(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0091095
(43) 공개일자 2013년08월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01H 5/00 (2006.01) *C12N 15/82* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0012364
(22) 출원일자 2012년02월07일
심사청구일자 2012년02월07일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
이긍주
대전광역시 유성구 신성동 삼성한울아파트 108동 304호
전영주
전라남도 목포시 대양동 근화희망아파트 101동 1207호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최규환

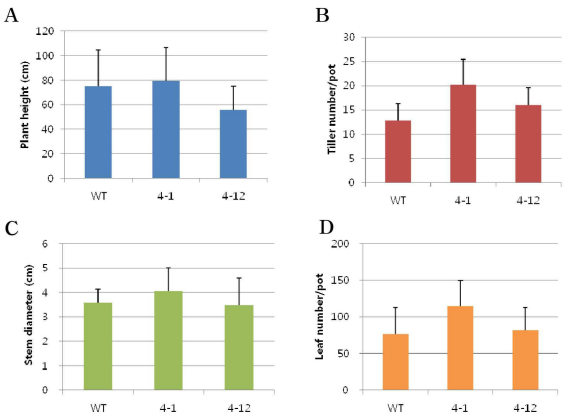
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **분얼수가 증가된 억새 신품종**

(57) 요 약

본 발명은 억새 (*Miscanthus sinensis*) 종자에 감마선을 조사하여 돌연변이체를 유도하여 수득되는 것을 특징으로 하는, 분얼수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 증가된 특성을 갖는 억새의 신품종을 제공한다.

대 표 도 - 도4



(72) 발명자

김인경

광주광역시 북구 중흥동 평화맨션 2-703

이가연

광주광역시 서구 양동 삼익아파트 2동 807호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	309017-5
부처명	농림수산식품부
연구사업명	농림기술개발사업
연구과제명	섬유소계 식물변이체 및 유전자 대량발굴과 친환경 형질전환체 유도
주관기관	포항공과대학
연구기간	2009.04.10 ~ 2014.04.09이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	PJ008131
부처명	농촌진흥청
연구사업명	차세대바이오그린21사업
연구과제명	억새 EST 기반 바이오매스 증가 품종 육성을 위한 분자마커 개발 및 활용
주관기관	충남대학교
연구기간	2011.05.01 ~ 2014.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

억새 (*Miscanthus sinensis*) 종자에 감마선을 조사하여 돌연변이체를 유도하여 수득되는 것을 특징으로 하는, 분얼수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 증가된 특성을 갖는 억새의 신품종 (기탁번호: KCTC 12110BP).

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 감마선은 110~150 Gy의 선량으로 조사된 것을 특징으로 하는 억새의 신품종.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 분얼수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 30~80% 증가되는 것을 특징으로 하는 억새의 신품종.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 신품종은 하기에 기재된 하나 이상의 특성을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 억새의 신품종:

(a) 신장(height)이 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 증가되고;

(b) 줄기 직경이 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 증가되고;

(c) 잎 수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 증가됨.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 신품종은 하기에 기재된 하나 이상의 특성을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 억새의 신품종:

(a) 신장이 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 3~8% 증가되고;

(b) 줄기 직경이 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 10~20% 증가되고;

(c) 잎 수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 30~80% 증가됨.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 분얼수가 증가된 억새 신품종에 관한 것으로서, 더욱 구체적으로 억새 (*Miscanthus sinensis*) 종자에 감마선을 조사하여 돌연변이체를 유도하여 수득되는 것을 특징으로 하는, 분얼수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 증가된 특성을 갖는 억새의 신품종에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 억새 (*Miscanthus sinensis*)는 한반도 전역에서 자라는 화본과에 속하는 여러해살이 풀로 높이는 1~2m이다. 줄기는 원기둥 모양이고 약간 굵다. 잎은 길이가 40~70㎝의 줄 모양으로, 나비 1~2㎝이며 끝은 차차로 뾰족해진다. 가운데 맥은 굵고 흰색이며 기부는 긴 잎집으로 되고 긴 털이 있다. 가을 무렵에 줄기 끝에서 산방꽃차례를 이루어 작은 이삭이 빽빽이 달린다. 작은 이삭은 길이 5~7㎜이고 긴 자루 및 짧은 자루를 가진 것이 쌍으로 달리며, 길이 7~12㎜의 털이 다발로 나고 끝에 8~15㎜의 가락이 있다. 턱겨는 약간 단단하고 끝이 뾰족하며 안겨는 끝이 2개로 갈라진다. 억새는 다양한 약리효과가 있다고 알려져 있어 한방에서는 약초로 사용되고 있다.

[0003] 한편, 바이오에너지 생산을 위해 사용되는 곡물의 가격상승으로 에너지 식물의 개발이 필수적인 바, 억새는 생장 바이오매스가 매우 양호하여 바이오에너지 생산을 위한 바이오매스 자원으로서도 큰 잠재력을 가지고 있다.

[0004] 식물 변이체 개발 방법으로 특정 목적에 관련된 알려진 유전자를 찾아 형질전환하는 방법이 사용되고 있으나,

적정 유전자 선별과 식물종별로 조직배양 및 형질전환 기술의 확립이 어렵고 형질전환을 통한 유전자 변형 식물에 대한 환경 안정성에 대한 우려가 증가하고 있다. 그에 반해 시간 소모도 적으며, 환경 안전성에 대한 우려도 낮기 때문에 방사선 조사에 의한 돌연변이 유기 방법을 이용하여 특정 변이체를 개발하고자 하는 연구가 되고 있다.

[0005] 한편, 한국특허공개 제2011-0070626호에는 국내외에서 차세대 에너지작물로 주목받고 있는 억새의 대량증식방법 및 이를 이용한 억새밭 조성방법이 개시되어 있고, 한국특허공개 제2011-0070769호에는 간장과 경태가 크고 굵어 마른 줄기 생산량이 많은 물억새 식물체 '거대억새 1호'가 개시되어 있으나, 본 발명에서와 같이 억새 종자에 감마선을 조사하여 분얼수가 증가된 억새 신품종을 개발한 내용에 대해서는 밝혀진 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 안출된 것으로서, 본 발명자들은 억새 종자에 감마선을 조사하고, 조사된 종자들을 발아 및 증식시켜 선발 도태과정을 반복하여 최종선발한 돌연변이체의 분얼수, 신장, 줄기 직경 및 잎 수를 조사한 결과, 특히 돌연변이체의 분얼수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 크게 증가된 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 억새 (*Miscanthus sinensis*) 종자에 감마선을 조사하여 돌연변이체를 유도하여 수득되는 것을 특징으로 하는, 분얼수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 증가된 특성을 갖는 억새의 신품종을 제공한다.

발명의 효과

[0008] 본 발명의 억새 신품종은 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 분얼수가 크게 증가하여 바이오에너지 생산을 위한 바이오매스 자원 개발을 위한 유용한 기초 자료로 제공될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1은 감마선 조사 4주째의 각 감마선 선량별 억새 종자의 발아율을 나타낸다.

도 2는 감마선 조사 4주째의 각 감마선 선량별 억새의 유묘 상태를 나타낸다.

도 3은 감마선을 조사하지 않은 야생형과 비교한 본 발명의 억새 신품종을 보여준다. 화분당 3개의 분얼을 이식하였고, 6개월 후 재배된 모습을 나타낸다. (WT , 야생형; 4-1, 4-12, 돌연변이체)

도 4는 감마선을 조사하지 않은 야생형과 비교한 본 발명의 억새 신품종의 신장(㎝) (A), 화분(pot)당 분얼수 (B), 줄기 직경(㎝) (C) 및 화분(pot)당 잎 수 (D)를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 억새 (*Miscanthus sinensis*) 종자에 감마선을 조사하여 돌연변이체를 유도하여 수득되는 것을 특징으로 하는, 분얼수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 증가된 특성을 갖는 억새의 신품종을 제공한다.

[0011] 본 발명의 억새 신품종을 2011년 12월 27일 한국생명공학연구원 생물자원센터에 기탁하였다 (기탁번호: KCTC 12110BP).

[0012] 본 발명의 일 구현예에 따른 억새 신품종에서, 상기 감마선은 바람직하게는 100~200 Gy의 선량일 수 있고, 더욱 바람직하게는 110~150Gy의 선량일 수 있고, 가장 바람직하게는 125 Gy의 선량으로 조사될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0013] 상기 돌연변이원은 감마선 외에도 X-선, 자외선, 양성자빔, EMS(ethyl methane sulfonate), NaN_3(Sodium azide), NMU(N-nitroso-N-methylurea), 콜히친, 알킬화제, 방향족아민, 니트로화합물 및 과산화물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 이용할 수 있으며, 바람직하게는 감마선이다.

[0014] 본 발명의 일 구현예에 따른 억새 신품종에서, 상기 분얼수는 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 30~80%, 바람직하게는 50~70%, 더욱 바람직하게는 60% 증가될 수 있다.

[0015] 본 발명의 일 구현 예에 따른 억새 신품종은 하기에 기재된 하나 이상의 특성을 추가로 포함할 수 있다:

[0016] (a) 신장이 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 증가되고;

[0017] (b) 줄기 직경이 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 증가되고;

[0018] (c) 잎 수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 증가됨.

[0019] 본 발명의 일 구현 예에 따른 억새 신품종은 바람직하게는 하기에 기재된 하나 이상의 특성을 추가로 포함할 수 있다:

[0020] (a) 신장이 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 3~8% 증가되고;

[0021] (b) 줄기 직경이 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 10~20% 증가되고;

[0022] (c) 잎 수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 30~80% 증가됨.

[0023] 본 발명의 일 구현 예에 따른 억새 신품종은 더욱 바람직하게는 하기에 기재된 하나 이상의 특성을 추가로 포함할 수 있다:

[0024] (a) 신장이 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 4~6% 증가되고;

[0025] (b) 줄기 직경이 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 11~15% 증가되고;

[0026] (c) 잎 수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 40~60% 증가됨.

[0027] 본 발명의 일 구현 예에 따른 억새 신품종은 가장 바람직하게는 하기에 기재된 하나 이상의 특성을 추가로 포함할 수 있다:

[0028] (a) 신장이 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 5% 증가되고;

[0029] (b) 줄기 직경이 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 13% 증가되고;

[0030] (c) 잎 수가 감마선을 조사하지 않은 야생형에 비해 50% 증가됨.

[0031] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0032] **실시예 1: 감마선 조사 및 억새 변이체 제작**

[0033] 화본과에 속하는 억새 (*Miscanthus sinensis*) 종자를 감마선 조사장치를 이용해 각각 100, 200, 300, 400, 500, 600 Gy를 조사하였다. 상기 감마선량별로 조사한 억새 종자는 살균제(베노람, 5%)에 침지한 필터 페이퍼 2장을 지름 90㎜의 투명한 페트리디쉬에 깔고 그 위에 100립씩 3반복으로 치상하였다. 치상이 완료된 종자는 파라필름으로 밀봉하여 30℃로 설정되어 있는 성장 챔버에서 생육시키며 7일 간격으로 발아율 조사와 유묘상태를 관찰하였다 (도 1). 상기 결과 다른 선량에 비해 100Gy 및 200Gy 선량에서 높은 발아율을 보였다. 200Gy 이상의 선량에서 억새 종자가 발아되었으나 잎의 분화가 이루어지지 못하고 대부분 갈변 및 치사되었다 (도 2). 따라서 억새 변이를 위한 적정 선량은 100 ~ 200Gy 사이가 적정하다고 판단되어 감마선 조사 범위를 75, 100, 125, 150, 200Gy로 좁여서 처리한 종자의 발아율 및 유묘상태를 관찰하였다. 상기 실험조건과 같았으며 50립씩 3반복 치상하였다. 상기 결과, 감마선 75Gy 선량을 조사하였을 때 발아율과 생존율이 높았지만, 초기 생육특성은 감마선을 조사하지 않은 대조구와 차이가 없어서 선발에 적합하지 않았다. 따라서 감마선 100, 125, 150 Gy의 선량으로 조사한 종자를 온실 안에서 발아시킨 후 1년간 관찰하며 선발하였다.

[0034] **실시예 2: 억새 변이체 재배 및 생육조사 방법**

[0035] 억새 변이체와 대조구 식물을 비슷한 생육 상태의 분얼 3개씩 한 화분에 이식한 후 온실에서 1L의 물을 매일 오전 10시부터 15분간 주면서 재배하였다. 상기 선량별로 감마선을 조사한 후 발아시킨 억새 중 각각 3개 개체를

선발하였다, 억새 생육 최적기인 6월 ~ 8월 동안 중순에 월 1회씩 생육조사 하였다(도 3).

[0036] **실시예 3: 분얼수에 따른 선발**

[0037] 억새 변이체와 대조구 식물을 비슷한 생육 상태의 분얼 3개씩 한 화분에 이식한 후 온실에서 재배하여, 6월 ~ 8월 동안 중순에 월 1회씩 분얼수를 측정하였다. 분얼수는 화분당 분얼수로 측정하였고, 통계 처리하여 각각의 평균값을 비교하였다(도 4B). 도 4B에서 알 수 있는 바와 같이, 감마선을 조사하지 않은 야생 억새인 대조구의 평균 분얼수는 12.78개로 가장 적었고, 감마선을 조사한 억새 중, 감마선 125 Gy의 선량으로 조사된 4-12 개체의 평균 분얼수가 16.00개, 4-1 개체는 20.22개로 대조구보다 약 1.6배 정도 많게 나타났다. 본 발명의 억새 신품종은 야생형과 비교하여 평균 분얼수가 58.2% 증가를 보였다.

[0038] **실시예 4: 신장에 따른 선발**

[0039] 억새 변이체와 대조구 식물을 비슷한 생육 상태의 분얼 3개씩 한 화분에 이식한 후 온실에서 재배하여, 6월 ~ 8월 동안 중순에 월 1회씩 신장을 측정하였다. 신장은 지표에서부터 지상부 최고 높이를 상기 기간에 측정하였고, 통계 처리하여 각각의 평균값을 비교하였다 (도 4A). 도 2A에서 알 수 있는 바와 같이, 감마선을 조사한 억새 중, 감마선 125 Gy의 선량으로 조사된 4-1 개체의 신장 평균이 79.22 ㎝로 감마선을 조사하지 않은 야생 억새인 대조구의 신장 평균 75.25 ㎝보다 큰 결과를 나타냈다. 본 발명의 억새 신품종은 야생형과 비교하여 신장 평균이 5.3% 증가를 보였다.

[0040] **실시예 5: 줄기 직경에 따른 선발**

[0041] 억새 변이체와 대조구 식물을 비슷한 생육 상태의 분얼 3개씩 한 화분에 이식한 후 온실에서 재배하여, 6월 ~ 8월 동안 중순에 월 1회씩 줄기 직경을 측정하였다. 줄기 직경은 원줄기의 지상으로부터 5㎝ 지점의 지름으로 측정하였고, 통계 처리하여 각각의 평균값을 비교하였다 (도 4C). 도 2C에서 알 수 있는 바와 같이, 감마선을 조사한 억새 중, 감마선 125 Gy의 선량으로 조사된 4-12 개체의 평균 줄기 직경이 3.48㎝로 감마선을 조사하지 않은 야생 억새인 대조구의 평균 줄기 직경이 3.57㎝에 비하여 크게 차이가 나지 않았다. 4-1 개체는 4.05㎝로 대조군 보다 크고 감마선을 조사한 억새 중 가장 큰 지름을 보였다. 본 발명의 억새 신품종은 야생형과 비교하여 평균 줄기 직경이 13.4% 증가를 보였다.

[0042] **실시예 6: 잎 수에 따른 선발**

[0043] 억새 변이체와 대조구 식물을 비슷한 생육 상태의 분얼 3개씩 한 화분에 이식한 후 온실에서 재배하여, 6월 ~ 8월 동안 중순에 월 1회씩 잎 수를 측정하였다. 잎 수는 화분당 잎 수로 측정하였고, 통계 처리하여 각각의 평균값을 비교하였다 (도 4D). 도 2D에서 알 수 있는 바와 같이, 감마선을 조사하지 않은 야생 억새인 대조구의 평균 잎 수는 76.11개로 가장 적었고, 감마선을 조사한 억새 중, 감마선 125 Gy의 선량으로 조사된 4-12 개체의 평균 잎 수는 82.00개, 4-1 개체는 115.09개로 대조구 보다 약 1.5배 정도 많게 나타났다. 본 발명의 억새 신품종은 야생형과 비교하여 평균 잎 수가 50% 증가를 보였다.

[0044] 선발 개체와 대조구의 생육을 비교한 결과, 선발 변이체 4-1은 대조구에 비해 분얼수가 증가하였고, 그 외 측정 항목 모두 높게 나타났음을 알 수 있었다. 분얼수가 증가한 억새 개체는 한국형 바이오매스 적합 억새 유전자원으로 바이오에너지 원료작물 연구를 위한 국내외 연구기초가 될 것이다. 상기 선발된 4-1 개체를 2011년 12월 27일자로 한국생명공학연구원 생물자원센터에 기탁하였다 (기탁번호: KCTC 12110BP).

수탁번호

[0045]

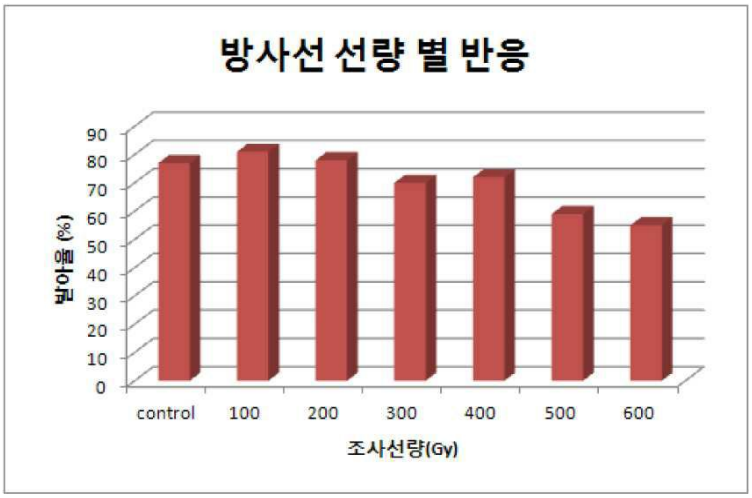
기탁기관명 : 한국생명공학연구원

수탁번호 : KCTC12110

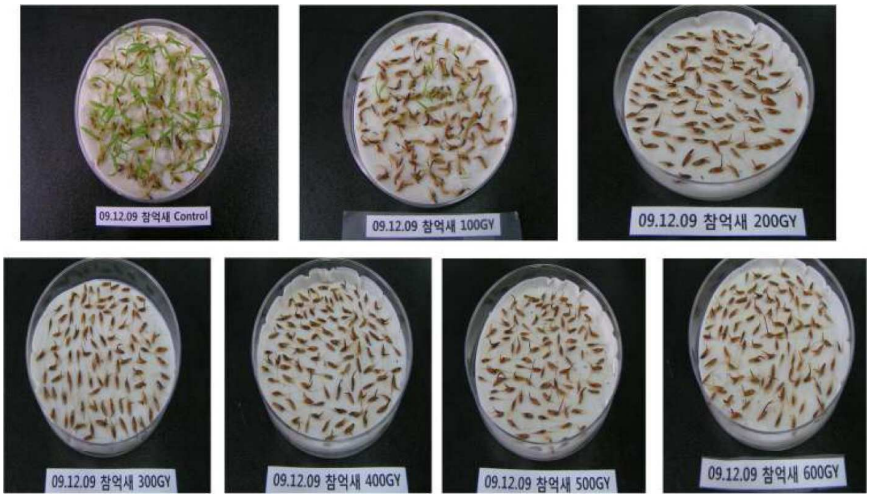
수탁일자 : 20111227

도면

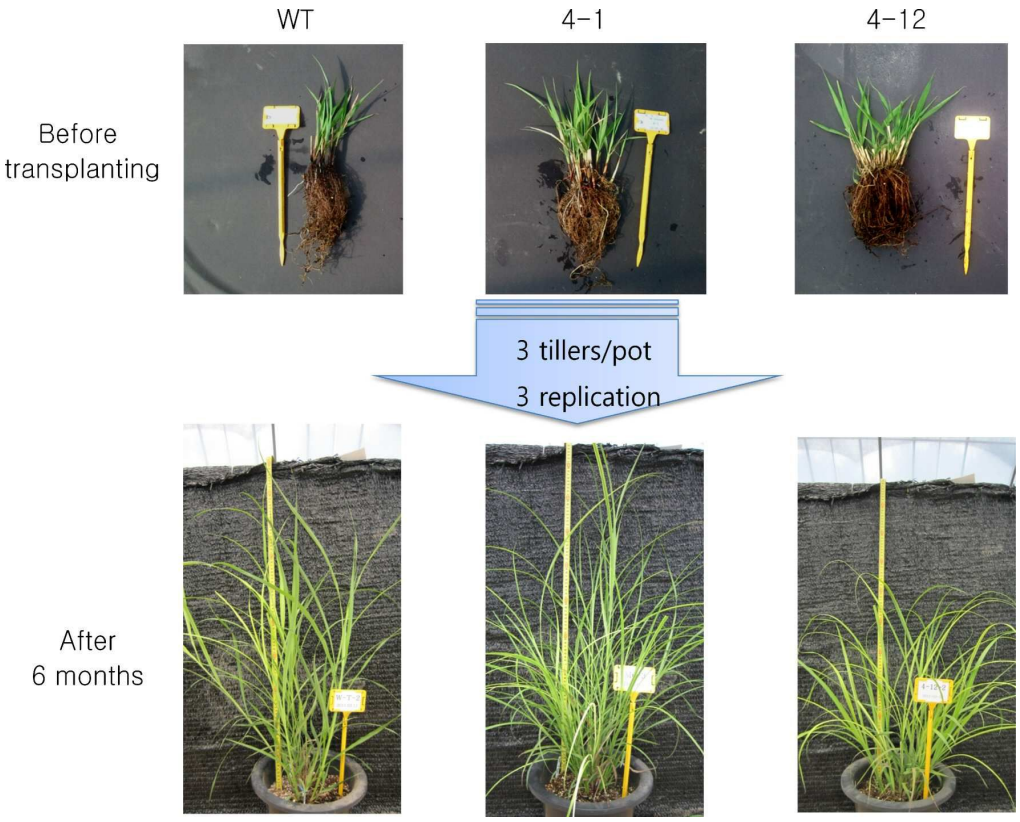
도면1



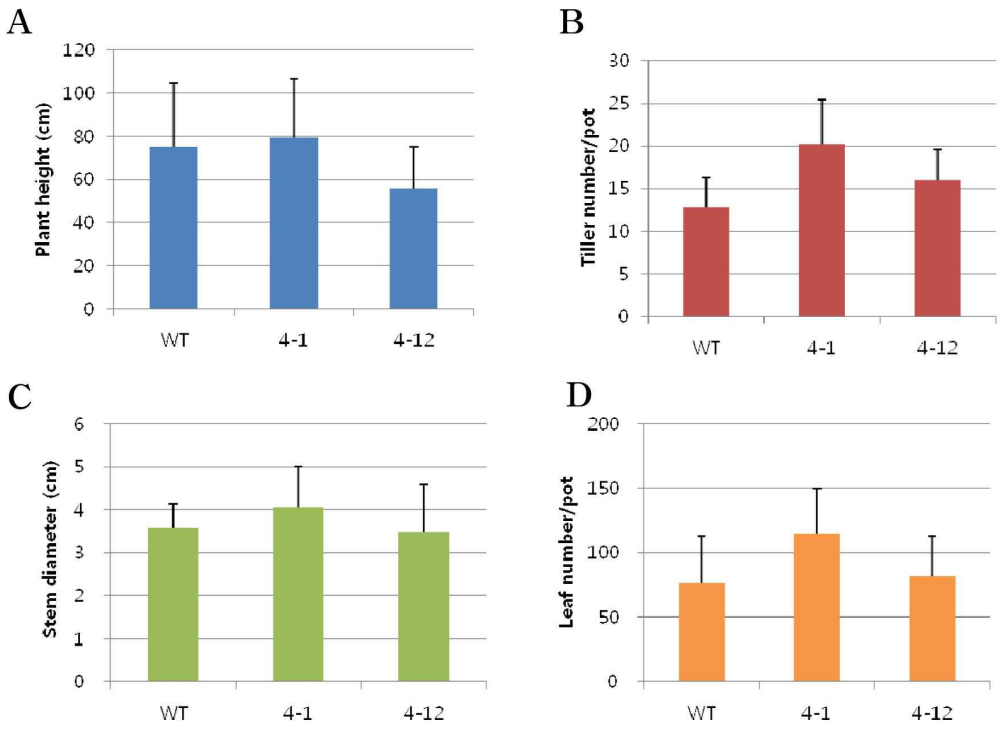
도면2



도면3


WT
4-1
4-12
Before transplanting
3 tillers/pot
3 replication
After 6 months

도면4


A
Plant height (cm)
120
100
80
60
40
20
0
WT
4-1
4-12
B
Tiller number/pot
30
25
20
15
10
5
0
WT
4-1
4-12
C
Stem diameter (cm)
6
5
4
3
2
1
0
WT
4-1
4-12
D
Leaf number/pot
200
150
100
50
0
WT
4-1
4-12