최 종
연구보고서

조사료용 옥수수 다수확 품종개발

Development of the Crude Forage Maize with High Yield

연 구 기 관

충 남 대 학 교

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “조사료용 옥수수 다수확 품종개발에 관한 연구” 과제 (세부과제 안정 다수성 우수 교잡종 육성에 관한 연구)의 최종보고서로 제출합니다.

2004 년 1 월 5 일

주관연구기관명 : 충남대학교
총괄연구책임자 : 이 희 봉
연 구 원 : 정 재 영
연 구 원 : 최 현 구
연 구 원 : 김 용 일
협동연구기관명 : 고려대학교
협동연구책임자 : 서 용 원
연 구 원 : 장 철 성
협동연구기관명 : 작물시험장
협동연구책임자 : 문 현 귀
연 구 원 : 손 범 영

요 약 문

Ⅰ. 제 목

조사료용 옥수수의 다수확 품종개발

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

새로운 국내·외 유전자원을 탐색 평가 도입하여 고부가가치성 상품을 개발하고 생산성을 향상시키는 것이 최우선적인 목표로써 고부가가치 상품에 대한 생산성의 향상은 생산의 주체인 농어민들의 소득을 증대시키게 되고, 나아가 소비자에게 GMO로부터 해방하여 보다 안전하고 질이 높은 농산물을 제공하게 되기 때문에 그 결과 생산자와 소비자 모두에게 안정된 생활을 누릴 수 있는 환경을 조성할 것이다. 만약 조속한 시일 내에 농림축산업의 경쟁력을 향상시키지 못할 경우 수입개방으로 인한 생산기반 내지 생산의욕을 상실하게 될 것이 자명한 사실이며 한번 상실된 생산기반과 농민의 생산의욕 회복은 매우 어렵기 때문이다.

이에 본 연구는 단기적 면에서 양축농가에게 농후사료를 포함한 조사료의 생산비를 최소화하여 보다 저렴한 가격으로 고품질의 축산물을 공급함으로써 생산자와 소비자가 동시에 만족할 수 있으며, 중장기적으로는 새로운 조사료 및 농후사료 겸용 옥수수 품종을 해외시장에 보급함으로써 수출산업으로 발전할 수 있으므로 가까운 시일 내에 축산 주도형 농업국가에 양질 사료용 사료 작물로 공급함과 동시에 수출전략 상품으로 발전도 가능할 것이다. 그 결과 국내 축산사료 생산기반의 구축이 공고해 질것이며 아울러 종자 생산업체 또한 활성화될 수 있기 때문에 이에 본 연구의 가치와 중요성을 강조하고자 한다. 따라서 본 연구의 목표는 다수성 옥수수에 대한 劣惡 形質을 그 동안 충남대학교 육종 실험에서 육성한 자연선발 및 돌연변이원 유기에 의해 내재해성 유전인자를 갖는 우수한 계통을 기존 재배종에 도입하고, 나아가 이들 교잡종에 대한 적정 기술재배를 도입함으로써 안정다수성 조사료용 옥수수 품종을 개발하는데 그 목적이 있다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 안정 다수성 우량 교잡종 육성
   가) 국내·외로부터 수집한 유전 자원의 평가 항목 선정
   나) 충남대 실험농장에 파종
   다) 교배친 특성 조사, 내재해성 및 수량성 조사
   라) 다수성 교배모본 50계통(Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ군)에 대한 상호교배
   마) 계통군간 및 계통 군내상호교배에 의한 F_1종자생산

2. 안정 다수성 분얼형 교잡종 선발
   가) 우수 교배 조합으로부터 F_1 선발
   나) 선발된 우수교배조합에 대한 수량 및 지역적응성 검정(대전, 수원, 밀양)
   다) 교배친으로 부터 3년 차용 다시 F_1 종자를 생산
   라) 지역 적응성 시험을 거친 조합에 대한 특성 조사, 수량 및 조합 능력 검정

3. 안정 다수성 분얼형 교잡종선발을 위한 지역 적응성 검정
   가) 주관 연구 기관으로 선발된 우수교배조합의 종자를 분양 받아 지역적응성 검정
   나) 지역 적응성 시험을 거친 조합에 대한 특성 조사, 수량 및 조합 능력 검정

4. 선발된 안정 다수성 교잡종에 대한 재확인 시험
   가) 2차년도에 선발된 우수교배조합에 대한 수량 및 지역적응성 검정
   나) 지역 적응성 시험을 거친 조합에 대한 특성 조사 및 수량성 검정

5. 다수다얼성(MET) 옥수수 특이적인 유전자 분석
   가) 다수다얼성(MET) 옥수수종을 선택하여 실험온실에 파종
   나) 옥수수 분얼 유도에 가장 적합한 환경 조건 설정
   다) 가장 왕성한 분얼 조건에서의 분얼 조직으로부터 mRNA isolation
   라) mRNA를 이용한 cDNA library 구축
   마) cDNA library에 대한 특성 확인
   바) 약 100여개의 cDNA에 대한 ESTs database 구축
   사) Diffrential hybridization에 대한 조건 확립

6. 다수다얼성(MET) 옥수수에 대한 NILs 육성
   가) 다수다얼성(MET) 옥수수와 무분얼경 옥수수와의 F_4의 파종
   나) 2번의 여교잡을 통한 다수다얼성 옥수수에 대한 NILs의 육성
   다) NILs의 다수다얼성 특성의 환경적 영향에 대한 특성 규명
   라) NILs를 협동1연구과제의 2년차 실험재료로 제공

7. 다수다얼성(MET) 특이적 인 유전자의 분리, 동정
   가) 다수다얼성 옥수수에 대한 NILs을 이용하여 differential hybridization 분석 실시
   나) 다수다얼성 특이적으로 발현하는 유전자에 대한 sequence database 구축
   다) 동정된 유전자의 NCBI database에 등재

8. 후기 녹체성 선발을 위한 분자 마커의 개발
   가) 후기 녹체성의 MET 돌연변이체의 분리세대를 이용한 RAPD, SCAR 분석
   나) 후기 녹체성의 MET 돌연변이체에의 분리세대를 이용한 AFLP, STS 분석

9. 다수다얼성(MET) 특이적인 유전자의 특성 분석
   가) 다수다얼성 특이적인 유전자에 대한 발현 양상 분석
   나) 다수다얼성 특이적으로 유전자에 copy 수 검정

10. 후기 녹체성 선발을 위한 분자 마커의 검정
   가) 다수다얼성 및 후기 녹체성을 갖는 분리세대에 대한 분자 마커의 연관을 검정

Ⅳ. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발결과

본 연구는 환경 스트레스에 대해 내재해성이며, 다수확인 조사료용 옥수수 품종을 개발하고자 수행하였다.

공시된 재료는 다수·다얼성 계통, 저착수고 계통, 반왜성 계통 및 후기녹체성 계통들을 상호교배하여 1차년(2001년)에 약 120 조합의 교잡종을 육성하여 대조구인 광안옥을 포함하여 중북부지역(수원), 중부지역(대전), 그리고 남부지역(밀양)에 2002년에 각각 파종하였으며 각 지역에서 선발된 우수조합(6조합)은 2년차와 동일조건으로 2002년에 재확인하였

다.

조사항목은 간장, 착수고, 경직경 및 출웅기를 개화기에, 생체중 및 건물중은 호숙기에 그리고 도복율 및 병·충해 피해정도, 후기녹체성을 등숙기에 각각 조사하였다.

우수 교배친으로 선정된 계통들에 대한 유전력, 잡종강세, 조합능력 및 상관관계를 2002년에 조사하였다.

조사결과 평균잡종강세는 간장, 착수고, 이삭직경 및 100립중에 대해 높은 값을 보인 반면에 주당 분얼수는 낮은 잡종강세를 보였다.

주요 특성들에 대한 조합능력 검정결과 일반조합능력 및 특수조합능력은 계통간, 교잡종간 크게 달랐고, 특성간에도 큰 차이를 보였는데, 일반조합능력 효과는 간장과 착수고에서 CNU 계통 중에서 고도의 정의 유의성을 보였으나, CNU 2618과 CNU 3014는 부의 유의을 보였다. 특수 조합의 경우에는 교배조합 대부분의 간장과, 착수고, 이삭길이에서 고도의 유의성을 보였으며, 100립중에서도 일부 조합에서 약간의 유의성을 보였으나, 분주당 분얼수와 경직경에서는 유의성이 인정되지 않았다.

2. 활용에 대한 건의

본 연구결과 대조구인 광안옥에 비해 생체중이 50% 증수되고 종실수량 역시 15% 이상을 기대할 수 있는 교잡종이 육성되었다. 이러한 결과는 실제적인 육성과정상 재배 농가를 통한 생산성 및 지역적응성의 평가 결과를 통해서 확인 절차가 반드시 이루어져야 함으로 그동안의 연구 결과를 종합해서 재배 농가에 본 옥수수의 재배상 특성등 계속적인 활용 방안을 제시함으로 가능하다. 따라서 본 실험에 대한 최소한 2~3년의 연구기간이 소요되어야 할 것이며, 그러기 위해서는 본 연구에 참여한 협동기관과의 지속적인 정보교환을 통해서만이 소기의 목적을 달성할 것으로 본다.

Summary

주관(충남대)+협동2(작시)과제

This study was carried out to develop the crude forage maize hybrid with high yield and tolerance to enviromental stress

Materials used in this study were multi-tiller and ears lines, low-eared lines semi-dwarf lines and stay-green lines. These four groups were receprocally crossed for making the F1 hybrids at Daejeon in 2001

About 120 hybrids including check hybrid, Kwanganok were planted at three regions; Daejeon (May 15), Suwon (May 5) and Milyaing (May 20) in 2002, and these hybrids were evaluated in stem height, ear height, stem diameter and days to tasseling for biological characters. Fresh weight and dry matter were measured for selection a superior crude forage hybrid.

Besides, degree of lodging and disease-pest injury were surveyed for selection the tolerance hybrids to enviromental stresses and stay-green degrees to nutritional values. Heriterbility, heterosis correlation coefficients and combining ability about crossing parents were evalutated to increse the efficiency the superior hybrid corn breeding

Results gained from this experiment were as follows:

Average percent of heterosis for the stem height, ear height, ear diameter and 100kernel weight showed a high positive values, while tiller number per plant was negative.

Characteristics measured were highly significant in both general and specific combining ability. CGA effects of the stem height and ear height were highly significant in CNU had negative effects. SCA effects of stem height and ear height were highly significant in all crosses, while showed negative values of SCA

Among hybrids, six hybrid selected in 2002 and planted in 2003. Hybrid CNU2618×CNU2665, CNU2627×CNU3007 and CNU2618×CNU2680 were higher than Kwanganok check in stem height, but lower in ear height. Ratio of ear height to stem height was similar or lower than check.

Therefore, cultivation of these hybrids will be useful to environmental stress such as

lodging. Especially, hybrids CNU2627×CNU3007 and CNU3014×CNU2678 were higher than check hybrids in both fresh and dry weight because of multi-tillers per plant, and grain yield was also higher than check. Hybrid CNU2618×CNU2665, CNU3054×SK1 and CNU2798×SK1 having non-tiller were higher than check in both fresh and dry weight yield per 10a. Degree of Insect and disease injury such as leaf slight and leaf spot except corn borer were similar to check. Stay green degree of Hybrids crossed with lines having stay green gene were similar to check hybrid. In the whole experiment, hybrid CNU2618×CNU2665, CNU3054×SK1, CNU2798×SK1 were better than check for new crude forage use, but some supplements before practical cultivation were indicated. Accordingly, these hybrids have to be searched in both a proper planting density and fertilizer or compost levels and must have two to three years for production performance test and local adaptation test before cultivation by farmer.

제 2 협동 과제(고려대)

In order to elucidate molecular events on the formation of multi-tillers in maize, we conducted EST analysis and differential hybridization (DH) at the early development of tillers. Total 118 clones were sequenced and produced some length of readable sequences. ESTs were divided into 11 functional categories. Cell division and growth related genes represented 4 clones, including growth hormone1 protein, leaf development protein Argonaute, MADS box-like protein, and plastid division protein FtsZ. Two genes, *ZmRPS4* and *ZmMET1*, were isolated by DH methods and characterized by Nothern blotting and *in situ* hybridization. Both of *ZmRPS4* and *ZmMET1* were expressed in vascular tissues of the crown of tiller. Especially, the *ZmMET1* gene were highly expressed in leaf primordium of the crown of tillers. These genes were also induced by exogenous treatment of cytokinin in the leaf.

AFLP analysis using 64 primer pairs were conducted in order to identify stay green multi ear and tiller (MET) type maizes. Two primer combinations identified three fragments and sequenced with an aim towards converting AFLP markers into sequence tagged sites (STSs). Primer set, termed MET2, amplified a stay green specific fragment. In AFLP analysis on low hight ear maize, five primer combinations produced nine specific polymorphic fragments.

CONTENTS

Heading ····· 1
Summary in Korean ····· 2
Summary in English ····· 6
Contents in English ····· 9
Contents in Korean ····· 11

TEXT

Chapter 1. Outlines of Research and Development ····· 12
Section 1. Needs of Research and Development ····· 12
Section 2. Goals and Contents of Research and Development ····· 17
Section 3. Objective and Extent of Research and Development ·· 19
Section 4. Methods and Designs of Research and Development · 21

Chapter 2. States of Technical Development at Home and Foreign ····· 24
Section 1. States and Problem of Technical Development at Home and Foreign ····· 24
Section 2. Prospects in the Future ····· 27
Section 3. Propriety of Technical Introduction ····· 28

Chapter 3. Results and Contents of Research and Development ····· 29
Section 1. Development of the Superior Hybrid Maize with Stable and High Yield ····· 29
Section 2. Isolation and Identification for Specific Gene of maize with Multi-tillers and Ears ····· 51

Section 3. Development of Molecular Marker for Stay-green and Low Ear Height ····· 65

Chapter 4. Achievement of Target and Contribution of the Related Division ····· 73

Chapter 5. Practical Plans for Research and Developmental Results ····· 75

Chapter 6. Informations of Science-Technology Gained from Abroad during Research and Development ·· 77

Reference ····· 80

목 차

제출문 ····· 1
요약문 ····· 2
영문요약문 ····· 6
영문목차 ····· 9
목차 ····· 11

본 문

제 1 장 연구개발 과제의 개요 ····· 12
제 1 절 연구개발의 필요성 ····· 12
제 2 절 연구개발의 목표 및 내용 ····· 17
제 3 절 연구개발 목적 및 범위 ····· 19
제 4 절 연구개발 방법 및 실제 ····· 21

제 2 장 국내·외 기술개발 현황 ····· 24
제 1 절 국내·외 기술현황과 문제점 ····· 24
제 2 절 앞으로의 전망 ····· 27
제 3 절 기술도입의 타당성 ····· 28

제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과 ····· 29
제 1 절 안정·다수성 우수 교잡종 육성 ····· 29
제 2 절 다수다얼성(MET) 특이적 유전자의 분리 및 동정 ····· 51
제 3 절 후기 녹체성 및 저착수고 선발을 위한 분자마커 개발 ····· 65

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 ····· 73

제 5 장 연구개발 결과의 활용계획 ····· 75

제 6 장 연구개발 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보 ····· 77

제 7 장 참고문헌 ····· 80

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 연구개발의 필요성

최근 우리 나라의 생활 패턴이 서구화됨에 따라 육류의 섭취량이 매년 급증하고 있으나 이에 필요한 축산농가의 주사료인 옥수수는 국내 자급율이 1%미만으로 년간 800만 톤이 수입에 의존하고 있기 때문에 IMF이후 국가 경제는 물론 축산 농가가 크게 위협을 받고있는 실정이다.

더욱이 WTO체제의 출범과 99년말 미국 시애틀에서 논의한 바 있는 뉴라운드 협상은 농업을 둘러싼 국제경제 질서가 급속히 변화될 것으로 판단되기 때문에 빠른 시간 내에 우리의 농업을 경쟁력 있는 산업으로 키워놓지 않으면 자생력을 상실하게 될 것이다. 이와 같은 무한경쟁체제하에서 농업을 유지·발전시키기 위해서는 고부가가치가 있는 신품종 육성이나 새로운 기술의 개발 및 보급만이 시급한 당면과제를 해결할 수 있는 유일한 방법이라고 생각된다.

특히 농업기술은 타 분야의 기술과는 달리 자연환경에 따른 지역성을 갖기 때문에 기술 이전이나 모방이 극히 제약을 받을 뿐만 아니라 현재의 국제기술 질서는 유용 물질이나 기술의 배타적 권리를 엄격하게 보호하는 방향으로 전개되고 있는 현실을 감안할 때 국가 안위를 위하고 생산 기반인 농업을 보호 육성하며 나아가 식량문제를 해결하기 위해서는 국내·외 유용자원을 이용한 새로운 기술 개발이나 우수한 신품종 육성은 농업인의 자생력과 생산욕구를 키우는 동시에 국가의 부를 증대시키는 계기가 될 수 있다.

또한 남북통일 후 축산소비가 급증할 것이므로 현재 크게 낙후되어있는 사료의 자급율(농후사료 1%, 조사료 38%)을 높이기 위해서는 경영비를 최소화하고 양질 다수성 사료인 옥수수의 생산성 향상만이 침체된 양축 농가의 활로를 찾는데 최선의 해결 방법이라고 생각한다.

아울러 현재 문제가 되고 있는 유전자 변형 작물(Genetically Modified Organisms : GMO)로 가공된 유전자 변형 식품(Genetically Modified Food : GMF)에서 완전 해방하기 위해서는 국내유전자원을 이용한 안정, 다수성이며 환경친화적인 양질의 사료 작물 개발만이 현재 축산 농민들이 겪고 있는 현장애로 사항을 해결할 수 있을

것으로 판단된다.

따라서 본인 등은 현재의 사료 자급률을 크게 높일 수 있는 방법으로 과거 20년 전부터 국내·외 옥수수 유전자원을 수집하고 특성 평가를 통해서 획기적인 조사료를 확보할 수 있는 다수다얼성 옥수수 50여 계통을 계통육성한 결과 새로운 형태의 교잡종이 기존 품종에 비해 단위면적당 청예수량이 150%이상 건물수량이 50%이상 증수되었으며, 종실수량도 10%가량이 무얼성 옥수수(예 ; P3249, U.S hybrid)에 비해 증수되었다는 연구결과를 국내·외 저명 학술지에 보고 한 바 있다[한국 작물 학회지(37권2호, 1992; 37권3호, 1992; 34권4호, 1989; 30권3호, 1985; 19권3호, 1987), 한국 육종 학회지(26권4호, 1994; 23권1호, 1992; 23권4호, 1992; 25권1호, 1992; 20권4호, 1988), 충남대 학술지(12권2호, 1985; 15권2호, 1988), SABRAO(19권2호, 1987; 20권1호, 1980), EUCARPIA (13:1985), Maize Genetic Newsletter(68권 1994; 67권 1993; 62권 1987), 미국 농학회 학술발표(1986,1996), 국제 학술 발표(네덜란드;1987 ,CIMMTY;1988), FAO Maize Genetic Newsletter(68:1987)].

이 같은 연구 결과에 대한 참고 자료는 위와 같이 다수확이 가능함에도 불구하고 실용화 단계까지는 앞으로 몇 가지 선결되어야 할 문제점으로 상기 학술지에 지적된 바 있었고 이를 위해서 형질개량을 위한 우수한 교배친 육성을 위한 꾸준한 연구 결과 이에 적합한 계통들을 확보하게 되었다. 구체적인 예를 들면 착수고가 낮은 계통(low ear height lines) 그리고 후기녹체성계통(stay green lines), 반왜성계통(semi dwarf lines)들을 육성하였고 이들을 상호 교배하여 도복에 약하고, 하위엽이 고사되는 열악형질이 개선될수 있기 때문에 이를 위해서는 착수고가 낮은 계통의 유전자 도입이나 후기 녹체성 및 반왜성인자의 도입이 시급한 과제라고 판단되었다. 이에 대한 생산성 및 내재해성 향상을 위한 집중적인 연구 결과 적어도 3년 내지 5년이면 1%미만의 국내 농후 사료 자급률을 크게 높일 수 있을 뿐만 아니라 현재 조사료 자급율 38%수준을 60%수준으로(2004년 농림부 식량 자급 정책과 목표) 자급율을 증대시킬 수 있다고 확신하기 때문에 국내의 사료 공급문제는 크게 개선될 수 있을 것으로 확신한다.

이와 같이 본 연구의 중요 목적은 새로운 국내·외 유전자원을 탐색 평가 도입하여 고부가가치성 상품을 개발하고 생산성을 향상시키는 것이 최우선적인 목표로써 고부가가치 상품에 대한 생산성의 향상은 생산의 주체인 농어민들의 소득을 증대시키게 되고, 나아가 소비자에게 GMO로부터 해방하여 보다 안전하고 질이 높은 농산

물을 제공하게 되기 때문에 그 결과 생산자와 소비자 모두에게 안정된 생활을 누릴 수 있는 환경을 조성할 것이며 만약 조속한 시일 내에 농림축산업의 경쟁력을 향상시키지 못할 경우 수입개방으로 인하여 생산기반 내지 생산의욕을 상실하게 될 것이 자명한 사실이며 한번 상실된 생산기반과 농민의 생산의욕 회복은 매우 어렵기 때문이다.

이에 본 연구는 단기적 면에서 양축농가에게 농후사료를 포함한 조사료의 생산비를 최소화하여 보다 저렴한 가격으로 고품질의 축산물을 공급함으로써 생산자와 소비자가 동시에 만족할 수 있으며, 중장기적으로는 새로운 조사료 및 농후사료 겸용 옥수수 품종을 해외시장에 보급함으로써 수출산업으로 발전할 수 있으므로 가까운 시일 내에 축산 주도형 농업국가에 양질 사료용 사료 작물로써의 수출 전략 상품으로 발전이 가능하다. 그 결과 국내 축산사료 생산기반의 구축이 공고해 질것이며 아울러 종자 생산업체 또한 활성화될 수 있기 때문에 이에 본 연구의 가치와 중요성을 강조하고자 한다.

가. 기술적 측면

국내 경제가 WTO 체제를 맞아 모든 분야에서 큰 위기를 맞게 되었고, 작금의 상황으로 볼 때 미국시애틀에서 논의된바 있는 뉴라운드의 파고가 도래할 것으로 보아 선진 농업 수출국 주도하에서 좌우되는 우리 농업의 현실은 또 한번 큰 풍랑을 겪을 것으로 예상하고 있다.

이를 슬기롭게 대처하기 위해서는 우리의 농업이 국제경쟁력을 향상시킬 수 있는 고부가가치가 높은 소득 작물이나 농업 생산성 기술을 개발하는 것이 매우 중요하다.

빠른 시간 내에 농업의 경쟁력을 향상시키지 못할 경우 수입개방으로 인하여 우리 농업의 생산기반을 상실하게 될 것이기 때문에 국내 부존자원을 발굴, 도입해서 실용화할 수 있는 기술의 개발이나 신품종 육성, 신기능성 물질 개발등에 최우선적인 목표를 두어야 할 것이다. 따라서 본 연구에 대한 기술적인 측면은 다음과 같다.

- 국내 유전자원을 활용한 유전자 변형 식품(GMFood)으로부터 완전 탈피할 수 있는 환경 친화적 품종개발 기술을 익힐 수 있다.
- 종자 생산 체계법을 확립하여 과학영농의 중요성을 인식한다.

- 신품종개발로 농업 과학의 중요성을 농민들에게 인식하게 된다.
- 다수다얼성(MET)계통이 갖고 있는 특이적인 유전자에 대해 분리 및 동정을 통해 신품종 육성을 위한 분자 생물학적 기초 지식을 구축한다.
- 새로운 유용 형질들(예, 저착수고, 후기 녹체성에 대한 분자 표지 인자 확보를 통하여 앞으로 신품종 옥수수 개발에 효율성을 증대시킨다.

나. 경제·산업적 측면

본 연구가 갖는 신품종 육성 개발효과는 단기적으로 보다 싼 가격으로 고품질의 농산물을 생산함으로써 생산농민의 경영비 절감과 소비자에 저렴하고 안전한 축산물의 공급을 통해 우리의 농업을 유지, 발전, 계승시키는데 기여할 것이며 중장기적으로는 우리의 농산물인 신품종옥수수 사료용 종자를 해외시장에 수출 보급함으로써 국가의 경쟁력이 있는 최우선 산업으로 육성하는데 있다.

따라서 유용 부존자원에 대한 집중적인 연구가 이루어진다면 국내 축산농민이 겪고 있는 사료 자급율은 크게 향상 될 수 있으리라고 확신한다. 또한 새로운 사료용 옥수수의 품종개발로 해외 종자 수출을 기대 할 수 있기 때문에 이와 관련된 종자 관련산업이 활성화되어 위축된 국내 종묘산업의 부흥에 활력소가 될 것으로 판단된다.

- 조사료(현재 38%) 및 농후사료(1%미만) 자급률을 60%이상 (2004년 농림부 식량정책과 목표) 증대시킬 수 있는 국가정책에 크게 이바지할 것이다.
- 수입 대체효과로 외화 지출[옥수수 800만톤/년간 수입량×103$/톤=$824,000천(98년 기준)]을 크게 절감할 수 있다.
- 고부가가치성 조사료 및 농후사료 겸용 옥수수 품종의 개발로 해외 축산시장에 대해 종자수출이 가능하다.
- 축산폐기물을 재활용한 친환경적 유기농업이 가능하며 유기질 비료 산업이 활성화 될 수 있다.
- 타 분야의 상승적 발전 효과(사료작물 육종관련업체, 종묘회사, 종자 수출업체)가 기대된다.
- 유전자변형식품에 대한 국민의 우려를 완전 불식시킨다.
- 유용형질의 마커 및 관련 유전자를 분리, 동정하여 지속적이고 효율적인 선발을

가능케 함으로써 품종 육성에 소요되는 경비와 노력을 최소화한다.

다. 사회 · 문화적 측면

국내·외 유전자원을 효율적으로 탐색·개발·이용하여 고부가가치성 안정다수성 품종 개발은 농민의 생산의욕을 고취시켜 궁극적으로 양축농가의 소득 증대에 기여할 뿐만 아니라 축산종사자의 복지를 증진시킴과 동시에 생산비용이 적게들어 저렴하고 안전한 축산물을 공급받음으로써 소비자의 삶의 질과 가계안정에 크게 도움이 될 것이다.

그 결과 도·농간 빈부격차를 줄임으로써 사회안정을 도모하게 되고 나아가 국제 무역불균형에 의한 경상수지 적자의 개선에도 크게 이바지 할 것이다.

- 축산농가소득 증대로 축산업 종사자의 국민 경제 생활에 안정을 꾀 할 수 있다.
- 획기적인 안정다수확 사료용 옥수수 개발로 축산사료 공급난 해소에 크게 기여할수 있다[현재 조사료 자급 38%에서 60%로 목표 (2004년 농림부계획 식량 정책)].
- 국내유전자원을 이용한 새로운 국내 환경 친화적 품종개발은 유전자변형식품 문제로부터 국민 건강을 직·간접적으로 안정시킬 수 있다.
- 사료용 옥수수를 북한에 확대 보급하여 인도적 차원에서의 대북 관계 개선에 기여할 것이다.
- 조사료 공급을 통해 축산폐기물을 퇴비화 함으로써 유기적 농업을 통해 환경친화적 농업으로 발전시킴으로써 국토보존사업에 크게 기여할 것이다.

제 2 절 연구개발의 목표 및 내용

1. 연구개발 목표와 내용

가. 1차년도(2001)

■ 다수성 우수 품종 육성을 위해 2000년 현재 본인 등이 국내·외 유전 자원으로부터 수집·평가하고 이들을 계통 분리해서 보유하고 있는 다얼성이며 다수성인 자식계통은 표 1에서 보는 바와 같이 외국 수집계통을 포함 50여 계통에 이르고 있으나 미고정 200여 계통이 본 실험에 추가될 예정이다.

Table 1. Characteristics of lines fixed up to 2000 year

Developed Lines	Characteristics	Place	Group
CN 20-1, Ⓧ S_8	Multi-ears and tillers (MET), low ear height	CNU	I
-2, Ⓧ S_8	〃	〃	
-3, Ⓧ S_8	〃	〃	
CN 22-1, Ⓧ S_{10}	〃	〃	
-2, Ⓧ S_{10}	〃	〃	
CN 23 , Ⓧ S_9	〃	〃	
CN 24 , Ⓧ S_9	〃	〃	
CN 32-1, Ⓧ S_9	〃	〃	
-2, Ⓧ S_9	〃	〃	
CN 33-1, Ⓧ S_7	〃	〃	
-2, Ⓧ S_7	〃	〃	
CN 140-1, Ⓧ S_7	〃	〃	
-2, Ⓧ S_7	〃	〃	
CN 170-1, Ⓧ S_8	〃	〃	
CN 196 , Ⓧ S_{10}	〃	〃	
CN 197 , Ⓧ S_8	〃	〃	
CN 198 , Ⓧ S_8	〃	〃	
CN 200 , Ⓧ S_8	〃	〃	
CN 205 , Ⓧ S_{10}	〃	〃	
CN 211 , Ⓧ S_{10}	〃	〃	
CN 286-1, Ⓧ S_{10}	〃	〃	
-2, Ⓧ S_{10}	〃	〃	
CN 373-1, Ⓧ S_8	〃	〃	
-2, Ⓧ S_8	〃	〃	
-3, Ⓧ S_8	〃	〃	
CN 971 , Ⓧ S_7	〃	〃	
CN 972 , Ⓧ S_7	〃	〃	
CN 526-1, Ⓧ S_9	Multi-ears and tillers, Stay green, Broad leaf	CNU	II
CN 85-1, Ⓧ S_9	〃	〃	
-2, Ⓧ S_9	〃	〃	
-3, Ⓧ S_9	〃	〃	
F12BT73, Ⓧ S_6	No-tiller, Stay green	RAD	
TEI , Ⓧ S_6	〃	〃	
CN1196-1, Ⓧ S_7	Multi-ears and tillers, Elect type	CNU	
-2, Ⓧ S_7	〃	〃	
CN1433-1, Ⓧ S_8	〃	〃	
CN -2, Ⓧ S_8	〃	〃	
CN 44-1, Ⓧ S_8	〃	〃	
CN 45-1, Ⓧ S_8	〃	〃	
CN 49-1, Ⓧ S_8	〃	〃	
CN 57-1, Ⓧ S_8	〃	〃	
CN 121-1, Ⓧ S_9	〃	〃	
CN 122-1, Ⓧ S_9	〃	〃	
CN 123-1, Ⓧ S_9	〃	〃	
CN1643-1, Ⓧ S_6	Multi-ears and tilles, Semi-dwarf	CNU	III
-2, Ⓧ S_6	〃	〃	
-3, Ⓧ S_6	〃	〃	
-4, Ⓧ S_6	〃	〃	
CN1341-1, Ⓧ S_7	〃	〃	
-2, Ⓧ S_7	〃	〃	

■ 1차 년도에는 이들 계통을 동일조건에 파종하여 교배조합 결정을 그룹별로 재 작성하여 이들 계통군을 상호교배하여 F_1 종자를 생산하고 각계통에 대한 근연관계를 분석하여 잡종강세이론을 정립함.

■ 다수다얼성(MET) 품종에 대한 cDNA library를 구축, EST (Expressed Sequence tags) 분석, differential hybridization 분석을 위한 NILs (near-isolines)의 구축함.

■ Differential hybridization에 분석을 위한 조건 확립.

나. 2차년도

■ 2차년도에는 1차년도에 생산된 F_1교잡종을 난괴법 3반복으로 파종하고 안정·다수성 품종 (다수성+내도복성+후기녹체성 도입)을 결정함.

■ 이들에 대한 유전성을 확인하기 위하여 수량성 검정, 조합능력(GCA 및 SCA) 검정이나 생산성 및 지역적응성 검정(3개지역: 수원, 대전, 밀양) 실시.

■ 이때 필요한 종자 량을 최대한 생산하기 위해서 동계재배를 실시할 계획이며 1차년도와 동일하게 육성된 교배친 계통군을 동시에 파종.

■ 다수다얼성, 및 후기녹체성의 near-isoline들을 이용한 분자 표지 마커 개발을 실시하고자 하며 다수다얼성에 대한 differential hybridization을 실시하여 다수다얼성 관련 유전자를 분리 및 동정.

다. 3차년도

■ 2차년에서 선정된 안정 다수성 교배조합에 대한 재확인시험은 중·북부(수원), 중부(대전), 남부(밀양)를 포함하여 생산성 및 지역적응성 실험 실시.

■ 구축한 MET 특이적인 유용유전자 및 분자 마커에 대한 활용 검정을 실시하고자 한다.

▸ 따라서 본 연구의 목표는 다수성 옥수수에 대한 劣惡 形質을 그동안 자연선발 및 돌연변이원 유기에 의한 내재해성 유전인자를 갖는 우수한 계통을 기존 재배종에 도입하고 농가의 경영비를 절감 할 수 있는 생력재배용 기술재배를 도입하여 안정다수성 조사료용 옥수수 품종을 개발 하는데 그 목적이 있음.

제 3 절 연구개발 목적 및 범위

◆ 1년차(2001)

가. 안정 다수성 우량 교잡종 육성

1) 국내·외로부터 수집한 유전 자원의 평가 항목 선정
2) 충남대 실험농장에 파종
3) 교배친 특성 조사, 내재해성 및 수량성 조사
   - 식물학적 특성 조사
   - 수량성 (종실, 생체, 건물중) 조사
   - 내재해성, 내도복성, 내병해충성 및 후기 녹체성 조사
4) 다수성 교배모본 50계통(Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ군)에 대한 상호교배
   - 착수고가 낮은 계통 (I군) : 27 계통
   - 후기녹체성계통계통 (II군) : 17 계통
   - 반 왜성 계통 (III 군) : 6 계통
5) 계통군간, 군내상호교배에 의한 F_1종자생산

나. 다수다얼성(MET) 옥수수 특이적인 유전자 분석

1) 다수다얼성(MET) 옥수수종을 선택하여 실험온실에 파종
2) 옥수수 분얼 유도에 가장 적합한 환경 조건 설정
   - 재배 온도, 재식 밀도 등
3) 가장 왕성한 분얼 조건에서의 분얼 조직으로부터 mRNA isolation
4) mRNA를 이용한 cDNA library 구축
5) cDNA library에 대한 특성 확인
   - 재조합율, cDNA의 크기 등
6) 약 100여개의 cDNA에 대한 ESTs database 구축
7) Diffrential hybridization에 대한 조건 확립

다. 다수다얼성(MET) 옥수수에 대한 NILs 육성

1) 다수다얼성(MET) 옥수수와 무분얼경 옥수수와의 F_4의 파종
2) 2번의 여교잡을 통한 다수다얼성 옥수수에 대한 NILs의 육성
3) NILs의 다수다얼성 특성의 환경적 영향에 대한 특성 규명
4) NILs를 협동1연구과제의 2년차 실험재료로 제공

◆ 2년차(2002)

가. 안정 다수성 분얼형 교잡종 선발

1) 우수 교배 조합으로부터 F_1 선발

2) 선발된 우수교배조합에 대한 수량 및 지역적응성 검정

- 2개 지역 [대전, 남부 (밀양)]에 우수한 F_1 조합 5~10개 교잡종을 선발 파종

3) 3년차용 교배친으로부터 다시 F_1 종자를 생산

- 동계재배 실시

4) 지역 적응성 시험을 거친 조합에 대한 특성 조사, 수량 및 조합 능력 검정

나. 다수다얼성(MET) 특이적 인 유전자의 분리, 동정

1) 다수다얼성 옥수수에 대한 NILs을 이용하여 differential hybridization 분석 실시

2) 다수다얼성 특이적으로 발현하는 유전자에 대한 sequence database 구축

3) 동정된 유전자의 NCBI database에 등재

다. 후기 녹체성 선발을 위한 분자 마커의 개발

1) 후기 녹체성의 MET 돌연변이체의 분리세대를 이용한 RAPD, SCAR 분석

2) 후기 녹체성의 MET 돌연변이체에의 분리세대를 이용한 AFLP, STS 분석

라. 안정 다수성 분얼형 교잡종선발을 위한 지역 적응성 검정

1) 주관 연구 기관으로 선발된 우수교배조합에 대한 분양 받아 지역적응성 검정

- 3개 지역 (대전, 수원, 밀양)에 우수한 F_1 조합 5~10개 교잡종을 파종

2) 지역 적응성 시험을 거친 조합에 대한 특성 조사, 수량 및 조합 능력 검정

◆ 3년차(2003)

가. 선발된 안정 다수성 교잡종에 대한 재확인 시험

1) 2차년도에 선발된 우수교배조합에 대한 수량 및 지역적응성 검정

- 3개 지역 [대전, 수원, 남부(밀양)]에 우수한 F_1 조합 5~10개 교잡종을 선발 파종

2) 지역 적응성 시험을 거친 조합에 대한 특성 조사, 수량 및 조합 능력 검정

- 조합 능력 검정

- 수량성 및 지역 적응성 검정
- 안정성 (내재해성, 후기 녹체성) 확인

나. 다수다얼성(MET) 특이적인 유전자의 특성 분석

1) 다수다얼성 특이적인 유전자에 대한 발현 양상 분석
- 조직 특이적인 발현 양상 분석 (Northern 분석)

2) 다수다얼성 특이적으로 유전자에 copy 수 검정
- Southern 분석

다. 후기 녹체성 선발을 위한 분자 마커의 검정

1) 다수다얼성 및 후기 녹체성을 갖는 분리세대에 대한 분자 마커의 연관을 검정

라. 선발된 안정 다수성 교잡종에 대한 지역적응성 재확인 시험

1) 전년도에 선발된 우수교배조합에 대한 지역적응성 검정
- 3개 지역(대전, 수원, 밀양)에 우수한 F_1 조합 5~10개 교잡종을 파종

2) 지역 적응성 시험을 거친 조합에 대한 특성 조사, 수량 및 조합 능력 검정
- 조합 능력 건정
- 수량성 및 지역 적응성 검정
- 안정성 (내재해성, 후기 녹체성) 확인

제 4 절 연구개발 방법 및 설계

◆ 1차 년도 (2001)

가. 안정 다수성 우량 교잡종 육성 (주관)

현재 본인 등이 국내·외로부터 수집한 유전 자원을 평가하고 이들을 계통 분리해서 보유하고 있는 다얼성이며 다수성인 자식계통은 착수고가 낮은 다수성계통과 후기녹체성을 가진 계통 및 반왜성계통을 포함하여 약 50여 계통으로 이들 계통군을 상호교배하여 F_1종자를 다량 생산한다. 동시에 이들 교배친에 대한 식물학적 특성 및 수량성 그리고 내재해성에 대한 특성을 평가한다.

나. 다수다얼성(MET) 옥수수 특이적인 유전자 분석 (협동1)

순계로 유지된 다수다얼성(MET)로부터 cDNA library를 구축하고, 이에 대한 EST 분석을 실시하며, non-MET 계통과의 differential hybridization screen을 위한 시험조건을 확립한다.

다. 다수다얼성(MET) 옥수수에 대한 NILs 육성 (협동2)

순계로 유지된 다수다얼성(MET)와 이에 대한 교배친으로 유지되어 오던 F_4와의 두 번의 여교잡을 통해서 다수다얼성 옥수수에 대한 near- isogeneic lines을 육성하여 협동1 기관의 2년차 실험재료로 제공한다.

◆ 2차 년도(2002년)

가. 1차년도에 생산된 교잡종에 대한 생산성 검정 및 지역적응성 시험 (주관)

1차년도에 생산된 F_1교잡종에 대한 종실수량 및 생체/건물수량 검정을 실시하고 (2개지역 :유성, 밀양) 동시에 유전분석을 통해 얻어진 우수교배조합에 대해 F_2 종자를 생산하여 초기 선발을 위한 분자마커 개발에 이용한다.

그 결과 환경변이체나 불량형질로 나타나는 조합에 대해서는 도태시키고 조합능력이 우수한 교배친으로부터 다시 F_1종자를 다량 생산한다.

교배친들에 대한 유전성을 확인하기 위하여 유전력 및 조합능력(GCA 및 SCA)검절

을 실시한다.

나. 다수다얼성 특이적인 유전자의 분리 및 내도복성, 후기녹체성 식물체의 초기 선발을 위한 분자 마커 개발 (협동1)

우수교배조합에 의해 분리되는 F_2 식물체를 이용하여, MET 및 후기녹체성 식물체의 초기 선발을 위한 분자 마커 개발을 위해 AFLP, STS 분석을 실시한다. 또한 non-MET 계통과의 differential hybridization을 통한 MET 특이적인 유전자를 분리 및 동정을 실시한다.

다. 교잡종에 대한 생산성 검정 및 지역적응성 시험 (협동2)

주관 연구 기관으로부터 F_1 교잡종을 분양 받아 대한 종실수량 및 생체/건물수량 검정을 실시한다(3개지역 :대전, 수원, 밀양). 환경변이체나 불량형질로 나타나는 조합에 대해서는 도태시키고 조합능력이 우수한 교배친을 선발한다.

◆ 3차 년도(2003년)

가. 안정·다수성 교잡종에 대한 재시험 (주관)

2차년도에 선발된 우수교잡종을 수원, 대전, 밀양을 포함한 3개 지역에서 난괴법 3반복으로 파종하고 안정다수성 품종 육성(다수성+재해성+후기녹체성)을 결정하게 된다.

나. 분자 마커와 MET 특이성 유전자의 이용성에 대한 규명 (협동1)

3차 년도에서는 2차 년도에 개발된 분자 마커를 이용하여 잡종 분리 집단에서 마커와 새로운 형질에 대한 상관관계를 규명하고자 한다. 또한 MET 특이적인 유용 유전자를 선발하여 염기 서열 분석 및 copy 수, 발현 양상 등을 규명하고자 한다.

다. 안정·다수성 교잡종에 대한 지역 적응성 재시험 (협동2)

2차년도에 선발된 우수교잡종을 수원 지역에서 난괴법 3반복으로 파종하고 안정다수성 품종 육성(다수성+재해성+후기녹체성)을 결정하게 되는데 이들에 대한 유전성을 확인하기 위하여 유전력 및 조합능력(GCA 및 SCA) 검정을 실시한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내·외 관련기술의 현황과 문제점

1. 국내 기술개발 현황과 문제점

최근 농촌진흥청 작물시험장의 연구결과에 의해 육성된 청예용 옥수수인 수원옥2호를 제외한 교잡종들은 대부분이 곡실수량의 증수를 위한 품종들로써 최근 축산 농민이 재배하고 있는 싸일레지용 옥수수 품종은 미국에서 생산된 곡실용 교잡종 옥수수를 그대로 수입하여 이용하고 있는 실정이다. 그러나 매년 이에 필요한 막대한 종사수입대가('98기준 : 800만톤×$103=$824,000 천)의 외화 지출에도 불구하고 조사료용내지 싸일레지용 옥수수는 국내외를 통해 수원옥2호를 제외하고는 거의 연구된 바 없다. 이러한 현실을 착안하여 본인등은 미국의 옥수수 보다 곡실이나 청예수량에 있어서 보다 많이 증수할 뿐 만 아니라 환경친화적 품종을 개발하기 위한 노력을 1979년부터 현재까지 전국의 재래종을 수집하여 새로운 육종자료를 탐색 이용하고자 시도하고 있다. 이와 같은 이유는 국내고유의 유전자원을 이용하여 우리 나라의 자연 환경에 쉽게 적응할 수 있는 품종을 육성함으로서 재배지역의 확대는 물론 장기간 우리환경에 순화, 적응 되어왔기 때문에 기상재해와 병충해에 대해서도 상당한 수준의 내재해성인 장점을 가지고 있기 때문이다.

이와 같은 장점을 이용하기 위해 과거 15년간 다수성 교잡종을 개발하려는 연구결과 1985년부터 1990년 초까지 형태적, 유전적으로 독특한 옥수수의 계통(多穗多蘖性 옥수수, multiple ears and tillers; MET)을 확인하고 이에 대한 다수확 및 사료가치적 우수성을 국내는 물론 미국, 유럽 등 주요학술지에 소개한바 있다(연구개발의 필요성과 인용문헌란 참고).

이에 대해 본인 등은 1990년대 초까지 보유하고 있는 육종재료를 이용하여 조사료 증산 측면을 볼 때 미국 품종을 이용해서 현재 농민이 재배하고 있는 옥수수보다 단시일 내에 150~200%이상 증수하는 옥수수 품종 육종성과를 기대하기는 곤란하다고 결론지었는데, 그 이유로는 국내 유전자원에 대한 수집 평가 후 계통 육성된 육종재료들은 유용형질간의 유전 분석결과 잡종강세에 의한 수량성은 크게 증가되었으

나, 열악형질인 도복 및 병·해충 등의 문제가 크게 개선될 수 없었기 때문이다. 따라서 본인이 1992년부터 연구추진 중에 있는 돌연변이원 처리에 의해 착수고가 낮은 내도복성인 특성을 갖는 교배친 육성, 하위엽고사에 의한 후기녹체성 교배친육성 및 반왜성유전자를 갖는 변이체 계통등을 발견하여 이들 각각의 계통군이 동질접합체 수준에 이르게 되었고, 이들 상호교배에 의해 우수한 교잡종의 선발이 가능하게 되었다. 그 결과 기존의 열악형질이 상당수준 개량될 수 있다고 확신하게 되었고(1999년 한국육종학회 보고) 단기간내에 기존 교잡품종보다는 종실수량면에서 현수준내지 10%이상의 수량을 기대 할 수 있고, 생체수량은 150~200%이상, 건물중 100%가 증가 될 수 있는 새로운 옥수수 품종이 개발 될 수 있을 것으로 확신되었다.

이와 같은 연구 결과는 WTO 체제하에서 국내 양축 농가의 사료문제를 크게 해소될 수 있기 때문에 현재와 같은 IMF 한파 속에서 시련을 겪고 있는 와중에 1999년 말 개최된 뉴라운드파고를 이겨냄으로써 우리 나라의 축산업에 활로를 찾게되는 대책인 동시에 막대한 사료를 수입하는데 필요한 외화를 절약하여 국가 경제를 부흥시킬 수 있는 원동력이 될 수 있을 것이다.

따라서 본 연구는 양축 농민의 소득증대로 안정된 삶을 영위 할 수 있고, 축산 경영비의 대부분을 차지하는 조사료의 원활한 공급으로 국내 축산물의 안정된 수요 공급을 도모하며, 축산 배설물을 재활용하여 지력증진을 통해 중장기적으로 환경친화성 유기농업을 실천하는데 중요한 목적이 있다.

2. 국외 기술현황과 문제점

현재 옥수수 교잡종은 1930년대 미국에서 발전 계승하여 현재까지 50여년 동안 잡종강세를 이용한 품종의 육성과 재배법기술의 향상으로 옥수수의 수량이 크게 증가되어 온 것이 사실이다. 그럼에도 불구하고 최근들어 미국 옥수수 품종육성에 의한 증수효과는 정체성을 보이고 있는데 그 첫째 이유가 단교잡종에 의한 유전자원의 고갈 내지는 획일화라고 할 수 있다.

따라서 이와같은 이론적 배경을 토대로하여 일부연구자들은 곡실 및 청예수량을 더욱 증가시키기 위해서는 새로운 유전자원의 도입을 필요로 하게 되었고 신품종 육성을 위해서는 보다 새롭고 특이한 육종재료를 얻기 위한 노력에 집중된바 있다. 이와 같은 일련의 연구 결과를 살펴보면 현재 재배되고 있는 옥수수 교잡종은 대부분

이 한 개체에서 한 개의 이삭이 달리는 소위 one plant-one ear 이기 때문이며 이를 극복하기 위해서는 one plant-two ears 또는 many tillers-many ears가 새로운 옥수수 품종육성의 재료가 될 수 있다고 믿게 되었으며, 1970년경부터는 多穗性(prolific type)이라 하여 한 개체에 두 개 이상의 이삭이 달리는 육종재료를 수집하여 교잡종을 육성하고자하는 시도가 수행된 바 있다(Collins et al.,1965; Russell, 1968; Duvick, 1973; Hallauer,1974; Prior and Russell, 1975; Harris et al., 1976; Anderson et al., 1985).

그러나 prolific type의 옥수수를 육종재료로 이용할 경우 얻어지는 효과는 밀식재배조건하에서 흔히 나타나는 불임이삭(barren ears)의 비율을 줄이자는 것에 근거를 둔 것으로 보다 획기적 증수를 위해서는 식물학적이나 유전적인 면에서는 증수효과를 기대하기란 미흡한 점이 지적된바 있다. 따라서 Tsorsis(1972)는 보다 획기적 증수를 위한 근본적인 해결책으로 한 개체에서 많은 가지 혹은 분얼이 발생함과 동시에 많은 이삭이 달리는 多穗多蘖性 옥수수 (multiple ears and tillers; MET)에 관해 보고한 바 있으나 실제로 이같은 육종목표를 가지고 연구된 예는 없다. 이같이 multiple ears and tillers에 대해 연구가 없었던 이유로는 대부분의 옥수수 육종가들이 분얼에 대해 기생체로 간주되어 관심이 없었고 오히려 분얼은 육종과정중에 도태대상이 되어 왔다는 점과 육종과정중에 이상적인 분얼형 옥수수가 관찰되지 않았기 때문이라 할 수 있다.

결과적으로 다수다얼형인 옥수수를 육종 재료로 해서 새로운 교잡종을 육성하려는 시도는 현재까지 국내·외를 통털어 본인 등의 실험실을 제외하고는 연구 결과가 전무한 상태라고 생각되며, 다수다얼성 유전 특성에 대한 분자 수준의 연구 또한 거의 이루어지지 않고 있다. 다만 본 연구자 등이 FAO Plant Genetic Newsletter(68권)에 다수다얼성 옥수수의 육종적 가치에 대해 보고된 이후 France, India, Japan, Mexico, Pakistan, Rumania, Bhutan, Uruguay, Ghana, Philippines 등 25개국에서 이에 대한 종자를 분양 의뢰 받은 바 있다.

제 2 절 앞으로의 전망

우리 나라는 지난 5년간 연평균 8백만 톤 이상의 옥수수를 수입 해 왔고 지난해 11월까지 곡물 수입량을 봐도 전체 1천 90만톤 중 7백 55만 톤이 옥수수로써 이들 대부분의 옥수수 수입량은 사료용 곡물로 국내 양축 농가의 농후사료가 조사료로 대체되지 않는 한 수입량은 매년 증가될 전망이다. 때문에 본 연구는 국내 옥수수 조사료의 현재 자급율 38%의 생산량을 획기적으로 증수할 수 있는 사료용 옥수수를 개발하여 가축사료의 자급률을 증대시키기 위한 당면한 주요 과제라고 생각한다. 이는 사료 생산기반이 취약한 양축 농민의 선결과제인 동시에 사료곡물수입량(98년 기준 : 8,835천 톤)을 줄임으로써 상대적으로 외화를 절약할 수 있고, 나아가 식량의 안정적 공급에 기여할 것이다. 뿐만 아니라 과학적이고 점진적 육종 및 재배기술을 통해 통일 후 북한에 공급함으로 사료 자급율을 크게 개선하여 현재와 같은 북한 주민의 식량난을 해소하는데 크게 기여 할 것이다.

따라서 본 연구는 이미 보유하고 있는 다수성 옥수수 계통중에 대한 열악형질인 도복 및 하위엽고사를 방제하기 위해서 다수성 계통중에서 착수고 낮은 계통과 후기 녹체성 계통 및 반왜성 유전인자를 상호 교배하여 안정다수성 교잡종 옥수수를 선발하고 나아가 생산성검정 및 지역적응성실험을 거쳐 다수성 신품종의 옥수수를 개발함과 동시에 종자생산 방법 및 재식 밀도나 파종기등에 관한 재배기술 연구를 통해 일부 가공용을 포함해 사료의 안정적 공급으로 국가경제를 부흥시켜 복지사회 건설을 앞당기게 될 것이다. 이와 동시에 다수다얼성 돌연변이체로부터 얻은 near-isoline들을 이용하여 이들 특성으로부터 개발된 분자 마커는 지속적으로 신품종 선발 육성에 이용될 것이며, 분리된 농업적 유용 유전자들은 신품종 육성에 형질 도입 등을 통해 직·간접적으로 이용 될 것이다. 또한 가까운 시일내에 축산 조사료용 품종개발에 힘입어 수출 전략 상품으로 개발이 가능하기 때문에 이와 관련된 국내 종자 생산업체가 크게 활성화 될 것이다.

제 3 절 기술도입의 타당성

현재 연구중인 신품종 개발에 따른 집중적인 투자가 이루어진다면 국내의 사료 공급문제가 크게 향상 될 수 있다고 확신하고 부가가치성 수출전략상품으로 발전할 수 있으며, 생산비 절감을 위한 중경제초+추비+살충제겸용 관리기가 동시에 개발됨으로써 국내 축산부흥은 물론 종자생산체계가 본 연구진에 의해 전격적으로 이루어질 수 있기 때문에 외국으로부터의 기술도입이나 기술료(royalty) 사용문제 등에 따른 문제등은 전혀 고려되지 않는다. 오히려 부가가치가 높은 신품종 사료용 옥수수 종자를 해외 축산주도형 국가등에 수출할 수 있는 국내·외 경쟁력이 있는 전략용 상품으로 발전시킬 수 있는 이점이 충분히 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 안정다수성 교잡종 육성

1. 수집 및 보유계통에 대한 특성 (1년차)

국내·외로부터 수집한 유전 자원(충남대 수집 1500점, 농과원 유전자원과 분양 800점)에 대해 다수다얼계통(Multi-tiller and ears: MET) 착수고가 낮은 계통(Low ear height), 후기 녹체성 계통(Stay green), 반 왜성 계통(Semi-dwarf)을 2001년 5월 10일에 재식거리 60×30㎝에 1주1본씩으로 충남대학교 부속 농장에 파종하고 교배친에 대한 식물학적 특성, 내재해성(도복, 병충해) 및 이삭특성을 조사한 결과는 표2와 같다.

Table2. Groups and their characterstics for maize lines used in this study

Inbred lines	Group	Stem ht.	Tiller /plant	Tassel date	Ear			100K wt	leaf spot	Corn borer
					length	dia.	rows			
CN2568 ⓧ	Stay green+MET (Group I -1)	168	4.3	7/28	12	32	12	25	M	M
CN2573 ⓧ		189	3.2	7/25	8	24	10	24.5	M	M
CN2618 ⓧ		185	3.6	7/21	10	33	10	21	R	M
CN2627 ⓧ		167	4.0	7/23	13.7	41	18	23.8	R	M
CN2654 ⓧ		190	5.2	7/19	15	33.1	14	22.5	M	M
CN2680 ⓧ		181	3.9	7/21	4.1	24.2	8	23	R	M
CN2705 ⓧ		165	3.5	7/11	13	34.3	14	24.5	M	M
CN2745 ⓧ		177	3.4	7/15	11	39.4	12	23	R	S
CN2800 ⓧ		202	5.8	7/25	10.4	29.3	12	22.8	R	S
CN2849 ⓧ		178	4.6	7/14	9.8	29.2	10	24	R	M
CN2979 ⓧ		191	3.5	7/18	11.1	31.2	14	23.6	R	M
CN2983-1 ⓧ		168	3.2	7/16	12	31	12	24.1	R	M
CN2983-2 ⓧ		154	3.8	7/19	11	33	10	25	R	S
CN2984 ⓧ		190	3.6	7/25	9.4	28.1	10	22.8	R	S
CN2985 ⓧ		165	3.1	7/30	10.3	25.5	8	22.1	R	M
CN3054 ⓧ		157	5.5	7/19	13.1	28.9	14	21.9	M	M
CN3808 ⓧ		180	4.2	7/18	10.3	32.2	10	22.2	M	M
CN3818 ⓧ		195	3.5	7/25	11.2	31.9	10	23	R	S
CN3826 ⓧ		187	3.4	7/21	14.2	32.7	12	22.5	R	M
CN3919 ⓧ		166	4.6	7/20	16.4	28	8	20.2	R	S
CN4052 ⓧ		175	5.0	7/26	15	44	12	24	M	M
CN4056 ⓧ		165	3.3	7/15	13	40	14	22.7	R	M
CN4105 ⓧ		153	4.1	7/18	11.6	31.7	14	20.5	R	S
CN4107 ⓧ		195	5.2	7/22	11.1	35.7	18	20.8	R	S

(Table2. continued)

Inbred lines	Group	Stem ht.	Tiller /plant	Tassel date	Ear			100K wt	leaf spot	Corn borer
					length	dia.	rows			
CN4140 ⓧ	Stay green+MET	211	4.3	7/29	7.6	34.1	18	20	M	M
CN4151 ⓧ	(Group Ⅰ-1)	178	4.5	7/16	7	26.4	8	24	S	S
CN2656 ⓧ	Stay green+Uniculm (Group Ⅰ-2)	166	4.6	8/8	17	38	14	23.7	R	S
CN2665 ⓧ		159	3.5	7/20	14.2	38.4	14	22	R	M
CN3007 ⓧ		185	4.4	7/25	7	35	14	21.5	R	M
CN3204 ⓧ		149	4.0	7/21	10	31	12	22.1	M	M
CN3215 ⓧ		158	3.6	7/22	7	30	10	22	M	M
CN3611 ⓧ		193	3.4	7/15	15	38	12	25.1	M	M
CN3613-1 ⓧ		208	4.1	7/19	16	33	10	25.6	M	S
CN3613-2 ⓧ		211	4.5	7/21	7	34	10	24	M	S
CN3918 ⓧ		169	4.2	7/25	12	42	14	21	R	S
CN4142 ⓧ		178	4.6	7/20	9.7	35	16	19.8	R	S
CN4143 ⓧ		165	3.1	7/31	7.2	29.2	10	19.1	R	S
CN2549 ⓧ	Low eared+MET (Group Ⅱ-1)	158	3.0	8/5	11	40	14	23	R	M
CN3014 ⓧ		147	3.8	7/24	13	26	10	18	M	M
CN3047 ⓧ		184	3.4	7/20	12	28	10	19.3	M	S
CN3116 ⓧ		201	3.6	7/20	11	34.1	10	23.8	R	S
CN3821 ⓧ		159	3.3	7/25	12	30	10	25.1	R	S
CN3839 ⓧ		178	3.5	7/21	13	35	12	22.3	M	M
CN3853 ⓧ		145	2.6	7/10	12	38	10	27	R	M
CN3867 ⓧ		159	4.1	7/15	12	37	14	22.4	M	S
CN3911 ⓧ		198	4.2	7/18	16	34	10	21	M	S
CN3912 ⓧ		205	3.3	7/25	18	33	10	20.5	R	M
CN3916 ⓧ		211	3.2	7/15	14	35	12	23	R	S
CN4087 ⓧ		189	3.5	7/19	17	30	10	21.4	R	M
CN4139 ⓧ		165	3.1	7/16	12	37	14	22	M	M
CN4217 ⓧ		147	3.6	7/20	10	32	10	21	M	S
CN4218 ⓧ		180	5.5	7/29	8	40	14	24	R	S
CN4222 ⓧ		169	3.8	7/28	8	35	14	17.8	R	S
CN4235 ⓧ		201	3.7	7/24	12	40	14	22	R	S
CN4238 ⓧ		158	4.5	7/22	10	28	10	19.8	M	S
CN2798 ⓧ	Low eared+Uniculm (Group Ⅱ-2)	177	0	7/23	11	34	14	22	M	M
CN3039 ⓧ		168	0	7/25	12	33	12	20	R	M
CN3043 ⓧ		169	0	7/29	5	24	10	18.2	R	M
CN3394 ⓧ		180	0	7/28	10	32	12	26	R	S
CN3922 ⓧ		157	0	7/22	12	32	12	17.5	R	M
CN4129 ⓧ		165	0	7/23	13	42	16	17.8	M	S
CN4353 ⓧ		155	0	7/24	10	35	14	23	R	M
CN3386-1 ⓧ		182	0	7/16	12	33	12	24	R	S

(Table2. continued)

Inbred lines	Group	Stem ht.	Tiller /plant	Tassel date	Ear			100K wt	Leaf spot†	Corn borer†
					length	dia.	rows			
CN3386-2 ⓧ	Low eared+Uniculm (GroupⅡ-2)	169	0	7/21	10	29	10	22.8	M	M
CN3411 ⓧ		184	0	7/18	12	30	10	22.2	M	M
CN3686 ⓧ		190	0	7/29	9	28	12	20.7	R	M
CN3871 ⓧ		186	0	7/20	18	32	8	21.4	M	S
CN3874-1 ⓧ		154	0	7/21	17	37	12	22.3	R	S
CN3874-2 ⓧ		150	0	7/28	14	38	14	20.5	R	M
CN3963 ⓧ		165	0	7/30	13	32	10	20.1	R	M
CN3987 ⓧ		193	0	7/27	7	28	12	21.2	R	S
CN4128 ⓧ		184	0	7/22	15	37	16	22.6	R	M
CN4192 ⓧ		171	0	7/21	13	38	12	23	M	M
CN4213 ⓧ		166	0	7/23	14	40	14	23	M	R
CN4223 ⓧ		184	0	7/26	10	32	12	19.2	M	S
CN4245 ⓧ		192	0	7/16	8	33	12	18.7	M	S
CN4333 ⓧ		203	0	7/27	15	34	10	21.4	R	M
CN2678 ⓧ	MET+Low eared (GroupⅡ-3)	159	3.5	7/22	13	40	12	29	R	S
CN3686-2 ⓧ		168	3.3	7/25	11	40	12	29.4	R	S
CN4027 ⓧ		198	4.5	7/19	9	32	12	21	R	M
CN4028 ⓧ		178	3.3	7/24	12	32	8	23	M	M
CN4071 ⓧ		202	2.3	7/29	13	33	12	22	R	R
CN4072 ⓧ		215	4.0	7/20	10	34	12	24	M	M
CN4073 ⓧ		196	5.2	7/25	9	26	12	17.8	M	S
CN4106 ⓧ		188	4.3	7/23	15	44	16	22	R	M
CN4137 ⓧ		160	3.7	7/19	13	36	14	21.3	R	S
CN2758 ⓧ	Semi-dwarf(GroupⅢ-1)	162	3.6	7/27	10	24	8	21.1	M	S
CN2793 ⓧ		158	3.6	7/26	11	29	10	22	M	S
CN2794 ⓧ		191	4.5	7/31	12	30	10	21.3	R	M
CN3432 ⓧ		166	4.0	7/20	12	34	12	20	M	R
CN3854 ⓧ		182	4.5	7/22	12	18	8	17.2	M	S
CN3893 ⓧ		145	4.4	7/24	10.2	35.8	12	23	R	M
CN4164 ⓧ		165	3.4	7/20	6	28	10	17.5	M	S
CN4165 ⓧ		182	3.5	7/16	15	34	10	18.2	M	S
CN2701 ⓧ		144	2.8	7/18	5	30	14	22	M	S
CN3887 ⓧ		169	3.1	7/19	12.1	33.9	10	27.2	R	M
CN3886 ⓧ		187	3.0	7/20	9.2	28.2	8	24	M	R
SK-1 ⓧ	Stay green+Uniculm (GroupⅢ-2)	212	0	7/25	15	46	14	26.2	R	R
SK-2 ⓧ		132	0	7/23	12	32	12	32.4	R	R

† R : Resistant, M : Intermediate, S : Susceptible

2. 계통군간 교잡종 육성

조사료용 옥수수 교잡종 육성을 위해 주관 및 협동기관에서 현재까지 육성된 자식계통을 상호 교배하여 얻은 F_1교잡종은 표3과 같다.

Table 3. Characteristics of F_1 hybrids crossed among CNU and SK lines

Cross Combination	Ear		No. of rows	Corn borer(ear)	No. of kernel	Kernel types
	length	diameter				
CNU2541xSK2	16	38	12	M	123	flint
CNU2541xSK4	14	38	12	M	154	flint
CNU2556xSK1	11.4	27.7	8	M	145	dent
CNU2560xCNU4245	10	31	10	M	130	flint
CNU2565xCNU3385	12	37	14	M	187	flint
CNU2568xSK1	12	32	12	R	151	flint
CNU2573xCNU2790	11	32	12	M	125	flint
CNU2573xCNU2995	12	37	14	R	202	flint
CNU2573xCNU3262	12	38	14	R	160	flint
CNU2577xCNU2715	10	32	12	R	210	flint
CNU2578xCNU2578	11	32	12	R	120	flint
CNU2582xCNU4245	9	31	12	R	110	flint
CNU2592xCNU4164	12	36	12	R	141	flint
CNU2618xCNU2665	11.9	31.8	16	R	170	flint
CNU2618xCNU2680	10	32	12	R	103	flint
CNU2627xSK1	11	30	12	R	155	flint
CNU2644xCNU2715	10	37	14	R	150	flint
CNU2645xCNU2715	12	32	12	R	152	flint
CNU2627xCNU3007	13.4	35.2	14	M	165	dent
CNU2695xCNU3867	6.2	33.2	16	R	112	flint
CNU2696xCNU2828	4.6	31.1	10	R	101	flint
CNU2701xCNU3011	5	30	14	R	103	flint
CNU2704xSK1	12	32	12	R	150	flint
CNU2713xCNU4245	11	30	12	R	130	flint
CNU2716xCNU3385	13	46	16	R	172	flint
CNU2716xCNU3386	11	44	14	R	111	flint
CNU2716xSK1	10	46	16	R	201	flint
CNU2737xCNU3429	8	34	8	R	101	flint
CNU2774xCNU2697	12	27	8	R	121	flint
CNU2774xCNU4245	11	30	8	R	104	flint
CNU2780xCNU4165	13	38	12	R	195	flint
CNU2781xCNU3821	12	35	10	R	106	flint
CNU2794xCNU2999	11	26	8	R	110	flint
CNU2794xCNU3396	12	30	8	R	112	flint
CNU2796xCNU2783	12	28	10	R	160	flint
CNU2798xSK1	9	38	14	R	104	flint
CNU2798xSK3	13.2	29.8	12	R	144	flint
CNU2799xCNU2868	10	38	12	R	101	flint
CNU2836xCNU3867	9	30	12	R	105	flint
CNU2858xCNU3867	11	30	12	R	165	flint

(Table3. continued)

CNU2864xCNU3867	10	24	12	R	140	flint
CNU2910xCNU4245	11	34	10	R	101	flint
CNU2794xSK1	12	36	12	R	146	flint
CNU2940xCNU4164	10	24	8	R	105	flint
CNU2977xCNU2644	11	40	12	M	110	flint
CNU2977xCNU4165	13	44	12	R	141	flint
CNU2996xCNU2920	12	45	14	R	154	flint
CNU3003xCNU2793	12	34	12	R	110	flint
CNU3046xCNU3385	10	27	12	R	140	flint
CNU3047xCNU2728	9	30	12	R	110	flint
CNU3054xSK1	10	32	14	R	121	flint
CNU3082xCNU4218	11	35	14	R	113	flint
CNU3014xCNU2678	13	32	10	R	130	flint
CNU3320xSK1	12	41	16	R	201	flint
CNU3389xCNU2977	9	34	12	R	109	flint
CNU3385xCNU2696	13	42	14	M	163	flint
CNU3385xCNU2715	13	42	12	M	112	flint
CNU3385xCNU2828	10	42	14	R	101	flint
CNU3385xCNU3818	12	43	14	M	170	flint
CNU3385xSK1	12	40	12	R	105	flint
CNU3386xCNU3381	9	36	12	M	103	flint
CNU3387xCNU3342	13	42	12	R	154	flint
CNU3393xCNU4245	11	33	14	M	162	flint
CNU3429xSK1	11	40	14	M	121	flint
CNU3432xSK1	12	34	12	M	120	flint
CNU3613xCNU3867	10	32	12	R	101	flint
CNU3613xCNU4245	14	38	14	R	174	flint
CNU3747xCNU3509	15	40	14	M	195	flint
CNU3811xCNU3386	13	46	16	M	165	flint
CNU3813xCNU3341	16	42	14	R	184	flint
CNU3820xSK1	17	42	14	M	161	flint
CNU3821xCNU2792	12	32	10	R	134	flint
CNU3821xCNU3910	12	32	10	R	121	flint
CNU3821xCNU4245	12	33	8	R	111	flint
CNU3853xCNU3916	14	33	12	M	181	flint
CNU3910xCNU3794	11	31	10	M	174	dent
CNU3910xCNU3794	10	28	12	M	210	flint
CNU3987xSK1	8	44	14	R	174	dent
CNU3988xSK2	12	33	10	M	101	flint
CNU4028xCNU3910	16	41	16	M	210	flint
CNU4217xSK1	12	38	14	R	201	flint
CNU4222xSK1	12	40	16	R	195	flint
CNU4223xSK1	10	38	14	M	131	flint
CNU4333xCNU3785	13	34	12	R	205	flint
SK1xCNU3987	17.6	38.6	14	R	210	flint
SK1xCNU4210	15.9	41.2	18	M	230	flint
SK1xCNU4220	14.1	44.3	16	R	251	flint
Mean	11.8	37.5	13.2		134.6	

각 계통군별 상호 교배에 의해 얻어진 이삭당 립수가 100립 이상되는 조합수에 대한 이삭특성을 살펴보면 평균 이삭길이는 11.8cm이었으며, 이삭직경은 37.5cm, 이삭열수는 13.2, 평균 이삭당 립수는 134.6으로 나타났다.

또한 이들 교배된 이삭에 대한 수확시 조명나방에 대한 피해는 저항성 내지 중간형을 보였으며 대부분 이삭형태는 경립종으로 나타났다.

상기 이들 모든 조합에 대해 충남대학교 부속농장에 2002년 5월초에 파종하였으며, 이들 중 약 30-50조합은 제 2협동기관인 작물시험장과 지역적응성 확대를 위해 남부지방(밀양)에 보급하였다.

3. 생산성 및 지역적응성 검정

1) 재료 및 방법

본 실험에 공시된 자식계통은 충남대학교에서 육성한 CNU계통과 작물시험장에서 육성한 SK계통을 상호 교배하여 얻은 150여 교잡종에 대해 전년도 시험에서 우수하다고 인정된 70개의 교잡종을 수원·밀양 및 대전에 휴간 60㎝에 주간 30㎝로하여 난괴법 3반복으로 4월중순 내지 5월초에 각각 파종하였다.

시비량은 옥수수 표준 경종법에 의한 질소, 인산, 가리를 10a당 20-10-10㎏으로 질소의 반량은 기비, 나머지 반량은 추비로 하고 기타 인산과 가리는 경운시 전량 기비로 사용하였다.

병충해 방제는 생육초기에 살충제(이피엔 1000배액) 1회와 중기에 후라단 입제를 10a당 2㎏을 살포하였으며, 관수시설에 의해 생육을 조장하였다.

조사항목은 기본영양생장기에 간장과 주당 분얼수를 조사하였고 생식생장기에 개화기와 조명나방피해정도 그리고 수확기에 도복, 생체중, 건물중, 종실수량 및 후기녹체성을 각 지역별로 조사하였다.

2) 교잡종에 대한 주요특성

■ 중부지역(대전)

Table4. Agronomic characteristics of hybrids planted at Daejeon

Planting date : May 20

Work No.	Cross Combination	Tassel data	Tiller/ plant	Stem ht.(㎝) (a)	Ear ht.(㎝) (b)	Lodging (1-9)†	Leaf spot (1-9)†	Leaf blight (1-9)†	Corn borer (1-9)†
3	2568×작1	7/23	0	235	115	1	1	1	1
15	2627×3007	7/20	2	315	175	1	1	2	1
37	2618×2680	7/10	0	204	101	1	3	1	3
42	3014×2678	7/16	4	210	110	1	3	1	4
67	2798×SK1	7/20	3	300	170	1	1	1	3
78	2664×SK1	7/18	2	300	150	1	1	1	2
88	2913×SK1	7/14	3	280	160	1	1	1	1
116	SK1×4220	7/8	3	280	165	1	1	1	1
119	2854×3004	7/12	2	220	88	1	1	1	1
127	3010×SK1	7/21	3	270	165	1	2	1	2
130	3198×4210	7/18	0	350	175	1	2	1	1
144	3606×2870	7/20	3	270	155	1	1	1	1
check	Kwangdaok	7/21	0	272	150	1	1	1	1

(Table4. continued)

Work No.	Cross Combination	Stay green (1-9)‡	Growth state (1-5)‡	Dry wt. /10a (㎏)	Fresh wt. /10a (index)	Ears /10a	K. wt/10a (index)	Stability(%) b/a
3	2568×SK1	3	3.5	3332	8300 (109)	9520	843 (159)	49
15	2627×3007	4	4	3332	97580 (128)	9520	876 (165)	56
37	2618×2680	5	3	2618	6902 (91)	9520	866 (163)	50
42	3014×2678	4.7	3	2856	7378 (97)	23800	719 (135)	52
67	2798×SK1	4.5	3	3332	11900 (156)	14280	443 (83)	57
78	2664×SK1	5	3	3332	7140 (94)	4760	715 (134)	50
88	2913×SK1	5	3	2142	8092 (106)	9520	734 (138)	57
116	SK1×4220	5.5	3	2856	8092 (106)	14280	490 (92)	59
119	2854×3004	6	3.5	2142	3808 (97)	14280	706 (133)	40
127	3010×SK1	5	3	2856	5712 (75)	9520	802 (151)	61
130	3198×4210	5	3	2618	5474 (72)	4760	705 (133)	50
144	3606×2870	5	3	2856	7616 (100)	14280	696 (131)	57
Check	Kwanganok	3	3	2380	7616 (100)	4760	532 (100)	55

† 1: resistant, 9: susceptible ‡ 1: good, 9: bad

■ 중북부지역(수원)

Table5. Agronomic characteristics of hybrids planted at Suwon

Planting date : May 5

Work No.	Cross Combination	Tassel data	Tiller/ plant	Stem ht.(㎝) (a)	Ear ht.(㎝) (b)	Lodging (1-9)	Leaf spot (1-9)†	Leaf blight (1-9)†	Corn borer (1-9)†
3	2568×SK1	7.2	2.7	215	109	1	1	1	5
4	2573×2995	7.4	2.3	193	93	3	1	1	5
8	2577×2715	7.1	2.8	205	96	3	1	1	5
13	2618×2665	7.8	2.5	220	98	1	1	1	3
15	2627×3007	7.10	4.2	223	95	1	1	1	3
17	2704×SK1	7.2	2.1	199	98	3	3	1	5
26	2800×SK1	7.5	2.3	227	109	1	1	1	5
37	2618×2680	7.5	3.5	215	93	1	1	1	3
42	3014×2768	7.9	4.0	227	101	3	3	1	3
55	3808×SK1	7.1	2.5	201	93	1	1	1	1
65	3054×SK1	7.3	1.6	231	97	1	1	1	3
67	2798×SK1	7.3	1.8	228	102	1	1	1	3
68	4224×3785	7.1	2.8	214	103	1	1	1	3
Check	Kwanganok	7.3	1.0	220	98	1	1	1	3

(Table5. continued)

Work No.	Cross Combination	Stay green (1-9)‡	Growth state (1-5)‡	Dry wt./10a (kg)	Fresh wt./10a (index)	K. wt/10a (index)	Stability(%) (b/a)
3	2568×SK1	3	2.5	3140	9530 (129)	768 (106)	50.1
4	2573×2995	5	3.6	3007	8364 (113)	795 (110)	48.2
8	2577×2715	5	4	3104	9362 (126)	785 (109)	46.8
13	2618×2665	3	3	3119	9427 (127)	764 (106)	44.5
15	2627×3007	3	3	3233	10721 (145)	829 (115)	42.65
17	2704×SK1	3	3.5	3015	9627 (130)	736 (102)	49.2
26	2800×SK1	3	2.7	3104	8722 (118)	735 (102)	48.0
37	2618×2680	3	3	2918	7893 (107)	783 (108)	43.3
42	3014×2768	3.5	3	3745	14118 (191)	787 (109)	44.5
55	3808×SK1	3	3	3108	8740 (118)	776 (107)	42.0
65	3054×SK1	3	1	3275	11827 (159)	838 (116)	41.2
67	2798×SK1	3	3	3408	13028 (176)	821 (114)	44.7
68	4224×3785	5	3	3314	12083 (163)	774 (107)	48.1
Check	Kwanganok	3	1	2209	7408 (100)	723 (100)	44.5

† 1: resistant, 9: susceptible ‡ 1: excellent, 9: poor

■ 남부지역(밀양)

Table6. Agronomic characteristics of hybrids planted at Milyang

Planting date : May 13

Work No.	Cross Combination	Tassel data	Tiller/ plant	Stem wt.(㎝) (a)	Ear ht.(㎝) (b)	Lodging (1-9)	Leaf spot (1-9)	Leaf blight (1-9)	Corn borer (1-9)
3	2568×SK1	7/13	3.2	210	118	1	1	1	3
4	2573×2995	7/13	2.8	158	92	1	1	1	5
8	2577×2715	7/9	3.2	209	98	1	2	1	3
13	2618×2665	7/5	2.4	218	120	1	2	1	3
15	2617×3007	7/10	3.3	210	115	1	2	1	4
17	2704×SK1	7/6	2.6	205	110	2	3	1	4
18	2716×3386	7/8	2.8	200	98	1	3	1	4
21	2716×SK1	7/6	1.5	240	127	1	1	1	3
26	2800×SK1	7/12	2	231	118	1	1	1	3
33	2983×SK1	7/10	1	200	112	1	1	1	3
37	2618×2680	7/3	2.5	202	94	1	3	1	3
42	3014×2678	7/6	3.5	212	105	1	3	1	4
45	3385×2715	7/11	2.7	199	82	1	3	1	3
52	3432×SK1	7/10	1	220	114	1	1	1	3
55	3808×SK1	7/6	2	202	95	1	1	1	3
62	3987×SK1	7/8	1.8	240	155	1	1	1	3
65	3054×SK1	7/10	2	220	105	1	1	1	3
67	2798×SK1	7/10	1.6	241	126	1	1	1	3
68	4224×3785	7/5	2.5	206	105	1	2	1	3
Check	Kwanganok	7/11	1.2	209	112	1	2	1	3

(continued)

Work No.	Cross combination	Stay green (1-9)	Growth state (1-5)	Dry wt. /10a (kg)	Fresh wt. /10a (index)	Ears /10a	K. wt /10a (index)	Stability (%) b/a
3	2568×SK1	6	4	3387	8406 (108)	9410	838 (110)	56
4	2573×2995	7	5	3418	9502 (122)	11232	941 (123)	58
8	2577×2715	6	4	3075	7828 (101)	10272	885 (116)	47
13	2618×2665	5	3	2753	7421 (95)	8335	728 (95)	55
15	2627×3007	6	4	3406	8528 (109)	9307	864 (113)	55
17	2704×SK1	6.5	4	3514	9646 (124)	8645	795 (104)	54
18	2716×3386	5	3	3608	9836 (126)	8722	804 (105)	49
21	2716×SK1	4	3	3065	8824 (113)	8327	784 (103)	53
26	2800×SK1	3	3	3521	9129 (117)	9735	872 (114)	51
33	2983×SK1	5.5	3	3108	7632 (98)	7485	725 (95)	56
37	2618×2680	5	3.5	2714	7028 (90)	9004	853 (112)	47
42	3014×2678	5	3	3849	10526 (135)	18032	983 (129)	50
45	3385×2715	5	3.5	2814	7120 (91)	18006	976 (128)	42
52	3432×SK1	5	3	3008	9066 (116)	12317	854 (112)	52
55	3808×SK1	5	4	2894	8864 (116)	9841	865 (113)	47
62	3987×SK1	4	3	3175	9348 (120)	8656	843 (110)	64
65	3054×SK1	4	4	3620	9590 (123)	9874	874 (115)	48
67	2798×SK1	3	3	3450	8826 (113)	13206	890 (117)	52
68	4224×3785	3	4	3528	9139 (117)	8641	859 (113)	51
Check	Kwanganok	3	3.5	3532	7804 (100)	7859	763 (100)	54

- 제2협동기관(작시)과 남부(밀양)지역에 공통으로 분양한 70개 교잡종 이외에 주관연구기관인 충남대에서는 가능한 많은 F1조합을 공시하고자 70조합 이외에 80조합을 1차와 2차에 걸쳐 파종한 결과 각 지역으로부터 총 12개의 우량조합을 1차 선발하였으며 이들 결과는 다음과 같다.

① 내재해성으로 병·충해정도를 살펴보면 일부 조합에서 경미하게 깨씨무늬병(leaf spot)이 발견되었으나 매문병(leaf blight)의 발생은 거의 없었다. 그러나 조명나방에 대한 피해서 다소 지적되어 강한 조합을 중심으로 반복시험(3년차)이 수행되어야 할 것이다.

② 다수확 교배조합으로 10a당 청예수량을 대조구인 광안옥을 중심으로 살펴보면 공시번호 67번과 15번에서 28~56%의 증수를 보였으며, 종실수량 역시 공시번호 15번, 42번 등에서 30%이상의 수량이 증대되었다.

③ 안정성에 대한 경우는 대부분이 교배조합에서 50~60%정도의 값으로 간장과 착수고의 비율이 새로 육성된 교잡종들에 있어 매우 안정성을 보였으며, 이는 도복이 거의 나타나지 않는 것으로도 확인되었다.

④ 남부지역에 대한 지적내지 생산성 검정을 병행 실시한 밀양지방의 시험 결과는 다음표와 같이 내재해성의 경우 중부지역에서와 같이 조명나방의 피해가 대부분 교배조합에서 약간씩 나타났고 깨씨무늬병이 일부 지역에서 나타났으나 매문병은 강한 것으로 나타났다.

⑤ 건물 및 생체수량은 대조구인 광안옥에 비해 공시번호 18번, 42번에서 재식밀도를 60×30㎝으로 실시함으로써 종래 분얼형 옥수수의 경우 70×30㎝ 혹은 70×40㎝으로 소식하는 것이 바람직하다고 한 실험 내용과의 차이라고 생각되며 종실중 역시 같은 결과를 보였다.

⑥ 안정성 경우에는 공시조합 대부분이 중부지역보다 낮게 나타나 도복에 의한 피해를 크게 줄일 수 있을 것으로 본다.

1) 유전력

공시된 F_1조합(대전 150조합, 수원·밀양 70조합)중에서 식물학적 특성, 내재해성, 후기녹체성, 안정성, 생체 및 종실수량이 우수하다고 선발된 지역당 10개체씩 총 30여개의 F_1조합에 대한 광의의 유전력을 살펴본 결과 표7과 같이 간장, 착수고, 개화기, 이삭길이 및 100립중에서 비교적 높은 값을 뵌 반면 주당분얼수, 건물중 및 수량에서는 다소 낮은 값을 보여, 이들 수량증수를 위해서는 교배친의 선정이 매우 중요할 것으로 생각되었다.

Table7. Heritabilities(h^2B) for major characteristics of parent planted at Daejeon

Characteristics	h^2B	Characteristics	h^2B
Stem height	77.3	Dry wt.	27.8
Ear height	65.4	Ear dia.	37.8
Tillers/plant	15.7	Ear length	63.7
Flowering date	23.5	100 K..wt.	58.3
Fresh wt.	27.9	Yield	32.5

Planting date : May 20, 2002

2) 조합능력 검정

우수 교배친으로 선정된 7개의 교배친 자식계통과 이들 교잡종에 대한 조합능력검정 결과는 표8과 같이 교배친과 특성에 따라 GCA와 SCA효과가 매우 상이한 것으로 나타났다.

간장, 착수고에 대한 GCA효과는 교배친 CNU2677, CNU3007과 CNU2798계통에서 높았고, 이삭길이는 CNU2798에서 높게 나타났으며, 이들 계통과 교배된 교잡종에서 SCA효과가 역시 높은 것으로 나타났다.

Table8. Effects of general combining ability(GCA) and specific combining ability(SCA) for major characteristics in parents and their hybrids.

Parent and cross	Characteristics					
	Plant ht.	Ear ht.	Tiller /plant	Stem dia.	Ear length	100 k. wt.
			GCA effects			
A. CNU 2618	-9.94**	-7.64**	0.08	0.08	-0.89	0.25
B. CNU 2627	17.33**	14.03**	-0.08	0.03	-0.11	0.13
C. CNU 3014	-2.50	-7.08**	0.08	-0.08	1.28	1.06
D. SK1	-4.89*	0.69	-0.08	-0.03	-0.26	-1.45
E. CNU 2665	8.92*	2.08	0.05	0.09	3.08*	1.62
F. CNU 3007	13.02**	3.75*	0.21	0.41	7.42*	3.67*
G. CNU 2798	9.23**	15.73**	0.32	-0.73	9.45**	8.32**
			SCA effects			
A X B	20.08**	23.98**	-0.03	0.08	-0.80	1.74
A X C	21.91**	8.42**	-0.87	0.32	0.78	0.87
A X D	24.63**	14.31**	-0.03	0.34	2.38	2.35
A X E	19.27**	11.08**	-0.17	0.27	3.95**	3.85**
A X F	2.07	1.75	0.05	0.25	2.75	2.71
A X G	3.18*	2.31	0.13	0.23	3.14	2.45
B X C	36.30**	16.76**	-0.37	0.58	0.76	2.43
B X D	22.69**	2.64	0.13	0.53	0.60	3.24*
B X E	2.25	3.20	-0.21	0.17	2.34	2.49
B X F	13.25**	6.81**	-0.72	0.29	3.31*	2.75**
B X G	2.08	1.75	0.19	0.30	1.75	3.01
C X D	-6.48**	-6.24**	-0.37	0.47	-0.49	3.17*
C X E	3.01	2.92	0.32	0.18	2.24	2.81
C X F	-2.47	3.17	-0.45	0.21	1.82	3.02
C X G	4.08*	3.04	0.77	0.30	3.39*	3.41*
D X E	3.12	2.15	0.21	0.25	2.74	2.70
D X F	20.18**	8.23**	0.39	0.31	3.83**	3.49*
D X G	2.84	3.17	-0.40	0.16	1.88	2.15
E X F	-2.71	3.40*	0.23	0.15	2.75	3.04
E X G	4.15*	2.71	-0.41	0.24	3.04	3.22
F X G	3.81*	3.01	0.58	0.17	2.75	3.18

*, **; Singnificant at 5% and 1% levels, respectively.

3) 잡종강세

공시된 교잡종에 대한 3지역(대전, 수원, 밀양)에서 선발된 우수 교잡종에 대한 잡종강세를 중요 농업관련 형질에 대해서 살펴보면 표9와 같이 대부분의 특성이 주당 분얼수를 제외하고 각 지역에 관계없이 높게 나타났는데 주당 분얼수의 경우 부(-)의 값을 보인 것은 교배친중 한쪽친을 무얼성 계통으로 사용하여 유효 분얼수의 값을 높히기 위한 시도로써 그 결과 평균 분얼수를 2~3로 고정하는데 성공할 수 있었으며, 따라서 이와 같은 결론은 특히 분얼형 옥수수 품종을 육성하는데 매우 바람직한 결과라고 생각한다.

Table9. Heterosis for major agronomic characteristics of hybrids planted at three regions.

Characteristics / Hybrids no.	Stem height	Ear height	No. of tillers	Days to tassel	Fresh wt.	100K wt.	Yield
			Daejeon(60×30㎝)				
3	18.7	19.3	17.8	17.5	57.6	23.2	57.3
15	31.1	39.5	9.1	19.7	61.5	39.6	63.5
37	16.8	22.8	11.7	19.3	69.0	26.2	68.7
42	35.3	40.2	11.3	25.8	65.3	40.2	71.8
67	21.2	22.8	10.5	7.7	58.7	20.5	60.5
78	25.9	27.6	-20.5	4.3	63.5	30.1	48.1
88	32.2	42.1	-13.9	8.4	55.9	38.9	55.2
116	19.5	27.8	-16.8	10.5	64.2	34.1	47.5
119	25.5	38.4	-15.3	17.7	50.6	40.2	36.8
127	22.3	19.3	-10.2	13.2	53.1	29.8	41.1
130	28.1	29.4	-8.5	20.6	51.4	32.7	54.7
144	35.4	20.5	-12.5	22.2	49.8	25.3	50.6
			Suwon(60×30㎝)				
13	12.8	6.4	18.9	17.6	64.5	26.4	47.5
18	15.6	2.7	11.6	23.1	70.3	31.6	62.5
21	20.8	11.4	9.2	18.4	64.1	25.4	50.9
26	19.3	21.1	-14.6	19.7	57.3	39.6	41.8
42	20.5	11.4	27.0	10.2	66.8	20.2	60.5
52	19.3	16.6	-8.9	17.2	53.4	16.5	55.8
55	20.5	33.8	4.3	14.3	61.8	24.8	61.2
62	26.1	32.9	13.9	16.9	50.9	40.5	54.3
65	18.6	16.4	-10.2	21.7	67.2	18.7	60.6
67	16.4	9.7	-21.7	7.4	53.6	19.2	44.7
70	30.4	21.3	-24.7	10.9	48.1	22.8	39.5
			Milyang(60×30㎝)				
3	23.5	20.2	11.8	15.2	49.5	30.5	50.2
13	20.4	11.4	20.9	24.8	55.2	22.9	45.7
15	18.7	24.5	19.0	14.2	60.3	36.5	37.5
17	24.6	21.7	31.2	26.9	51.9	40.2	44.8
18	18.4	17.2	24.5	10.8	53.3	30.9	28.5
26	27.2	14.5	-12.1	15.3	50.2	22.7	33.4
37	20.9	15.8	26.8	22.4	44.6	30.2	26.8
42	36.2	22.5	24.2	19.8	60.5	27.5	41.6
45	25.7	13.2	20.5	17.2	59.4	22.4	37.4
52	22.5	10.5	-10.3	8.4	48.0	30.2	33.6
65	31.7	15.4	-9.7	20.2	51.5	19.6	42.6
67	25.4	27.3	-16.2	16.9	53.2	22.4	49.1
68	18.7	24.5	-14.2	21.7	60.6	25.7	41.5

$$Heterosis(\%) = \frac{F_1 - 1/2(P_1 + P_2)}{1/2(P_1 + P_2)} \times 100$$

4) 상관관계

- 주관연구기관으로부터 1차년도에 생산된 F_1교배종중 각 지역으로부터 우수 조합으로 선발된 30여개의 조합에 대해 유전상관을 살펴본 결과 간장고는 착수고, 생체중, 건물중, 수량간에 정의 상관이 높았고, 주당분얼수와는 생체중, 건물중 및 수량간에 고도의 정의 상관 관계를 보였으며, 생체 및 건물중은 수량과 밀접한 관계를 보여 유전력이 높고, 농업형질이 우수한 교배친의 선정으로 조사료용과 종실겸용의 육성 가능성이 높았다.

Table10. Genotypic correlation coefficients between agronomic characteristics for F_1 hybrids planted at three regions.

Characteristics	Ear hight	Flowering	Tilles/ plant	Fresh wt.	Dry wt.	Yield
Stem height	a) 0.734**	-0.052	-0.137	0.867**	0.340	0.438*
	b) 0.532**	-0.172	-0.106	0.741**	0.375	0.396
	c) 0.642**	-0.140	-0.067	0.572**	0.451*	0.471*
Ear hight		0.387	-0.127	-0.739**	-0.514**	0.412*
		0.319	-0.235	-0.673**	-0.587**	0.348
		0.278	-0.578	-0.573**	-0.623**	0.419
Days to tasseling			0.496*	-0.495*	0.297	0.493
			0.374	-0.475*	0.375	0.517*
			0.279	-0.565*	0.472	0.487*
Tillers /plant				0.682**	0.534**	0.791**
				0.743**	0.623**	0.684**
				0.715**	0.574**	0.657**
Fresh wt.					0.702**	0.771**
					0.754**	0.574**
					0.678**	0.471*
Dry wt.						0.590**
						0.487*
						0.498*

a) Daejeon, b) Suwon, c) Milyang

*,** : Significant at 5% and 1% levels, respectively.

3. 선발된 교잡종의 생육 및 수량

본 실험에 공시된 교잡종은 2년차(2000년) 실험결과에서 우수한 교잡종을 2~3개씩 선발한 6개 교잡종을 대전(중부), 수원(중북부), 밀양(남부) 3개지역에 대조구인 광안옥과 함께 공시하였다. 파종기는 각 지역의 기상조건을 감안하여 다소 차이를 보였는데 대전 지역은 5월 15일, 수원은 5월 5일 그리고 밀양은 5월 17일에 구당 2립씩 점파한 후 발아후 20일경에 1개체씩만 남기고 솎아주었다. 재식밀도는 70㎝×30㎝로 하였고, 각 조합당 5열씩 3반복으로 파종한 후에 조서해 피해를 없애기 위해 방조망을 설치하였다. 시비량은 옥수수 표준경종법에 준하여 질소-인산-가리를 10a당 20㎏-15㎏-15㎏과 퇴비 1500㎏을 파종전에 시용하고, 추비로 질소 10㎏을 2회에 걸쳐 분얼성기와 개화기전에 중경제초와 함께 분시하였다. 병충해 방제를 위해 후라단 입제를 10a당 2㎏씩을 2회에 걸쳐 살포하였고, 등숙기에는 방제를 위해 살충제를 1회 추가하였다. 조사항목은 영양생장기에 주당분얼수를 조사하고, 개화기에는 출웅소요일수, 간장, 경태, 착수고를 조사하고 도복안정성을 비교하기 위해 간장에 대한 착수고의 비율 즉, 착수고율을 조사하여 저착수고 교잡종 선발 기준으로 이용하였다.

단위면적당 생체중을 조사하기 위해 개화후 25일경(호숙기)에 품종당 3반복으로 3개체씩을 예취하여 줄기와 잎 그리고 이삭부분을 분리하여 측정한 후 이들 시료는 70℃건조기에 72시간 건조 후 건물중을 조사하였으며, 종실수량은 황숙기에 교잡종당 3개체를 수확한 후 건조기에 완전 건조 후 이삭중을 측정하였다.

내재해성 관련 특성으로 도복율은 개화기에 조사하고 조명나방, 깨씨무늬병, 매문병은 등숙기에, 후기녹체성 정도는 등숙기에 하위엽 고사정도에 따라 작물시험장 옥수수 특성 평가 기준에 의해 조사하였다.

가. 교잡종 생육 상황

2002년에 선발된 공시 교잡종에 대한 식물학적 특성을 비교분석한 결과는 표11과 같다.

Table11. Biological characteristics of hybrids selected at three regions

Character / Hybrids	Stem ht.(a) cm	Ear ht.(b) cm	b/a (%)	Stam dia. mm	Days to tasseling day
Daejeon (May 15)					
CNU2618×CNU2665 (A)	243.3	95.7	39.3	30.6	65
CNU2627×CNU3007 (B)	227	71.7	31.6	23.8	67
CNU2618×CNU2680 (C)	232.7	77.6	33.3	31.2	63
CNU3014×CNU2768 (D)	226.3	88.0	28.9	23.4	69
CNU3054×SK1 (E)	238.7	107.3	44.9	23.7	65
CNU2798×SK1 (F)	225.3	98.3	43.6	23.1	61
Check (Kwanganok)	228.3	84.3	36.9	24.4	63
Suwon (May 5)					
CNU2618×CNU2665 (A)	238.4	98.4	41.2	30.2	61
CNU2627×CNU3007 (B)	225.6	78.1	34.6	24.7	65
CNU2618×CNU2680 (C)	228.4	74.2	32.5	31.4	61
CNU3014×CNU2768 (D)	220.7	92.5	41.9	25.5	64
CNU3054×SK1 (E)	227.5	103.6	45.5	24.8	62
CNU2798×SK1 (F)	223.1	100.2	44.9	27.2	60
Check (Kwanganok)	222.3	95.3	42.8	25.2	61
Milyang (May 17)					
CNU2618×CNU2665 (A)	236.5	97.4	42.3	29.8	62
CNU2627×CNU3007 (B)	274.1	84.7	30.9	23.5	65
CNU2618×CNU2680 (C)	234.2	90.5	38.6	30.6	62
CNU3014×CNU2768 (D)	222.7	94.6	42.4	26.7	68
CNU3054×SK1 (E)	235.4	98.7	43.8	25.1	67
CNU2798×SK1 (F)	230.6	101.2	43.9	29.3	60
Check (Kwanganok)	231.2	97.9	42.3	26.8	63

간장 : 공시 교잡종에 대한 식물학적 특성으로 간장은 Ⓐ의 경우 대전과 수원에서 대조구인 광안옥보다 15㎝, 16㎝가 컸으나, 밀양에서는 5㎝가량 컸고, Ⓒ교잡종은 대조구보다 모든 지역에서 5㎝가량 컸으며, Ⓔ와 Ⓕ는 대조구와 비슷하였다.

착수고 : 착수고율(착수고/간장×100)은 공시종과 지역에 따라 차이를 보였는데 일반적으로 간장의 크기에 따라 착수고가 높다는 보고와는 달리 간장의 크기에 관계없이 Ⓐ, Ⓒ의 경우 40%의 착수고율을 보였고 Ⓔ와 Ⓕ역시 45% 미만의 착수고율을 나타냄으로써 신품종 육성시 도입된 저착수고 계통에 의한 육종효과가 크게 나타났다.

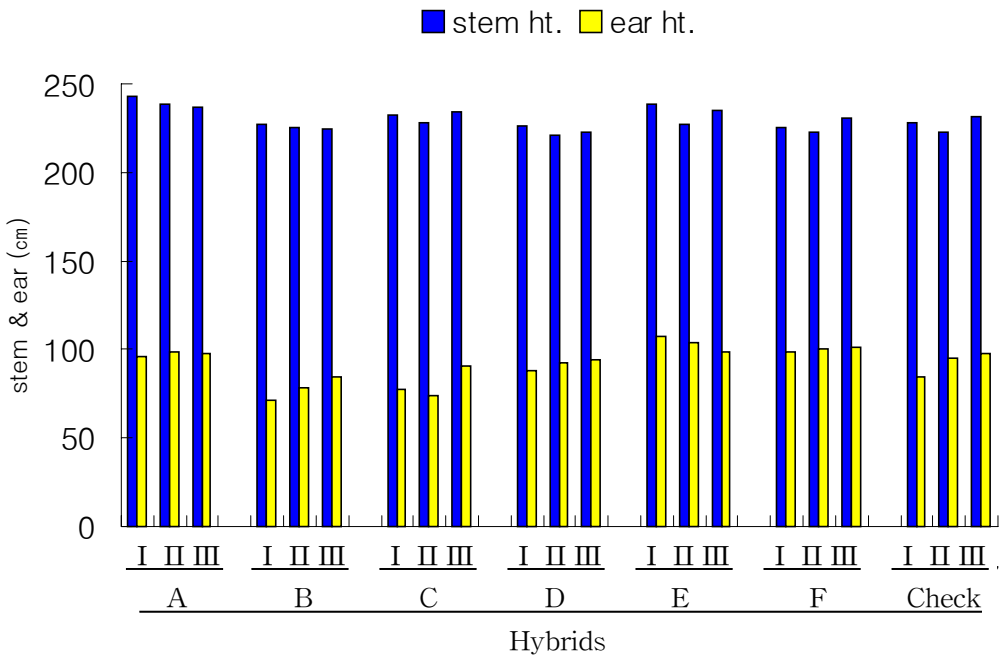

Fig 1. Comparision of stem and ear height of seven hybrids planted at three regions in 2003

Remarks : A : cnu 2168×cnu 2665 B : cnu 2627×cnu 3007
C : cnu 2618×cnu 2680 D : cnu 3014×cnu2678
E : cnu 3054×SK 1 F : cnu 2798×SK 1
Ⅰ: Daejeon, Ⅱ: Suwon, Ⅲ: Milyang

이러한 결과 현재 추진되고 있는 착수고율을 50%정도로 낮추고자하는 옥수수 육종 목표에 크게 만족할 만한 값으로 특별한 기상이변이 없는한 도복에 대한 피해경감은 크게 개선된 결과로 나타났다.

개화기 : 공시교잡종의 개화기는 대조구와 비슷하거나 다소 늦은 경향을 보였는데. 특히 분얼형 교잡종인 Ⓑ와Ⓓ의 경우 영양생장이 길고 생식생장이 늦을수록 후기녹체성이 높다는 분석 결과(작시:2002년)에 따라 앞으로 단위면적당 최대수량을 위해서는 이들 교잡종에 대한 교배친 선정은 가급적 후기녹체성이 높은 만숙종이 유리할 것으로 판단되었다.

경직경 : 공시된 교잡종에 대한 경직경을 측정한 결과 생체중이나 건물중과 깊은 관련이 있는 것으로 나타났다. 특히 Ⓐ와Ⓒ의 교잡종에 대한 경직경이 대조구인 광안옥보다 굵게 나타나 건물생산이 높은 것으로 나타났으며, 분얼형인 Ⓑ와Ⓓ의 주경에 대한 경직경이 무얼성 교잡종보다 가늘게 나타나 도복에 대한 피해가 예상되었는데, 강우 및 태풍피해가 있었던 남부 밀양지역에서 이들 교잡종의 도복이 다소 높았다.

나. 생체 및 건물수량

공시 교잡종에 대한 생체중과 건물중을 3지역에서 조사한 결과는 표12와 같다.

Table 12. Fresh and dry matter of hybrids selected at three regions

Character / Hybrids	Fresh wt. (kg/10a)				Dry wt. (kg/10a)			
	Culm+ leaf	Ear+ husk	Total	Index	Culm+ leaf	Ear+ husk	Total	Index
Daejeon (May 15)								
CNU2618×CNU2665(A)	8551	3999	12550	146	1899	826	2716	131
CNU2627×CNU3007(B)	6994	3240	10184	119	1277	735	2033	98
CNU2618×CNU2680(C)	8359	3370	11729	137	1222	813	2235	108
CNU3014×CNU2768(D)	8843	3162	12005	148	1926	846	2772	134
CNU3054×SK1(E)	7684	3388	11073	129	1753	815	2568	124
CNU2798×SK1(F)	7429	3981	12410	148	1738	898	2636	127
Check (Kwanganok)	5684	2888	8573	100	1351	724	2075	(100)
Suwon (May 5)								
CNU2618×CNU2665(A)	9673	3781	13454	135	1742	830	2572	118
CNU2627×CNU3007(B)	6537	3074	9611	97	1562	743	2305	106
CNU2618×CNU2680(C)	8482	3262	11744	118	1669	821	2490	114
CNU3014×CNU2768(D)	7580	3251	14831	149	1881	854	2735	125
CNU3054×SK1(E)	8814	3426	12240	123	1860	804	2664	122
CNU2798×SK1(F)	8246	3871	12117	122	1847	812	2659	121
Check (Kwanganok)	7140	2811	9951	100	1434	746	2180	(100)
Milyang (May 17)								
CNU2618×CNU2665(A)	6842	3584	10426	125	1742	854	2596	122
CNU2627×CNU3007(B)	5791	3210	9001	108	1515	735	2250	106
CNU2618×CNU2680(C)	6794	3418	10212	123	1697	826	2523	118
CNU3014×CNU2768(D)	7468	3016	10484	127	1834	781	2615	123
CNU3054×SK1(E)	6922	3542	10464	126	1769	820	2589	122
CNU2798×SK1(F)	6789	3963	10752	129	1835	818	2653	125
Check (Kwanganok)	5212	3127	8339	100	1376	754	2130	(100)

생체중 : 본 실험에서 가장 중요한 특성중의 하나인 단위면적당 생체중의 분석결과를 살펴보면 그림2와 같이 개체당 이삭무게와 밀접한 관계가 있음을 알수 있었는데, 공시 교잡종 중 무얼성인 Ⓐ, Ⓒ 및 Ⓕ에서 대전지역을 포함한 수원과 밀양에서

비교적 고루게 생체수량이 높게 나타났다.

Ⓐ교잡종의 경우 대조구인 광안옥에 비해 대전에서 46%, 수원에서 35%, 그리고 밀양에서 25%가 증가된 값으로 지역간에 큰 차이를 보인 이유는 중북부 지역과 남부 지역의 연속된 강우 및 수차례의 태풍이 공시 교잡종 옥수수의 초기 생육과 개화기 이후의 생육에 크게 불리했던 것으로 분석되었다.

분얼형 교잡종중 Ⓓ의 경우 경엽중이 공시지역 모두 대조구인 광안옥에 비해 대전 48%, 수원 49%, 밀양 27%가 높게 나타났는데, 최 등(1992, 1996), 이 등(1993, 1999, 2001, 2003)은 분얼형 교잡종의 적정 재식밀도는 관행재배를 변형한 단위면적당 소식재배를 통해 최대수량을 기대할 수 있다는 보고와 일치하였다. 따라서 개체당 건물 및 종실 수량의 증수를 위해서는 다분얼(multi-tillers)에 의한 양분결핍을 최소화하는 것이 재배시 유리하다고 할 수 있다.

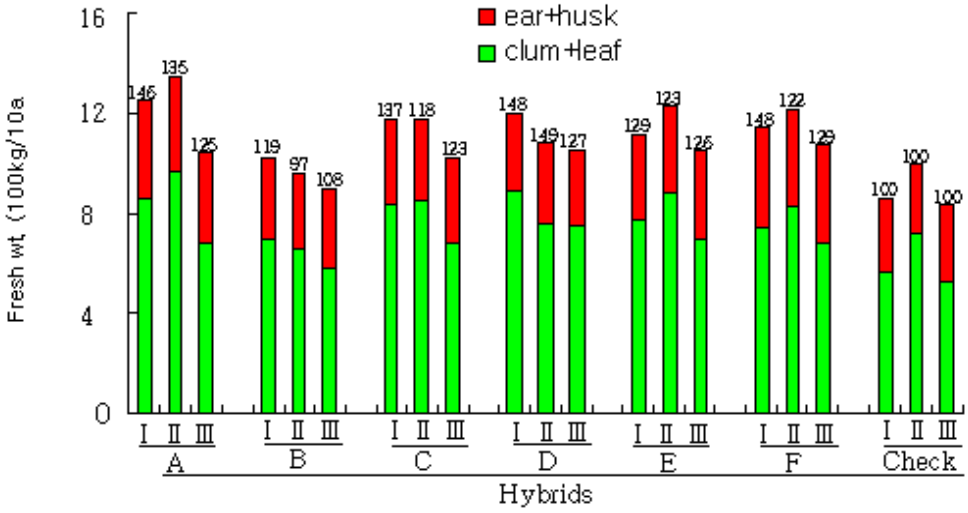

Fig 2. Comparision of fresh weight of seven hybrids planted at three regions in 2003

Remarks: A : cnu 2168×cnu 2665 B : cnu 2627×cnu 3007
C : cnu 2618×cnu 2680 D : cnu 3014×cnu2678
E : cnu 3054×SK 1 F : cnu 2798×SK 1
Ⅰ:Daejeon, Ⅱ:Suwon, Ⅲ:Milyang

한편 공시종에 대한 청예용 사료가를 비교 분석하기 위해 이들 교잡종을 개화기에 예취하였을 경우 생체중과 건물중을 조사한 결과는 그림3과 같다.

공시종 중에서 교잡종 Ⓑ와 Ⓓ는 분얼에 의해 단위면적당 생체수량이 대조구인 광안옥에 비해 각각 %와 %가 증수되었고, 건물 중 역시 %와 %로 증수 효과를 보았다.

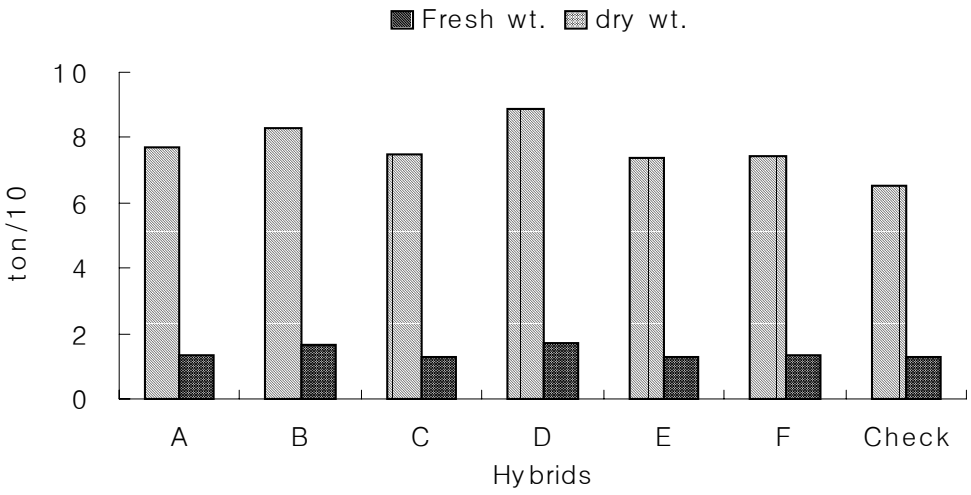

Fig 3. Comparision of fresh weight and dry matter for six hybrids surveyed at Daejeon in tasseling

A : cnu 2168×cnu 2665 B : cnu 2627×cnu 3007
C : cnu 2618×cnu 2680 D : cnu 3014×cnu2678
E : cnu 3054×SK 1 F : cnu 2798×SK 1
Ⅰ:Daejeon, Ⅱ:Suwon, Ⅲ:Milyang

따라서 청예용 내지 싸일레지용으로 집중 확대 재배시 이에 대한 재배법이 고려됨으로써 국내 조사료용 확보를 위해 크게 기여할 것으로 분석되었다.

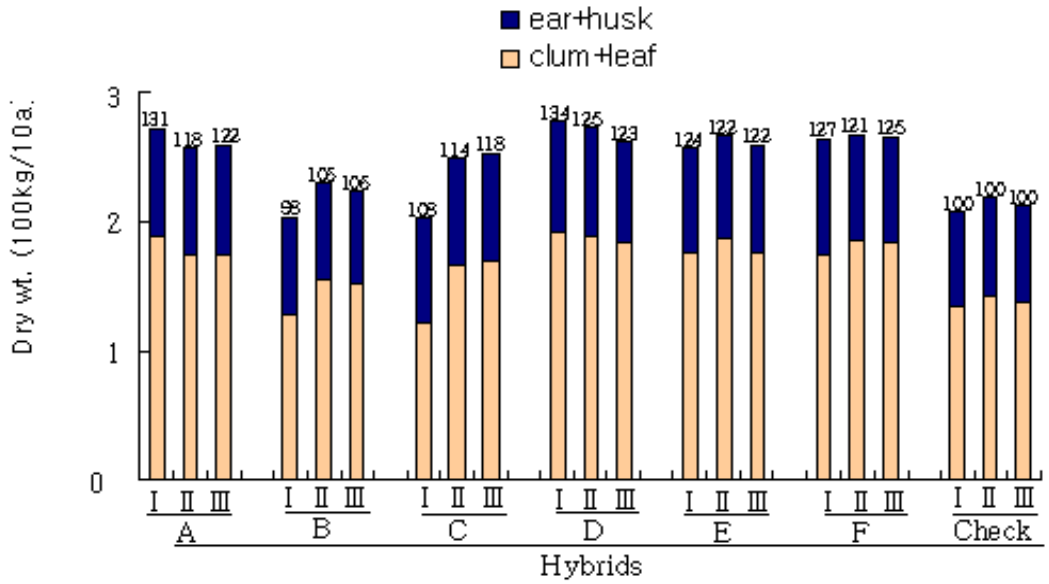

Fig 4. Comparision of dry weight of seven hybrids used at three regions in 2003

A : cnu 2618×cnu 2665 B : cnu 2627×cnu 3007
C : cnu 2618×cnu 2680 D : cnu 3014×cnu2678
E : cnu 3054×SK 1 F : cnu 2798×SK 1
Ⅰ:Daejeon, Ⅱ:Suwon, Ⅲ:Milyang

건물수량 : 단위면적당 건물수량은 그림4에서 보는 바와 같이 분얼형 교잡종 중 생체중이 높은 Ⓓ에서 23~25%의 증가수량을 보였는데, 이러한 결과는 앞에서 언급한 바와 같이 분얼형 교잡종의 재식밀도를 관행 옥수수 재배법을 기준함으로써 개체간 양분경합, 다분얼에 의한 과번무로 일조량이 크게 부족했던 것으로 판단되어 앞으로 이들 교잡종을 파종할 경우 단위 면적당 파종량을 관행인 밀식 보다는 소식재배를 통해 파종량을 줄이고 동시에 최대 건물 수량을 증대시키는 것이 요구된다.

다. 수량 및 수확지수

Table 13. Yield per 10a and harvest index of hybrids planted at three regions in 2003

Character / Hybrids	Yield (kg/10a)	(Index)	Harvest index
Daejeon (May 15)			
CNU2618×CNU2665(A)	839	(115.7)	30.9
CNU2627×CNU3007(B)	723	(96.9)	35.5
CNU2618×CNU2680(C)	823	(113.5)	36.8
CNU3014×CNU2768(D)	718	(99.0)	25.9
CNU3054×SK1(E)	760	(104.8)	29.6
CNU2798×SK1(F)	854	(117.8)	32.4
Check (Kwanganok)	725	(100)	34.9
Suwon (May 5)			
CNU2618×CNU2665(A)	820	(111.7)	31.8
CNU2627×CNU3007(B)	745	(101.5)	32.3
CNU2618×CNU2680(C)	832	(113.3)	33.4
CNU3014×CNU2768(D)	752	(102.5)	27.4
CNU3054×SK1(E)	758	(103.3)	28.4
CNU2798×SK1(F)	827	(112.6)	31.1
Check (Kwanganok)	734	(100)	33.7
Milyang (May 17)			
CNU2618×CNU2665(A)	837	(113.5)	32.2
CNU2627×CNU3007(B)	765	(103.7)	34.0
CNU2618×CNU2680(C)	831	(112.7)	32.9
CNU3014×CNU2768(D)	739	(100.3)	28.7
CNU3054×SK1(E)	796	(108.0)	30.7
CNU2798×SK1(F)	826	(112.0)	31.1
Check (Kwanganok)	737	(100)	34.6

종실수량 : 공시된 교잡종들에 대한 10a당 종실수량을 살펴보면 표13과 그림5, 6에서 보는 바와 같이 Ⓒ, Ⓔ, Ⓕ는 주당 1이삭을 갖는 반면에 Ⓐ, Ⓑ와 Ⓓ는 주당 2개의 이삭을 갖는 특징을 보였다. 특히, Ⓐ는 부분얼성이면서 2개의 비교적 우수한 이삭을 지님으로써 종실수량에 크게 기여할 뿐만 아니라 싸일레지 제조시 유리 할 것으로 나타났다. 각 지역별 공시 교잡종에 대한 종실수량을 살펴보면 대전지역의 경우 Ⓕ와 Ⓐ가 각각 854㎏과 839㎏으로 대조구인 광안옥에 비해 17.8%와 15.7%로 높았고, 수원지역의 경우 Ⓒ, Ⓕ, Ⓐ가 대조구에 비해 11.7% 내지13.3%가 증수되었으

며, 남부인 밀양지역의 경우 Ⓐ, Ⓒ, Ⓕ가 광안옥에 비해 13.5% 내지 12.0%가 증수되었으나, 이와 같이 단위면적당 수량이 목표량이 다소 미흡했던 이유는 대조구로 사용된 광안옥이 조사료용이라기 보다 종실용 옥수수인 점을 감안할 때 Ⓐ와 Ⓕ가 생체 및 건물중에서 대조구보다 월등히 높게 나타나 앞으로 이들 두 교잡종을 청예 및 종실을 겸용한 조사료용으로 개발하는데 크게 유리할 것으로 판단되었다.

Fig5. Comparisons of ear length and diameter in the seven corn hybrids

A, B and D hybrids had two ears per plant, among these B and D was mutil-tillered

수확지수 : 옥수수 품종육성 목표는 크게 종실용, 조사료용 내지 싸일레지용 그리고 겸용으로 대별할 수 있는데, 본 실험의 목적은 국내 축산농가의 외국으로부터 사료 구입비용을 최소화하는데 있으므로 전자보다는 후자인 조사료 증가에 더 큰 비중을 두고 실험을 수행하였다.

그 결과, 표13에서 보는 바와 같이 대조품종인 광안옥의 전체 건물중에 대한 알곡 비율 즉, 수확지수가 다른 공시교잡종보다 높게 나타나 광안옥 교잡종이 종실용으로 개발된 데 비해 본 실험에 공시된 교잡종은 생체중 및 건물중이 대조구보다 높게 나타나 조사료용 옥수수로 축산농가의 농후사료 구입비를 크게 줄일 수 있을 것으로 판단된다.

특히, 분얼형 교잡종인 Ⓓ는 생체수량 뿐만 아니라 종실수량비율이 상대적으로 높아 이에 대한 확대 보급의 효과가 클 것으로 생각되는데, 이와 같은 분얼형 옥수수에 대한 단위면적당 생체 및 종실수량의 증대를 위해서는 적절한 재식거리와 비배관리가 반드시 병행 연구되어야 할 것이다.

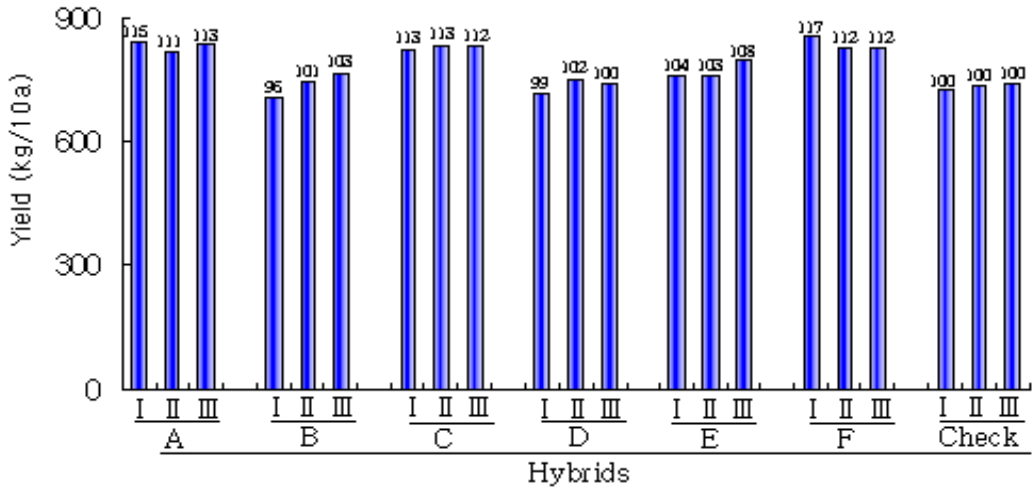

Fig 6. Comparision of yield per 10a of seven hybrids planted at three regions in 2003

Remarks: A : cnu 2168×cnu 2665 B : cnu 2627×cnu 3007
C : cnu 2618×cnu 2680 D : cnu 3014×cnu2678
E : cnu 3054×SK 1 F : cnu 2798×SK 1
Ⅰ:Daejeon, Ⅱ:Suwon, Ⅲ:Milyang

3. 내재해성에 대한 특성평가

도복 : 옥수수는 타 작물에 비해 키가 크고 지상부의 생체중이 많기 때문에 도복에 대한 피해가 큰 문제점으로 지적되고 있어, 이에 대한 품종 육성의 중요 요인으로 간장에 대한 착수고 비율이 낮을수록 도복에 대해 피해를 줄이는데 매우 효과적이라고 할 수 있다.

본 실험 결과 표14와 같이 착수고율은 교잡종간에 매우 상이하였는데, 일반적으로 50% 미만이 현행 육종 목표임을 감안할 때 대조구인 광안옥은 37%~42%로 매우 안정적인 면을 보였고(표14), 공시된 다른 교잡종 역시 이러한 기준을 만족하고 있어 저 착수고 계통의 유전인자를 함유한 자식계통과의 교배 결과 내재해성으로 지적되는 도복피해에 대한 육종이 매우 효과적이었다고 평가되었다.

Table14. Lodging, stay green and insect-disease injury of hybrids planted at three regions in 2003

Character / Hybrids	Lodging (1-9)†	Stay green (1-9)‡	Leaf blight (1-9)†	Leaf spot (1-9)†	Corn borer (1-9)†
Daejeon (May 15)					
CNU2618×CNU2665(A)	1	3	1	1	1
CNU2627×CNU3007(B)	1	3	3	3	1
CNU2618×CNU2680(C)	1	1	1	1	3
CNU3014×CNU2768(D)	1	3	1	3	3
CNU3054×SK1(E)	1	1	1	1	3
CNU2798×SK1(F)	1	1	1	1	1
Check (Kwanganok)	1	1	3	1	3
Suwon (May 5)					
CNU2618×CNU2665(A)	1	3	1	1	3
CNU2627×CNU3007(B)	1	5	1	3	3
CNU2618×CNU2680(C)	1	3	3	1	3
CNU3014×CNU2768(D)	1	3	1	3	3
CNU3054×SK1(E)	1	3	3	1	3
CNU2798×SK1(F)	1	3	1	1	3
Check (Kwanganok)	1	3	1	1	1
Milyang (May 17)					
CNU2618×CNU2665(A)	3	5	1	1	3
CNU2627×CNU3007(B)	5	5	3	3	3
CNU2618×CNU2680(C)	5	3	1	1	3
CNU3014×CNU2768(D)	7	5	1	1	3
CNU3054×SK1(E)	5	5	1	1	3
CNU2798×SK1(F)	5	3	1	1	3
Check (Kwanganok)	5	5	1	1	1

† 1 : Resistance , 9 : Susceptible
‡ 1 : Green , 9 : Yellow

병·충해성 : 옥수수에서 가장 큰 피해를 주는 조명나방(Corn borer)에 대한 조사된 결과를 살펴보면 표14와 같이 대조구인 광안옥과 거의 비슷한 정도를 보여 효과적인 육종성과를 기대할 수 없었다. 따라서 조명나방 발생 최성기인 분얼성기와 개화기 전후에 걸쳐 넌 2회 정도의 살충제 살포가 병행되어야 할 것이다.

본 실험 역시 2회에 걸친 토양살충제인 후라단 입제 살포가 매우 효과적인 것으로 나타났으나, 앞으로 경영비 절감을 위해서는 중경제초 및 추비시에 본 입제를 토양에 동시 시용함으로써 축산농가의 경영비 절감에 크게 기여할 것으로 판단된다.

깨씨무늬병(Leaf spot)에 대한 피해양상은 대부분의 교잡종에서 지역간에 관계없이 크게 문제되지 않았으며, 매문병(Leaf blight) 역시 같은 결과였다.

4. 후기녹체성에 대한 특성평가

조사용 옥수수의 싸일레지 및 조사료로서 가치는 하위엽 고사가 적을수록 가소화 양분총량(TDN)에 유리하다고 판단되어 이에 대한 육종효과를 살펴보면 대조구인 광안옥은 비교적 양호한 편이었으며, 기타 공시 교잡종 역시 비슷한 경향으로 육종성과가 크게 나타났다(표14). 다만 후기녹체성 교배친의 수가 적었던 것이 문제점으로 지적되어 보다 우수한 옥수수 신품종 육성을 위해서는 앞으로 후기녹체성 유전자원 확보 및 육성계통의 선행연구가 요구되었으며, 동시에 생육후기의 영양결핍 현상을 최소화함으로써 양분 경합에 따른 조기 하위엽고사 현상을 억제할 수 있다고 판단되어 생육후기에 질소질과 같은 영양원을 충분히 공급하는 것이 조사료 옥수수 육성에 중요할 것으로 판단된다.

제 2 절 다수다얼성(MET) 특이적 유전자의 분리 및 동정

1. 분얼 조직 특이적 cDNA library 구축 및 EST 분석

가. cDNA library 구축

1) 옥수수 분얼 유도를 위한 최적 환경 조건 설정

세가지의 MET 형 (IK1, IK2-1, PI213749) 옥수수 inbred line과 3가지의 non-MET (IK1, IK2, Dangjin) 형의 inbred line을 이용한 분얼 유도에 적합한 환경 조건을 결정한 실험 결과 광주기 16시간 조건에서 온도는 주간 30℃ 야간 25℃가 적합했으며, 주로 6~8엽기 사이에 분얼경이 유도되는 것으로 나타났다.

2) MET isoline의 cDNA library 구축

가장 분얼이 왕성한 시기인 6엽기의 MET 형 옥수수의 분얼조직으로부터 mRNA 분리하였으며, mRNA를 주형으로 이용하여 cDNA library 구축하였다. cDNA library의 특성을 분석한 결과 primary library titer는 2×10^6 pfu (plaque forming units)로 매우 우수하였으며, recombination 효율은 99%으로 매우 높았음을 알 수 있었다. Amplification library titer는 2×10^9 pfu/ml로 증폭되었으며, 전체 volume은 120 ml 정도를 확보하였다. Mass excision을 하여 얻어진 clone들에 대한 miniprep을 실시하였으며, 약 500여개의 plasmid를 *Eco*R I 과 *Xho* I 으로 절단하여 본 결과 500 bp에서 2.5 kbp의 다양한 cDNA 크기의 insert 갖는 clone들이 존재하였다.

나. EST(Expressed Sequence Tags) 분석

1) EST 분석

EST 분석은 관심이 있는 조직으로부터 유도되는 유전자에 대해서 생화학적 및 유전학적 접근을 가능하게 하는 유용한 방법으로 알려져 있다 (Adams et al., 1991). 또한 이전의 많은 연구자들에 의해 대량의 ESTs 분석을 통해서 다양한 조직으로부터 유도되는 유전자에 대한 profile이 보고된 바 있다 (Jang et al., 1999, Covitz et al., 1998, Hisada et al., 1997). 이에 본 연구에서도 분얼에 대한 유전생화학적 접근을 하고자 ESTs 분석을 실시하였다. 분얼에서 분리된 RNA로 구축된 cDNA library의 유전자의 다양성을 확인 하고자 삽입된 유전자의 크기가 0.8 Kbp 이상인 클론 118개를 무작위로 선발하여 EST 분석을 실시하였다. 118개의 ESTs들을 NCBI database에 등록된 유전자들과 BLASTX 프로그램으로 상동성 검정을 실시한 결과 81개의 ESTs가 기존에 알려져 있는 유전자들과 높은 상관 관계를 보였다. 그러나

37개의 ESTs는 기존에 알려져 있는 유전자들과 상동성이 낮았다. 표15은 81개의 ESTs의 기능을 요약해 나타낸 것이다. 기존의 알려져 있는 유전자와 높은 상관 관계를 보인 유전자들을 기능별로 분류해 본 결과 세포벽의 구조 및 대사작용에 관련된 유전자 3개, cytoskeleton에 관련된 유전자 3개, 신호전달에 관련된 유전자 7개, 세포 분열 및 성장에 관련된 유전자들이 7개로 다소 많은 분포를 나타냈으며, 방어와 스트레스에 의해 유도된 유전자 4개, vesicular trafficking, protein sorting 및 secretion에 관련된 유전자가 1개, DNA 대사작용에 관련된 유전자 1개, 유전자의 발현 및 RNA 대사에 관련된 유전자 6개, 1차 2차 대사작용에 관련된 유전자 12개, 그리고 단백질 합성과 작용에 관련된 유전자 16개로 나타났다. 또한 기능에 따라 분류를 할 수 없었던 유전자가 2개 보였으며, 아직까지 그 기능이 알려져 있지 않은 유전자 22개로 가장 많은 분포를 보였다 (표16). 이러한 유전자들의 분포는 비록 적은 양의 ESTs를 분석했으나 이전의 보고들과는 다소 차이를 보였다. Jang 등 (1999)은 밀-호밀 전좌 계통의 엽으로부터 유도된 유전자의 ESTs 분석한 결과 주로 광합성을 포함하는 대사과정에 관련된 유전자들이 주를 이루었다고 보고하였다. 배추의 화아로부터 유된 유전자에 대한 ESTs 결과에서는 대사작용에 관련된 유전자가 35% 이상 나타났으며, 전사에 관련된 유전자는 15% 이상 나타났다 (Lim et al., 1996). 그러나 본 연구에서 유도된 유전자들은 주로 단백질의 합성에 관련된 유전자들이 가장 많은 분포를 보였으며, 이외에도 세포벽의 구성 및 대사작용, cytoskeleton, 신호전달, 세포 분열 및 성장에 관련된 유전자들이 다수 유도됨을 알 수 있었다. 이러한 결과는 root-hair에서 유도된 유전자에 대한 ESTs 분석의 결과와도 같다 (Covitz et al., 1998). 이를 볼 때, 옥수수의 분얼에서는 새로운 조직으로 분화로 인하여 세포벽의 구성 물질 및 대사작용에 필요한 유전자들과 신호전달 유전자, 세포 분열 및 성장에 관련된 유전자가 다수 발현될 것이라 생각된다. 따라서 본 연구에서 구축된 cDNA library는 옥수수의 분얼성 관련 특이적인 유전자를 다량 보유 할 것으로 기대되며, 무분얼성 옥수수와 분얼성 옥수수 계통을 이용한 differential hybridization 방법을 이용한다면 다수의 유용 유전자의 분리가 성공적으로 이루어질 것이라 기대된다.

Table15. Summary of putative identification of ESTs from cDNA library of multi-ear and tiller corn

No.	Putative Identification	Size (Kbp)	Score†	Organism
Cell wall structure or metabolism				
MC29	Alpha galactosidase	1.2	120	*Arabidopsis thaliana*
MA44	Cellulose synthase catalytic subunit	1.6	119	*Arabidopsis thaliana*
MA80	Reversibly glycosylated polypeptide	1.2	280	*Oryza sativa*
Cytoskeleton				
MB91	Alpha-tubulin 6 chain	1.3	160	*Arabidopsis thaliana*
MA19	Beta-tubulin 2	1.2	231	*Pisum sativum*
MD42	Profilin 5	0.9	196	*Zea may*
Signal tranduction				
MD49	Cyclophilin	1.1	108	*Arabidopsis thaliana*
MB78	GTPase Ran binding protein	1.1	109	*Arabidopsis thaliana*
MB15	GTP-binding protein typeA	1.6	131	*Arabidopsis thaliana*
MC14	Proline-rich protein	2.8	149	*Arabidopsis thaliana*
MD34	Protein phosphatase 2C	1.2	196	*Oryza sativa*
MB76	Rab-type small GTP-binding protein	1.3	52	*Arabidopsis thaliana*
MB60	Receptor protein kinase	1.4	86	*Oryza sativa*
Cell division and growth				
MA21	Growth hormone1 protein	1.0	54	*Oryza sativa*
MA9	Leaf development protein Argonaute	2.0	132	*Arabidopsis thaliana*
MA23	MADS box-like protein	2.5	193	*Oryza sativa*
MB43	Plastid division protein FtsZ	1.3	146	*Oryza sativa*
Defense and stress				
MB80	Beta-glucosidase	1.7	185	*Zea mays*
MA6	Cathepsin B-like cysteine proteinase	1.2	220	*Triticum aestivum*
MB18	Glycine-rich protein	1.6	42	*Zea mays*
MD37	Metallothionein-like protein type 2B	0.9	45	*Oryza sativa*
Vesicular trafficking, protein sorting, and secretion				
MB58	Coated vesicle membrane protein	0.9	78	*Arabidopsis thaliana*
DNA metabolism				
MB70	Replication factor C	1.6	134	*Arabidopsis thaliana*
Gene expression and RNA metabolism				
MB11	GF14-c protein	1.2	177	*Oryza sativa*
MD52	GF14-6 protein	1.8	164	*Zea mays*
MA49	H-protein promoter binding factor-2a	1.6	47	*Oryza sativa*
MA93	Initiation factor (iso)4f p82 subunit	1.6	124	*Triticum aestivum*
MC3	RING-H2 finger protein RHA3b	1.0	90	*Arabidopsis thaliana*
MA14	Spliceosome-associated protein homolog	2.0	46	*Arabidopsis thaliana*

(Table15. continued)

Clone	Putative Identification	Size (Kbp)	Score†	Organism
Metabolism				
MB5	Aspartate aminotransferase	1.3	254	*Oryza sativa*
MD41	Cytochrome b5 reductase	0.8	269	*Zea mays*
MB44	Cytochrome C oxidase assembly protein	1.1	88	*Arabidopsis thaliana*
MA59	Cytochrome P-450LXXIA1	1.2	133	*Persea americana*
MB33	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	1.0	233	*Zea mays*
MA70	Glycine decarboxylase complex H-protein	1.1	120	*Arabidopsis thaliana*
MB62	Mannose 6-phosphate reductase	1.1	140	*Arabidopsis thaliana*
MA10	Phosphoenolpyruvate carboxylase	1.3	191	*Arabidopsis thaliana*
MB88	Purple acid phosphatase	1.2	171	*Arabidopsis thaliana*
MB84	Sucrose synthase	1.6	265	*Zea mays*
MD48	Sucrose synthase	1.6	247	*Zea mays*
MB64	UMP synthase 1	1.3	130	*Oryza sativa*
Protein synthesis and processing				
MD40	20S proteasome subunit	1.1	192	*Oryza sativa*
MB79	60S ribosomal protein L10	1.0	206	*Solanum melongena*
MD54	60S ribosomal protein L11	1.2	99	*Arabidopsis thaliana*
MB69	60S ribosomal protein L13	2.3	129	*Oryza sativa*
MB3	Chloroplast Cpn21 protein	1.0	68	*Arabidopsis thaliana*
MD46	Elongation factor 1 alpha	0.7	189	*Zea mays*
MC12	Elongation factor 1-beta	1.2	140	*Oryza sativa*
MC22	Eukaryotic initiation factor 4B	1.3	123	*Triticum aestivum*
MC17	Heat shock protein 90	1.5	180	*Oryza sativa*
MB74	Prefoldin-like protein	0.8	111	*Arabidopsis thaliana*
MA28	Ribosomal protein L7	1.0	167	*Solanum tuberosum*
MA43	Translation elongation factor eEF-1 α-chain	1.2	166	*Daucus carota*
MD51	Translation initiation factor	1.7	62	*Arabidopsis thaliana*
MB65	Translation initiation factor 3 subunit 7	2.1	68	*Arabidopsis thaliana*
MA47	Translation initiation factor 5A	1.2	218	*Oryza sativa*
MA94	Ubiquitin conjugating enzyme	1.3	192	*Arabidopsis thaliana*
Miscellaneous				
MC20	Aluminium induced protein	1.1	140	*Triticum aestivum*
MB2	Hypothetical protein	1.1	120	*Oryza sativa*
MB92	Hypothetical protein	1.4	60	*Arabidopsis thaliana*
MC34	Hypothetical protein	1.4	174	*Arabidopsis thaliana*
MC21	Neutral ceramidase	2.1	142	*Triticum aestivum*
MA4	Putative protein	1.2	186	*Arabidopsis thaliana*
MA12	Putative protein	1.2	148	*Arabidopsis thaliana*
MB59	Putative protein	1.9	111	*Arabidopsis thaliana*

(Table15. continued)

Clone	Putative Identification	Size (Kbp)	Score†	Organism
MC4	Putative protein	2.0	60	*Arabidopsis thaliana*
MC8	Putative protein	1.6	120	*Arabidopsis thaliana*
MC27	Putative protein	1.2	76	*Arabidopsis thaliana*
MD39	Putative protein	1.3	64	*Arabidopsis thaliana*
MA29	Unknown protein	1.2	63	*Arabidopsis thaliana*
MA60	Unknown protein	1.5	123	*Arabidopsis thaliana*
MA78	Unknown protein	1.0	86	*Arabidopsis thaliana*
MB8	Unknown protein	1.6	47	*Arabidopsis thaliana*
MB66	Unknown protein	1.2	428	*Arabidopsis thaliana*
MB69	Unknown protein	2.2	78	*Oryza sativa*
MC9	Unknown protein	1.6	113	*Arabidopsis thaliana*
MC23	Unknown protein	2.0	56	*Arabidopsis thaliana*
MC25	Unknown protein	0.8	155	*Arabidopsis thaliana*
MC32	Unknown protein	1.6	50	*Arabidopsis thaliana*
MC33	Unknown protein	1.4	76	*Oryza sativa*
MC43	Unknown protein	2.5	157	*Arabidopsis thaliana*

† Score was provided by BLASTX program.

Table16. Categories of ESTs determined by random DNA sequencing.

Category	Number of Clones (%)
Genes identified	81 (68.6%)
Cell wall structure or metabolism	3 (2.6%)
Cytoskeleton	3 (2.6%)
Signal transduction	7 (5.9%)
Cell division and growth	4 (3.4%)
Defense and stress	4 (3.4%)
Vesicular trafficking, protein sorting, and Secretion	1 (0.8%)
DNA metabolism	1 (0.8%)
Gene expression and RNA metabolism	6 (5.0%)
Metabolism	12 (10.3%)
Protein synthesis and processing	16 (13.5%)
Miscellaneous	24 (20.3%)
Genes unidentified	37 (31.4%)
Total	118 (100%)

2. 분얼 조직 특이적 유전자의 분리 및 동정

가. 분얼 조직 특이적 유전자의 분리

1) Differential hybridization (DH)를 이용한 분얼경 특이적 유전자 분리

분얼경에서 특이적으로 발현하는 유전자의 분리하기 위하여 475 개의 single clone 들로부터 plasmid DNA를 분리하였다. 분리하여 제한 효소 *Eco*RI 과 *Xho*I으로 digestion하여 크기를 확인하여 본 결과 약 500 bp에서 2.5 bp로 매우 다양하게 존재하였다. 이 클론들을 dot blot kit을 이용하여 DH를 위한 membrane으로 제작을 하였다.

Probe는 MET 특이적인 옥수수에서 분얼경, 지주경, 잎에서 total RNA를 분리한 후, poly(T) primer와 reverse transcriptase를 이용하여 dig으로 labelling하였다. probe의 양을 측정하여 각각의 DH에 hybridization되는 probe양을 동량으로 조절을 하였다.

그림7은 MA1~MA95 번 clone에 대한 DH을 실시한 결과를 나타낸 것이다.

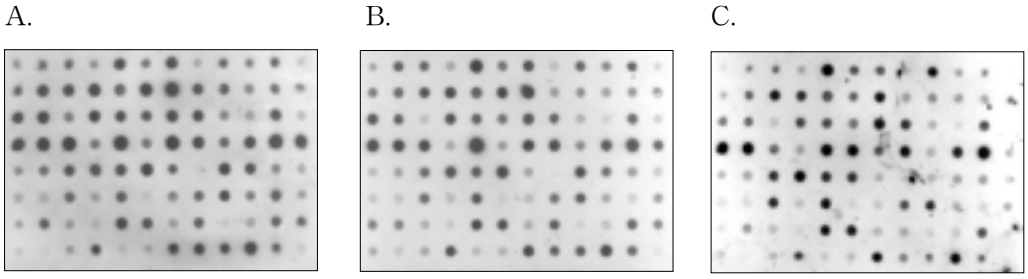

Fig7. Differential hybridization of the randomly selected clones (MA1~MA95) from cDNA library of multi tiller and ears corn. A positive nylon membrane containing randomly selected clones was hybridized with dig-labeled cDNA from crowns of tillers (A), brace roots (B), and leaves (C).

2) 분얼경 특이적 유전자 분리 및 염기 서열 분석

DH 방법을 통하여 분얼경에서 특이적으로 발현하리라 기대되는 유전자 12 개를 분리하였다. 각각의 clone에 대해 염기서열 분석을 실시한 후, NCBI에 등재된 유전자와 염기서열 유사성 분석을 실시한 결과 다음의 표17의 결과를 얻었다.

염기서열을 분석한 결과 아직 기능이 잘 알려져 있지 않은 유전자들이 다소 많이

보였다. 그리고 house keeping gene으로 알려져 있는 Glyceraldehyde-3- phosphate dehydrogenase 유전자도 나타났다.

Table17. Profile of specific expressed clones in crowns of tillers

No. clone	Putative identification
MA15	Unknown
MA20	40S ribosomal protein S4
MA26	Polyubiquitin
MA35	Unknown
MA58	Unknown
MA69	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
MA92	Polyubiquitin
MB32	unknown
MD26	Metaollothionin-like protein
MD78	Nucleosome/chromatin assembly factor
ME54	Lipid transfer protein
ME69	Histion H2A

3) 분얼경 특이적 유전자의 조직 특이적 발현 양상 분석

여기서 DH에 선발된 유전자들에 대한 발현 양상을 검정하기 위하여 4가지 유전자에 대한 발현 양상을 Northern blotting analysis 분석을 통해서 확인을 해보았다.

MA20 유전자는 분얼경과 지주경에서 동일하게 유전자의 발현 양상이 나타났고, 잎에서는 발현이 거의 나타나지 않았다. MA58의 경우 분얼경에서는 많은 가장 높은 발현 양상을 보인 반면, 지주경에서는 적은 발현 양상이 나타났으며, 잎에서는 거의 유전자의 발현이 발견되지 않았다. MB32에서는 분얼경에서 가장 많은 발현을 보인 반면, 지주경과 잎에서는 거의 발현이 나타나지 않았다. 그러나 MD32에서는 세 조직 모두에서 많은 발현 양을 보였다 (그림8).

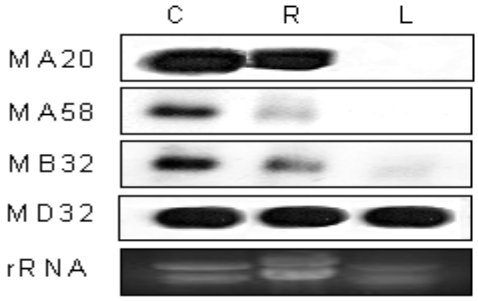

Fig8. Northern blot hybridization of specific wxpressed clones in crowns of tillers of MET corn. Total RNA (20㎍ per sample) from three tissues at 4-week old plants was fractionated on a 1% denaturing agarose gel. C : crowns of tillers, R : brace roots, L : leaves.

4) 분얼경 특이적 클론의 유전자 염기서열 분석

이중 MA20와 MB32 클론에 대한 더 세밀한 분석을 실시하였다. MA20의 클론은 기존의 알려져 있는 옥수수의 40S ribosomal protein S4와 매우 유사하였다. MA20은 5‘ untranslated region을 포함하여 1037 bp로 구성이 되어져 있으며, 265 amino acid를 coding 하는 cDNA 클론이다. MA20 클론을 *ZmRP4* (Zea mays Ribosomal Protein S4)라 명명하였으며 염기서열은 그림9에 나타나있다.

```
                                                        GGAGCGGAAGG    11
CGAAGGAGTAGCAGCAGCAGGCGGCGCCGAGTAGCGGCTCCCCACCTCGAGCTTGCCACC    71
ATGGCTAGAGGATTGAAGAAGCATTTGAAGAGGCTCAATGCGCCCAAGCATTGGATGCTG   131
  M   A   R   G   L   K   K   H   L   K   R   L   N   A   P   K   H   W   M   L
GACAAGCTTGGCGGAGCTTTTGCTCCCAAGCCATCTTCTGGACCTCACAAGTCTAGGGAG   191
  D   K   L   G   G   A   F   A   P   K   P   S   S   G   P   H   K   S   R   E
TGCCTGCCACTGATCCTCATCATCAGGAACAGGCTCAAGTATGCTCTTACATACCGTGAG   251
  C   L   P   L   I   L   I   I   R   N   R   L   K   Y   A   L   T   Y   R   E
GTCATTTCCATCCTGATGCAACGCCATGTACTTGTTGATGGCAAGGTCAGGACAGACAAG   311
  V   I   S   I   L   M   Q   R   H   V   L   V   D   G   K   V   R   T   D   K
ACCTACCCTGCTGGGTTCATGGATGTCATTTCCATCCCCAAGACCAATGAGAACTACAGG   371
  T   Y   P   A   G   F   M   D   V   I   S   I   P   K   T   N   E   N   Y   R
CTGCTGTACGATACCAAGGGCCGCTTCCGCCTTCACCCAATCAGGGATGAGGATGCTAAG   431
  L   L   Y   D   T   K   G   R   F   R   L   H   P   I   R   D   E   D   A   K
TTCAAGCTTTGCAAGGTTAGGTCTGTTCAGTTTGGGCAGAAGGGCATCCCGTACCTGAAC   491
  F   K   L   C   K   V   R   S   V   Q   F   G   Q   K   G   I   P   Y   L   N
ACGTATGACGGCCGCACCATCCGCTACCCTGACCCGCCCATCAAGGCCAACGACACCATC   551
  T   Y   D   G   R   T   I   R   Y   P   D   P   P   I   K   A   N   D   T   I
AAGATCGATCTGGAGACCAACAAAATTGTGGACTTCATCAAGTTTGATGTTGGCAACGTT   611
  K   I   D   L   E   T   N   K   I   V   D   F   I   K   F   D   V   G   N   V
GTCATGGTGACTGGCGGAAGGAACACTGGCCGTGTGGGTGTTATCAAGAACAGGGAGAAG   671
  V   M   V   T   G   G   R   N   T   G   R   V   G   V   I   K   N   R   E   K
CACAAGGGCAGCCTTGAGACCATTCACGTGGAGGACTCCCTGGGCCACCAGTTCGCCACC   731
  H   K   G   S   L   E   T   I   H   V   E   D   S   L   G   H   Q   F   A   T
CGTATGGGCAACGTGTTCACCATCGGCAAGGGTAATAAGCCGTGGGTGAGCCTGCCCAAG   791
  R   M   G   N   V   F   T   I   G   K   G   N   K   P   W   V   S   L   P   K
GGCAAGGGAATCAAGCTGAGCATCATAGAAGAGCAAAGGAAGCGGGATGCCGCTGCCCAG   851
  G   K   G   I   K   L   S   I   I   E   E   Q   R   K   R   D   A   A   A   Q
GCTGCTGCCAACGCATAAATCCTCTGAATGTGCTGTGTTGAGAGTTTTTTCTAGTTGCTC   911
  A   A   A   N   A   *
TGCAAGGATATAGAACAATGTTCTAAGACTACCATGTTTTTAAGTCTGCCTGATGCTTAT   971
AATTCATGAACGATTTTTGCAGCTAGCTGTAATGTGACTATTTATCTTAAAAAAAAAAAA  1031
AAAAAA                                                        1037
```

Fig9. Nucleotide sequences and derived amino acid sequences of *ZmRPS4*. The asterisk (*) above the sequences represents the transcription stop site and underlining marks putative polyadenylation signal sequence in the 3′ sequence.

*ZmRPS4*는 가상적인 molecular weight가 약 29.9 kDa정도 였으며, pI 값은 약 10.1을 나타내었다. 이 유전자를 다른 식물중의 ribosomal protein S4 subunit들과 아미노산 염기서열을 비교한 결과 99% (Maize), 92% (Soybean), 89% (Arabidopsis), 89% (Potato) 정도의 유사성을 보였다. 이에 대한 비교는 그림10에 나타나있다.

```
                                                        *  *
      ZmRPS4 MARGLKKHLKRLNAPKHWMLDKLGGAFAPKPSSGPHKSRECLPLILIIRNRLKYALTYRE  60
       Maize MARGLKKHLKRLNAPKHWMLDKLGGAFAPKPSSGPHKSRECLPLILIIRNRLKYALTYRE  60
     Soybean MARGLKKHLKRLNAPKHWMLDKLGGAFAPKPSSGPHKSRECLPLILILRNRLKYALTYRE  60
 Arabidopsis MARGLKKHLKRLNAPKHWMLDKLGGAFAPKPSSGPHKSRECLPLVLIIRNRLKYALTYRE  60
      Potato MARGLKKHLKRLNAPKHWMLDKLGGAFAPKPSSGPHKSRECLPLVIIMRNRLKYALTYRE  60

        *     ***                 *                          **  ***
      ZmRPS4 VISILMQRHVLVDGKVRTDKTYPAGFMDVISIPKTNENYRLLYDTKGRFRLHPIRDEDAK 120
       Maize VISILMQRHVLVDGKVRTDKTYPAGFMDVISIPKTNENYRLLYDTKGRFRLHPIRDEDAK 120
     Soybean VIAILMQRHVLVDGKVRTDKTYPAGFMDVVSIPKTNENFRLLYDTKGRFRLHSVRDDEAK 120
 Arabidopsis VISILMQRHIQVDGKVRTDKTYPAGFMDVVSIPKTNENFRLLYDTKGRFRLHSIKDEEAK 120
      Potato VISILMQRQVMVDGKVRTDKTYPAGFMDVVSIPKTNENFRLLYDTKGRFRLHSLRDEESK 120

              *                          * **          *    *
      ZmRPS4 FKLCKVRSVQFGQKGIPYLNTYDGRTIRYPDPPIKANDTIKIDLETNKIVDFIKFDVGNV 180
       Maize FKLCKVRSVQFGQKGIPYLNTYDGRTIRYPDPLIKANDTIKIDLETNKIVDFIKFDVGNV 180
     Soybean FKLCKVRSVQFGQKGIPYLNTYDGRTIRYPDPLIRANDTIKLDLEENKIVDFIKFDVGNV 180
 Arabidopsis FKLCKVRSIQFGQKGIPYLNTYDGRTIRYPDPLIKPNDTIKLDLEANKIVEFIKFDVGNV 180
      Potato FKLCKVRSVQFGQKGIPYLNTYDGRTIRYPDPLIKANDTIKLDLESNKIVDFIKFDVGNV 180

              *              *  * **  *  *    *   *     *   *
      ZmRPS4 VMVTGGRNTGRVGVIKNREKHKGSLETIHVEDSLGHQFATRMGNVFTIGKGNKPWVSLPK 240
       Maize VMVTGGRNTGRVGVIKNREKHKGSFETIHVEDSLGHQFATRMGNVFTIGKGNKPWVSLPK 240
     Soybean VMVTGGRNRGRVGVIKNREKHKGSFETIHVQDSTGHEFATRMGNVFTIGKGTKPWISLPK 240
 Arabidopsis VMVTGGRNRGRVGVIKNREKHKGSFETIHIQDSTGHEFATRLGNVYTIGKGTKPWVSLPK 240
      Potato VMVTGGRNRGRVGVIKNREKHKGSFETLHIQDSQGHEFATRLGNVFTLGKGTKPWVSLPK 240

             *    *   * *** ***
      ZmRPS4 GKGIKLSIIEEQRKRDAAAQAAANA                                    265
       Maize GKGIKLSIIEEQRKRDAAAQAAANA                                    265
     Soybean GKGIKLSIIEEARKRIAAQQATA-A                                   264
 Arabidopsis GKGIKLTIIEEARKRLASQQA---A                                   262
      Potato GKGIKLTIIEDARKRLAAQSATP-A                                   264
```

Fig10. Comparison of the amino acid and sequences derived from the *ZmRPS4* gene with other ribosomal protein S4 of plant origins such as maize (O22424), soybean (AAM9343), arabidopsis (NP_200650), potato (P46300). The asterisks indicate sites of different sequences with *ZmRPS4*.

MB32의 클론에 대한 염기서열을 분석해본 결과 현재 NCBI Genbank에 등록된 어떤 amino acid 염기서열과도 유사성을 찾을 수 없었다. 다만 *Zea mays* PCO131037 mRNA sequence (AY103828)와 높은 유사성을 보였다. 이와 비교 할 때 MB32의 클론은 AY103838의 염기서열보다 다소 작음이 나타났다. 따라서 MB32 클론은 5′의 부위가 partial로 기대 되며, 이 클론을 *ZmMET1* (*Zea mays* multi-ears and tillers expressed 1)으로 명명하였다. 따라서 이 유전자에 대한 full-length clone의 확보가 필요하리라 기대된다.

5) 분얼경 특이적 유전자의 세포 특이적 발현 분석

두 유전자에 대한 세포 특이적 발현 양상을 보기 위하여 분얼경과 지주경에서 *in situ* hybridization을 실시하였다. 이 실험 방법은 Jang 등 (2002)에 의한 방법으로 수행을 하였다. 그림11에서 보듯이 *ZmRPS4*의 유전자는 분얼경의 vascular tissues에서 강한 발현을 보였으며 (A, B), 또한 지주경에서도 vascular tissues에서 발현이 보임을 알 수 있었다 (C). 그러나 negative control에서는 어떠한 signal도 관찰 할 수 없었다. *ZmMET1* 유전자는 분얼경에서 vascular tissues에서 많은 발현을 보였다 (F). 뿐만 아니라 leaf primordium에서 강하게 발현 됨을 알수 있었다 (E). 지하경에서도 vascular tissues에서 강하게 발현이 되었다 (G).

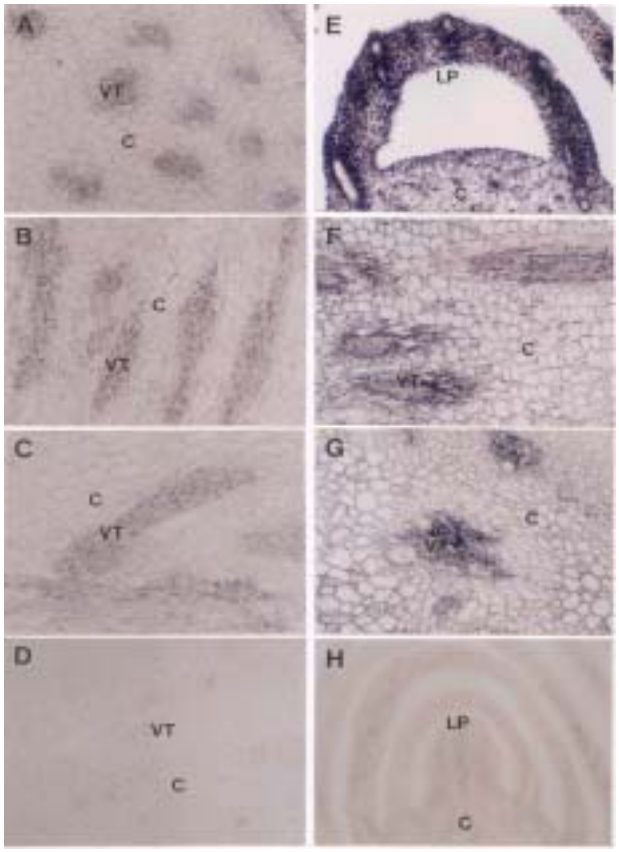

Fig11. *In situ* hybridization of ZmRPS4 (A, B, C) and ZmMET1 (E, F, G). A blue-purple color indicates a positive signal. A and E; Cross section of crown of tiller. B and F; Longitudinal section of crown of tiller. C and G; Cross section of brace roots. A, B, C, E, F, and G: Positive signal. D and H Cross section of crown of tiller (negative signal). C: cortex, LT: leaf primordium, VT: vascular tissues.

6) 분얼경 특이적 유전자의 식물 호르몬에 대한 반응

분얼경 특이적인 두 유전자들에 대한 식물 호르몬에 대한 반응 양상을 검정하기 위하여 엽에 ABA, GA, Kinetin을 각각 100 uM 살포한 후, 6, 12, 24, 48 시간에 시료를 채취한 후, 발현 양상을 분석을 하여 보았다.

그림12에서 나타나듯이 *ZmRPS4*는 ABA와 GA, kinetin의 처리에서 모두 6시간부터 발현의 증가가 나타났으며, ABA의 경우 24시간에 발현이 다소 감소하다가 48시간에 다시 발현 양이 증가하기 시작하였다. 그러나 *ZmMET1*의 경우에는 ABA와 GA에는 반응을 보이지 않았으나, kinetin에서는 6 시간 이후에 발현 양이 다소 증가하다 12 시간 이후로 발현 양이 감소하였다.

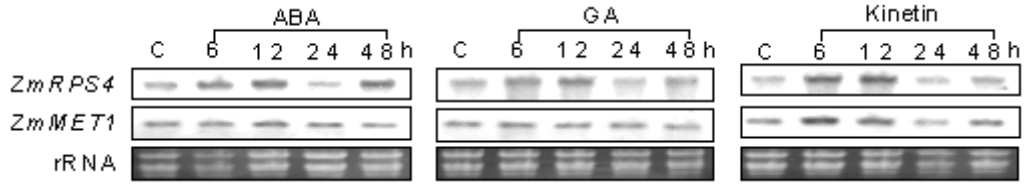

Fig12. Northern blot hybridization of the *ZmRPS4* and *ZmMET1* genes in young leaves of barley treated with ABA, GA, or kinetin. For each plant hormone treatment, the leaf materials were harvested from the plant sprayed with a 100 uM solution of each hormone with 0.05% (v/v) Tween 20 at 6, 12, 24, 48 h. C: control, h: hours.

7) 분얼경 특이적 유전자들의 가상적인 기능에 대한 고찰

옥수수의 분얼은 야생종에서는 흔히 발견 할 수 있는 형질이다. 그러나 육종 과정 중에서 분얼이 없는 옥수수의 육성으로 인해 현재의 재배종에서는 분얼이 거의 나타나지 않고 있다. 분얼경은 본 연구에서도 계속적으로 강조하고 있지만 다수확 조사료용 옥수수의 육성에 있어서는 꼭 필요로 하는 것이다. 본 협동 연구에서는 얻어진 분얼경 특이적 유전자들에 관한 연구는 분얼경 옥수수 육성과는 거리가 있는 것으로 보이나, 분얼경 특이적 유전자의 분리연구 및 지속적인 연구를 수행하여, 이 유전자들의 promoter 부위까지 연구가 가능하다면, 역으로 다양한 식물 생장 조절제 처리에 의해서 이 유전자들이 발현을 유도하여 분얼경이 생성 촉진 시킬 수 있는 효과까지 얻을 수 있으리라 생각이 된다 (Paterson et al., 1995).

본 연구를 통해서 우리는 EST 분석을 통해서 몇 가지의 cell division과 growth에 관련된 유전자들을 얻었다. 예를 들면 다음과 같다. Growth hormone1 protein, Leaf development protein Argonaute, MADS box-like protein, Plastid division protein FtsZ. 이런 유전자에 대해서 더욱 정밀한 분석이 된다면 분얼경 유도에 관한 분자유전학적 지표를 확립 할 수 있으리라 기대된다.

본 연구에서는 두 가지 유전자 *ZmRPS4*와 *ZmMET1*에 대해서 분자 유전학적 분

석을 실시 하였다. *ZmRPS4*와 *ZmMET1*는 모두 세포 분열이 왕성한 분얼경과 지하경에 많이 발현됨을 관찰 하였다. 또한 *in situ* hybridization 결과에서도 보이는 것처럼, 주로 분열이 왕성한 vascular 조직에서 많이 발현됨을 알 수 있었다. *ZmRPS4*의 경우 영양 생장 조직인 옆에 호르몬을 처리 했을 경우 ABA와 GA, cytokinin에 모두 발현 양이 증가함을 볼 수 있었다. Ribosomal protein들은 주로 house keeping gene 으로 알려져 있으나 많은 ribosomal protein들이 여러 가지 스트레스 또는 생장 과정에서 유도가 되는 것으로 알려져 있다 (Williams et al., 2003). 식물의 생장조절 호르몬의 세포내의 양적인 변화는 식물의 생장과 생육의 다양한 과정에서 나타나며, 이러한 변화는 유전자들의 발현을 결정지기도 한다 (Kende and Zeevaart, 1997). ABA는 다양한 스트레스에 의한 유전자의 발현을 조절하는 호르몬으로 알려져 있다. GA는 세포의 분열과 세포의 성장을 조절하는 호르몬으로 알려져 있다. Cytokinin의 대표적인 역할 중 하나는 세포의 분열 조절 한다는 것이다. *ZmRPS4* 또한 분얼조직에서 주로 발현이 되어졌다. 또한 cytokinin에 의해서 발현이 증가되는 것으로 미루어 볼 때, *ZmRPS4* 유전자는 세포의 분열 과정 중에서 다양한 유전자들을 전사시키는 과정에 참여하는 단백질로 추정하게 된다. 또한 ABA나, GA에 의해서도 발현이 증가 되는 것으로 미루어 볼 때, 다양한 스트레스에 의해서 유도되는 유전자들의 전사 과정에도 참여하리라 기대된다.

*ZmMET1*는 현재까지 다른 식물체에서 유전자의 역할이 보고 된바가 없다. 전술한바와 같이 다만 옥수수의 유전체 연구에서 얻어진 mRNA의 염기서열과 매우 유사하였다. 이 연구에서 얻은 MB32 클론은 full-length을 가지고 있지는 못한 것으로 판단이 된다. 그러나 이 유전자의 발현 양상은 조직 특이적인 양상을 보이고 있으며, 특히 분열이 왕성하게 일어나고 있는 옆의 시원체 세포들에서 주로 발현이 되고 있었다. 또한 세포 분열 과정에서 주로 관여하는 cytokinin 처리에서만 발현 양이 증가하는 곳으로 볼 때, 이 유전자는 분얼이 일어난 조직에서 중요한 역할을 할 것이라는 기대를 가지게 한다.

제 3 절 후기 녹체성 및 저착수고 선발을 위한 분자 마커의 개발

1. 후기 녹체성 특성에 관한 분자 지표 개발

가. 후기 녹체성 특성에 관한 AFLP 및 STS 분자 지표 개발

1) 후기 녹체성 특성에 관한 AFLP 분석

후기 녹체성 선발을 위하여 우리는 주관 연구 기관의 협동 연구를 통하여 후기 녹체성 식물체의 선발을 하였다. 이 MET 특성을 지니고 있으면서 후기 녹체성인 식물체와 비후기 녹체성인 식물체를 구별하였다. 이 near isolines들 간에 재현성과 높은 빈도의 다형성을 보이는 AFLP 분석을 실시하였다 (Seo et al., 2001). 실험에 사용된 primer 조합은 표18에 나타나고 있는 64개의 primer 조합을 이용하였다.

Table18. Sequences of primers and adapters used for AFLP analysis

Primers/adapter	Sequences†
*Eco*R I adapters	5-CTCGTAGACTGCGTACC-3 3-CTGACGCATGGTTAA-5
E (universal primer) *Eco*R I + 1 pimer *Eco*R I + 3 pimers‡	GACTGCGTACCAATTC E + A E + ACT E + AAC E + ACA E + AAG E + ACC E + ACG E + AGC E + AGG
Mse I adapters	5- GACGATGAGTCCTGAG-3 3-TACTCAGGACTCAT-5
M (universal primer) *Mse* I + 1 primer *Mse* I + 3 primers‡	GATGAGTCCTGAGTAA M + C M + CAA M + CAC M + CAG M + CAT M + CTA M + CTC M + CTG M + CTT

† DNA sequence are given in the 5 to 3 orientation unless indicated otherwise.

‡ Total 64 primer combinations were applied for selective amplification.

64 개의 AFLP primer 조합을 가지고 분석을 한 결과 두개의 primer 조합에서 3개의 후기 녹체성 특이적인 DNA 단편을 발견 할 수 있었다 (그림13). E + AGC/M + CAC 조합에서는 2개의 후기 녹체성 특이적인 DNA 단편이 발견이 되었는데 이 단편들은 매우 유사한 크기를 가지는 것으로 판단이 되었다. E + AAG/M + CAA 조합에서도 한 개의 후기 녹체성 특이적인 DNA 단편이 발견되었다. 또한 비후기 녹체성 특이적인 DNA 단편 또한 발견이 되었다. 4개의 primer 조합에서 6개의 DNA 단편이 비후기 녹체성 특이적 DNA 단편이었다. 그 조합 및 DNA 단편의 수는 다음과 같다. E + AAC/M + CAC에서 1개의 단편, E + ACT/M + CAC에서 1개의 단편, E + ACG/M + CAC,에서 2개의 단편, E+ACG/M+CAG에서는 2개의 단편이 발견이 되었다. 이는 표19에 나타나 있다.

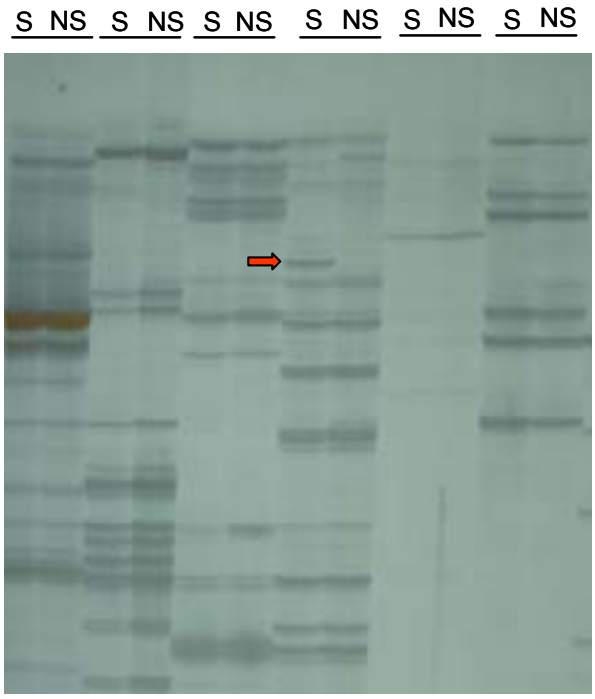

Fig13. Variation in AFLP patterns between staygreen MET and non-staygreen MET. Arrow indicates polymorphic fragment between staygreen MET and non-staygreen MET. S: staygreen MET, NS: non-staygreen MET.

Table19. Profile of polymorphic fragments between staygreen MET and non-staygreen MET.

Staygreen specific		Non-staygreen specific	
Combination	No. fragment	Combination	No. fragment
E+AGC/M+CAC	2	E+AAC/M+CAC	1
E+AAG/M+CAA	1	E+ACT/M+CAC	1
		E+ACG/M+CAC	2
		E+ACG/M+CAG	2

2) 후기 녹체성 특이적 DNA 단편의 염기 서열 분석

후기 녹체성 특이적 DNA 단편의 염기 서열을 분석하기 위하여 특이적 DNA band를 elution한 후 다시 동일한 primer를 이용하여 TA cloning methods를 사용하여 염기 서열 분석을 실시하였다 (Seo et al., 2001). 먼저 E+AAG/M+CAA primer 조합에 의하여 증폭된 특이적 DNA는 298 bp의 크기 였고, maize retrotransposon *Cinful*-1 (T14595)와 91%의 높은 유사성을 보여주었다. E+AGC/M+CAC primer 조합에서 증폭된 DNA 단편 중 하나는 236 bp로 구성이 되어 있었으며, 유사성 검정 결과 Zea mays 22 kDa alpha zein gene cluster (AF090447)의 intron 부위와 96%의 높은 유사성을 보여 주었다. 이에 대한 염기서열은 그림14에 나타나 있다.

A)

GATGAGTCCTGAGTAACAACAAAGATGTTTTTGCTTGGACAACCAATGATCTCTGTGGCGTCAA
TAGAGACATCATTGAGCACTCACTCAATGTGGACCCATCCTTCAGACCAAGAAAGCAGAGGCTTC
GGAAAATGTCCGATGATAAGGCTGAAGGTGCACGGAATGAAGTGAAGAGACTTCTAAGTGCCGA
CGTTATTAGAGAAGTAACATACCCAGAGTGGCTGGCCAACACTGTCATGGTAAAGAAAGCTAAC
AGAAAATGGAGAATGTGTATTGACTTTATAGATCTCAACAAGGCATATCCGAATGGTGAATTGG
TACGCAGTC

B)

GACTGCGTACCAATTCAGCGAGGGTTTCCGCAGGTACCATGTGCCGGAGGGACTGATGATCGTGA
ATGTTGGAACTCGCTCTCAGCAGCAAGAAGGCCAACAAGGGTGAACAGTGGTGACAGCAGGGTTA
CGTGCACGGGGGCAATAGCTCTGTTGATCTAGCCTCTCACGGGCATTGTGCGGGGGTATTTATAG
GTATCTGAGTGCCCAGCGTCTTGTGTTACTCAGGACTCATC

Fig14. AFLP fragments amplified from the primer combination E+AAG/M+CAA (A) and E+AGC/M+CAC (B). Underlines indicate selective primer sites.

3) 후기 녹체성 특이적 AFLP 분자 지표의 STS 분자 지표로의 전환

AFLP method는 다소 시간과 경비가 많이 드는 단점이 있다. 이에 보다 육종가들이 효율적이고 간편하게 사용 할 수 있는 Sequence Tagged Site (STS) marker로의 전환을 시도 하였다 (Shan et al., 1999; Seo et al., 2001). 두 개의 AFLP 단편의 염기서열의 말단으로부터 21-22 mer 정도의 primer들을 합성하였다. Primer 염기서열과 PCR 조건은 표20에 나타나 있다.

Table20. Profile of primer combinations which were used for detection of polymorphism between staygreen MET and non-staygreen MET through AFLP analysis. Sequences of STS primers derived from polymorphic DNA fragments were showed.

AFLP primer combination	Size (bp)	Entry of STS primer sets	Sequences of STS primer	Annealing temp.
E+AAG/ M+CAA	266	MET1	5′-ACCATTCGGATATGCCTTGTTG-3′ 5′-CAACAAAGATGTTTTTGCTTGG-3′	65℃ (30 sec)
E+AGC/ M+CAC	204	MET2	5′-AGCGAGGGTTTCCGCAGGTAC-3′ 5′-CACAAGACGCTGGGCACTCAG-3′	65℃ (30 sec)

이 STS primer set을 이용하여 PCR을 수행 하였다. PCR 조건은 annealing temp.와 annealing time을 조절하여 실시하였다. 그림15에서 보이듯이 MET1 primer set에서는 후기 녹체성과 비후기 녹체성 특징 간에 polymorphism이 나타나지 않았다. 그러나 MET2 primer set에서 기대치 않았던 약 300 bp의 band가 보이기는 하였으나, 200 bp정도에서 polymorphic band가 나타남을 확인 할 수 있었다. 따라서 이 STS marker는 후기 녹체성에 대한 marker로서 이용이 가능하리라 기대된다.

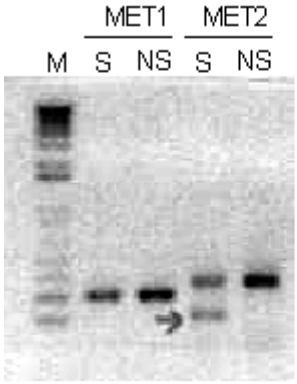

Fig15. PCR products amplifies with MET1 and MET2 primer stes. The arrow indicate polymorphic DNA fragment. S: staygreen MET, NS: non-staygreen MET. M: 1Kbp molecular marker(InVitrogen).

MET1 primer set에 의한 polymorphism이 나타나지 않는 것에 대한 원인을 파악하기 위하여 non-staygreen MET의 유전체로부터 얻어진 STS PCR 산물을 cloning하여 염기서열 분석을 하였다. 이에 대한 비교는 그림16에 나타나 있다. 비교 결과 non-staygreen MET로부터 얻어진 clone은 298 bp에서 단지 2 bp만이 AFLP에서 얻어진 PCR 산물과 차이를 보였다.

```
 SG MET CAACAAAGATGTTTTTGCTTGGACAACCAATGATCTCTGTGGCGTCAATAGAGACATCAT  60
NSG MET CAACAAAGATGTTTTTGCTTGGACAACCAATGATCTCTGTGGCGTCAATAGAGACATCAT  60

            *
 SG MET TGAGCACTCACTCAATGTGGACCCATCCTTCAGACCAAGAAAGCAGAGGCTTCGGAAAAT 120
NSG MET TGAACACTCACTCAATGTGGACCCATCCTTCAGACCAAGAAAGCAGAGGCTTCGGAAAAT 120

                     *
 SG MET GTCCGATGATAAGGCTGAAGGTGCACGGAATGAAGTGAAGAGACTTCTAAGTGCCGACGT 180
NSG MET GTCCGATGATAAAGCTGAAGGTGCACGGAATGAAGTGAAGAGACTTCTAAGTGCCGACGT 180

 SG MET TATTAGAGAAGTAACATACCCAGAGTGGCTGGCCAACACTGTCATGGTAAAGAAAGCTAA 240
NSG MET TATTAGAGAAGTAACATACCCAGAGTGGCTGGCCAACACTGTCATGGTAAAGAAAGCTAA 240

 SG MET CAGAAAATGGAGAATGTGTATTGACTTTATAGATCTCAACAAGGCATATCCGAATGGT  298
NSG MET CAGAAAATGGAGAATGTGTATTGACTTTATAGATCTCAACAAGGCATATCCGAATGGT  298
```

Fig16. Comparision of sequences of the PCR products amplified the MET1 primer set in staygreen MET and non-staygreen MET. The asterisks indicate different sequences between staygreen MET and non-staygreen MET.

2. 저착수고 특성에 대한 분자 지표 개발

가. 저착수고 특성에 관한 AFLP 분자 지표 개발

1) 저착수고 특성에 관한 AFLP 분석

저착수고 선발을 위하여 우리는 주관 연구 기관의 협동 연구를 통하여 저척수고 식물체의 선발을 하였다. 이 MET 특성을 지니고 있으면서 저척수고인 식물체와 고착수고인 식물체를 구별하였다. 이 near isolines들 간에 재현성과 높은 빈도의 다형성을 보이는 AFLP 분석을 실시하였다. 실험에 사용된 primer 조합은 앞의 표4에 나타나고 있는 64개의 primer 조합을 이용하였다.

분석 결과 4 개의 primer 조합에서 9개의 저착수고 특이적 polymorphic DNA 단편을 발견 할 수 있었다. Primer 조합 및 특이적 단편은 다음과 같다; E+ACT/M+CAG: 2개, E+ACA/M+CTG: 3개, E+AGG/M+CAA: 2개, E+AGG/M+CAC: 2개.

2) 저착수고 특이적인 DNA 단편의 염기서열 분석

저척수고 특이적인 DNA 단편 중에서 우리는 5개의 단편을 선택하여 TA cloning 기법을 이용하여 염기서열 분석을 실시하였다. 염기서열은 그림17에 나타나 있다. NCBI에 있는 data와 비교 분석 결과 E+ACA/M+CAA의 조합으로 생성된 PCR product들 중에서 작은 단편은 287 bp의 크기를 가졌으며 Zea mays *gypsy /Ty3*-type retrotransposon Tekay (AF050455)의 intron 부위와 높은 유사성을 보였다. E+ACA/M+CAA의 조합으로 생성된 PCR product들 중에서 큰 단편은 302 bp의 크기를 가졌으며, Zea mays clone BAC 206C17 (AF466932)의 염기서열 중에서 repeat region 부위와 높은 유사성을 보였다. E+ACA/M+CTG에 의해서 증폭된 PCR product는 Zea mays cultivar B73에서 유래된 클론 (AF464738)의 retrotranposon *Cinful*-1을 coding하는 부위와 높은 유사성을 보였다. E+AGG/M+CAA의 primer 조합으로 증폭된 PCR 산물은 Zea mays CL1846_16 mRNA sequence (AY111097)와 매우 높은 유사성을 보였다. 흥미롭게도 E+AGG/M+CAC로 증폭된 PCR 산물도 Zea mays CL1846_16 mRNA sequence (AY111097)와 매우 높은 유사성을 보였는데 두 PCR 산물간의 염기서열 간의 차이는 selective primer 부위인 1bp와 내부 염기서열 부위인 1 bp 차이만을 보였을 뿐 우 두 염기서열 간의 차이는 거의 존재하지 않았다.

> E+ACA/M+CAA(1)

GACTGCGTACCAATTCACAGAATCGTCAAGGTGGCGCCAGTAACACGCAGGCCAGAAACAACACA
CCTATCCAACCCAATGGTTGTTTCAAGTGCGGTGAGCTAGGCCACTATGCTAACAACTGCCCAAG
GCGCAACCAGTAGACACCCCAGAAAGGCAATAATCAGAGGAATGACCAGAACACCCCCGCTCGTG
GATCTGCTCAGAACAAGACACCACAGAACCAGAGCAGAGGAAGGGTCAATCACGTCACTGCGGAA
TTAGTGCCCGAGGATGCCGACATAGTGTATGGTATGTTCCTTGTTACTCAGGACTCATC

> E+ACA/M+CAA(2)

GACTGCGTACCAATTCACAAATAGAAGGCTTTCTTGAGGATGAGGGCATCAAGCATGAGTTCTC
TTCTCCCTACACGCCACGACAAAATGGTGTAGTGGAGAGGAAGAATAGAACTCTACTTGACATG
GCGAGGACCATGCTTGATGAGTACAAGACTTCGAATCGGTTTTGGGCAGAAGCAATCAACACCGC
TTGCTACGCCATCAACTGTCTCTACCTTCACCGAATCCTCTAGAAGACATCATATGAACTCCTAA
CCGGTAAAAAGCCCAACGTTTCATATTTTACAGTCTTTGGTAGCAAATGATTTATTCTTGTTAC
TCAGGACTCATC

> E+ACA/M+CTG

GACTGCGTACCAATTCACCTTAGACTACGTGCATAGATCTACAATTCAATCTCAGGCACTAGTAG
ACTTCATAGCTGACTGGACGCCAGGGGCTCACGAAGAAGGGACGAGCAAAGATACCGAAGCTTGG
ATGGTATTCTGCGATGGTTCTTGGGGAACCTTCGGAGCAGGAGCGGCTGCGGTTCTAATCGCACC
TTCAAAAGTCAAAACATGTTTCGTAGTTACTCAGGACTCATC

> E+AGG/M+CAA

GACTGCGTACCAATTCAGGTGCACCGCAAACTCTGATTCAGAGCTGCCTGACCTTTGGGACTTTC
TCGTACATCATAGAGACGCTAAACAAGCAGCAGCCCGCACTGGCGCTACCACTGGCTAAGGATCA
AAATGCTGGACAAAGTGTTCTTCCTCCCTTCACGCTCCCTCTTCCGCAGGATGCGATGGATGGAT
TTTCTAAGTTCCAGAACTTTTTGTCGTCGAAATTTCAGGGAAAATGAGTCACCTTATGGAGTGA
CGTTTAGTTGCCTTGTAAATGCGTCAATCTGAGCCCTTTTTTGGGTTTATTTCTCTGCAAATGT
ATGTTTCTAAGGTAGTGTCTTGTTACTCAGGACTCATC

> E+AGG/M+CAC

GACTGCGTACCAATTCAGGTGCACCGCAAACTCTGATTCAGAGCTGCCTGACCTTTGGGACTTTC
TCGTACATCATAGAGACGCTAAACAAGCAGCAGCCCGCACTGGCGCTACCACTGGCTAAGGATCA
AAATGCTGGACAAAGTGTTCTTCCTCCCTTCACGCTCCCTCTTCCGCAGGATGCGATGGATGGAT
TTTCTAAGTTCCAGAACTTTTTGTCGTCGAAATTTCAGGGAAAATGAGTCACCTTATGGAGTGA
CGTTTAGTTGCCTTGTAAATGCGTCAATCTGAGCCCTTTTTTGGGTTTATTTCTCTGCATATGT
ATGTTTCTAAGGTAGTGTCGTGTTACTCAGGACTCATC

Fig17. AFLP fragments amplified from the each primer combination Underlines indicate selective primer sites. Shade regions represent different sequences of PCR products produced between E+AGG/M+CAA and E+AGG/M+CAC.

3) 저착수고 특이적인 STS 분자 지표 개발

위에서 얻은 염기서열을 이용하여 STS 분자 지표를 개발하고자 하였다. 5개의 AFLP polymorphism을 보이는 것 가운에 거의 동일한 염기서열 양상을 보이는 E+AGG/M+CAA와 E+AGG/M+CAC에 의해서 증폭이 된 PCR 산물 가운데 E+AGG/M+CAC에 의한 것은 생략하였다. 4개의 Primer 조합들은 20-22 mer로 합성을 하였다. 이에 대한 primer 자료는 표21에 나타나 있다. 그러나 4개의 primer 조합들에 의한 PCR 산물은 annealing temperature와 time의 조절에 의해서 어떠한 polymorphism이 발견되지 않았다. 이에 대한 자료는 첨부하지 않는다.

3. 후기 녹체성 및 저착수고 특이적인 분자 지표에 대한 고찰

가. 후기 녹체성 및 저착수고 특이적인 분자 지표에 대한 고찰

식물 엽의 노화는 발달의 마지막 과정이다. 식물의 엽의 노화는 일반적으로 엽록소의 감소 및 광합성 관련 단백질의 파괴 등으로 인해서 나타나기 시작한다. 그러나 후기 녹체성을 가지는 옥수수는 일반적인 옥수수에 비해서 종실 성숙기까지 광합성이 가능하기 때문에 광합성 산물이 전류 및 축적에 매우 유리하다고 할 수 있다. 현재 후기 녹체성 특성을 지닌 벼는 국내 연구진에 의해서도 보고 된바가 있다 (Cha et al., 2002). 그러나 국내외 연구진에 의해서 후기 녹체성을 지니고 있는 옥수수에 관한 연구는 다소 적은 편이다. 따라서 분자 지표를 이용한 MAS가 가능하다면, 후기 녹체성 옥수수를 선발하는데 보다 효과적일 것이라 생각이 된다. 본 연구에서는 옥수수의 타가수정 특성을 가지고 있음에도 불구하고 두개의 isoline 간에 매우 높은 유사성을 보였다. 특히 후기 녹체성과 연관이 되어 있으리라 기대가 되는 두 개의 AFLP 분자 지표와 하나의 STS 분자 지표는 육종 연한의 단축에 큰 기여를 하리라 생각된다. 특히 STS 분자 지표는 실질적인 분자 육종 연구에 매우 효율적인 도움을 주리라 기대가 된다. 여기서 두개의 AFLP에 의해서 생성된 분자 지표의 염기서열 분석을 해본 결과 하나의 클론이 maize retrotransposon *Cinful*-1와 매우 유사함을 발견 할 수 있었다. 옥수수는 retrotransposon인 *Cinful* family를 전체 유전체에 약 9%인 18,000 copy를 가지고 있는 것으로 추정이 되고 있다 (Sanz-Alferez et al., 2003). 이것은 *Cinful* family들이 진화 및 육종의 과정 중에서 전이가 되었으리라 기대가 되며, 이로 인한 형질의 변화를 초래하지 않았을까 기대가 된다. 또 다른 AFLP 분자 지표는 22 kDa alpha zein gene cluster의 intron 부위와 높은 유사성을

보였다. 이 사실은 alpha zein gene cluster 부위나 혹은 인근의 다른 유전자 부위가 후기 녹체성에 관여 할 것이라 생각이 된다.

Table21. Profile of primer combinations which were used for detection of polymorphism between low ear hight MET and high ear hight MET through AFLP analysis. Sequences of STS primers derived from polymorphic DNA fragments were showed.

AFLP primer combination	Size (bp)	Entry of STS primer sets	Sequences of STS primer	Annealing temp.
E+ACA/ M+CAA	281	MET3	5′-CACAGAATCGTCAAGGTGGC-3′ 5′-CAAGGCACATACCATACACTA-3′	60℃
E+ACA/ M+CAA	296	MET4	5′-ACAAATAGAAGGCTTTCTTGAG-3′ 5′-CAAGAATAAATCATTTGCTACC-3′	60℃
E+ACA/ M+CTG	199	MET5	5′-CACCTTAGACTACGTGCATAG-3′ 5′-GTTTTGACTTTTGAAGGTGCG-3′	65℃
E+AGG/ M+CAA	323	MET6	5′-CAGGTGCACCGCAAACTCTGA-3′ 5′-CAAGACACTACCTTAGAAAC-3′	60℃

저착수고 특성은 옥수수 수확에 있어 기계화를 가능하게 하는데 기여를 할 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서 얻어진 분자 지표는 저착수고 옥수수의 분자 육종에 도움을 줄 것이다. 본 연구에서 저착수고와 관련된 분자 지표는 후기 녹체성에 비해 다소 많이 나타났다. 이는 후기 녹체성에 비해 저착수고의 특성이 다소 많은 유전자좌가 관여를 하는 것으로 기대가 된다. AFLP 단편의 염기서열 분석에서도 주로 retrotransposon과 유사성이 나타났는데, 이는 옥수수의 유전체의 50% 이상이 retrotransposon으로 구성이 되었기 때문에 상대적으로 많이 발생되는 것으로 기대된다. 본 연구에서 AFLP 분자 지표의 STS 전환은 약 15% 정도로 낮은 비율로 관찰이 되었다. 이는 이전 연구들에서 관찰된 것처럼 AFLP는 제한 효소의 site와 selective primer들의 조합에 의해서 polymorphism이 관찰이 될 수 있으나, STS는 이와는 다르게 AFLP 분자지표의 내부 염기서열을 가지고 primer를 제작하는 것이 때문에 이것이 PCR 조건에서 1 bp나 2 bp 차이를 감지하기 어려울 것으로 기대된다 (Shan et al., 1999; Seo et al., 2001). 또한 본 연구 결과에서 관찰한 것처럼 AFLP의 polymorphism은 주로 repetitive sequences에서 많이 발견이 되기 때문에 RFLP 분자 지표의 PCR 분자 지표의 전환처럼 용이하지 못할 것이다. 따라서 이를 보안 할 새로운 방법의 모색이 필요하리라 기대된다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

- 주관+제2협동과제

조사료용 다수확 옥수수 품종개발을 위해 다얼성계통군, 후기녹체성계통군, 저착수고계통군 및 반왜성계통군을 상호교배하여 120여 교잡종에 대한 1차로 대전, 수원, 밀양에 파종하고, 이들 3지역으로부터 선발된 우수 교잡종 10여 조합을 2차년도에서 동일지역에 파종하여 각 지역에서 2개씩 선발된 6조합을 대조구(광안옥)과 3년차에 파종하여 얻어진 결과를 살펴보면, 공시교잡종에 대한 간장은 대조구와 비슷하거나 10cm가량이 컸으나 저착수고계통과의 교배에 의한 착수고율이 50%이하를 보여 내재해성(도복)에 강한 안정된 초형을 보임으로써 목표달성에 크게 만족하였으며, 후기녹체성계통군의 도입으로 새로 육성된 교잡종들의 후기녹체성이 대조구와 비슷하여 조사용 옥수수를 실용화하는데 큰 문제가 없을 것으로 평가되었다. 단위면적당 종실수량면에서는 일부 분얼형 육성 품종을 제외하고는 10% 내지 15%의 증수효과를 보여 이들 교잡종을 조사료용으로 확대 보급할 경우 싸일리지용이나 조사료용으로 이용될 경우 사료작물로써 크게 유리할 것으로 판단된다. 특히 분얼형 교잡종인 경우 종실수확지수가 30% 미만으로 나타났는데, 이들 특성은 청예사료용으로 이용가치가 크기 때문에 이용면에서 역시 축산농가에 유리한 작물로 기대된다. 다만 본 실험에서 생체중이나 종실수량이 목표량에 다소 미흡했던 이유는 1차, 2차 선발과정을 거쳐 분얼형 교잡종이 종실수량에서 다소 미흡했기 때문에 일부 생체중이 높은 교잡종이 본 실험인 3차에서 제외된 점으로 이들 생체중이 높은 분얼형 교잡종은 별도의 비배관리(재식밀도, 시비수준)를 통해 단위 면적당 최고 120% 증수가 가능할것으로 판단되어 금후 이에 대한 집중적인 연구를 통해 적정 재배 방법이 확립됨으로써 생체용 사료작물로써의 효과가 클 것으로 분석되었다.

- 제 1 협동 과제

본 협동 과제의 연구 목표는 다수다얼성 (MET) 옥수수 특이적 유용 유전자 분리 및 동정을 실시하고 후기 녹체성의 MET 돌연변이체를 선발하기 위한 분자 지표의 개발을 목표로 하였다.

본 연구를 통하여 MET 품종에서 분얼경 특이적 유전자 군을 확보하기 위하여 cDNA library를 구축하였다. 이 library를 primary titer와 insert DNA 크기, EST 분석 singleton의 비율 등을 볼 때, 분얼경 특이적 유전자들을 확보한 gene pool로서 역할을 하리라 기대된다. 이러한 library는 아직까지 다른 연구 팀에서 보고 된바가

없으며 향후 다른 추가적인 연구에서도 그 가치가 매우 크리라 기대된다.

EST 분석에서도 얻어진 클론들 또한 기존에 알려져 있는 유용 유전자를 많이 확보 하고 있어 계획 했던 것에 반에 훌륭한 성과를 얻은 것으로 판단이 된다.

EST data와 DH 분석을 통해서 얻어진 유용한 클론에 대한 분석 또한 계획했던 것처럼 완성도 있는 실험을 실시하였다. 특히 *ZmRPS4*과 *ZmMET1* 유전자에 대한 분자 유전학적 분석은 국내외에서 최초로 진행이 된 것으로 국제 저명 학회지에 투고 할 예정이다. 이러한 발표는 MET형의 옥수수에 대한 유용성을 알릴 수 있는 좋은 기회로 생각되며, 후에 MET 옥수수의 농가 보급 시에도 학문적인 신뢰성을 확보할 수 있으리라 생각이 된다.

본 과제 또 다른 학문적인 축인 후기 녹체성 MET 형 옥수수의 육종 초기 선발을 위한 분자 지표 개발에 있었다. 본 연구에서는 계획과 동일하게 후기 녹체성 MET 형의 옥수수 선발 지표를 구축하였다. 특히 STS 분자지표는 그 유용성이 매우 크리라 기대된다. 그러나 MET type의 분리 세대에서 이것에 대한 추가적인 검정을 요구될 것이라 생각이 된다.

본 연구 계획가 별도로 본 연구진에서는 저착수고 MET 형 옥수수에 대한 분자 지표를 개발하였다. 이 분자 지표는 농업적 이용 가치가 매우 높은 저착수고 MET의 육종 선발을 촉진 할 수 있으리라 기대된다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 주관 + 협동2 과제

신품종 사료작물로 육성될 다수성 옥수수는 청예수량이 150~200%, 건물수량이 80~100%, 종실수량 역시 20%이상 증수될 수 있는 고부가가치성 작물로 이미 국내·외 저명 학술지에 연구 결과가 다수 보고된 바 있으나 아직껏 실용화 되지 못하고 있었던 이유로 기상재해에 대한 안정성 문제로써 예를들면; 내도복성, 후기녹체성, 내병성등의 문제가 해결되지 못한 점을 들 수 있다. 이에 대한 대책으로 현재 본인등이 가지고 있는 교배친에 대해 집중적인 연구를 통해 문제점의 보완이 완전 가능하며, 그 결과 국내 사료 문제 자급율을 크게 신장시킬 뿐만 아니라 막대한 외화낭비를 절감하는데 크게 기여 할 것이다.

본인등은 1990년대초반부터 기존의 다수성 계통에 내재해성 유용유전 형질을 대체하고자 돌연변이원 처리에 의해 착수고가 낮은 다수의 계통, 후기녹체성계통 그리고 반왜성계통을 다수 확보하였고 이들 형질을 도입함으로써 결과적으로 안정 다수확 환경친화성 고부가가치성 신품종 옥수수를 육성하고자 한다.

그 결과 이들 신품종 다수성(조사료 및 농후사료 겸용) 옥수수 재배 면적이 크게 확대됨으로써 곡물사료의 수입량을 대폭 줄 일수 있기 때문에 축산농민의 경영비 절감으로 농가소득에 크게 기여할 것이며, 동시에 국가 외화낭비를 절약할 수 있으므로 국가 경제에 크게 이바지 할 것이다. 뿐만 아니라 현재 급부상하고 있는 GMO에 의한 식품안정성문제 또한 전혀 문제화 될 수 없기 때문에 개발된 품종의 가축 사료 및 식용으로의 이용성에는 문제가 없다. 따라서 금번 집중적인 연구 결과를 통해 신품종 사료용 옥수수의 개발은 새로운 사료작물로 각광받을 수 있을 것으로 확신하며, 이에 대한 종자생산체계를 확립함으로써 국내·외적인 수출전략 상품으로 활용될 것으로 본다.

- 제 1 협동과제

본 연구 결과에서 얻어진 다양한 유전자 클론들은 다른 연구에서 필요한 유전자를 탐색시에 probe로서 이용이 되리라 생각이 된다. 특히 분얼경은 새로운 기관으로 발달을 하는 과정 중에 있는 조직으로 이에 관련된 많은 유용 유전자들이 확보 되리라 생각이 된다. 따라서 식물의 생장 과정에서 나타나는 다양한 유전 현상을 규명하는 연구에서 중요한 연구 자료로 이용이 되리라 기대된다.

특히 본 연구에서 분석된 두 가지의 유용 유전자는 아직 그 기능에 발현 양상에 대해서 규명이 된바가 없다. 따라서 이 유전자 분석을 통한 국외 우수 연구지에 보

고가 가능하리라 생각이 되며, 이를 통한 국내외의 많은 연구진에게 식물의 발달 과정에서 하나의 분자 유전학적인 과정을 소개 할 수 있으리라 기대된다.

후기 녹체성 MET와 저착수고 MET에 관한 분자 지표의 구축은 차기에 이런 유용 형질을 지니는 옥수수의 육종의 연한을 단축시키는데 도움이 되리라 생각이 된다. 또한 후기 녹체성 및 저착수고에 대한 분자 유전학적 연구에서 이에 관련된 유전자좌를 분석하는데 또한 큰 도움을 주리라 기대된다. 현재 본 연구에서는 아쉽게도 분리 세대에서 검정을 실시하지 못하였다. 현재 본 연구실에서는 이 연구를 계속적으로 진행 중에 있으며, 보다 완벽한 분자 지표의 확립을 위해서는 다른 계통에서도 적용 가능성이 있는지에 대한 연구가 필요하리라 생각된다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

단위면적당 수량이 가장 높은 사료작물로써 옥수수의 가치가 인정되고 있으나, 대부분의 종실위주의 연구가 진행되어 왔으며, 일부 다수성(Prolificacy)의 유전인자 도입을 시도한 바 있으나 이는 기존 품종을 밀식 했을 경우 불임개체에 대한 보상효과를 얻는데 목적은 두고 있다.(Russell. 1974, Duyick. 1968, Harris. 1976, Hallauer. 1972, Buren. 1974)

이에 대해 본 연구는 다수·다얼성(Multi tiller and ear) 유전인자를 도입하여 단위면적당 조사료량을 높히고자 실시 하였는데 여기에는 하위엽조기고사(Non-stay green)와 고착수고(High ear height)의 열악형질이 나타남으로써 이를 극복하고자 하는 연구가 계속되어 왔다.(Tsotsis. 1972, Choe et al. 1991. 1992, Lee et al. 1992. 1996. 1998. 1999. 2001)

화본과에 속한 많은 월동 작물 및 하계 작물 (벼, 보리, 밀, 수수 등)들은 분얼을 통하여 수량성의 증가가 이루어지고 있다. 그러나 옥수수의 경우 매우 동일한 화본과임에도 불구하고 매우 다른 양상을 보이고 있다. 옥수수의 분얼에 대한 연구는 전세계적으로 거의 이루어지고 있지 않다. MET의 유용성을 고려한다면, 이에 대한 연구가 반드시 필요하리라 생각이 된다. 그러나 이러한 연구를 위해서는 정교한 유전자 지도 및 분자 유전학적 연구가 수반 되어야 한다. 분얼과는 매우 유사한 기작인 지하경 (rhizome)에 대한 연구가 현재 Dr. Andrew H Paterson (University of Gerogia) 연구실에서 지난 10여 년 동안 진행이 되고 있다는 정보를 수집 할 수 있었다. 이 연구진은 *S. bicolor* BTx623과 *S. propinquum* (unnamed accession)과의 인위 교잡을 통해서 Backcross 1과 F2 세대를 확보 하였으며, 이 유전자원의 분석을 통하여 정밀한 유전자 지도를 구축하였다 (Paterson et al., 1995). 이 연구에 따르면 지하경의 수를 조절하는 특징은 3가지의 quantitative trait loci (QTL)이 영향을 미친다고 보고 하였으며 이중 하나의 지역 (*pSB195-SHO68*)이 가장 dominant 한 효과를 보여 주었으며, 다른 두 곳의 위치는 additive한 효과를 보인다고 보고 하였다. 또한 지경경은 4가지 유전자가 작용을 하는 것으로 추정이 되며 이중에서 2가지의 유전자는 dominant 양상을 보이고, 하나는 recessive, 그리고 또 하나는 overdomininat의 양상을 보이는 것으로 보고 하였다. 이러한 연구 결과는 MET의 형성 과정과 유사한 기작으로 작동되리라 기대가 된다. 따라서 옥수수의 유전자 지도와 수수의 유전자 지도의 비교 분석이 필요할 것이다. 보다 심층적인 연구를 위해서는 이러한 연구진과 국제 공동 연구 등도 필요하리라 생각된다.

제 7 장 참고문헌

Acosta, A.E. & P.L. Crane.1972. Further selection for lower ear height in maize. Crop Sci. 12:165-167.

Adams MD, Kelley JM, Gocayne JD, Dubnick M, Polymerooulos M, Xiao H, Merril C, Wu A, Olde B, Moreno R, and others (1991) Complementary DNA sequencing expressed sequence tags and the human genome project. Science 252: 1651-1656.

Asada, Joonsi, Hee Bong Lee, Bong Ho Choe, and Moon Kyu Kim. (1992) Absorption of Nutrients on Different Growth Stages in Maize with Tillers. Korean J. of Crop Sci.37(3).

Blanco, J.L., 1976. Selection objectives for maximum yields of feed with hybrid maize. Anim. Feed Sci. Technol. 1;245-250.

CHOE, B H, J. S. PARK, Y. R. KIM and K. Y. PARK. (1981a). Investigation on Korean local maize lines. V. Variabilities of plant characters of multi-eared and tillered lines (MET). (Korean with English summary). Korean J. Crop Sci. 26:56-68.

CHOE, B. H., J. S. PARK, Y. R. KIM and S. K. JONG (1981b). Investigation on Korean local maize ilnes. VI. Use of a Korean local maize line for silage production. (Korean with English summary). Korean J. Crop Sci. 26:251-256.

CHOE, B. H. and H. B. LEE. (1985). A maize line with high tillers and ears, and its silage values. p. 165. *In* Proc. of 13th Congress of the Maize and Sorghum Section of EUCARPIA, Wageningen, the Netherlands.

Choe, B. H., H. C. Ji, W. K. Lee, H. B. Lee, T. I. Kim, and Y. W. Kown. (1998) Characers of Tillering Maize Hybrids. Korean J. Breed 30(4):331-336

Choe, Bong Ho, Hee Bong Lee, Won Koo Lee, Man Kee Baek, Hee Chung Ji, and R. P. Cabangbang. (1993) Inbreeding Depression and Heterosis of Maize Tillers. Crop Production and Improvement Technology in Asia. 439-444, KSCS, Korea

Choe, Bongho, Heebong Lee and Wonkoo Lee. (1992) Agronomic Characteristics of Maize Inbreds with Tillers and Their Hybrids. Korean J. Breed 23(4).

Choe. B. H, K. Kang, W. K. Lee and H. B Lee. (1993) Tiller angles of maize with tillers. MGNL(63):75-76.

Choe. B. H, Y. W Second and H. B. Lee. (1993) The root systems of maize with tillers. MGNL(63):75-76.

Choe Bong ho, Hee Bong Lee, Woo Koo Lee, Hee Chung Ji, Chong Tae Chung and Seung Keun Jong. (1994) Characteristics of Tillering Maize inbred IK4. Korean J. Breed. 26(4) : 447-450

Choe Bong Ho, Hee Bong Lee, Won Koo Lee, Kwon Kyu Kang and Chang Yeol Choi. (1994) Maize with Multiple Ears and Tillers(MET). IV. Leaf Characteristics of IK Type Maize with Tillers. Korean Jourean Journal of Crop Science. 34(4)

Choe Bong Ho, Hee Bong Lee, Won Koo Lee, Kwon Kyoo Kang and Seung Keun Jong. (1994) The Maize with Multiple Ears and Trllers(MET). III. Developmental Habit and Morphology of the Tillers. Korean J. of Crop Science. 34(1)

Choe. B. H, H. C. Ji, W. K. Lee, H. B. Lee, T. I. Kim, and Y. W. Kown. (1989) Characters of Tillering Maize Hybrids. Korean J. Breed. 30(4):331-336

Collins, W.K., W.A. Russel & S.A. Eberhart, 1965. Performance of two-ear typr of Corn Belt maize. Crop Sci. 15:113-116.

Covitz PA, Smith LS, and Long SR (1998) Expressed sequence tags from root-hair-enriched *Mecago truncatula* cDNA library. Plant Phyiol 117: 1325-1332.

Daynard, T.B., 7978. Practices affecting quality and preservation of whole-plant corn silage. Can. J. Plant Sci. 58:651-659.

Deiuem, B. & J .J. Bakker, 1981. Genetic differences in digestibility of forage maize hybrids. Neth. J. Agric. Sci. 29:93-98.

Giesbrecht, J., 1961. The inheritance of ear height in Zea mays. Can. J. Genet. Cytol. 3:23-26.

Glenn, F.B. & T.B. Daynard, 1974. Effects of genotype, planting pattern, and plant density on plant-to-plant variability and yield of corn. Can. J. Plant Sci. 54:323-330.

HALLAUER, A. R. and A. F. TROYER. (1972). Prolific corn hybrids and minimizing risk of stress. Proc. Ann. Corn & Sorghum Res. Conf. 27:140-157.

Harris, R.E., R.H. Moll & C W. Stuber.1976. Control and inheritance of prolificacy in maize. Crop Sci. 16:843-850.

Hisada S, Akihama T, Endo T, Moriguchi T and Omura M (1997) Expressed sequence tags of *Citrus fruit* during rapid cell development phase. J. Amer. Soc. Jort Sci. 1226(3): 808-812

Hunter, R.B., 1978. Selection and evaluation procedures for whole-plant corn silage. Can. J. Plant Sci. 58; 661-678.

Jang CS, Hong BH, S대 YW (1999) Wxpressed sequence tage of he wheat-rye translocatuon line possessing 2BS/2RL. Korean J. Crop Sci. 44(3): 302-307.

Josephson, L.M. & H.C. Kincer,1977. Selection for lower ear placement in two synhtetic populations of maize. Crop Sci. 17:499-502.

Kang Kwon Kyu, Hee Bong Lee, Won Ku Lee and Bong Ho Choe. (1994) Growth Analysis of Maize with Tillers. 34(3)

Kim Chol-Min, Hee-Bong Lee, Hyun Gu Choi, Jae Young Jung. (2001) Relationship maize inbred lines with tillers using botanical characteristics and RAPD analysis. Jour. Agri. Sci. *Chungnam Nat´l Univ., Korean* Vol.28(1):51-60

Lee, H.B., 1995. Maize germplasm and its impact on maize breeding in Korea.

Lee, H.B., 1998. Characters of tillering maize hybrids. Korea J. Breed. 30(4)

Lee Hee-Bong, Dong-Uk Kim, Jun-Pyo Kim, Yong-Il Kim, Hyun-Gu Choi, Hyeon-Gui Moon, Chung-Yeol Lee. (2003) Comparison of Yield and Dry Matter of Hybrid Corns Crossed among CNU and SK lines

Lee Hee Bong, Chol Min Kim, Gi Hoon Kim, Jae Young Jung, Chong Tae Jung, Jong Hawn Yu, and Bong Ho Choe. (1999) Contribution of Main Stem and Tiller of Hybred Tillering Maize(*Zea mays* L.) to Dry Matter Production and Kernel Yield. Korean J. Breed. 31(3):209-217

Lee Hee-Bong. (2001) Characteristics of Waesungri Maize (*Zea mays* L.) Inbred with Multi Tillers and Ears for Crude Forage Use. Plant Res. 4(1):31-35

Lee Hee Bong, Bong Ho Choe and Moo Snag Lim. (1998) Evaluation and Utilization of Korean Local Maize Germplasm. Korean J. Breed. 30(2):99-103

Lee Hee-Bong, Bong-Ho Choe, Won Koo Lee and Hee Chung Ji. (1993) Relationship Between Sources and Sinks in Tillering Maize, Zea mays L. Journal of Agricultural Science Vol. 20,(2), December

Lee, Hee Bong, Bong Ho Choe, Won Koo Lee, Man Ki Baek and Hee Chung Ji. (1993) Studies on Maize with Multiple Ears and Tillers(MET) VII. Characters Associated with Lodging in Tillering Hybrid Maize. Korean J. Breed 25(1).

Lee, Hee Bong. (1990) Diallel Cross Analysis of Major Quantitative Charcters in Tillering Maize. Korean J. Breed 22(2).

Lee, Hee Bong and Bong Ho Choe. (1998) Genetic Characteristics of Maize(*Zea mays* L.) with Multiple Ears and Tillers(MET) Korean J. Breed 20(4).

Lee, Won Koo, Bong Ho Choe, Hee Bong Lee and Kwon Koo Kang. (1992) Variation in Advanced Generation of Maize Hybrids with Tillers. Korean J. Breed 24(1).

Lee, Won Koo, Kwon Kyoo Kang, Hee Bong Lee, and Bong Ho Choe. (1989) Penetrance and Expressivity of Genes Associated with Maize Tillers Korean J. Breed 21(3).

Lim CO, Kim HY, Kim MG, Lee SI,Chung WS, Park SH, Hwang IH, and Cho MJ (1996) Expressed sequence tage of Chinese cabbage flower bud cDNA. Plant Physiol. 111: 577-588

Moon, H.G., Quantitative genetic analysis of RⅡ from tropical maize singlecrosses

Roth, L.S., G.C.Marten,W.A.Compton & D.D. Stuthman, 1970. Genetic variation of quality traits in maize forage. Crop Sci. 10:365-367.

Russell, W.A. 1968. Testcross of one- and two-ear types of Corn Belt maize inbreds: I. Performance at four plant densities. Crop Sci. 8:244-247.

Seo, Yong Weon, Bong Ho Choe, Hee Bong Lee, Byung Hwan Kim and Keun Young Park. (1987) Studies on the Maize with Multiple Ears and Tillers (MET) I. Effects of Plant Densities on the Major Characteristics of MET Hybrid IK×IRI Korean J. Breed 19(3):245-254

Sorrells, M.E., J.H. Lonnquist & R.E. Harris. 1979. Inheritance of prolificacy in maize. Crop Sci.301-306.

Thompson, D.L. 1982. Grain yield of two syhthetics of corn after seven cycles of selection for lodging resistance. Crop Sci. 22:1207-1210.

Tsotsis, B. (1972). Objectives of industry breeders to make efficient and significant advances in the future. Proc. Ann. Corn & Sorghum Res. Conf. 27:93-107.

Vera, G.A. & P.L. Crane,1970. Effect of selection for lower ear height in synthetic populations of maize. Crop Sci. 10:286-288.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.