진미벼/wx202-25-1-5//진미벼		235계통	235계통	여교배 RILs	
	진미벼/wx185-29-1-3//진미벼		157계통	157계통		
2005	F6	KR92009-125/KR92021-B-B-5		15계통	6계통	유망한 조합
		KR92021-B-B-234/KR92009-125		7계통	4계통	
	F7	안산벼///진미벼/wx199-35//진미벼		15계통	4계통	유망한 조합
		진미벼///진미벼/wx209-29//진미벼		18계통	7계통	유망한 조합
	F8	진미벼///진미벼/wx202-25//진미벼		2계통		
		진미벼/wx185-29-1-3//진미벼		20계통	4계통	유망한 조합
	진미벼/wx202-25-1-5//진미벼		233계통	232계통	여교배 RILs	
	진미벼/wx185-29-1-3//진미벼		155계통	155계통		

표 1-2. 다양한 호화점도특성을 보인 찰벼와 메벼계통

교배조합	배유 특성	계통 번호	최고점도 RVU	최저점도 RVU	최종점도 RVU	강하점도 RVU	치반점도 RVU
안산벼///진미벼/ wx199-35// 진미벼	찰	3259	207.5	97.6	125.2	109.9	-82.3
		3260	174.3	32.7	44.3	141.6	-129.9
		3274	138.0	52.0	66.9	86.0	-71.1
		3278	139.7	57.0	73.7	82.7	-66.0
		3300	211.0	103.9	129.3	107.1	-81.8
	메	3264	256.5	176.4	294.0	80.1	37.5
		3273	288.3	164.4	257.8	123.8	-30.4
		3284	251.8	176.5	300.2	75.3	48.3
		3292	247.3	177.5	290.7	69.8	43.4
		3293	288.0	167.4	266.3	120.6	-21.8
진미벼///진미벼/ wx209-29// 진미벼	찰	3366	229.8	109.2	141.2	120.7	-88.7
		3367	130.8	62.5	78.0	68.3	-52.8
		3368	133.6	59.8	78.3	73.8	-55.3
		3383	201.4	99.7	124.4	101.8	-77.0
		3402	226.5	95.1	119.5	131.4	-107.0
	메	3371	302.9	171.6	279.7	131.3	-23.3
		3373	250.3	193.4	306.2	56.9	55.8
		3382	278.8	150.2	242.1	150.2	-36.7
		3388	260.1	187.6	309.5	72.5	49.4
		3399	327.8	193.8	281.3	133.9	-46.5
KR92021/ KR92009	찰	3154	120.8	47.5	60.3	73.3	-60.5
		3192	133.4	41.4	55.1	92.0	-78.3
		3199	164.9	60.8	77.0	104.1	-87.9
		3207	130.2	60.3	77.4	69.9	-52.8
		3244	172.6	76.3	100.5	96.3	-72.1
		3256	129.5	62.7	79.8	66.8	-49.8

쌀의 호화점도특성과 관련된 형질들의 유전연구를 위하여 F2 개체별로 수확한 F3종실을 이용하여 쌀알의 알칼리붕괴도, 배유의 투명도 및 호화점도특성을 조사하였다. 쌀 알칼리붕괴도가 다른 근동질유전자 계통간 교배조합의 F2 개체별 쌀의 알칼리붕괴도를 조사한 결과 알칼리붕괴도가 낮은 개체, 분리하고 있는 개체, 그리고 높은 개체가 1 : 2 : 1의 분리비에 적합하게 분리하여 실험재료가 옳게 만들어졌음이 확인되었다. 알칼리붕괴도에 따른 호화점도특성 분포를 비교한 결과 알칼리붕괴도가 낮은 개체군(ADV 1-2)이 높은 개체군(ADV 5-6)에 비하여 최저점도, 최종점도, 치반점도, consistency는 유의하게 낮은 쪽에 분포하였고, 강하점도는 높은 쪽에 분포하여 (표 1-3) 알칼리붕괴도와 호화점도특성 간 유전적으로 밀접한 관계에 있음을 알 수 있었다.

배유의 투명도에 차이가 뚜렷한 근동질유전자 계통간 교배조합의 F2 개체에서 수확한 F3종자를 이용하여 개체별로 쌀알의 투명도와 호화점도특성을 조사하였다.

그 결과 뽀얀 쌀이 맑은 쌀에 비하여 최저점도, 최종점도, 치반점도 및 consistency가 유의하게 낮아 쌀알의 투명도와 호화점도특성 간에 유전적인 관계가 성립됨을 알 수 있었다.

표 1-3. 쌀 ADV 근동질유전자 계통간 교배조합에서 ADV에 따른 호화점도특성 분포양상

		최저점도									평균	표준 편차	x ² -값
ADV	193 이하	193.1 -201	201.1 -209	209.1 -217	217.1 -225	225.1 -233	233.1 -241	241.1 -249	249.1 이상	계			
L	1	8	18	13	8	1	2	1	-	52	210.6	10.9	79.4**
S	-	4	13	26	30	29	7	4	1	114	220.6	10.9	
H	-	-	1	6	3	7	10	6	2	35	231.5	12.6	
계	1	12	32	45	41	37	19	11	3	201			
		최고점도									평균	표준 편차	x ² -값
ADV	340 이하	340.0 1-357	357.0 1-374	374.0 1-391	391.0 1-408	408.0 1-425	425.0 1-442	442.0 1-459	459.0 1 이상	계			
L	-	2	4	6	14	15	7	4	-	52	406.7	25.1	21.3
S	4	5	17	13	24	23	20	7	1	114	400.2	30.3	
H	2	4	7	8	6	7	1	-	-	35	383.7	26.1	
계	6	11	28	27	44	45	28	11	1	201			
		최종점도									평균	표준 편차	x ² -값
ADV	312 이하	312.0 1-328	328.0 1-344	344.0 1-360	360.0 1-376	376.0 1-392	392.0 1-408	408.0 1 이상	계				
L	2	15	14	16	4	-	1	-	-	52	339.8	17.5	97.3**
S	-	5	25	36	34	9	4	1	-	114	357.0	18.8	
H	-	-	1	4	10	6	10	4	-	35	384.1	24.0	
계	2	20	40	56	48	15	15	5	-	201			
		breakdown, 강하점도									평균	표준 편차	x ² -값
ADV	116 이하	116.0 1-134	134.0 1-152	152.0 1-170	170.0 1-188	188.0 1-206	206.0 1-224	224.0 1-242	242.0 1 이상	계			
L	-	-	1	5	8	17	17	4	-	52	196.1	19.8	66.6**
S	1	6	12	22	29	16	25	2	1	114	179.6	28.8	
H	1	7	8	14	4	-	1	-	-	35	152.2	21.4	
계	2	13	21	41	41	33	43	6	1	201			
		setback, 치반점도									평균	표준 편차	x ² -값
ADV	-92 이하	-91.9 9~-73	-72.9 9~-54	-53.9 9~-35	-34.9 9~-16	-15.9 9~-3	-2.99 ~16	16.01 ~35	35.01 이상	계			
L	2	20	16	14	-	-	-	-	-	52	-66.9	15.8	124.6**
S	-	12	29	39	13	11	8	1	1	114	-43.2	26.4	
H	-	1	-	-	6	8	12	7	1	35	0.4	22.1	
계	2	33	45	53	19	19	20	8	2	201			
		consistency									평균	표준 편차	x ² -값
ADV	109 이하	109.0 1-118	118.0 1-127	127.0 1-136	136.0 1-145	145.0 1-154	154.0 1-163	163.0 1-172	172.0 1 이상	계			
L	2	5	13	20	8	3	1	-	-	52	129.2	10.4	63.0**
S	-	3	29	27	28	17	6	2	2	114	136.5	12.8	
H	-	-	1	4	8	7	6	5	4	35	152.6	15.7	
계	2	8	43	51	44	27	13	7	6	201			

나. 여교배 RILs 육성과 SSR분석

쌀의 호화점도특성이 서로 다른 메벼 및 찰벼 계통을 선발하고 호화점도특성 관련 분자마커를 찾기 위해서 육성한 RILs는 2개 여교배 조합의 F8계통이다. 2005년도 육종포장에서 진미/wx202-25-1-5//진미벼 조합에서는 232계통이 수확되었고, 진미/wx185-29-1-3//진미벼 조합에서는 155계통을 수확하여 종자를 보관하고 있다. 이들은 앞으로 벼 분자유전학 연구에서 소중한 재료로 사용될 것이다. 2003년 포장에 재배된 F6 RILs에서 수확한 종실을 이용하여 쌀의 호화점도특성을 조사한 결과 메벼 및 찰벼 계통 간 큰 차이가 나타나고 있음을 확인하였다 (표1-4). 이는 교배육종 후대에서 쌀 호화점도특성이 다양한 변이를 보인다는 것을 말하며, 따라서 가공적성이 다른 벼 품종개발이 가능하다는 것을 말해 준 결과이다.

표 1-4. 벼 여교배 RILs의 호화점도특성의 다양성

호화점도특성		최고 점도 (RVU)	최저 점도 (RVU)	강하점도 break-down	최종 점도 (RVU)	치반 점도 setback	최고점도 도달시간 (분)	호화 개시 점도 (RVU)	호화 개시 온도 (°C)
진미벼/wx202-25//진미벼, F6									
찰	조사계통수	114							
	평균	164.60	67.49	97.69	90.25	23.34	3.54	66.30	67.46
	최고값	316.00	176.25	139.75	281.25	105.00	6.47	69.45	70.05
	최소값	84.67	33.17	51.50	48.00	14.83	3.67	67.15	68.90
	표준편차	45.69	29.01	24.30	39.77	14.76	0.48	2.23	1.71
	변이계수	27.76	42.91	24.87	44.06	63.26	13.63	3.36	2.53
메	조사계통수	77							
	평균	254.99	146.86	108.76	260.89	113.99	6.59	68.71	69.70
	최고값	351.25	249.33	64.33	338.00	88.67	6.73	72.10	72.10
	최소값	162.00	53.17	108.83	276.92	223.75	7.00	67.25	67.85
	표준편차	43.13	31.23	27.58	32.22	26.84	0.23	2.13	1.57
	변이계수	16.92	21.26	25.36	12.35	23.55	3.41	3.10	2.25
진미벼/wx185-29//진미벼, F6									
찰	조사계통수	41							
	평균	183.96	76.21	105.56	102.21	26.80	3.61	65.32	67.20
	최고값	328.75	155.33	173.42	205.42	50.08	3.87	67.20	67.20
	최소값	76.42	21.33	55.08	33.33	12.00	3.60	66.45	67.05
	표준편차	67.77	39.77	32.80	51.31	12.02	0.51	1.84	5.06
	변이계수	36.84	52.18	31.07	50.20	44.87	14.22	2.81	7.54
메	조사계통수	57							
	평균	252.33	136.01	115.37	262.01	122.48	6.61	68.77	69.39
	최고값	397.67	214.17	183.50	355.08	140.92	6.47	67.15	67.95
	최소값	111.58	44.75	66.83	64.17	19.42	3.27	65.60	66.30
	표준편차	70.97	42.41	42.22	53.43	40.13	0.50	4.90	4.06
	변이계수	28.13	31.18	36.60	20.39	32.77	7.54	7.13	5.86

그 동안 쌀의 호화점도특성과 연관된 마커가 주로 6번 염색체와 8번 염색체에서 발견되었다는 연구문헌 검색결과를 따라 6번 염색체에 위치한 5종의 RM 마커와 8번 염색체에 위치한 5종의 RM 마커를 이용하여 SSR분석을 수행하였다. 그 결과 진미벼/wx202//진미벼 조합의 계통에서는 진미벼 type, wx202 type, 그리고 두 밴드가 모두 나타나는 type 등 3종류의 band type이 발견되었고, 진미벼/wx185//진미벼 조합의 계통에서는 양친형 밴드와 미지의 밴드 등 4종류의 band type이 나타났다 (표 1-5). 각 밴드형 별 계통수를 비교해 보면 진미벼에서 나타난 밴드를 가진 계통수가 동일형 교배친인 wx202나 wx185에서 나타난 밴드를 가진 계통보다 월등히 많았는데 이는 공시재료가 자포니카인 진미벼로 여교배된 교배조합이기 때문에 나타난 결과로 해석된다.

표 1-5. SSR분석에서 나타난 밴드형태와 각각에 해당하는 계통수

프라이머	해당염색체 번호	밴드형태	계통수	
			진미/wx202//진미	진미/wx185//진미
RM528	6	J	52	46
		T	20	9
RM587	6	J	66	40
		T	6	5
		X	-	7
		J,X	-	3
RM454	6	J	53	44
		T	19	10
		J,T	-	1
RM539	6	J	56	38
		T	16	17
RM412	6	J	37	33
		T	34	21
		J,T	1	1
RM42	8	J	54	39
		T	18	16
RM38	8	J	55	48
		T	16	7
		J,T	1	-
RM544	8	J	53	34
		T	19	21
RM230	8	J	50	44
		T	22	11
RM506	8	J	55	51
		T	17	4

J : 진미벼 밴드, T : wx202 또는 wx185 밴드, X : 미지의 밴드

검정한 10종의 프라이머 각각에서 서로 다른 band type을 가진 계통군 간 쌀가루 호화점도특성을 비교하여 호화점도특성과 연관된 분자마커를 찾고자 하였다. 그 결과 진미벼/wx202//진미벼 조합에서 8번 염색체에 위치한 RM42를 사용했을 때 wx202형 밴드가 나타난 계통들의 최저점도 평균치가 유의하게 높았고, 8번 염색체에 위치한 RM230을 사용했을 때 진미벼 형 밴드를 가진 계통들의 강하점도가 유의하게 높았다. 또 6번 염색체에 위치하는 RM412를 사용한 경우 진미벼 형 밴드를 가진 계통들의 치반점도 평균치가 유의하게 높았다. 결국 진미벼/wx202//진미벼 교배조합의 메벼계통에서는 쌀가루의 호화점도특성과 연관된 것으로 추정되는 분자마커 RM412, RM42 및 RM230을 선발할 수 있었다(표1-6).

진미벼/wx185//진미벼 조합에서는 SSR분석시 프라이머로 RM42를 사용했을

때 진미벼 형 밴드가 나타 난 계통들의 치반점도 평균치가 유의하게 높았고, RM38을 사용했을 때 진미벼 형 밴드를 가진 계통들의 최고점도와 최저점도 평균치 각각이 더 높았다. RM42와 RM38은 모두 8번 염색체에 위치한 분자마커이다. 6번 염색체에 위치한 RM587을 사용하면 4종류의 band type이 나타나는데 이 중 양친형과는 다른 미지의 밴드를 가진 계통들의 최고점도 평균치가 유의하게 낮은 경향을 보였다. 따라서 진미벼/wx185//진미벼 조합의 메벼계통에서는 RM42, RM38 및 RM587을 쌀가루의 호화점도특성과 연관된 분자마커로 선발할 수 있었 으며, 이 두 조합에서 모두 선발된 분자마커는 8번 염색체에 있는 RM42였다.

표 1-6. SSR분석 결과 서로 다른 밴드형태를 보이고 있는 BC₁F₆ 메벼계통들의 호화점도특성 비교

- 진미벼/wx202//진미벼 조합의 RILs

Primer	최고점도		최저점도		최종점도		치반점도		강하점도		
	J	T	J	T	J	T	J	T	J	T	
RM42	평균	249.2	265.5	139.4	165.3	255.5	270.5	116.0	105.2	110.7	100.3
	t-값	1.5		3.4**		1.8		1.4		1.4	
RM230	평균	256.3	246.5	144.9	148.2	259.0	259.7	114.1	111.5	112.4	98.3
	t-값	0.9		0.4		0.1		0.4		2.1*	
RM412	평균	250.4	258.7	139.4	153.5	264.0	257.1	124.6	103.6	112.6	105.2
	t-값	0.8		1.8		0.9		3.1**		1.0	

- 진미벼/wx185//진미벼 조합의 RILs

Primer	최고점도		최저점도		최종점도		치반점도		강하점도		
	J	T	J	T	J	T	J	T	J	T	
RM42	평균	247.0	278.5	132.5	153.2	268.8	259.2	131.1	106.0	113.1	125.3
	t-값	1.6		1.7		0.7		2.3*		1.0	
RM38	평균	263.7	204.3	142.8	109.4	269.3	243.4	122.3	134.1	119.8	94.9
	t-값	2.2*		2.1*		1.4		0.8		1.5	
RM587	평균	266.3	269.6	144.2	149.7	267.4	287.4	119.5	127.0	122.0	109.2
	t-값	0.1		0.3		1.0		0.5		0.65	
7	J	X	J	X	J	X	J	X	J	X	
	평균	266.3	207.4	144.2	112.3	267.4	256.5	119.5	144.2	122.0	95.0
t-값	2.2*		1.9		0.6		1.7		1.6		

J : 진미벼 type band, T : wx202 또는 wx185 type band, X : 미지의 band

* : significant at the 5% level, ** : significant at the 1% level

다. 호화점도특성에 대한 MAS효과 분석

여교배 RILs를 이용하여 선발한 쌀의 호화점도특성과 연관된 것으로 추정된 5종의 RM마커를 이용하여 1조합의 F5 53계통과 1조합의 F6 52계통에 대한 SSR 분석을 실시하였다. 이 계통 각각의 쌀가루 호화점도특성도 조사하였기 때문에 사용한 RM마커의 선발효과를 추정할 수 있었다. F5계통을 재료로 한 실험 결과를 보면(표 1-7) 5종의 분자마커 중 RM587은 자포니카형 밴드를 나타 낸 메벼계통이 통일형 밴드를 나타 낸 메벼 계통보다 최저점도, 최종점도 및 치반점도에서 각각의 평균치가 유의하게 높았고, RM412는 자포니카형 밴드를 가진 계통의 최저점도와 최종점도의 평균치가 통일형 교배친 밴드를 나타낸 계통보다 유의하게 높은 수치를 보였다. 찰벼계통에서는 RM587을 이용했을 때 통일형 밴드가 나타난 계통의 최고점도 평균치가 더 높았다. 따라서 RM587과 RM412를 이용하여 잡종개체 또는 계통선발을 하는 것은 효과가 있을 것으로 판단하였다.

표 1-8에서는 진미벼///진미벼/wx209//진미벼 조합의 F6계통들에 대하여 선발된 5종의 RM마커를 이용하여 SSR분석을 하여 계통별 밴드형태와 호화점도특성간의 관계를 볼 수 있다. 메벼계통에서는 RM587, 그리고 찰벼계통에서는 RM230과 RM42를 각각 사용하여 나타난 밴드형태를 확인하면 호화점도특성에 대한 선발이 가능할 것으로 추정되었다.

표 1-7. 안산벼///진미벼/wx199//진미벼 조합 F5계통과

진미벼///진미벼/wx209//진미벼 조합 F6계통의 분자마커에 의한 선발효과
- 안산벼///진미벼/wx199//진미벼 조합

primer	최고점도		최저점도		최종점도		강하점도		치반점도		계통수			
	J	T	J	T	J	T	J	T	J	T	J	T		
RM587	메	평균	270.0	286.9	170.3	155.3	275.3	239.4	99.7	131.7	5.4	-47.5	21	4
	벼	t-값		1.54		2.27*		2.86**		2.38*		2.69*		
	찰	평균	138.8	157.3	54.5	60.9	70.3	77.8	84.3	96.4	-68.5	-79.5	2	10
	벼	t-값		2.84*		1.07		1.05		2.22		1.88		
RM412	메	평균	273.0	268.8	171.2	157.9	275.2	251.1	101.8	110.9	2.1	-17.7	15	12
	벼	t-값		0.50		2.74*		2.40*		0.87		1.28		
	찰	평균	152.9	156.0	58.9	61.1	75.5	78.0	94.0	95.0	-77.4	-78.0	7	5
	벼	t-값		0.48		0.46		0.46		0.19		0.11		

- 진미벼///진미벼/wx209//진미벼 조합

primer		최고점도		최저점도		최종점도		breakdown		setback		계통수	
		J	T	J	T	J	T	J	T	J	T	J	T
RM587	메 평균	283.1	294.4	178.7	204.3	292.3	337.3	104.3	90.2	9.2	42.8	26	1
	벼 t-값	0.61		2.03		2.60*		0.79		1.49			
	찰 평균	163.4	153.8	77.1	70.0	97.8	89.2	86.3	83.7	-65.6	-64.5	8	9
RM230	메 평균	282.3	287.8	177.8	176.4	291.1	284.7	104.5	111.3	8.8	-3.1	24	3
	벼 t-값	0.49		0.17		0.54		0.62		0.82			
	찰 평균	150.7	193.7	70.0	88.7	89.2	112.1	80.6	105.0	-61.5	-81.6	14	3
RM42	메 평균	283.3	-	178.6	-	292.1	-	104.7	-	8.7	-	28	-
	벼 t-값	-		-		-		-		-			
	찰 평균	155.6	201.4	71.7	99.7	91.3	124.4	83.9	101.8	-64.3	-77.0	16	1
	벼 t-값	1.83		2.22*		2.12		1.12		0.87			

J : 진미벼 type band, T : 통일형 type band

표 1-8. 새로 육성한 찰벼 「황금찰」과 「자채찰」의 여러 가지 특성

품종명	잎색	까락		영색	부선색	현미(mm)		현미색도			현미종피색	
		유무	색			장	폭	L	a	b		
진부찰(대조)	녹	무	-	황백	갈	4.70	2.81	1.67	46.4	2.0	11.7	담황
오대벼(대조)	녹	무	-	황백	갈	5.10	2.80	1.82	40.6	2.3	10.0	담황
황금찰	녹	무	-	농황갈	황갈	5.08	2.85	1.79	33.5	6.5	9.6	적갈
자채찰	녹	무	-	황백	암갈	4.77	2.65	1.80	32.1	7.4	8.4	적갈

품종명	호화점도특성						SOD %	DPPH %
	호화온도 °C	최고점도 RVU	최저점도 RVU	최종점도 RVU	강하점도 RVU	치반점도 RVU		
진부찰(대조)	68.1	97.7	51.8	67.6	46.5	-30.1	26.3	63.5
황금찰	72.0	239.2	140.7	175.1	98.5	-64.0	55.7	86.1
자채찰	68.1	136.4	73.6	94.7	62.8	-41.7	-	-

품종명	출수기 월.일	간장 cm	수장 cm	주당 수수 개	수당 립수 개	등숙 비율 %	현미 천립중 g	제현 비율 %	정조 수량 kg/10a	현미 수량 kg/10a
진부찰(대조)	7. 29	86.6	21.3	15	92	83.3	19.9	80.0	494.5	395.6
오대벼(대조)	8. 3	89.1	19.5	15	87	85.2	20.7	82.4	585.2	482.2
황금찰	8. 6	95.9	18.3	16	89	82.4	20.4	82.9	528.6	438.2
자채찰	7. 30	74.0	21.8	18	87	83.5	19.7	83.5	571.2	477.0
F 값									1.950 ^{ns}	2.108 ^{ns}

라. 선발계통의 생산력검정

1) 쌀 호화점도특성이 서로 다른 기능성 찰벼품종 「황금찰」, 「자채찰」 육성 건국대학교 작물육종학 연구실에서 향산화활성이 높은 찰벼계통을 육성할 목적으로 2004년부터 생산력검정시험에 공시한 계통 중 찰쌀의 호화점도특성이 대조품종인 진부찰과 상당히 큰 차이가 나는 계통을 발견하였다. 「황금찰」로 명명한 이 계통은 최고점도, 최저점도, 최종점도 및 강하점도가 대조품종보다 훨씬 높았으며 치반점도는 훨씬 낮았다(표 1-9). 이 계통 쌀의 이와 같은 특성이 어떤 쌀 가공품 제조에 알맞을지는 아직 밝혀진바 없지만 찰쌀의 호화점도특성을 다양화시키겠다는 본 연구의 목적에 부합하는 특성을 가졌다고 할 수 있다. 또 이 계통은 현미의 종피색이 적갈색이면서 현미의 향산화활성이 대조품종보다 월등히 높고 출수기 이후 이삭이 황금색을 띠고 있는 등의 장점을 근거로 하여 2005년 3월에 품종보호출원을 하였다.

2005년도 생산력검정 포장에 공시한 계통 중 「자채찰」로 명명한 계통의 쌀 호화점도특성은 대조품종과 유사하였으나 「황금찰」과는 큰 차이가 났고 단간·극조생이며 현미의 종피색이 적갈색으로 향산화활성이 높을 것으로 기대되었다. 따라서 이 계통은 2006년도 생산력검정시험 포장에서 한 번 더 검토한 후 품종보호출원을 할 예정이다.

표 1-9. 생산력검정 시험 중인 찰벼 및 메벼 계통의 호화점도특성 (2005년)

배유 특성	계통명(세대)	출수기 월. 일	호화점도, RVU				
			최고	최저	최종	강하	치반
메벼	KR98013-B---24-1-B (F8)	8.13	270.2	175.1	301.0	95.1	30.8
	KR98013-B---37-1-B (F8)	8.11	299.6	205.3	334.8	94.3	35.3
찰벼	KR98019-B--15-1-B (F7)	8.13	138.0	52.0	66.9	86.0	-71.1
	KR98019-B--47-1-B (F7)	8.11	157.8	52.2	68.0	105.7	-89.8
	KR97028-B---29-1-1-B (F9)	8. 6	208.3	83.3	107.5	125.0	-100.8
	KR97028-B---52-1-1-B (F9)	8.18	202.0	80.1	100.3	121.9	-101.7
	KR97028-B---116-1-1-B (F9)	8.16	113.5	54.3	71.6	59.2	-41.9
	KR97028-B---145-1-1-B (F9)	8.11	130.3	41.6	55.5	88.7	-74.8
	KR99026-B--9-1-B (F7)	8. 3	120.8	47.5	60.3	73.3	-60.5
	KR99026-B--107-1-B (F7)	8. 3	168.1	68.0	84.8	100.1	-83.3
	KR98013-B---1-1-B (F8)	8.14	133.6	59.8	78.3	73.8	-55.3
	KR98013-B---17-1-B (F8)	8.14	201.4	99.7	124.4	101.8	-77.0

2) 쌀의 호화점도특성이 다양한 유망 계통

2003년부터 쌀의 호화점도특성 다양화를 목표로 선발해 온 계통 중 작물학적 특성이 좋고 유전적으로 고정된 계통을 선발하여 2006년도 생산력검정시험에 공시하여 현재 포장에서 생육되고 있다. 2006년도 생산력검정시험에 공시된 찰벼 및 메벼 계통들의 호화점도특성은 표 1-10과 같다. 표에 나와 있는 계통들은 그들 간에도 호화점도의 변이가 있지만 기존의 재배품종들과 호화점도에 차이가 나기 때문에 선발한 것들이다. 이들은 2006-2007년의 생산력검정시험에서 수량성, 각종 생육특성, 그리고 쌀의 이화학적 특성들이 정밀하게 조사된 후 품종보호출원 여부가 결정될 예정이다.

표 1-10. 신 육성품종 「황금찰」과 「자채찰」의 특성

품종명	출수기 월.일	간장 cm	수장 cm	주당 수수 개	수당 립수 개	등숙 비율 %	현미 천립중 g	제현 비율 %	정조 수량 kg/10a	현미 수량 kg/10a
진부찰(대조)	7. 29	86.6	21.3	15	92	83.3	19.9	80.0	494.5	395.6
오대벼(대조)	8. 3	89.1	19.5	15	87	85.2	20.7	82.4	585.2	482.2
황금찰	8. 6	95.9	18.3	16	89	82.4	20.4	82.9	528.6	438.2
자채찰	7. 30	74.0	21.8	18	87	83.5	19.7	83.5	571.2	477.0
F 값									1.950 ^{ns}	2.108 ^{ns}

품종명	호화점도특성						SOD %	DPPH %
	호화온도 ℃	최고점도 RVU	최저점도 RVU	최종점도 RVU	강하점도 RVU	치반점도 RVU		
진부찰(대조)	68.1	97.7	51.8	67.6	46.5	-30.1	26.3	63.5
황금찰	72.0	239.2	140.7	175.1	98.5	-64.0	55.7	86.1
자채찰	68.1	136.4	73.6	94.7	62.8	-41.7	-	-

품종명	잎색	까락		영색	부선 색	현미(mm)		현미색도			현미 종피색	
		유	무			색	장	폭	L	a		b
진부찰(대조)	녹	무	-	황백	갈	4.70	2.81	1.67	46.4	2.0	11.7	담황
오대벼(대조)	녹	무	-	황백	갈	5.10	2.80	1.82	40.6	2.3	10.0	담황
황금찰	녹	무	-	농황갈	황갈	5.08	2.85	1.79	33.5	6.5	9.6	적갈
자채찰	녹	무	-	황백	암갈	4.77	2.65	1.80	32.1	7.4	8.4	적갈

* 「황금찰」의 품종보호 출원번호 : 2005-15 (출원일 : 2005. 3. 3)

마. 호화점도특성이 다른 쌀의 가공적성 검정

1) 멥쌀

실험재료로 사용한 메벼 6품종 쌀의 호화점도특성은 그림 1-1에서 보는바와 같다. IR50과 IR36은 아밀로스 함량이 25% 내외인 인디카 벼이기 때문에 아밀로스 함량이 18% 내외인 추청벼, 일품벼, 주남벼 및 새추청벼 등의 자포니카 품종 쌀에 비해서 최저점도, 최종점도, 치반점도 및 응집점도에서 큰 차이가 났다(그림 1). 실험재료인 자포니카 품종 간에도 호화점도의 변이는 있었으나 인디카 품종과의 차이만큼 크지 않았기 때문에 본 연구에서는 호화점도특성에 큰 차이가 나는 IR50 및 IR36 그룹과 추청벼, 일품벼, 새추청벼 및 주남벼 그룹 간 가공적성 차이를 보고자 하였다. 가공적성을 평가하기 위해서 쌀밥, 쌀떡, 가래떡, 쌀과자, 쌀빵 등의 가공품을 만든 후 그들의 조직감(texture)을 조사, 비교하였다. Texture analyzer로 조사한 쌀 가공품의 조직감은 경도(hardness), 응집성(cohesiveness), 탄력성(springiness), 부착성(adhesiveness), 씹힘성(chewiness), 검성(gumminess)로 나타낼 수 있다. 가공품의 종류와 조직감 성질에 따라 조사한 수치가 높은 것이 바람직한 경우와 낮은 것이 바람직한 경우로 나뉜다.

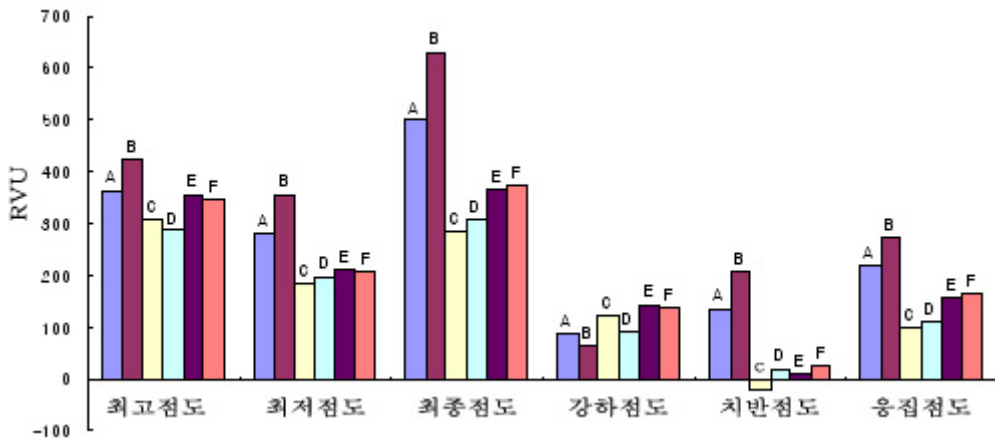


그림 1-1. 메벼 6품종 쌀의 호화점도특성 (A: IR-50, B: IR-36, C: 추청벼, D: 일품벼, E: 주남벼, F: 새추청벼)

쌀 가공품의 조직감 중 경도(hardness)는 가공품의 품질을 결정하는 첫 번째 요소이다. 그림 1-2에서 품종 및 가공품 간 경도의 차이를 보면 쌀밥에서는 품종 간 차이가 나지 않았고, 과자를 만들었을 때는 추청벼, 일품벼, 주남벼가 상대적으로 높았으며, 가래떡과 쌀빵은 추청벼가 낮았고 IR50과 IR36이 높았으며, 떡을 만들었을 때는 추청벼가 낮았고 IR50, IR36, 새추청벼가 높았다(그림 1-2). 쌀 가공품의 응집성(cohesiveness)에서도 품종 간 차이가 인정되었는데 가래떡을 만들었을 때 IR50과 추청벼가 낮은 응집성을 보였고, 쌀떡은 추청벼, 일품벼 및 새추청벼가 낮은 값을 보였다.

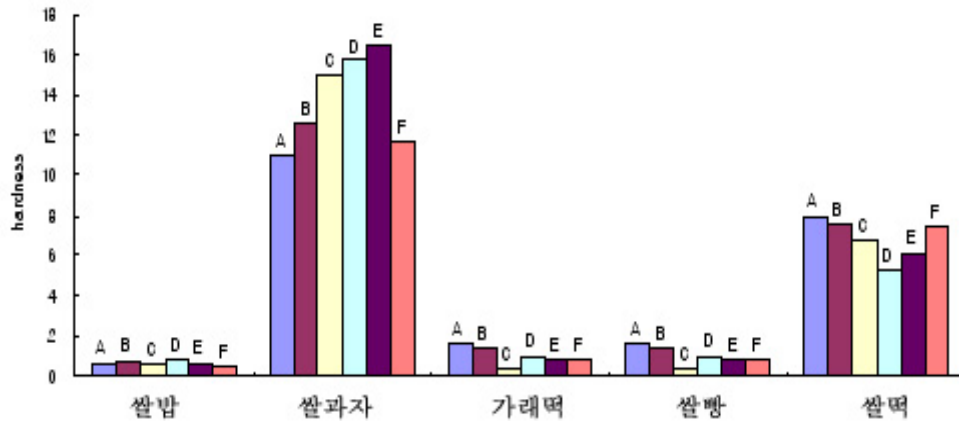


그림 1-2. 메벼 품종별 쌀 가공품의 경도(hardness) (A: IR-50, B: IR-36, C: 추청벼, D: 일품벼, E: 주남벼, F: 새추청벼)

쌀 가공품의 씹힘성(chewiness)은 쌀 과자의 경우 추청벼가, 가래떡의 경우 추청벼와 일품벼가, 쌀 빵의 경우 IR36, 일품벼 및 주남벼가, 그리고 쌀떡의 경우 추청벼, 일품벼, 주남벼가 각각 낮은 수치를 보였다(그림 1-3). 검성을 조사한 결과 쌀 과자는 추청벼가, 가래떡은 추청벼와 일품벼가, 쌀 빵은 IR36, 일품벼, 주남벼가, 그리고 떡은 일품벼가 각각 낮은 값을 보였다. 쌀 가공품의 탄력성(springiness)을 보면 쌀 과자는 주남벼, 가래떡은 추청벼와 일품벼, 쌀 빵은 추청벼와 주남벼, 그리고 떡은 추청벼와 일품벼가 각각 낮은 값을 보였다(그림 1-4). 부착성(adhesiveness)은 쌀 과자에서는 IR36이 특별히 높았고, 가래떡에서는 IR50과 추청벼가 낮았으며 떡에서는 추청벼와 일품벼가 각각 낮은 수치를 보였다.

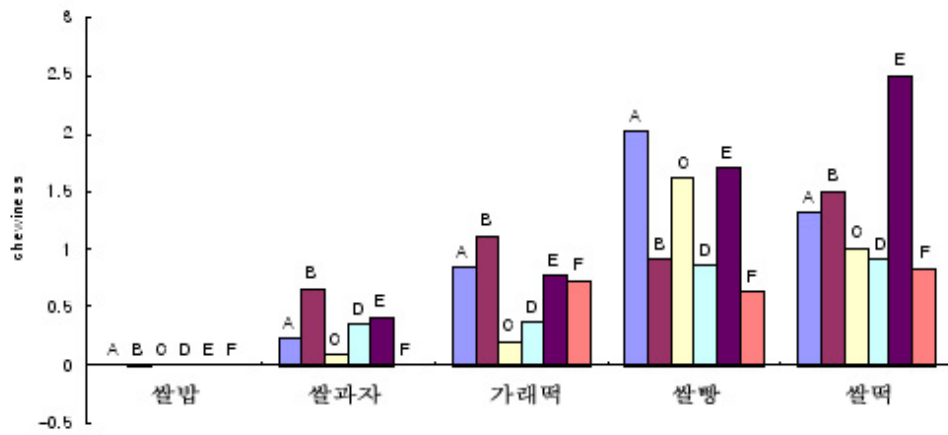


그림 1-3. 메벼 품종별 쌀 가공품의 씹힘성(chewiness) (A: IR-50, B: IR-36, C: 추청벼, D: 일품벼, E: 주남벼, F: 새추청벼)

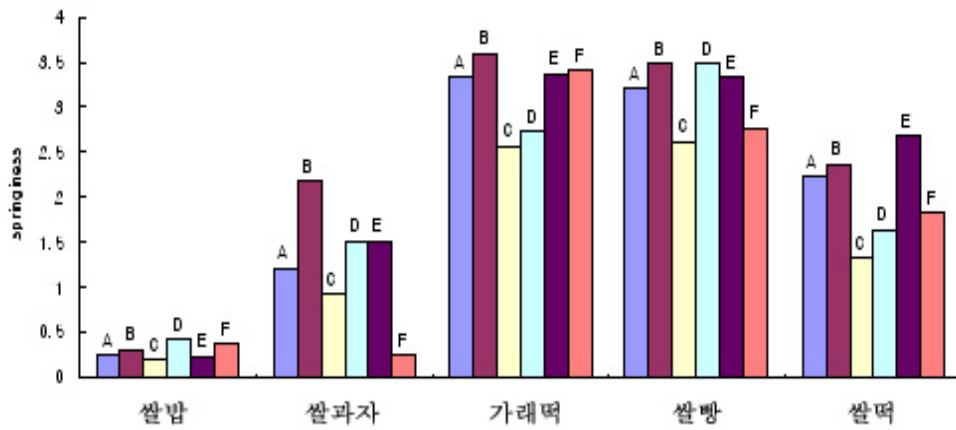


그림 1-4. 메벼 품종별 쌀 가공품의 탄력성(springiness) (A: IR-50, B: IR-36, C: 추청벼, D: 일품벼, E: 주남벼, F: 새추청벼)

메벼 품종별 쌀 가공품의 조직감으로 본 가공적성은 쌀 과자용으로는 부착성이 낮고 경도가 높은 주남벼, 가래떡용으로는 응집성과 씹힘성이 높고 치반점도가 낮은 주남벼와 새추청벼, 떡 용으로는 경도와 씹힘성이 낮은 일품벼와 추청벼, 그리고 쌀 빵용으로는 적당한 씹힘성과 경도가 낮아 부드러운 맛을 내는 추청벼가 각각 우수한 것으로 판단되었다. 본 연구에서 재료 품종으로 사용한 6 품종 중 IR50과 IR36은 호화점도특성 중 최종점도가 상대적으로 높아 치반점도(setback)와 응집점도(consistency)가 높기 때문에 떡, 가래떡 및 쌀 빵용으로는 적당치 않고 쌀 과자용으로도 바람직하지 않은 것으로 드러났다. 이상의 결과는 쌀 가공적성을 가공품의 조직감(texture)에 근거한 것이므로, 가공품의 품질평가 기준이 되는 더 많은 연구가 뒤 따라야 쌀의 호화점도특성과 가공적성과의 관계가 확실해질 것으로 생각된다.

2) 찹쌀

본 실험에 사용한 7품종 찹쌀의 호화점도특성을 보면(그림 1-5) 멥쌀과는 크게 다르다는 것을 알 수 있다. 찹쌀은 아밀로펙틴 함량이 높은 전분의 일반적인 현상인 최고점도, 최저점도, 최종점도, 강하점도(breakdown), 응집점도(consistency)가 멥쌀보다 낮으며 치반점도(set-back)는 마이너스 값을 보이고 있다. 또한 peak time이 4분이내로 짧고, 호화온도는 멥쌀과 비슷하였다. 찰벼 품종간 호화점도의 차이를 보면 wx185, Suwon 290 및 Tachungsen glutinous 가 상대적으로 높은 최고점도, 최종점도, 강하점도 값을 보였고 이 품종들의 치반점도 값이 상대적으로 낮은 값을 보였다. 한편 찰벼 7품종 중 wx199와 화선찰벼는 최고점도, 최종점도 및 강하점도가 낮은 결과를 보여 주었다.

이러한 성질을 가지고 있는 찹쌀을 이용하여 만든 가공품의 조직감(texture)을 측정된 결과 전체적으로 경도(hardness), 부착성(adhesiveness) 및 응집성(cohesiveness)은 멥쌀보다 높게 나타났다. 이것은 아밀로펙틴의 조밀한 구조에 기인하는 것으로 생각된다.

7품종의 찹쌀로 떡, 인절미, 쌀 과자, 쌀 빵을 만들어 그들의 조직감을 비교한 결과 찹쌀은 쌀 과자와 쌀 빵 제조에 부적합하다는 것을 알 수 있었다. 찹쌀로 빵을 만들었을 때 응집성, 씹힘성, 탄력성 및 검성이 높고 부착성은 가장 낮게 나타났다. 찹쌀로 빵을 만들면 멥쌀보다 조금 더 차진 것을 확인할 수 있었는데 제빵에 적합한 품종은 아밀로오스가 적당히 함유되어 있고 전분 입자가 작은 품종이 적당하므로 호화점도가 전반적으로 낮아 부착성이 낮은 찹쌀은 제빵용으로 부적절

한 것으로 생각된다.

찰쌀떡은 아밀로펙틴이 많아 찰기가 있었으며 윤기도 좋았다. 그리고 검성(gumminess)을 제외하고 모든 품종의 가공품의 조직감이 밥보다 높게 나타났다. 또한 점성이 높은 품종 Suwon290, 자채쌀, Taichung Sen gluinous에서 높은 상대적으로 texture value를 보였다(그림 1-6, 1-7, 1-8, 1-9). 찰쌀떡은 찰기 있고 씹히는 texture가 중요하므로 Suwon 290, 자채쌀, Taichung Sen gluinous가 적합한 품종일 것으로 생각된다. 화선찰벼는 부착성이 가장 높아 찰기도 가장 높은 것으로 나타났으나 탄력성이 지나치게 높아 질길 것으로 판단되어 떡 제조용으로 는 적절하지 않은 것으로 생각되었다.

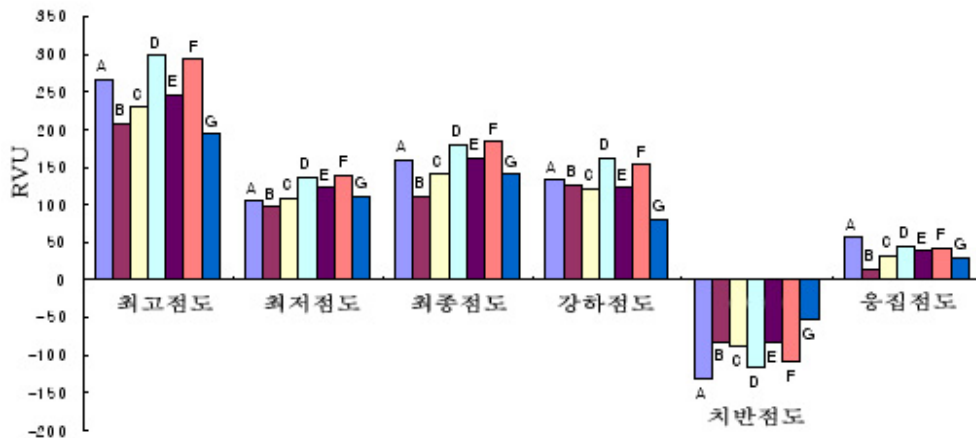


그림 1-5. 찰벼 품종 쌀의 호화점도특성 (A: wx185, B: wx199, C: wx209, D: 수원 290호, E: 자채쌀, F: TaichungSen glutinous, G: 화선찰벼)

7품종의 찰쌀로 과자를 만들어서 조직감을 조사한 결과 멥쌀에서와 같이 모든 품종에서 다른 가공 식품보다 훨씬 더 높은 경도를 보였고, 또한 씹힘성, 검성, 탄력성도 비교적 높게 나타났다. 이러한 결과는 아밀로펙틴 함량이 높기 때문이며 그렇기 때문에 메벼 품종에 비해 상대적으로 응집성과 부착성이 낮게 나타났다. 과자는 아밀로펙틴이 너무 많으면 바삭바삭한 감촉이 감소하므로 아밀로오스가 적당히 함유된 품종이 적당할 것으로 생각된다. 호화과정에서 나타난 peak-time으로 판단할 때 적당히 큰 전분 입자와 응집성과 검이 상대적으로 낮은 화선찰벼가 가

장 적합한 품종으로 생각되나 빵에서와 같이 높은 부착성 때문에 찹쌀은 제과용으로 부적절한 것으로 생각된다.

7품종의 찹쌀로 인절미를 만들어서 texture analyzer로 조직감을 조사한 결과, 인절미는 응집성과 부착성이 높게 나타났고, 경도는 비교적 낮은 나타났다. 인절미는 응집력과 부착성이 중요하고 부드러운 맛을 지녀야 하므로 응집성과 부착성이 높고 동시에 경도가 낮은 Taichung Sen glutinous과 화선찰벼가 적합한 품종으로 생각된다.

이상의 결과를 종합하면 찹쌀로는 쌀 빵이나 쌀 과자 제조에는 적당치 않고, 찰떡용으로는 수원 290호, 자채찰 및 TaichungSen glutinous와 같이 호화점도가 높은 품종이 적당하며, 인절미를 만들 때는 호화점도가 높은 TaichungSen glutinous, 호화점도는 낮지만 부착성이 큰 화선찰벼가 적당한 것으로 판단하였다.

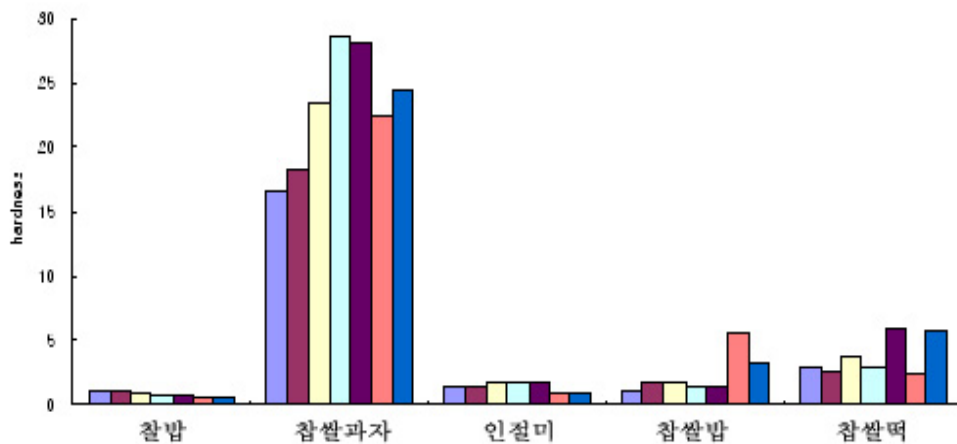


그림 1-6. 찰벼 품종별 찹쌀 가공품의 경도(hardness). (A: wx185, B: wx199, C: wx209, D: 수원 290호, E: 자채찰, F: Taichungsen glutinous, G: 화선찰벼)

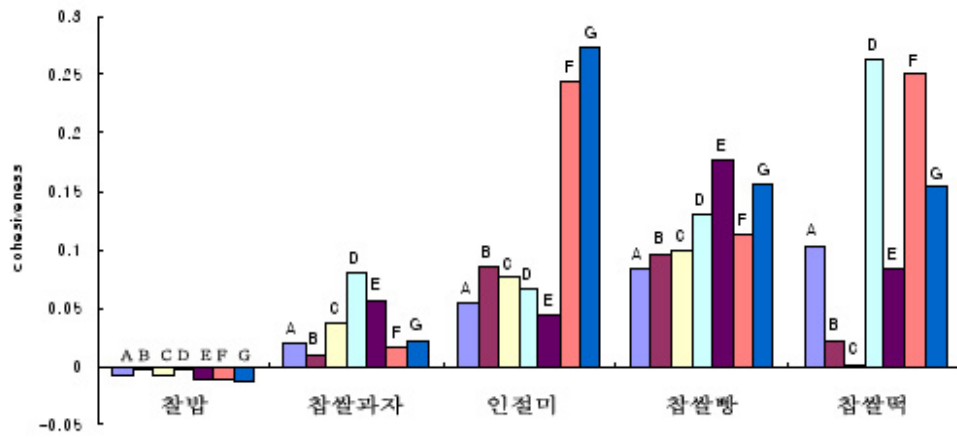


그림 1-7. 찰벼 품종별 찰쌀 가공품의 응집성(cohesiveness) (A: wx185, B: wx199, C: wx209, D: 수원 290호, E: 자채쌀, F: TaichungSen glutinous, G: 화선찰벼)

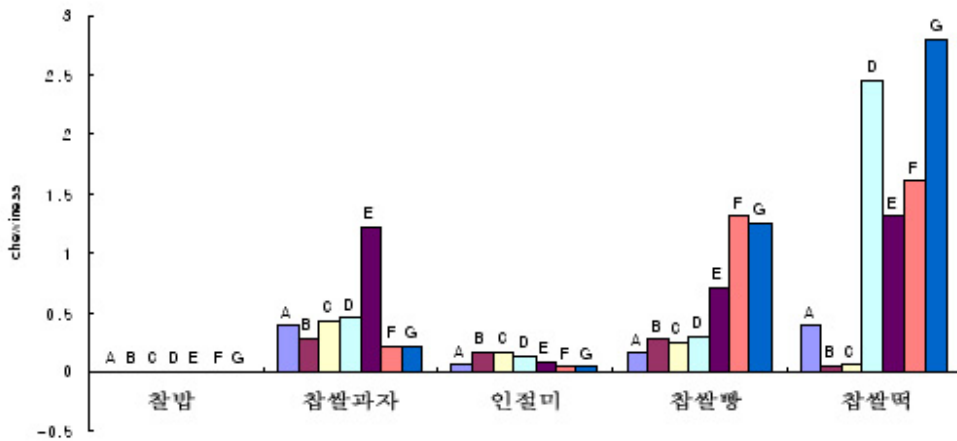


그림 1-8. 찰벼 품종별 찰쌀 가공품의 씹힘성(chewiness) (A: wx185, B: wx199, C: wx209, D: 수원 290호, E: 자채쌀, F: TaichungSen glutinous, G: 화선찰벼)

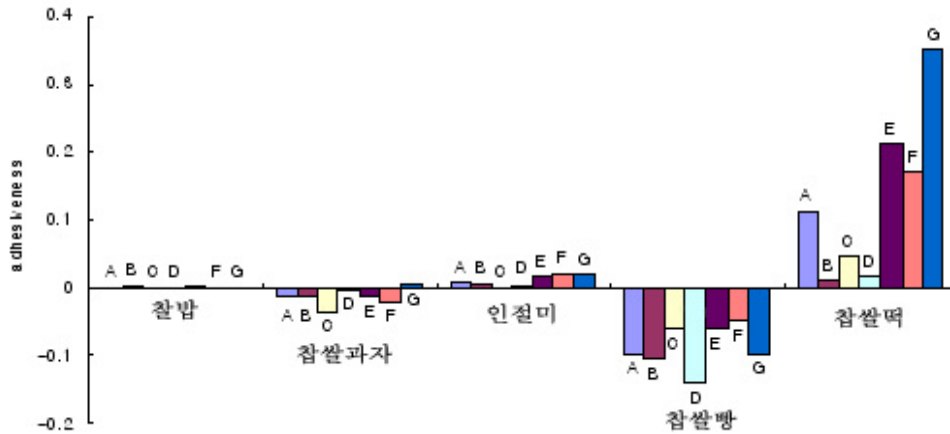


그림 1-9. 찰벼 품종별 찰쌀 가공품의 부착성(adhesiveness) (A: wx185, B: wx199, C: wx209, D: 수원 290호, E: 자채쌀, F: TaichungSen glutinous, G: 화선찰벼)

4. 결과 요약

가. 본 연구에서는 쌀의 호화점도특성이 다양한 계통선발을 목표로 하였다. 많은 육종재료를 대상으로 포장에서의 농업형질과 실내에서 조사한 호화점도특성에 근거하여 선발을 해왔다. 2005년도 육종포장에 공시한 F6 이후 고세대 계통 중 초형이 우수하고 계통 내 분리가 없는 12계통을 선발하여 2006년도 생산력검정시험에 편입시켰다. 이 밖에도 육종포장에서 초형 등 작물학적특성이 우수하고 호화점도특성이 서로 다른 찰벼 또는 메벼 51계통을 선발하여 2006년도 육종포장에서 재배하고 있다.

나. 쌀의 호화점도특성과 알칼리붕괴도 간의 유전적 관계를 알기 위해서 알칼리붕괴도가 다른 근동질유전자 계통 간 교배조합의 F2 개체별 쌀의 알칼리붕괴도와 호화점도특성을 조사한 결과 알칼리붕괴도가 낮은 개체, 분리하고 있는 개체, 그리고 높은 개체가 1 : 2 : 1의 분리비에 적합하게 분리하였다. F2 개체별 알칼리붕괴도에 따른 호화점도특성 분포를 비교한 결과 알칼리붕괴도가 낮은 개체군(ADV 1-2)이 높은 개체군(ADV 5-6)에 비하여 최저점도, 최종점도, 치반점도, consistency는 유의하게 낮은 쪽에 분포하였고, 강하점도는 높은 쪽

에 분포하여 알칼리붕괴도와 호화점도특성 간 유전적으로 밀접한 관계에 있음을 알 수 있었다.

- 다. 배유의 투명도에 차이가 뚜렷한 근동질유전자 계통간 교배조합의 F2 개체에서 수확한 F3종자를 이용하여 개체별로 쌀알의 투명도와 호화점도특성을 조사하였다. 그 결과 뽀얀 쌀이 맑은 쌀에 비하여 최저점도, 최종점도, 치반점도 및 consistency가 유의하게 낮아 쌀알의 투명도와 호화점도특성 간에 유전적인 관계가 성립됨을 알 수 있었다.
- 라. 쌀의 호화점도특성이 서로 다른 메벼 및 찰벼 계통을 선발하고 호화점도특성 관련 분자마커를 찾기 위해서 2개 여교배 조합의 F8 RILs를 육성하였다. 이 교배조합에서는 찰벼계통과 메벼계통이 분리되었고, 찰벼 또는 계통 간 쌀의 호화점도특성 변이가 매우 크다는 것을 확인하였다. 2005년도에 진미/wx202-25-1-5//진미벼 조합에서는 232계통이 수확되었고, 진미/wx185-29-1-3//진미벼 조합에서는 155계통을 수확하여 종자를 보관하고 있다. 이들은 앞으로 벼 분자유전학 연구에서 소중한 재료로 사용될 것이다.
- 마. RILs를 대상으로 6번과 8번 염색체에 위치한 10종의 RM 프라이머를 사용, SSR분석을 하여 호화점도특성과 연관된 분자마커를 찾고자 하였다. 그 결과 진미벼/wx202//진미벼 교배조합의 메벼계통에서는 쌀가루의 호화점도특성과 연관된 것으로 추정되는 분자마커 RM412, RM42 및 RM230을 선발할 수 있었다. 그리고 진미벼/wx185//진미벼 조합의 메벼계통에서는 RM42, RM38 및 RM587을 쌀가루의 호화점도특성과 연관된 분자마커로 선발할 수 있었으며, 이 두 조합에서 선발된 공통 분자마커는 8번 염색체에 있는 RM42였다.
- 바. 여교배 RILs를 이용하여 선발한 쌀의 호화점도특성과 연관된 RM마커의 실제 선발효과를 조사하였다. 교배조합에 따라 약간의 차이는 있었지만 RM587, RM412, RM230, RM42를 사용하여 나타난 밴드형태를 확인하면 호화점도특성에 대한 잡종개체 또는 계통선발을 효과적으로 수행할 수 있을 것으로 판단하였다.
- 사. 건국대학교 작물육종학 연구실에서 육성해 오던 찰벼계통 중 2003년부터 생산력검정시험을 실시한 계통에서 찰쌀의 호화점도특성이 대조품종인 진부찰과 상당히 큰 차이가 나는 계통을 발견하였다. 「황금찰」로 명명한 이 계통은 최고점도, 최저점도, 최종점도 및 강하점도가 대조품종보다 훨씬 높았으며 치반점도는 훨씬 낮아 찰쌀의 호화점도특성을 다양화시키겠다는 본 연구의 목적에

부합하는 특성을 가졌다. 이 계통은 현미의 종피색이 적갈색이면서 현미의 향산화활성이 대조품종보다 월등히 높고 출수기 이후 이삭이 황금색을 띠고 있는 등의 장점을 근거로 하여 2005년 3월에 품종보호출원을 하였다.

- 아. 2005년도 생산력검정 포장에 공시한 계통 중 「자채찰」로 명명된 계통의 쌀 호화점도특성은 대조품종과 유사하였으나 「황금찰」과는 큰 차이가 났고 단 간·극조생이며 현미의 종피색이 적갈색으로 향산화활성이 높을 것으로 기대되었다. 따라서 이 계통은 2006년도 생산력검정시험 포장에서 한 번 더 검토한 후 품종보호출원을 할 예정이다.
- 자. 멥쌀 가공품의 조직감으로 본 가공적성은 쌀 과자용으로는 부착성이 낮고 경도가 높은 주남벼, 가래떡용으로는 응집성과 씹힘성이 높고 치반점도가 낮은 주남벼와 새추청벼, 떡 용으로는 경도와 씹힘성이 낮은 일품벼와 추청벼, 그리고 쌀 빵용으로는 적당한 씹힘성과 경도가 낮은 추청벼가 각각 우수한 것으로 판단되었다. IR50과 IR36은 호화점도특성 중 최종점도가 상대적으로 높아 치반점도와 응집점도가 높기 때문에 떡, 가래떡 및 쌀 빵용으로는 적당치 않고 쌀 과자용으로도 바람직하지 않은 것으로 드러났다.
- 차. 찹쌀은 쌀 빵이나 쌀 과자 제조에는 적당치 않고, 찰떡용으로는 수원 290호, 자채찰 및 TaichungSen glutinous와 같이 호화점도가 높은 품종이 적당하며, 인절미를 만들 때는 호화점도가 높은 TaichungSen glutinous, 호화점도는 낮지만 부착성이 큰 화선찰벼가 적당한 것으로 판단하였다.

제 2 절 쌀의 고식이섬유 및 호화점도특성 관련

DNA microarray구축과 형질전환체 모본개발

1. 서언

육종의 대상이 되는 형질은 크게 양적 형질과 질적 형질로 나눌 수 있는데 재배과정과 관계된 형질(input trait) 이 아닌 최종 수확물의 성분조성에 관계되는 형질(output trait)은 대부분 질적형질이다. 쌀의 식미성관련 형질은 아밀로스과 아밀

로펙틴의 함량비, 녹말의 구조, 녹말입자의 크기, 녹말입자와 입자사이의 단백질함량 및 조성, 녹말입자를 둘러싼 세포막을 구성하는 지질로 구성된 막의 조성 등으로 구별해 볼 수 있는데 이들 형질의 변이를 실험적으로 측정하여 분리계통내에서 순계를 찾아내는 것은 매우 어려운 일이며 많은 시간과 실험이 필요한 과정이다. 따라서, 이런 최종 수확물의 질적 조성과 관계된 유전자의 기능을 구명하고 이러한 질적 형질을 쉽게 판별할 수 있게 하는 분자마커의 개발은 육종의 연한과 육종에 필요한 비용을 절감시킬 수 있는 매우 중요한 방법을 제공한다. 우리나라 식문화와 작부체계에 있어 주곡인 벼는 매우 중요한 위치를 차지하고 있음은 주지의 사실이다. 1997년 최초의 제초제저항성 형질전환콩 품종이 개발된 이후 이러한 분자육종의 기법을 적극적으로 도입하여 신형질개발과 품종육성에 이용하여 왔으나 외국의 경우 형질전환체 농작물의 개발배경과 이용 목적, 사회적 인식에 대한 분석 등 형질전환체 작물이 우리나라의 작부체계에 도입될 경우 파급되는 영향에 대해서는 충분한 검토가 이루어지 않았다. 이와 같은 배경하에 국내 육성 품종을 기반으로 하는 형질전환체 개발 사업이 진행되어왔으나 그 경제적 효과에 대해서는 아직 구체적인 형태의 이익이 가시화 된 바 없으며 더욱이 사회적 파급효과 및 기대효과에 대해서는 현재 국가간 자유무역협정(FTA)이 진행되는 현실에 비추어 다시금 집중토론하고 검토해 봐야하는 필요성이 시급히 대두되고 있는 실정이다. 특히 형질전환체 벼를 개발하는 경우 어떤 목적으로 사용할 것인가에 대한 토의가 충분히 이루어져야 한다. 이미 국내 벼 형질전환기술은 유전자총을 이용하는 방법과 Agrobacterium을 이용하는 방법 등이 개발되어있는 상태이다. 그러나, 분자육종을 통해 만들어진 형질전환체 벼를 일반벼와 같이 소비자들이 직접 소비 하리라는 예상에 대한 개연성은 거의 없다고 본다. 그 이유는 소비자들이 이러한 형질전환체 벼를 소비해야만 하는 절대적 필요성의 부재에서 기인한다. 본 연구와 관련 쌀 전분 및 전분립의 구조 및 형태적 특성에 관여하는 유전자의 기능 발굴은 고유유전자원 확보 차원에서 매우 중요한 의미를 가지고 있으나 이를 이용하여 형질전환체 벼를 개발하는 경우의 그 경제성은 현실적으로 별도로 재고 해 봐야 한다.

유전자의 기능을 밝히는 과정은 매우 다양하다. 최근 유전체의 염기서열을 밝힘으로서 유전자로부터 기능을 역추적하는 기법이 개발되어 많은 유전자들의 기능을 성공적으로 밝혀낸 예는 매우 많다. 이러한 방법으로 유전자의 기능을 밝히고자 하는 연구분야를 기능유전체학(functional genomics)으로 통칭한다. 이 분야에서 DNA microarray 분석은 대상이 되는 유전자 또는 유전자 집단에 대해 어떤

특별한 정보가 존재치 않을 때 우선적으로 서로 분명한 대립형질을 보이는 두개의 시료로부터 서로 다르게 발현하는 유전자를 집중적으로 발굴하여 염기서열을 밝혀낸 후 이 염기서열을 근거로 유사한 염기서열을 갖는 다른 생물체에서 발견되는 유전자와 비교해 보는 comparative genomics의 분석 과정을 거쳐 목적인 형질과 관계된 후보유전자의 범위를 좁혀 나가는 방식의 연구를 진행하는 것이 관행화 되어 있다.

DNA microarray 분석은 전사된 RNA 집단 (전사체) 전체를 비교하고자 하는 시도로서 기존의 differential display나 differential screening과 비교되는 실험 방법이다. 또한 유전자의 기능검정과 연계하여 DNA microarray 분석을 통한 선발계통에 대한 분석은 각 선발계통이 가지는 유전자의 발현특성을 일목요연하게 관찰함으로써 인공교배 또는 생명공학적인 기법으로서 식물체내의 유전자의 도입을 통해 어떤 유전자 집단이 얼마만큼 유전자 발현에 변화가 초래되었으며 그 결과 특정유전자가 생리대사상 어떤 변화를 초래하였는지에 대한 추론을 가능하게 하는 육종선발기술의 전형적 변화(paradigm shift)의 시도이다.

그러나 이 같은 실험은 DNA microarray chip에 배열된 유전자의 염기서열에 전적으로 의존하고 있고 또한 시료로서 사용된 RNA의 질적 양적 특성에 의해 의존되는 단점이 있다. DNA microarray chip에 배열된 특정 유전자 1개는 다른 유사염기서열을 가지는 유전자들과 상당히 높은 유사성을 가지는 부분과 매우 낮은 유사성 즉 특정유전자의 고유의 염기서열 이 두가지 모두를 microarray chip에 배열하여 사용하여한다. 그러나 이와 같은 고정밀도 microarray chip을 개발하는 과정은 매우 복잡하고 오랜 시간이 필요하다.

본 연구에서는 1) DNA microarray chip 개발에 필요한 벼 식미성 관련 유전자집단에서 각 유전자의 유사성이 높은 부분과 낮은 부분을 따로 증폭하는 2차원의 고정밀도 microarray chip 제작에 필요한 유전자를 동정하고 여기에 필요한 유전정보를 분석하고 프라이머를 제작하는 실험을 시행 하였으며, 2) 형질전환체 성체를 이용하지 않고 형질전환된 embryogenic callus를 이용하여 유전자의 기능을 검정하는 벼 전분구조관련 유전자 검정 시스템을 개발하였으며, 3) DNA microarray와 더불어 특정유전자의 프로모터 부분을 이용 특정형질과 연관된 유전자를 발굴하고 이를 분자마커로 사용할 수 있는 방법을 제시하였다. 이 같이 DNA microarray와 프로모터염기서열을 기반으로 하는 마커의 개발과 적용은 발현형질의 분석과 계통선발에 있어 선발지표의 중요 수단을 제공한다. 주곡 작물인 벼의

형질전환체 개발 목적과 경제성이 뚜렷한 가치를 제공하지 못하는 현실에서 식용 벼의 육종은 전적으로 전통육종기술을 이용할 수밖에 없으며 따라서 이러한 마커의 개발은 매우 중요하며 유전자의 기능 검정은 기초기본기술 확보차원에서 매우 중요한 위치를 차지하고 있다.

2. 연구방법 및 결과

가. 벼의 sucrose, starch, cellulose 합성대사 별 연관 유전자 염기서열 확보 및 분석

벼의 sucrose, starch, cellulose 합성대사별 유전자집단을 집적한 소규모 microarray analysis을 위한 유전자칩을 제작하기 위하여 각 유전자의 특이적 염기서열을 확보하고 그 염기서열을 분석하였으며 이러한 분석결과에 의거하여 PCR primer를 제작하였다. 전체적인 유전자 염기서열 분석방법의 흐름도는 그림 2-1에 나타난 바와 같다.

1) 벼의 sucrose 및 glucan 생합성에 관여하는 유전자집단 발굴

벼의 sucrose 및 glucan 생합성에 관여하는 유전자집단을 발굴하기 위하여 벼에서 발견된 대표적인 유전자들 (표 2-1)을 비롯하여 총 200여개에 이르는 유전자들을 GenBank에서 발굴하여 이를 query (검색하고자 하는 염기서열)로 하고 중국과학원 산하 북경 Genome 연구소 (Beijing Genome Institute)의 rice genome database (<http://btn.genomics.org.cn:8080/rice/>)에서 download한 벼 게놈염기서열 기본자료를 database로 하여 standalone blast (<ftp://ftp.ncbi.nih.gov/blast/>)를 설치 한 후 BLASTN 검색을 통해 벼게놈염기서열 중 어떠한 부분이 위에서 언급한 유전자들의 염기서열과 유사한지 발굴하였다. 이러한 검색에 쓰여진 명령어 (perl script) 의 예시는 그림 2-2 에 나타나 있으며 검색조건중 염기서열의 유사성의 정밀도는 $1e-29$ 로 하였다.

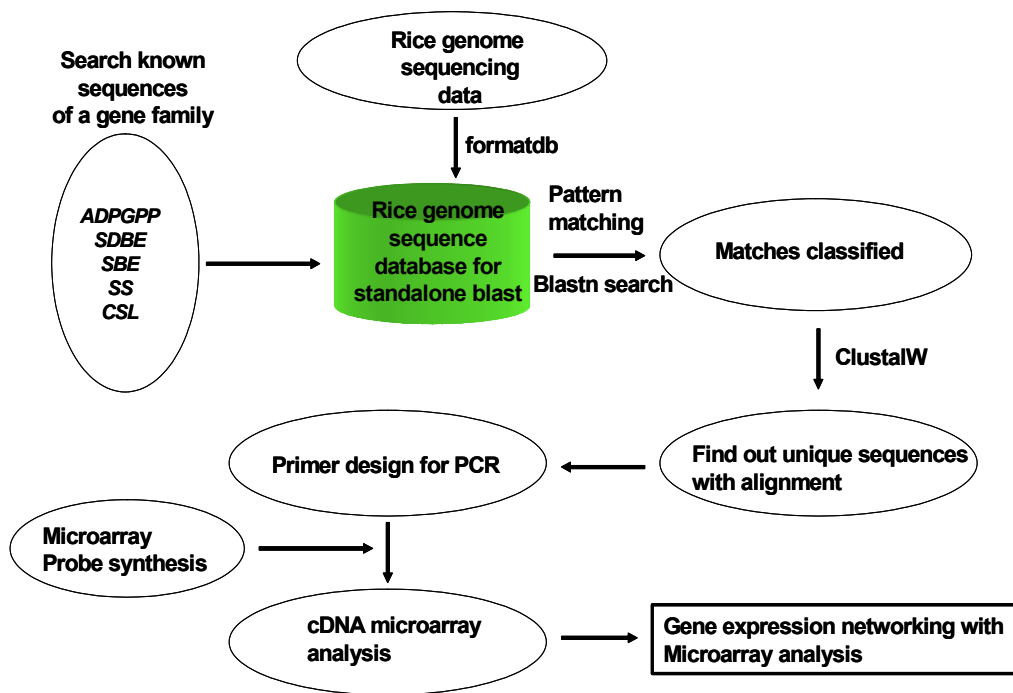


그림 2-1. 데이터베이스 마이닝 논리 흐름도

표 2-1. Sucrose와 glucan 합성에 관여하는 대표적인 유전자

AF327055	alpha 1,4-glucan phosphorylase
X64108	granule-bound starch synthase; waxy gene
AF141954	granule-bound starch synthase (Waxy)
D10838	1,4-alpha-glucan branching enzyme
D11082	mylopectin synthesis; branching enzyme-I
X62134	glucosyltransferase
J04960	ADP-glucose pyrophosphorylase
U33175	sucrose phosphate synthase gene
X59046	sucrose-UDP glucosyltransferase
X64770	sucrose synthase RSs1
Z15028	sucrose synthase
L03366	sucrose synthase 3 RSs3
L39940	ucrose synthase 2 (Sus2) gene


```

exec      "/home/jungw/stb/blastall      -p      blast      -d
/home/jungw/stb/Final_scaffold.seq -i /home/jungw/data/sAGP.out -e 1e-29
-o /home/jungw/data/sysAGParice.out" || die "exec failed $!Wn";
print "/home/jungw/data/sysAGParice.out";

```

그림 2-2. Blast 검색을 위한 PERL 명령어 예문

위의 검색을 통하여 ADP-glucose pyrophosphorylase, starch branching enzyme, starch de-branching enzyme, sucrose synthase의 염기서열이 rice genome sequencing 프로젝트를 통해 밝혀진 염기서열중 어떠한 rice clone에 위치하는지 찾아내었으며 query로 쓰여진 이미 알려진 염기서열중 rice genome database에 고도의 유사성을 보이는 유전자들은 표 2-2에 나타난 바와 같다. Starch branching enzyme 유전자인 D10838 와 sucrose synthase 유전자인 X65183, X53694의 경우 약 300개 이상의 염기서열 부분이 고도의 유사성을 가진 것으로 밝혀졌는데 이는 rice genome sequence에 사용된 genomic clone들이 genome 전체를 골고루 대표하는 것이 아니며 부분적으로 집중되어 있고 중복되어 염기서열이 일치함을 나타내며 동시에 rice genome내에 이들 유전자는 하나가 아닌 복수의 집단을 형성하고 있으며 또한 유전자의 형태를 갖추고는 있으나 실제로는 발현되지 않는 pseudogene (위유전자)도 다수 존재하고 있다는 가능성을 간접적으로 나타낸다고 이해된다.

표 2-2. 동정한 전분 생성관련 유전자 집단

ADP glucose pyrophosphorylase	
X96765	Pisum sativum
X62243	Hordeum vulgare
X62241	Hordeum vulgare
S72425	Zea mays
Z38111	Zea mays
X76940	Vicia faba
X66080	Triticum aestivum
	X55155 Solanum tuberosum
X55650	Solanum tuberosum
J04960	Oryza sativa
Starch Branching enzyme	
D10838	Oryza sativa >300 hits

Starch de-branching enzyme

AF080567	Zea mays
AY172634	Zea mays
AY172633	Zea mays
AF490377	Hordeum vulgare
AF490376	Hordeum vulgare
AF490375	Hordeum vulgare
AJ301647	Triticum aestivum
AJ307689	Triticum aestivum
AB074189	Hordeum vulgare
AF438329	Triticum aestivum
AF438328	Triticum aestivum
AB015615	Oryza sativa
AF142588	Hordeum vulgare

Sucrose synthase

AJ269504	Triticum aestivum
AJ269503	Triticum aestivum
AJ269502	Triticum aestivum
X65183	Oryza sativa >300 hits
X53694	Oryza sativa >300 hits

ADP-Glucose pyrophosphorylase 과 starch de-branching enzyme의 경우 약 10여개의 고도의 유사성이 있는 염기서열이 rice genome sequencing database에 존재한다는 것을 알 수 있었다. 이들 염기서열중 우선적으로 이미 보고된 유전자들을 대표할 수 있는, PCR 증폭후 약 500bp 정도의 크기가 되는 cDNA의 부분을 만들어 낼 수 있는 primer를 제작하였는데 해당되는 primer의 염기서열은 표 2-3에 나타난 바와 같다.

표 2-3. 전분 형성과 관계된 유전자 증폭에 사용된 프라이머 염기서열

Starch branching enzyme

JK111	acc tta cgc tat ggc	D10839	Oryza sativa (japonica cultivar-group)
JK112	gtg aaa ccg ctg gcc		
JK113	agg atg aac tag ccc	D10838	Oryza sativa (japonica cultivar-group)
JK114	caa tga gga gct agc		

Starch_debranching enzyme

JK115	cat gat ccc tct tcc	AB015615	Oryza sativa
JK116	ctg tca ccc agt atc		

Starch_synthase

JK117	ggc gct aca aat agc	X65183	Oryza sativa (indica cultivar-group)
JK118	aac cct cct gat ctg		
JK119	agc tct gtg cat ctc	X53694	Oryza sativa (japonica cultivar-group)
JK120	acg aac acg acg ttc		

2) 벼의 cellulose 생합성에 관여하는 유전자집단 발굴

벼의 식미성에 관여하는 인자중 cell wall의 생합성에 관여하는 유전자집단은 미국 스탠포드대학 Carnegie Institute (<http://cellwall.stanford.edu/cesa/index.shtml>)로부터 download 받았으며 이들 유전자들을 대표할 수 있는 유전자 특이적 염기서열을 선택하여 PCR을 이용하여 증폭하는 경우 약 500bp의 크기가 되게 15mer이며 CG 의 구성비가 약 55%인 PCR primer 집단을 개발하였다. 이러한 PCR primer 집단의 부분적 염기서열은 표 2-4에 나타난 바와 같다.

표 2-4. 벼 cellulose synthase-like 유전자 및 증폭에 사용된 프라이머

Clone ID	Primer Sequence	Source of clone
>AA749881	<i>JK124</i> gtggacagttctgtg	Rice Immature Seed
	<i>JK125</i> gaatcgatgtgagtg	
>AF030052	<i>JK126</i> gaacgagttcgtcat	japonica RSW1-like cellulose synthase
	<i>JK127</i> catttgaaccagtcc	
>AG021155	<i>JK128</i> catcccttgaggctt	3' flanking sequence of Tos17 insertion
	<i>JK129</i> catccaatggtgcac	
>AG021789	<i>JK130</i> cgctgctgacgaagaa	3' flanking sequence of Tos17 insertion
	<i>JK131</i> gggggtaacaattca	
>AG022063	<i>JK132</i> ctgatgcctttttgg	3' flanking sequence of Tos17 insertion
	<i>JK133</i> gtgctatgaacaggg	
>AG022412	<i>JK134</i> gtgccctttttcca	3' flanking sequence of Tos17 insertion
	<i>JK135</i> gaagggatacaaaagc	
>AG022766	<i>JK136</i> ctgggtaagaatga	3' flanking sequence of Tos17 insertion
	<i>JK137</i> ggcttcaatggttc	
>AG023548	<i>JK138</i> gatccggttttcggt	3' flanking sequence of Tos17 insertion
	<i>JK139</i> ctcgatcgatcttgt	
>AQ049866	<i>JK140</i> cattgctctcctctc	CUGI Rice BAC
	<i>JK141</i> gtattgatccaggg	
>AQ157013	<i>JK142</i> cagctcttaccgttg	CUGI Rice BAC
	<i>JK143</i> ccataaacaggactg	
>AQ288380	<i>JK144</i> gggcatttgtgctca	CUGI Rice BAC
	<i>JK145</i> gaaatgccgaggtag	
>AQ364557	<i>JK146</i> gccccactatagatt	CUGI Rice BAC
	<i>JK147</i> ggatcctggggtttt	
>AQ364557	<i>JK148</i> ggtgagaatcaatgc	CUGI Rice BAC
	<i>JK149</i> gcagttatgatagac	

>AQ573837	<i>JK150 gaggaattcaaggtg</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK151 ggggggaatgttttc</i>	
>AQ574897	<i>JK152 cactctcccctttac</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK153 cacacaccactctct</i>	
>AQ577763	<i>JK154 ggtgagaatcaatgc</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK155 gtacagcagatactc</i>	
>AQ579494	<i>JK156 ggtgagaatcaatgc</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK157 ccaagcaatgtgtag</i>	
>AQ690930	<i>JK158 cctcgcgcatctcta</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK159 cttgttcctcacc</i>	
>AQ795409	<i>JK160 ccatcacatctcct</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK161 cattgggctctcctt</i>	
>AQ856523	<i>JK162 gactatacggcgaat</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK163 gtcttgatcaacagc</i>	
>AQ864693	<i>JK164 gcttttgagaactcg</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK165 cggtttgagtcgga</i>	
>AQ864805	<i>JK166 gggcgaattcatctc</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK167 ggtttgtgagtcgga</i>	
>AQ912735	<i>JK168 gtgactgcaagtcca</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK169 ggggtgcagcattga</i>	
>AQ916275	<i>JK170 ccacagcttacacaga</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK171 cgatcgagctaacagt</i>	
>AQ916363	<i>JK172 ggccgaattctctta</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK173 gttcagacacggttt</i>	
>AU068180	<i>JK174 ctgatgccttgctc</i>	Rice callus Oryza sativa subsp
	<i>JK175 ccaaagagcttcgac</i>	
>AU082170	<i>JK176 ggtatcgacaccaat</i>	Rice green shoot
	<i>JK177 gtcagccactctcat</i>	
>AU082289	<i>JK178 ggaaggcaaacagg</i>	Rice callus Oryza sativa subsp
	<i>JK179 cactggatgcactac</i>	
>AU082309	<i>JK180 gctcaagttgtggcc</i>	Rice panicle at flowering stage
	<i>JK181 gagaataccagccctt</i>	
>AU085988	<i>JK182 cgtggttcacctca</i>	Rice mature leaf
	<i>JK183 gaaactctgcgaact</i>	
>AU091990	<i>JK184 gaagatgacgtgcga</i>	Rice cDNA from young root
	<i>JK185 cggtcatgaagatc</i>	
>AU093819	<i>JK186 gggtttaacaagtgg</i>	Rice panicle at flowering stage
	<i>JK187 cccaatcatgcatgt</i>	
>AU096339	<i>JK188 ccattaacagcggtt</i>	Rice green shoot
	<i>JK189 gtcaagtgaacagct</i>	
>AX030950	<i>JK190 gtttctcgctgtgag</i>	Sequence 13 from Patent WO9800549.
	<i>JK191 gggcaaccaaatttc</i>	
>AX030964	<i>JK192 gtttctcgctgtgag</i>	Sequence 13 from Patent WO9800549.
	<i>JK193 cctttagtggatcca</i>	
>AZ133784	<i>JK194 cactatacggcgaat</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK195 gagctgagctcttgt</i>	
>AZ134148	<i>JK196 ggtaattctcctgct</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK197 cagcattatgggagg</i>	
>AZ134795	<i>JK198 ggctatcgctaaata</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK199 cgcaatcatctgaag</i>	
>AZ135263	<i>JK200 gcttcagtcactcag</i>	CUGI Rice BAC
	<i>JK201 gcgcaaaaactcaag</i>	
>BI797230	<i>JK202 cgaccacctagtgtt</i>	Endosperm library from Oryza sativa
	<i>JK203 caggcattttcagc</i>	
>AF432498	<i>JK204 gcagcagctagcagcttt</i>	Oryza sativa OsCslA6 gene
	<i>JK205 gacaaaaacggggattat</i>	
>AF432499	<i>JK206 gacagagccacttac</i>	Oryza sativa OsCslA9 gene

>AF432500	<i>JK207 ctcaccgaactcca</i> <i>JK208 gcttcagttcctagc</i> <i>JK209 gctccttccaaaaga</i>	Oryza sativa cellulose synthase
>AF432501	<i>JK210 gaagatttcgaggac</i> <i>JK211 gcatcatagcatgtc</i>	Oryza sativa cellulose synthase
>AF432502	<i>JK212 cgacgaagcggacgt</i> <i>JK213 gttggcgatgtccat</i>	Oryza sativa cellulose synthase
>AF432503	<i>JK214 ggcagagacgacatt</i>	Oryza sativa Oryza sativa cellulose synthase
>AF435652	<i>JK215 catgtatagtgcgca</i> <i>JK216 gagagaggagaagga</i> <i>JK217 gtctggttaagcagag</i>	Oryza sativa CSLC9 gene
>AF435653	<i>JK218 gctcatcgagcagcat</i> <i>JK219 gggtgccaaagaaatg</i>	Oryza sativa CSLC9 gene
>AF435640	<i>JK220 ggaggatggaaagac</i> <i>JK221 ggttgaactctaga</i>	Oryza sativa CSLA2 mRNA
>AF435641	<i>JK222 gagaaggagaggatga</i> <i>JK223 gttctgatgactct</i>	Oryza sativa CSLC9 mRNA
>AF435642	<i>JK224 ctttctctcctc</i> <i>JK225 gaattgcctgaagga</i>	Oryza sativa CSLC7 mRNA
>AF435643	<i>JK226 gtggaggttcaagtg</i> <i>JK227 ccccagattggtatg</i>	Oryza sativa CSLA7 mRNA
>AF435644	<i>JK228 gaagaagagcatggg</i> <i>JK229 cccagaagctgaaga</i>	Oryza sativa CSLD4 mRNA
>AF435645	<i>JK230 gctaaccacaaccgt</i> <i>JK231 gttgcagcaagcgtg</i>	Oryza sativa CSLF6 mRNA
>AF435646	<i>JK232 caacgtgaacgcaa</i> <i>JK233 gcaatggcatgaagc</i>	Oryza sativa CSLH1 mRNA
>AF435647	<i>JK234 ggcaatacattgcag</i> <i>JK235 ggtactaggaatgcc</i>	Oryza sativa CSLE1 mRNA
>AF435648	<i>JK236 gttatggcattgcac</i> <i>JK237 cccatattgcttatcg</i>	Oryza sativa CSLA6 mRNA
>AF435649	<i>JK238 catgctggtatgaag</i> <i>JK239 cacatttagcgtccc</i>	Oryza sativa CSLD2 mRNA
>AF435650	<i>JK240 ccattcagagaaggt</i> <i>JK241 ctggaactctatgtg</i>	Oryza sativa CSLC2 mRNA
>AF435651	<i>JK242 gttcgacgacgttga</i> <i>JK243 caatccaagtctcac</i>	Oryza sativa CSLF2 mRNA
>CA753427	<i>JK244 GGCCAGGCTATAATC</i>	Oryza sativa cDNA clone
>CA754914	<i>JK245 CAATTTACCCAGAG</i> <i>JK246 CACCATCTACAGCAC</i>	Oryza sativa (japonica cultivar-group) cDNA clone
>CA755226	<i>JK247 CACCTGTGTGATGTC</i> <i>JK248 GGTGATCGTCCATCT</i>	BR030016000 _PLATE_A04_25_023
>BD022680	<i>JK249 CTGATCACGATCATC</i> <i>JK250 GATGATCGTGATCAG</i>	Manipulation of cellulose
>BU673293	<i>JK251 CTTGGGTTATTCCCA</i> <i>JK252 GCCCAGAGAGAGGAA</i> <i>JK253 GCGCAACCAATTGGT</i>	Drought stress (leaf) Oryza sativa cDNA clone

나. 벼의 전사조절유전자 집단 발굴 및 염기서열 분석

벼의 전사조절유전자중 쌀의 식미성에 관련된 인자들 즉 starch branching의 정도, cell wall의 구조, starch granule을 싸고 있는 membrane을 구성하는 lipid와 protein들에 어떠한 전사조절유전자가 관여하는지를 밝히는 것은 starch branching의 정도와 cell wall의 구조를 결정하는 주요 유전자들이 이미 다수 밝혀진 상황에서 기존의 특허를 우회하여 생명공학적인 기법을 통해 목적형질을 확보하는 매우 중요한 연구기반의 조성과정이다. 이러한 전사조절유전자중 가장 대규모의 집단을구성하는 MYB 유전자집단을 발굴하여 이들 유전자들을 대표할 수 있는 유전자 특이적 염기서열을 선택하여 PCR을 이용하여 증폭하는 경우 약 500bp의 크기가 되게 15mer이며 CG의 구성비가 약 55%인 PCR primer 집단을 개발하였으며 각각 primer의 염기서열은 표 2-5에 나타난 바와 같다.

표 2-5. 벼 Myb 전사조절유전자 증폭에 사용된 primer

Prime ID	sequences	Clone ID	Gene Name
JK1	gtg gac tac gtg aag	>X98355	Osmybl1
JK2	gct tga gct tct cag		
JK3	cat cgc gta cat cag	>D88617	Osmybl2
JK4	gta gca gag gca gac		
JK5	atc ctg gtg tcc tac	>D88619	Osmybl3
JK6	gtc gtc caa gtc aag		
JK7	ggg gga tga act acc	>D88620	Osmybl4
JK8	tcc atg acg tct cca		
JK9	atg cac gag agc gac	>D88621	Osmybl5
JK10	ctg atg gaa gca tcc		
JK11	cca cat caa cca gca	>D88618	Osmybl6
JK12	gtc tga aaa tcg ctg		
JK13	aat tct cgc tgt cgc	>Y11350	Osmybl8
JK14	tct cct cct tga cag		
JK15	acc gat cga tcg atc	>Y11352	Osmybl9
JK16	tgt tgt cca tgc tgg		
JK17	aag ctc gtc agc ttc	>Y11351	Osmybl10
JK18	atc agg tac atc gac		
JK19	atg ggg ctc aag aag	>Y11414	Osmybl11
JK20	aag ctg tcg tcg atc		
JK21	tac tgg aac acg cac	>Y11415	Osmybl12
JK22	gag ttg acg ttg tgg		
JK23	tga cga cga agt gag	>AF111710	Osmybl13
JK24	gtc act tat tgg cgc		
JK25	ggt tct cct ggt gtg	>AF111710	Osmybl14
JK26	cca aaa gct gca tgg		
JK27	aac tgg aac tcc atc	>AF172282	Osmybl15
JK28	tcc atc agt tcc agc		
JK29	cta tgt gct ttg gtc	>AF242298	Osmybl16
JK30	tga cga agc gtc ttg		
JK31	gat caa cta cct ccg	>AC037425	Osmybl17
JK32	tcg agg ags atc ttg		

JK33	tgc atg cat atg ccg	>AJ237661	Osmysl18
JK34	aag aag gcg tga tcg		
JK35	caa gaa gag ctc cag	>AC079890	Osmysl19
JK36	ctg agc tct aga ctg		
JK37	caa gaa ggg tgt tcc	>AC079890	Osmysl20
JK38	tct cct atg ctg agc		
JK39	gat gtc aac agc aag	>AY026332	Osmysl21
JK40	gaa ccc cta gac atc		
JK41	tgt tgc gag aag gag	>AC084762	Osmysl22
JK42	tgc agg ctg aca atc		
JK43	agc aga gca gtt cag	>AF467733	Osmysl23
JK44	gag ttt cct cct tgc		
JK45	caa agg tga ttg gcg	>AC079874	Osmysl25
JK46	tgt tgg tgg att tgc		
JK47	tgt tgt gag cag gac	>AF474134	Osmysl26
JK48	gat gga cgt cat gag		
JK49	gtg ttc cag tgg ttc	>AF474135	Osmysl27
JK50	ata caa gta gcc tcc		
JK51	ctt gac gtc gtt gtc	>AF474136	Osmysl28
JK52	acg caa acc tta ccc		
JK53	tcg ttg tcc gtc ctc	>AF474137	Osmysl29
JK54	tgt agc tcg agc ttg		
JK55	cgc ctc ata gtc atc	>AF474138	Osmysl30
JK56	aga cca aca gcg atg		
JK57	gag cta ttg cga tcg	>AF474139	Osmysl31
JK58	gcg ttc cag aag ttc		
JK59	atg agc ttc ttg ctg	>AF474140	Osmysl32
JK60	acc gac cat ttc ctc		
JK61	gct aca ttg cca agc	>AF474141	Osmysl33
JK62	agt ggc tgt ctc ctc		
JK63	cga cat ggt gga aac	>AC092749	Osmysl36
JK64	ctg aag act ggc ttc		
JK65	cgc ata act gga acg	>AF377946	Osmysl38
JK66	tat gag ctg cac ctg		
JK67	agg cac tgt ctg atg	>AC079888	Osmysl39
JK68	ctc gat gaa tgg cag		
JK69	gag gag aag atc gtc	>AJ311051	Osmysl40
JK70	tct agc tcc tcg tac		
JK71	aag atg ggc atc gac	>AJ311052	Osmysl41
JK72	cct cga ctt gtg atc		
JK73	ttc atc cgc ctc aac	>AY151042	Osmysl42
JK74	cct gca aga tca tcg		
JK75	caa ctc cat gaa ccg	>AY151042	Osmysl43
JK76	gcc gct gct aat tac		
JK77	ctt tgt gac cag cag	>AY151043	Osmysl44
JK78	ggg act gac att ctc		
JK79	gag gtc aag aac cag	>AY151044	Osmysl45
JK80	tca tgt gtg cca gac		
JK81	caa gaa gag cag acc	>AJ495796	Osmysl46
JK82	cca tga ctc ctc aca		
JK83	agc tct cag gat gtg	>AJ495797	Osmysl47
JK84	gag gaa caa cat gcc		
JK85	acg gta cta ctg ctg	>AJ495798	Osmysl48
JK86	cca caa ctt cag agc		
JK87	gga gga ggt aga ttc	>AJ495799	Osmysl49
JK88	gtg tgc cag aca aac		

JK89	atg gaa gtc ccc ttg	>AJ495800	Osmybl50
JK90	aaa tct agg tgt agg		
JK91	agt tac cac cac ctc	>AJ428900	Osmybl51
JK92	atg gcc tcc tca atc		
JK93	gca gct tgt aga tgg	>AC104487	Osmybl52
JK94	gcg tga gca tca gca		
JK95	tcg cca agt atg gcc	>AC087220	Osmybl53
JK96	tgc tgg agc tag acg		
JK97	tat gca gcc aac aag	>AC120535	Osmybl54
JK98	tgc agg acc cgt aag		
JK99	gta cac ctt gga ctg	>AP002816	Osmybl57
JK100	tgt att tgt cgg tcc		
JK101	cct gaa gat gtt cgc	>AC099043	Osmybl58
JK102	ttg ctt tgg agt agc		
JK103	gct gga agg aga ttg	>AE017081	Osmybl59
JK104	gcg gtg att cat gac		
JK105	cgg tgg atc aac tac	>AE017105	Osmybl60
JK106	cca gaa ctc cat gtc		
JK107	gag gac gat ttg atc	AE017109	Osmybl61
JK108	aag aag ctc tgc acg		
JK109	ggt caa gat ctt cgg	>AE017119	Osmybl62
JK110	caa cgt tga ttg ggc		

위의 PCR primer를 이용하여 현재 동진벼의 수분수정후 약 3-4 된 초기종자 발달기 배 및 배유로부터 제작한 cDNA library를 이용하여 해당되는 유전자의 일부를 확보하기 위하여 증폭하였다.

다. 목적형질의 합성대사별 유전자로 구성된 cDNA microarray system 개발

- 1) sucrose, starch, cellulose 합성대사 및 관련 전사조절유전자 증폭을 위한 프라이머 개발

벼의 sucrose, starch, cellulose 합성대사 및 관련 전사조절유전자집단을 집적한 소규모 microarray analysis를 위한 유전자칩을 제작하기 위하여 1차년도에 제작한 PCR primer를 이용하여 유전자를 증폭, 동정하였다. 총 62개의 전사조절 유전자를 동정하기 위하여 124개의 PCR primer를 제작하였고 그 중 표 2-6에 나타난 33개의 전사조절 유전자는 증폭된 상태이다 (그림 2-3).

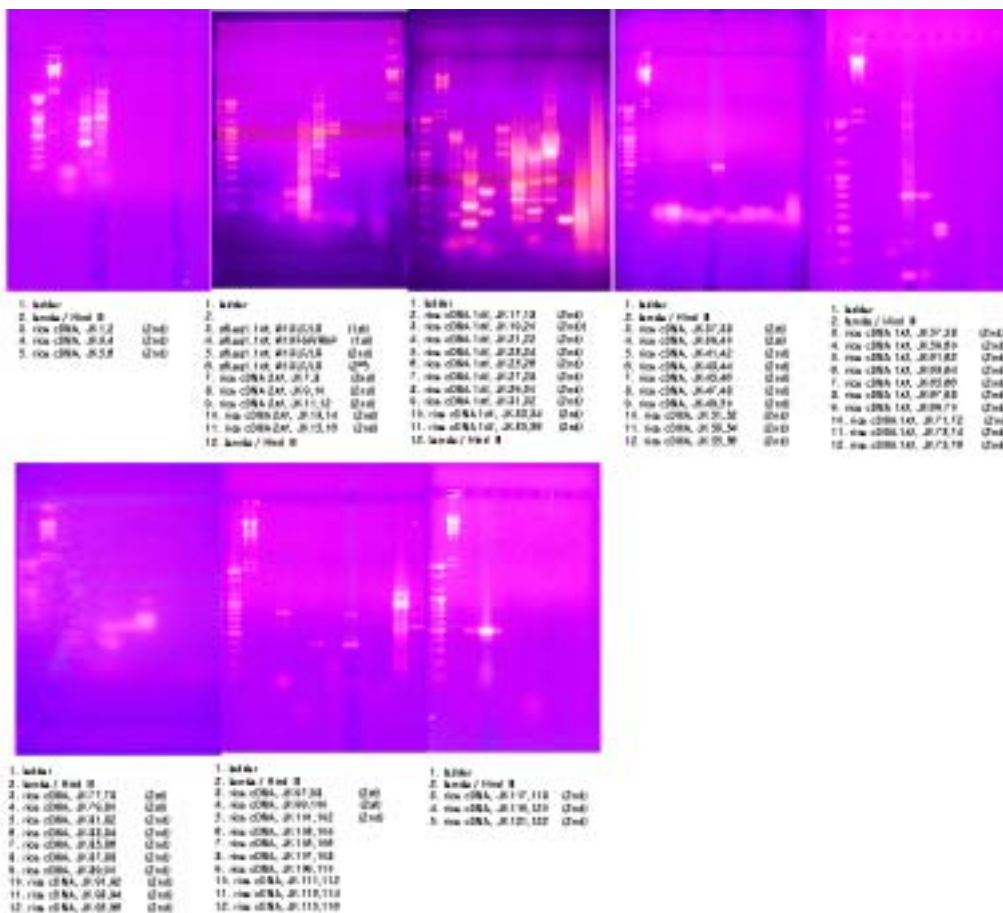


그림 2-3. RT-PCR을 이용한 벼 전사조절유전자 증폭

표 2-6. RT-PCR을 통하여 확보된 전사조절유전자 집단

JK1,2	X98355	Osmyb11
JK2,3	D88617	Osmyb12
JK5,6	D88619	Osmyb13
JK7,8	D88620	Osmyb14
JK9,10	D88621	Osmyb15
JK17,18	Y11351	Osmyb110
JK19,20	Y11414 O	smyb111
JK21,22	Y11415	Osmyb112
JK23,24	AF111710	Osmyb113
JK25,26	AF111710	Osmyb114

JK27,28	AF172282	Osmybl15
JK29,30	AF242298	Osmybl16
JK31,32	AC037425	Osmybl17
JK33,34	AJ237661	Osmybl18
JK45,46	AC079874	Osmybl25
JK55,56	AF474138	Osmybl30
JK61,62	AF474141	Osmybl33
JK63,64	AC092749	Osmybl36
JK65,66	AF377946	Osmybl38
JK67,68	AC079888	Osmybl39
JK79,80	AY151044	Osmybl45
JK83,84	AJ495797	Osmybl47
JK85,86	AJ495798	Osmybl48
JK87,88	AJ495799	Osmybl49
JK99,100	AP002816	Osmybl57
JK103,104	AE017081	Osmybl59
JK105,106	AE017105	Osmybl60
JK107,108	AE017109	Osmybl61
JK109,110	AE017119	Osmybl62
JK113,114	D10838	
JK115,116	AB015615	
JK117,118	X65183	
JK119,120	X53694	

2) 쌀의 고식이섬유 및 호화점도 특성관련 유전자 특정부분 증폭

쌀의 전분구조에 영향을 미치는 유전자 후보 집단을 집중적으로 수집하여 DNA microarray analysis에 사용 하기 위해 증폭한 유전자는 아래 표에 정리되어 있다. 쌀의 전분형성에 관여하는 것으로 알려진 대표적인 유전자인 ADP glucose pyrophosphorylase, starch branching enzyme, starch de-branching enzyme, sucrose synthase 등의 염기서열은 GenBank 검색결과 1000여개 이상의 유사한 염기서열이 존재함을 확인하였고 그 중 대표적인 15개 유전자의 가장 공통적인 부분만을 선택적으로 증폭하였다 (그림 2-4).



그림 2-4. 벼의 전분합성에 관여하는 유전자별 Sequence alignment 결과 예시

3) 유용 유전자 집단의 발굴 및 쌀의 고식이섬유 및 호화점도 특성관련
형질과의 연관성 검정

이들 유전자 집단 중 어떤 유전자가 쌀의 고식이섬유, 호화점도특성과 관련 있는지를 검정하기 위하여 특정 유전자의 프로모터 염기서열을 이용하여 쌀의 전분구조를 비롯한 여러 재배 및 품질관련 형질과 연관성을 탐색하였다. 쌀의 전분형성과 관련된 starch synthase, ADP glucose pyrophosphorylase, starch branching enzyme, starch de-branching enzyme 유전자들이 위에서 언급한 재배 및 품질관련 형질과의 연관성은 농촌진흥청 작물과학원 유전육종과 육종기술개발연구실의 도움을 받아 탐색하였다. 분리계통은 운남수집6호와 화성벼가 교배된 F1 식물체로부터 약배양을 통해 육성된 집단을 사용하였으며 총 283계통에서 연관성을 검정하였다. 이들 계통의 작물학적 특성으로 출수기, 출수일수, 간장, 수장, 수수, 3개체조사수수, 수당립수, 천립중, 등숙률, 개체수량, 정조수량, 잎도열병저항성, 흰잎마름병저항성, 간의 굽기, 까락, 까락색, 입형, 도복, 이삭형태, 옆노화가 미질관련 특성으로 심복백지수, 식미지수, ADV, 아밀로스함량이 조사되었다.

시험방법의 구체적인 예로서 starch de-branching enzyme의 경우 GenBank로부터 확보한 염기서열을 이용하여 유전자의 가상의 프로모터 염기서열을 벼의 genome sequence database (Beijing Genome Institute: RICE GD <http://rise.genomics.org.cn>)를 이용하여 추출하였다. 이 가상의 프로모터 염기서열은 Indica type 벼의 genome sequence가 사용된 것으로서 starch de-branching enzyme 유전자의 5' 말단의 염기서열로부터 상부 (5' 방향) 약 2 Kb 가량의 염기서열을 벼 genome sequence database에서 추출하였다. 염기서열 추출을 위한 프로그램은 C 언어로 짜여진 프로그램 get_seq2를 자체 개발하여 사용하였다. 특정 유전자의 염기서열에 근거하여 기존에 존재하는 genome sequencing database로부터 특정 프로모터 부위의 가상의 염기서열을 추출하여 이를 유전자 특이적 분자마커로 개발하는 과정은 아래 그림 5에 제시되었다.

이 과정에 사용된 starch de-branching enzyme의 염기서열은 그림 6에 나타나 있다. 이 가상의 프로모터 염기서열로부터 primer를 만들어 실제 화성벼와 운남수집6호의 genomic DNA로부터 증폭시킨 결과는 그림 2-7에 제시하였다.

이와 같은 방법을 이용 starch de-branching enzyme, starch branching enzyme, starch synthase 유전자의 프로모터 특이적 프라이머를 이용하여 운남수집6호, 화성벼, 그리고 이들의 288개 F2 분리계통에서 추출한 genomic DNA를

이용하여 PCR 한 결과는 아래 그림 2-4, 2-5, 2-6에 제시하였다.

위에서 언급한 starch de-branching enzyme, starch branching enzyme, starch synthase 유전자외 벼의 전사조절유전자의 프로모터를 증폭하는데 사용된 프라이머는 표 2-3 에 제시되었다.

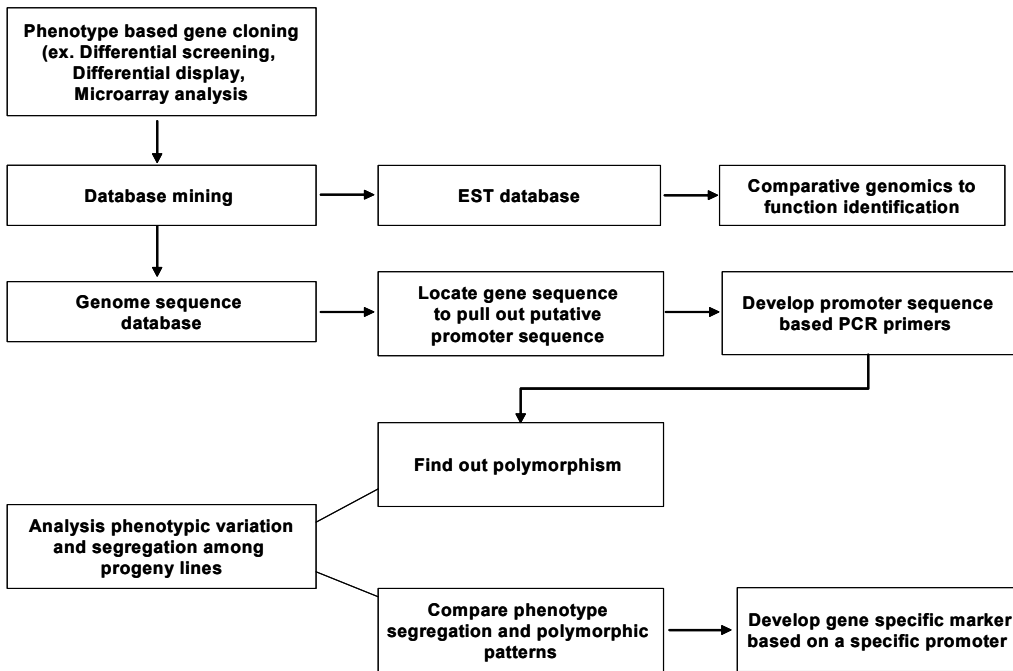


그림 2-5. Genome sequencing database mining을 통한 벼 유전자의 가상프로모터 추출과 이를 이용한 분자마커 개발 모식도

```

>Scaffold810[9000-11100]n
AGCAAGGCTCAAAGATGGGCTAGTTTTTCTCGGCCCAAGCCGTCTGTTGAAC
AGCGTGGAGAAGGCCACACGGGCCACGTGCATACGCAGGCCGCGCACTGGAT
TTCAAGATGGGCCGCGGAGGTGGACGGCCCAGATTGCTACGGCCTTCTACG
GCGTACAGTTTTTTTCGTGGTGC GGCTGGTGGCCGTGCTTCGCGTACACGACA
GTGTACACGCTGCACTGCACTCCAAAGAAATCCGCCGAAAGTGCAGTTATAC
GTAGCGACAATCTGCAATACGTACCAACAGCCGAAAGCATCTATGGACAAGC
AGCCACGCAAGCCATCAGCACAACCCACACGAAGAGCAGTTTTTTTTTTTCGAA
TCAAGCCATACGGTAGTGCTACGTTTTTATTGATATAGCAGGAAAAAACA
AATCTATAGCGTTGAGAGACTAGTTAGGAGAAGAAAAAGACGGCCACACCAC
ATGCCTACATCTGATCCTGCTACTGAAAACAAAACAAGCACACGACACCTAG
AAGGAATGGTTCACACGAAGAGAAGTTTTAACAAAGGAGAGAGGTGGTTGT
TGGAATCAACATGTAATTCCAATAGAAAAAAGAAGTTGATTAGTTGTAGTA
ATCCGTAAGTAAACAGAATCATATAGATAATGGTACAAGCCTGACCCAGTTG
TTGATATTTTTTTTAAATCTCCCTGTCTTGACAGTGC GGATAGATGCTAAT
GTGATGTGGCAGACACCTGTGACATCTGGCCATATGTCTACAGCTAATGCTG
TGTTTTGTTCAATTTTTTATTAAAGGCAAATAAATATCTATATCTACGGTTG
TGCCTATACCAATTGAAGTTATGTCATATGAGGCGTTTTTCGTGCTATCTAC
TGATGAAATTTACCTCTCGTACATCAGAACCCTGCAATATCATTACTTATG
TCAGTGTAACGGGATAAATTGGTAGAGTTTTTGAGAGTGGAACTTCCTGG
TTTTTCAAACCTTGATAAGATAGCAATAACAATAATGAGTTTGGTTTGTG
TCCTATTAATAATTTGGTAATACAAAATTTAGTAGGGTTAAAAATAACAAC
AAAGTGAATATTCCTTAGTTTTAAATTTGTTTTAGTTGAAGGTTAAACATTAC
CAAAAATTTGGTAGGTTAAAAATGTTAATAAAAAAAGCAAGCCCTTAGTTTTA
AATTTGTTTTCAGTTGAATGTTCAACATTTGCTCACAAAATGTTCTCTTAAATA
GTACTTTATTATTACAAAGAGCATCTGAATCTGTATTAAAAAAGTACAAAA
AAAAACATTCTGAATCTAGACATTCTGAATCTAGAAAGGGAAAAATATCTAG
AAGCGACTGCACGCGGCCCCACGAAAAGCCCATGCACGTGGGCCCCATCCC
GAAAAAGGAGCAACAGCCTCACCGCCTACCTGCATGTCCAAGTGGACGGTGC
GCGGCTGCGCGCCGCAACGCGACGCCCGCGCGGCTGCGCGCCGCAACGCGA
CGCCCCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNAGTGGGACCACCCCTCCGGCCCATTTGTCAGCGAGACAGTGA
TACCTCCTCCCCCGCCTCCTCGCGCGGCGCGCAACGCACACGCTTCCCCTTC
ATCTCAGTCGCGCGGCCTCCTCAGTCCTCACACTCCCCACGAACTCGAATCC
CCAATAAATAATCCACCGGAAAATTCACAATTCGATCGCCTCTCTCGAT
CGGAGATTTTCGCAATTTCTCCGCATGGCGAGCCTCCCGCACTGCCTCTCCG
CGCGCCCGCTCGTTCGTCGCGCGGCCCGGGGCGGCCTGGGCCGGGGCCGGG
GCCGTGGCTGCGCGGCGGGGCGAGGCGGGAATGCGGCGTTTTTCGGCGGGG
AACGCGGGGAGGCGGGTGGGGTTGAGGAGGTCGGTGGCCTCGGCGGTGGAG
GTCGGGGTCCGGGAGGATGAGGAGGGTGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGTG
GAGGCGGTGGTGTATGCCGGAGAGGTACGCGCTGGGTGGCGCGTG

```

그림 2-6. 벼 genome sequencing database mining을 통한 starch de-branching enzyme 프로모터 염기서열

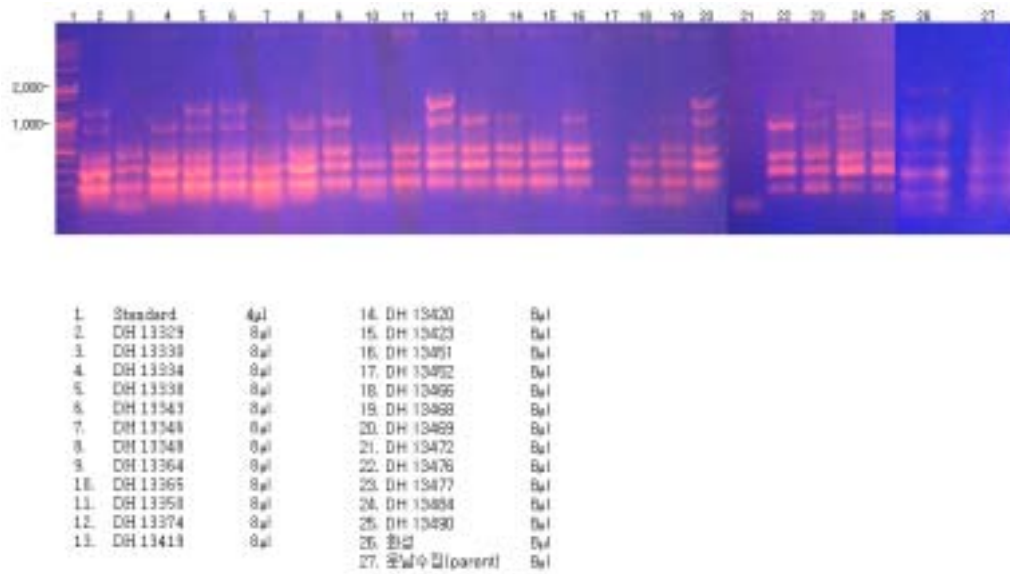


그림 2-7. Starch de-branching enzyme 프로모터 부위의 다형성 발굴

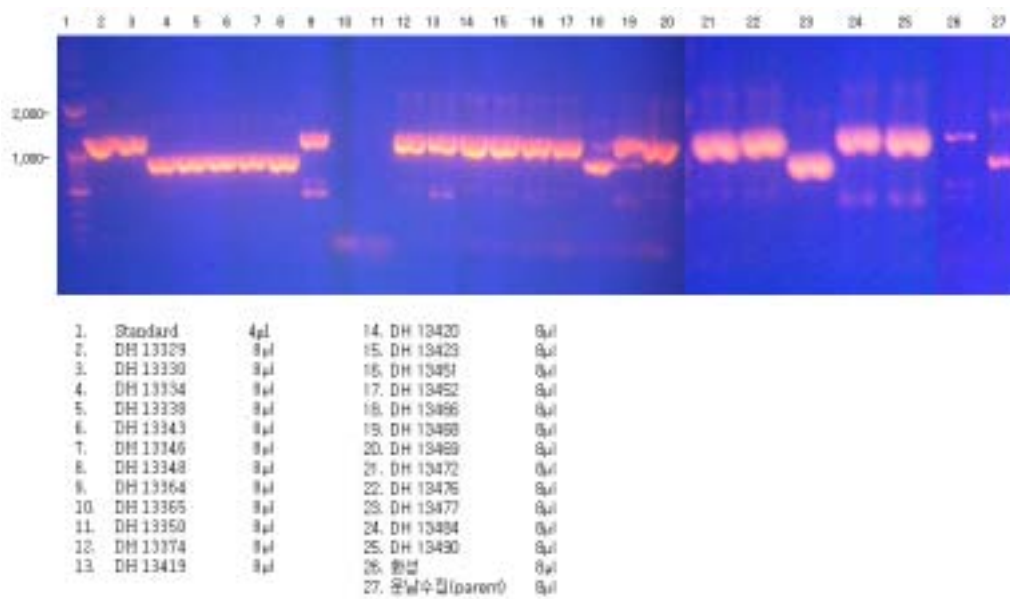


그림 2-8. Starch branching enzyme 프로모터 부위의 다형성 발굴



1. Standard	4μl	14. DH 13420	8μl
2. DH 13329	8μl	15. DH 13423	8μl
3. DH 13330	8μl	16. DH 13451	8μl
4. DH 13334	8μl	17. DH 13452	8μl
5. DH 13338	8μl	18. DH 13466	8μl
6. DH 13343	8μl	19. DH 13468	8μl
7. DH 13346	8μl	20. DH 13469	8μl
8. DH 13348	8μl	21. DH 13472	8μl
9. DH 13364	8μl	22. DH 13476	8μl
10. DH 13365	8μl	23. DH 13477	8μl
11. DH 13350	8μl	24. DH 13484	8μl
12. DH 13374	8μl	25. DH 13490	8μl
13. DH 13419	8μl	26. 환검	8μl
		27. 운반수집(param)	8μl

그림 2-9. Starch synthase 유전자 프로모터 부위의 다형성 발굴

표 2-7. 벼 전사조절유전자 프로모터 증폭에 사용된 프라이머

JK 744, 745 (Scaffold479)

ACT GCA GCA GCT AGA AGC TC
GAG AGA AAC AAA CTC CGG CG

JK 746, 747 (Scaffold)3084 - x98355 - Osmy11)

AAA TTC TCC GCA CAC TCC GG
GGT TCC CAA CCC CTT CTA AC

JK 748, 749 (Scaffold3084)

CAT GAG ATT ACC AGG TGT GG
TGG CAT GGT TAG TGA CAC AG

JK 750, 751 (Scaffold87)

GCT ACA AAT CCG CAA CCA CC
TAT CTG TGT TCG CGG AAG AG

JK 752, 753 (Scaffold4780)

GGC ATC CAA ATT CGA TGG CC
ATA GAT GGC CAT ATG GCC CG

JK 754, 755 (Scaffold5841)

CTT GAT CTC GTT GTC CGT GC
ATC TTT TTC CCC GTG AGG AC

JK 756, 757 (Scaffold6235)

TGA TCT CGT TGT CCG TCC TC

ACA CGA CGG CGA TCG ATC AC

JK 758, 759 (Scaffold71)
TTC TTG AGC CCC TTC TTG TC
ATA GGG AAA CTT GCG ATG GG

JK 760, 761 (Scaffold5623)
CTA CCG GCA AAA CGA TGG AC
AGG GTT TGC GTC ATG CAT GC

JK 762, 763 (Scaffold755)
ACA TGG TGG CGA GAG ATG AG
TGA TGT GCG TGT TCC AGT GG
JK 764, 765 (Scaffold3863)
CGG CTT CTT GTG CTT CTT GC
GAA GAT GGG GCT CAA GAA GG

JK 766, 767 (Scaffold9777)
TCG TCG TAC GGG TTT TCT CG
TGC AAG AAC TGT TCG GTC GC

JK 768, 769 (Scaffold7208)
CGG TAT TTG CCT TCT CTG CC
TGG GGC TTG TGA TCC TCA TC

JK 770, 771 (Scaffold7208)
CAC CAT ACA ACG AGG GAG TG
TTG CTA CCA TCT CTG GTG CC

JK 772, 773 (Scaffold649)
ACG TGC CAG TGG TTC TTG AC
TGC CTC CTA TCA TGC TTG TG

JK 774, 775 (Scaffold1194)
CCC CCT TCT TCT TCT TTC CC
GTT CCC CCA TTA GAG TAC AG

JK 776, 777 (Scaffold5623)
TGA CAT CGA TGA TAT GCG CG
CAT CGA TCG ATC GAT CCG TG

JK 778, 779 (Scaffold3863)
CGT GTG AAA CAG CAC ACT GC
AAG ATG GGG CTC AAG AAG GG

JK 780, 781 (Scaffold4085)
AAC AGC AGT GGA TCA CAC CC
CGA ACA CGA AAG CAA CTC CC

JK 782, 783 (Scaffold5623)
ACA TCT CCG TGA TGC TGA GC
GGT GAT GTG AGT GAG ATT CG

JK 784, 785 (Scaffold4094)
AGG GGA ACA ATC CAC ACT AG

AGA GGA CGG ACA ACG ACA TC

JK 786, 787 (Scaffold9103)

ATG CGA TCG CAA TAG CTC AG
GCT GCT GGT TCA CAT CAA TC

JK 788, 789 (Scaffold5841)

ATC TGA ATA GCA GCC ACG GG
CAT TGA GTG CAG CGA CGA TC

JK 790, 791 (Scaffold79)

AGC AGG CCA TCA TGC TCT TG
TAG CAG AAG ATG GAG GCA GG

JK 792, 793 (Scaffold6305)

TCT ACC TAT CTT CGC AGG CG
TCA TGA AGC ATC GCT GGA GG

JK 794, 795 (Scaffold270)

ATG CAG GTG CTG ATC GGA AC
TAA TGT CGT CGA GGT CGG TC

JK 796, 797 (Scaffold1873)

GAG GAT TGG GAT GAT GAT GC
ATG TGA GTT GGA GCA GGA GG

JK 798, 799 (Scaffold3266)

TTC TAC ACT GGT GAA GGC CG
CTT GGC AGC AAT CTT GGA CC

JK 800, 801 (Scaffold1692)

AAG TGA ACA GGC CCT CAG TG
TGG TGG TGG TGC TTC ATG CC

JK 802, 803 (Scaffold2219)

TCT TGT GCT CCT CCT CAG TC
ACG TAG CCA GGT TCA GTC TC

JK 804, 805 (Scaffold951)

ACC ACC TGA ACA GGA ACA GG
TGC TCA CAA CTC AGC TAG CC

JK 806, 807 (Scaffold2509)

GCT TGC GAA ACT TTG GCT GC
TCA TGT GTC ATA GAA CCC CG

JK 808, 809 (Scaffold59)

CGC ATA CAA GCA GTT CTC CC
CAG GTA CTA CTG CTG ATG AG

JK 810, 811 (Scaffold4717)

TCG AAA TCC AGG ACT CTC CC
CTT ACT GGA AGT TGG CAC GC

JK 812, 813 (Scaffold2727)
ATC CCT TGA GGG GAT GTT CC
GCC ATT GTC AGA GAT GGC AC

JK 814, 815 (Scaffold726)
CCT CGT TGA TCA TGC ATA CC
CGG ATA AGG CGA GAA ACC AG

JK 816, 817 (Scaffold1692)
GTC GAC TAA ATC TCG GCA GG
CAC CAA CGT AAC TCA CTA GG

JK 818, 819 (Scaffold9536)
TCC ACG TTC ACG CAA GTA CG
CGA AAA CAG CGA CCC GTT TC

JK 820, 821 (Scaffold6305)
ATC ACC TCC TGA TCC ATC GC
GTG GTA TTG AGG CCA AGC AG

JK 822, 823 (Scaffold3890)
AAT GGG ATC GGC TTG GCT AC
AGA TAC GGT CGC ATG GCG AG

JK 824, 825 (Scaffold1194)
AAC CAT TCT GGC CTG ATG CG
GGT TCT TGA CCT CCA GGA AG

JK 826, 827 (Scaffold5574)
CGA GTG ATC AGC TAA CGT GC
GCT CCG ATC GAT CAA ATC CC

JK 828, 829 (Scaffold9628)
TGC CTC TCT TGA GAT CAG GC
AGA GAC GAC GAG AGA GAG AG

JK 830, 831 (Scaffold9916)
GAC ATG TGA TCC CGA TTT GC
CGG CCT CAG GTA ATT GAT CC

JK 832, 833 (Scaffold969)
TCT CTG AAC CTG TGC AAT CG
CGT GTT TTC TCT CCT GCA GC

JK 834, 835 (Scaffold9649)
TGA GAA GGG TAG TGG ACT GG
GAG CTT GTC CTG GAG AAG TG

JK 836, 837 (Scaffold7101)
CAA CGC CGG ATC GAA TCA TG
GAT CGA GAT CGA GTC GAC AC

JK 838, 839 (Scaffold6709)
GCG CAA GCA CAA GCA CAA AC
GCG TGA GGT TAG CTA TCA GC

JK 840, 841 (Scaffold921)

ATG CTG TAT GCC AGT ACA CG
CGT TTT CCT TTT GGG ATG GC

JK 842, 843 (Scaffold5923)
TCT GTG CCT GTG ATA ATG GC
AGC ACC TTC TTA GGT GTT CC

JK 844, 845 (Scaffold3863)
GTG TGT TCT TGG AAG GGA GG
GGT GGA CCA CAT GAG ATT CC

JK 846, 847 (Scaffold321)
AGT CTG AGT CAG AGT GAG GG
AGG AGC TTG CGC TTG ATG TG

JK 848, 849 (Scaffold1194)
AAC CAT TCT GGC CTG ATG CG
GCA CAC AGA ATA TGG CCT GC

JK 850, 851 (Scaffold873)
TGG CCA AGT GTG ACT ATG CG
CAT TCC AGG CCT CTT TGT GG

JK 852, 853 (Scaffold226)
CTG GGT AAA GTC CAA TCA GG
GTA GCC AGG GAA AGA ATT CC

JK 854, 855 (Scaffold1650)
GAC ATT GGA TGA TTC TGG CC
TCC ATT TGA CCC TCA GGT CG

JK 856, 857 (Scaffold501)
CCA CTC TCC TAA TGA CAG TG
GCA CCG ACA ACG AGA TCA AG

JK 858, 859 (Scaffold5923)
AGT AGT AGG TGA GAG CTG GG
AAG AGA GAG AGC TCT TGG GG

이와 같은 PCR결과로 얻은 band pattern으로 ANOVA test한 결과는 아래 표 2-4에 제시되었다. Starch de-branching enzyme의 경우 배유특성인 식미지수, ADV, amylose와는 뚜렷한 상관을 발견할 수 없었으나 간장, 수장, 수수, 수당립수와는 유의성이 있었다. 이외의 starch branching enzyme, starch synthase 유전자 프로모터를 증폭한 결과는 분석중이다.

본 실험에서 사용된 특정유전자의 가상의 프로모터 염기서열을 genome sequence database mining을 통해 추출하는 연산논리, 이 가상의 프로모터로부터 만들어진 프라이머를 이용하여 특정유전자의 분자마커로 사용하는 방법, 특정목적형질과의 연관성 검정에 대한 분리계통의 이용 방법에 대해서 현재 특허 출원 중이다.

표 2-8. Starch de-branching enzyme과 재배 및 미질관련형질간 ANOVA test 결과

The ANOVA Procedure					
Class Level Information					
Class	Levels	Values			
JK726	2	1 3			
Data for Analysis of DTH CL PL PN SPP GW FER YI BL K1 K2 K3					
Number of Observations Read	101				
Number of Observations Used	101				
Data for Analysis of GCR					
Number of Observations Read	101				
Number of Observations Used	99				
Data for Analysis of ADV AMY					
Number of Observations Read	101				
Number of Observations Used	100				
Note:	Variables in each group are consistent with respect to the presence or absence of missing values.				
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					
일원 분산분석 결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: DTH DTH					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	162.4426	162.4426	1.04	0.3105
Error	99	15478.47	156.3482		
Corrected Total	100	15640.91			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	DTH		
0.010386	11.79946	12.50393	105.9703		

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	162.4426	162.4426	1.04	0.3105
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					
일원 분산분석 결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: CL CL					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	1556.222	1556.222	7.11	0.009
Error	99	21672.26	218.9117		
Corrected Total	100	23228.48			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	CL		
0.066996	16.9846	14.79566	87.11221		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	1556.222	1556.222	7.11	0.009
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					
일원 분산분석 결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: PL PL					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	31.12957	31.12957	10.24	0.0018
Error	99	300.8823	3.039215		
Corrected Total	100	332.0119			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	PL		
0.09376	7.832713	1.743334	22.2571		

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	31.12957	31.12957	10.24	0.0018
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					
일원 분산분석 결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: PN PN					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	30.64706	30.64706	11.7	0.0009
Error	99	259.2509	2.618696		
Corrected Total	100	289.8979			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	PN		
0.105717	18.47081	1.618238	8.761056		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	30.64706	30.64706	11.7	0.0009
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					
일원 분산분석 결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: SPP SPP					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr

Model	1	3280.651	3280.651	5.5	0.021
Error	99	59069.1	596.6575		
Corrected Total	100	62349.75			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	SPP		
0.052617	19.21041	24.42657	127.1528		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	3280.651	3280.651	5.5	0.021
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					
일원 분산분석 결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: GW GW					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	388.4751	388.4751	1.57	0.2138
Error	99	24570.34	248.1853		
Corrected Total	100	24958.82			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	GW		
0.015565	54.04915	15.7539	29.14735		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	388.4751	388.4751	1.57	0.2138
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					
일원 분산분석 결과					

The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: FER FER					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	24.60772	24.60772	0.23	0.6337
Error	99	10663.48	107.712		
Corrected Total	100	10688.09			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	FER		
0.002302	12.97622	10.37844	79.98046		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	24.60772	24.60772	0.23	0.6337
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					
일원 분산분석 결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: YI YI					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	0.030768	0.030768	0	0.9744
Error	99	2945.81	29.75565		
Corrected Total	100	2945.841			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	YI		
0.00001	20.5017	5.454874	26.60693		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	0.030768	0.030768	0	0.9744
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					

일원 분산분석 결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: BL BL					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	0.154031	0.154031	0.02	0.8796
Error	99	661.0143	6.676912		
Corrected Total	100	661.1683			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	BL		
0.000233	40.65127	2.583972	6.356436		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	0.154031	0.154031	0.02	0.8796
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					
일원 분산분석 결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: K1 K1					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	14.84809	14.84809	2.82	0.0961
Error	99	520.9143	5.261761		
Corrected Total	100	535.7624			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	K1		
0.027714	27.87956	2.293853	8.227723		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	14.84809	14.84809	2.82	0.0961
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					

일원 분산분석					
결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: K2 K2					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	13.18648	13.18648	2.54	0.1141
Error	99	513.6254	5.188135		
Corrected Total	100	526.8119			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	K2		
0.025031	27.61735	2.277748	8.247525		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	13.18648	13.18648	2.54	0.1141
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					
일원 분산분석					
결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: K3 K3					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	0.193635	0.193635	0.35	0.5563
Error	99	55.01429	0.5557		
Corrected Total	100	55.20792			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	K3		
0.003507	8.488245	0.745453	8.782178		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	0.193635	0.193635	0.35	0.5563
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					

일원 분산분석 결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: GCR GCR					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	14.53592	14.53592	0.89	0.3483
Error	97	1587.271	16.36362		
Corrected Total	98	1601.807			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	GCR		
0.009075	6.414007	4.045197	63.06818		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	14.53592	14.53592	0.89	0.3483
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					
일원 분산분석 결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: ADV ADV					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	0.940631	0.940631	3.2	0.0768
Error	98	28.82687	0.294152		
Corrected Total	99	29.7675			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	ADV		
0.031599	9.001785	0.542358	6.025		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	0.940631	0.940631	3.2	0.0768
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					

일원 분산분석 결과					
The ANOVA Procedure					
Dependent Variable: AMY AMY					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr
Model	1	3.290794	3.290794	3.62	0.0601
Error	98	89.14987	0.909693		
Corrected Total	99	92.44066			
R-Square	Coeff Var	Root MSE	AMY		
0.035599	5.175894	0.953778	18.42731		
Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr
JK726	1	3.290794	3.290794	3.62	0.0601
생성 환경: SAS 시스템(SAS 서버, HP-UX), 생성 일시: 2006년 06월 10일 12시29분03초					

라. 벼 형질전환체 개발을 위한 벼 somatic embryo 유도 및 재조합 벡터 개발

1) 체세포 배의 유도

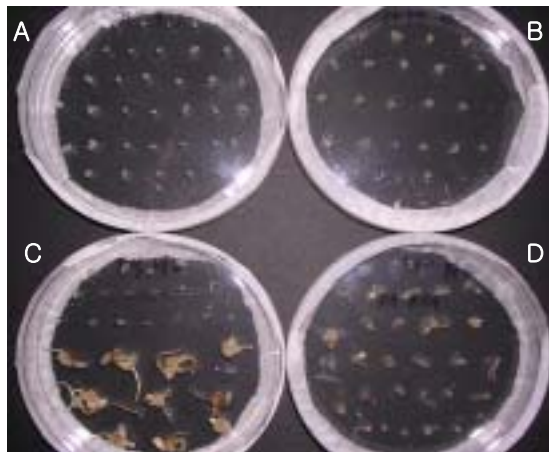
벼 형질전환체 개발을 위하여 벼 종자를 발아시켜 scutellum으로부터 유도되는 somatic embryo cell line 를 확보하기위하여 아래 표 9에 제시된 배지를 제조하였고 화성벼, 야생벼 (*O. nivara*), Nipponbare의 종자의 영을 제거시킨 상태에서 callus initiation 배지위에 치상하였다. 치상후 약 2개월후 유도된 callus를 나누어 callus maintaing 배지위에 치상하였으며 현재 유도된 callus중 embryogenesis의 능력이 있는 것을 선발하고 있다. 유도된 callus의 모습은 그림 2-10에 나타난 바와 같다

표 2-9. 유전자총을 이용한 벼 형질전환에 사용되는 배지 시스템

Media stage	Media composition
Callus initiation media	MS* medium supplement with 2,4-D; AgNO ₃
Callus maintaining media	N6** medium supplement with 2,4-D
Transformation support media	MS medium supplement with 2,4-D; AgNO ₃ ; osmoticum
Selection media	MS medium supplement with 2,4-D; AgNO ₃ ; hygromycin B
Regeneration media 1	MS medium supplement with sucrose, sorbitol; hygromycin B
Regeneration media 2	MS based medium supplement with sucrose; hygromycin B
Regeneration media 3	MS based medium supplement with sucrose; hygromycin B

MS* : Murashige and Skoog medium

N6** : Chu (N6) basal salt mixture



- A: Embryogenic calli induced from rice cultivar Hwasung-byeo on callus maintaing media.
- B: Embryogenic calli induced from wild rice (*O. nivara*) on callus maintaing media.
- C: Embryogenic calli induced from rice cultivar Hwasung-byeo on induction media.
- D: Embryogenic calli induced from wild rice (*O. nivara*) on induction media.

그림 2-10. 화성벼로부터 유기한 체세포배

벼 embryogenic callus는 발아중의 종자와 약배양 으로부터 유기되었는데 약 배양으로부터 유기된 embryogenic callus 가 분열이 왕성하였다 (그림 2-11, 2-12). 벼 embryogenic callus는 발아중의 종자와 약배양으로부터 유기되었는데 약배양으로부터 유기된 embryogenic callus 가 분열이 왕성하였다. 이 약배양으로부터 유기된 embryogenic callus로부터 식물체 분화가 유도되었다 (그림 2-13).



그림 2-11. 발아 종자 (화성벼)로부터 유기한 embryogenic callus



그림 2-12. 벼 약배양(화성벼)을 통한 embryogenic callus의 유기

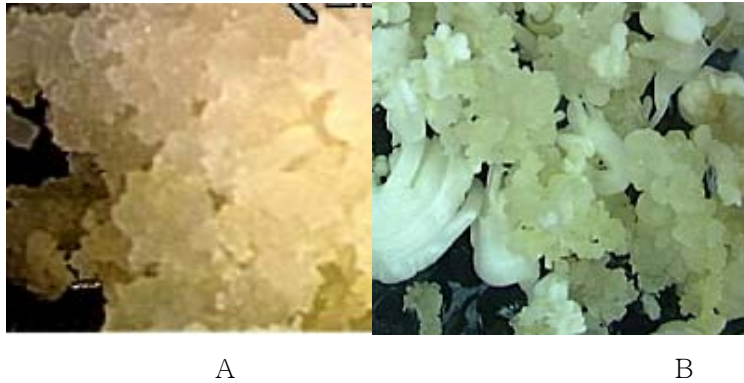


그림 2-13. 체세포배 유도 및 기관 분화. A 활성화된 체세포배,
B. 기관 분화중인 체세포배

2) Embryogenic callus의 전분구조를 이용한 유전자 기능 검정 시스템 개발

벼의 전분구조와 관련된 대사를 조절하여 전분구조를 변경하는 작업은 그 목적형질을 종자에서 확인해야 하므로 형질전환 제 1세대에서 부분적으로 확인할 수 있다. 그러나 형질전환체를 재분화, 순화시켜 포장에서 재배해야 하는 문제점이 있다. 형질전환된 유전자의 기능 및 재조합 유전자의 위치효과 (positional effect)를 밝히기 위해서는 조기에 재조합유전자의 기능성을 점검해야 할 필요가 있다. 이와 같은 목적으로 위에서 확보된 embryogenic callus에 유전자총 또는 아그로박테리움을 이용하여 형질전환체된 세포를 선발하여 증식시키고 그 증식된 embryogenic callus 내의 전분구조분석을 통하여 재조합된 유전자의 기능과 위치효과를 검정하는 실험을 시행하였다. Embryogenic callus로부터 확인된 전분의 polymerization degree를 측정하여 배유의 전분립과 비교한 결과는 아래 그림에 나타나 있다.

쌀 배유의 전분립 (그림 2-14)과 embryogenic callus에서 발견되는 전분립 (그림 2-15)을 비교한 결과 embryogenic callus에서 발견되는 전분립의 polymerization 정도가 전체적으로 낮은 경향이였다.

벼 embryogenic callus를 이용한 조기검정시스템의 개발을 위하여 35S::reverse SBE::nos3'의 expression cassette를 제작하여 (그림 2-16) 선발된 embryogenic callus내 전분의 branching degree를 측정하는 실험이 진행 중이다.

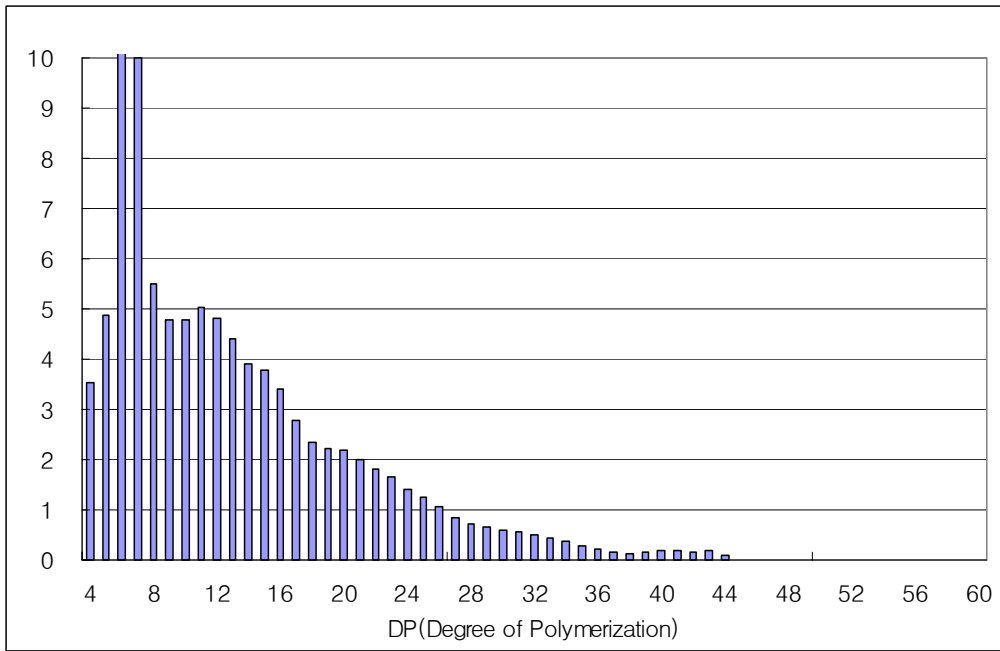


그림 2-14. 화성벼 배유의 전분립의 branching 정도

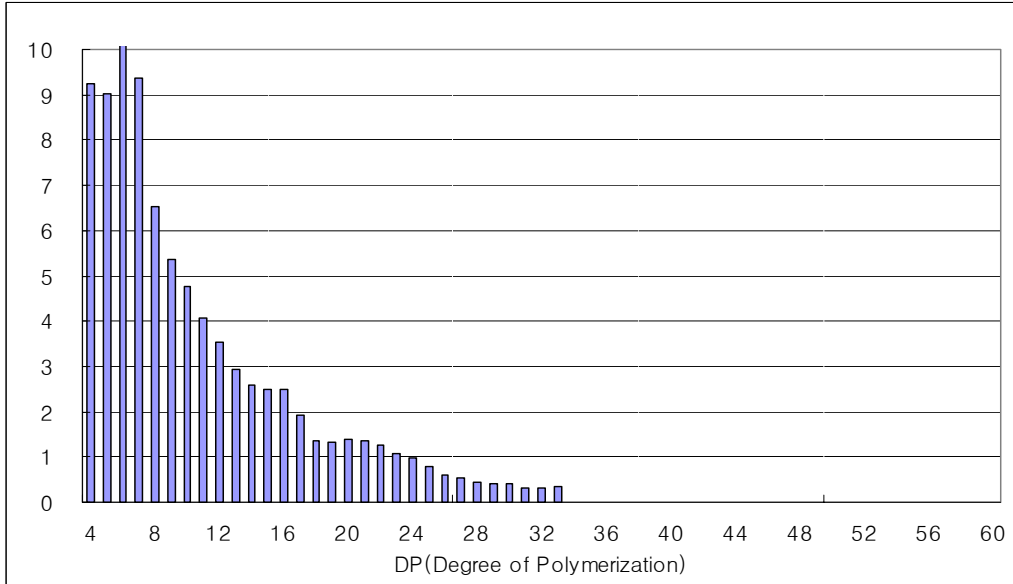


그림 2-15. 화성벼로부터 유기한 embryonic callus 전분립의 branching 정도

3) 재조합 벡터개발

벼의 전분구조와 관련된 대사를 조절하여 전분구조를 변경하는 작업은 그 목적형질을 종자에서 확인해야 하므로 형질전환 제 1세대에서 부분적으로 확인할 수 있다. 그러나 형질전환체를 재분화, 순화시켜 포장에서 재배해야 하는 문제점이 있다. 형질전환된 유전자의 기능 및 재조합 유전자의 위치효과 (positional effect)를 밝히기 위해서는 조기에 재조합유전자의 기능성을 점검해야 할 필요가 있다. 이와 같은 목적으로 위에서 확보된 embryogenic callus에 유전자총 또는 아그로박테리움을 이용하여 형질전환체된 세포를 선발하여 증식시키고 그 증식된 embryogenic callus 내의 전분구조분석을 통하여 재조합된 유전자의 기능과 위치효과를 검정하는 실험을 시행중이다.

벼 embryogenic callus를 이용한 조기검정시스템의 개발을 위하여 35S::reverse SBE::nos3'의 expression cassette를 제작중 (그림 2-16)이며 embryogenic callus내 전분의 branching degree를 측정하는 실험을 수행하고 있다.

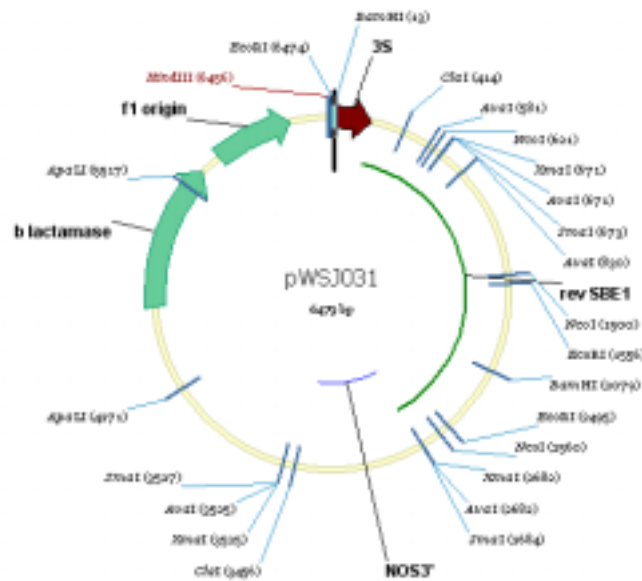


그림 2-16. 벼의 starch branching enzyme (SBE) 1 (AY302112)의 antisense에 35S와 nos3'

3. 결과 요약

가. 벼의 sucrose, starch, cellulose 합성대사 별 연관 유전자 염기서열 확보 및 분석

총 1600여개의 벼의 전분 및 cellulose 합성관련 염기서열이 GenBank 및 Rice genome sequence database 분석을 통하여 확보되었다. 이 중 Blast, ClustalW 등의 프로그램을 이용하여 염기서열 분석을 통하여 131개 유전자의 특정 부분을 증폭 할수 있는 프라이머가 제작 되었다.

나. 벼의 전사조절유전자 집단 발굴 및 염기서열 분석

벼의 Myb 전사조절 유전자 집단을 발굴하여 유사성 수준과 이를 근거로 한 집단화를 검정하였으며 66개의 전사조절 유전자의 특정 부분을 증폭할 수 있는 프라이머를 제작하여 배유 및 embryogenic callus에서 추출한 total RNA를 대상으로 RT-PCR을 실시하여 33개의 유전자를 동정하였다.

다. 목적형질의 합성대사별 유전자로 구성된 cDNA microarray system 개발

위 가 및 나에서 발굴하고 증폭한 전분 합성에 관여하는 164개 유전자의 특정부분이 확보되어 냉동보관중이고 이를 microarray chip위에 프린팅을 하기위해 준비 중이다. 이 들 유전자와 쌀의 고식이섬유성 및 호화점도 특성관련 형질과의 연관성 검정시스템을 개발하여 starch branching enzyme과 관련된 몇 가지 형질을 발견하였으며, 이 검정 방법에 대한 특허를 출원중이다.

라. 벼 형질전환체 개발을 위한 벼 somatic embryo 유도 및 재조합 벡터 개발

유전자총을 이용한 형질전환용 배지 시스템을 확보하였고 벡터개발을 완료하였다. 또한, 성공적으로 기관분화가 되는 체세포 배를 유기하였으며 체세포 배를 이용하여 전분의 구조에 영향을 미치는 유전자의 조기 대량 기능검정시스템을 확보하였다.

제 3 절 쌀 고식이섬유 소재개발 및 유전연구

1. 서 언

우리나라는 1970년대 통일형 품종이 본격적으로 개발·보급되면서 만성적인 쌀 부족에서 벗어날 수 있었으며 우리의 주식 문제를 해결할 수 있었다. 우리 주식인 쌀의 지속적이고 안정적인 생산 및 공급으로 우리나라는 7·80년대 눈부신 경제성장을 할 수 있었으며 이러한 경제발전으로 국민소득이 높아짐에 따라 1990년대 후반부터 국민 1인당 쌀 소비 감소와 최근 건강에 대한 관심이 집중되면서 다양한 기능성 식품의 소비가 급증하고 있다. 또한 쌀에 대한 농민·소비자의 요구가 고품질, 기능성, 그리고 새로운 부가가치 창출 등 다양하게 변화되고 있는 실정이다. 작물과학원 벼 유전육종 연구진은 1990년대부터 이러한 쌀 소비 감소 및 농민·소비자의 다양한 요구에 부응하기 위하여 쌀 소비 확대 및 부가가치 창출을 위한 다양한 용도의 전분 신소재의 기능성 벼 품종 개발을 위하여 여러 종류의 특수미 품종을 개발하였다.

본 실험은 1991년 작물과학원 유전육종과에서 일품벼의 수정란에 돌연변이 유기물질인 *N-methyl-N-nitrosourea*(MNU)를 처리하여 육성한 돌연변이 후대 계통 중 식이섬유가 많이 함유되어 있는 '수원464호'(품종명 고아미2호)를 이용하여 국가목록에 등재되어 있는 우량품종과 교잡하여 그 후대를 조기에 고정하고자 꽃가루 배양을 실시하고 이들 계통들의 수량성과 식이섬유 함량을 조사하고, 식이섬유의 유전적 양상을 구명하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 시험재료

1991년 작물과학원 유전육종과에서 일품벼의 수정란에 돌연변이 유기물질인 *N-methyl-N-nitrosourea*(MNU)를 1mol/l의 농도로 암상태에서 1시간 처리한 후 24시간 동안 수세하여 얻은 종자를 계통육종법에 의거 선발 고정시킨 후대 66계통 중 일반 쌀보다 식이섬유함량이 높은 계통인 수원464호를 모본과 부분으로 사용하여 수원464호/일품벼 등 16조합을 인공교배하여 작물과학원 시험포장에서 계통육종법 및 약배양법으로 후대를 육성하여 시험재료로 이용하였다.

나. 재배법

시험재료의 육성은 작물과학원 시험포장 표준재배법에 따라 작물과학원 시험포장에서 재배하였다(표3-1).

표 3-1. 작물과학원 시험포장 표준재배법

Seeding date	Transplanting date	Planting distance	Seedling number per hill	Seedling raising method	Amount of applied fertilizer(kg/10a) N-P ₂ O ₅ -K ₂ O
April 20	May 25	30×15cm	1	Seedling box	11 - 4.5 - 5.7

다. 약배양

인공교배된 종자들을 시험포장에서 F₁개체를 육성하여 지엽과 제1엽의 사이가 3~4cm 정도일 때 시료를 채취하여 약배양을 실시하였으며 치상약수, 캘러스 형성율, 분화식물체수, 분화율 등을 조사하였다(표 3-2).

표 3-2. 벼 약배양 조건

Classification	Media	Preprocessing	Cultivation condition
Callus induction	CM 6	Low temperature treatment (12℃)	25 ~ 30℃, Darkness
Plant regeneration	RM 3	-	25 ~ 30℃, 2,500Lux, 16hour Illumination

라. 식이섬유 함량

시험재료의 식이섬유 함량은 Foss Tecator의 Fibertec System E를 이용하여 α-amylase를 처리하여 효소 중량법(enzymatic/gravimetric method)으로 총 식이섬유함량을 조사하였다.

마. 쌀 식이섬유관련 유전자 분석

모본 및 F₂ 개체별 DNA 채취, 196개의 Microsatellite 마커 이용하여 SSR 분석(QTL 분석은 IBM computer용 MAPMAKER/QTL을 이용, 이미 보고된 기본유전자지도에 QTL 삽입)을 통해 유전자를 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 잡종집단 및 계통육성

잡종집단 및 계통육성을 위하여 연구기간 중 백진주벼/수원464호 등 16조합을 인공교배하여 교배립 494립을 얻었고, 인공교배립으로 부터의 F₁세대는 13조합 226개체를 양성하였다. F₂세대는 13조합 226개체를 공시하여 초형 및 현미

표 3-3. F₁, F₂, F₃, F₄에서 선발계통 및 개체수

Cross	No. of seed	F ₁	F ₂	F ₃		F ₄	
				No. of lines	No. of plants	No. of lines	No. of plants
Baekjinjubyeo/Suweon464	28	18	85	discard	-	-	-
Seolgaengbyeo/Suweon464	18	19	114	15	45	8	24
Suweon464/Ilpumbyeo	35	12	131	2	6	2	6
Ilpumbyeo/Suweon464	25	13	83	discard	-	-	-
Suweon464/Hwaseongbyeo	30	24	45	2	6	-	-
Suweon464/Shindongjinbyeo	18	11	97	30	80	-	-
Suweon464/Chucheongbyeo	31	25	103	discard	-	-	-
Suweon464/Suweon428	19	13	discard	-	-	-	-
Suweon464/Dongjinbyeo TR	25	22	discard	-	-	-	-
Suweon464/Seolgaengbyeo	24	21	discard	-	-	-	-
Suweon464/Dawdam	55	discard	-	-	-	-	-
Suweon464/Heughyangbyeo	15	discard	-	-	-	-	-
Suweon464/Nogdudo	38	discard	-	-	-	-	-
Suweon464/Sobeebyeo	37	19	25	-	-	-	-
Suweon464/Sasanishiki TR	45	14	82	-	-	-	-
Suweon464/Hwaseonchalbyeo	51	15	45	-	-	-	-
Total	494	226	810	49	137	10	30

외관 특성을 검정하여 수원464호와 현미 외관 특성이 비슷한 10조합 810개체를 선발하였다. F₃세대는 7조합 658계통을 공시하여 4조합 49계통 137개체를 선발하였고, F₄세대는 F₃세대 설갱벼/수원464호 등 2조합 17계통 51개체의 현미외관 특성을 검정하여 2조합 10계통 30개체를 선발하였다.

나. 약배양

고식이섬유 함량이 높은 개체를 조기에 육성하기 위하여 수원464호/수원461호 등 5조합을 공시하여 총 7,140약을 CM 6 배지에 치상하여 평균 캘러스 형성율은 27.5%를 나타냈으며, 조합별로 22.4~35.0%의 캘러스 형성율을 보였다. RM 3 배지에 캘러스를 계대배양하여 분화 식물체 1,380개를 분화시켜 평균 18.8%의 식물체 분화율을 보였고, 조합별로 15.0~29.9%의 분포를 보였다. 1,380개의 분화 식물체를 온실에서 재배하여 그중 239개체에서 종자 채종 후 포장육성을 통하여 초형 및 현미외관 특성을 검정하여 수원464호의 특성을 보이는 78계통 78개체의 약배양 후대 계통을 육성하여 종자증식 후 수량성 검정을 실시하였다.

표 3-4. 약배양에서 캘러스 유기 및 식물체 재분화율

Cross	No. of anther cultured	Formation of callus (%)	Plant regeneration	
			No. of plants	Ratio (%)
Suweon464/Suweon461	1,700	35.0	508	29.9
Suweon464/Ilpumbyeo	800	28.8	120	15.0
Suweon464/Suweon460	1,650	26.4	256	15.5
Suweon461/Suweon464	1,250	24.8	221	17.7
Suweon464/Daeanyeo	1,740	22.4	275	15.8
Total(Average)	7,140	(27.5)	1,380	(18.8)

표 3-5. 약배양 계통 선발 개체수

Cross	No. of nursery lines	Selection	
		No. of lines	No. of plants
Suweon464/Suweon461	35	10	10
Suweon464/Ilpumbyeo	61	24	24
Suweon464/Suweon460	6	2	2
Suweon461/Suweon464	67	19	19
Suweon464/Daeanyeo	70	23	23
Total	239	78	78

다. 수량성 검정

약배양 후대 계통 중에서 현미 외관 특성이 수원464호와 같은 특성과 초형이 양호한 수원461호/수원464호 등 4조합 21계통을 선발하여 수량 특성을 검정하였다. 시험계통의 출수기는 8월17일~23일의 분포를 보였으며 수원464호의 출수기는 8월22일이었다. 정현 비율은 46.0~80.7%로 변이의 폭이 매우 컸으며 수원464호는 77.8%이었고 백미 수량은 2.17~5.84MT/ha로 정현비율과 같이 변이의 폭이 매우 컸고 수원464호의 쌀수량은 4.24MT/ha의 수량성을 보였다. 이들 계통의 식이섬유 함량은 1.75~3.56%의 범위를 나타내었으나 식이섬유 함량이 수원464호(3.15%)보다 높은 계통들은 수량성에서 수원464호보다 떨어지는 경향을 보였다.

표 3-6. 일품벼 돌연변이 계통의 종실수량 및 식이섬유 함량

Pedigree	Heading date	Dehulling recovery (%) (Brown/Rough)	Milled rice		Dietary fiber (Brown rice)	
			Yield (MT/ha)	Index	%	Index
SR26372-HB2702-27	Aug.21	76.0	5.84	138	1.75	56
SR26372-HB2702-89	Aug.18	46.0	2.17	51	3.56	113
SR26372-HB2702-65	Aug.20	71.3	4.00	94	3.21	102
SR26372-HB2702-69	Aug.21	70.0	4.45	105	3.05	97
SR26372-HB2702-74	Aug.21	72.7	4.83	114	2.56	81
SR26372-HB2702-81	Aug.21	80.7	5.54	131	1.79	57
SR26372-HB2702-83	Aug.18	75.3	5.67	134	1.94	62
SR26372-HB2702-85	Aug.17	72.0	4.92	116	1.97	63
SR26372-HB2702-91	Aug.18	73.3	4.97	117	2.08	66
SR27132-HB2703-30	Aug.16	71.3	4.50	106	2.87	91
SR27133-HB2680-31	Aug.21	68.0	4.17	98	2.98	95
SR27133-HB2680-35	Aug.23	66.0	4.03	95	2.67	85
SR27133-HB2680-52	Aug.18	68.7	4.46	105	2.17	69
SR27133-HB2680-53	Aug.18	73.3	5.04	119	3.02	96
SR27133-HB2680-61	Aug.17	63.3	4.11	97	3.17	101
SR27133-HB2680-66	Aug.17	70.0	4.41	104	3.15	100
SR27133-HB2680-70	Aug.20	64.7	4.05	96	2.79	89
SR27133-HB2680-77	Aug.20	69.3	4.11	97	2.65	84
SR27133-HB2680-78	Aug.22	70.7	4.11	97	2.84	90
SR27133-HB2680-82	Aug.22	68.0	4.09	96	2.75	87
SR27135-HB2680-14	Aug.23	69.3	4.55	107	2.41	77
Suweon464	Aug.22	77.8	4.24	100	3.15	100

* SR26372 : Suweon461/Suweon464, SR27132 : Suweon464/Daeanbyeon
 SR27133 : Suweon464/Ilpumbyeon, SR27135 : Suweon464/Suweon461



그림 3-1. SR26372-HB2702-89 및 수원 464호의 종실

라. 식이섬유 관련 유전자 분석

쌀 식이섬유 특성의 MAS 효과 분석을 위하여 SSR 마커 196개를 이용하여 수원 464호/일품벼 간 SSR 마커 다형성을 분석한 결과 RM141, RM207 등 14개 마커에서만 2개 모본간 다형성(7.14%)을 보였으며, 이들 마커를 이용한 분리세대에서 식이섬유와 관련된 형질과의 연관성을 검토하기 곤란하였으나, 일품벼/수원 464호 조합에서 19개(9.2%)가 일품벼에 대해 다형성을 보였고 2번, 11번 염색체 외 10개 염색체 상에서 1~3개 마커에서 다형성 마커가 탐색되었다.

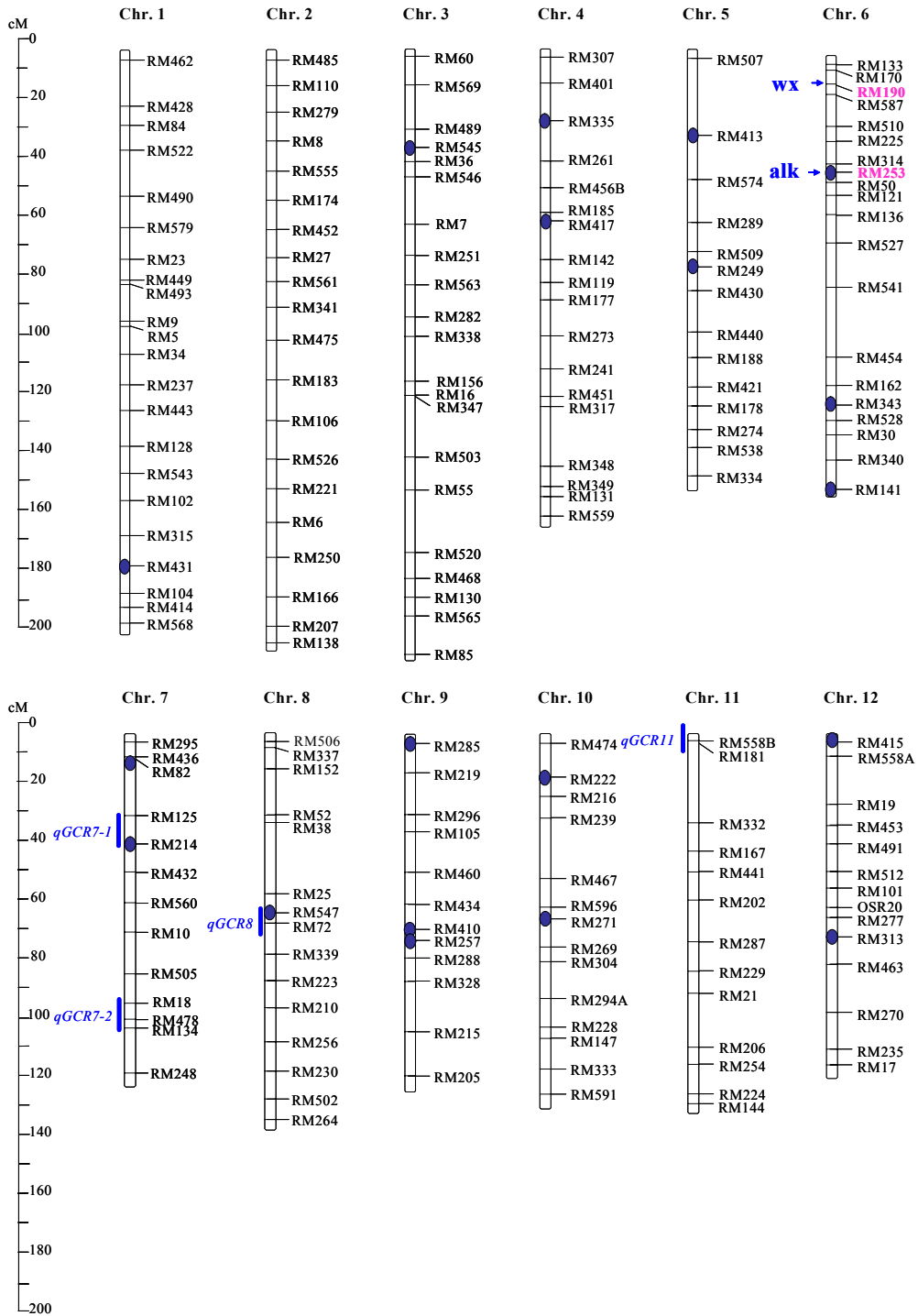


그림 3-2. 고식이섬유성 품종 수원 464호와 일품벼의 유전적다형성

4. 결과요약

본 연구는 벼 식이섬유 소재개발과 유전연구를 위하여 재료를 육성하고 우수한 계통을 조기에 고정하기 위하여 약배양을 실시한 후 수량성 검정과 196개의 SSR 마커를 이용하여 식이섬유 관련 마커를 탐색하였다.

- 1) 잡종집단 및 계통육성을 위하여 백진주벼/수원464호 등 16조합을 인공교배하여 교배립 494립, F₁ 13조합 226개체, F₂ 10조합 810개체, F₃ 4조합 49계통 137개체, F₄ 2조합 10계통 30개체를 선발하였다.
- 2) 수원464호/수원461호 등 5조합에서 총 7,140약을 치상하여 27.5%의 평균 캘러스 형성율을 보였으며, 분화 식물체 1,380개를 분화시켜 평균 18.8%의 식물체 분화율을 보였고 그중 239개체에서 종자 채종 후 약배양 후대 계통 78계통 78개체를 육성하였다.
- 3) 약배양 후대 계통 중에서 수원461호/수원464호 등 4조합 21계통에 대한 수량성 검정결과 백미 수량이 2.17~5.84MT/ha로 변이의 폭이 매우 컸다.
- 4) 수량성 검정 계통들의 식이섬유 함량은 1.75~3.56%의 범위를 보였으나 수원464호의 56~113 수준이었다.
- 5) SSR 마커 196개를 이용하여 일품벼/수원464호에서 19개(9.2%)가 일품벼에 대해 다형성을 보였고 2번, 11번 염색체 외 10개 염색체 상에서 1~3개 마커에서 다형성 마커가 탐색되었다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 1차년도

1. 연구개발 목표

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1차 년도 (20 03)	제1세부과제 : 쌀 호화점도특 성 다양화 계통 육성	<p>실험 1. 잡종집단 및 계통육성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : F₁ 6조합, BC₁F₁ 3 조합, F₂ 2조합, F₃ 7조합, F₄ 3조합, F₅ 4조합, F₆ 2조합의 집단 또는 계통 - 재배방법 : 보통기 보비재배, 재식거리 30x15cm, 1주1본식 : F₂ 이후 집단은 조합당 250개체를 교배친과 함께 집단재배하고, F₅이후 계통은 계통당 25개체씩 계통재배함. - 조사 및 선발 : F₁은 전 개체 선발하고, F₂ 이후 잡종집단은 출수기 및 초형에 따라 포장에서 개체선발 후 실내에서 호응집성을 조사하고 최종 선발을 함. : F₅ 이후 계통은 출수기와 초형에 따라 계통선발과 선발계통 내 개체선발 후 실내에서 RVA를 이용하여 호화점도 특성을 조사한 후 최종 선발을 함. <p>실험 2. 여교배 RILs육성과 SSR분석</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : Single seed descent법으로 세대를 진전시켜 온 진미벼/ wx209//진미벼 조합의 F₆계통을 실험 1의 방법으로 재배함. - 조사내용 : 계통별 출수기, 계통내 특성분리 여부, 계통별 RV 호화 점도특성, Microsatellite marker를 이용한 다형성 분석 - SSR분석방법 : 분얼성기의 벼 잎을 채취하여 냉동시킨 후 SSD 법에 따라 DNA를 추출하였음. : PCR 반응용액은 40ng의 template DNA, 0.2μM primer, 1unit의 Taq DNA polymerase, 250μM dNTP, 10x reaction buffer와 1.5mM MgCl₂ 및 3차중류수를 첨가, 20μl를 만듦. : PCR기기는 95℃에서 5분간 full denaturation 후 95℃에서 1분denaturation, 55℃에서 1분 annealing, 72℃에서 2분extension을 36cycle 반복한 후 72℃에서 5분 final extension함. : 반응산물은 7M urea를 포함한 4% polyacrylamide gel을 이용, 전기영동했고, band는 silver-staining을 통해서 확인함. : 분석에 사용할 primer는 12쌍의 염색체에 고루 분포하고 있는 100 여종의 RM primer임.

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1차 년도 (20 03)	<p>제2세부과제 : 쌀의 고식이섬유 및 호화점도 특성 관련 유전자 염기서열 분석</p> <p>협동연구과제 : 벼 고식이섬유 계통육성 및 유전연구</p>	<p>실험1. 벼의 sucrose, starch, cellulose 합성대사 별 연관 유전자 염기서열 확보 및 분석</p> <p>- 재료 및 방법</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 유전자 database화를 위한 LINUX work station 구축: 세계 유전자은행 GenBank 의 염기서열 database download 및 Blast 또는 Clustal과 같은 기본 분석 프로그램 설치 및 운영 2) 위의 Blast, Clustal 등의 기본 분석 프로그램 및 PERL (<i>Practical Extraction and Report Language</i>) 과 같은 프로그래밍 언어를 이용 목적형질 관련 합성대사별 연관유전자의 염기서열분석을 통한 유전자 특이적 염기서열 또는 유사염기서열 확보 <p>실험2. 목적형질 관련 합성대사별 유전자 동정 및 유전자 특이적 염기서열 또는 유사염기서열 부분 증폭을 위한 primer 개발</p> <p>- 재료 및 방법</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 특정 부위의 염기서열 증폭을 위한 primer로 사용될 약 20 mer 정도의 염기서열을 분석 2) 교배친으로 사용된 계통의 genomic DNA, genomic DNA library, RT (reverse transcription) - PCR 기법을 이용 유용유전자의 특정부분 증폭: genomic DNA 1ug, Taq polymerase, PCR primer 1 and 2, dNTP, PCR buffer 와 touch down PCR cycle (예: 95C, 2sec; 59C, 30sec; 72C, 2min for 7 cycle, 95C, 2sec; 54C, 30sec; 72C, 2 min for 20 cycle); primary and secondary PCR을 둔 3) 유용유전자의 증폭된 부분은 pCR Topo vector를 이용 동정함 <p>실험 1. 잡종집단 및 계통육성</p> <p>- 공시재료 : 인공교배 6조합, F₁ 6조합, F₂ 4조합의 집단</p> <p>- 재배방법 : 보통기·보비재배, 재식거리 30x15cm·1본식</p> <p>- 조사 및 선발 : F₁은 전 개체 선발하고, F₂ 이후 잡종집단은 출수기 및 초형에 따라 포장에서 개체선발 후 실내에서 식이섬유 함량 또는 배유특성(찰·메, 중간찰, 투명도)을 조사·선발함.</p> <p>실험 2. F₁ 약배양 및 Doubled Haploid(DH) 개체 양성</p> <p>- 공시재료 : 수원464호/일품벼 등 3조합 F₁ 식물체의 약(anther)</p> <p>- 약배양 방법 : F₁ 식물체 포장재배 → 1핵성 소포자 단계의 이삭을 채취 → 12℃에서 15일간 저온처리 → CM6 배지에 배양 → 25~30℃ 암상태로 30일간 캘러스를 유기 → 형성된 직경 1mm정도의 캘러스를 RM3 재분화배지에 이식 → 25~30℃에 1일16시간 조명 (2,500lux)하면서 식물체 분화 → 분화된 식물체를 콜히친이 첨가된 수경액에서 20일간 순화처리 후 온실에 이식 → 온실이앙 개체중 염색체가 자연적으로 배가된 개체의 종자를 채종.</p>

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도 (2003)	협동연구과제 : 벼 고식이섬유 계통육성 및 유전연구	실험 3. 쌀 고식이섬유성의 유전분석과 QTL분석 - 공시재료 : 수원464호/일품벼 조합의 F ₁ 및 F ₂ 집단 - 유전분석 : 식이섬유 분석기를 이용하여 개체별 식이섬유 함량 조사 - QTL분석 : 세부과제 1에서와 마찬가지로 방법으로 F ₂ 개체별 DNA 채취 후, 100여종의 RM marker를 이용하여 SSR분석을 함. : QTL 분석은 IBM computer용 MAPMAKER/QTL을 이용하고 이미 보고된 기본유전자지도에 QTL을 삽입함.

2. 연구평가의 착안점 및 목표 달성도

착안사항	척도 (점수)	달성도 (%)
○ 쌀 호화점도특성 다양화를 위한 잡종집단 및 계통육성	20	100
○ 벼 여교배 RILs 육성 및 호화점도특성 관련 SSR분석	15	100
○ 벼의 sucrose, starch, cellulose 합성대사별 연관유전자 염기서열 확보 및 분석	15	100
○ 목적형질 관련 유전자 동정 및 유전자 특이적 염기서열 또는 유사염기서열 부분증폭을 위한 primer 개발	15	100
○ 쌀 고식이섬유성 잡종집단 및 계통육성	15	100
○ 쌀 고식이섬유성 F1 약배양 및 Doubled Haploid(DH)개체 양성	10	100
○ 쌀 고식이섬유성의 유전분석과 QTL분석	10	100

3. 관련분야 기술발전예의 기여도

가. 국민의 쌀 소비패턴의 변화와 함께 레토르트 쌀밥, 냉동쌀 밥, 무균포장밥, 삼각김밥과 같은 가공밥과 떡볶이, 고급 떡, 쌀 빵과 같은 가공품의 소비가 점점 늘어나고 있다. 지금까지의 벼 품질육종이 식미가 뛰어난 밥쌀용 품종개발에 치우쳐 왔기 때문에 가공밥이나 쌀 가공품에 알맞은 품종에 대해서는 거의 관심을 기울이지 않았다. 본 연구에서 쌀의 호화점도특성 또는 고식이섬유성의 다양화 계통 육성을 목표로 연구를 함으로써 이 분야 육종을 활성화시켜 장기적으로 쌀을 원료로 한 고급가공식품이나 건강보조식품의 개발을 촉진 할 것이다.

나. 지금까지 국내에서 개발한 가공용 특수미 품종은 고아미2호, 대립벼1호, 설갱벼, 흑진주벼, 서농6호, 자광찰벼 등 20여 품종에 이르지만 이들을 쌀 고급가공품의 원료로 이용한 실적은 미미하다. 가공용 특수미에 대한 인식이 부족한

것이 원인이기도 하지만 가공적성이 뛰어난 품종개발이 미약했기 때문으로도 해석된다. 쌀 가공품은 여러 종류가 있으므로 각각에 알맞는 특성을 가져야 하며 전분을 주성분으로 하고 있는 쌀의 호화점도 특성의 품종 간 변이가 크다는 점에 착안하여 연구가 진행되고 있기 때문에 전분특성에서 차이가 나는 품종육성이 활성화 될 것으로 기대한다.

- 다. 농촌진흥청에서 육성한 고아미2호는 식이섬유함량이 높아 성인병 예방에 효과가 있다는 점이 밝혀졌다. 그러나 이 품종은 발아력과 성묘율이 낮고, 생장속도와 분얼력이 떨어지고 수량성도 낮아서 농가에서의 재배가 어렵다. 아주 뛰어난 특성을 가지고 있지만 재배적인 어려움이 있어 이를 극복하기 위한 육종적 노력은 당연한 것이다. 본 연구를 계기로 재배가 용이하면서 성인병 예방에 효과가 있는 벼 품종이 개발, 보급될 것이다.
- 라. 최근 급속히 발전하고 있는 분자생물학적 기술은 벼의 유용형질과 밀접히 연관된 분자마커를 이용한 선발, 식물체내에서 일어나는 특수물질의 생리대사와 유전현상에 근거한 관련 유전자의 database 구축, DNA microarray 분석, 그리고 특정유전자의 형질전환 등을 들 수 있다. 그러나 국내에서 쌀의 호화특성이나 고식이섬유성에 관련된 DNA marker 개발과 이를 이용한 선발, 이들에 관련된 유전자의 database구축과 microarray 분석, 그리고 이들 유전자의 형질전환 연구는 매우 적기 때문에 이에 대한 연구를 활성화시켜 벼의 육종효율을 높이는데 기여한다.
- 마. 생물공학기술은 21세기의 새로운 산업, 고용 및 부를 창출하는 대표적인 기술로 부상하여 세계적으로 보아 어떤 다른 기술보다 그 이용성이 가장 높은 것으로 알려져 있다. 선진국을 중심으로 빠른 속도로 발전하고 있는 생물공학기술을 우리나라의 발전된 벼 육종기술 분야에 집중적으로 접목시키는 연구가 강화되어 첨단기술과 첨단산업에서의 국제적인 기술경쟁력을 확보하는데 기여하게 된다.

제 2 절 2차년도

1. 연구개발 목표

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
2차 년도 (20 04)	제1세부과제 : 쌀 호화점도특성 다양화 계통육성	<p>실험 1. 잡종집단 및 계통육성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : F₂ 7조합, F₃ 1조합, F₄ 6조합, F₅ 3조합, F₆ 5조합, F₇ 2조합의 집단 또는 계통 - 재배방법 : 보통기 보비재배, 재식거리 30x15cm, 1주1본식 : F₂ 이후 집단은 조합당 250개체를 교배친과 함께 집단재배하고, F₅ 이후 계통은 계통당 25개체씩 계통재배함. - 조사 및 선발 : F₁은 전 개체 수확하고, F₂ 이후 잡종집단은 출수기 및 초형에 따라 포장에서 개체선발 후 실내에서 호응 집성을 조사하고 최종 선발을 함. : F₅ 이후 계통은 출수기와 초형에 따라 계통선발과 선발계통 내 개체선발 후 실내에서 RVA를 이용하여 호화점도특성을 조사한 후 최종 선발을 함. <p>실험 2. 여교배 RILs육성과 SSR분석</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : Single seed descent법으로 세대를 진전시켜 온진미벼/wx185//진미벼 조합의 F₇계통을 실험 1의 방법으로 재배함. - 조사내용 : 계통별 출수기, 계통내 특성분리 여부, 계통별 RVA 호화 점도특성, Microsatellite marker를 이용한 다형성 분석 - SSR분석방법 : 분얼성기의 벼 잎에서 SSD법에 따라 DNA 추출. : PCR은 40ng의 template DNA, 0.2μM primer, 1unit Taq DNA polymerase, 250μM dNTP, 10x reaction buffer와 1.5mM MgCl₂ 및 3차증류수를 첨가한 반응용액을 사용, 95℃에서 5분간 full denaturation, 55℃에서 1분 annealing, 72℃에서 2분 extension을 36회 반복한 후 72℃에서 5분 final extension함. : 반응산물은 7M urea를 포함한 4% polyacrylamide gel을 이용, 전기영동했고, band는 silver-staining을 통해서 확인함. : 6번과 8번 염색체에 분포된 10종의 RM primer를 사용함. <p>실험 3. 호화점도특성에 대한 MAS효과 분석</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : F₅ 2조합 - 선발방법 : 1년차 실험에서 밝혀진 호화점도특성 관련 DNA marker를 이용하여 점도가 높은 것과 낮은 개체를 각각 선발, 3차년도에 선발효과를 검증함.

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
2차 년도 (20 04)	<p>제2세부과제 : 쌀의 고식이섬유 및 호화점도특성 관련 형질 분석 및 분자 수준에 서의 계량화와 형질전환체 벼 개발을 위한 벡터시스템 구축</p> <p>협동연구과제 : 벼 고식이섬유 계통육성 및 유전연구</p>	<p>실험1. 유전자 database 초기화 작업으로서 우선순위유전자 동정 및 DNA microarray 구축 및 분석을 통한 유전자 발현양상 비교</p> <p>- 재료 및 방법</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 목적형질의 합성대사별 유전자로 구성된 제1단계 cDNA microarray system 개발: sucrose, starch, cellulose 의 합성과 직접 관계된 유전자 집단중 목적물질과 가까운 과정의 유전자를 대상으로 우선순위를 정하여 가능한 한 전 coding region을 포함하는 유전자 (full length gene)를 PCR을 통하여 우선 증폭하고 pCR topo vector 등을 이용·동정하여 DH5a 등의 bacteria cell에 형질전환 시켜 strain조성, 초저온(-80C)냉장고에 보관, database화함. 2) 동정된 유전자를 이용 유전자 chip 제작 : 외부 전문 유전자 chip 제작업체를 이용함 3) High through put 방식의 고속분석 시스템 개발 : kit(Qiagen또는 Perkin Elmer)를 이용 Total RNA, poly(A) RNA 추출; Cy3, Cy5 probe 제작; hybridization을 거쳐 각 유전자 발현양상을 제1단계 수준에서 비교, 분석 <p>실험 2. 유전자총(gene gun)을 이용한 형질전환체 벼 개발 - 벡터시스템 및 media system 구축</p> <p>- 재료 및 방법</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 목적 형질관련 최우선 순위의 유용유전자를 이용한 형질전환체 벼 개발: Nipponbare등 교배친으로 쓰여진 계통을 공시재료로 하여 callus initiaion media 에 치상 embryogenic callus를 확보. 2) 형질전환체벼 개발에 쓰여질 single 또는 binary vector system 개발, GUS 등 일반 report gene을 이용 방법개발 및 예비실험완료 <p>실험 1. 잡종집단 및 계통육성</p> <p>- 공시재료 : 인공교배 5조합, F₁ 6조합, F₂ 10조합, F₃ 4조합의 집단</p> <p>- 재배방법 : 보통기·보비재배, 재식거리 30x15cm·1본식</p> <p>- 조사 및 선발 : F₁은 전 개체 선발하고, F₂ 이후 잡종집단은 출수기 및 초형에 따라 포장에서 개체선발 후 실내에서 식이 섬유 함량 또는 배유특성(찰·메, 중간찰, 투명도)을 조사하여 선발함</p>

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
2차년도 (2004)	협동연구과제 : 벼 고식이섬유 계통육성 및 유전연구	<p>실험 2. F₁ 약배양 및 Doubled haploid(DH) 계통 육성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : 4조합 F₁ 식물체의 약(anther), 3조합 A₂ 계통 육성 - 약배양 방법 : F₁ 식물체 포장재배 → 1핵성 소포자 단계의 이삭을 채취 → 12℃에서 15일간 저온처리 → CM6 배지에 배양 → 25~30℃ 암상태로 30일간 캘러스를 유지 → 형성된 직경 1mm정도의 캘러스를 RM3 재분화배지에 이식 → 25~30℃에 1일 16시간 조명 (2,500lux)하면서 식물체 분화 → 분화된 식물체를 콜히친이 첨가된 수경액에서 20일간 순화처리 후 온실에 이식 → 온실이양 개체 중 염색체가 자연적으로 배가된 개체의 종자를 채종 - DH계통육성 및 종자증식 : 포장에서 출수기와 초형으로 선발 후 종실의 식이섬유 함량을 조사하여 계통선발함 (우량계통은 세대단축온실 이용 종자증식) . <p>실험 3. 쌀 고식이섬유성의 MAS효과 분석</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : 수원464호/일품벼, 일품벼/수원464호 조합의 F₃ 집단 - 선발방법 : 1년차 실험에서 밝혀진 식이섬유 함량 QTLs를 이용하여 식이섬유 함량이 높은 것과 낮은 개체를 선발하여 3차년도에 선발효과를 분석함. <p>: 선발을 위한 QTLs확인은 1차년도의 분석법을 적용함</p>

2. 연구평가의 착안점 및 목표 달성도

착안사항	척도 (점수)	달성도 (%)
○ 쌀 호화점도특성 다양화를 위한 잡종집단 및 계통육성	15	100
○ 벼 여교배 RILs 육성 및 호화점도특성 관련 SSR분석	10	100
○ 쌀 호화점도특성에 대한 DNA marker 이용 선발	10	100
○ 유전자 database 초기화 작업으로 우선순위 유전자 동정 및 DNA microarray 구축 및 분석을 통한 유전자발현양상 비교	15	100
○ 유전자총을 이용한 형질전환체 벼 개발을 위한 벡터시스템 및 media system 구축	15	100
○ 쌀 고식이섬유성 잡종집단 및 계통육성	15	100
○ 쌀 고식이섬유성 F1 약배양 및 Doubled Haploid(DH)계통 육성	10	100
○ 쌀 고식이섬유성에 대한 DNA marker 이용 선발	10	100

3. 관련분야 기술발전예의 기여도

- 가. 쌀 가공적성과 밀접한 관계에 있는 호화점도특성이 다양한 새로운 잡종 집단 및 계통이 육성되어 우리나라 벼 육종의 범위를 확대시키는데 기여하고 있다.
- 나. 쌀의 호화점도특성과 연관된 분자마커를 찾을 수 있게 되었고, 호화점도특성이

- 알칼리붕괴도 및 쌀의 투명도와 유전적으로 관련되어 있다는 것을 밝혀 호화점도특성과 관련된 유전형질을 찾아냄으로서 이 분야 학문발전에 기여하였다.
- 다. 벼의 전분합성에 관여하는 164개의 유전자의 특정부분이 확보되어 냉동보관 중이며, starch branching enzyme과 관련된 형질을 발견함으로써 쌀의 가공적성을 분자수준에서 조절할 수 있는 기반이 마련되고 있어 분자유종의 내용 충실화에 기여하고 있다.
- 라. 유전자총을 이용하여 형질전환을 하기 위한 배지 시스템과 벡터를 개발함으로써 아직까지 그 효율이 낮은 상태에 있는 벼의 형질전환방법 개선에 기여하고 있다.
- 마. 식이섬유 함량이 높은 벼 육종재료가 다량 확보되고 있어 성인병 예방과 같이 국민의 건강을 위한 품종개발이 활성화 되어 쌀의 이용분야가 확대될 것이다.
- 바. 잡종개체나 계통의 식이섬유와 밀접하게 연관된 분자마커를 찾아가고 있어 까다롭고 경비가 많이 소용되는 식이섬유함량의 직접적인 분석을 피할 수 있는 방법이 개발될 것이다.

제 3 절 3차년도

1. 연구개발 목표

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
3차년도 (2005)	제1세부과제 : 쌀 호화점도특성 다양화 계통육성	<p>실험 1. 잡종집단 및 계통육성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : F₃ 4조합, BC₁F₃ 3조합, F₄ 2조합, F₅ 5조합, F₆ 3조합, F₇ 3조합, F₈ 2조합의 집단 또는 계통 - 재배방법 : 보통기 보비재배, 재식거리 30x15cm, 1주1본식 : F₂ 이후 집단은 조합당 250개체를 교배친과 함께 집단재배하고, F₅ 이후 계통은 계통당 25개체씩 계통재배함. - 조사 및 선발 : F₃ 이후 잡종집단은 출수기 및 초형에 따라 포장에서 개체선발 후 실내에서 전분특성관련 형질을 조사하고 최종 선발을 함. : F₅ 이후 계통은 출수기와 초형에 따라 계통선발과 선발계통내 개체선발 후 실내에서 RVA를 이용하여 호화점도특성을 조사하고 최종 선발을 함.

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
3차 년도 (20 05)	제1세부과제 : 쌀 호화점도특성 다양화 계통육성	<p>실험 2. 선발계통의 생산력검정</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : F₆ 이후 계통 중 선발된 15계통 내외 - 재배방법 : 보통기 보비재배, 재식거리 30x15cm, 1주 3본식 : 시비·제조·물관리·병해충방제 등은 관행방법에 준함 - 조사항목 : 농업형질과 수량성, 쌀의 이화학적성질과 호화점도 특성 <p>실험 3. 호화점도특성 다양화 계통 쌀의 가공적성 검정</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : 생산력검정에 공시된 계통과 보급품종 등 10여점 - 조사항목 : 가공 밥(동결건조 쌀밥 등), 가래떡 등의 특성 <p>실험 4. 호화점도특성에 대한 MAS효과 분석</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : F₃ 1조합(BC₁F₃), F₆ 1조합(BC₂F₆). - 선발방법 : 2년차 실험에서 호화점도특성 관련 DNA marker 를 이용하여 선발한 점도가 높은 것과 낮은 개체의 후대검정.
	제2세부과제 : 쌀의 고식이섭유 및 호화점도특성 관련유전자 염기 서열분석	<p>실험 1. 유전자 database 초기화 작업으로서 우선순위유전자 동정 및 DNA microarray 구축 및 분석을 통한 유전자 발현양상 비교</p> <ul style="list-style-type: none"> - 재료 및 방법 1) 목적형질의 합성대사별 유전자로 구성된 제1단계 cDNA microarray system 개발: sucrose, starch, cellulose 의 합성과 관련된 유전자를 미숙종자, 발아종자에서 추출한 RNA를 이용하여 증폭하고 pCR topo vector 등을 이용·동정하여 DH5a 등의 bacteria cell에 형질전환시켜 strain조성, 초저온(-80C)냉장고에 보관 database화함. 2) 동정된 유전자를 이용 유전자 chip 제작 : 외부 전문 유전자 chip 제작업체를 이용함 3) 고·저 아밀로스, 아밀로펙틴 품종의 미숙종자를 이용하여 유전자의 발현양상 비교 <p>실험 2. 유전자총 (gene gun)을 이용한 형질전환체버 개발 - 벡터시스템 및 media system 구축</p> <ul style="list-style-type: none"> - 재료 및 방법 1) 기확보된 embryogenic callus를 이용 유전자의 기능 구명 35S::revSBE1::nos3' 벡터를 이용 starch branching degree 검정 2) 기능이 완전히 밝혀지지 않은 beta-amylase 유전자, 전사조절유전자를 이용 전분대사와의 관계 구명: embryogenic callus내의 전분립의 크기 및 branching degree에 미치는 영향 구명

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
3차 년도 (20 05)	협동연구과제 : 벼 고식이섬유 계통육성 및 유전연구	<p>실험 1. 잡종집단 및 계통육성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : F₁ 5조합, F₂ 6조합, F₃ 6조합, F₄ 3조합의 집단 - 재배방법 : 보통기·보비재배, 재식거리 30x15cm· 1본식 - 조사 및 선발 : F₁은 전 개체 선발하고, F₂ 이후 잡종집단은 출수기 및 초형에 따라 포장에서 개체선발 후 실내에서 식이섬유 함량 또는 배유특성(찰·매, 중간찰, 투명도 등)을 조사하여 최종 선발함. <p>실험 2. 약배양 계통육성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : A₂ 및 A₃ 계통 - 재배방법 : 보통기 보비재배, 재식거리 30x15cm 1주1본식 - 조사 및 선발 : 포장에서 출수기와 초형으로 선발한 후 종실의 식이섬유 함량을 조사하여 선발함. <p>실험 3. 선발된 계통의 생산력검정</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : 선발된 A₃ 및 A₄ 10여 계통 - 재배방법 : 보통기 보비재배, 재식거리 30x15cm, 1주 3본식 : 시비·제초·물관리·병해충방제 등은 관행방법에 준함 - 조사항목 : 농업형질과 수량성, 쌀의 식이섬유 함량 <p>실험 4. 쌀 고식이섬유성의 MAS효과 분석</p> <ul style="list-style-type: none"> - 공시재료 : 수원464호/일품벼, 일품벼/수원464호 조합의 F3 집단 - 선발방법 : 2년차 실험에서 밝혀진 식이섬유 함량 QTLs을 이용하여 선발한 식이섬유 함량이 높은 것과 낮은 개체의 후대 검정을 수행함

2. 연구평가의 착안점 및 목표 달성도

착안사항	척도 (점수)	달성도 (%)
○ 쌀 호화점도특성 다양화를 위한 잡종집단 및 계통육성	10	100
○ 쌀 호화점도특성 다양화 선발계통의 생산력 검정	10	100
○ 호화점도특성 다양화 선발계통 쌀의 가공적성 검정	10	100
○ 쌀 호화점도특성의 MAS효과 분석	5	100
○ 목적형질관련 합성대사별 유전자의 특정부분이 증폭된 제2단계 DNA microarray system 개발	10	100
○ 목적형질 관련 우선순위 유전자를 이용한 형질전환체 벼 개발	10	100
○ 목적형질 관련 유용유전자 database 구축	10	100
○ 쌀 고식이섬유성 잡종집단 및 계통육성	10	100
○ 쌀 고식이섬유성 약배양계통육성	10	100
○ 고식이섬유성 선발계통의 생산력 검정	10	100
○ 쌀 고식이섬유성의 MAS효과 분석	5	100

3. 관련분야 기술발전예의 기여도

- 가. 쌀은 밀이나 옥수수에 비하여 가공적성에 대한 연구역사가 짧아 그 내용이 빈약함으로 다양한 가공품을 만드는데 한계가 있다. 본 연구를 통하여 밝혀진 사실들이 쌀의 가공적성의 내용을 풍부하게 만드는데 일조할 것이다.
- 나. 쌀을 탄수화물이 풍부한 사람의 에너지 공급 원료로만 생각하던 전통관념으로부터 성인병을 예방할 수 있는 건강증진식품이 될 수 있다는 새로운 개념으로 변화시켜 쌀 산업의 내용을 확대시키는데 큰 기여를 할 것이다.
- 다. 대사공학적 방법으로 쌀 전분의 특성과 관련된 유전자를 찾아 형질전환시키려는 새로운 형태의 분자유종기술을 확립하는데 기여할 것이다.
- 라. 우리나라의 벼 육종기술은 세계적으로 상위에 속하고 있으나 생명공학기술을 육종에 접목시키는 분야는 이제 초보단계에 있다. 본 연구에서 시도하고 있는 전분특성에 대한 MAS기술의 확립은 실제 육종현장에서 가장 필요로 하고 있는 기술이다. 벼 육종에서 MAS 기술을 이용하여 품종개발을 하는 21세기형 육종기술 확립에 기여할 것이다.
- 마. 이 연구를 통하여 육성된 벼 품종이 농가에 보급되어 새로운 용도의 쌀을 생산케 함으로써 수입개방화 시대의 쌀 재배농가의 소득을 안정화 시킬 수 있고, 쌀 가공산업분야에서 새로운 쌀 가공품의 개발을 유도할 것이다.

제 4 절 학문발전예의 기여도

본 연구를 통하여 얻어진 결과는 아래와 같이 학술지 및 학술대회에 발표되었다.

1. Seung Gy Chun, Young Mi Lee, Kyung Ho Ma, Jeong Heui Lee, **Kwang Ho Kim**. 2005. Distribution of Gelatinization Property in F2 Plants of a Cross between Opaque and Translucent Endosperm NILs of Rice. Korean J. Crop Science 50(Supp. 2) : 264-265
2. **Kwang Ho Kim**, Jeong Heui Lee, Seung Gy Chun, Il Min Chung. 2005. The First Gold Hull Functional Glutinous Rice "Hwangkeumchal". Proceedings of the International Symposium on

- Plant Genetic Resources and Annual Meeting of the Korean Breeding Society, Jeju Grand Hotel. June 16-18, 2005. page 132
3. Seung Gy Chun, Young Mi Lee, Kyung Ho Ma, Kwang Ho Kim. 2005. Distribution of Gelatinization Property of Rice Flour in a Cross between Near Isogenic Lines for Alkali Digestibility. Proceedings of the International Symposium on Plant Genetic Resources and Annual Meeting of the Korean Breeding Society, Jeju Grand Hotel. June 16-18, 2005. page 200
 4. Sang Hyun Kim, Hyo Jin Park, Kwang Ho Kim. 2005. Relationship between Gelatinization Properties of Rice Grain and Several Molecular Markers in Backcross RILs of Japonica and Tongil-type Rices. Proceedings of the International Symposium on Plant Genetic Resources and Annual Meeting of the Korean Breeding Society, Jeju Grand Hotel. June 16-18, 2005. page 201
 5. Woosuk Jung, Sun Kim, So Youn Kim, Ji Hyun Lee, Ill Min Chung, Kwang Ho Kim. 2005. EST database mining and expression pattern clustering: Analysis of rice MYB transcription factors. Proceedings of the International Symposium on Plant Genetic Resources and Annual Meeting of the Korean Breeding Society, Jeju Grand Hotel. June 16-18, 2005. page 222
 6. 이영미, 이정희, 박효진, 김광호. 2004. 벼 자포니카와 통일형 품종간 여교배 잡종집단에서 미립관련형질과 연관된 분자표지 탐색. 한국육종학회지 36권(별책1호) : 370-371
 7. 정우석, 김선, 김소연, 이지현, 박선영, 정일민, 김광호. 2004. Expressed Sequence Tags(EST) database mining을 통한 벼의 MYB전사조절유전자 염기서열분석 및 동정. 한국육종학회지 36권(별책1호) : 366-367
 8. Ma Kyung-Ho, Kim Kwang-Ho, Lee Jung-Hee, Park Yong-Jin, Lee Jung-Ro, Chung Jong-Wook, Kang Hee-Kyoung, Kim Chang-Yung, Cho Eun-Ki. 2004. Analysis of molecular diversity

of the Korean bred lines of rices (*Oryza sativa* L.) using microsatellite polymorphisms. 한국육종학회지 36권(별1호) : 344-345

9. Woosuk Jung, **Kwang Ho Kim**. 2003. Sequence Analysis of Rice Cellulose Synthase-like Gene Family. Proceedings of 2003 annual meeting of Korean Crop Science Society and Korean Breeding Society, Jeju. p. 179

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1 절 추가연구의 필요성

1. 품종개발적인 측면

- 가. 본 연구는 2003년 7월부터 3년 동안 수행되었기 때문에 이 기간을 통해서 신 품종을 육성한다는 것은 불가능한 일이다. 실제로 본 연구가 시작된 2003년 7월의 육종포장에는 F1에서 F6까지의 육종재료들이 재배되고 있었는데 이 재료들은 1997년부터 교배가 되고 그 이후 매년 포장에 재배하면서 선발해 왔음을 뜻한다. 호화점도 특성이나 식이섬유 함량의 다양화를 목적으로 재료를 만들고 선발한 기간이 3년여 밖에 되지 않기 때문에 이미 가지고 있던 육종재료를 이용한다고 해도 당장 이용가능한 신품종을 육성하는 일은 매우 어렵다. 이 연구를 통해서 육성한 다양한 계통들이 육종포장에 재배되고 있고, 그 중 일부는 생산력검정시험 단계에 가 있기 때문에 이들의 특성을 제대로 검정하여 실용품종으로 등록하기 위해서는 2-3년의 추가 연구가 필요하다.
- 나. 본 연구과제의 연구비로 품종개발이 완료되어 이미 품종보호출원을 한 「황금찰」이나, 품종개발 마무리 단계에 들어서 2006년 말 품종보호출원 예정인 「자채찰」의 경우도 앞으로 1-2년의 추가적인 지역적응시험을 해야 하기 때문에 이를 위해서도 추가적인 연구활동이 필요하다.
- 다. 대사공학적인 방법으로 쌀 전분관련 유전자를 찾아 형질전환시켜 특수한 쌀 가공적성을 가진 중간모본을 양성하는 데에도 3년의 기간은 너무 짧을 뿐만 아니라 추가적인 연구지원이 없을 때에는 그 동안 수행해온 재료관리가 되지 않아 DNA, 캘러스 등 각종 재료가 훼손되는 손실을 보게 되므로 가능성이 확인된 연구에 대해서는 추가연구를 하도록 유도해야 국제경쟁력을 갖춘 품종이 개발된다.

2. 쌀 가공품 개발측면

가공용 벼 품종의 개발은 식품가공을 전공으로 하고 있는 학자나 식품가공 종사자와 공동으로 수행되어야 한다. 본 연구에서도 식품가공학 교수와 협력연구를 하였지만 3년이라는 짧은 연구기간 때문에 육종과정을 거쳐서 육성한 품종의 쌀을 이용한 가공품 제조까지는 진전시킬 수 없었다. 따라서 특수한 가공특성을 가진 품종이 육성되면 곧바로 이를 활용한 가공품 제조를 하여 그에 대한 평가를 하도록 추가연구가 필요하다. 본 연구책임자가 육성한 황금찰과 자채찰의 경우도 실제의 가공품을 만들어 그 품질을 확인하지 못했기 때문에 그 쌀의 가치에 대한 평가를 내리기 어려워 그 품종을 개발한 육종가나 그 품종을 재배한 농민이 자신 있게 특수가공품종을 권장할 수 없기 때문이다.

3. 학문적인 측면

유전육종연구는 재료를 만든 후 몇 세대를 거치면서 조사와 관찰을 해야 과학적인 결과를 얻을 수 있다. 본 연구에서도 이미 만들어 놓은 잡종 재료를 3세대에 걸쳐 조사하여 분자마커를 찾을 수 있었고 이 분자마커를 이용한 선발실험도 수행할 수 있었다. 그러나 제한된 시간과 연구여건 하에서 얻어진 결과이기 때문에 그것의 적용범위는 제한적일 수밖에 없다. 추가연구를 한다면 세계에 자랑할 수 있는 연구결과가 얻어질 수 있다고 믿는다.

제 2 절 타 연구에의 응용

1. 작물육종연구를 통해서 선발된 계통들은 다음 단계의 품종개발에 필요한 유전 자원 구실을 하게 된다. 즉, 그 자체로는 품종으로서 직접 이용될 수 없지만 교배친으로 이용되어 더 좋은 특성을 가진 품종개발이 가능한 것이다. 본 연구를 통해서 육성한 계통들은 건국대학교 또는 작물과학원의 벼 육종 종사자들이 새로운 교배조합을 작성할 때 교배친으로 적극 이용될 것이다.
2. 본 연구를 통해서 육성한 RILs나 형질전환체는 쌀의 가공적성 또는 특수기능성 관련 유전연구 재료로 중요한 역할을 하게 될 것이다. 유전 및 육종연구는 좋은 연구재료가 만들어져야 수행될 수 있으며 과학적으로도 우수한 연구결과를

언을 수 있다. 학자들 간의 정보교환을 통해서 육성한 RILs와 형질전환체를 더 발전적인 연구재료로 활용토록 할 것이다.

3. 쌀의 호화점도특성이 서로 다른 계통을 이용하여 다양한 쌀 가공품개발이 이루어 질 수 있다. 쌀의 부가가치향상을 위하여 한국적인 쌀 가공품 개발이 필요한 시점에서 본 연구를 통해서 선발된 계통의 적극적인 활용이 기대된다.

제 3 절 기업화 추진방안

추가연구를 통해서 쌀의 호화점도특성이 기존의 재배품종과 크게 다른 품종이나, 작물학적 특성이 개선된 고식이섬유성 품종이 개발되면 지방자치단체의 농업기술센터, 지역농협, 쌀 전업농단체 또는 유통회사에 종자를 공급하여 특산단지를 조성하고 그 지역 고유의 고급 쌀 가공품 개발을 유도할 예정이다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

2005년도 일본의 자료에 의하면 일본의 쌀 가공식품 원료로 소비되는 쌀은 총 소비량의 12-14% 수준이며 그 중 청주, 쌀 과자, 가공 쌀밥 의 원료 쌀이 약 60%를 차지한다. 쌀 가공식품 원료미의 수요량도 점차 줄어드는 추세에 있는데 이는 쌀가루 제품 및 쌀 과자 등 값싼 외국산 쌀로 만든 가공품 수입이 늘어나고 있기 때문이다. 일본 쌀 가공식품 중 그 소비량이 늘어나고 있는 것은 쌀 소주와 가공 쌀밥이다. 모든 농업여건이 일정한 시차를 두고 일본과 유사하게 변하고 있는 것이 한국의 실정이라면 이와 같은 일본의 가공용 쌀 소비패턴을 눈 여겨 봐야 한다.

일본에서는 계속해서 가공용 특수미를 개발하고 있다. 2004년과 2005년에 개발한 신형질 특수미 품종은 유끼노하나(중간찰), 미야유다까(중간찰), 꼬이 아즈사(거대배미), 아유노히까리(당질미) 등이다. 이로써 일본에서 1990년대부터 개발한 특수미 품종은 총 40여 품종에 달하며, 그들의 용도도 가공 쌀밥용, 쌀 빵, 쌀국수, 쌀과자 용, 청주 또는 유색 술 원료용, 아동 이유식이나 신장병 환자식용, 그리고 건강증진 용 쌀 등으로 나뉘어 있다.

제 7 장 참고문헌

1. 강미영, 고희중, 성유미. 2000. 찹쌀 품종간 이화학적 특성 및 제병적성. 한국육종학회지 32(1) : 26~32
2. 금준석. 2001. 쌀 가공현황과 신제품 개발방안. 한쌀회 총서 제10권 : 85~116. 한국쌀연구회
3. 김광호, 채제천, 임무상, 조수연, 박내경. 1988. 쌀 품질의 연구현황, 문제점 및 방향. 한국작물학회지 33(별호) : 1~17
4. 김광호, 이현석. 1989. 한국 벼 품종의 쌀 gel consistency. 한국육종학회지 21(4) : 275~282
5. 김광호, 최해춘. 1990. 양질미의 이화학적 특성과 식미평가기술. 농진청 '90 수입개방대책 45 : 85~94
6. 김광호, 허문희, 박순직, 고희중. 1991. 새로운 미립질 돌연변이 창출. 한국작물학회지 36(3) : 197~203
7. 김광호, 곽태엽, 최해춘. 1992. 벼 잡종초기세대에서 gel consistency의 선발 효율과 아밀로스 함량 및 알칼리붕괴도와의 관계. 한국육종학회지 24(3) : 258~263
8. 김광호. 1992. 벼 품종 및 재배법에 따른 쌀가루 gel consistency의 변이. 건국대 농자원개발논집 17 : 15~25
9. 김광호, 오세만. 1992. 쌀 알칼리붕괴반응의 품종간 변이와 호화온도 및 수분흡수율과의 관계. 한국작물학회지 37(1) : 28~36
10. 김광호, 안종국, 정일민, 고희중, 최해춘, 강미영. 2000. 가공적성용 찰벼 신소재 개발. 농림기술개발과제 최종보고서
11. 김영두, 하기용, 최윤희, 이재길, 엄택용. 2002. 식혜의 특성에 미치는 찹쌀의 품종간 차이. 한국육종학회지 34(1) : 37~40
12. 성유미, 최해춘, 강미영. 2000. 찹쌀전분 이화학적특성의 품종간 차이. 한국육종학회지 32(3) : 226~232
13. 성유미, 최해춘, 강미영. 2000. 원료 찹쌀 품종에 따른 유과 및 인절미 품질 특성. 한국육종학회지 32(2) : 167~172
14. 송진, 송정춘, 김선립, 황종진, 홍하철, 임상중. 2000. 몇가지 벼 배유돌연변

- 이 계통의 품질특성. 한국육종학회지 32(2) : 199~204
15. 안수봉. 1973. 수도 등숙의 품종간 차이와 그 향상에 관한 연구. 한작지. 14 : 1~40.
 16. 이점호,, 조운상, 송문태, 양세준, 황홍구, 김남수, 최해춘, 문헌팔. 2000. 쌀의 호화특성과 관련된 양적형질 유전자좌(QTLs) 분석. 한국육종학회지 32(3) : 211~217
 17. 장수민, 김광호, 강미영. 2001. 쌀 미숫가루 특성의 품종간 차이. 한국육종학회지 33(2) : 73~79
 18. 최영희, 김광호, 강미영. 2001. 쌀 식혜 가공성 및 관능적 특성의 품종간 차이. 한국육종학회지 33(2) : 65~72
 19. 최해춘. 1997. 쌀을 알자. 신구문화사. p 9~223
 20. 최해춘. 2002. 고품질 및 고부가가치 쌀 품종개발 현황과 전망. 한쌀회 총서 제12권 : 1~40. 한국쌀연구회
 21. 최해춘, 손종록, 김연규. 2002. 일본의 고품질 쌀 생산 및 유통·이용현황. 한쌀회 총서 제13권 : 80~117. 한국쌀연구회
 22. 최해춘. 2005. 일본의 쌀 가공식품 현황과 소비패턴. 한쌀회 총서 제19권 ; 117~132. 한국쌀연구회
 23. 하기용, 김영두, 이재길, 신현탁, 김석동. 2001. 찹쌀 품종간 인절미 품질특성. 한국육종학회지 33(4) : 306~310
 24. 하태열. 2001. 쌀의 영양과 건강. 한쌀회 총서 제10권 : 1~34. 한국쌀연구회
 25. 한귀정. 2005. 국내 쌀 가공식품 현황과 소비패턴. 한쌀회 총서 제19권 ; 102~116. 한국쌀연구회
 26. Arioli T, Peng L, Betzner AS, Burn J, Wittke W, Herth W, Camilleri C, Hofte H, Plazinski J, Birch R, Cork A, Glover J, Redmond J, Williamson RE. (1998) Molecular analysis of cellulose biosynthesis in Arabidopsis. Science. 279: 717-20.
 27. Bishnoi, U., R.K. Jain, et al. 2000. Anther culture of recalcitrant index Basmati rice hybrids. Euphytica 114 : 93~101.
 28. Blennow A, Nielsen TH, Baunsgaard L, Mikkelsen R, Engelsen SB. 2002. Starch phosphorylation: a new front line in starch research.

Trends Plant Sci. 7(10):445-50

29. Chapman S, Schenk P, Kazan K, Manners J. 2002. Using biplots to interpret gene expression patterns in plants. *Bioinformatics*.18(1) : 202-204.
30. Chau, N.M. and S.C. Bhargava. 1993. Different grades of grain occur during grain filling in short- and medium-duration rice. *IRRN* 18(3) : 11 ~ 12
31. Chen, Q.F., C.L. Wang, et al. 2001. Anther culture in connection with induced mutations for rice improvement. *Euphytica* 120 : 401 ~ 408.
32. Cho MJ, Wong JH, Marx C, Jiang W, Lemaux PG, Buchanan BB. 1999. Overexpression of thioredoxin h leads to enhanced activity of starch debranching enzyme (pullulanase) in barley grain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 7:96(25):14641-6.
33. Haigler CH, Ivanova-Datcheva M, Hogan PS, Salnikov VV, Hwang S, Martin K, Delmer DP. 2001. Carbon partitioning to cellulose synthesis. *Plant Mol Biol.* 47(1-2):29-51.
34. Hamada S, Ito H, Hiraga S, Inagaki K, Nozaki K, Isono N, Yoshimoto Y, Takeda Y, Matsui H. 2002. Differential characteristics and subcellular localization of two starch-branching enzyme isoforms encoded by a single gene in *Phaseolus vulgaris* L. *J Biol Chem.* 10 ; 277(19): 16538-46.
35. Holland N, Holland D, Helentjaris T, Dhugga KS, Xoconostle-Cazares B, Delmer DP. 2000. A comparative analysis of the plant cellulose synthase (CesA) gene family. *Plant Physiol.* 123(4):1313-24.
36. Hwang HG, Suh JP, Cho YC, et al. 2004. QTL analysis for eating quality in japonica rice. In *Proceeding of WRRRC, Rice is life: scientific perspectives for the 21st century.* pp 60 ~ 63.
37. Jung W, Skadsen RW and Peterson DM. 1996. Characterization of a barley shrunken endosperm mutant, Seg8. In Al Sinkard, Graham Scoles, Brian Rosnagel eds V. *International Oat Conference and VII. International Barley Genetics Symposium: University Extension Press,*

University of Saskatoon. Canada pp505-5

38. Jung W, Skadsen RW and Peterson DM. 2001. Characterization of a Novel Barley beta-Amylase Gene Expressed Only During Early Grain development. *Seed Science Research* 11: 325-333
39. Kubo A, Fujita N, Harada K, Matsuda T, Satoh H, Nakamura Y. 1999. The starch-debranching enzymes isoamylase and pullulanase are both involved in amylopectin biosynthesis in rice endosperm. *Plant Physiol.* 121(2):399-410.
40. Nakamura Y. 2002. Towards a better understanding of the metabolic system for amylopectin biosynthesis in plants: rice endosperm as a model tissue. *Plant Cell Physiol.* 43(7):718-25.
41. Nils George Asp. 1983. The dietary fiber. *Foss Tecator Journal.* Infocus VOL 6. No 2.
42. Nishi A, Nakamura Y, Tanaka N, Satoh H. 2001. Biochemical and genetic analysis of the effects of amylose-extender mutation in rice endosperm. *Plant Physiol.* 127(2):459-72.
43. Peterson, D.M., D.M. Wesenberg, and D.E. Burrup. 1995. Beta-Glucan content and its relationship to agronomic characteristics in elite oat germplasm. *Crop Sci.* 35: 965-970.
44. Richmond T. 2000. Higher plant cellulose synthases. *Genome Biol.* 1(4) review 3001
45. Satoh, H. and T. Omura. 1975. Induction of mutation by treatment of fertilized egg cell with N-methyl-N-nitrosourea in rice. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 24 : 165 ~ 174.
46. Satoh, H. and T. Omura. 1981. New endosperm mutations induced by chemical mutagens in rice, *Oryza L. Japan. J. Breed.* 31 : 316 ~ 326.
47. Turner SR and, Somerville CR. 1997. Collapsed xylem phenotype of *Arabidopsis* identifies mutants deficient in cellulose deposition in the secondary cell wall. *Plant Cell.* 9(5):689-701.
48. van der Maarel MJ, van der Veen B, Uitdehaag JC, Leemhuis H, Dijkhuizen L.R. 2002. Properties and applications of starch-converting

- enzymes of the alpha-amylase family. *J Biotechnol.* 28;94(2):137-55.
49. Vergara CE and Carpita NC. 2001. Beta-D-glycan synthases and the CesaA gene family: lessons to be learned from the mixed-linkage (1-->3),(1-->4)beta-D-glucan synthase. *Plant Mol Biol.* 47(1-2):145-60.
 50. Wang X, Woo YM, Kim CS, Larkins BA. 2001. Quantitative trait locus mapping of loci influencing elongation factor 1alpha content in maize endosperm. *Plant Physiol.* 125(3):1271-82.
 51. Williamson RE, Burn JE, Hocart CH. 2002. Towards the mechanism of cellulose synthesis. *Trends Plant Sci.* 7(10):461-7
 52. Wong JH, Kim YB, Ren PH, Cai N, Cho MJ, Hedden P, Lemaux PG, Buchanan BB. 2002. Transgenic barley grain overexpressing thioredoxin shows evidence that the starchy endosperm communicates with the embryo and the aleurone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 99(25) : 16325-30.
 53. Yang J, Zhang J, Wang Z, Zhu Q. 2001. Activities of starch hydrolytic enzymes and sucrose-phosphate synthase in the stems of rice subjected to water stress during grain filling. *J Exp Bot.* 52 (364) : 2169 -79.
 54. Yun SH and Matheson NK. 1993. Structures of the amylopectins of waxy, normal, amylose-extender, and wx:ae genotypes and of the phytoglycogen of maize. *Carbohydr Res.* 7 ; 243(2) : 307-21.