남일 돌연변이 후대계통 Namil(EMS)-bl10,bph1의 도열병 및 벼멸구 저항성에 대한 유전분석

조성우 · 정지웅* · 신영섭 · 강경호 · 이상복 · 김보경

국립식량과학원 답작과

Genetic Analysis on the Rice Blast and Brown Planthopper Resistance of Namil(EMS)-bl10,bph1, a Japonica Rice Mutant Line

Seong-Woo Cho, Ji-Ung Jeung*, Young-Seop Shin, Kyung-Ho Kang, Sang-Bok Lee, and Bo-Kyeong Kim

Rice Research Division, NICS, RDA, Suwon 441-100, Republic of Korea

Abstract : Rice is a source of food supply as the staple food. The narrow genetic diversity of Korean Japonica cultivars is prone to be susceptible to abiotic and biotic stresses such as rice blast, bacterial blight, and brown planthopper (BPH). The best approach for prevention of the breeding and extermination of disease and insect pest would be the development of rice cultivars harboring multiple disease and insect pest resistance genes. National Institute of Crop Science (NICS) in Korea developed a mutant line, Namil(EMS)-bl10,bph1, by using ethyl-methane-sulfonate (EMS) as the chemical mutagen on the wild type, Namil. The mutant line exhibits strong resistance levels against rice blast and brown planthopper. To localize favorable mutated allele types, two mapping populations were constructed by using F₂ progenies derives crosses between Namil(EMS)-bl10,bph1 and Milyang23 and Namil (wild type) and Milyang23. Each F₂ progenies were evaluated in terms of DNA marker genotype as well as agronomic traits measured, and for rice blast and BPH resistance, virulent blast isolate 94-254 and Korean biotype of BPH were used to screen F_{2:3} seedlings to conduct association analysis between marker genotype and evaluated phenotype of progeny lines. Through comparisons on major loci between two mapping populations, the putative major loci for rice blast resistance (RM1337, $R^2=54.4\%$) and BPH (RM0277, $R^2=55.1\%$) were primarily localized on chromosome 12.

Keywords : Rice, Mutant line, Rice blast, Brown planthopper, Ethyl-methane-sulfonate, Association analysis

서 언

쌀은 우리나라의 주곡작물로서 중요한 식량공급원이나 (Kim, 2011), 고품질 벼 위주의 육종사업의 결과로 품종들간의 유전적 다양성이 협소한 것으로 보고되어 왔다(Jeung et al. 2005, Kang et al. 2007). 이는 특정 병충해의 대발생과 불량환경 등에 효과적으로 대응할 수 있는 유용한 대립인자 (allele)를 확보하는데 큰 제한요인으로 작용하여 벼의 안정적 생산을 위협할 수 있다(Jena et al. 2006, Jeung et al. 2006). 우리나라의 대표적인 벼 병해충으로 도열병과 벼멸구를 들

수 있다. 벼 도열병은 벼의 육묘단계부터 최고분얼기까지 잎을 침해하고 심지어 출수기 이후에도 이삭목, 이삭가지 뿐만 아니라 벼 알까지도 침해하여 벼의 수량과 품질을 저해한다 (shim et al. 2005, Jeung et al. 2014). 벼멸구는 해외에서 우리나라로 건너오는 비래해충으로(Uhm et al. 1988) 쌀의 안정적 생산을 크게 위협할 수 있다(Yeo & Sohn, 2001).

병해충 방제에 있어서 가장 경제적이고 친환경적인 방법은 복합내병충성 벼 품종을 육성하는 것이다(Wang et al. 1994, Kim et al. 2011, Shin et al. 2011). 국내외에서는 재배벼의 내병충성을 강화하기 위하여 야생벼나 원연종의 유용한 유전인자들을 활용하려는 연구들이 지속되어왔다(Brar & Khush 1997, Jena et al. 2006, Jeung et al. 2007, Kang et al. 2007, Rahman et al. 2007, Kim et al. 2011, Jeung et al. 2014). 재배벼의 유전적 다양성을 확충하기 위한 또 다른 수단으로

*Corresponding author(E-mail: jrnj@korea.kr, Tel: +82-31-290-6728, Fax: +82-31-290-6730)

(Received on July 29, 2014. Revised on September 18, 2014.
Accepted on September 18, 2014.)

돌연변이 육종을 들 수 있다(Shin et al. 2009). 국내에서는 돌연변이 육종이 주로 벼의 배유전분 특성을 다양화 하기 위해 활용되어 왔으나(Mo et al. 2014), 근래에는 돌연변이 후대계통들로부터 새로운 병해충저항성 유전인자를 확보하기 위한 노력이 진행 중이다.

돌연변이 계통의 유용형질에 대한 유전좌위를 파악하고 이를 분자마커로 표시하는 작업은 원품종에 존재하는 기존의 유전자들과 돌연변이 계통에서 유래한 유전자들간의 상동성을 확인하거나, 목표형질이 발현되는지를 확인하는데 있어서 매우 중요한 요소이다(Jeung et al. 2011). 벼 유전체학의 발전은 저항성유전자들의 염색체상 위치와 유전기작을 파악하는데 분자마커의 활용성을 크게 제고시켰다(Huang et al. 2008, Jeung et al. 2007, Kim et al. 2011, Rahman et al. 2007, Sallaud et al. 2003, Yang et al. 2009).

본 연구는 국내육성 벼 품종 남일에 화학적 돌연변이제인 에틸메탄설폰네이트(ethyl-metane-sulfonate ;EMS)를 처리하여 육성된 후대계통들 중, 도열병과 벼멸구에 복합저항성을 발현하는 것으로 판명된 Namil(EMS)-bl10,bph1의 유전양상을 밝히고 저항성에 관여하는 유전좌위에 대한 분자마커를 확보함으로써 우리나라 벼 품종의 병해충저항성 증진을 위한 육종모재로 활용코자 수행되었다.

재료 및 방법

돌연변이 집단육성 및 저항성 계통 Namil(EMS)-bl10, bph1의 선발

자포니카(*Oryza sativa* L. ssp. Japonica) 벼로서 숙기가

빠르고(8월4일 출수: 수원기준) 다수성(662kg/10a: 백미기준)인 남일벼(Kim et al., 2003)에 대해 Choi (2006)의 방법에 의거하여 EMS가 처리된 돌연변이 후대계통들이 확보되었다. 간략하게는, M1 식물체들로부터 1개 이상씩을 수확하였으며(M2 종자), 이후부터는 M7세대까지 계통육종법에 의거하여 세대를 진전시키면서 고정계통을 확립하였다. 매 세대마다 각 계통 당 임성이 높은 1개 식물체를 무작위 선발하고 1수·1열법에 의거하여 후대계통을 전개하였다. M7 식물체 세대에서 각 계통내의 개체들이 균일한 표현형을 보여 유전적으로 고정되었다고 판단하고 총 2,830여개의 계통을 확정하였다. 원품종(남일)에 비해 병해충 저항성이 향상된 돌연변이 계통을 확보하기 위한 생물검정을 통해 도열병과 벼멸구에 저항성을 발현하는 Namil(EMS)-bl10,bph1을 확보하였는데(Fig. 1 참조), 계보는 Namil(EMS)M2-1463-1-1-1-1에 해당한다.

식물재료 및 DNA 추출

돌연변이 계통 Namil(EMS)-bl10,bph1에 대한 국내수집 도열병 균주들의 친화성 검정을 위해서 주남, 온누리, 칠보 등이, 벼멸구 검정은 태백, 화삼, 삼강 등이 대비품종으로 공시되었다. Namil(EMS)-bl10,bph1의 도열병 및 벼멸구 저항성 관련 유전좌위에 대한 유전분석을 위해 통일계 품종인 밀양 23호와의 교배를 통해 육성된 F₂ 97개체를 사용하였으며, 돌연변이 계통의 유전좌위 추정의 신뢰성을 높이기 위하여 남일과 밀양23호간의 F₂ 103개체도 함께 사용하였다.

유전분석을 위해 육성된 각 F₂ 집단의 식물체들과 각각의 모본, 부분으로부터 변형된 CTAB 방법(Murray & Thompson 1980)으로 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 0.8% agarose

Fig. 1. Agronomic performances of the wild type, Namil (left) and the mutant line of Namil, Namil(EMS)-bl10,bph1 (right) (A), reaction patterns against brown planthopper, Korean Biotype (B) of Namil (left) and Namil(EMS)-bl10,bph1 (right), and virulent rice blast isolate, 94-254 of Namil, Milyang23, and Namil(EMS)-bl10,bph1, sequentially from left to right (C).

gel에 전기영동하여 확인하였으며, NanoDrop spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용하여 정량 후 5 ng/ul로 희석하여 polymerase chain reaction (PCR)에 이용하였다.

작물학적 특성 평가

도열병과 벼멸구에 대한 저항성 돌연변이 계통 Namil(EMS)-bl10,bph1과 야생종인 남일을 2011년 국립식량과학원 답작과(수원 소재)포장에 공시하여 작물학적 특성을 관찰하였다. 조기재배에 준하여 파종은 4월 7일 실시하여 약 30일정도 육묘한 후 5월 12일에 이앙하였다. 연관지도 작성 및 목표유전자위 표지를 위해 공시된 두 개의 F₂ 집단들에 대해서는 포장에 공시된 각 개체들을 표지하고 이들로부터 DNA를 추출하기 위한 시료를 취하였으며, 저항성 평가를 위한 F_{2:3} 종자를 수확하였다.

도열병 검정 및 균주 선정

국내에서 수집된 도열병 균주 중 원품종인 남일과 친화성을 보이는 균주를 선정하여, 공시재료들의 도열병 저항성 검정을 실시하였다(Ryu et al. 1987, Han et al. 1994, Han et al. 1995, Shim et al. 2012). 도열병 균주의 접종 및 발병유도는 Kim et al. (2004)의 방법에 준하여 수행하였다. 공시재료를 파종 후 3~4엽기까지 온실에서 육묘한 후, 포자농도가 1.5×10^5 spores/ml로 조정된 각각의 도열병 균주를 분무접종하고, 26°C 암조건의 상대습도 90% 이상인 습윤상에서 24시간 처리한 후 온실로 옮겨 2주간 발병을 유도하였다. 공시재료들의 도열병 저항성 정도는 발병 정도에 따라 0~5 단계로 판정하였는데(0: 병반 없음, 1: 0.5 mm 이하의 갈색반점, 2: 1 mm 이하의 원형반점, 3: 1.5 mm 이하의 진갈색 병반, 4: 2 mm 이하의 병반 중심으로부터 고사, 5: 2 mm 이상의 병반 및 고사), 0~1은 저항성, 2~3은 중도저항성 및 4~5는 감수성 등으로 접종된 도열병 균주에 대한 저항성과 감수성 정도를 구분하였다(Kim et al. 2011). 도열병 저항성에 대한 유전분석을 위하여 남일과 밀양23호에 친화성이며, Namil(EMS)-bl10,bph1에는 비친화성인 도열병 균주 94-254를 사용하였다. Namil(EMS)-bl10,bph1 x 밀양23호 F₂ 집단 내에서 도열병 저항성 유전자의 분리양상을 평가하기 위해 각 F₂ 개체로부터 세대 진전된 F_{2:3} 계통의 저항성 정도를 평가하였다. 각 F₂ 계통 당 임의로 선택된 15여립의 F_{2:3} 종자를 전개하여 도열병 균주, 94-254를 접종하였다. 계통 내 모든 식물체들의 병반 정도는 접종 후 약 2주 후에 개체별로 병징을

조사하였으며, 그 평균값을 취하여 유전분석을 위한 각 계통에 대응하는 F₂ 개체의 도열병 저항성 표현형으로 사용하였다.

벼멸구 저항성 검정

벼멸구 저항성에 대한 평가를 위하여 국립식량과학원 답작과에서 유지하고 있는 벼멸구 집단(Korean Biotype)을 사용하였다(Jena et al. 2006). 벼멸구 저항성 정도를 비교하기 위하여 감수성으로는 원품종인 남일과 통일계 품종인 태백을, 중도저항성으로는 화삼(Oh et al. 1997), 그리고 저항성으로는 통일계인 삼강(Ha et al. 2000) 등을 대비품종으로 공시하였다. 벼멸구 접종은 검정용 박스에 파종한 식물체가 4~5엽기에 도달하였을 때 유묘당 5~7 마리의 밀도로 2령기의 벼멸구를 접종하였다. 벼멸구 저항성 평가는 대비품종들의 반응과 비교하여 저항성 정도를 판정하였다.

Namil(EMS)-bl10,bph1 계통이 발현하는 벼멸구 저항성 지배 유전자위를 표지하기 위한 수단으로 남일 및 돌연변이 계통과 밀양23호간의 교잡을 통해 육성된 F_{2:3} 종자들을 이용하여 벼멸구 저항성 생물검정을 수행하였으며, 각 F₂ 집단 내에서의 표현형 분리양상을 조사하였다. 벼멸구 검정용 박스에 각 계통별당 약 20립 정도를 파종하고 육묘하여 접종하였으며, 감수성계통으로 공시된 남일과 태백이 고사되는 시점을 기준으로 생존 비율(생존한 개체들의 비율, %)의 평균값을 구하여 유전분석을 위한 각 계통의 벼멸구 저항성에 대한 표현형으로 사용하였다.

분리후대집단을 이용한 연관지도 작성

기준에 보고된 정보를 참조하여(McCouch et al. 2002) 야생종인 남일과 교배친인 밀양23호간에 다형성을 보이며 벼 염색체상에 균등배치된 SSR 마커를 선정하였다. 이를 위해 각 SSR 마커에 의해 표지되는 벼 유전체정보(Rice Pseudomolecules Release 6; <http://rice.plantbiology.msu.edu/>)에 대응하는 물리적 위치를 e-Landing 기법으로 파악하였다(Jeung et al. 2007). 확인된 물리적 위치에 대응하는 BAC 혹은 PAC 클론들에 대한 정보와 유전자지도상의 위치들(cM)은 Rice Genome Annotation Project (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>)에서 제공하는 Rice Pseudomolecule Information을 참조하였다. 벼 염색체상에서 균일분포에 유의하면서 SSR 마커를 이용하여 F₂ 식물체들의 유전자형(genotype)을 조사하고 연관지도 초안(linkage map skeleton)을 작성하였다.

각 마커들에 대하여 F₂ 식물체들로부터 조사된 유전자형의

분리비가 기대치에 부합하는지 평가하기 위하여 적합성검정 (χ^2 test)을 실시하였으며(Jeung et al. 2011), 각 개체의 유전자형과 도열병 및 벼멸구 저항성에 대한 표현형간의 연관분석(association analysis)을 수행하였다.

PCR은 10 ng의 DNA와 5 pmole의 forward 및 reverse primer, 0.2 mM dNTP mix, 1X PCR buffer [50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 0.1% Triton X-100, 1.5 mM $MgCl_2$] 및 1 unit의 Taq polymerase (Nurotics, Korea)를 이용하여 총량 20 μ l 로 실시하였다. PTC-100[®] thermocycler (Waltham, USA)를 사용하여, 95 $^{\circ}$ C에서 3분간 초기변성 후 95 $^{\circ}$ C 20초, 55 $^{\circ}$ C 30초, 72 $^{\circ}$ C 60초로 총 35회 반복하고, 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응하였다. PCR산물은 Sequencing gel [5% polyacrylamide (19 : 1, acrylamide : bis-acrylamide), 6 M Urea, 1X TBE, 80 W]을 이용하여 전기영동 한 후 Silver SequenceTM (Promega, USA)로 염색하여 각 F₂ 개체들의 유전자형을 판정하였다(Jeung et al. 2011).

도열병 및 벼멸구 저항성 유전자좌위 표지를 위한 유전통계분석

도열병 및 벼멸구 저항성 관련 유전자좌위의 벼 염색체상 위치를 파악하기 위해 남일과 밀양23호 및 Namil(EMS)-bl10, bph1와 밀양23호간의 F₂ 개체들로부터 확보된 마커 유전자형과 도열병 균주, 94-254 및 벼멸구, 생태형 I(Korean Biotype)에 대한 F_{2:3} 계통들의 저항성 간의 연관성을 평가하기 위해 연관분석(association analysis)을 수행하였다.

수집된 자료들을 SAS (Statistical Analysis System) 프로그램(SAS Institute, 2000)을 이용하여 유전통계분석을 수행하였다. SAS 프로그램의 PROC MEANS를 이용하여 기술통계량을 산출하였으며, 목표유전자좌위 표지를 위해 육성된 F₂ 집단에 대한 연관분석은 PROC GLM을 이용하여 각 SSR 마커들에 의해 표지되는 유전자좌위가 저항성에 관여되는 정도를 판정하였다(Single Locus ANOVA). 각 유전자좌위에 대한 F 분석 결과 P 값이 0.05보다 작으면 유의하다고 판정하고, F₂

분리집단에서 관찰된 도열병 및 벼멸구 저항성 분산에 대한 해당 유전자좌위의 기여도(R^2 value; %)와 유전적 작용가(additive effect) 및 기작양상(degree of dominance)등을 추정하였다(Jeung et al. 2007).

결과 및 고찰

남일과 돌연변이 계통 Namil(EMS)-bl10,bph1의 작물학적 특성 평가

Namil(EMS)-bl10,bph1로 명명된 도열병 및 벼멸구 저항성 계통을 야생종인 남일과 함께 공시하여 작물학적 특성을 평가하였다(Fig. 1A, Table 1). 도열병 및 벼멸구 저항성 돌연변이 계통인 Namil(EMS)-bl10,bph1의 출수기는 조생종인 남일에 비해 빠른 출수기를 보였으며, 간장 또한 남일에 비해 돌연변이 계통인 Namil(EMS)-bl10,bph1에서 단간이었다. 벼멸구 저항성은 도복과 관련된 형질(3절간장)과 상관관계가 있으며, 저항성 유전자(*bph2*)를 가진 자포니카 계통은 긴 간장을 가지고 있는 것으로 보고 되었다(Shin 1990, Yeo & Sohn 2001, Lee et al. 2011). 반면에 자포니카계 돌연변이 계통 Namil(EMS)-bl10,bph1은 간장이 단간 품종인 주남(Yeo & Sohn 2001)과 유사한 크기의 간장이 관찰되었다. Namil(EMS)-bl10,bph1의 빠른 출수기와 단간은 유용한 형질로 작용될 수 있으나 수량은 현미를 기준으로 남일에 비해 유의하게 감소하였다. 수량 감소의 원인으로는 수량구성요소인 수당립수와 등숙비율이 남일에 비해 Namil(EMS)-bl10, bph1에서 감소하였기 때문인 것으로 사료된다.

Namil(EMS)-bl10,bph1과 F₂ 집단의 도열병 저항성 평가

균주 선정에 있어서 야생종인 남일과 교배친인 밀양23호를 모두 침해하는 균주를 선정하기 위하여 국내수집 균주 2개를 접종하여 이병반응을 검정한 결과(Table 2), 남일과 밀양23호는 두 균주에 대해 감수성을 보였으며, 대비품종들도 두 균주

Table 1. Comparisons between Namil, the wild type and Namil(EMS)-bl10,bph1, a mutant line in terms of important agronomic traits.^z

Lines	HD (month.day)	CL (cm)	PL (cm)	TN (No.)	SN (No.)	RGP (%)	TWD (g)	YDB (Kg/10a)
Namil	7.29 $\pm$ 0.0	77 $\pm$ 2.0	24.0 $\pm$ 0.6	11.0 $\pm$ 1.0	147.0 $\pm$ 7.8	74.4 $\pm$ 7.1	24.8 $\pm$ 0.0	599.0 $\pm$ 24.0
Namil(EMS)-bl10,bph1	7.24 $\pm$ 1.2	74 $\pm$ 1.0	21.0 $\pm$ 0.6	12.0 $\pm$ 1.0	128.0 $\pm$ 3.5	55.0 $\pm$ 1.7	22.2 $\pm$ 0.2	471.0 $\pm$ 7.0

^zHeading date (HD), Culm length (CL), Panicle length (PL), Tiller number (TN), Spikelet number (SN), Ripened grain percentage (RGP), 1,000-grain weight of hulled grain (TWD), and Yield of brown rice (YDB). Note that the agronomic traits were evaluated by harvesting 100 plant for each replication plot (n=3), which were planted as three seedlings per plant during transplanting.

에 대해 감수성을 보였다. 돌연변이 계통인 Namil(EMS)-bl10,bph1은 도열병 균주 94-254에 대해 중도저항성을 보인 반면에 균주 93-093에 대해서는 감수성을 보였다. 균주 검정을 통해 얻어진 결과를 바탕으로 도열병 저항성이 분리되는 교잡후대에서 변별력 높은 표현형 결과를 확보하기 위해 Namil(EMS)-bl10,bph1은 비친화성이며 야생종인 남일과 교배친인 밀양23호에 친화성인 도열병 균주 94-254가 유전분석에 이용되었다(Fig. 1C).

연관분석(association analysis)을 위한 도열병 저항성 검정에서 분리후대집단의 표현형 조사를 위해 남일과 밀양23호간 103개 F₂ 집단과 Namil(EMS)-bl10,bph1과 밀양23호간의 97개 F₂ 집단에서 각 F₂ 계통당 15립정도의 F_{2.3} 종자를 전개하여 선정된 균주 94-254를 접종하여 병반응 정도에 따라 집단 내에서의 표현형 분리양상을 조사하였다(Fig. 2A). 도열병에 대한 저항성이 야생종인 남일과 교배친인 밀양23호에서 각각 4.3과 3.7로 낮게 평가되었으며, 돌연변이 계통인 Namil(EMS)-bl10,bph1에서는 2.1로 남일과 밀양23호에 비해 높게 평가되었으나 중도저항성을 보였다. 각각의 분리후대집단에서는 남일과 밀양23호간 분리후대집단에서는 평균 4.0으로 낮게 평가되었으며, Namil(EMS)-bl10,bph1과 밀양23호간 분리후대집단에서는 평균 3.2로 남일과 밀양23호간 집단에 비하여 높게 평가되었으나 Namil(EMS)-bl10,bph1과 유사한

저항성 정도인 평균적으로 중도저항성을 보였다. 도열병 저항성에 대한 두 분리후대집단의 분산분포를 비교한 결과, 두 집단 모두 편향된 정도는 달랐으나 평균을 중심으로 감수성쪽으로 편기되는 부적편포를 보였다. 남일과 밀양23호간 분리후대집단에서는 완전 편향되는 양상을 보였으며(skewness=-0.8), Namil(EMS)-bl10,bph1 간 분리후대집단에서는 대체적으로 감수성쪽으로 편기되는 양상을 보였다(skewness=-0.4). 감수성쪽으로 완전히 편향된 양상을 보인 남일과 밀양23호간의 분리후대집단에 비하여 Namil(EMS)-bl10,bph1과 밀양23호간의 분리후대에서는 분포의 범위가 넓었으며, 저항성 범위(0~1)에 관측수가 없는 남일과 밀양23호간 분리후대집단에 반하여 Namil(EMS)-bl10,bph1과 밀양23호간 분리후대집단에서는 Namil(EMS)-bl10,bph1(중도저항성)을 중심으로 저항성 범위(0~1)에 관측수가 분포하고 있음을 확인하였다. 이러한 결과로 미루어 보아, 돌연변이 계통인 Namil(EMS)-bl10,bph1의 유전인자에 의해 도열병 저항성이 증가하는 것으로 판단되었다.

Namil(EMS)-bl10,bph1과 F₂ 집단의 벼멸구 저항성 평가

남일과 밀양23호는 벼멸구에 감수성을 보인 반면에 돌연변이 계통인 Namil(EMS)-bl10,bph1은 매우 안정적인 저항성을 발현하였다(Fig. 1B). 대비품종인 태백은 감수성, 화삼은

Fig. 2. Histograms of mean resistance of F₂ mapping populations derived from two crosses between Namil (wild type), Namil(EMS)-bl10,bph1 and Milyang23 on virulent rice blast isolate, 94-254 (A) and brown planthopper, Koran Biotype (B). To estimate the resistant levels of F₂ progeny lines, harvested seeds from each F₂ plants (F_{2.3} seeds) were planted in a row. Fourteen days after inoculation of rice blast isolate (94-254) or infestation of brown planthopper (Korean Biotype) to two week old seedlings, individuals were evaluated (rice blast) or over-all survival ratio was calculated (brown planthopper), respectively. The descriptive statistics on virulent rice blast isolate, 94-254 of 103 F_{2.3} lines of Namil x Milyang23, over-all mean, standard deviation, skewness, and kurtosis are 4.0, 0.6, -0.8, and 0.6, respectively. In 97 F_{2.3} lines of Namil(EMS)-bl10,bph1 x Milyang23 on virulent rice blast isolate, 94-254, over-all mean, standard deviation, skewness, and kurtosis are respectively 3.2, 1.2, -0.4, and -0.5. On brown planthopper, Korean Biotype, the descriptive statistics of 97 F₂ population of Namil(EMS)-bl10,bph1 x Milyang23, over-all mean, standard deviation, skewness, and kurtosis are 63.9, 36.7, -0.9, and -0.8, respectively. All F_{2.3} lines of Namil x Milyang23 were excepted because of drying on brown planthopper, Korean Biotype.

중도저항, 그리고 삼강은 저항성을 나타내었다(Table 2). 벼멸구 저항성 유전분석을 위한 F₂ 후대집단의 벼멸구 저항성 평가에서는 남일과 밀양23호간의 F₂ 후대집단은 전부 고사하여 평가에서 제외하였으며, Namil(EMS)-bl10,bph1 x 밀양23호간의 F₂ 97개체 집단에서만 벼멸구 저항성 평가가 실시되었다. 돌연변이 계통인 Namil(EMS)-bl10,bph1의 벼멸구에 대한 저항성은 94.4%의 높은 생존율을 나타내었다. 벼멸구 저항성 돌연변이 계통인 Namil(EMS)-bl10,bph1에 의해 남일과 밀양23호간의 F₂ 후대집단은 전부 고사했으나 Namil(EMS)-bl10,bph1과 밀양23호 F₂ 후대집단은 벼멸구에 대한 평균 생존율이 63.9%로 조사되었다. 벼멸구 저항성에 대한 분산분포를 보면, Namil(EMS)-bl10,bph1과 밀양23호 F₂ 후대집단의 벼멸구 저항성 분포는 뚜렷하게 감수성과 저항성의 2개 군집으로 구분되는 양상을 보였다(Fig. 2B). 이러한 분산분포로 보아 벼멸구에 대한 저항성은 Namil(EMS)-bl10,bph1의 소수의 주동유전자에 의해 조절되는 것으로 판단되었다.

Namil(EMS)-bl10,bph1 x 밀양23호간 후대 F₂ 집단을 이용한 연관지도 작성

도열병 및 벼멸구에 대해 저항성을 보이는 돌연변이 계통 Namil(EMS)-bl10,bph1과 밀양23호간 교잡을 통해 육성된 총 97개 F₂ 식물체로 구성된 유전분석 집단을 구축하였다. 각 F₂ 개체로부터 DNA를 추출하여 SSR 마커를 이용한 연관지도를 작성하였다. 연관지도 작성은 각 염색체마다 균등하게 최소한의 수의 SSR 마커를 배치하여 연관지도 초안(linkage

map skeleton)을 작성하였다. 각각의 염색체상에 SSR 마커를 배치하기 위하여 e-Landing기법에 의해 각 SSR 마커에 대응하는 벼 유전체정보를 파악하고 mirror map을 구축함으로써 분리집단의 유전자형에 대한 부가적인 유전통계분석 절차를 생략하였다(Table 3). 연관지도 초안을 위해 활용된 유전자형에 대한 분리비 검정을 수행하여(segregation test), 각 F₂ 집단에서 분리비 이상(segregation distortion)이 일어나고 있는 부위를 확인하였다(Table 3). 도열병 및 벼멸구에 대해 저항성을 보이는 돌연변이 계통 Namil(EMS)-bl10,bph1과 밀양23호간에 다형성을 보이며 염색체상에 균등하게 위치한 총 60개의 SSR 마커들을 이용하여 연관지도 초안을 작성하였다. 유전자형의 분리비를 검정한 결과(Table 3), Namil(EMS)-bl10,bph1과 밀양23호간의 F₂ 집단에서는 염색체 7번 중단에서 분리비 이상이 매우 유의하게 관찰되었다. 염색체 7번에서는 Namil(EMS)-bl10,bph1에 비해 밀양23호의 유전자형의 빈도가 매우 높게 관찰되었다.

연관성 평가에 의한 도열병 및 벼멸구 저항성 유전좌위 표지

연관지도 초안에 배치된 총 60개 SSR 마커들에 대응하는 도열병 및 벼멸구 저항성에 대한 F₂ 개체들의 유전자형과 F_{2,3} 도열병 및 벼멸구 검정을 통해 확보된 표현형간의 연관분석(association analysis)을 수행하였다(Table 4). 각 SSR 마커에 대해 97개 F₂ 개체들을 3개의 유전자형 군집으로 나눈 후(No. of genotype), 각 군집의 저항 정도의 평균(genotype mean)에 대해 분산분석(Single-locus ANOVA)을 실시하였다.

Table 2. Reactions of the mutant line, Namil(EMS)-bl10,bph1 and cultivars against selected Korean disease and insect pest.

Lines ^z	Rice Blast isolate (race) ^y		Lines ^x	Brown planthopper ^w Korean Biotype
	94-254 (ND) ^z	93-093 (KI197)		
Namil	4	5	Namil	S
Milyang23	4	4	Milyang23	S
Junam	5	5	Taebaek	S
Onnuri	5	5	Hwasam	M
Chilbo	5	5	Samgang	R
Namil(EMS)-bl10,bph1	2	5	Namil(EMS)-bl10,bph1	R

^zKorean rice cultivars, Junam, Onuri, and Chilbo were included as a check varieties on virulent rice blast isolates

^yRice blast isolates were collected from Korean farmers' fields. Resistance degrees of virulent rice blast were classified five levels from 1 (resistance) to 5 (susceptibility)

^xKorean rice cultivar, Taebaek, Hwasam, and Samgang were included as a check variety on brown planthopper

^wResistance degrees of brown planthopper were classified into three levels susceptibility as susceptibility (S), moderate (M), and resistance (R)

Table 3. List of SSR primer sets, their *e*-Landing mediated physical positions on rice Pseudomolecule 6, corresponding BAC/PAC clones with their determined cM positions, and the segregating (χ^2 test) on the F₂ progenies derived from the cross between Namil(EMS)-b110,bph1 and Milyang23.

Marker ^z	Physical information ^y						Mirror map ^x		Segregation Test ^w				
	Ch	Start	Stop	<i>e</i> -PCR	<i>e</i> %	BAC/PAC	cM%	cM	A	H	B	M	χ^2
RM3252	1	299,681	299,852	172	0.7	AP002818	0.2	0.3	19	28	50	0	1.4
RM0600	1	9,461,346	9,461,566	221	21.7	AP001081	27.3	49.6	19	30	48	0	2.1
RM0449	1	15,305,619	15,305,758	140	35.1	AP008247	40.0	72.8	21	27	49	0	0.5
RM1349	1	25,398,082	25,398,300	219	58.3	AP002744	56.7	103.1	19	25	53	0	1.3
RM1003	1	33,803,800	33,803,927	128	77.5	AP003345	75.1	136.6	20	29	48	0	1.3
RM6321	1	43,251,019	43,251,186	168	99.2	AP003277	100.0	181.8	31	18	48	0	3.0
RM0154	2	1,083,895	1,084,077	183	3.0	AP005851	3.0	4.7	19	29	49	0	1.7
RM5699	2	8,981,409	8,981,575	167	25.0	AP005803	26.7	42.1	20	26	50	1	0.7
RM1211	2	18,450,427	18,450,588	162	51.4	AP005299	37.7	59.5	22	28	47	0	0.6
RM3220	2	28,458,108	28,458,248	141	79.2	AP004118	74.8	118.1	25	22	50	0	0.1
RM3850	2	35,425,798	35,425,907	110	98.6	AP003989	100.0	157.9	25	25	47	0	0.0
RM4108	3	514,862	515,003	142	1.4	AC113930	0.7	1.1	23	30	44	0	1.5
RM5628	3	3,101,122	3,101,282	161	8.5	AC099401	9.0	14.8	19	35	43	0	5.8
RM0007	3	9,808,540	9,808,710	171	27.0	AC134232	27.0	44.4	15	40	42	0	13.5 ***
RM6266	3	23,778,063	23,778,222	160	65.4	AC091246	57.7	94.9	30	22	45	0	1.4
RM3525	3	30,344,279	30,344,457	179	83.5	AC117988	83.0	136.5	24	38	35	0	10.7 ***
RM3585	3	36,080,616	36,080,784	169	99.3	AC128647	98.4	161.7	18	28	51	0	1.9
RM8213	4	4,433,178	4,433,388	211	12.6	AL662959	8.7	11.3	22	26	49	0	0.2
RM5633	4	13,059,370	13,059,580	211	37.1	AL731595	15.4	19.9	26	28	43	0	1.0
RM1155	4	20,328,759	20,328,906	148	57.7	AL606453	45.4	58.9	29	30	38	0	3.9
RM3839	4	23,870,755	23,870,972	218	67.7	AL606614	56.2	72.8	32	30	35	0	6.8 *
RM3217	4	30,083,469	30,083,662	194	85.4	AL606683	77.7	100.7	30	20	45	2	1.9
RM0559	4	35,117,645	35,117,804	160	99.6	AL606637	100.0	129.6	29	14	54	0	5.2
RM5693	5	441,872	442,071	200	1.5	AC129716	3.8	4.6	24	24	49	0	0.0
RM5844	5	9,128,802	9,128,996	195	30.6	AC120989	43.7	53.5	34	14	49	0	7.4 *
RM0249	5	10,755,867	10,755,994	128	36.0	AC136522	44.4	54.3	34	14	49	0	7.4 *
RM3870	5	22,879,699	22,879,891	193	76.6	AC108503	77.9	95.3	24	21	52	0	0.5
RM1054	5	29,144,035	29,144,184	150	97.6	AC098598	99.8	122	19	31	47	0	2.6
RM3353	6	435,582	435,697	116	1.4	AP001129	1.1	1.4	23	25	49	0	0.0
RM0253	6	5,425,498	5,425,631	134	17.4	AP004754	14.0	17.4	13	32	52	0	7.1 *
RM0276	6	6,230,046	6,230,169	124	19.9	AP003488	26.9	33.5	13	33	51	0	7.7 *
RM6818	6	16,581,413	16,581,542	130	53.1	AP004012	52.9	65.8	18	26	53	0	1.8
RM3628	6	23,737,032	23,737,157	126	76.0	AP003612	68.6	85.4	19	21	57	0	2.6
RM5753	6	30,966,850	30,967,050	201	99.1	AP004685	100	124.4	27	23	47	0	0.3
RM1093	7	668,161	668,310	150	2.3	AP003746	2.1	2.5	25	22	50	0	0.1
RM1377	7	12,782,829	12,783,009	181	43.1	AP004305	41.9	49.7	15	38	44	0	10.7 ***
RM5793	7	17,488,937	17,489,063	127	58.9	AP004299	51.3	60.8	10	40	47	0	17.4 ***
RM0172	7	29,560,592	29,560,750	159	99.6	AP005199	100	118.6	22	24	51	0	0.2

Table 3. Continued.

Marker ^z	Physical information ^y						Mirror map ^x		Segregation Test ^w				
	Ch	Start	Stop	e-PCR	e %	BAC/PAC	cM%	cM	A	H	B	M	χ^2
RM0408	8	119,935	120,063	129	0.4	AP005406	0.4	0.5	21	36	40	0	6.9 *
RM0547	8	5,586,058	5,586,291	234	19.7	AP004746	33.2	40.2	17	24	56	0	2.9
RM3262	8	22,248,334	22,248,500	167	78.6	AP005483	71.5	86.7	17	27	53	0	2.4
RM5545	8	28,141,927	28,142,083	157	99.4	AP004623	100	121.2	22	27	48	0	0.3
RM23654	9	151,453	151,639	187	0.7	AP006059	0.0	0.0	24	24	47	2	0.0
RM0316	9	1,074,933	1,075,126	194	4.7	AP005860	0.9	0.8	25	25	47	0	0.0
RM0219	9	7,887,585		NA	34.3	AP005912	22.1	20.7	20	27	50	0	0.8
RM0566	9	14,704,798	14,705,036	239	63.9	AP005397	54.2	50.7	17	27	53	0	2.4
RM0205	9	22,720,646	22,720,801	156	98.7	AP005546	100	93.5	20	23	54	0	1.1
RM7492	10	39,037	39,181	145	0.2	AC166065	0.0	0.0	29	16	52	0	3.4
RM5689	10	13,223,351	13,223,453	103	57.8	AC021891	31.1	26.1	25	26	46	0	0.1
RM1375	10	16,386,764	16,386,943	180	71.6	AC025905	51.0	42.7	28	23	46	0	0.5
RM0590	10	22,784,993	22,785,130	138	99.6	AC018727	100	83.8	26	16	55	0	3.3
RM6901	11	1,494,196		NA	5.2	AC123516	5.5	6.5	23	19	55	0	1.7
RM0536	11	8,968,470	8,968,712	243	31.5	AC138197	41.6	49.1	19	28	50	0	1.4
RM3428	11	13,445,211	13,445,367	157	47.2	AC128642	47.9	56.5	18	30	49	0	2.5
RM5349	11	19,148,807	19,148,929	123	67.3	AC134925	67.1	79.1	21	28	48	0	0.7
RM0144	11	28,246,930	28,247,154	225	99.2	AC134045	98.6	116.2	26	22	49	0	0.2
RM3472	12	3,520,117	3,520,331	215	12.8	AL713902	24.8	27.1	23	29	45	0	1.0
RM1337	12	11,933,319	11,933,500	182	43.4	BX000556	46.2	50.4	22	28	47	0	0.6
RM0277	12	18,290,458		NA	66.5	AL831799	57.0	62.2	25	27	45	0	0.4
RM0017	12	26,954,668	26,954,835	168	98.0	AC027133	98.4	107.4	30	22	45	0	1.4

^zThe primer sequences were used as the query to localize on Rice Pseudomolecule 6

^yWhen both primer sequences successfully recognized their physical locations to be annealed, the expected PCR product size (e-PCR: 'Stop'-'Start'+1bp, NA=not available) was used to judge PCR products. If any primer failed for e-Landing, the other primer's result was adopted to estimate the corresponding point. The determined physical regions followed by e-Landing were used to match corresponding BAC/PAC clones depend on the 'Rice Pseudomolecule Information and Gene Search' (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>)

^xThe determined cM positions for each BAC/PAC clones was directly adopted from the 'Rice Pseudomolecule Information and Gene Search' which were estimated using the marker sequences obtained from the Cornell Rice Genes Database and the Japanese Rice Genome Program. To take some convenient in comparing the cM positions from various mapping populations having different total lengths, the percentage expressed relative genetic positions, 'cM%', was also calculated

^wA and B are homozygous for the Namil(EMS)-bl10,bph1 and Milyang23 allele types, H is for heterozygous progenies at the tested locus, and M indicates the number of missing. Segregation distorted loci are indicated with asterisk; χ^2 values for the significant levels are less than 0.05, where *** significant at $P < 0.0001$, ** significant at $P < 0.01$, and * significant at $P < 0.05$.

분산분석 결과 F 값이 유의한 경우 해당 유전좌위 근접부위에 표현형 변이에 영향을 끼치는 유전자가 존재하는 것으로 판단하고 R^2 값(전체 표현형 분산에서 해당 유전좌위의 기여도)을 제시하고 유전적 작용력(Genetic effect)을 추정하였다.

연관지도 초안에 배치된 SSR 마커들 중 연관분석을 통하여 도열병 및 벼멸구 저항성에 관여하는 통계적으로 유의한 F 값을 지니는 마커들에 대응하는 유전좌위를 표지하였다

(Fig. 3). 도열병 저항성에 관련된 유전좌위는 7개의 SSR 마커에 의해 표지되었으며, 벼멸구 저항성에 관련된 유전좌위는 6개의 SSR 마커에 의해 표지되었다. 도열병 저항성 관련 유전좌위 표지에 사용된 SSR 마커는 2번, 7번, 9번, 및 12번 염색체상에서 각각 1개, 1개, 2개, 및 4개로 확인되었으며, 벼멸구 저항성과 관련 유전좌위 표지에 사용된 SSR 마커는 8번과 12번 염색체상에 각각 2개와 4개로 확인되었다. 특이한 점은

Namil(EMS)-bl10,bph1의 도열병 저항성과 벼멸구 저항성에 관련하는 유전좌위가 모두 12번 염색체 중단 부위에 RM1337과 RM0277에 의해 표지되었다는 점이다(Fig. 3B). RM1337에 의해 표지된 해당 유전좌위는 도열병 및 벼멸구에서 각각 전체분산에서 약 54.4%와 32.9%의 기여도를 보였으며, RM0277에 의해 표지된 해당 유전좌위는 도열병 및 벼멸구에서 각각 전체분산에 약 42.7%와 55.1%의 기여도를 보였다. 도열병 저항성에 대해 RM1337에 의해 표지되는 유전좌위는 전체분산의 약 54.4%를 설명하는 주동유전좌위였다. 도열병 저항성에 대한 유전좌위는 기존의 *Pi-6(t)*, *Pi12(t)*, *Pi-21(t)*, *Pi31(t)*, *Pi-32(t)*, *Pi-41*, *Pi-157*, *Pita*, *Pi-ta2* 및 *Pi-tq6* 등 12번 염색체 중단에 위치하는 것으로 보고된 (Sallaud et al. 2003, Yang et al. 2009) 적어도 9개의 저항성 유전자들과의 유전적 관련성에 대한 확인이 필요하다. 벼

멸구 저항성에 대해 RM0277에 의해 표지되는 유전좌위는 전체분산의 약 55.1%를 설명하는 주동유전좌위였다. 12번 염색체에서 벼멸구 저항성과 관련된 유전자들은 *Bph1*, *Bph2*, *Bph9*, *Bph10*, *Bph18*, *Bph12*, 및 *BPH26*으로 알려져 있으며, 이 유전자들은 12번 염색체의 긴 팔쪽에 유전좌위가 표지되어있다(Murata et al. 2000, Lang & Buu 2003, Sharma et al. 2004, Kim & Sohn 2005, Su et al. 2006, Jena et al. 2006, Rahman et al. 2009, Shin et al. 2011, Myint et al. 2012). 따라서 RM0277에 의해 표지된 유전좌위가 이미 보고된 유전자들과 물리적 위치가 동일한지 판정이 필요할 것으로 판단된다.

연관분석의 결과에 의하면, 도열병 및 벼멸구 저항성에 관련된 유전자가 비록 같은 유전좌위에 표지되었다 하더라도 각 유전좌위에 의한 작용가가 도열병과 벼멸구 저항성에 대

Table 4. Summary of association analysis between DNA marker genotypes and phenotype performances of F₂ progenies derived from the cross between Namil(EMS)-bl10,bph1 and Milyang23^z for rice blast resistance and brown planthopper resistance.

Trait Evaluated	Mirror Map ^y				No. of Genotypes ^x			Mean of Genotype ^w			Single-locus ANOVA ^v				Genetic Effect ^u		
	Locus	Ch	cM	cM%	A	H	B	A	H	B	SSM	SSE	F-value	R ²	Add	Dom	DeD
BL (Degree: 0-5) Pop. No.=97 Pop. Mean=3.2	RM3850	2	158.0	100	25	47	25	3.0	3.0	3.7	10.2	138.4	3.5 *	0.068	0.37	-0.38	-1.0
	RM1377	7	49.7	41.9	15	44	38	2.4	3.4	3.3	10.7	137.8	3.6 *	0.072	0.41	0.55	1.3
	RM23654	9	0.0	0.0	24	47	24	3.0	3.0	3.8	11.8	134.5	4.0 *	0.081	0.43	-0.36	-0.9
	RM0316	9	0.8	0.9	25	47	25	2.9	3.0	3.8	11.2	137.3	3.8 *	0.076	0.42	-0.32	-0.8
	RM3472	12	27.1	24.8	23	45	29	2.7	3.1	3.7	15.4	133.1	5.4 **	0.104	0.54	-0.11	-0.2
	RM1337	12	50.4	46.2	22	47	28	1.9	3.1	4.4	80.9	67.7	56.0 ****	0.544	1.27	-0.05	0.0
	RM0277	12	62.2	57.0	25	45	27	2.1	3.2	4.3	63.4	85.1	35.0 ****	0.427	1.1	-0.01	0.0
Bph (Ratio: %) Pop. No.=97 Pop. Mean=63.9	RM0547	8	40.2	33.2	17	56	24	39.6	70.2	66.6	12392	116980	5.0 **	0.096	13.47	17.08	1.3
	RM3262	8	86.7	71.5	17	53	27	63.8	56.6	78.4	8576	120796	3.3 *	0.066	7.34	-14.6	-2.0
	RM3472	12	27.1	24.8	23	45	29	84.0	61.1	52.4	13541	115831	5.5 **	0.105	-15.8	-7.13	0.5
	RM1337	12	50.4	46.2	22	47	28	90.6	69.4	33.8	42504	86868	23.0 ****	0.329	-28.4	7.22	-0.3
	RM0277	12	62.2	57.0	25	45	27	92.5	73.1	22.2	71258	58114	58.0 ****	0.551	-35.2	15.73	-0.4
	RM0017	12	107.0	98.4	30	45	22	77.1	68.1	37.3	21651	107720	9.4 ***	0.167	-19.9	10.93	-0.5

^zOnly significant loci to each trait tested are presented. 60 DNA markers were tested in 97 F₂ progenies derived from the cross between Namil(EMS)-bl10,bph1 and Milyang23.

^yBoth cM positions and the percentage expressed relative genetic positions (cM%) are presented.

^xF₂ progenies were split into three subgroups based on the revealed genotype by SSR markers. A and B are homozygous for the Namil(EMS)-bl10,bph1 and Milyang23 allele types and H indicates heterozygous progenies at the tested locus.

^wThe means of each subpopulation for each locus are calculated.

^vFor the F-test, SSR markers having less than significant levels (p) were declared as significant empirically. Explainable phenotypic variation portion at the tested locus (R²) was also calculated. The significant levels are less than 0.05, where **** significant at P < 0.0001, *** significant at P < 0.001, ** significant at P < 0.01, and * significant at P < 0.05.

^uAdditive effect (Add), dominant effect (Do) and degree of dominance (DeD) were then estimated at the declared loci: Add=(Bmean-Amean)/2, Do= Hmean-(Bmean+Amean)/2, and DeD=Do/Add. where A and B are homozygous F₂ individuals for Namil(EMS)-bl10,bph1 and Milyang23, H is heterozygous individuals at the tested locus.

Fig. 3. Linkage map skeleton of rice blast resistance and brown planthopper resistance on rice chromosomes. In Namil × Milyang23, wild type, preliminary gene loci of rice blast resistance are on rice chromosome 5 and 11 (A). In Namil(EMS)-bl10,bph1, a mutant line, preliminary gene loci of rice blast resistance and brown planthopper resistance are on the same rice chromosome 12 (B). SSR markers were applied based on *F*-statistics from single-locus ANOVA results to narrow down the putative location responsible for rice blast resistance and brown planthopper resistance. The genetic intervals are shown in centimorgan (cM).

해 서로 평행적으로 관찰되지 않았기 때문에 서로 독립적인 유전자좌위들인 것으로 추정된다. Namil(EMS)-bl10,bph1의 도열병 및 벼멸구 저항성에 관여하는 유전자좌위가 단일유전자좌위로서 다면발현효과를 발현하는 것인지, 염색체상에서 서로 근접된 독립적인 유전자좌위인지에 대한 명확한 판정이 필요할 것이다. 따라서 고밀도 연관지도 작성을 위해 마커밀도를 선택적으로 높여주어 좀 더 정밀한 유전자좌위 표기 및 e-Landing 기법을 이용하여 BAC/PAC의 전사부위(Open reading frame; ORF) 정보를 활용하여 기존에 보고된 벼멸구 저항성 유전자들과의 유전적 관련성 분석이 필요할 것으로 사료된다.

적 요

작물학적 특성을 신속히 보완하며 확충할 수 있는 이점을 가지고 있는 돌연변이 육종을 통해 육성된 유용형질발현 돌연변이계통들의 다양한 작물학적 특성과 병해충 저항성은 유용한 유전자원으로 평가되고 있으며, 병해충 저항성에 대한 돌연변이 계통의 유용형질들을 교배를 통해 고품질 벼의 보완을 위해 이전하는 것이 용이하다. 농촌진흥청 국립식량과학원에서는 국내 육성 자포니카 벼 품종인 남일에 EMS를 돌연변이원으로 활용하여 도열병 및 벼멸구 저항성 돌연변이 후대계통인 Namil(EMS)-bl10,bph1를 육성하였다. 염색체 상

에 Namil(EMS)-bl10,bph1의 도열병 및 벼멸구 저항성에 관련된 유전자좌위를 표지하기 위해 Namil(EMS)-bl10,bph1 x 밀양23호로부터 유래한 F₂ 97 개체로부터 도열병과 벼멸구에 대한 저항성을 검정하고 60개 SSR 마커의 유전자형을 검정하여 연관성분석(association analysis)을 수행하였다. 분자마커의 유전자형과 저항성 간의 연관성분석 결과, Namil(EMS)-bl10,bph1의 도열병 및 벼멸구 저항성에 관여하는 주동유전자좌위는 12번 염색체 중단의 RM1337 및 RM0277에 각각 표지되었다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(과제번호 PJ00816)의 지원으로 수행된 결과이며, 이에 감사 드립니다.

REFERENCES

1. Brar DS, Khush GS. 1997. Alien introgression in rice. *Plant Mol. Biol.* 35: 35-47.
2. Choi HC. 2006. A guide to rice breeding. National Institute of Crop Science. R.D.A. pp.107-109.
3. Ha WH, Kim KM, Sohn JK. 2000. Detection of resistance gene to brown planthopper (*Nilaparvata lugens*

- Stal.) using RFLP and isozyme markers in rice. Korean J. Breed. Sci. 32: 319-322.
4. Han SS, Ryu JD, Ra DS. 1994. Regional and annual fluctuation of race distribution of rice blast fungus (*Pyricularia grisea* Sacc.) during 1986~1992 in Korea. Korean J. Plant Pathol. 10: 25-28.
 5. Han SS, Ra DS, Kim CK. 1995. Incidence of panicle blast, race distribution during 1993~1994 and pathogenicity of new races of *Pyricularia grisea* in Korea. Korean J. Plant Pathol. 11: 238-244.
 6. Huang CL, Hwang SY, Chiang YC, Lin TP. 2008. Molecular evolution of the *Pi-ta* gene resistant to rice blast in wild rice (*Oryza rufipogon*). Genetics 179: 1527-1538.
 7. Huang Z, He G, Shu L, Li X, Zhang Q. 2001. Identification and mapping of two brown planthopper resistance genes in rice. Theor. Appl. Genet. 102: 929-934.
 8. Jena KK, Jeung JU, Lee JH, Choi HC, Brar DS. 2006. High-resolution mapping of a new brown planthopper (BPH) resistance gene, *Bph18(t)*, and marker-assisted selection for BPH resistance in rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 112: 288-297.
 9. Jeung JU, Hwang HG, Moon HP, Jena KK. 2005. Fingerprinting template japonica and tropical indica rice genotypes by comparative analysis of DNA markers. Euphytica 146: 239-251.
 10. Jeung JU, Heu SG, Shin MS, Vera Cruz CM, Jena KK. 2006. Dynamics of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* populations in Korea and their relationship to known bacterial blight resistance genes. Phytopathology 96: 867-875.
 11. Jeung JU, Kim BR, Cho YC, Han SS, Moo HP, Lee YT, Jena KK. 2007. A novel gene, *Pi40(t)*, linked to the DNA markers derived from NBS-LRR motifs confers broad spectrum of blast resistance in rice. Theor. Appl. Genet. 115: 1163-1177.
 12. Jeung JU, Roh TH, Kang KH, Jeong JM, Kim KM, Kim YG. 2011. Genetic analysis on the bacterial blight resistance of Suweon497, a rice breeding line developed through wide Hybridization. Korean J. Breed. Sci. 43: 81-91.
 13. Jeung JU, Choi BJ, Kang KH, Mo YJ, Lee SB, Oh SK, Kim BK. 2014. Genetic analysis on the blast resistance gene of 'Suweon506' derived from a wild relative, *Oryza minuta*. Korean J. Breed. Sci. 46: 17-27.
 14. Kang KH, Seo JP, Jeon YH, Jeung JU, Lee YT. 2007. Development of elite lines with disease and insect resistance through wide hybridization in rice. Treat Crop Res. 8: 89-104.
 15. Kim HY, Kang KH, Hwang HG, Moon HP, Choi IS. 2003. A semi-early maturing, high yielding and processing japonica rice cultivar "Namilbyeon". Treat Crop Res. 4: 141-148.
 16. Kim BR, Roh JH, Choi SH, Ahn SW, Han SS. 2004. Durability of rice cultivars to blast in Korea by sequential planting method. Korean J. Breed. Sci. 36: 350-356.
 17. Kim DM, Ju HG, Yang P, Han SS, Roh JH, Ahn SN. 2011. Mapping and race specific reaction of the resistance gene *Pi45(t)* in rice. Korean J. Breed. Sci. 43: 42-49.
 18. Kim MR. 2011. The status of Korean rice industry and the rice processing industry. Food Indus. Nutri. 16: 22-26.
 19. Kim SM, Yeo US, Sohn JK. 2004. Classification of cultivars resistant to brown planthopper using DNA markers in rice. Korean J. Breed. Sci. 36: 290-294.
 20. Kim SM, Sohn JK. 2005. Identification of a rice gene (*Bph1*) conferring resistance to brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal) using STS markers. Mol. Cells 20: 30-34.
 21. Lang NT, Buu BC. 2003. Genetic and physical maps of gene Bph-10 controlling brown planthopper resistance in rice (*Oryza sativa* L.). Omonrice 11: 35-41.
 22. Lee JH, Yeo US, Cho JH, Lee JY, Song YC, Shin MS, Kang HW, Sohn JK. 2011. Marker assisted selection of brown planthopper resistance and development of multi-resistance to insect and diseases in rice (*Oryza sativa* L.). Korean J. Breed. Sci. 43: 413-421.
 23. McCouch SR, Teytelman L, Xu Y, Lobos KB, Clare K, Walton M, Fu B, Maghirang R, Li Z, Xing Y, Zhang Q, Kono I, Yano M, Fjellstrom R, DeClerck G, Schneider D, Cartinhou S, Ware D, Stein L. 2002. Development and Mapping of 2240 New SSR Markers for Rice (*Oryza sativa* L.). DNA Res. 9: 257-279.
 24. Mo YJ, Jeung JU, Shin YS, Park CS, Kang KH, Kim BK. 2014. Agronomic analysis of Suweon542, a rice floury mutant line suitable for dry milling. Rice 6: 37.
 25. Murata K, Fujiwara M, Murai H, Takumi S, Mori N, Nakamura C. 2000. Bph9, a dominant brown planthopper resistance gene, is located on the long arm of rice chromosome 12. Rice Genet. Newsletter 17: 84-86.
 26. Murray M, Thompson W. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucl. Acid. Res. 8: 4321.
 27. Myint KKM, Fujita D, Matsumura M, Sonoda T, Yoshimura A, Yasui H. 2012. Mapping and pyramiding of two major

- genes for resistance to the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* [Stål] in the rice cultivar ADR52. *Theor. Appl. Genet.* 124: 495-504.
28. Oh BG, Lim SJ, Yang SJ, Hwang HG, Yi GH, Yeo US, Park NB, Kwak DY, Kim SC, Kim HY, Oh YJ, Jun BT. 1997. An anther-derived high eating quality and high yielding rice variety with resistance to bacterial leaf blight "Hwasambyeo". *Korean J. Breed. Sci.* 29: 496.
29. Rahman ML, Chu SH, Choi MS, Qiao YL, Jiang W, Piao R, Khanam S, Cho YI, Jeung JU, Jena KK, Koh HJ. 2007. Identification of QTLs for some agronomic traits in rice using an introgression line from *Oryza minuta*. *Mol. Cells* 24: 16-26.
30. Ryu JD, Yeh WH, Han SS, Lee YH, Lee EJ. 1987. Regional and annual fluctuation of race of *Pyricularia oryzae* during 1978-1985 in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 3: 174-179.
31. Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, Tharreau D, Berruyer R, Svestasrani P, Garsmeur O, Ghesquiere A, Notteghem J.-L. 2003. Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. *Theor. Appl. Genet.* 106: 794-803.
32. Sharma PN, Torii A, Takumi S, Moti N, Nakamura C. 2004. Marker-assisted pyramiding of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) resistance genes *Bph1* and *Bph2* on rice chromosome 12. *Hereditas* 140: 61-69.
33. Shim HS, Hong SJ, Yeh WH, Han SS, Sung JM. 2005. Damage analysis of rice panicle blast on disease occurrence time and severity. *Plant Pathol. J.* 21: 87-92.
34. Shim HS, Yeh WH, Yoo BJ, Myung IS, Hong SK, Lee SD. 2012. Pathogenic races of *Pyricularia oryzae* isolated from various rice cultivars on the blast nursery and paddy field in different locations. *Res. Plant Dis.* 18: 324-330.
35. Shin MS. 1990. Genetics analysis for resistance to bacterial blight and brown planthopper in japonica rice cultivars bred in Korea. Dept. Agr. Bio. Gradu. Sch. Chonnam Nat. Univ. Ph.D. Thesis Dissertation 1-53.
36. Shin MS, Kim WJ, Shin WC, Park HS, Seo CS, Choi IB, Ha KY, Kang HJ, Ko JK. 2011. Effect of brown planthopper resistance gene, *Bph18* to yield components in rice. *Korean J. Breed. Sci.* 43: 56-61.
37. Shin YS, Park CS, Seo YW, Jeung JU. 2009. Characteristics of endosperm starch of the rice mutant lines induced by sodium azide. *Korean J. Breed. Sci.* 41: 84-91.
38. Su CC, Zhai HQ, Wang CM, Sun LH, Wan JM. 2006. SSR mapping of brown planthopper resistance gene *Bph9* in Kaharamana, an *Indica* rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Genetica Sinica* 33: 262-268.
39. Uhm KB, Park JS, Lee YI, Choi KM, Lee MH, Lee JO. 1988. Relationship between some weather conditions and immigration of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stal. *Korean J. Appl. Entomol.* 27: 200-210.
40. Wang GL, Mackill DJ, Bonman JM, McCouch SR, Champoux MC, Nelson RJ. 1994. RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant rice cultivar. *Genetics* 4: 1421-1434.
41. Yang Q, Lin F, Wang L, Pan Q. 2009. Identification and mapping of *Pi41*, a major gene conferring resistance to rice blast in the *Oryza sativa* subsp. *indica* reference cultivar, 93-11. *Theor. Appl. Genet.* 118: 1027-1034.
42. Yeo US, Sohn JK. 2001. Linkage analysis between some agronomic traits and resistance gene to brown planthopper in rice. *Korean J. Breed. Sci.* 33: 287-293.