분자표지인자를 이용한 밀 연구 현황과 국산 밀의 연구 방향

손재한¹ · 김경훈¹ · 신상현¹ · 김학신¹ · 김남수² · 현종내¹ · 강천식^{1*}

¹농촌진흥청 국립식량과학원, ²강원대학교 의생명과학대학 분자생명과학과

Current Status and Future Prospects for Korean wheat Research Using Molecular Markers

Jae-Han Son¹, Kyeong-Hoon Kim¹, Sang-Hyun Shin¹, Hag-Sin Kim¹, Nam-Soo Kim²,
Jong-Nae Hyun¹, and Chon-Sik Kang^{1*}

¹National Institute of Crop Science, RDA, Iksan, 570-080, Korea

²Institute of Molecular and Bioscience, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract : Academic and technical development of a variety of molecular markers in plant research has brought new innovations. DNA molecular markers have been used in a variety of fields, such as plant taxonomy, physiology and genetic engineering, as well as simple DNA fingerprints. Wheat is one of the three important crop with maize and rice. However, wheat have so enormous genome (17,000 Mb) that they have a lot of trouble to research follow. In this study, we analyzed that the reported on the research field of wheat have been reported until now, and was to provide direction for future research. The results of analysis of 1,123 episode of major papers published from 1990 to 2012, the field of genetics and breeding was highest 38.3%, molecular marker was 26.9% and physiology was 1.5%, respectively. In Korea, 35 wheat cultivars were developed such as 'Kumkang'. Most of all the Korean wheat cultivars are developed for specific applications that is baking or noodles. Therefore, the development of specific molecular markers related to abiotic or biotic stress, yield and quality of wheat flour are able to use useful tools to protect wheat varieties, as well as the wheat breeding programe, the quantity and quality of wheat.

Keywords : Wheat, Molecular marker, MAS.

서 언

분자표지인자는 다양한 식물과 동물 등의 유전자 지도 및 염색체 지도의 개발에 유용하며, 응용적인 면이나 편의성 그리고 경제적 효과성으로 여러 분야에 폭넓게 사용되고 있다. 작물의 형질과 관련된 유전적 특성은 환경의 영향을 거의 받지 않기 때문에 분자표지인자를 이용한 간접적인 선발은 식물육종에 효과적이다. 이러한 특성으로 분자표지인자는 생식질 특성, 유전자 진단, 형질전환체 분석, 계통연구 및 계통분석 등에 유용하게 사용되고 있다(Rafalski et al. 1996). 또한 분자표지인자는 일반적인 DNA 지문과 다형성 검출에도 유

용하게 사용 된다. 식물 연구 및 육종분야에서 분자표지인자의 사용은 토마토와 옥수수에서 유전자 지도를 작성하기 위해 처음으로 시작되었으며, 이후 벼, 보리와 밀 등 다른 작물을 포함한 식물 연구에 광범위하게 사용되고 있다(Gupta et al. 1999).

밀은 쌀, 옥수수 등과 함께 세계적으로 가장 중요한 식량 작물 중 하나이다. 세계 인구의 40% 이상이 식량으로 사용하고 있으며, 연간 600만톤 이상 생산되고 있다(Gupta et al. 2008). 밀은 유전학적으로 염색체 조작이 용이하기 때문에 배수체 세포학 연구의 기본 모델 식물로서 제공되기도 하였다. 일반적인 밀은 6배체(2n=42, AABBDD)로 A, B 그리고 D의 계통으로 구성되어 있으며, 이들 계통은 서로 다르지만 유전적으로 서로 관련 되어있다. 밀 계통 중 A와 D 계통의 기원은 확인이 되었지만, B 계통의 기원은 아직 명확하게 확인되지 않아 그에 대한 논의가 진행되고 있다(Gill et al. 1991).

*Corresponding author (E-mail: kcs1209@korea.kr, Tel: +82-63-840-2156, Fax: +82-63-840-2116)

(Received on June 11, 2013. Revised on September 7, 2013.

Accepted on September 9, 2013.)

밀의 반수체 DNA는 약 1.7×10^{10} bp이고, 염색체 한 개당 평균 길이는 810 Mb이다(Arumuganathan & Earle 1991). Moore (1995) 등은 밀의 염색체는 벼의 염색체보다 약 25배가 긴 것으로 보고하였다. 밀 염색체의 크기는 옥수수의 게놈의 절반 크기와 같고, 벼 게놈의 1/2 크기는 밀 염색체 1/2 크기의 게놈과 비슷하다(Gill & Gill 1994). 밀의 게놈은 배수성과 중복작용으로 인해 80% 이상이 반복 염기서열로 구성되어 있다. 세포학적 관점에서 일반적인 밀의 생식분열은 일반식물의 2배체와 비슷하게 일어나고 있지만, A, B 그리고 D와 같이 서로 다른 세개의 게놈을 가지고 있기 때문에 이수체로 여겨지고 있다. 이러한 특징은 많은 이수체의 가능성과 함께 밀 유전체 연구를 가능하게 하였다. 다른 작물과 같이 밀에서 분자표지인자를 이용한 선발이 이루어지고 있으며, 유전자 분리, 유전적 진화 연구 및 진단 등 광범위하게 사용되고 있다. 본 연구는 분자표지인자 개발을 위한 각 연구분야의 필요성에 대해 설명하고, 현재 밀 연구 현황과 앞으로의 연구 방향에 대해 제시하고 한다.

곡물 유전체 사업의 시작

유전체 사업은 생물의 전체 염기 서열을 완전하게 해석하는 것을 목표로 하여 박테리오파지의 λ DNA가 제일 처음 분석되었다(Sanger et al. 1982). DNA 염기서열 분석 및 관련 소프트웨어 기술의 발전과 함께 큰 유전체 사업이 시작되었고, 이미 많은 원핵생물 뿐만 아니라 모델 식물인 애기장대를 포함하여 벼, 포플러 등의 진핵생물의 유전체 분석도 완료된 상태이다(The Arabidopsis Genome Initiative 2000). 애기장대는 비교적 작은 크기의 다섯 개 염색체를 가지고 있을 뿐만 아니라 짧은 라이프 사이클과 많은 후대가 만들어지고, 유전체의 크기가 약 120 Mb로 매우 작기 때문에 모델 식물로서 많은 연구가 진행되어 약 26,000개의 유전자가 발견되었다. 유전자 기능 연구는 이들 유전자에 비해 상대적으로 적은 수에 대해 추진되었다. 밝혀진 유전자는 데이터베이스에 입력된 단백질 서열에 대한 유사성에 따라 자동으로 분류되었다. 또한 기능이 밝혀지지 않은 유전자는 분류가 되지 않았지만 주요 유전자 분석에 이용될 수도 있다. 대부분의 유전자는 신진 대사, 유전자 조절과 식물 방어 메커니즘의 기능을 가지는 것으로 추정되고 있다. 중요한 것은 이러한 유전체학은 데이터베이스화 되어 있는 유전자 정보를 이용하여 유전체에서 발현되는 모든 단백질을 확인하고, 특성화하는 기능유전체학

연구를 향하고 있다는 것이다.

애기장대의 유전체 분석이 완료된 이후 국제 식물 과학자들은 특히 경제적으로 중요한 작물, 즉 벼(Adam 2000)의 유전체 분석에 초점을 두었다. 대부분 곡물의 유전체는 다배체 및 유전자 중복 등의 결과로 매우 큰 유전체를 가지고 있다. 경제적으로 중요한 주곡 작물의 유전체 범위는 벼(420 Mb)에서 밀(17,000 Mb)까지 약 1~40배로 크고 다양하다. 특히 개발 도상국에서의 벼와 식량작물 등의 중요성으로 인해 상대적으로 작은 유전체를 갖는 벼의 유전체 사업이 시작되었다. 이와 같은 유전체 사업은 일반적으로 식물연구에 엄청난 기여를 하고, 특히 식량작물의 품질 관련 유전자 정보를 제공하였다. 그러나, 유전자가 될 mRNA를 만들 수 있는 잠정적인 DNA 틀이라고 할 수 있는 게놈의 개방형 해독틀(ORF, Open reading frame)의 존재는 그 유전자가 반드시 기능을 갖고 있다고 명확하게 설명할 수 없게 하였고, 염기서열의 확실한 이해 역시 할 수 없게 하였다. 따라서, 어떤 유전자의 기능에 대한 해석의 첫 번째 단계는 유전자가 만들어 내는 단백질을 확인하는 것이다. 최근 밀의 유전체 분석이 활발히 진행되고 있어 Brenchley (2012) 등은 이미 알려진 밀의 게놈(Genome, 17,000 Mb) 크기의 5배 크기에 달하는 염기서열을 비교 분석(85,000 Mb)하여 보고하였다. 즉 유전자 염기서열을 조립하는 방법(shotgun)을 이용하여 완전한 유전자 세트를 구성하고자 하였으며, 전체 96,000개의 유전자 등을 포함한 유전체 정보가 공개되었다(<http://mips.helmholtz-muenchen.de/plant/wheat/uk454survey/index.jsp>). 특히 작은 게놈으로 구성된 야생 잔디(*Brachypodium distachyon*)는 맥류의 모델 식물로서 유전체 분석 프로젝트에 의해 5번 염색체의 게놈 분석이 완료되었으며(272Mb) NCBI에서 약 172개 유전자에 대한 정보를 제공하고 있다(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome?term=txid15368%5Borgn%5D>). 밀의 유전체 분석 프로젝트 결과 현재 NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/map_search.cgi?taxid=4565)에서 밀의 미토콘드리아와 플라스티드 유전체 분석 결과와 함께 21개 염색체(1A, 1B, 1D, 2A, 2B, 2D, 3A, 3B, 3D, 4A, 4B, 4D, 5A, 5B, 5D, 6A, 6B, 6D, 7A, 7B, 7D)의 유전지도 작성 결과에 대한 정보를 제공하고 있다. 유전체 분석 현황을 보면, 유전자, RFLP, SSR 등의 마커를 이용하여 1A 염색체는 -59.00-177.00 cM, 1B; -49.00-161.70 cM, 1D; -40.00-159.60 cM, 2A; -49.10-159.00 cM, 2B; -58.80-123.10 cM, 2D; -61.80-191.10 cM, 3A; 0.00-216.90 cM, 3B; -40.30-247.80 cM,

3D; -26.40-116.90 cM, 4A; -66.91-175.00 cM, 4B; -68.60-76.00 cM, 4D; -32.21-121.00, 5A; -3.50-258.00 cM, 5B; 0.00-173.00 cM, 5D; -20.30-176.00 cM, 6A; -57.00-174.00 cM, 6B; -45.70-117.50 cM, 6D; -59.40-183.20 cM, 7A; -61.00-211.00 cM, 7B; -43.00-173.60 cM, 7D; -18.50-154.31 cM 사이의 유전자 지도 작성되었고, 그에 대한 정보가 NCBI로부터 제공되고 있다. 또한 프랑스 연구 기관 INRA GDEC Clermont-Ferrand의 “Structure, function and evolution of the wheat genomes” 팀은 BAC by BAC approach와 차세대 유전체 분석 기술(Next Generation Sequencing technologies)을 이용하여 1 휴의 3B 염색체 분석 등을 진행중에 있으며 이에 대한 정보가 현재 제공되고 있다(<http://www.wheatgenome.org/content/view/full/625>). 이러한 연구는 ‘National Sequencing center Genoscope’ 및 ‘The INRA bioinformatics unit URGI’ 등 많은 기관으로부터 지원을 제공받아 진행되고 있다.

Marker assisted selection (MAS)를 이용한 식물육종

식물의 형태를 기준으로 선발하는 것은 식물 육종 프로그램에서 전통적으로 수행되는 기본적인 방법이다. 식물의 형태적인 특징은 유전자나 환경에 의해 발현되기 때문에 효과적인 선발은 특정 형질에 대한 다수의 유전자 또는 개개의 유전자의 영향과 환경적인 영향 등이 고려되어야 한다. 다양한 분자표지인자 기법을 이용하여 많은 작물의 농업형질에 대한 MAS가 개발되었다. Quantitative trait loci (QTL)를 이용한 밀의 수량 및 질적 형질에 관련된 분자표지인자 개발에 대한 연구가 많이 수행되었다. 밀의 유전체 분석과 함께 유전자 지도 작성 등에 QTL과 관련된 마커들이 사용되었고, 특히 밀의 수량에 관련된 유전자를 동정하기 위한 유전자 지도 작성(Li et al. 2007)과 밀의 제빵특성에 관련된 QTL 분석이 많이 수행되었다(Perretant et al. 2000). QTL 또는 분자마커를 이용한 MAS의 목적은 몇몇 주요한 형질과 관련된 많은 분자표지인자들을 밀 육종산업에 효율적으로 사용하기 위해서이다. MAS를 이용한 선발은 1923년 Sax에 의해 처음 제안된 것으로 육종년한을 단축하고 간편하게 할 것으로 판단되어 많은 육종가들의 주목을 받기 시작하였다. MAS는 1980년대까지는 폭넓게 사용되지 않았지만, 이후 제한효소를 이용한 RFLP 기법과 유전자증폭 기법(Polymerase Chain Reaction)의 개발과 함께 발달된 RAPD (Random Amplification Poly-

morphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeat), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SNP (Single Nucleotide Polymorphism) 등의 분자표지인자 기술의 발달로 광범위하게 사용되기 시작하였다(Kwok et al. 1996). 질적형질의 향상은 생산량 감소를 야기할 수 있다. 따라서 식물육종에서는 MAS의 요구사항으로 첫째, 발현 가능성이 있는 형질과 매우 가깝게 연관되어 있거나(1 cM 이하) 대립유전자가 동시에 분리가 되어야 한다. 둘째, 분자표지인자를 위한 모집단이 효과적으로 사용될 수 있는 방법이 마련되어야 한다. 마지막으로 MAS는 육종가가 선발과정에서 쉽게 사용할 수 있을 뿐만 아니라, 경제적이며 높은 재현성을 가져야 한다(Gupta et al. 1999). 분자표지인자는 특히 농업형질관련 특성 분석에 유용하다. NILs (Muehlbauer et al. 1998, Young et al. 1988, Martin et al. 1991)과 RILs (Mohan et al. 1994)의 집단 분석 등을 사용하는 분자표지인자 연구는 밀을 포함하여 다른 식물의 많은 유전자 지도작성을 가속화 하였다. 육종에서 분자표지인자가 유효성을 갖기 위해서는 가능성을 보이는 분자표지인자가 확인 되고, 그에 알맞은 육종 프로그램을 위한 유전적인 특징과 효과적인 실험 분석법 등이 필요하다. MAS는 수량과 같이 복잡하지 않은 계통적 양적 형질을 포함하는 간단한 형질에 대해 폭넓게 사용되고 있으며, 그 후, 마커를 이용하여 재선발 하는 MARS (Marker assisted recurrent selection)와 게놈 전체를 포괄적으로 분석하는 GS (Genome wide selection) 또한 MAS에 적합한 것으로 판단되고 있다(Gupta et al. 1999).

대립유전자 특이적 표지인자(Alelle specific marker) 연구방법 및 개발

Alelle mining

농업적으로 작물의 특성이 우수하고 수량성이 높은 품종의 개발은 식물의 육종에서 매우 중요한 것으로서 다양한 유전적 자원으로부터 우수한 대립유전자를 축적하는 과정에 의해 가능해진다. 야생종간 또는 작물종간에 존재하는 유전적 다양성을 포함한 대립유전자는 농업적으로 우수한 품종을 개발하는데 유용하다(Kumar et al. 2010). 형질이 발현할 때 어떠한 대립유전자 또는 그들의 조합이 순차적으로 변화하는 현상은 야생근연종으로부터 재배 품종으로의 새로운 대립 유전자 이입에 의해 설명될 수 있다(deVicente & Tanksley 1993, Xiao et al. 1996, McCouch et al. 2007). 지난 20여년 동안 작물

을 포함한 많은 식물의 염기서열 정보가 유전자은행(GenBank)에 축적되었다. 염기서열의 빠른 축적과 유전체 데이터베이스에 있는 새로운 유전자의 발견과 그 정보는 대립유전자 특이적 표지인자 개발을 활성화 시켰다(Spooner et al. 2005). 유전자와 유전체 염기서열을 기반으로 운영되는 PCR법은 종의 다양한 유전자와 유용한 대립 유전자를 분리하기 위해 고안되어 현재까지도 다양하게 이용되고 있다(Latha et al. 2004). 이것은 생물학적 및 비생물학적 스트레스, 고영양효율성, 향상된 생산성과 품질 및 병해에 대한 저항성등에 관련된 유전자에 직접적으로 적용할 수 있다. 서로 다른 유전자형과 얻어진 형질 또는 그들의 변이체에 관련있는 유사한 대립유전자가 새로운 유전체 분석 기술에 의해 확인되어졌다. 이 기술은 종종 ‘대립유전자 수집(allele mining)’ 또는 ‘관련유전자 또는 유전자좌’로 지칭되었다. 생식질 모집단으로부터 대립유전자에 의한 변종의 확인은 목적형질 개선에 새로운 대립유전자를 전달을 위한 새로운 생식질을 제공할 뿐만 아니라, 보존을 위한 생식질을 체계적으로 분류할 수 있게 하였다. 이와 같이 유전체 분석을 기초로 하는 식물 육종이 발달하고 있기 때문에 대립유전자의 중요성을 인식하고, 다양한 대립유전자를 수집하기 위한 전략적인 분석 방법이 필요하다. 진화에서 돌연변이는 모든 작물 종의 강력한 원동력으로 생각되고 있다. 기존의 대립유전자와 allelic 조합, 유전체의 유전자 지역의 변이에서 새로운 대립 유전자 또는 다양성을 유발하는 단일 염기 다형성(SNP) 또는 삽입 및 결여 등은 매우 중요하게 다루어지고 있다. 특히 SSRs는 대립유전자를 이용하는 표지인자 개발에 대표적으로 사용되는 분자표지인자 기법이다. SSRs 또는 microsatellites는 반복되는 염기수를 분석하는 방법으로 PCR를 이용하여 쉽게 다형성을 검정할 수 있다. 특히 다른 마커에 비해 microsatellite는 공우성 마커로서 유전분리 초기 세대에서 유용하게 사용할 수 있는 장점이 있다(Chen et al. 1998, Temnykh et al. 2001).

Allele mining을 위한 조건과 적용

성공적이고 효율적인 allele mining은 기존의 유전적 기반에 유전체 및 특정 작물 종의 유전자 염기서열 정보의 이용 가능 여부에 의해 결정이 된다. 이들 중요한 요소에는 표현형 기술, 유전적 자원, 대립유전자 데이터의 빠르고 쉬운 생성을 위한 초고속 기술의 가용성, 경제적인 염기서열 플랫폼, 염기의 다양성과 MAS를 위한 분자표지인자 구축 기술의 식별을 위한 효율적인 생물정보학 도구 등이 포함된다. 우수한 대립

유전자 발견은 다양한 유전자원으로부터 관심있는 유전자의 mining을 통하여 이루어지고, 결과적으로 allele mining이 효과적으로 사용될 수 있다. Allele mining은 다양한 유전자원에서 주목되는 유전자의 mining을 통해 우수한 대립 유전자의 발견에 효과적으로 사용될 수 있기 때문에 새로운 형질 다양성의 분자적 기반에 대한 통찰력을 제공하고, 우수한 대립 유전자와 관련된 염기의 변화 등을 확인할 수 있게 한다. 또한 allele mining은 관련된 종이나 allele 특이적 분자표지인자 개발에 효과적으로 사용될 수가 있다.

MAS를 위한 대립유전자 특이적 표지인자의 개발

염기서열 변이 확인은 적합한 유전적 배경에서 우수하거나 유전자 이입에 대한 대립유전자 특이적 분자 마커 분석을 개발할 수 있다. 최근 MAS에 대한 대립유전자 특이적 분자 표지인자 개발을 통해 이러한 변화의 유용성을 보여준 반면 주요 유전자의 염기서열 변화의 존재를 입증하는 보고가 되고 있다(Gupta et al. 2008). 예를 들어, 18개의 찰성 유전자의 염기서열 비교는 유전자 재배치, 프레임 이동 등에 의해 특성화된 다섯개의 서로 다른 대립 유전자의 존재를 확인시켜 주었다. 모든 대립 유전자는 표현형으로 관찰되는 차이와 명확하게 관련되어 있다(Mikami et al. 2008). 30개의 벼품종에서 24개의 SNPs와 하나 In/Del 변이는 allele 특이적 표지인자들은 벼의 곡물 품질 개선을 위한 backcross 육종 프로그램을 위해 개발되었다. 최근, 벼의 54개 accessions의 염기서열 비교를 통해 곡물 크기에 관련있는 GS3 유전자에서 86개의 SNPs와 28개의 In/Del이 확인되었다(Takanokai et al. 2009). 새로운 대립 유전자와 allelic 조합을 찾기 위한 Allele mining 기법은 벼 이외에도 많은 작물에 적용되었다. 유럽에서 보리의 생식질의 파성 유전자좌(VRN-H1-H4)에서 대규모 haplotype 다양성이 보고 되었으며, 관련된 대립유전자 특이적 분자표지인자가 개발되었다(Cockram et al. 2007). 이들 연구는 작물의 유전자 풀안에서 다양한 형질에 대해 확인되지 않은 대립유전자(unexploited allelic) 다양성을 제공하였다(Kumar et al. 2010).

세계 밀 연구 동향 분석

밀 관련 연구 논문 탐색 및 수집

밀의 연구 동향을 분석하기 위해 1990년부터 2012년까지 보고된 밀관련 연구 논문을 Springer Link (<http://www.>

springerlink.com/), PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), Scopus (<http://www.scopus.com/home.url>), Google (<http://google.co.kr/>) 등 검색사이트와 Nature(13편), Science(8편), The plant cell(20편), Plosone(33편), Euphytica(89편), Molecular breeding(37편), Theoretical and applied genetics(207편), Korean journal of breeding science(46편) 등 각각의 저널로부터 밀에 관련된 논문을 1,158편을 수집하였다. 논문의 검색은 각각의 저널 및 검색 엔진에 키워드를 입력하여 나타난 논문 중 밀과 관련된 논문은 모두 데이터로 활용하였다(Supplementary Table 1). 수집된 논문은 연도별, 연구 분야별, 국가별, 연구기관 등으로 연구 동향을 분석하였고, 국내 밀 연구의 현재 현황과 비교하였다.

세계 밀의 연구현황 분석

밀의 연구는 1988년 미국 중서부 지역의 가뭄으로 인한 밀, 옥수수, 콩 등이 고사하여 국제 곡물 가격 파동이 일어난 이후 증가하기 시작하였다. 급격한 식량난으로 인해 주요 작물의 연구가 중요시 되면서 밀의 연구 또한 증가된 것으로 생각 된다. 발표된 논문을 분석한 결과 주요 생산국인 미국을 포함하여 중국, 호주, 영국 등의 국가에서 발표된 논문이 50% 이상을 차지하고 있었다. 뒤이어 독일, 일본, 한국, 스위스, 프랑스, 캐나다와 인도 등으로 밀에 관련된 논문이 발표되고 있다(Fig. 1). 이들 국가에서 발표된 밀의 연구 논문은 1992년부터 지속적으로 증가하였고 2007년에 가장 많았다. 특히 이들 논문의 발표는 2000년부터 급격하게 증가하기 시작하였는데, 이것은 국가별 밀 육종 사업과 분자표지인자 기법의 개발과 발달이 동시에 영향을 미쳤기 때문으로 생각된다. 주요 국가별 연구 현황에서 미국은 1990년대 초부터 연구가 활발히 진행되어 2007년까지 많은 논문을 보고하였고, 이후 감소되는 추세를 보였지만 여전히 연구가 활발히 진행이 되고 있다(Fig. 2, 2012 정부 R&D 특허기술동향조사 사업). 분석된 논문에서 약 421편(37.4%)이 미국에서 발표되고 있기 때문에 다른 주요 국가보다 밀의 연구가 많은 것을 알 수 있었다. 그 뒤로 중국이 163편(14.5%)으로 논문을 많이 보고하였다. 중국은 2000년대에 들어와서 급격하게 밀의 연구가 증가하여 2003년 이후 많은 연구 결과들이 보고 되기 시작하였고, 2012년까지 꾸준히 증가하는 추세를 보이고 있다. 또한 오스트레일리아에서는 중국과 마찬가지로 2000년대 들어와 연구가 활발히 진행되기 시작하여, 2005년에서 2007년 사이에 가장 많은 논문을 발표하였다. 영국의 밀 연구는 다른 나라에

비해 눈에 띄게 높지는 않지만, 꾸준히 진행이 되고 있는 것으로 보인다. 2001년과 2005년 사이에 논문 19편으로 가장 많이 발표되었다. 독일과 일본은 다른 밀 주요 생산국에 비해 연구논문 수는 44편으로 적었지만, 이들 국가 또한 2000년 이후부터 연구가 활발히 진행되고 있다. 그 밖에 스위스, 프랑스, 캐나다, 인도 등의 연구 현황을 보면 2000년대 초부터 2007년 사이에 가장 많은 것으로 나타났다. 국내에서 발표된 밀의 논문 88편으로서 전체 논문의 약 7.6%였다. 국내 밀 연구 논문은 2008년부터 2011년 사이에 대부분 발표되었다. 이것은 다른 나라와 비교할 때 밀의 연구가 뚜렷하게 활발하지 않은 것을 나타내며 국내 밀의 연구는 최근에 급격히 증가하였다는 것을 알 수 있다.

이와 같이 밀의 주요 생산국들의 연도별 연구는 2000년부터 2007년 사이에 집중되어 있는 것은 분자표지인자의 개발과 관련이 있는 것으로 보인다. 특히 발표된 논문에서 RAPD, SSR, SNP 등의 분자표지인자를 이용한 연구논문이 전체 635편(57%) 이상으로 가장 많았다. 2004년까지 많은 대학 및 연구소에 의해 SSR 마커가 밀의 유전자 지도에 추가가 되었다. 이후 2004년부터 large-scale sequencing project로 인해 많은 양의 cDNA 정보를 얻을 수가 있었다(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>; <http://graingenes.org>). 매우 많은 양의 expressed sequence tags (ESTs)이 GenBank에 등록 되었으며, 밀의 ESTs는 416,000개 달했다(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST>). 2003년 2월까지 6,636개의 EST가 mapping population과 deletion

Fig. 1. Comparison of the number of published wheat research papers from major wheat producing country from 1990 until 2012). The most papers were published by U.S. (421) and next followed by China, Australia, The United Kingdom, South Korea, Germany, Japan, Switzerland, France, Canada and India.

Fig. 2. Annual major national wheat research papers reporting status. From each of the country from 2002 until 2007, most papers have been published.

Fig. 3. Analysis of wheat research trends by year. Wheat research in progress since the early 1990s, increased rapidly. The number of papers related to the field of wheat genetics and breeding, and molecular markers were similar. Otherwise, the number of papers in the field of physiology were very low, relatively. Green indicate the field of wheat genetics and breeding, blue indicate the field of molecular marker and red indicate the field of physiology.

Fig. 4. The wheat research trends of major producing countries. Blue color indicate the field of wheat genetics and breeding, red color indicate the field of molecular marker and green color indicate the field of physiology.

ling을 이용한 RFLP에 의해 밀의 유전자 지도에 추가되었지만(http://wheat.pw.usda.gov?NSF/progress_mapping.html), EST-SSRs을 이용한 유전자 지도는 이때까지 보고가 되지 않았다. 이후 EST-SSRs을 이용한 밀의 유전자 지도 작성에 대한 연구가 활발히 진행되었으며, 현재는 EST에 존재하는 SSR 또는 microsatellite에 대한 분석으로 수십만 개의 EST-derived SSR이 보고되고 있다. 따라서 이들 EST에 대한 연구와 QTL에 관련된 유전자 지도 작성 등이 연구되던 시기에 주요 국가의 밀 연구가 가장 활발히 진행된 것을 알 수 있었고, 이들은 앞으로의 밀 연구에 있어, 기초과학 뿐만 아니라

육종과 새로운 분자표지인자를 개발하는데 유용한 재료로써 사용될 것이다.

세계 주요 연구 기관의 밀 연구 현황

Daryl J. Somers(캐나다), Catherin Feuillet(스위스) 등 밀 연구에 있어 저명한 연구자들의 연구 현황을 통해, 이들이 속해있는 기관별 논문 보고 동향을 분석하였다. 중국의 기관인 Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS)에서 밀의 연구 논문이 가장 많이 보고 되고 있으며, 그 뒤로 미국의 Kansas State University 및 University of California에서 다

수의 논문이 보고되고 있는 것으로 나타났다. 소속 기관별로 비교한 결과 대학교와 연구소 비율이 비슷한 것으로 나타났다. 국가 소속기관 연구소의 밀 연구 논문이 52%로 대학교 (48%) 보다 높게 나타났다. 미국은 Kansas University, University of California 및 North Dakota State University 등 대학교에서 논문을 많이 보고하였고, 중국, 호주, 프랑스 및 캐나다는 CAAS, CSIRO Plant Industry, UMR INRA-UBP, Cereal Research Center 등 연구소에서 논문이 주로 보고 되었다. 이것으로 볼 때 중국과 호주 등의 국가는 밀의 연구를 국가가 주도하여 연구를 이끌기 때문인 것으로 판단된다. 국내 밀 연구 또한 대학과 기관이 연계하여 연구를 이끌어가고 있지만, 농촌진흥청과 같은 국가 기관이 밀연구를 주도하고 있었다.

연구 분야별 밀 연구

현재까지 세계 주요 밀 생산국들의 밀연구 현황을 분야별로 분석한 결과 유전육종과 분자표지인자 개발에 관련된 분야가 거의 동일한 양상을 보이고 있으며, 두 분야에 관련된 논문이 1990년대 후반부터 2007년 사이에 다수 보고된 것으로 나타났다(Fig. 3). 미국의 경우 유전육종에 관련된 논문이 208편이고, 분자표지인자에 관련된 논문이 192편으로 거의 비슷하였고, 반면 밀의 생리 분야등 다른 연구 분야에 대한 연구는 21편으로 매우 낮은 것을 알 수 있다. 중국과 호주 등 다른 나라에서도 유전육종분야와 분자표지인자분야의 연구가 생리등 다른 분야에 비해 연구가 많이 이루어진 것을 알 수 있다(Fig. 4). 이것은 밀의 우수한 품종 개발을 위한 육종 연구에는 유용한 농업형질들이 중요시 되는데 이러한 형질과 관련된 분자표지인자의 개발이 동시에 이루어진 결과라고 생각된다. 밀의 전분합성 유전자와 관련된 동형단백질(GBSS isoform)이 밀에서 확인되어(Seo et al. 1998), 밀의 중요 특성 중 하나인 단백질 함량 연구에 분자마커로서 적용되고 있다. 밀의 유전과 육종 연구가 분자표지인자 기법의 발달과 함께 더욱 활발히 진행된 것이다. SSR과 SNP 등의 분자표지인자는 밀의 QTL과 관련된 유전자지도 작성의 재료로 활용되어 유전육종 연구에 사용되어지고 있다. 분자표지인자 개발 기술이 발달하기 전 1990년대 초까지 밀의 연구는 육종분야가 73%로 밀연구의 대부분을 차지하고 있었다. 그 이후 분자표지인자 개발에 관한 연구가 활발히 진행이 되면서 2007년까지 육종연구 48%, 분자표지인자 개발이 51%로 거의 비슷한 수준까지 연구가 진행되었음을 볼 수 있다. 이것은 밀의 육종에 분자표지인자를 함께 사용하였음을 예측할 수가 있다.

이 때 밀의 QTL과 유전자 지도작성에 필요한 분자표지인자가 대량 개발되었을 것으로 생각되며, 이들 분자표지인자는 현재 밀의 육종분야에서 유용하게 사용이 되고 있다. 그러나 2008년 이후 분자표지인자 개발에 대한 논문은 급격하게 감소하였으며, 다시 유전육종 분야에 관련된 논문이 76%로써 가장 높게 나타났다. 이것은 밀의 농업형질 등 목적하는 형질에 대한 마커가 대부분 개발되었거나 또는 새로운 마커개발에 어려움이 따르고 있다는 것을 의미한다고 할 수 있다. 국내 밀의 연구는 신품종 육성 및 개발과 밀의 품질에 관련된 연구가 큰 비중을 차지하고 있다. 품종 개발과 같은 유전육종 분야와 그에 따른 품질 분석 등에 대한 연구가 활발히 진행되었지만, 분자표지인자에 대한 연구는 저조한 것으로 나타났다. RAPD를 새로운 계통 선별을 위한 기초적인 확인에 이용하였고(Hong & Park 1996, Lee et al. 2003), SSR을 이용하여 한국 밀 품종의 유전적 배경을 추정하고 유전자원관리에 품종동정, 중복자원 검색 등에 효율적으로 사용하였다(Park et al. 1997). 호밀 염색체를 도입하여 밀 계통으로 선별하기 위해 RAPD가 염색체 분석법인 GISH, FISH와 함께 이용되기도 하였으며(Lee et al. 2003), AFLP와 STS 마커를 개발하여 해충저항성 및 다수성 밀, 호밀 전좌계통 선별에 이용하는 연구가 진행되었다(Seo et al. 2001). 밀의 생리적인 분야 또한 밀의 반수체 생산시 식물조절제의 영향에 대한 분석이 시도되고 있다(Kim et al. 2011). 그러나 다른 나라에 비해 분자표지인자를 활용한 유전육종 연구가 아직 활발하지 않은 것으로 생각되지만, 목적에 맞는 밀의 품종을 육종하는 연구가 발달하면서 밀의 품질 특성에 관련된 분자표지인자를 개발하고 사용하려는 연구가 진행이 되고 있다. 밀의 가공과 밀접한 관련이 있는 글루테닌 단백질, 찰성단백질의 조성 분석(Lee et al. 2011, Park et al. 1999, Park et al. 2000), 국수색과 산화효소활성과의 관계를 분석하고(Seo et al. 1998), 가공 특성, 생산력 및 재해저항성 등 목적에 따른 밀 품종에 대한 연구가 매우 활발히 진행 되고 있다(kang et al. 2011, Park 2009a, b, Nam et al. 1997a,b, Song et al. 1997). 이와 같이 밀의 유전육종과 분자표지인자와 관련이 있는 연구와는 달리 세계적으로 밀의 생리, 재배 및 재해저항성 등의 연구는 그에 비해 매우 저조한 것으로 나타났지만, 현재까지 꾸준히 연구가 진행되고 있으며 기후 변화와 관련된 붉은곰팡이병과 수발아 등 재해저항성에 관련한 연구가 활발해질 것으로 예측되고 있다.

결 론

분자표지인자를 이용한 국내 밀의 연구 방향

최근 기상이변에 의한 생산량감소에 따른 세계 곡물 재고율 감소 등으로 인해 세계 곡물가격이 상승하고 있다. 국내 국민 1인당 밀의 식량자급률은 약 1.0%로서 연간 240만톤이 식량으로 수입되고 있다(Kang 2008). 그렇기 때문에 생산량이 높은 밀의 품종 개발은 밀 육종에서 매우 중요하다. 국산 밀은 ‘금강’ 등 30 여 품종이 생산량 증가와 함께 재해저항성 증진 및 가공용도별 목적에 맞게 육성되었다. 백립계 제면용으로 ‘한백’, ‘적중’, ‘알찬’, ‘수강’ 등의 품종이 개발되었으며, 이들은 또한 내한성과 붉은곰팡병 중도 저항성 등 내재해성을 가지고 있다. 이렇듯 국내 밀의 연구는 전체적으로 유전육종 분야에 집중하고 있다. 현재 다양한 밀의 품종이 개발되어 있기 때문에 앞으로 신품종 육성과 함께 이들 품종을 용도에 맞게 이용하는 것이 국내 밀의 연구가 나아가야 할 방향이다.

분자표지인자의 개발과 이용은 경제성과 효율성으로 인하여 밀 연구를 활성화시킬 것이다. 목적하는 농업형질을 가지는 계통을 선발할 때, 이에 관련된 분자표지인자를 사용하는 것은 시간과 노력을 절약하고, 경제적으로 많은 이점이 있다. 지난 20여년 동안 RFLPs, SSRs, AFLPs, SNPs 등 수천 개의 분자표지인자가 개발 되었고, 이를 이용한 유전자지도가 구축이 되었다. 또한 현재 밀의 유전체 연구가 빠른 속도로 진행되고 있기 때문에 앞으로 다양한 유전체 정보가 공개될 것이다. 이때 이들을 이용할 방안을 고려해야 하고, 그 정보를 이용한 유용한 분자표지인자를 탐색하고 개발하여 유전과 육종 연구에 활용해야 한다. 또한 국산 밀의 특성 지표로 활용하기 위해 유전자 또는 분자표지인자 개발은 매우 중요하다. 밀가루의 착성에 관련된 Granule bound starch synthase (GBSS) 유전자와 밀가루의 색 관련된 Polyphenol oxidase (PPO) 활성화에 관련된 유전자, 제분율 등과 관련이 있는 Puroindolias (Pin) 등 밀 품질 특성과 관련되어 있다고 보고되고 있다(Park et al. 1999, Kang et al. 2011). 이들 유전자를 이용하고 분자표지인자로서 유용하게 사용할 수 있도록 발달시켜야 한다.

이와 같이 밀의 연구에 있어 분자표지인자의 역할은 매우 크다. 국내 뿐만 아니라 세계적으로 밀의 수량성 이외에 밀의 붉은곰팡이병, 수발아, 고온저항성 등 재해저항성에 관련된 유전자 탐색 및 분자표지인자개발에 대한 연구가 지속적으로 수행되고 있다. 국내에서도 우수한 신품종 육성과 내재해성관

련 연구를 지속적으로 수행해야 할 것이다. 또한 이와 관련된 유용한 분자표지인자를 개발하여 육성된 국내 신품종을 보호할 뿐만 아니라, 밀의 수량성 및 고품질과 내재해성등에 관련된 많은 연구를 진행시켜 국내 밀의 품질과 수량성을 향상시켜야 할 것이다.

적 요

식물연구에 있어 다양한 분자마커의 개발은 학문적 그리고 기술적으로 새로운 혁신을 가져왔다. DNA를 이용한 분자마커는 DNA 지문뿐만 아니라 식물의 분류학, 생리학 및 유전공학 등 다양한 분야에서 사용되고 있다. 밀은 옥수수, 벼와 함께 세계 중요 3대 작물 중 하나로서 17,000 Mb의 게놈을 가지고 있어 연구에 많은 어려움이 따르고 있다. 본 연구는 현재까지 보고된 분자마커를 이용한 밀 연구 분야에 관한 보고들을 분석하여 앞으로의 연구 방향을 제시하고자 하였다. 1990년부터 2012년까지 발표된 주요 논문 1,123편을 분석한 결과 유전육종 분야가 38.3%로 가장 높았으며, 분자표지인자와 생리학 분야가 각각 26.9%와 1.5%로 나타났다. 미국을 포함하여 중국, 호주 영국 등 4개국에서 발표한 논문이 전체의 50% 이상을 차지하고 있으며, 이들 국가소속기관 연구소에서 발표된 논문이 전체의 52%로서, 대학보다 활발히 진행되고 있는 것을 알 수 있었다. 특히 밀의 연구는 1992년부터 2007년까지 급격하게 증가하였는데 이것은 밀의 다양한 육종사업과 분자표지인자 기법의 발달이 영향을 미쳤기 때문이다. 그러나 국내 밀의 연구 논문은 88편으로 2008년 이후 대부분 보고되는 것으로 보아 밀의 연구가 매우 늦게 시작된 것을 알 수 있다. 현재까지 국내 밀의 연구는 유전육종 분야에 집중되어 있는 것을 알 수 있다. 국산 밀은 ‘금강’ 등 30 여 품종이 생산량 증가, 재해저항성 증진 등의 목적으로 육성되었다. 예를 들어 백립계 제면용으로서 내한성과 붉은곰팡이 중도 저항성을 가지는 ‘한백’, ‘적중’, ‘알찬’, ‘수강’ 등의 품종이 개발되었다. 이와 같이 다양한 목적에 맞는 밀 품종이 육성되어 있기 때문에 이 후의 연구는 용도별 신품종 육성과 함께 국산 밀 품종을 보호하는 방향으로 나아가야 할 것이다. 이를 위해선 국산 밀의 기본적인 식물적 특성과 유전적 특성이 확립되어야 한다. 최근 국산 밀의 품질 및 품종 판별에 적합한 분자표지인자를 개발하기 위한 다양한 분석방법이 시도되고 있다. 다양한 분자표지인자 기술 및 개발은 앞으로의 밀 육종사업에 유용한 도구로서 이용가치가 매우 높기 때문에 SSR, ISSR,

STS 등의 분자표지인자를 개발하여 국내 밀품종을 보호할 뿐만 아니라, 밀의 수량성 및 고품질과 내재해성 등에 관련된 많은 연구를 통하여 밀의 품질과 수량성 향상에 이용해야 할 것이다.

사 사

본 연구는 2013년도 농촌진흥청 국립식량과학원 박사후연수과정지원사업(과제명 : 가공용도별 고품질 다수성 밀 품종 개발, 과제번호 : PJ00875601)에 의해 이루어진 것임.

인 용 문 헌

1. Project of Patent Technique Trend Research, National R&D. 2012. Patent Technique Trend Research Report of Genetic, Physical, Ecological trait of Great yield Wheat Variety and Improvement of Availability. Korean National Property Office. pp.17-18.
2. Adam D. 2000. Now for the hard ones. *Nature* 408: 792-793.
3. Arumuganathan E, Earle ED. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 208-218.
4. Brenchley R, Spannagl M, Pfeifer M, Barker GLA, D'Amore R, Allen AM, McKenzie N, Kramer M, Kerhornou A, Bolser D, Kay S, Waite D, Trick M, Bancroft I, Gu Y, Huo N, Luo MC, Sehgal S, Gill B, Kianian S, Anderson O, Kersey P, Dvorak J, Richard McCombie W, Hall A, Mayer KFX, Edwards K, Bevan MW, Hall N. 2012. Analysis of the bread wheat genome using whole-genome shotgun sequencing. *Nature* 491: 705-710.
5. Ca'novas FM, Dumas-Gaudot E, Recorbet G, Jorin J, Mock HP, Rossignol M. 2004. Plant proteome analysis. *Proteomics*. 4: 285-298.
6. Chen JM, Xue X, Cai D, Jensen KB, Chatterton NJ. 1998. Development and characterization of *Elymus rectisetus* species and accession-specific RAPD markers. In: A.E. Slinkard (ed), *Proc. 9th Int. Wheat Genet. Symp.* 3: 98-101.
7. Cockram J, Chiapparino E, Taylor SA, Stamati K, Donini P, Laurie DA. 2007. Haplotype analysis of vernalization loci in European barley germplasm reveals novel VRN-H1 alleles and a predominant winter VRN-H1/VRN-H2 multi-locus haplotypes. *Theor. Appl. Genet.* 115: 993-1001.
8. deVicente MC, Tanksley SD. 1993. QTL analysis of transgressive segregation in an interspecific tomato cross. *Genetics* 134: 585-596.
9. Gill KS, Lubbers EL, Gill BS, Raupp WJ, Cox TS. 1991. A genetic linkage map of *Triticum tauschii* (DD) and its relationship to the D genome of bread wheat (AABBDD). *Genome* 34: 362-374.
10. Gill KS, Gill BS. 1994. Mapping in the realm of polyploidy: the wheat model. *Bioessays* 16: 841-846.
11. Gupta M, Chyi J, Romero-Sharma J, Owen JL, Varshney RK, Roy JK, Prasad M. 1999. Development of molecular markers for wheat breeding at Meerut, a centre of wheat biotechnology network in India. *Annu. Wheat Newsl.* 45, in press.
12. Gupta PK, Mir RR, Mohan A, Kumar J. 2008. Wheat genomics: present status and future prospects. *Int. J. Plant Genomics*. 2008: 896-451.
13. Hong BH, Park CS. 1996. Phylogenetic analysis of wheat near-isogenetic lines for culm length with RAPD marker. *Korean J. Breed. Sci.* 28: 420-448.
14. Humphery-Smith I, Cordwell SJ, Blackstock WP. 1997. Proteome research: complementarity and limitations with respect to the RNA and DNA worlds. *Electrophoresis* 18: 1217-1242.
15. Kang CS, Cheong YK, Kim SL, Kim DK, Kim JG, Park CS. 2008. Effect of polyphenol oxidase activity on discoloration of noodle dough sheet prepared from Korean wheats. *Korean J. Corp Sci.* 53: 187-195.
16. Kang CS, Kim KH, Park JC, Kim KH, Park KG, Cheong YK, Yoon SJ, Park CS. 2011. Relationship between polyphenol oxidase activity and color of white salted noodles prepared from Korean wheat cultivar. *Korean J. Breed. Sci.* 43: 470-478.
17. Kim YJ, Lee KW, Kim HS, Cheong YK, Park KG, Kim KJ. 2011. Effects of plant growth regulators on haploid production of wheat. *Korean J. Breed. Sci.* 43: 50-55.
18. Kumar G, Sakthivel K, Sundaram RM, Neeraja CN, Balachandran SM, Shobha Rani N, Viraktamath BC, Madhav MS. 2011. Allele mining in crops: prospects and potentials. *Biotech. Advances*. 28: 451-461.
19. Kwok PY, Deng Q, Zakeri H, Taylor SL, Nickerson DA. 1996. Increasing the information content of STS-based genome maps: identifying polymorphisms in mapped STSs. *Genomics* 31: 123-126.

20. Latha R, Rubia L, Bennett J, Swaminathan MS. 2004. Allele mining for stress tolerance genes in *Oryza* species and related germplasm. *Mol. Biotech.* 27: 101-108.
21. Lee JY, Kim YT, Kang CS, Lim SH, Ha SH, Ahn SN, Kim YM. 2011. High molecular weight glutenin subunit in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Korean J. Breed. Sci.* 43: 479-489.
22. Lee HO, Ko JM, Park SK, Do GS, Shin DI, Hna SI, Hyun JN, Seo BB, Chung IK. 2003. RAPD, GISH and FISH analysis for detection of rye chromatin introgressed into wheat. *Korean J. Breed. Sci.* 35: 289-294.
23. Li S, Jia EJ, Wei EX, Zhang EX, Li EL, Chen EH, Fan EY, Sun EH, Zhao EX, Lei ET, Xu EY, Jiang EF, Wang EH, Li EL. 2007. A intervarietal genetic map and QTL analysis for yield traits in wheat. *Mol. Breeding* 20: 167-178.
24. Martin GB, Williams JGK, Tanksley SD. 1991. Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near isogenic lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 2336-2340.
25. McCouch SR, Sweeney M, Li J, Jiang H, Thomson M, Septiningsih E. 2007. Through the genetic bottleneck: *O. rufipogon* as a source of trait-enhancing alleles for *O. sativa*. *Euphytica*. 154: 317-339.
26. Mikami I, Uwatoko N, Ikeda Y, Yamaguchi J, Hirano HY, Suzuki Y. 2008. Allelic diversification at the wx locus in landraces of Asian rice. *Theor. Appl. Genet.* 116: 979-989.
27. Muehlbauer GJ, Specht JE, Thomas-Compton MA, Staswick PE, Bernard RL. 1988. Near isogenic lines a potential resource in the integration of conventional and molecular marker linkage maps. *Crop Sci.* 28: 729-735.
28. Mohan M, Nair S, Bentur JS, Prasada U, Bennett J. 1994. RFLP and RAPD mapping of the rice *Gm2* gene that confers resistance to biotype 1 of gall midge (*Oreseolia oryzae*). *Theor. Appl. Genet.* 87: 782-788.
29. Moore G, Devos KM, Wang Z, Gale MD. 1995. Cereal genome evolution. Grasses, line up and form a circle. *Curr. Biol.* 5: 737-735.
30. Nam JH, Park HH, Heu HY, Song HS, Ha YW, Park MW. 1997a. A new high milling and yielding wheat variety "Alchanmil" with good noodle quality. *Korean J. Breed. Sci.* 29: 500.
31. Nam JH, Park HH, Heu HY, Song HS, Park MW. 1997b. A new high milling and yielding wheat variety "Gobunmil" with good noodle quality. *Korean J. Breed. Sci.* 29: 500.
32. Park CS, Heo HY, Kang MS, Kim HS, Park HH, Park JC, Kang CS, Kim HS, Cheong YK, Park KH. 2009a. A new wheat variety, "Sukang" with good noodle quality, resistant to winter hardiness and pre-harvest sprouting. *Korean J. Breed. Sci.* 41: 44-50.
33. Perretant MR, Cadalen T, Charmet G, Sourdille P, Nicolas P, Boeuf C, Tixier MH, Branlard G, Bernard S, Bernard M. 2000. QTL analysis of bread-making quality in wheat using a doubled haploid population *Theor. Appl. Genet.* 100: 1167-1175.
34. Park CS, Heo HY, Kang MS, Kim HS, Park HH, Park JC, Kang CS, Kim HS, Cheong YK, Park KH. 2009b. A new wheat variety, "Hanbaek" with good noodle quality, high yield and resistant to winter hardiness. *Korean J. Breed. Sci.* 41: 130-136.
35. Park DS, Han SI, Kweon SJ, Hyun JN, Suh DY, Kwack YH. 1999. Evaluation of waxy protein components using SDS-PAGE in wheat varieties. *Korean J. Breed. Sci.* 31: 307-312.
36. Park WJ, Shelton DR, Peterson CJ, Martin T, Kachman SD, Wehling RL. 1997. Variation in polyphenol oxidase and Quality Characteristics Among Hard White Wheat and Hard Red Winter Wheat Samples. *Cereal Chemistry* 74: 7-11.
37. Park YH, Hong BH, Park MW, Nam JH, Seo YW. 2000. Genotype and environment effects on gliadin content and polyphenol oxidase activity in wheat. *Korean J. Crop Sci.* 45: 38-43.
38. Rafalski JA, Tingey SV. 1993. Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines. *Trends. Genet.* 9: 275-280.
39. Sanger F, Coulson AR, Hong GF, Hill DF, Petersen GB. 1982. Nucleotide sequence of bacteriophage lambda DNA. *Journal of Molecular Biology.* 162: 729-773.
40. Sax K. 1923. The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics.* 8: 552-726.
41. Seo YW, Hong BH, Ha YW. 1998. Identification of granule bound starch synthase (GBSS) isoforms in wheat. *Korean J. Crop Sci.* 43: 89-94.
42. Seo YW, Jang CS, Johnson JW. 2001. Development of AFLP and STS markers for identifying wheat-rye translocations possessing 2RL. *Euphytica.* 121: 279-287.
43. Song HS, Nam JH, Park HH, Heu HY, Park MW. 1997.

- A new high milling, early maturing and white grain with good bread quality wheat variety "Keumkangmil". Korean J. Breed. Sci. 29: 500.
44. Spooner D, vanTreuren R, deVicente MC. 2005. Molecular markers for genebank management. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy IPGRI Technical Bulletin No. 10.
 45. Takanokai N, Jiang H, Kubo T, Sweeney M, Matsumoto T, Kanamori H. 2009. Evolutionary history of GS3, a gene conferring grain length in rice. *Genetics* 182: 1323-1334.
 46. Temnykh S, DeClerck G, Lukashova A, Lipovich L, cartinhour S, McCouch S. 2001. Computational and experimental analysis of mecosatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon association, and genetic marker potential. *Genome Res.* 11: 1441-1452.
 47. Thiellement H, Bahrman N, Damerval C, Plomion C, Rossignol M, Santoni V, de Vienne D, Zivy M. 1999. Proteomics for genetic and physiological studies in plants. *Electrophoresis*. 20: 2013-2026.
 48. Williams KL, Hochstrasser DF. 1997. Introduction to the proteome, in: Wilkins MR, Williams KL, Appel RD, Hochstrasser DF.(Eds.), *Proteome Research: New Frontiers in Functional Genomics*. Springer, Berlin, pp. 1-12.
 49. Wrigley CW, Batey IL, Skylas DJ, Sharp PJ. 2003. Grain quality assessment using proteomics and genomics. *Food Australia*. 55: 143-146.
 50. Xiao JH, Grandillo S, Ahn SN, McCouch SR, Tanksley SD, Li JM. 1996. Genes from wild rice improve yield. *Nature*. 384: 223-224.
 51. Young N, Zamir D, Ganai MW, Tanksley SD. 1988. Use of isogenic lines and simultaneous probing to identify markers tightly linked to the *Tm-2a* gene in tomato. *Genetics*. 120: 579-585.