



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년03월19일
(11) 등록번호 10-1960068
(24) 등록일자 2019년03월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01H 6/46 (2018.01) A01H 1/04 (2006.01)
A01H 1/06 (2006.01) A01H 5/08 (2018.01)
A01H 5/10 (2018.01)
(52) CPC특허분류
A01H 6/4678 (2018.05)
A01H 1/04 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0123163
(22) 출원일자 2018년10월16일
심사청구일자 2018년10월16일
(56) 선행기술조사문헌
KR101170348 B1
KR101546499 B1
CN107439366 B

(73) 특허권자
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
서용원
서울특별시 성북구 안암로 145, 생명과학대학 (안암동5가, 고려대학교안암캠퍼스)
김대연
서울특별시 성북구 안암로 145, 생명과학대학 (안암동5가, 고려대학교안암캠퍼스)
이용진
서울특별시 성북구 안암로 145, 생명과학대학 (안암동5가, 고려대학교안암캠퍼스)
(74) 대리인
이처영, 장제환

전체 청구항 수 : 총 1 항

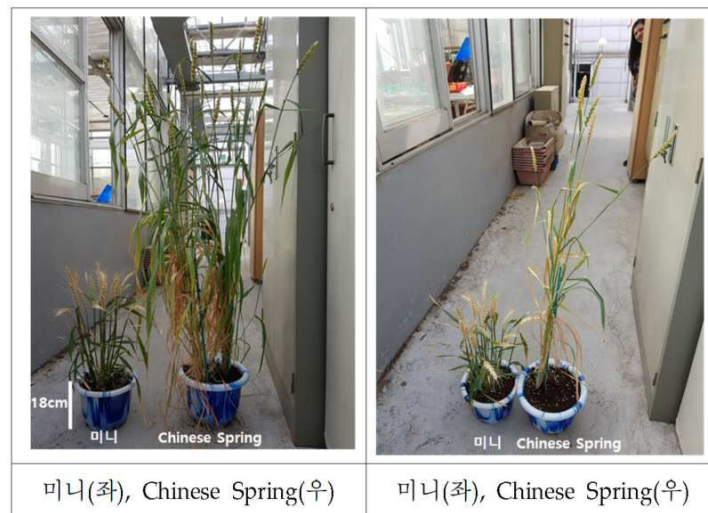
심사관 : 김민정

(54) 발명의 명칭 초단간 밀 신품종 '미니' 및 이의 육종방법

(57) 요약

본 발명은 초단간 밀 신품종 '미니'에 관한 것으로, 본 발명에 따른 밀 신품종 '미니'는 초단간 특성으로 웃자람이 나타나지 않아 도복저항성이 우수하면서 밀 수량 안정성이 우수하여, 곡물자급률 향상에 기여할 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A01H 1/06 (2013.01)

A01H 5/08 (2018.05)

A01H 5/10 (2018.05)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ01324401

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 식물분자유종사업단

연구사업명 차세대바이오그린21_식물분자유종사업

연구과제명 경질밀 육성체계 확립을 위한 글루텐 유전자 분석 및 환경스트레스 저항성 분자유종연구

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교산학협력단

연구기간 2018.01.01 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

하기와 같은 식물학적 특성을 갖는 것을 특징으로 하는 밀 신품종 '미니' KCTC 13638BP:

초장: 53~67cm;

간장: 44~56cm;

수장: 7~9cm;

밀수량: 457~771 kg/10a; 및

천립중: 29.67~42.76(g).

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 초단간 밀 신품종에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 초장: 53~67cm; 간장: 44~56cm; 수장: 7~9cm; 밀수량: 457~771kg/10a; 및 천립중: 29.67~42.76(g)과 같은 식물학적 특성을 갖는 것을 특징으로 하는 밀 신품종 '미니' KCTC 13638BP에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 우리나라 경지이용률은 1970년 142%에서 2017년 103%로 감소하였다(국가통계포털). 이는 국내 농경지에 대한 이용여지가 많고, 곡물 자급률 제고를 위한 이모작 확대에 필요한 경지 확보가 가능하다는 것을 의미한다. 특히 밭에 비해 재배조건이 좋은 논의 재배면적은 약 99만ha에 달하는 데 반해 맥류(밀, 보리 등)의 재배면적은 2.8만ha 수준에 머물고 있다. 따라서, 벼 재배 유흥기인 겨울철에 논을 활용한 동계작물 이모작을 활성화하는 것은 경지이용률을 높일 뿐 아니라 곡물자급률 향상을 위한 최선의 대안이 될 수 있다.

[0003] 하지만, 이모작 지대에서는 작물 재배 시 사용되는 비료량이 차이가 나고 토양으로 환원되는 식물체 잔사의 양이 많아 웃자람 현상이 나타나기 쉽기 때문에 생식생장 전환기에 도복(Lodging) 현상이 나타날 우려가 있다. 또한, 우리나라의 경우 7~9월에 대부분의 태풍의 영향을 받지만, 최근 들어 지구온난화 및 기후 변화의 영향으로 6월에 발행하는 태풍의 빈도(2001~2010년: 평균 2.0회, 2011~2017년: 평균 2.67회, 국가태풍센터)와 집중호우 등의 피해가 높아지고 있다. 이 시기는 밀의 등숙기로서 종자에 전분이 축적되고 수분이 빠져나가며 건물중이 증가하는 시기이기 때문에 집중호우를 동반한 강한 바람은 도복현상을 유발하게 된다. 뿐만 아니라 도복이 장시간 지속될 경우 수발아에 의한 품질 저하 및 수량의 급격한 감소를 유발될 수 있다. 따라서 단간의 특성을 지닌 밀 신품종 개발이 이러한 문제점들에 대한 대안이 될 수 있다.

[0004] 방사선 돌연변이 육종이란 식물 종자나 배양체, 묘목 등에 돌연변이원(방사선)을 조사하여 유전자나 염색체 돌연변이를 유발한 뒤 후대에서 우수한 형질을 갖는 변이체를 선발, 유전적인 고정 과정을 거쳐 새로운 유전자원을 개발하는 기술로, 식물 변이 창출 기술 중 특정 목적에 적합한 유전자를 찾아 형질전환하는 방법이 있으나 식물 종별 조직배양 및 형질전환 기술의 확립이 어렵고, 특히 식용작물에 대한 LMO는 높은 규제와 환경안정성에 대한 우려가 높다. 이러한 문제를 극복하기 위해 방사선 조사를 통한 돌연변이 유도 방법을 이용한 변이창출 연구가 다양한 식물에 활용되고 있다.

[0005] 방사선을 이용한 돌연변이 유기체를 대상으로 농업적 유용형질을 지니는 식물체의 선발은 현재까지 많은 선진 국가들에서 지속적으로 진행되고 있다. 내충성, 내병성, 내염성, 중금속 저항성, 제초제 저항성, 내한성 등 여러 분야에 걸쳐 연구가 진행되어 왔으며 최근 들어 분자 육종학과의 접목을 통하여 돌연변이 육종의 효율을 높이고 있다.

[0006] 2016년 현재 FAO/IAEA MVD 기준 방사선원별 품종등록 수는 감마선이 가장 높아 간접이용을 제외한 전체 2323품

종 중 1591품종으로 68.5%를 차지했으며, 우주선 46건(2%), 이온빔 17건(0.7%), 전자빔 2건, 양성자가 1건 등으로 나타났다.

[0007] 따라서, 본 발명자는 도복저항성을 지닌 수량안정성 신품종 밀을 개발하기 위하여 예의 노력한 결과, '금강'밀의 종자에 감마선을 처리한 종자에서 초단간(Extra-short) 다수성 특징을 가지는 식물체를 선발하고 우수계통의 지속적인 선발과 육성을 통하여 초단간 신품종을 개발하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 도복저항성을 지닌 수량안정성 신품종 밀을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 초장: 53~67cm; 간장: 44~56cm; 수장: 7~9cm; 밀수량: 457~771kg/10a; 및 천립중: 29.67~42.76(g)과 같은 식물학적 특성을 갖는 것을 특징으로 하는 밀 신품종 '미니' (*Triticum aestivum* L.) KCTC 13638BP를 제공한다.

발명의 효과

[0010] 본 발명에 따른 밀 신품종 '미니'는 초단간 특성으로 웃자람이 나타나지 않아 도복저항성이 우수하면서 밀 수량안정성이 우수하여, 곡물자급률 향상에 기여할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 '미니'와 '금강'의 월동 후, 분얼기, 출수기, 성숙기 비교 사진이다.
 도 2는 '미니'의 실험포 사진을 나타낸 것이며 다른 품종과 적색으로 경계를 표시하였다.
 도 3은 '미니'와 'Chinese Spring' 성숙기 비교 사진이다.
 도 4는 '미니'와 '금강' 종자의 사진이다.
 도 5는 '미니'의 유전적 특성 분석결과를 나타낸 그래프이다.
 도 6은 '미니'와 '금강'의 절간길이와 초장과의 상관관계 그래프를 나타낸 것이다.
 도 7은 '금강' 대비 '미니'의 절간 및 초장의 품종/계통 간 상대 비율을 나타낸 것이다.
 도 8은 '미니'와 '금강'의 *Rht* 유전자 변이 분석결과를 나타낸 것이다.
 도 9는 '미니'와 '금강'의 고분자량 글루테닌 분석결과를 나타낸 것이다.
 도 10은 '미니'와 '금강'의 고분자량 글루테닌 대립유전자 분석결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 본 발명에서는 도복저항성을 지닌 수량안정성 신품종 밀을 개발하기 위하여 '금강'밀의 종자에 감마선을 처리하여, 초단간(Extra-short) 다수성 특징을 가지는 식물체를 선발하고 우수계통의 지속적인 선발과 육성을 통하여 초단간 신품종을 개발하였다.

[0013] 따라서, 본 발명은 초장: 53~67cm; 간장: 44~56cm; 수장: 7~9cm; 밀수량: 457~771kg/10a; 및 천립중: 29.67~42.76(g)과 같은 식물학적 특성을 갖는 것을 특징으로 하는 밀 신품종 '미니' (*Triticum aestivum* L.) KCTC 13638BP에 관한 것이다.

[0014] 본 발명의 '미니'의 초장은 대조식물인 '금강'의 초장보다 평균 20cm 이상 작으며, 간장 역시 '금강'의 간장보다 작게 나타났다. 수장의 경우 '미니'와 '금강'의 품종 간 차이는 통계적으로 유의하지 않았다. 출수기 조사 결과 '미니'의 출수일이 '금강' 보다 약 일주일 정도 늦은 것으로 조사되었다.

[0015] '미니'와 '금강'의 포장에서의 생육특성을 비교해 보면 '미니'는 월동 후, 분얼기, 출수기 및 성숙기 모두에서 측정된 초장 길이 및 간장 길이와 부합하는 단간의 특성을 보이며(도 1), 실험포에서의 관찰 결과 역시 초단간

의 초형을 보였다(도 2). 또한 전 세계적으로 대조품종으로 사용되는 'Chinese Spring'과의 초장 비교 결과 '미니'의 초단간의 특성을 확인할 수 있다(도 3).

[0016] '미니'와 대조식물 '금강'의 평균 수량의 경우, '미니'의 남양주(614kg/10a)와 정읍(572kg/10a)에서의 평균수량이 '금강'의 남양주(454kg/10a)와 정읍(498kg/10a)에서의 측정값보다 통계적 유의수준에서 높게 측정되었다. 천립중의 경우 '미니'의 남양주(33.78g)와 정읍(39.73g)의 측정값이 '금강'의 남양주(42.03g)와 정읍(47.78g)의 천립중보다 낮게 측정되었다. 천립중의 경우 품종 간, 지역 간의 모두에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

[0017] '미니'의 경우 천립중이 낮음에도 불구하고 수량(kg/10a)이 높은 이유는 식물체당 분얼수가 '금강' 보다 많기 때문에 식물체 당 이삭의 수가 많다는 것을 의미한다. '미니'와 '금강'의 종자의 특성의 경우 '미니'의 종자의 길이가 다소 짧으며 종자색은 '금강'(백립계)에 비해 약간 진한 특징을 보였다(도 4).

[0018] 본 발명의 밀 양태에서는 '미니'의 초단간에 관한 유전적 특성을 검정하기 위하여 '미니'와 '금강'에 대해 정역교배(reciprocal cross)를 실시한 결과, 정역교배 후 분리 단계에서 각 '금강'(♀)×'미니'(♂) F₂ 집단, '미니'(♀)×'금강'(♂) F₂ 집단의 분포가 유사하며 이는 단간의 특성이 모계유전이 아님을 확인하였다(도 5A 및 B). '금강'×'미니' F₂ 집단은 2.35 : 1, '미니'×'금강' F₂ 집단은 2.8 : 1로 단간의 특성이 유전적으로 우세하게 측정되었다. 이러한 유전양상은 단간을 결정하는 주동유전자좌(QTL; quantitative trait loci)의 영향이라고 판단된다(도 5A-D).

[0019] 본 발명의 다른 양태에서는 '금강'(♀)×'미니'(♂) F₂ 집단, '미니'(♀)×'금강'(♂) F₂ 집단, '금강'(⊗), '미니'(⊗)의 각 집단에서 절간생장이 초장에 미치는 영향을 확인하기 위하여 유묘기에 첫 번째, 두 번째, 세 번째 절간의 길이를 비교하였다. '금강'을 제외하고 '금강'×'미니' F₂ 집단, '미니'×'금강' F₂ 집단, '미니' 모두에서 두 번째 절간의 길이와 초장과 가장 강한 상관관계를 보였다. '미니'의 두 번째 절간 길이의 R² 값은 0.908로 초장과 강한 상관관계를 보이는 것에 비해 '금강'의 경우 R² 값이 0.346으로 약한 상관관계를 보였다(표 4 및 도 6). 따라서, '미니'가 가지고 있는 초단간 특성은 두 번째 절간길이와 강한 상관관계를 보이며, '미니'의 절간 길이는 '금강'에 비해 생장이 진행될수록 지속적으로 짧아지는 특성을 보인다(도 7).

[0020] 본 발명의 다른 양태에서는 '미니'의 단간의 특성이 *Rht* 유전자 변이에 기인했는지를 *Rht* 분자마커를 사용한 게놈 유전자 중합효소연쇄반응(Genomic DNA PCR)으로 확인한 결과, '미니'는 *Rht4/Rht5/Rht13* 유전형을 갖는 초단간 6배체 보통밀로 확인되었다(도 8).

[0021] 본 발명의 또 다른 양태에서는 '미니'의 품질관련 유전적 특성을 분석하기 위해 *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*의 조합을 확인하기 위하여 Payne 등 (1987)의 방법에 따라 종자저장단백질의 1D SDS-PAGE 분석을 수행하였다(도 9). 그 결과, '미니'의 제빵적성과 관련된 고분자량 글루테닌 조성은 *Glu-A1*은 null, *Glu-B1*은 7+9, *Glu-D1*은 2.2+12로 나타났으며, '금강'의 경우에는 *Glu-A1*은 2*, *Glu-B1*은 7+8, *Glu-D1*은 5+10으로 확인되었다. '금강'과 비교하였을 때 *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* 모두에서 subunit 및 조성의 변화가 일어났다.

[0022] 또한, 고분자량 글루테닌 대립유전자의 분자마커를 이용하여 각 대립유전자의 유전자형 분석을 실시한 결과, '미니'의 고분자량 글루테닌은 *Glu-B1x*를 제외한 4가지 마커에서 모두 '금강'과 차이를 보였으며 이러한 결과는 감마선에 의해 '미니'의 고분자량 글루테닌 유전자(*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*)의 염기서열 변이가 유도되었으며, 최종적으로 고분자량 글루테닌 단백질 서열 및 조합에 변화가 유발된 것이라고 판단된다(도 10).

[0023] 따라서 본 발명의 '미니'는 용도별 분류에 있어서 제면용(중력분)으로 적합하다고 판단된다.

[0024] 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0025] 실시예 1: 초단간 밀 변이체 확보를 위한 감마선 조사 및 육성

[0026] 2006년, 밀 종자인 '금강' 종자(농촌진흥청 국립식량과학원 감마과이트로트론 시설(한국원자력연구원 첨단방사선연구소)을 이용하여 ⁶⁰Co 방사선 동위원소로부터 방출되는 감마선 (γ-ray, 1.33 MeV)의 조사선량을 각각 50Gy, 100Gy, 150Gy, 200Gy, 250Gy, 300Gy로 처리하여 M₁ 종자를 확보하였다.

[0027] 확보된 M₁ 종자를 고려대학교 부속농장(경기도 남양주시 와부읍)에서 제2세대(M₂) 계통 중 순계 유지 및 기초특

성검정을 통해 초단간 55 이삭(spike)을 선발하였다. 선발된 제3세대(M₃) 종자 중 다수확이면서 단간 및 도복에 강한 계통 위주로 10 계통(M₄)을 선발하였으며, 초단간성이면서 수량이 안정적으로 유지되는 3개의 우수계통(M₅)을 선발하였다.

[0028] 최종적으로 2009년에 200gray-152로부터 전개되어 2011년 남양주에서 최종적으로 특성이 검정된 headrow-0947를 선발하였고 '미니'(Triticum aestivum L.) 로 품종명을 부여하였다.

[0029] 육성경위는 표 1에 나타내었다.

표 1

[0030]

연도	'07	'08	'09	'10	'11	'12	'13	'14	'15	'17	'18
세대	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M _{5:6}	M _{5:7}	M _{5:8}	M _{5:9}	M _{5:10}	M _{5:11}
육성 정보	금강		200gray -152	'10 남양주 head row 0389	'11 남양주 head row 0947	'12 정읍 plot 010	'13 남양주 plot 011	'14 남양 주 plot 055	'15 남양주 plot 014	'17 남양주 plot 319	'18 남양주 plot 235
육성 계통수	조사선량 (50, 100, 150, 200, 250, 300Gy) 종자 60 g씩 처리	선량별 1200	55	10	3	1	1	1	1	1	1
진행 내용	⁶⁰ Co 방사선 동 위원소에서 방 출되는 감마선 (γ-ray)을 선 량을 달리하여 종자에 조사	M ₂ 집단 육성 및 선발	계통 고 정 및 선 발	특성 검정	특성 검정	특성 검정	특성 검정	특성 검정	특성 검정	특성 검정	특성 검정

[0031] 실시예 2: 신품종 밀 '미니'의 생육특성 분석

[0032] '미니'의 생육특성은 다음과 같으며, 표 2에 정리하여 나타내었다.

[0033] 남양주(66.80cm)와 정읍(53.47cm)에서 재배된 모든 '미니'의 초장은 남양주(86.75cm)와 정읍(91.17cm) 유래 '금강'보다 작게 측정되었다.

[0034] '미니'는 '금강'과 비교해 볼 때 평균 20cm 이상 차이를 보였으며 품종 간, 지역 간 모두에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다(표 2).

[0035] 간장 역시 남양주(55.76cm)와 정읍(44.34cm)에서 재배된 '미니'의 간장이 남양주(78.89cm), 정읍(83.66cm) 유래 '금강'의 측정값보다 작게 나타났다. 이는 품종 간에는 통계적으로 유의한 수치이며 지역 간 초장의 차이는 품종내에서 유의하지 않았다.

[0036] 수장의 경우 '미니'와 '금강'의 품종 간 차이는 통계적으로 유의하지 않았으며, 품종 간 차이보다 지역 간 차이를 보인 것으로 나타났다.

[0037] 출수기 조사 결과 '미니'의 남양주(5월 3일)와 정읍(4월 26일)에서의 출수일이 '금강'의 남양주(4월 27일)와 정읍(4월 20일)에서 조사된 것 보다 약 일주일 정도 늦은 것으로 조사되었다.

[0038] '미니'와 '금강'의 포장에서의 생육특성을 비교해 보면 '미니'는 월동 후, 분얼기, 출수기 및 성숙기 모두에서 측정된 초장 길이 및 간장 길이와 부합하는 단간의 특성을 보이며(도 1), 실험포에서의 관찰 결과 역시 초단간의 초형을 보였다(도 2). 또한 전 세계적으로 대조품종으로 사용되는 'Chinese Spring'과의 초장 비교 결과 '미니'의 초단간의 특성을 확인할 수 있다(도 3).

표 2

[0039] '미니'와 '금강'의 초장, 간장, 수장에 대한 분산분석 (남양주, 정읍: '13 - '18)

	미니 (경기도 남양주)		금강 (경기도 남양주)		미니 (전라북도 정읍)		금강 (전라북도 정읍)		품종 간		지역 간	
	평균	SD	평균	SD	평균	SD	평균	SD	F Value	Pr > F	F Value	Pr > F
초장 (cm)	66.80	1.36	86.75	3.49	53.47	4.89	91.17	10.60	260.44	<0.001	6.23	0.016
간장 (cm)	55.76	1.30	78.89	4.71	44.34	4.71	83.66	10.89	294.98	<0.001	3.31	0.076
수장 (cm)	8.65	0.21	8.36	0.18	7.4	0.14	7.5	0.70	0.26	0.635	14.23	0.020
출수기	5월 3일	4.1일	4월 27일	3.9일	4월 26일	1.6일	4월 20일	1.3일	18.33	0.001	29.84	<0.001

[0040] 실시예 3: '미니'의 수량구성요소 분석

[0041] 수량구성요소 분석 결과는 표 3에 나타내었다.

[0042] 구체적으로 평균 수량의 경우, '미니'의 남양주(614kg/10a)와 정읍(572kg/10a)에서의 평균수량이 '금강'의 남양주(454kg/10a)와 정읍(498kg/10a)에서의 측정값보다 통계적 유의수준에서 높게 측정되었다.

[0043] 천립중의 경우 '미니'의 남양주(33.78g)와 정읍(39.73g)의 측정값이 '금강'의 남양주(42.03g)와 정읍(47.78g)의 천립중보다 낮게 측정되었다. 천립중의 경우 품종 간, 지역 간의 모두에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

[0044] 리터중의 경우 '미니'의 남양주(792g)와 정읍(814g)에서의 측정값이 '금강'의 남양주(794g)와 정읍(806g)의 리터중보다 평균적으로 낮게 측정되었으나 통계적 유의성은 없었다.

[0045] '미니'의 경우 천립중이 낮음에도 불구하고 수량(kg/10a)이 높은 이유는 식물체당 분얼수가 '금강'보다 많기 때문에 식물체당 이삭의 수가 많다는 것을 의미한다. '미니'와 '금강'의 종자의 특성의 경우 '미니'의 종자의 길이가 다소 짧으며 종자색은 '금강'(백립계)에 비해 약간 진한 특징을 보였다(도 4).

표 3

[0046] '미니'와 '금강'의 수량, 천립중, 리터중에 대한 분산분석 (남양주, 정읍: '13 - '18)

	미니 (경기도 남양주)		금강 (경기도 남양주)		미니 (전라북도 정읍)		금강 (전라북도 정읍)		품종 간		지역 간	
	평균	SD	평균	SD	평균	SD	평균	SD	F Value	Pr > F	F Value	Pr > F
수량 (kg/10a)	614	157	454	173	572	112	498	143	4.38	0.047	0.00	0.989
천립중 (g)	33.78	4.11	42.03	5.64	39.73	2.98	47.78	4.15	24.85	<0.001	12.79	0.002
리터중 (g)	792	53	794	44	814	17	806	33	0.04	0.837	1.30	0.266

[0047] 실시예 4: '미니'의 유전적 특성 분석

[0048] (1) 초단간 관련 유전적 특성 분석

[0049] '미니'의 초단간에 관한 유전적 특성을 검정하기 위하여 '미니'와 '금강'에 대해 정역교배(reciprocal cross)를 실시하였다. 정역교배 후 분리 단계에서 각 '금강'(♀)x'미니'(♂) F₂ 집단, '미니'(♀)x'금강'(♂) F₂ 집단의 분포가 유사하며 이는 단간의 특성이 모계유전이 아님을 의미한다(도 5A 및 B).

[0050] '금강'x'미니' F₂ 집단, '미니'x'금강' F₂ 집단의 분리비 예측을 위해 K-means clustering을 사용하였으며, 각 집단은 2개의 군집으로 분류되었다. '금강'x'미니' F₂ 집단의 경우 군집 1 (중심값- 40.33 cm, 개체수- 33개)와 군집 2 (중심값 58.85 cm, 개체 수- 14개)로 분류되었으며, '미니'x'금강' F₂ 집단의 경우 군집 1 (중심값- 36.5 cm, 개체수- 24개)와 군집 2 (중심값 51.06 cm, 개체 수- 14개)로 분류되었다. 각 군집에 해당하는 개체수를 중심으로 분리비를 계산한 결과, '금강'x'미니' F₂ 집단은 2.35 : 1, '미니'x'금강' F₂ 집단은 2.8 : 1로 단간의 특성이 유전적으로 우세하게 측정되었다. 이러한 유전양상은 단간을 결정하는 주동유전자좌(QTL;

quantitative trait loci)의 영향이라고 판단된다(도 5A~D).

(2) 절간길이와 초장의 상관관계 분석

'금강'×'미니' F₂ 집단, '미니'×'금강' F₂ 집단, '금강', '미니'의 각 집단에서 절간생장이 초장에 미치는 영향을 확인하기 위하여 유효기에 첫 번째, 두 번째, 세 번째 절간의 길이를 비교하였다. '금강'을 제외하고 '금강'×'미니' F₂ 집단, '미니'×'금강' F₂ 집단, '미니' 모두에서 두 번째 절간의 길이와 초장과 가장 강한 상관관계를 보였다. '미니'의 두 번째 절간 길이의 R² 값은 0.908로 초장과 강한 상관관계를 보이는 것에 비해 '금강'의 경우 R² 값이 0.316으로 약한 상관관계를 보였다(표 4 및 도 6).

표 4

'미니'와 '금강'의 절간길이와 초장과의 상관관계

		R ²	F value	유의확률(P)	평균	SD
금강×미니	1 st internode	0.629	68.380	<0.0001**	18.5	3.76
	2 nd internode	0.757	127.893	<0.0001**	10.9	3.45
	3 rd internode	0.666	81.802	<0.0001**	6.4	1.86
미니×금강	1 st internode	0.525	37.589	<0.0001**	16.5	4.25
	2 nd internode	0.658	65.366	<0.0001**	9.8	2.56
	3 rd internode	0.352	18.483	<0.0001**	6.6	1.81
금강	1 st internode	0.512	14.692	0.002**	15.8	2.46
	2 nd internode	0.316	6.467	0.023*	10.3	1.15
	3 rd internode	0.149	2.458	0.136	6.6	1.03
미니	1 st internode	0.784	25.456	0.001**	13.7	2.03
	2 nd internode	0.908	86.171	<0.0001**	7.0	1.10
	3 rd internode	0.448	5.671	0.049*	4.1	0.58

** P<0.01, * P<0.05

'미니'의 경우 초장평균은 '금강' 대비 76% 정도로 나타났다. 각 절간길이의 평균값을 비교한 결과 '금강'을 기준으로 첫 번째 절간길이의 평균은 87%, 두 번째 절간길이의 평균은 68%, 세 번째 절간길이의 평균은 62%로 비교되었으며 새롭게 생성된 절간일수록 '금강' 대비 평균길이의 비율이 작아지는 것을 확인하였다(도 7).

따라서, '미니'가 가지고 있는 초단간 특성은 두 번째 절간길이와 강한 상관관계를 보이며, '미니'의 절간길이는 '금강'에 비해 생장이 진행될수록 지속적으로 짧아지는 특성을 보인다.

실시예 5: '미니'의 초장 관련 유전적 특성 분석

밀의 *Reduced height (Rht)* 유전자는 반왜성 유전자(semidwarfing gene)로 널리 알려져 있다. 따라서 돌연변이 품종인 '미니'의 단간의 특성이 *Rht* 유전자 변이에 기인했는지를 확인하기 위하여 *Rht* 분자마커를 사용한 게놈 유전자 중합효소연쇄반응(Genomic DNA PCR)을 수행하였다. 프라이머 염기서열정보는 GrainGenes database로부터 제공받았다(표 5).

표 5

Rht 유전자 다형성 검정에 사용된 프라이머 정보

유전자	분자마커	프라이머 서열	서열 번호	어닐링 온도 (℃)	산물크기 (bp)	다형성 (polymorphysm) 유무
-----	------	---------	----------	---------------	--------------	-----------------------------

<i>Rht4</i>	WMC317	F: TGCTAGCAATGCTCCGGGTAAC R: TCACGAAACCTTTCTCCTCC	1 2	58-65	150-170	미니/금강 차이 있음
<i>Rht5</i>	Xbarc102	F: GGAGAGGACCTGCTAAAAATCGAAGACA R: GCGTTTACGGATCAGTGTGGAGA	3 4	58-65	165	
<i>Rht13</i>	Xwms577	F: ATGGCATAATTTGGTGAAATTG R: TGTTCAGCCCACTTCTATT	5 6	58-65	120-130	
<i>RhtB1b</i>	RhtB1b	F: GGTAGGGAGGCGAGAGGCGAG R: CATCCCATGGCCATCTCGAGCTA	7 8	58-65	237	미니/금강 차이 없음
<i>Rht8</i>	WMC503	F: GCAATAGTTCCCGCAAGAAAAG R: ATCAACTACCTCCAGATCCCGT	9 10	58-65	237-275	
<i>Rht8c</i>	Xgwm261	F: CTCCTGTACGCCTAAGGC R: CTCCTGTACGCCTAAGGC	11 12	55	192	
<i>Rht12</i>	Xmc410	F: GGACTTGAAAAGGAAGCTTGTGA R: CATGGATGGCATGCAGTGT	13 14	58-65	112	
<i>Rht18</i>	Xbarc3	F: TTCCTGTGTCTTTCTAATTTTTTT R: GCGAACTCCCGAACATTTTAT	15 16	52	188	
<i>Rht22</i>	Xgwm471	F: CCCGTGGTTTCTTTCTCTCT R: AACGACAGGGATGAAAAGCAA	17 18	61	219	
<i>Rht23</i>	BARC110	F: CCCGAACAATGGCTTTGGTGTGTAAT R: CATGGTGACGGCAAGTGTGAGGT	19 20	50	196-215	
<i>Rht24-1</i>	Xbarc103	F: GCTCGGTACCCAGTTCATCGAATGTA R: GCGAATGTTGAGTGGCTCTCATTTGA	21 22	55	221	
<i>Rht-B1a</i>	Rht-B1a	F: GGTAGGGAGGCGAGAGGCGAG R: CATCCCATGGCCATCTCGAGCTG	23 24	58-65	237	
<i>Rht-D1a</i>	Rht-D1a	F: GGCAAGCAAAAGCTTCGCG R: GGCCATCTCGAGCTGCAC	25 26	58	264	특정 증폭산물 없음
<i>Rht-D1b</i>	Rht-D1b	F: CGCGCAATTATTGGCCAGAGATAG R: CCCCATGGCCATCTCGAGCTGCTA	27 28	58-65	254	
<i>Rht9</i>	Xbarc151	F: TGAGGAAAATGTCTCTATAGCATCC R: CGCATAAACACCTTCGCTCTTCCACTC	29 30	58-65	218-230	
<i>Rht22-1</i>	WMC497	F: CCCGTGGTTTCTTTCTCTCT R: AACGACAGGGATGAAAAGCAA	31 32	60	50-90	
<i>Rht24</i>	WMC256	F: CCAAATCTTCGAACAAGAACCC R: ACCGATCGATGGTGTATACTGA	33 34	61	117	

[0060] Genomic DNA는 Intron사 (Korea) Genomic DNA extraction Kit를 사용하여 추출하였으며 Nano drop을 이용하여 50ng으로 정량화하였다. 이후 PCR은 genomic DNA 50ng, 프라이머 각 쌍 0.1μmol/l, MgCl₂와 dNTP 2.0mmol/l, Taq 중합효소 (Ex Taq polymerase, TaKaRa) 1 unit을 기본 조성으로 총 반응액은 25μl로 수행하였다. PCR 반응은 94℃에서 5분간 변성반응을 거친 후, 증폭단계에서 94℃에서 30초, 어닐링(annealing) 온도에서 65℃ (각 cycle당 -1℃씩)에서 30초, 72℃ 20초를 7회 반복하여 진행한 후 다시 증폭단계 94℃ 15초, 어닐링온도 58℃ 15초, 72℃ 50초를 30회 반복하여 진행하였으며, 최종 신장반응은 72℃에서 2분간 수행하였다. PCR 산물은 EtBr (0.1μg/ml)이 포함된 2.0% 아가로스 겔에서 120V로 50분간 동안 전기영동한 후 UV Gel-documentation를 이용하여 확인하였다.

[0061] 총 17개의 *Rht* 분자마커 중 11개의 분자마커(표 5)에서만 '미니'와 '금강'에서 PCR 증폭산물이 생성되었으며, 이 중 8개의 *Rht* 분자마커에서는 '미니'와 '금강'에서의 PCR 증폭산물의 차이가 없었다(도 8A). 최종적으로 세 개의 *Rht* 분자마커(*Rht4*, *Rht5*, *Rht13*)에서 '미니'와 '금강'에서 다형성을 보이는 밴드를 확인하였으며, 세 종류의 *Rht* 유전자들 모두 '미니'에서 뉴클레오티드 삽입(insertion)이 관찰되었다(도 8B). *Rht4*, *Rht5*, *Rht13* 유전자 모두 밀의 초장 감소에 독립적으로 영향을 미치는 선행연구들이 다수 보고 되었다(Liu et al., Field Crops Research, 204, pp 242, 2017; Daoura et al., Theoretical and Applied Genetics, 123, pp 143, 2014; Wang et al., Euphytica, 157, pp 209, 2014). '미니'와 '금강'의 *Rht* 유전자 다형성 검정 결과, 감마선에 의해 '금강'의 *Rht4*, *Rht5*, *Rht13* 유전자좌에 돌연변이 발생되었고, 이후 DNA 복구과정에서 *Rhts* 유전자좌에 추가적인 핵산의 삽입이 일어났다고 예측되며 이로 인해 '미니'의 초단간 특성에 유전적 영향을 주었을 것이라 판단된다.

[0062] 따라서, '미니'는 *Rht4/Rht5/Rht13* 유전형질을 갖는 초단간 6배체 보통밀로 규정한다.

[0063] 실시예 6: '미니'의 품질관련 유전적 특성 분석

[0064] 밀 품질은 종실 내 함유된 글루텐 단백질의 양과 질적 특성에 의해 결정된다. 글루텐은 glutenin과 gliadin으로 구성되어 있으며 일반적으로 glutenin은 밀가루의 탄성과 관련이 높고 gliadin은 점성과 신축성과 관련이 있다.

[0065] Glutenin 중 고분자량 글루테닌(HMW-GS)는 각 1번 염색체에 위치하고 있는 *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*에 의해 암호화되며 제빵과정 중 밀가루의 반죽의 탄력성을 높이고 효모에 의해 발효하는 이산화탄소를 보유하여 빵을 부풀리는 데 중요한 역할을 한다. 따라서 '미니'의 품질관련 유전적 특성을 분석하기 위해 *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*의 조합을 확인하였다.

[0066] '미니'의 품질관련 유전적 특성을 확인하기 위하여 Payne 등의 방법에 따라 종자저장단백질의 SDS-PAGE 분석을 수행하였다(Payne et al., Journal of the Science of Food and Agriculture, 40, pp 51, 1987). 고분자량 글루테닌 조성의 gluten score(글루텐 점수)는 Payne score에 준하여 값으로 나타내었다(표 6).

표 6

[0067] '미니'와 '금강'의 고분자량 글루테닌 변이 분석

	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	Gluten score
미니	null	7+9	2.2+12	5
금강	2*	7+8	5+10	10

[0068] 그 결과, 품질특성은 상기 표 6 및 도 9에 나타난 바와 같다. '미니'의 제빵적성과 관련된 고분자량 글루테닌 조성은 *Glu-A1*은 null, *Glu-B1*은 7+9, *Glu-D1*은 2.2+12로 나타났으며 '금강'의 경우에는 *Glu-A1*은 2*, *Glu-B1*은 7+8, *Glu-D1*은 5+10으로 확인되었다. '금강'과 비교하였을 때 *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* 모두에서 subunit 및 조성의 변화가 일어났다.

[0069] 고분자량 글루테닌 대립유전자의 분자마커를 이용하여 각 대립유전자의 유전자형 분석을 실시하였다. 분자마커는 기존 발표 연구(Butow et al., Theoretical and Applied Genetics, 109, pp 1525, 2004; Lei et al., Journal of Cereal Science, 43, pp 94, 2006; Liu et al., Theoretical and Applied Genetics, 118, pp 177, 2008)를 기반으로 선별하였으며 PCR 수행 방법은 실시예 5에서 기술한 바와 같다(표 7).

표 7

마커명	프라이머 서열	서열 번호	어닐링온도 (℃)	목표 산물 크기 (bp)
<i>Glu-A1x</i>	F: CGAGACAATATGAGCAGCAAG R: CTGCCATGGAGAAGTTGGA	35 36	60	Ax2*: 344 Ax1, AxNull: 362
<i>Glu-B1x</i>	F: CCTCAGCATGCAAACATGCAGC R: CTGAAACCTTTGGCCAGTCATGTC	37 38	58	Bx7: 563
<i>Glu-B1y</i>	F: TTAGCGCTAAGTGCCGTCT R: TTGTCCTATTTGCTGCCCTT	39 40	64	By8: 527
<i>Glu-D1x</i>	F: GGGACAATACGAGCAGCAAA R: CTGTTCCTCGGTGTTGCCA	41 42	60	Dx2: 299 Dx5: 281
<i>Glu-D1y</i>	F: CGCAAGACAATATGAGCAAACT R: TTGCCTTTGTCCTGTGTGC	43 44	60	Dy10: 397 Dy12: 415

표 8

[0071] '미니'와 '금강'의 고분자량 글루테닌 대립유전자 변이 분석

		<i>Glu-A1x</i>	<i>Glu-B1x</i>	<i>Glu-B1y</i>	<i>Glu-D1x</i>	<i>Glu-D1y</i>
미니	Type	344	7	-	2.2	12
	산물크기 (bp)	null	563	null	299	415

금강	Type	2*	7	8	5	10
	산물크기 (bp)	344	563	527	281	394

[0072] 그 결과, 상기 표 8 및 도 10에 나타난 바와 같이, '미니'의 고분자량 글루테닌은 *Glu-B1x*를 제외한 4가지 마커에서 모두 '금강'과 차이를 보였으며 이는 SDS-PAGE 결과(표 6 및 도 9)와 일치하는 결과임을 확인하였다. 이러한 결과는 감마선에 의해 '미니'의 고분자량 글루테닌 유전자(*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*)의 염기서열 변이가 유도되었으며, 최종적으로 고분자량 글루테닌 단백질 서열 및 조합에 변화가 유발된 것이라고 판단된다.

[0073] 따라서 '미니'는 용도별 분류에 있어서 제면용(중력분)으로 적합하다고 판단된다.

[0074] [수탁 정보]

[0075] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원

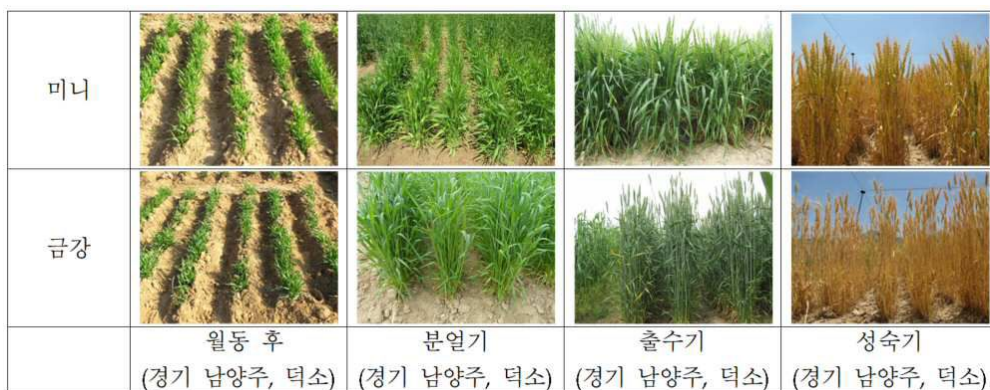
[0076] 수탁번호 : KCTC13638BP

[0077] 수탁일자 : 20180912

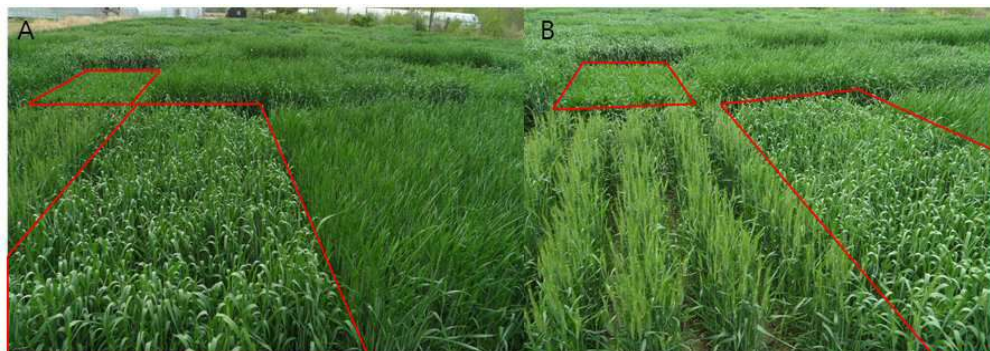
[0078] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

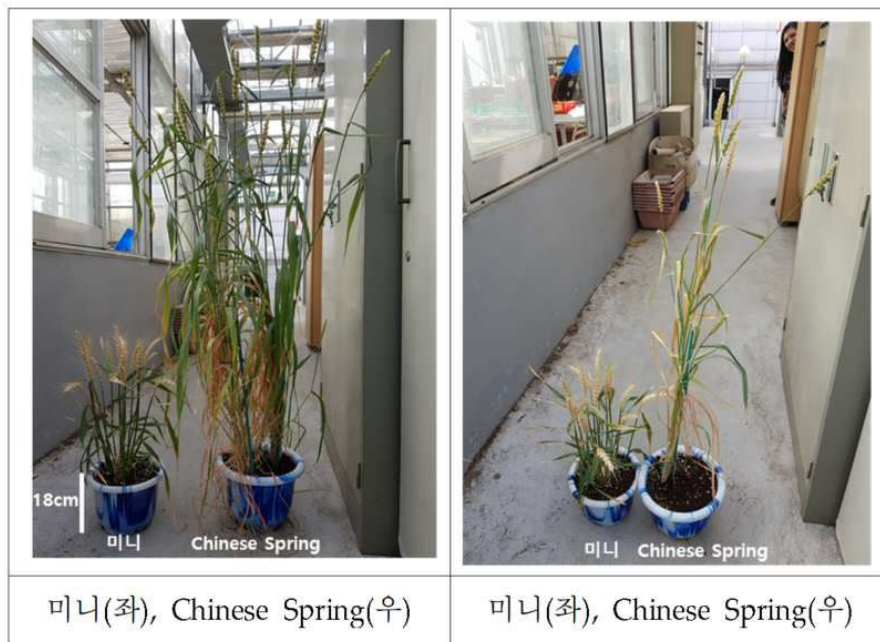
도면1



도면2



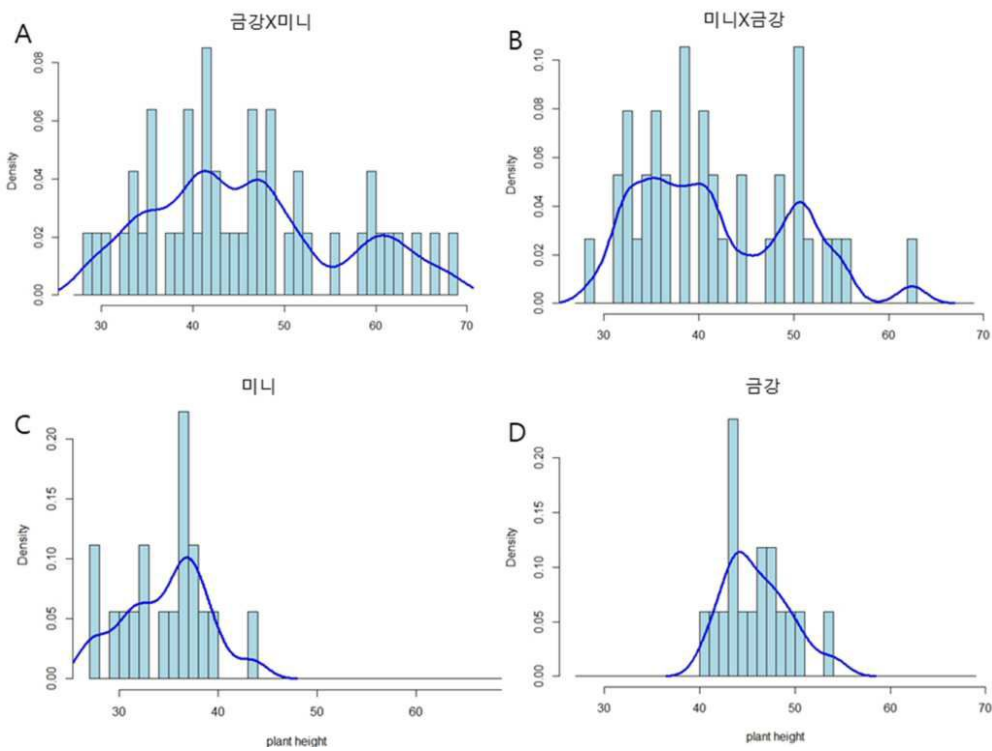
도면3



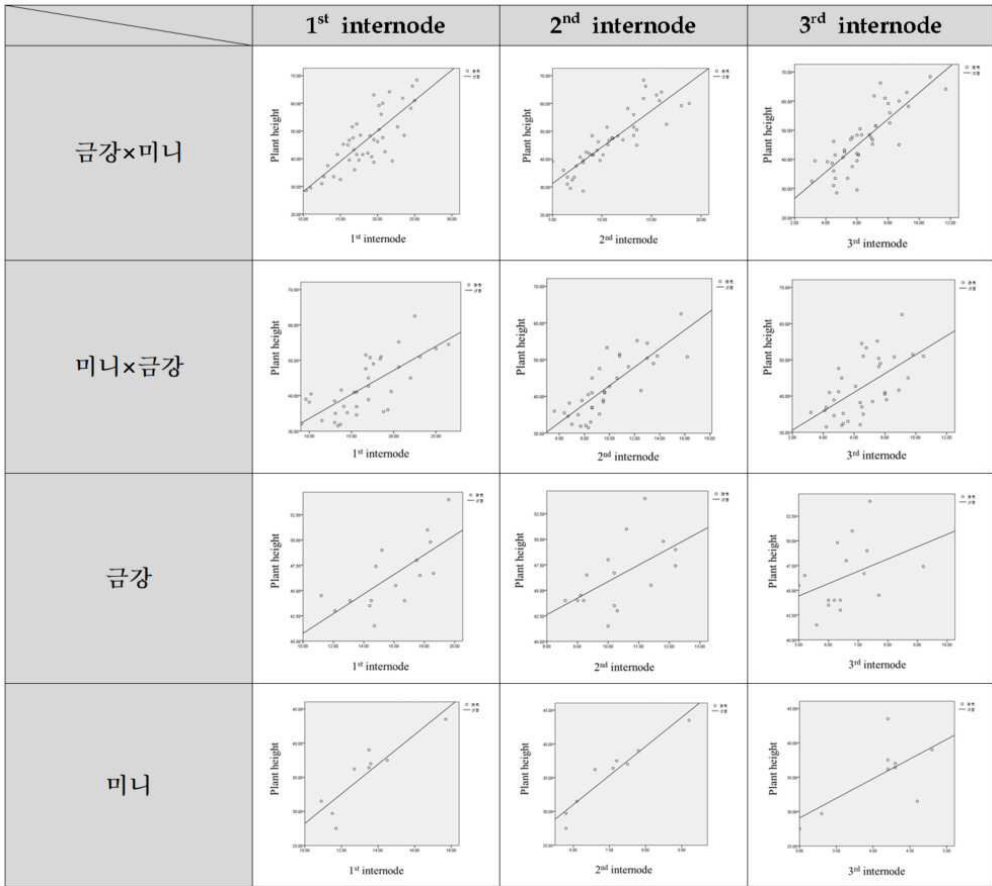
도면4



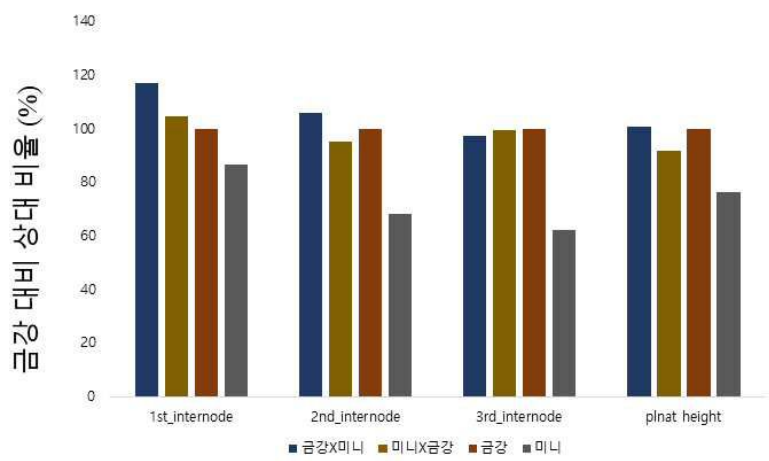
도면5



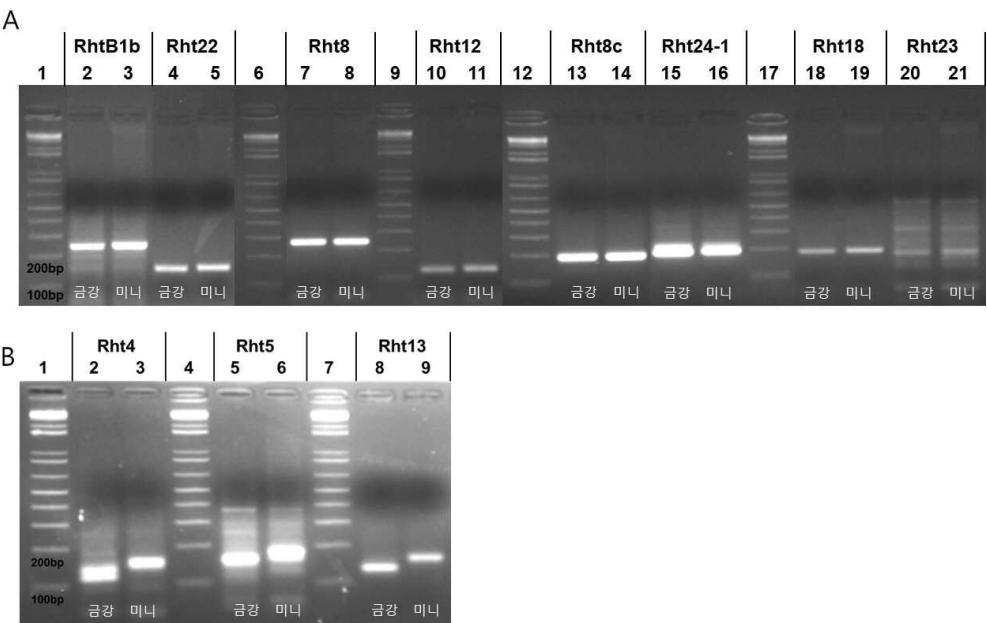
도면6



도면7



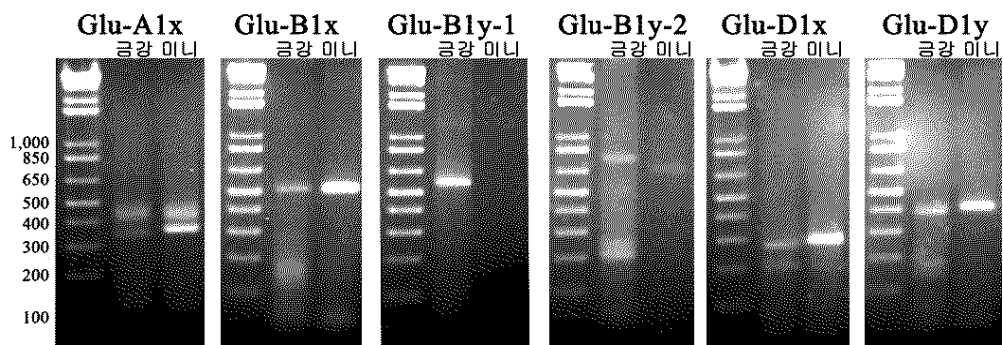
도면8



도면9



도면10



서열 목록

<110> Korea University Research & Business Foundation

<120> Novel Variety of Extra-short Wheat cultivar 'Mini'

<130> P18-B196

<160> 44

<170> Kopatent In 2.0

<210> 1

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 1

tgctagcaat gctccgggta ac

<210> 2

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 2
 tcacgaaacc ttttctcct cc 22

<210> 3
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 3
 ggagaggacc tgctaaaatc gaagaca 27

<210> 4
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 4
 gcgtttacgg atcagtgtg gaga 24

<210> 5
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 5
 atggcataat ttggtgaaat tg 22

<210> 6
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 6

tgtttcaagc ccaacttcta tt	22
<210> 7	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 7	
ggtaggaggagg cgagaggcga g	21
<210> 8	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 8	
catcccatg gccatctcga gcta	24
<210> 9	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 9	
gcaatagttc ccgcaagaaa ag	22
<210> 10	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 10	
atcaactacc tccagatccc gt	22
<210> 11	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	

<400> 11
ctccctgtac gcctaaggc 19

<210> 12
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> primer
<400> 12
ctccctgtac gcctaaggc 19

<210> 13
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> primer
<400> 13
ggacttgaaa aggaagcttg tga 23

<210> 14
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> primer
<400> 14
catggatggc atgcagtgt 19

<210> 15
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> primer
<400> 15
ttccctgtgt ctttctaatt tttttt 26

<210> 16
<211> 22
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 16

gcgaactccc gaacattttt at 22

<210> 17

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 17

cccgtggttt tctttccttc t 21

<210> 18

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 18

aacgacaggg atgaaaagca a 21

<210> 19

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 19

cccgaacaat ggctttggtg tcgtaat 27

<210> 20

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 20

catggtgacg gcaagtgtga ggt 23

<210> 21

<211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 21
 gctcgggtacc cagttcatcg aatgta 26
 <210> 22
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 22
 gcgaatgttg agtggctctc atttga 26
 <210> 23
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 23
 ggtagggagg cgagaggcga g 21
 <210> 24
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 24
 catcccatg gccatctcga gctg 24
 <210> 25
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 25
 ggcaagcaaa agcttcgcg 19

<210> 26
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 26
 ggccatctcg agctgcac 18

<210> 27
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 27
 cgcgcaatta ttggccagag atag 24

<210> 28
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 28
 ccccatggcc atctcgagct gcta 24

<210> 29
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 29
 tgaggaaaat gtctctatag catcc 25

<210> 30
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer

<400> 30
 cgcataaaca ccttcgctct tccactc 27

<210> 31
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 31
 cccgtgggtt tctttccttc t 21

<210> 32
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 32
 aacgacaggg atgaaaagca a 21

<210> 33
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 33
 ccaaatcttc gaacaagaac cc 22

<210> 34
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 34
 accgatcgat ggtgtatact ga 22

<210> 35
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> primer
 <400> 35
 cgagacaata tgagcagcaa g 21

<210> 36
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 36
 ctgccatgga gaagttgga 19
 <210> 37
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 37
 cctcagcatg caaacatgca gc 22
 <210> 38
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 38
 ctgaaacctt tggccagtca tgtc 24

<210> 39
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 39
 ttagcgctaa gtgccgtct 19
 <210> 40
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 40
 ttgtcctatt tgctgcctt 20
 <210> 41
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 41
 gggacaatac gagcagcaaa 20
 <210> 42
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 42
 cttgttccgg ttgttgcca 19
 <210> 43
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 43
 cgcaagacaa tatgagcaaa ct 22
 <210> 44
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> primer
 <400> 44
 ttgcctttgt cctgtgtgc 19