남일 돌연변이 후대계통 Namil(SA)-bl5의 단간 및 도열병 저항성에 대한 유전분석

조성우 · 정지웅* · 신영섭 · 강경호 · 이상복 · 김보경

국립식량과학원 답작과

Genetic Analysis on Short Culm and the Rice Blast Resistance of Namil(SA)-bl5, 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 not only one of major crops grown in the world but also the staple food in Asia. However, in modern agriculture, the genetic diversity in rice gene pool is diminishing by selection breeding. Hence, rice is readily threatened by biotic and abiotic stresses. Rice blast is one of the major threats to stable rice production. The best approach to prevent rice blast is development of rice cultivars harboring resistance gene against blast disease. National Institute of Crop Science (NICS) in Korea developed a mutant line, Namil(SA)-bl5, which has inherited short culm and rice blast resistance by treatment of sodium azide (SA). To localize favorable mutated allele types, two mapping populations were constructed by using F₂ progenies derives crosses between Namil(SA)-bl5 and Milyang23 and Namil (wild type) and Milyang23. Each F₂ progenies were evaluated in terms of culm length and resistance level against a rice blast isolate, 94-254 along with their parental lines. Association analyses between marker genotype on 68 SSR anchor markers and evaluated phenotype of progeny lines were adopted to localize the putative chromosomal locations involved to culm length and blast resistance. Association analyses localized two major loci on the chromosomes of middle-low region of 6 ($R^2=15.8\%$) and the distal region of 7 ($R^2=20.0\%$), and a major locus on the middle of chromosome 12 ($R^2=46.6\%$) for the reduced culm length and increased resistance level against rice blast, respectively.

Keywords : Rice, Short culm, Rice blast, Sodium azide (SA), Association analysis

서 언

쌀은 인류에게 있어서 주요 곡물 중 하나이며, 특히 동남아시아에서는 주곡작물로서 중요한 식량공급원이다. 우리나라에서도 쌀은 주곡작물일뿐만 아니라 국내 농업소득의 70%에 달하는 농가의 주요 소득원이다(Kim, 2011). 하지만 현대 농업에 있어서 선택육종을 통한 양질 벼 품종들은 유전적 변이가 협소한 편이어서 유전적 다양성의 한계를 보이고 있다(Jeung et al. 2005, Kang et al. 2007). 이러한 유전적 다양성의 한계는 불량한 환경이나 특정 병해충의 발생과 같은 생물

학적 및 비생물학적 스트레스는 벼의 안정적 생산에 영향을 미칠 뿐만 아니라 심각한 피해를 줄 수 있다(Jena et al. 2006, Jeung et al. 2006).

심각한 병해 중 하나인 벼 도열병은 벼의 육묘단계부터 최고분얼기까지 잎을 침해하고 출수기 이후에는 이삭목, 이삭가지 뿐만 아니라 벼 알까지 침해하여 벼의 수량과 품질을 저해한다(Shim et al. 2005). 또한, 벼 도열병은 수화제나 유제를 이용한 방제에도 기상조건에 따라 출수기 이후에 빠르게 증식하기 때문에 방제효과가 낮다(Lee et al. 2006). 이와 같은 이유로 병해충 방제와 재해 예방에 있어서 가장 경제적이고 친환경적인 방법은 환경저항성 벼 품종을 육성하는 것이 가장 효과적이라고 할 수 있다(Wang et al. 1994, Kim et al. 2011).

작물학적 특성을 신속히 보완하고 확충할 수 있는 이점을

*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 12, 2014.
Accepted on September 16, 2014.)

가지고 있는 돌연변이 육종을 통해 육성된 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 조생 다수성 품종인 남일에 돌연변이원인 아지드화나트륨(Sodium azide)을 활용하여 육성된 남일 돌연변이 계통인 Namil(SA)-bl5의 특성인 단간 및 도열병 저항성 유전자의 유전양상을 구명하고, 유전좌위를 표시 할 수 있는 분자마커를 확보하여 국내 자포니카 벼 품종의 작물학적 특성의 향상과 도열병 저항성 증진을 위한 육종소재를 확립하고자 수행하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 DNA 추출

자포니카(*Oryza sativa* L. ssp. Japonica)의 조생 다수성 품종인 남일(Kim et al. 2003)을 아지드화나트륨(Sodium azide)을 이용하여 돌연변이 계통을 육성하였다(Shin et al. 2009). Namil(SA)-bl5는 단간이면서 도열병 저항성 돌연변이 후대계통으로써 계보는 Namil(SA)M2-1063-11-1-1-1-1-1-1에 해당한다. 다양한 국내수집 도열병 균주에 대한 친화성 검정을 위해서 주남, 온누리, 및 칠보가 대비품종으로 함께 공시되었다. Namil(SA)-bl5의 단간 및 도열병 저항성 관련 유전좌위에 대한 유전분석을 위해 Namil(SA)-bl5와 통일계 품종인 밀양23호간의 F₂ 94개체를 사용하였으며, 돌연변이 계통

의 유전좌위 추정의 신뢰성을 높이기 위하여 남일과 밀양23호간의 F₂ 103개체도 함께 사용하였다.

육성된 각 집단의 F₂ 식물체들과 모본, 부분의 DNA는 변형된 CTAB방법을 이용하여 추출하였다(Murray & Thompson 1980). 추출된 DNA는 0.8% agarose gel에 전기영동하여 확인하였으며, NanoDrop spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용하여 정량 후 5 ng/ul로 희석하여 PCR에 이용하였다.

작물학적 특성 평가.

Namil(SA)M2-1063-11-1-1-1-1-1-1의 계보를 지니며, Namil(SA)-bl5로 명명된 단간이며 도열병 저항성 돌연변이 계통을 원품종인 남일과 함께 2011년 국립식량과학원 답작과(수원소재) 포장에 공시하여 작물학적 특성을 관찰하였다. 파종은 조기재배에 준하여 4월 7일 실시하여 약 30일정도 육묘한 후 5월 12일에 이앙하였다. 연관지도 작성 및 목표유전자위 표시를 위해 공시된 두 개의 F₂ 집단들에 대해서는 포장에서 각 개체들을 표시 한 후 이들로부터 DNA 추출을 위한 시료를 취하였으며, 각 개체들의 간장을 측정 한 후 F_{2.3} 종자를 수확하였다.

도열병 균주 선정 및 공시재료에 대한 친화성 판정

국내에서 수집된 도열병 균주 중 원품종인 남일과 친화성을 발현하는 7개 균주를 선정하여, 공시재료들의 도열병 저항성 정도를 평가하였다(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. 공시재료들을 파종하여 3~4엽기까지 온실에서 육묘한 후, 포자농도가 1.5×10^5 spores/ml로 조정된 각각의 도열병 균주를 분무접종하고, 26°C 암조건의 습윤상(상대습도 90% 이상)에서 24시간 처리한 후 온실로 옮겨 2주간 발병을 유도하

Table 1. Comparisons between Namil, the wild type and Namil(SA)-bl5, 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 ± 0.0	77 ± 2.0	24 ± 0.6	11 ± 1.0	147 ± 7.8	74.4 ± 7.1	24.8 ± 0.0	599 ± 24.0
Namil(SA)-bl5	7.25 ± 0.6	65 ± 1.7	19 ± 0.0	17 ± 2.1	95 ± 0.6	74.2 ± 7.5	20.5 ± 0.2	578 ± 21.4

^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. All numerical values were mean ± standard deviation.

였다. 공시재료들의 도열병 저항성 정도는 발병 정도에 따라 0~5단계로 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 중도 저항성 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(SA)-bl5에는 비친화성인 도열병 균주 94-254를 사용하였다(Table 2, Fig. 1B). Namil(SA)-bl5와 밀양23호간의 F₂ 집단 내에서 도열병 저항성 유전자의 분리양상을 평가하기 위해 각 F₂ 개체로부터 세대 진전된 F_{2.3} 계통의 저항성 수준을 평가하였다. 각 F₂ 계통 당 임의로 선택

된 15여립의 F_{2.3} 종자를 전개하여 도열병 균주, 94-254를 접종하였다. 계통 내 모든 식물체들의 병반응 정도는 접종 후 2주일 경에 개체별로 병징을 조사하였으며, 그 평균값을 취하여 유전분석을 위한 각 계통에 대응하는 F₂ 개체의 도열병 저항성 표현형으로 사용하였다.

분리후대집단을 이용한 연관지도 작성

기존에 보고된 정보에 의거하여(McCouch et al. 2002) 벼 염색체상의 균등배치에 유의하면서 돌연변이원인 남일과 밀양23호간에 다형성을 보이는 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

Fig. 1. Agronomic performances of the wild type, Namil (left) and the mutant line of Namil, Namil(SA)-bl5 (right) (A) and reaction patterns against virulent rice blast isolate, 94-254 of Namil, Milyang23, and Namil(SA)-bl5, sequentially from left to right (B).

Table 2. Reactions of the mutant line, Namil(SA)-bl5 and cultivars against selected Korean virulent blast isolates.

Lines	Rice blast isolate (race) ^z						
	90-002 (KI215)	90-008 (KI1113)	93-093 (KI197)	94-254 (ND) ^y	97-260 (KJ103)	02-319 (KJ105)	02-039 (KJ201)
Namil	4	4	5	4	4	5	5
Milyang23	4	3	4	4	2	4	2
Junam	5	5	5	5	5	5	3
Onnuri	4	4	5	5	4	1	4
Chilbo	2	5	5	5	5	4	4
Namil(SA)-bl5	0	1	1	0	1	1	1

^zRice blast isolates were collected from Korean farmers' fields. Resistance degrees of virulent rice blast were classified five levels from 1 (resistance) to 5 (susceptibility). Korean rice cultivars, Junam, Onuri, and Chilbo were included as check varieties

^yNot determined

(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 마커에 대하여 F₂ 식물체들로부터 조사된 유전자형의 분리비가 기대치에 부합하는지 평가하기 위하여 적합성검정(χ^2 test)을 실시하였으며(Jeung et al. 2011), 각 개체의 유전자형과 단간 및 도열병 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 MgCl₂] 및 1 unit의 Taq polymerase (Nurotics, Korea)를 이용하여 총량 20 μ l로 실시하였다. PTC-100[®] thermocycler (Waltham, USA)를 사용하여, 95°C에서 3분간 초기변성 후 95°C 20초, 55°C 30초, 72°C 60초로 총 35회 반복하고, 72°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 Sequence[™] (Promega, USA)로 염색한 후 각 F₂ 개체들의 유전자형을 판정하였다(Jeung et al. 2011).

도열병 저항성 유전좌위 표지를 위한 유전통계분석

단간 및 도열병 저항성 관련 유전좌위의 벼 염색체상 위치를 파악하기 위해 남일과 밀양23호 및 Namil(SA)-bl5와 밀양23호간의 F₂ 개체들로부터 확보된 SSR 마커 유전자형과 단간에 대한 표현형 및 도열병 저항성에 대한 F_{2,3} 계통들간의 연관성을 평가하였다(association analysis).

수집된 자료들에 대한 유전통계분석에는 SAS (Statistical Analysis System) 프로그램(SAS Institute, 2000)을 이용하였다. SAS 프로그램의 PROC MEANS를 이용하여 기술통계량을 산출하였고, 목표 유전좌위 표지를 위해 육성된 F₂ 집단에 대한 연관분석(association analysis)은 PROC GLM을 이용하여 각 SSR 마커들에 의해 표지되는 유전좌위가 단간 및 저항성에 관여되는 정도를 판정하였다(Single Locus ANOVA). 각 유전좌위에 대한 F 분석 결과 P 값이 0.05보다 작으면 유의하다고 판정하고, F₂ 분리집단에서 관찰된 전체 단간 및 도

열병저항성 분산에 대한 해당 유전좌위의 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(SA)-bl5의 작물학적 특성 평가

단간이며 도열병 저항성 계통인 Namil(SA)-bl5와 원품종인 남일을 함께 공시하여 작물학적 특성을 평가하였다(Table 1, Fig. 1A). 돌연변이 계통인 Namil(SA)-bl5는 조생종인 원품종(남일)에 비해 빠른 출수기를 보였으며, 간장 또한 남일에 비해 평균 10 cm 정도 단축된 단간형이었다. 이삭의 길이와 수당립수는 원품종인 남일에 비해 감소하였으나 수량성은 현미를 기준으로 크게 감소하지는 않았다. 이는 Namil(SA)-bl5에서 수수가 유의하게 증가한 것에서 기인하는 것으로 판단된다.

단간 특성을 보이는 Namil(SA)-bl5의 유전분석을 위한 F₂ 후대집단간의 작물학적 평가에서 간장은 Namil(SA)-bl5 × 밀양23호간의 분리후대집단에서 평균 72.5 cm였으며 남일과 밀양23호간의 분리후대집단에서는 평균 84.7로 Namil(SA)-bl5에 의해 간장이 단축되었다. 두 집단의 분산분포를 비교한 결과, 유사한 분산분포를 보였으나 Namil(SA)-bl5 × 밀양23호간의 분리후대집단에서 다소 Namil(SA)-bl5쪽으로 편기되는 양상을 보였다(Fig. 2A).

Namil(SA)-bl5의 도열병 저항성 평가 및 검정 균주 선정

균주 선정에 있어서 원품종인 남일과 교배친인 밀양23호를 모두 침해하는 균주를 선정하기 위하여 국내수집 균주 7개를 접종하여 이병반응을 검정하였다(Table 2). 도열병 저항성 검정에서 남일은 7개 균주 모두에서 감수성을 보였으며, 밀양23호는 4개 균주에 대해 감수성 반응을 3개 균주에 대해서는 중도저항성을 보였다. 근래에는 통일계 품종들이 거의 재배되지 않기 때문에 도열병 균주들의 밀양23호에 대한 친화성이 자포니카계인 남일에 비해 낮은 것으로 사료된다. 대비품종들인 주남, 온누리, 및 칠보의 경우, 균주들에 대하여 서로 다른 이병성을 보였다.

반면에 Namil(SA)-bl5는 선정된 7개 균주들에 대해서는 매우 안정적인 저항성을 보였다. 대비품종들 중 주남은 *Pib*, 교배친인 밀양23호는 *Pib*, *Pita* 및 *Pik-p* 등의 도열병 저항성 유전자를 보유하는 것으로 알려져 있다(Cho et al. 2007,

Jeung et al. 2007). 도열병 저항성 검정결과로 보아, 도열병에 대해 저항성 돌연변이 계통인 Namil(SA)-bl5는 대비품종들이 보유하고 있는 저항성 유전자들과는 다른 유전자의 작용에 의해 도열병 저항성이 발현되는 것으로 추정된다.

균주 검정을 통해 얻어진 결과를 바탕으로 도열병 저항성이 분리되는 교잡후대에서 변별력 높은 표현형 결과를 확보하기 위해 Namil(SA)-bl5는 비친화성이며 원품종인 남일과 교배친인 밀양23호에 친화성인 도열병 균주 94-254를 선정하여 유전분석에 이용하였다.

Namil(SA)-bl5 x 밀양23호간 후대 F₂ 집단의 도열병 저항성 평가

연관분석(association analysis)을 위한 도열병 저항성 검정에서 분리후대집단의 표현형 조사를 위해 남일과 밀양23호간 103개 F₂ 집단과 Namil(SA)-bl5와 밀양23호간의 94개 F₂ 집단에서 각 F₂ 계통당 15립정도의 F_{2:3} 종자를 전개하여 도열병 균주 94-254를 접종하여 병반응 정도에 따라 집단 내에서의 표현형 분리양상을 조사하였다(Fig. 2B). 도열병 저항성 검정에서 원품종인 남일과 교배친인 밀양23호는 각각 저항성이 4.3과 3.7로 낮게 평가되었다. 반면에 Namil(SA)-bl5에서는 0.3으로 저항성이 높게 평가되었으며 강한 저항성을 보였다. 각각의 분리후대집단에서는 남일과 밀양23호간 집단에서는 평균 4.0으로 낮게 평가되었으며, Namil(SA)-bl5와 밀양

23호간 집단에서는 평균 2.3으로 남일과 밀양23호간 집단에 비하여 높게 평가되었다.

도열병 저항성에 대한 두 분리후대집단의 분산양상을 비교한 결과, 남일과 밀양23호간 집단은 오른쪽(감수성)으로 크게 편향된 양상(skewness=-0.8)을 보이는 반면, Namil(SA)-bl5와 밀양23호간 분리후대집단은 왼쪽(저항성)으로 약간 편향되어(skewness=0.2) 도열병 저항성에 관여하는 유전인자가 Namil(SA)-bl5에 존재하고 있음을 확인할 수 있었다.

Namil(SA)-bl5와 밀양23호간 후대 F₂ 집단을 이용한 연관 지도 작성

단간이며 도열병 저항성 돌연변이 계통 Namil(SA)-bl5와 밀양23호간 교잡을 통해 총 94개의 F₂ 식물체로 구성된 유전 분석 집단을 구축하였다. 각 F₂ 개체에서 DNA를 추출하여 SSR 마커를 이용한 연관지도를 작성하였다. 연관지도 작성에 있어서는 각 염색체마다 최소한의 수의 SSR 마커를 균등하게 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. 연관지도 초안을 위해 활용된 유전자형에 대한 분리비 검정을 수행하여(segregation test), 각 F₂ 집단에서 분리비 이상(segregation distortion)이

Fig. 2. Graphical comparisons of F₂ mapping populations derived from two crosses between Namil (wild type) or Namil(SA)-bl5 and Milyang23 on the agronomic trait, culm length (A) and virulent rice blast isolate, 94-254 (B).

To measure the agronomic trait, culm length of F₂ progeny lines, harvested seeds from each F₂ plant (F_{2:3} seeds) were planted in a row. The descriptive statistics on the agronomic trait, culm length of 103 F_{2:3} lines of Namil x Milyang23, over-all mean, standard deviation, skewness, and kurtosis are 84.7, 7.4, 0.0, and -0.7, respectively. In 94 F_{2:3} lines of Namil(SA)-bl5 x Milyang23 on the agronomic trait, culm length, over-all mean, standard deviation, skewness, and kurtosis are 72.5, 6.7, 0.0, and -0.5, respectively. To estimate the resistant levels of F₂ progeny lines, harvested seeds from each F₂ plant (F_{2:3} seeds) were planted in a row. Fourteen days after inoculation of rice blast isolate (94-254), individuals were evaluated. On virulent rice blast, 94-254, the descriptive statistics 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 94 F_{2:3} lines of Namil(SA)-bl5 x Milyang23 on virulent rice blast isolate, 94-254, over-all mean, standard deviation, skewness, and kurtosis are 2.3, 1.5, 0.2, and -1.2, respectively.

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(SA)-bl5 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	53	22	0	1.4
RM0600	1	9,461,346	9,461,566	221	21.7	AP001081	27.3	49.6	21	49	24	0	0.2
RM0449	1	15,305,619	15,305,758	140	35.1	AP008247	40.0	72.8	29	44	21	0	1.4
RM1349	1	25,398,082	25,398,300	219	58.3	AP002744	56.7	103.1	24	46	24	0	0.0
RM1003	1	33,803,800	33,803,927	128	77.5	AP003345	75.1	136.6	28	42	24	0	1.1
RM6321	1	43,251,019	43,251,186	168	99.2	AP003277	100.0	181.8	26	42	26	0	0.8
RM0154	2	1,083,895	1,084,077	183	3.0	AP005851	3.0	4.7	16	62	16	0	8.6 *
RM5699	2	8,981,409	8,981,575	167	25.0	AP005803	26.7	42.1	19	53	22	0	1.4
RM1211	2	18,450,427	18,450,588	162	51.4	AP005299	37.7	59.5	19	55	20	0	2.3
RM3220	2	28,458,108	28,458,248	141	79.2	AP004118	74.8	118.1	13	52	29	0	5.8
RM3850	2	35,425,798	35,425,907	110	98.6	AP003989	100.0	157.9	13	55	26	0	5.6
RM6301	3	2,631,471	2,631,613	143	7.2	AC090485	8.1	13.3	25	48	21	0	0.2
RM0007	3	9,808,540	9,808,710	171	27.0	AC134232	27.0	44.4	15	47	31	1	4.8
RM1164	3	14,840,558	14,840,757	200	40.8	AC084766	41.8	68.7	21	44	29	0	1.4
RM6266	3	23,778,063	23,778,222	160	65.4	AC091246	57.7	94.9	24	45	25	0	0.1
RM1350	3	28,632,514	28,632,682	169	78.8	AC087181	77.1	126.8	28	44	22	0	0.9
RM3585	3	36,080,616	36,080,784	169	99.3	AC128647	98.4	161.7	27	42	25	0	0.9
RM0551	4	168,620	168,811	192	0.5	AL606442	2.4	3.1	22	48	24	0	0.0
RM5633	4	13,059,370	13,059,580	211	37.1	AL731595	15.4	19.9	13	54	27	0	5.5
RM1155	4	20,328,759	20,328,906	148	57.7	AL606453	45.4	58.9	24	35	35	0	8.0 *
RM3839	4	23,870,755	23,870,972	218	67.7	AL606614	56.2	72.8	19	38	37	0	9.4 **
RM3217	4	30,083,469	30,083,662	194	85.4	AL606683	77.7	100.7	23	47	18	6	0.7
RM0559	4	35,117,645	35,117,804	160	99.6	AL606637	100.0	129.6	22	56	16	0	3.7
RM5693	5	441,872	442,071	200	1.5	AC129716	3.8	4.6	26	51	17	0	2.0
RM5844	5	9,128,802	9,128,996	195	30.6	AC120989	43.7	53.5	27	46	18	3	1.4
RM5558	5	21,168,727	21,168,899	173	70.9	AC105769	70.3	86.0	22	48	24	0	0.0
RM1054	5	29,144,035	29,144,184	150	97.6	AC098598	99.8	122.0	25	44	25	0	0.2
RM3353	6	435,582	435,697	116	1.4	AP001129	1.1	1.4	18	50	26	0	1.4
RM3370	6	6,434,836	6,435,012	177	20.6	AP005545	27.6	34.3	18	49	27	0	1.5
RM0539	6	8,170,600		NA	26.1	AP005619	41.0	51.0	15	49	26	4	2.9
RM0527	6	9,863,290	9,863,522	233	31.6	AP005695	45.3	56.3	16	50	26	2	2.4
RM6818	6	16,581,413	16,581,542	130	53.1	AP004012	52.9	65.8	18	51	25	0	1.4
RM3628	6	23,737,032	23,737,157	126	76.0	AP003612	68.6	85.4	16	51	27	0	2.7
RM6274	6	26,319,462	26,319,530	69	84.2	AP003568	80.6	100.3	23	40	29	2	2.0
RM5604	6	29,048,075	29,048,152	78	93.0	AP003772	92.0	113.4	22	46	26	0	0.2
RM5753	6	30,966,850	30,967,050	201	99.1	AP004685	100.0	124.4	18	52	23	1	1.5
RM1093	7	668,161	668,310	150	2.3	AP003746	2.1	2.5	22	53	19	0	1.4
RM0481	7	2,876,165	2,876,333	169	9.7	AP005632	14.8	11.0	20	53	20	1	1.4

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
RM1243	7	3,555,641	3,555,797	157	12.0	AP004267	21.4	25.4	21	55	17	1	2.9
RM1377	7	12,782,829	12,783,009	181	43.1	AP004305	41.9	49.7	33	40	21	0	4.5
RM3743	7	19,342,334	19,342,513	180	65.2	AP003815	56.5	67.0	30	44	20	0	2.0
RM5623	7	23,110,498	23,110,681	184	77.8	AP005908	68.4	81.1	30	46	17	1	3.1
RM3555	7	27,891,580	27,891,733	154	93.9	AP004378	89.1	105.7	25	45	21	3	0.2
RM0172	7	29,560,592	29,560,750	159	99.6	AP005199	100.0	118.6	23	45	26	0	0.2
RM0408	8	119,935	120,063	129	0.4	AP005406	0.4	0.5	24	50	20	0	0.5
RM0547	8	5,586,058	5,586,291	234	19.7	AP004746	33.2	40.2	20	51	23	0	0.6
RM3262	8	22,248,334	22,248,500	167	78.6	AP005483	71.5	86.7	24	51	19	0	0.9
RM5545	8	28,141,927	28,142,083	157	99.4	AP004623	100	121.2	19	48	27	0	1.1
RM23654	9	151,453	151,639	187	0.7	AP006059	0.0	0.0	28	55	11	0	8.0 *
RM0316	9	1,074,933	1,075,126	194	4.7	AP005860	0.9	0.8	28	55	11	0	8.0 *
RM0219	9	7,887,585		NA	34.3	AP005912	22.1	20.7	27	53	14	0	4.5
RM0566	9	14,704,798	14,705,036	239	63.9	AP005397	54.2	50.7	24	48	22	0	0.0
RM0205	9	22,720,646	22,720,801	156	98.7	AP005546	100.0	93.5	20	44	30	0	2.0
RM7492	10	39,037	39,181	145	0.2	AC166065	0.0	0.0	21	55	18	0	2.4
RM0311	10	9,487,243	9,487,406	164	41.5	AC090482	20.0	16.8	22	50	22	0	0.2
RM1375	10	16,386,764	16,386,943	180	71.6	AC025905	51.0	42.7	27	44	23	0	0.5
RM0590	10	22,784,993	22,785,130	138	99.6	AC018727	100.0	83.8	16	56	22	0	3.7
RM0286	11	383,839	383,960	122	1.3	BX000497	1.2	1.4	15	54	24	1	3.6
RM6901	11	1,494,196		NA	5.2	AC123516	5.5	6.5	14	47	27	6	3.6
RM3428	11	13,445,211	13,445,367	157	47.2	AC128642	47.7	56.2	15	46	33	0	6.2 *
RM5349	11	19,148,807	19,148,929	123	67.3	AC134925	67.1	79.1	21	42	30	1	2.2
RM0144	11	28,246,930	28,247,154	225	99.2	AC134045	98.6	116.2	20	48	26	0	0.6
RM8215	12	1,585,781	1,586,001	221	5.8	BX000498	8.9	9.7	10	37	47	0	31.6 ***
RM3472	12	3,520,117	3,520,331	215	12.8	AL713902	24.8	27.1	15	31	48	0	32.3 ***
RM1337	12	11,935,984	11,936,165	182	43.4	BX000556	47.2	51.5	17	34	42	1	18.8 ***
RM0277	12	18,290,458		NA	66.5	AL831799	57.0	62.2	14	39	41	0	16.9 ***
RM1300	12	25,998,975	25,999,139	165	94.4	AL713940	93.4	100.9	8	42	44	0	27.0 ***
RM0017	12	26,954,668	26,954,835	168	98.0	AC027133	98.4	107.4	7	44	43	0	26.4 ***

^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(SA)-bl5 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 $P < 0.05$.

일어나고 있는 부위를 확인하였다(Table 3).

단간이며 도열병 저항성 돌연변이 계통인 Namil(SA)-bl5와 밀양23호간에 다형성을 보이며 염색체상에 균등하게 위치한 총 68개의 SSR 마커들을 이용하여 연관지도 초안을 작성하였다(Table 3). 유전자형의 분리비를 검정한 결과, Namil(SA)-bl5와 밀양23호 F₂ 집단에서는 밀양23호의 대립인자에

대해 호모인 개체들의 빈도가 높은 데서 기인하는 염색체 12번 전반에서 분리비이상(segregation distortion)이 매우 유의하게 관찰되었다(Table 3).

연관성 평가에 의한 단간 및 도열병 저항성 유전좌위 표시

연관지도 초안에 배치된 총 68개 SSR 마커들에 대응하는

Table 4. Summary of association analysis between DNA marker genotypes and phenotype performances of F₂ progenies derived from the cross between Namil(SA)-bl5 and Milyang23^z for culm length (CL) and rice blast resistance (BL).

Trait Evaluated	Mirror Map ^y				No. of Genotypes ^x			Genotype mean ^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
CL (cm) N=94 Mean=72.6	RM1003	1	136.6	77.5	28	42	24	73.2	74.5	68.4	576.9	3640.4	7.21 **	0.137	-2.38	3.68	-1.55
	RM0154	2	4.7	2.2	16	62	16	77.8	71.2	72.4	554.7	3662.6	6.89 **	0.132	-2.69	-3.92	1.46
	RM0007	3	44.4	27.0	15	47	31	74.3	73.6	70.1	279.4	3935.5	3.19 *	0.066	-2.07	1.42	-0.69
	RM1350	3	126.8	78.8	28	44	22	70.9	72.0	75.8	327.5	3889.9	3.83 *	0.078	2.46	-1.40	-0.57
	RM0551	4	3.1	0.5	22	48	24	75.1	72.5	70.2	278.8	3938.5	3.22 *	0.066	-2.46	-0.15	0.06
	RM5633	4	19.9	37.1	13	54	27	73.5	73.7	69.8	289.8	3927.5	3.36 *	0.069	-1.88	2.03	-1.08
	RM3628	6	85.4	76.0	16	51	27	68.1	73.1	74.1	392.4	3824.9	4.67 *	0.093	2.97	2.02	0.68
	RM6274	6	100.3	84.2	23	40	29	68.6	72.6	75.8	663.7	3544.6	8.33 ***	0.158	3.60	0.44	0.12
	RM1093	7	2.5	2.3	22	53	19	69.2	73.5	73.7	325.1	3892.2	3.80 *	0.077	2.28	2.05	0.90
	RM5623	7	81.1	77.8	30	46	17	69.5	73.9	74.4	426.9	3788.0	5.07 **	0.101	2.47	1.95	0.79
	RM0172	7	118.6	99.6	23	45	26	71.3	71.1	76.2	489.5	3727.9	5.97 **	0.116	2.48	-2.68	-1.08
	RM3555	7	105.7	93.9	25	45	21	71.1	70.8	78.1	841.6	3366.3	11.00 ***	0.200	3.53	-3.77	-1.07
	RM1054	5	122.0	97.6	22	42	22	2.8	1.9	2.5	14.1	172.2	3.40 *	0.076	-0.12	-0.79	6.71
	RM3370	6	34.3	21.2	18	41	27	1.5	2.3	2.7	17.7	168.6	4.35 *	0.095	0.64	0.21	0.33
BL (Degree: 0-5) N=86 Mean=2.3	RM0539	6	51.0	26.2	15	42	25	1.3	2.2	3.0	25.2	152.1	6.55 **	0.142	0.82	0.09	0.12
	RM6818	6	65.8	53.1	18	45	23	1.4	2.2	3.1	27.3	159.0	7.13 **	0.147	0.82	-0.03	-0.03
	RM0527	6	56.3	31.6	16	44	24	1.4	2.2	3.1	31.3	149.2	8.50 ***	0.173	0.89	-0.06	-0.06
	RM8215	12	9.7	5.8	9	34	43	1.3	2.1	2.6	13.9	172.3	3.36 *	0.075	0.64	0.14	0.21
	RM3472	12	27.1	12.8	14	28	44	1.1	2.1	2.8	29.8	156.5	7.91 ***	0.160	0.81	0.11	0.13
	RM0277	12	62.2	66.5	13	36	37	1.1	2.1	2.9	31.2	155.1	8.35 ***	0.168	0.87	0.09	0.11
	RM1337	12	51.5	43.4	15	32	38	0.5	2.0	3.2	85.3	97.8	35.74 ***	0.466	1.37	0.12	0.09

^zOnly significant loci to each trait tested are presented. 58 DNA markers were tested in 94 F₂ progenies derived from the cross between Namil(SA)-bl5 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(SA)-bl5 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 (*R*²) was also calculated. The significant levels are less than 0.05, where *** 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(SA)-bl5 and Milyang23, H is heterozygous individuals at the tested locus.

단간 및 도열병 저항성에 대한 F_2 개체들의 유전자형과 $F_{2:3}$ 계통의 단간에 대한 표현형 및 도열병 감정을 통해 확보된 표현형간의 연관분석(association analysis)을 수행하였다. 각 SSR 마커에 대해 94개 F_2 개체들을 3개의 유전자형 군집으로 나눈 후(No. of genotype), 각 군집의 표현형 또는 저항 정도의 평균(genotype mean)에 대해 분산분석(Single-locus ANOVA)을 실시하였다(Table 4). 분산분석 결과 F 값이 유의한 경우 해당 유전좌위 근접부위에 표현형 변이에 영향을 끼치는 유전자가 존재하는 것으로 판단하고 R^2 값(전체 표현형 분산에서 해당 유전좌위에 대한 기여도)을 제시하고 유전적 작용력(Genetic effect)을 추정하였다. 연관지도 초안에 배치된 SSR 마커들 중 연관분석을 통하여 단간 및 도열병 저항성에 관여하는 통계적으로 유의한 F 값을 지니는 마커들의

유전좌위를 표지하였다(Fig. 3).

단간에 관련된 유전좌위는 12개의 SSR 마커에 의해 표지되었다(Table 4). 유전좌위 표지에 사용된 SSR 마커는 1번과 2번 염색체상에 각각 1개씩과 3번, 4번, 및 6번 염색체상에서 각각 2개씩, 그리고 7번 염색체상에 4개가 확인되었다. 1번 염색체에서 RM1003 ($R^2=13.7\%$)에 대응하는 유전좌위가 표지되었으나 추정된 상가적 효과(additive effect)는 2.38로 밀양23호의 대립인자에 의해 간장이 단축되었으며, 남일과 밀양23호 후대에서 표지된 유의한 유전좌위와 비교한 결과에 따라 1번 염색체 하단에 RM1003은 제외되었다. 6번 염색체에서 RM6274에 대응하는 유전좌위는 15.8% 기여도를 보이며, 7번 염색체에서는 20.0%의 기여도를 보이는 RM3555에 대응하는 유전좌위가 표지되었다(Fig. 3B). 이들 유전좌위의 추

Fig. 3. Linkage map skeleton of the agronomic trait, culm length and rice blast resistance on rice chromosomes. In Namil x Milyang23, wild type, preliminary gene locus concerned with culm length is on rice chromosome 1, and putative gene loci of rice blast resistance are on rice chromosome 5 and 11 (A). In Namil(SA)-bl5, a mutant line, preliminary gene loci concerned with culm length are on rice chromosome 6 and 7, and putative gene loci of rice blast resistance are on the same rice chromosome 6 and 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).

정된 상가적 효과는 6번 염색체에서 3.60과 7번 염색체에서 3.53으로써 Namil(SA)-bl5의 대립인자에 의해 간장이 단축되었다(Table 4).

대부분의 벼 품종들의 반왜성은 단일 유전자에 의해 조절된다고 보고되고 있는데, 반왜성 유전자들 중 가장 널리 활용되는 *sd1*은 1번 염색체 하단에 위치한다(Foster & Rutger 1978, Cho et al. 1994, Tanisaka et al. 1994). 상기 2개 분자 마커들에 대응하는 유전좌위는 반왜성 유전좌위와 다른 염색체상에 표지되었으며, 남일과 밀양23호간의 유전분석 집단에서도 표지되지 않았으므로 Namil(SA)-bl5의 고유 유전좌위임이 확인되었다. 또한 간장은 주동유전자적 조절에 의해 단축되는 것으로 추정된다. 도복저항성의 향상에 있어서 반왜성은 중요한 특성이며(Miura et al. 2009), 실중의 감소 없이 수수의 증가 또한 매우 중요하다(Chen et al. 2013). 돌연변이 계통인 Namil(SA)-bl5는 이삭의 길이와 수당립수는 원품종인 남일에 비해 감소하였으나 수량에 있어서 원품종인 남일과 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 Namil(SA)-bl5에서 수수가 유의하게 증가한 것에서 기인하는 것으로 판단된다.

도열병에 관련되어서는 총 68개의 마커들 중 9개의 마커들이 유의한 *F* 값을 지니는 것으로 확인되었다. 9개의 마커들은 5번, 6번, 및 12번 염색체에서 각각 1개, 4개, 및 4개가 확인되었다. 연관분석(association analysis)결과로 미루어 보아 도열병 균주 94-254에 저항성을 발현하는 것으로 추정되는 유전좌위들은 6번 염색체 중단 부위(RM0527) 및 12번 염색체 중단 부위(RM1337)에 표지되었다. 이들 유전좌위들의 기여도는 6번 염색체에서 16.8% (RM0527) 및 7번 염색체에서 46.4% (RM1337)을 보였으며, 추정된 상가적 효과는 0.89 (RM0527)와 1.37 (RM1337)로써 모두 Namil(SA)-bl5의 대립인자에 의해 도열병에 대한 저항성이 증가하였다. RM1337에 대응하는 유전좌위는 46.4%의 기여도를 보이는 주동 유전좌위로 추정된다. 이 유전좌위는 Namil(SA)-bl5의 고유 유전좌위임이 확인되었다.

본 연구에서 돌연변이 계통인 Namil(SA)-bl5의 단간 및 도열병 저항성에 대한 *e*-Landing 기법을 이용하여 연관지도 초안을 작성하여 유전좌위를 표기하였다. 하지만 단간에 대한 좀 더 명확한 유전좌위 표지가 필요하며, 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 관련

성에 대한 판정이 필요할 것으로 사료된다. 따라서 앞으로 고밀도 연관지도 작성을 위해 마커밀도를 선택적으로 높여주어 좀 더 정밀한 유전좌위 표기 및 *e*-Landing 기법을 이용하여 BAC/PAC의 전사부위(Open reading frame; ORF) 정보를 활용하여 기존에 보고된 도열병 저항성 유전자들과의 유전적 관련성을 분석할 예정이다.

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, 다양한 작물학적 특성 및 병해충 저항성에 대한 돌연변이 계통의 유용형질들을 교배를 통해 고품질 벼의 보안을 위해 이전하는 것이 용이한 이점을 가지고 있다.

농촌진흥청 국립식량과학원에서는 국내 육성 자포니카 벼 품종인 남일에 아지드화나트륨을 돌연변이원으로 활용하여 단간이며 도열병 저항성 돌연변이 후대계통인 Namil(SA)-bl5를 육성하였다. 본 연구는 염색체상에서 Namil(SA)-bl5의 단간 특성과 도열병 저항성에 관련된 유전좌위를 탐색하고자 수행하였다.

주요 연구 결과로 Namil(SA)-bl5와 밀양23호간에서 유래한 *F*₂ 94 개체로부터 단간에 대한 표현형을 조사하고 68개 SSR 마커의 유전자형을 검정하여 연관분석(association analysis)을 수행한 결과 목표 유전좌위는 6번 염색체 중단 부위와 7번 염색체 하단 부위로 간장의 단축은 주동유전자적 조절에 의한 것으로 추정되었다. 또한, 분자마커의 유전자형과 도열병 저항성 간의 연관성평가를 수행한 결과를 보면, Namil(SA)-bl5의 도열병 저항성에 관여하는 주동 유전좌위는 12번 염색체 중단의 RM1337 좌위에 위치하는 것으로 추정되었다. 추후 목표 유전좌위에 대한 마커밀도를 선택적으로 높여 고밀도 유전자지도 작성함으로 초정밀 분자표지인자를 개발할 계획이다.

사 사

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

REFERENCES

- Chen MJ, Zhao ZZ, Chen LM, Zhou F, Zhong ZZ, Jiang L, Wan JM. 2013. Genetic analysis and fine mapping of a semi-dwarf gene in a centromeric region in rice (*Oryza sativa* L.). Korean J. Breed. Sci. 63: 164-168.
- Cho YC, Kwon SW, Choi IS, Lee SK, Jeon JS, Oh MK, Roh JH, Hwang HG, Yang SJ, Kim YG. 2007. Identification of major blast resistance genes in Korean rice varieties (*Oryza sativa* L.) using molecular markers. J Crop Sci. Biotech. 10: 265-276.
- Cho YG, Eun MY, McCouch SR, Chae YA. 1994. The semidwarf gene, sd-1, of rice (*Oryza sativa* L.). II. Molecular mapping and marker-assisted selection. Theor. Appl. Genet. 89: 54-59.
- Foster KW, Rutger JN. 1978. Inheritance of semidwarfism in rice, *Oryza sativa* L. Genetics 88: 559-574.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Kim MR. 2011. The status of Korean rice industry and the rice processing industry. Food Indus. Nutri. 16: 22-26.
- Lee JH, Yeo US, Kwak DY, Kim JW, Song YC, Kim CS, Shin MS. 2006. Lodging mechanisms and reducing damage of rice plant. Korean J. Crop. Sci. 51: 73-76.
- 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.
- Miura K, Wu J, Sunohara H, Wu X, Matsumoto T, Matsumoto M, Ashikari M, Kitano H. 2009. High-resolution mapping revealed a 1.3-Mbp genomic inversion in Ss1, a dominant semi dwarf gene in rice (*Oryza sativa*). Plant Breed. 128: 63-69.
- Murray M, Thompson W. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucl. Acid. Res. 8: 4321.
- 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.
23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. 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.
28. Tanisaka T, Takemori N, Yabu T, Egashira H, Okumoto Y, Yamagata H. 1994. Two useful semidwarfing genes in a short-culm mutant line HS90 of rice (*Oryza sativa* L.). Korean J. Breed. Sci. 44: 397-403.
29. 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.
30. 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.