

웅성불임성을 이용한 효율적인 F₁ 양파 품종 개발

조영초^{1,*} · 김성길²

¹농업회사법인 유한회사 양파나라, ²전남대학교 농업생명과학대학 원예학과

Efficient F₁ variety development using CGMS system in onion (*Allium cepa* L.)

Youngecho Jo^{1,*} and Sunggil Kim²

¹Yangpanara Agricultural Co., Ltd.

²Department of Plant Biotechnology, College of Agriculture & Life Science,
Chonnam National University, Gwangju 61186, South Korea

*Corresponding author: breedercho@naver.com

ABSTRACT

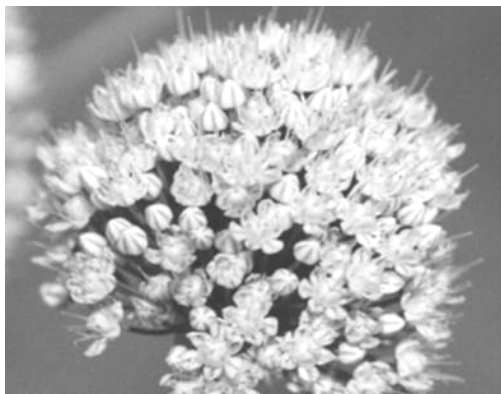
Onion is agronomically very important plant in the world and difficult to develop variety due to life cycle of biannual crop. For that reason, breeding period of new elite line need approximately fifteen years and breeding time is longer than other annual crop. To develop efficient F₁ variety in onion, onion breeder need to understand interaction between cytoplasm and nuclear about cytoplasmic male sterility and restorer of fertility respectively. Use of previously developed molecular markers is essential to utilize this system and breed elite lines efficiently. application of this molecular markers to be able to recognize cytoplasmic male sterility type and restorer of fertility gene in onion breeding are possible to reduce breeding period and able to classify lines without testcross according propose such as ms and maintainer lines. CMS and *Rf* system of onion scribed in this paper will be utilized in onion breeding program to efficient F₁ variety development.

Additional key words: Onion, F₁, Cytoplasmic male sterility, Restorer of fertility gene, Onion breeding

양파의 웅성불임

웅성불임성은 수정 가능한 활력 있는 꽃가루를 생산하지 못하는 현상으로 수정 능력을 가지는 정상과 비교하였을 때 꽃가루의 유무 이외에는 형태적인 차이가 거의 없다(Fig. 1). 이러한 웅성불임은

세포질에 의해 유기가 되기 때문에 모계유전이 되는 특징을 가지고 있으며, 지금까지 알려진 웅성불임은 대부분 미토콘드리아에 존재하는 chimeric 유전자에 의해 유기가 되는 것으로 알려져 있고 chimeric 유전자는 미토콘드리아에서 반복적인 짧은 염기서열들로 인하여 재조합을 통해서 만들어



Male-sterile



Male-fertile

Fig. 1. Male sterility and fertility in onion.

지게 된다. 옹성불임성은 농업 경제에 중요한 옥수수, 수수, 벼 등 작물에서 발견이 되었으며(Hanson 1991), 현재는 F₁ 종자를 생산하기 위한 가장 안전하고 효율적인 방법 중 하나로 이용되고 있다.

양파에서는 1936년 Henry Jones박사가 최초로 옹성불임성을 발견하였으며(Jones and Emsweller 1936), 옹성불임성의 모계유전과 회복유전자에 의해 임성이 회복 되는 것이 입증 되었다(Jones and Clarke 1943). 양파에서는 옹성불임성의 2가지 타입이 보고가 되었었다. 처음 CMS-S type이(Jones and Clarke 1943) 확인되었고 이후 1965년도에 CMS-T type이(Berninger 1965) 확인이 되었다. 두 type 모두 CGMS이며 CMS-S type의 경우 회복 유전자가 1개가 관여한다고 알려져 있고, CMS-T type의 경우에는 3개 이상이 임성회복에 관여 한다고 보고되었다(Schweisguth 1973). 국내 재배되는 양파의 경우 한국 육성품종은 CMS-T type이 CMS-S type 보다 많은 반면 일본 육성품종의 경우 한국 육성품종과는 반대로 CMS-S type이 CMS-T type보다 많은 것이 보고 되었다(Kim et al. 2009a). 양파의 경우 2년 1세대 작물로 옹성불임 type과 회복유전자형을 확인하기 위해서는 검정교배를 통해서 보통 4년의 시간이 소요가 되었다. 하지만 생명공학기술이 개발 되면서 옹성불임을 식별 할 수 있는 분자표지들이 개발 되었다. 미토콘드리아와 엽록체 내 가임과 불임의 차이를 기반으로 하여 분자표지들이 1990년대와

2000년대 초기에 개발이 되었지만 모든 세포질 타입을 식별 할 수 없거나, 한 번의 PCR(Polymerase Chain Reaction)을 통해서 구분 하기 제한되는 단점이 있었다. 2009년 전남대 김성길 교수팀은 옹성불임 후보 유기유전자인 *orf725*를 발견 하였다(Kim et al. 2009b). *orf725*유전자의 경우 *cox1*유전자 일부와 알려지지 않은 유전자가 재조합된 chimeric 유전자로 불임세포질에서만 존재하고 *cox1*유전자의 경우 정상 세포질 type과 CMS-T type에 존재하는 반면 CMS-S type에서는 존재하지 않아 이를 기반으로 한 번의 PCR을 진행하여 3가지의 양파 세포질 type을 식별 할 수 있는 분자표지를 개발 하였다. 김성길 교수팀에 의해 개발된 *orf725*유전자 기반의 분자표지 경우 신뢰도가 높고 국내 모든 계통 및 품종에 이용이 가능 하도록 하였다.

양파의 회복유전자

핵에 존재하는 회복유전자는(Restorer of fertility gene) 미토콘드리아의 옹성불임을 유기하는 chimeric 유전자의 전사나 번역 단계에 영향을 주어 임성을 정상적으로 회복시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있으나 아직 회복유전자에 대한 정확한 메커니즘은 확실히 밝혀진 것이 없다. 옹성불임을 유기하는 chimeric 유전자의 전사과정에서 mRNA를

분해한다거나 조개는 기능을 하는 것으로 알려져 있으며 웅성불임을 유기하는 chimeric 유전자에 대해서도 세포독성을 일으키거나 프로그램화된 세포 사멸(Programed Cell Death)인 PCD를 유발하는 것이 보고된 바 있다(Budar et al. 2003; Hanson and Bentolila 2004). 지금까지 웅성불임을 회복시키는 회복유전자들은 여러 작물들에서 확인이 되었다. 예를들면 옥수수(Cui et al. 1996), 페추니아(Bentolila et al. 2002), 무(Brown et al. 2003; Desloire et al. 2003; Koizuka et al. 2003), 벼(Komori et al. 2004)에서 확인이 되었으며 옥수수의 알레하이드 디하이드로제나아제를 암호화 하는 *Rf2*를 제외 하고는 지금까지 알려진 거의 모든 회복유전자는 35개의 서로 유사한 아미노산이 cluster형태로 있는 PPR(Pentatricopeptide repeat) 단백질을 암호화 하는 것으로 알려져 있다(Hanson and Bentolila. 2004). PPR 유전자 family는 애기장대에서 약 450 member 이상 있는 것으로 확인이 되었으며 많은 PPR 유전자가 애기장대의 1번 염색체에 뭉쳐있는 것도 연구를 통해 확인이 되었다(Small and Peeters 2000).

양파의 경우 회복유전자를 식별하기 위해서 검정교배를 통해 4년 이상의 시간이 소요가 된다. 회복유전자 식별에서도 웅성불임성 식별과 마찬가지로 많은 분자표지들이 개발되었으나 양파의 유전체가 크기 때문에 회복유전자와 연관된 분자표지 사이의 교차에 의해서 적용이 가능한 계통과 불가능한 계통으로 구분 되면서 정확한 예측을 하는데에는 제한되는 부분이 있었다. 양파의 회복유전자는 CMS-T type에서 기존에 3개 이상, CMS-S type에서는 1개로 알려져 있었으나 Kim.(2014)은 CMS-T type과 CMS-S type 모두 한 개의 동일한 회복유전자에 의해 임성이 회복한다고 보고 하였다. Kim et al.(2015)은 회복유전자와 매우 가까이 연관된 분자표지를 개발 하였는데 이는 기존에 회복유전자형 식별이 불가능 했던 계통에 대해서도 정확하게 식별 할 수 있는 분자표지로 알려져 있다. 이러한 새로운 사실의 경우 다양한 자원을 조사하여 확인이 된다면, 육종을 위한 양파의 웅성불임 세포질 타입을 판별 한다는 것은 큰 의미가 없고 웅성불임인지 정상인지를 판단하기만 하면 될

것이며 기존의 세포질 분류에 따른 유지친의 분류도 할 필요가 없어지게 된다. 뿐만 아니라 회복유전자와 매우 가까이 연관된 분자표지이기 때문에 거의 모든 계통에 이용할 수 있고 정확한 예측이 가능 하다.

웅성불임 시스템을 이용한 효율적인 F₁ 양파 품종 개발

F₁ 식물의 경우 잡종강세 현상에 의해서 양친인 부모 계통 보다 더 우량한 자식식물이 나오게 되는데 이는 일반적으로 양친 사이의 유전적 거리가 멀수록 잡종강세 현상이 더 높아지며 초장, 초세, 수량 등의 양적형질면에서 두드러지게 된다(Fig. 2). 현재 국내 양파의 경우 방임수분을 통해서 채종 및 생산이 이루어지는 고정종(일반종)과 웅성불임을 이용한 F₁ 품종이 있으며 이러한 비율은 시간이 점차 지나면서 F₁ 품종의 보급 비율이 높아지고 있는 추세이다. 양파에서 우수한 F₁ 품종을 육성하기 위해서는 이러한 CMS/Rf system을 명확히 이해하는 것이 필요하며 이와 관련된 분자표지들이 필수적이라고 할 수 있다.

Kim.(2014)이 제시한 CMS-T type과 CMS-S type 모두 한 개의 동일한 회복유전자에 의해 임성이 회복되는 가설이 추가적인 연구를 통해서 좀 더 명확해 진다면 웅성불임 세포질 type 및 세포질



Fig. 2. Plant height difference by heterosis at the seedling stage between selfing and crossing. Left is selfing plant. Right is crossing plant.

분류에 따른 유지친 타입을 분류 하지 않아도 된다. 그리고 Kim et al.(2009b)이 개발한 세포질 식별 분자표지와 Kim et al.(2015)이 BSA(Bulked Segregant Analysis)와 RNA-Seq기술을 이용하여 교차가 거의 일어나지 않는 회복유전자와 매우 가까이 연관된 분자표지를 이용하면 기존의 검정교배로 소요가 되었던 4년을 획기적으로 단축시킬 수 있으며 객관적으로 판단을 할 수 있게 된다. 따라서 기 개발된 두 가지 분자표지를 이용하여 유지친을 식별하고 육성불임친을 식별함으로써 효율적인 양파 육종프로그램을 수행 할 수 있다. 이뿐만 아니라 원원종 또는 원종 생산 단계에서 이러한 분자표지를 이용한다면 불임친에서의 가임주를 조기에 식별하여 도태 할 수 있으므로 원종 및 원원종 순도 제고를 통해서 순도 및 균일도가 높은 F₁ 품종이 육성 될 것이라 생각된다. 향후 회복유전자 연관 분자표지가 아닌 회복유전자 기반의 functional 분자표지가 개발 된다면 양파에서 육성 불임과 회복유전자의 상호관계를 이해하고 더 나아진 양파육종이 될 것으로 생각된다.

참고문헌

- Hanson MR (1991) Plant mitochondrial mutations and male sterility. *Annu Rev Genet.* 25: 461-486.
- Jones HA, Emsweller SL (1936) A male-sterile onion. *Proc Am Soc Hort Sci.* 34: 582-585.
- Jones HA, Clarke A (1943) Inheritance of male sterility in the onion and the production of hybrid seed. *Proc Amer Soc Hort Sci.* 43: 189-194.
- Berninger E (1965) Contribution à l'étude de la stérilité mâle de l'oignon (*Allium cepa* L.). *Ann Amélior Plant.* 15: 183-199.
- Schweisguth B (1973) Étude d'un nouveau type de stérilité male chez l'oignon, *Allium cepa* L. *Ann Amélior Plant.* 23: 221-233.
- Kim S, Lee E, Kim C, Yoon M (2009a) Distribution of three cytoplasm types in onion (*Allium cepa* L.) cultivars bred in Korea and Japan. *Kor J Hort Sci Technol.* 27(2): 275-279.
- Kim S, Lee E, Cho DY, Han T, Bang H, Patil BS, Ahn YK, Yoon M (2009b) Identification of a novel chimeric gene, *orf725*, and its use in development of a molecular marker for distinguishing three cytoplasm types in onion (*Allium cepa* L.). *Theor Appl Genet.* 118: 433-441.
- Budar F, Touzet P, De Paepe R (2003) The nucleo-mitochondrial conflict in cytoplasmic male sterilities revised. *Genetica.* 117: 3-16.
- Hanson MR, Bentolila S (2004) Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development. *Plant Cell.* 16: S154-S169.
- Cui X, Wise RP, Schnable PS (1996) The *rf2* nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. *Science.* 272: 1334-1336.
- Bentolila S, Alfonso AA, Hansom MR (2002) A pentatricopeptide repeat containing gene restorer fertility to cytoplasmic male-sterile plants. *Proc Natl Acad Sci USA.* 99: 10887-10892.
- Brown GG, Formanova N, Jin H, Wargachuk R, Dendy C, Patil P, Laforest M, Zhang J, Cheung WY, Landry BS (2003) The radish *Rfo* restorer gene of Ogura cytoplasmic male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats. *Plant J.* 35: 262-272.
- Desloire S, Gherbi H, Laloui W, Marhadour S, Clouet V, Cattolico L, Falentin C, Giancola S, Renard M, Budar F, Small I, Caboche M, Delourme R, Bendahmane A (2003) Identification of the fertility restoration locus, *Rfo*, in radish, as a member of the pentatricopeptide-repeat protein family. *EMBO Rep.* 4: 588-594.
- Koizuka N, Imai R, Fujimoto H, Hayakawa T, Kimura Y, Kohno-Murase J, Sakai T, Kawasaki S, Imamura J (2003) Genetic characterization of a pentatricopeptide repeat protein gene, *orf687*,

- that restores fertility in the cytoplasmic male-sterile Kosen radish. *Plant J.* 34: 407-415.
15. Komori T, Ohta S, Murai N, Takakura Y, Kuraya Y, Suzuki S, Hiei Y, Imaseki H, Nitta N (2004) Map-based cloning of a fertility restorer gene, *Rf-1*, in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant J.* 37: 315-325.
 16. Small ID, Peeters N (2000) The PPR motif- a TPR-related motif prevalent in plant organellar proteins. *Trends Biochem Sci* 25: 45-47
 - Ogura H (1968) Studies on the new male sterility in Japanese radish, with special reference to the utilization of this sterility towards the practical raising of hybrid seeds. *Mem Fac Agr Kagoshima Univ.* 6: 39-78.
 17. Kim S (2014) A codominant molecular marker in linkage disequilibrium with a restorer-of-fertility gene (*Ms*) and its application in reevaluation of inheritance of fertility restoration in onions. *Mol Breeding.* 34: 769-778.
 18. Kim S, Kim C, Park M, Choi D (2015) Identification of candidate genes associated with fertility restoration of cytoplasmic male-sterility in onion (*Allium cepa* L.) using a combination of bulked segregant analysis and RNA-seq. *Theor Apple Genet.* 128: 2289-2299.