새누리 벼 품종 배경 lipoyxygenase-3 결핍 자포니카 근동질계통 개발

박현수^{1*} · 이건미¹ · 김기영² · 김정주¹ · 신운철¹ · 백만기¹ · 김춘송¹ · 박슬기¹ · 이창민¹ · 서정필¹ · 조영찬¹

¹농촌진흥청 국립식량과학원, ²농촌진흥청 연구정책국

Development of Near-Isogenic Line of *japonica* Rice Cultivar Saenuri without Lipoyxygenase-3

Hyun-Su Park^{1*}, Keon-Mi Lee¹, Ki-Young Kim², Jeong-Ju Kim¹, Woon-Cheol Shin¹, Man-Kee Baek¹, Choon-Song Kim¹, Seul-Gi Park¹, Chang-Min Lee¹, Jung-Pil Suh¹, and Young-Chan Cho¹

¹National Institute of Crop Science, RDA, Wanju, 55365, Republic of Korea

²Research Policy Bureau, RDA, Jeonju 54875, Republic of Korea

Abstract It is reported that the absence of lipoyxygenase-3 (LOX-3) may contribute to a reduction in stale flavor after the storage of rice. To improve the quality of stored rice of the Korean *japonica* rice cultivar, we conducted a breeding program to develop near-isogenic rice without LOX-3 in the genetic background of Saenuri, a mega variety of Korea. In the first step of the breeding program, we used a donor parent of LOX-3 null, Daw Dam, and a recurrent *japonica* parent, Sindongjin, to develop HR27873-AC12 by backcross (BC₁), color test for introgression of *lox-3*, and anther culture for rapid fixation. In the second step, we used the donor parent, HR27873-AC12, and the recurrent parent, Saenuri, to develop HR28896-31-3-1-1 by backcross (BC₁), marker-assisted selection (MAS) for *lox-3*, and phenotypic selection (PS) for agronomic traits. Finally, in the third step, we developed HR30960-186-2-1-2-1 (Jeonju624), derived from a cross between Saenuri and HR28896-31-3-1-1, by MAS for *lox-3* and PS with high selection pressure for agronomic characteristics. Jeonju624 was confirmed with the introgression of *lox-3* by molecular marker. Jeonju624 was a mid-late maturing rice with similar agronomic characteristics to Saenuri, lodging tolerance with short culm, erect plant architecture, and resistance to bacterial blight and rice stripe virus. The yield components of Jeonju624 were mostly similar to Saenuri, except for the 1,000-grain weight of brown rice. The appearance of the grain of Jeonju624 was better than that of Saenuri, and the characteristics of cooked rice were similar to those of Saenuri. In the genetic background analysis using 406 KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR) markers, Jeonju624 was confirmed to be the near-isogenic line (NIL) of Saenuri with a 95.8% recovery rate. Jeonju624 is the NIL of Saenuri without LOX-3, and overcomes the linkage drag of Daw Dam with similar agronomic characteristics and genetic background to Saenuri. Jeonju624 can be utilized as a practical cultivar to improve the quality of stored rice, breeding material for the introgression of *lox-3*, and genetic material to elucidate the effect of introgressed genes.

Keywords Rice, Lipoyxygenase-3, Near-isogenic line, Saenuri, Jeonju624

Received on June 18, 2019. Revised on July 6, 2019. Accepted on July 19, 2019.

* Corresponding Author (E-mail: mayoe@korea.kr, Tel: +82-63-238-5214, Fax: +82-63-238-5205)

서 언

벼를 수확하여 소비되기까지는 저장 기간을 거치게 된다. 벼는 저장 중 호흡 작용에 의해 각종 효소 활성 및 이화학적 특성 변화가 일어나 수확 후 품질 변이가 발생한다(Zhou et al. 2002). 저장 중 벼 종실의 구성 성분 중 지질의 변화가 가장 먼저 일어나게 된다(Kwak et al. 2015). 지질은 저장 중 산소와 접촉하여 산화되거나, 지질분해효소(lipase)에 의해 가수분해되어 glycerol과 유리 지방산으로 분해된다(Kim et al. 2008). 생성된 유리

지방산 중 리놀레산(linoleic acid), 리놀렌산(linolenic acid)과 같이 1,4-pentadiene 구조를 가지고 있는 불포화 지방산은 관련 효소인 lipoyxygenase (LOX)의 작용으로 산화되어 공액(conjugate) 과산화(hydroperoxy) 지방산을 생성한다(Suzuki et al. 2010). 이후 과산화효소(peroxidase) 등의 영향을 받아 분해되어 알데하이드나 케톤과 같은 고미취와 관련된 방향성 carbonyl 화합물을 생성한다(Suzuki et al. 1999). 벼 종실의 LOX 활성은 미장에서 주로 이루어지며(Yamamoto et al. 1980), LOX 동질 효소 중 lipoyxygenase-3 (LOX-3)가 주를 이룬다(Ida et al. 1983). LOX-3가 결핍된 유전

자원으로 최초로 보고된 것은 태국 열대 자포니카(자바니카) 품종인 다우담(Daw Dam)으로 다우담의 LOX-3 결핍 형질은 하나의 열성유전자에 의해 단순유전된다(Suzuki et al. 1993, Suzuki 1995, Suzuki et al. 1996a). 다우담 등 LOX-3 결핍 벼는 LOX-3 보유 벼에 비해 저장 후 불포화 지방산의 과산화가 적게 일어나며(Suzuki et al. 1996b), pentanal, hexanal 등 방향성 물질이 적게 발생되어 LOX-3는 벼의 저장 중 고미취 발생과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되었다(Suzuki et al. 1999).

저장된 벼의 고미취 발생 저감을 위해 LOX-3가 결핍된 벼 품종을 개발하기 위한 육종적 노력이 이루어졌다. 일본에서 LOX-3 결핍 유전자원인 다우담을 교배모본으로 이용한 육종사업이 수행되었다. 다우담은 열대 자포니카 품종으로 일본에서 재배하기에는 농업형질 특성이 열악하다(Suzuki 1995). 돈토코이(Dontokoi)와 다우담을 교배 후 돈토코이에 1회 여교배하여 LOX-3가 결핍된 Hokuriku PL2를 육성하였으나 다우담의 *lox-3* 대립유전자에 수발아 관련 양적형질유전자좌(quantitative trait locus, QTL) *qPHS3*가 밀접하게 연관되어 있어 LOX-3 결핍 벼 육성 중에 수발아에 약한 특성이 이끌려 오는 열악형질 수반문제(linkage drag)가 나타났다(Suzuki et al. 2015). 이러한 문제를 극복하기 위해 Hokuriku PL2를 *lox-3* 수여친으로하고 고시히카리(Koshihikari)를 반복친으로 여교배를 4회 수행하여 수발아가 개선된 근동질계통 Hokuriku 244를 개발하였다(Suzuki et al. 2015). 근동질계통은 여교배방법을 이용하여 목표 형질 이외에 다른 유전적 배경은 반복친으로 회복된 계통을 말하며(Stam & Zeven 1981), 지속적인 여교배로 수여친에 존재하는 열악형질 수반 문제를 극복할 수 있다(Neeraja et al. 2007). Hokuriku 244도 다우담에 존재하는 수발아에 약한 특성을 수발아에 강한 고시히카리에 반복적으로 여교배함으로써 극복하였다. 열악형질 극복 이외에 근동질계통은 유전 분석을 위한 재료로 활용될 수 있으며 목표 유전자 이외의 유전배경 간섭이 제거되기 때문에 정확한 유전자의 효과 구명, 목표 형질 연관 분자표지의 개발, 유전자 발현연구, 목표 유전자의 동정 등 많은 장점을 가지고 있다(Jena et al. 2017)

우리나라 가을철 수확된 벼를 저온으로 장기간 저장할 수 있는 미곡종합처리장은 제한되어 있다(Kim et al. 2014). 수확된 벼를 상온에 장기 저장할 경우 여름철 고온 다습한 환경조건을 거치게 되어 품질이 떨어지고 고미취가 발생한다(Suzuki et al. 1999, Zhou et al. 2002). 고미취 발생 저감에 효과가 있는 LOX-3가 결핍된 벼 품종을 개발할 경우 저장 벼의 품질을 향상시킬 수 있을 것이다. 이를 위해 LOX-3 결핍 대립유전자를 우리나라 밥쌀용 우량 품종 배경에 도입하는 육종사업이 수행되었다. 본

연구는 우리나라 대면적 재배품종인 새누리 유전배경에 LOX-3가 결핍된 근동질계통을 개발하고, 농업형질과 유전배경 분석을 통해 특성을 구명함으로써 활용방안을 모색하여 품질 향상 육종 사업에 반영하고자 수행하였다.

재료 및 방법

시험재료 및 재배방법

LOX-3 결핍 수여친으로 태국 열대 자포니카(자바니카) 품종인 다우담(Daw Dam, IT165761)을 이용하였다. 국내 육성품종의 반복친으로 1차 육종단계에서는 신동진을 이용하였고, 2차 및 3차 육종단계에서는 새누리를 이용하였다. 육종단계를 거쳐 최종 선발된 근동질계통 전주624호를 대상으로 반복친인 새누리, 중만생 표준품종 남평, LOX-3 결핍 수여친 다우담을 공시하여 생산력 검정시험을 수행하였다. 생산력 검정시험은 2017, 2018년 2년간 수행되었다. 농촌진흥청 국립식량과학원 벼 시험포장에서 완전 임의 배치법 3반복으로 4월 30일 파종하여 5월 30일에 재식거리 30×15 cm로 주당 3본씩 구당 156주를 이앙하였다. 시비량은 N-P₂O₅-K₂O를 90-45-57 kg/ha으로 질소는 기비 : 분얼비 : 수비를 50 : 20 : 30 비율로 분시하였고, 인산은 전량 기비로, 칼륨은 기비 : 수비를 70 : 30 비율로 분시하였다. 기타 재배관리는 농촌진흥청 표준 재배법에 준하여 실시하였다.

LOX-3 결핍 벼 선발

LOX-3 결핍 벼 선발을 위해 발색반응과 분자표지 검정을 이용하였다. 발색반응 검정은 기존에 보고된 방법을 일부 변경하여 수행하였다(Hammond et al. 1992, Shen et al. 2002). 2 mL 튜브에 벼 종자의 배를 잘라 넣고 0.2 M sodium borate (Na₂B₄O₇)-boric acid (H₃BO₃) buffer (pH 8.2) 500 μL를 첨가하였다. 2시간 경과 후 1 mM sodium linoleate 500 μL와 0.1% Tween20 100 μL 첨가하였다. 20분 후 0.4 M sodium borate (Na₂B₄O₇)-boric acid (H₃BO₃) buffer (pH 9.0), acidic KI solution 및 1% soluble starch를 각각 100 μL 넣은 후 25℃ 명조조건에서 20시간 반응시켰다. LOX-3 결핍 유무 확인은 LOX-3를 가지고 있는 벼는 보라색으로 발색되고 LOX-3가 결핍된 벼는 다우담과 같이 흰색 또는 연한 보라색으로 발색되는 것을 기준으로 하였다(Long et al. 2013). 분자표지 검정은 LOX-3 유전자 *Os03g0700400*에서 개발되어 다우담 대립유전자를 탐지할 수 있는 CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) 분자표지 4100_F, 4500_R를 이용하였다(Shirasawa et al. 2008). Genomic DNA 추출은

BioSprint 96 (Qiagen Co., Düren, Germany)을 이용하였다. 샘플을 TissueLyser II (Qiagen Co., Düren, Germany)로 마쇄한 후 BioSprint 96 DNA Plant Kit (Qiagen Co., Düren, Germany)를 이용하여 DNA를 추출하였다. PCR은 10 ng의 DNA와 AccuPower® PCR PreMix (Bioneer Co., Daejeon, Korea)를 이용하여 My-Genie 96 Thermal block (Bioneer Co., Daejeon, Korea)에서 수행하였다. PCR 반응은 94°C에서 1분간 초기변성 후 94°C 10초, 60°C 30초, 68°C 30초간 35회 반복하고 72°C에서 1분간 반응하였다. 증폭된 PCR 산물은 제한효소 BclI130 I 처리하여 전기영동하였다. SYBR safe DNA gel stain (Invitron)으로 염색된 2% agarose gel을 이용하여 전기영동을 수행하였고, UV transilluminator (MiniBIS Pro, DNR Bio-Imaging Systems Ltd., Jerusalem, Israel)를 활용하여 유전자형을 판정하였다.

내병성 및 입형 관련 특성 조사

벼흰잎마름병 저항성 검정은 저항성 생물검정과 분자표지 검정을 병행하였다. 계통육종단계에서는 K1 (HB1013)에 대한 저항성 반응을 조사하였고, 생산력 검정시험에서는 네 개의 대표 근계에 대한 저항성 반응을 이전에 보고된 방법에 준하여 조사하였다(Park et al. 2015). 벼흰잎마름병 저항성 유전자 *Xa3*를 탐지하는 분자표지 9643.T4를 이용하여 저항성 유전자 도입 여부를 확인하였다(Park et al. 2015). 벼줄무늬잎마름병 저항성 검정은 저항성 유전자 *Stvb-i*를 탐지하는 분자표지 Indel7을 이용하여 저항성 유무를 판단하였다(Kwon et al. 2012). 입형 관련 특성을 조사하기 위해서 종실의 정조 및 현미의 외관 특성을 육안 달관조사하였다. 이와 함께 입형 관련 유전자 *GW2*, *GS3*, *qSW5*를 탐지하는 분자표지 GW2-Hpa I, GS3-Pst I, N1212del을 이용하여 공시 재료의 입형 관련 유전자형을 확인하였다(Park et al. 2018).

수량 관련 형질 조사

생산력 검정시험에 공시된 재료의 출수기를 조사하고 성숙기에 평균이 되는 10개체의 간장, 수장, 수수를 측정하였다. 성숙기에 3주를 예취하여 등숙률 및 수당립수를 조사하였고 100주를 예취하여 정조중을 측정하였다. 수확한 정조 1 kg을 수량조사현미기(LST, Gwangyang, Korea)로 제형하여 정현비율을 측정하고, 100주 정조수량에 정현비율을 곱하여 현미수량을 구한 다음 10a당 수량으로 환산하였다. 천립중은 등숙이 잘 이루어진 선별된 현미 500립에 대한 무게를 3반복으로 측정하여 평균한 값에 2를 곱하여 이용하였다.

쌀 외관 품위 및 식미 특성

2017년 생산력검정시험에 공시된 새누리와 전주624호 시료를 이용하여 쌀 외관 품위 및 식미 특성을 분석하였다. 수확된 현미를 시험용 정미기(VP-32T, Yamamoto Co., Ltd., Yamagata, Japan)를 이용하여 도정 후 RN300 (Kett Co., Ltd., Tokyo, Japan)을 이용하여 백미 외관품위를 조사하였다. 백미의 단백질 및 아밀로스 함량은 Infratec 1241 Grain Analyzer (Foss Tecator, Hoganas, Sweden)를 이용하여 측정하였고, 취반미의 윤기치는 식미검정기인 MA-90B (Toyo Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 식미 관능검사는 전기밥솥(CR-0313V, Cuckoo Electronics Co. Ltd., Yangsan, Korea)에 밥을 취반하여 신동진의 취반미를 기준으로 하여 1차 검정에서 13명, 2차 검정에서 14명의 패널이 밥 모양(색깔 및 윤기), 냄새, 찰기, 질감, 밥맛 및 종합평가 등 6항목을 평가하였다. 평가는 기준밥인 신동진과 비교하여 비슷하면 보통(0), 기준보다 나쁜 쪽으로 3단계(-1, -2, -3), 좋은 쪽으로 3단계(+1, +2, +3)의 수준으로 평가하고 2회 검정의 밥맛 평균값을 식미치로 이용하였다.

유전배경 분석

생산력 검정시험에 공시된 재료의 유전배경 분석을 위해 우리나라 자포니카 벼 품종들의 SNP (Single Nucleotide Polymorphism)를 탐지하도록 개발된 506개 KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR) 마커를 이용하였다(Cheon et al. 2018). KASP 마커 분석은 농업기술실용화재단 종자산업진흥센터(Gimje, Korea) 분자표지분석 서비스를 통해 생산력 검정시험에 공시된 납평, 다우담, 새누리, 전주624호와 1차 육종단계의 반복친인 신동진 등 5품종에 대해서 이루어졌다. 분석된 506개 KSAP 마커 중 중복이 되지 않거나 헤테로 유전자형을 나타내는 마커는 제외하고 유전자형을 비교 분석하였고 유전자지도를 작성하였다. 유전자지도는 KASP 마커의 물리적 위치를 기반으로 MapChart version 2.32 프로그램을 이용하여 작성하였다(Voorrips 2002).

통계분석

통계분석은 SAS 프로그램(Version 9.4, Enterprise Guide 7.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하였다. 생산력 검정 시험 공시재료의 수량 관련 형질에 대한 평균을 기술 통계법으로 구하였고, 평균간 비교는 PROC ANOVA로 분산분석 후 유의성이 있을 경우 5% 유의수준에서 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)로 분석하였다. 품질 관련 형질에 대해 PROC t-test를 이용하여 새누리와 전주624호간 형질 값을 비교하였다.

결과 및 고찰

LOX-3 결핍 우량계통 육성

우리나라 자포니카 밥쌀용 벼 품종에 LOX-3 결핍 대립유전자 *lox-3*를 도입하기 위한 육종사업이 수행되었다(Fig. 1). 1차 육종 단계에서 LOX-3 결핍 수여친으로 태국 열대 자포니카 품종인 다우담을 이용하였고 반복친으로 우리나라 자포니카 벼 품종 신동진을 이용하였다. 다우담은 최초로 보고된 LOX-3가 결핍된 자원으로 LOX-3 보유 품종에 비해서 저장 후 불포화 지방산의

과산화 물질이 적게 발생하고, 35°C 고온 저장 후 고미취와 관련된 hexanal 등 방향성 물질 함량이 LOX-3 보유 품종에 비해 적게 발생함이 밝혀졌다(Suzuki et al. 1993, Suzuki et al. 1996b, Suzuki et al. 1999). 1차 육종단계에서 LOX-3 결핍 벼를 선발하기 위해 발색반응을 이용하였다(Fig. 2A). 발색반응에서 LOX-3가 결핍된 다우담은 흰색을 나타냈고 LOX-3를 보유한 신동진은 보라색 반응을 나타냈다. 신동진과 다우담을 인공교배 후 신동진에 1회 여교배된 BC₁F₁ 식물체의 BC₁F₂ 종자에 대해서 발색반응을 조사하여 흰색 또는 연한 보라색을 나타내는 개체를 선발하여

Fig. 1. Schematic diagram of breeding for near-isogenic lines without LOX-3 in the *japonica* genetic background.

BC₁F₂ 식물체를 재식하였다. 조기에 고정된 계통을 확보하기 위해 재식된 BC₁F₂ 식물체의 이삭을 이용하여 약배양을 수행하였다. 육성된 약배양 계통 중 흰색의 발색반응을 나타내 LOX-3가 결핍된 것으로 판단되는 HR27873-AC12 계통을 선발하였다. 선발된 HR27873-AC12 계통은 다우담과 같이 중대립 입형 특성의 찰벼로 키가 크고 내병성이 약한 등 농업형질이 열악한 특성을 나타내 밥쌀용 품종으로 실용적 활용가치가 낮았다. 2차 육종단계는 HR2787-AC12를 LOX-3 결핍 수여친으로 이용하고 반복친으로 새누리를 이용하였다. 새누리에 1회 여교배된 BC₁F₁ 식물체를 자식하여 BC₁F₂ 집단을 전개하였고 세대축진 후 BC₁F₃ 계통을 전개하였다. 1차 육종단계에서 사용된 발색반응 검정은 LOX-3 결핍 자원은 흰색 또는 연한 보라색, LOX-3 보유 자원은 보라색으로 발색되는 것을 기준으로 선발하는데, 선발 과정 중 연한 보라색과 보라색간의 구분이 모호한 경우가 발생하여 선발의 정확도가 떨어졌다. 이러한 문제를 해결하기 위해 2차 육종단계부터는 분자표지를 이용하여 LOX-3 결핍 계통을 선발하였다 (Fig. 2B). 선발에 이용된 분자표지 4100_F, 4500_R은 다우담과 니폰바레 F₂ 집단을 이용한 연관분석을 통해 3번 염색체에서 탐색된 3개의 LOX-3 후보 유전자 중 LOX-3 단백질과 동일한 아미노산 조성을 부호화하는 유전자 *Os03g0700400* 상에서 개발되었다(Shirasawa et al. 2008). DNA 염기서열 분석을 통해 다우담 *Os03g0700400* 대립유전자의 7번 엑손에서 하나의 염기서열이 G-A로 변경되어 nonsense mutation이 발생하게 되고

LOX-3의 기능을 상실함으로써 *Os03g0700400*이 LOX-3 유전자임이 확인되었고, 서열정보를 이용하여 CAPS 마커 형태로 개발되었다(Shirasawa et al. 2008). Dot-blot-SNP 기법을 통해 분자표지의 정확도가 검증되었고, 분자표지를 이용한 여교배를 통해 고시히카리 유전배경에 LOX-3가 결핍된 계통 Hokuriku 244를 개발하는 등 실용적으로 활용되고 있다(Shirasawa et al. 2008, Suzuki et al. 2015). 2차 육종단계 BC₁F₃세대부터 *lox-3*에 대한 분자표지선발과 농업형질 조사를 통하여 BC₁F₆세대 HR28896-31-3-1-1 (이하 HR28896)계통을 선발하였다. 선발된 계통은 LOX-3가 결핍된 중만생으로 중소립 입형의 메벼로 밥쌀용으로 활용이 가능하나 벼흰잎마름병과 줄무늬잎마름병에 이병성을 나타냈으며 실용적 재배품종으로서 농업형질 특성이 다소 부족하였다(data not shown). 이를 개선하기 위해 HR28896 계통에 새누리를 다시 단교잡하여 3차 육종을 수행하였다. 내병성과 농업형질 특성을 개선하기 위해 3차 육종단계에서는 *lox-3*에 대한 분자표지 선발과 함께 벼흰잎마름병 생물검정 및 저항성 유전자 *Xa3*에 대한 분자표지 선발, 줄무늬잎마름병 저항성 유전자 *Stvb-i*에 대한 분자표지 선발, 새누리를 기준으로한 농업형질에 대한 강한 선발압을 적용하였다. 최종적으로 LOX-3가 결핍되어 있고 새누리와 농업형질 특성이 유사한 우량계통 HR30960-186-2-1-2-1 (BC₂F₇) 계통을 선발하여 전주624호라 계통명을 명명하였고 생산력 검정시험을 수행하여 농업형질 특성에 대해서 정밀 조사하였다.

Fig. 2. Screening method for LOX-3 null rice. Color test (A) and marker-assisted selection (B).

전주624호 농업형질 특성

생산력 검정시험에 공시된 재료에 대한 분자표지 검정 결과 남평과 새누리는 LOX-3를 보유한 *LOX-3* 대립유전자형을 나타냈으며 다우담과 전주624호는 LOX-3가 결핍된 *lox-3* 대립유전자형을 나타내 전주624호는 다우담과 같이 LOX-3가 결핍된 것으로 확인되었다(Fig. 3A). 전주624호는 출수일수가 110일로 새누리와 같은 중만생종이며 간장이 75 cm로 다우담(111 cm)에 비해 크게 줄어들었으며 새누리(80 cm)에 비해서도 작은 단간

Fig. 3. PCR analysis to confirm the allele types of Jeonju624 using gene specific DNA markers. *LOX-3* (A), *Xa3* (B), *Stvb-i* (C), *GW2* (D), *GS3* (E), *qSW5* (F). M: DNA size marker, 1: Nampyeong, 2: Daw Dam, 3: Saenuri, 4: Jeonju624.

내도복 계통이다(Table 1, Fig. 4A). 전주624호의 수장은 22 cm로 새누리(24 cm)에 비해 다소 짧았으며 수수와 수당립수는 12개와 107개로 새누리(12개, 106개)와 비슷하였다. 전주624호의 현미 천립중은 21.6 g로 남평(20.8 g)과 비슷하였고 새누리(24.0 g)와 다우담(27.7 g)에 비해 가벼웠으며(Table 1), 최초 LOX-3 결핍 수여친인 다우담은 찰벼인데 반해 전주624호는 메벼 배유 특성을 나타냈다(Fig. 4B). 전주624호의 등숙률은 88.5%로 다우담(62.4%)에 비해 크게 높았으며 새누리(84.8%)에 비해서도 높았으나 통계적 유의성은 없었다. 전주624호의 정현비율은 81.3%로 남평(80.6%)보다 높고 새누리(81.8%)와 비슷하였다. 전주624호의 현미수량은 504 kg/10a로 다우담(347 kg/10a)보다 많고 남평(513 kg/10a)과 비슷하였으나 새누리(549 kg/10a)보다는 적었다. 전주624호의 수량구성요소 중 수수, 수당립수, 등숙률, 정현비율은 새누리와 비슷한 반면 현미 천립중이 유의하게 작은 것으로 볼 때 전주624호의 수량성 감소 원인은

Fig. 4. Agronomic characteristics of Jeonju624. Plant architecture (A), grain shape (B), and resistance reaction to bacterial blight (C). NP: Nampyeong, DWD: Daw Dam, SNR: Saenuri, JJ624: Jeonju624.

Table 1. Yield-related traits of Jeonju624 at yield trial.

Variety & line	HD ² (DAS)	CL (cm)	PL (cm)	PN	NS	TGW (g)	RRG (%)	BBR (%)	BRY (kg/10a)
Nampyeong	107b ^y	74b	21c	12a	107b	20.8c	88.0a	80.6b	513b
Daw Dam	105c	111a	26a	8b	125a	27.7a	62.4b	81.5a	347c
Saenuri	110a	80b	24b	12a	106b	24.0b	84.8a	81.8a	549a
Jeonju624	110a	75b	22c	12a	107b	21.6c	88.5a	81.3a	504b

²HD: heading date, DAS: days after seeding, CL: culm length, PL: panicle length, PN: number of panicles per hill, NS: number of spikelets per panicle, TGW: 1,000-grain weight of brown rice, RRG: ratio of ripened grain, BBR: brown/rough rice ratio, BRY: brown rice yield.

^yMeans with same letters in a column are not significant at $p < 0.05$ (ANOVA followed by DMRT)

현미 천립중의 감소에 의한 것으로 판단된다. 전주624호는 새누리와 같이 벼흰잎마름병과 줄무늬잎마름병 저항성 유전자 *Xa3*와 *Stvb-i*를 보유하고 있어(Fig. 3B, C), 벼흰잎마름병 K1, K2, K3 군계에 대해서 저항성 반응을 나타냈으며(Fig. 4C) 줄무늬잎마름병 생물검정에서 저항성 반응을 나타냈다. 1, 2, 3차 육종단계에서 LOX-3 결핍 수여친으로 활용된 다우담, HR27873-AC12, HR28896 계통이 벼흰잎마름병 및 줄무늬잎마름병에 이병성인 반면 전주624호는 내병성이 개선된 우량계통이다.

전주624호 품질 특성

전주624호와 새누리의 품질 특성을 비교하였다(Table 2). 백미 외관품질에서 전주624호는 정상립이 97.2%로 새누리(92.8%)에 비해 높은 수치를 나타냈으며, 분상질립, 손상립, 쉼미, 착색립 모두 새누리보다 낮아 외관품위가 양호하였다. 중국의 163개 벼 시험지에서 300개 이상의 육종계통 및 자원을 대상으로 2년간 분석한 결과 천립중과 정상립 비율은 부의 상관관계를 나타내며 분상질립 비율과는 정의 상관관계를 나타낸다고 하여 일반적으로 천립중이 가벼운 자원이 무거운 자원에 비해 외관품위가 양호하다(Xu et al. 2015). 전주624호는 새누리에 비해 천립중이 감소하였는데 줄어든 천립중에 의해 외관품위가 향상된 것으로 생각된다. 전주624호는 새누리에 비해 단백질 함량이 다소 높았고 아밀로스 함량과 밥의 윤기치는 다소 낮았으며, 식미 관능검정 결과 -0.14로 새누리(-0.07)와 비슷하였다. 종합적으로 LOX-3가 결핍된 전주624호는 새누리보다 외관품위는 좋았고 식미 관련

특성은 다소 낮거나 비슷하여 밥쌀용으로 활용이 가능할 것으로 판단되며, *lox-3* 유전자 도입이 품질에 악영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

전주624호 유전배경 분석

전주624호는 새누리 유전배경에 LOX-3 결핍 대립유전자 *lox-3*를 도입한 근동질 계통을 개발하기 위해 육성되었다. 근동질계통은 여교배방법을 이용하여 목표 형질 이외의 다른 유전적 배경은 반복친으로 회복된 계통을 말한다(Stam & Zeven 1981). 전주624호는 새누리에 2회 여교배되었으며 선발과정 중 표현형에 대한 강선발압을 적용하여 육성된 계통으로 반복친인 새누리로 유전적 회복정도를 파악하고자 KASP 마커를 이용하여 유전배경 분석을 수행하였다. 506개 KASP 마커 중 정밀도가 높은 406개 KASP 마커를 대상으로 새누리, 전주624호, 남평, 다우담, 신동진의 유전자형을 분석하였다(Table 3, Fig. 5). 새누리를 기준으로 다우담 58.1%, 신동진 62.1%, 남평 67.7%, 전주624호 95.8% 순으로 동형접합성을 나타냈다. 전주624호는 새누리와 1, 2, 6, 8, 9, 10, 11번 염색체의 유전자형은 동일하였으며, 3, 4, 12, 7, 5번 염색체에서 각각 1, 2, 2, 3, 9개 등 총 17개 마커의 유전자형이 달랐다(Table 3). 3번 염색체상의 이형접합성을 나타낸 KASP 마커 KJ03_067의 물리적 위치는 28,167,520 bp로 LOX-3 유전자 *Os03g0700400*의 물리적 위치 28,090,066-28,094,467와 약 73 kb 차이로 근접해 있어 위 부위의 이형접합성은 다우담에서 *lox-3*를 이전하는 과정 중에 도입된 것으로 판단된다. 전주624호

Table 2. Quality-related traits of milled rice of Saenuri and Jeonju624.

Variety & line	Head rice (%)	Chalky rice (%)	Damaged rice (%)	Broken rice (%)	Colored rice (%)	Protein content (%)	Amylose content (%)	Glossiness (TOYO value)	Palatability
Saenuri	92.8	1.1	0.7	5.2	0.2	5.7	20.5	81.4	-0.07
Jeonju624	97.2 ^{**z}	0.7 ^{ns}	0.6 ^{ns}	1.6 ^{**}	0.0 ^{ns}	6.3 [*]	19.6 ^{ns}	78.9 [*]	-0.14

^zns, *, and ** mean no significant, significant at $p < 0.05$, and 0.01 by *t*-test, respectively

Table 3. Number of homozygous KASP markers between Saenuri and other varieties.

Variety & line	Chromosome												Total (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Saenuri	45	34	22	35	35	31	34	39	37	22	40	32	406 (100) ^z
Jeonju624	45	34	21	33	26	31	31	39	37	22	40	30	389 (95.8)
Nampyeong	42	25	12	24	28	15	14	22	29	12	31	21	275 (67.7)
Sindongjin	28	20	10	14	23	22	27	18	20	15	33	22	252 (62.1)
Daw Dam	20	19	12	25	19	14	25	19	20	18	26	19	236 (58.1)

^zThe numbers in parentheses refer to the rate of homozygous KASP markers between Saenuri and other varieties.

Fig. 5. Graphical genotype of Jeonju624 based on 406 KASP markers. The horizontal black lines on the left and right of each chromosome indicate to the physical position and marker. White boxes indicate regions homozygous for Saenuri; red boxes indicate regions homozygous for Daw dam; pink boxes indicated regions homozygous for Sindongjin. Black star indicates the physical position of *lipoxxygenase-3* (*Os03g0700400*, Chr3: 28,090,066 ... 28,094,467).

와 새누리 간에 이형접합성을 나타낸 KASP 마커 17개 중 다우담의 유전자형을 나타낸 마커는 3번 염색체 KJ03_067, 5번 염색체 KJ05_033, KJ05_039, KJ05_057, KJ05_059, 7번 염색체 KJ07_061, KJ07_063 등 7개였고 나머지 10개 마커는 신동진의 유전자형을 나타냈다(Fig. 5). 유전배경 분석에 이용된 분자표지는 우리나라 자포니카 13개 품종을 대상으로 유전체 서열 분석 후 유전적 다형성 정보량(polymorphic information contents; PIC)이 높은 SNP를 탐색하여 KASP 형태로 변환된 마커이다 (Cheon et al. 2018). KASP 마커는 SNP에 대한 PCR기반 마커의 한 종류로 형광프라이머를 이용하여 전기영동없이 유전자증폭을 확인할 수 있으며, 고속대용량 유전자형 분석시스템을 활용할 경우 단기간내에 효율적으로 유전자형을 분석할 수 있다(Semagn et al. 2014, Steele et al. 2018). 분석에 이용된 KASP 마커는 빠른 시간에 협소한 유전적 배경을 가지고 있는 우리나라 자포니카 벼 품종의 다형성 탐색에 효과적이어서 유전자 지도 작성, 양적형질유전자좌 탐색, 분자표지 선발 육종 등에 활용되고 있다 (Ji et al. 2018, Kang et al. 2019). 우리나라 자포니카 벼 품종에 대한 KASP 마커의 높은 다형성 정도를 감안했을 때 전주624호와 반복친인 새누리간 95.8%의 동형접합성은 높은 수치이며, 전주624호는 새누리에 *lox-3*가 도입된 근동질계통으로 판단된다.

전주624호의 활용

새누리 품종은 2007년에 육성되어 2013년부터 2017년까지 5년간 우리나라 재배면적 1위를 할 정도로 농업형질 특성이 우수한 자포니카 밥쌀용 품종이다(Kim et al. 2008). 전주624호는 새누리 유전배경에 LOX-3가 결핍된 근동질계통이다. 근동질계통은 수여친에 존재하는 열악 형질 수반 문제(linkage drag)를 극복할 수 있으며, 목표 유전자 이외의 유전적 간섭 효과가 대부분 제거되기 때문에 정확한 유전자의 효과를 구명하는데 유용한 재료이다(Jena et al. 2017, Neeraja et al. 2007). LOX-3 결핍 최초 수여친인 다우담은 열대 자포니카 중대립 향찰 품종으로 간장이 크고 도복에 취약하며 내병성이 약하고 수량성이 낮은 등 농업형질 특성이 열악하였다. 1차, 2차 육종단계에서 육성된 LOX-3 결핍 계통인 HR27873-AC12와 HR28896도 재배품종으로서 활용하기에는 초형, 내병성 및 수량성 등에서 열악한 형질을 수반하는 문제가 나타났다. 이에 반해 3차 육종단계에서 최종적으로 육성된 전주624호의 경우 여교배와 농업형질에 대한 강한 선발압이 적용되어 새누리과 같이 단간 내도복 직립 초형, 벼흰잎마름병과 줄무늬잎마름병에 대한 내병성, 밥쌀용 품질 특성을 갖추고 있어 실용적으로 활용될 수 있는 수준으로 농업형질 특성을 개선하였다(Tables 1, 2, Fig. 4). 아직까지 우리나라에서

LOX-3가 결핍된 벼 품종은 개발되지 못하였다. 전주624호는 지역적응성 검정시험 통해 품종화를 위한 절차를 거치고 있으며, LOX-3 결핍 대립유전자 *lox-3* 도입을 위한 교배모본으로 육종사업에 활용되고 있다.

전주624호를 이용하여 국내 자포니카 벼 품종에 *lox-3* 대립유전자 도입에 따른 유전자 효과를 구명하였다. 전주624호, 새누리, 다우담, 남평을 대상으로 고온 저장 후 종자 수명, 지방산가, LOX 효소 활성, 고미취 관련 물질인 hexanal 함량을 분석한 결과 전주624호는 새누리에 비해 고온 저장 후 종자 수명 향상과 고미취 저감효과가 확인되었다(Lee et al. 2019).

전주624호는 입형 관련 유전자에 대해서 새누리와 같은 *GW2GS3qsw5* 대립유전자형을 나타냈으나(Fig. 3D, E, F), 새누리에 비해 현미 천립중이 유의하게 감소하였다(Table 1). 우리나라 자포니카 벼 품종들은 대부분 중단립종 단위형의 매우 협소한 입형 특성을 가지고 있으며, 입형 관련 유전자 *GW2*, *GS3*, *qSW5*에 대해서 밥쌀용 품종들은 대부분 *GW2GS3qsw5* 유전자형을 가지고 있을 것이라 하였다(Park et al. 2017). 입형 관련 형질은 수량과 품질에 직·간접적으로 관련된 육종의 중요 목표형질로 여러 유전자가 관여하여 조절되는 양적형질이며 지금까지 약 400여개가 넘는 많은 양적형질유전자와 및 유전자가 12개 염색체 전반에 걸쳐서 탐색되었다(Huang et al. 2013). 전주624호와 새누리 간에 이형접합성이 가장 많이 나타난 5번 염색체는 입형 관련 유전자 *GSI1* (0.83-0.88 Mb), *GS5* (3.41-3.47 Mb), *qSW5/GW5/GSE5* (5.36-5.38 Mb), *AGW1* (15.02-15.06 Mb), *qTGW5.3* (15.15-16.28 Mb)이 탐색되었으며, 이형접합성이 집중된 17.3-24.8 Mb 근처에서도 *SMOS1* (18.80-18.84 Mb)가 존재하는 등 5번 염색체에 입형 관련 QTL 및 유전자가 많이 보고되고 있다(Aya et al. 2014, Duan et al. 2017, Guo et al. 2018, Li et al. 2015, Shomura et al. 2008, Weng et al. 2008, Yaobin et al. 2018). 근동질계통 전주624호와 새누리 간 분석을 통해 입형 관련 유전자 탐색 및 육종적 활용이 가능할 것으로 생각되며, 624호의 천립중 감소 원인 구명과 천립중 감소가 수량 및 품질 등 농업형질에 미치는 영향을 분석하고자 추가 연구를 수행할 계획이다.

적 요

벼의 Lipoxigenase-3 (LOX-3) 결핍은 벼의 저장 후 고미취 발생 저감에 효과가 있는 것으로 보고되었다. 우리나라 밥쌀용 품종의 저장 후 품질 향상을 위해 대면적 재배품종인 새누리 유전배경에 LOX-3가 결핍된 자포니카 근동질계통 개발을 위한

육종사업이 수행되었다. 1차 육종단계에서는 다우담을 LOX-3 결핍 수여친으로 활용하여 신동진과 1회 여교배 후 발색반응을 통해 LOX-3 결핍 계통을 선발하였고 약배양을 통해 조기에 고정계통 HR27873-AC12를 육성하였다. 2차 육종단계에서는 HR27873-AC12를 LOX-3 수여친으로 하고 새누리를 반복친으로 하여 1회 여교배 후 분자표지 선발과 농업형질에 대한 표현형 선발을 통해 HR28896-31-3-1-1 (이하 HR28896)를 선발하였다. 1, 2차 단계에서 육성된 HR27873-AC12와 HR28896 계통은 LOX-3가 결핍되어 있으나 재배품종으로 활용하기에는 열악형질이 수반되어 있었다. 3차 육종단계에서 HR28896계통과 새누리를 다시 교배하여 분자표지 선발과 표현형에 대한 강한 선발압을 적용하여 최종적으로 BC₂F₇세대 HR30960-186-2-1-2-1를 선발하여 전주624호로 계통명을 부여하였다. 분자표지 검정 결과 전주624호는 LOX-3가 결핍된 것으로 확인되었다. 전주624호는 중만생종으로 단간 내도복 직립초형에 벼흰잎마름병 및 줄무늬잎마름병에 저항성 계통으로 새누리와 농업형질 특성이 비슷하였다. 전주624호의 수량구성요소는 새누리와 대부분 같았으나 현미 천립중이 유의하게 감소하였고 수량성은 다소 낮았다. 전주624호의 외관품위는 새누리에 비해 좋았고 식미 특성은 비슷하였다. 406개 KASP 마커를 이용한 유전배경 분석 결과 전주624호는 새누리의 유전배경을 95.8% 회복하여 근동질계통으로 판단되었다. 전주624호는 새누리 품종 배경의 LOX-3가 결핍된 자포니카 근동질계통으로 최초 수여친인 다우담의 열악형질 수반문제를 극복하였으며 새누리와 비슷한 농업형질 특성과 유전배경을 가지고 있어 저장 후 품질 향상을 위한 실용적인 재배품종, *lox-3* 도입을 위한 교배모본 및 유전자 효과 구명을 위한 유전재료로 활용될 것으로 기대된다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ01428002)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

REFERENCES

1. Aya K, Hobo T, Sato-Izawa K, Ueguchi-Tanaka M, Kitano H, Matsuoka M. 2014. A novel AP2-type transcription factor, SMALL ORGAN SIZE1, controls organ size downstream of an auxin signaling pathway. *Plant Cell Physiol* 55: 897-912.
2. Cheon KS, Baek JH, Cho YI, Jeong YM, Lee YY, Oh J,

- Won YJ, Kang DY, Oh HJ, Kim SL, Choi IC, Yoon IS, Kim KH, Han JH, Ji HS. 2018. Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery and kompetitive allele-specific PCR (KASP) marker development with Korean *Japonica* rice varieties. *Plant Breed Biotech* 6: 391-403.
3. Duan P, Xu J, Zeng D, Zhang B, Geng M, Zhang G, Huang K, Huang L, Xu R, Ge S. 2017. Natural variation in the promoter of *GSE5* contributes to grain size diversity in rice. *Mol Plant* 10: 685-694.
4. Guo T, Chen K, Dong NQ, Shi CL, Ye WW, Gao JP, Shan JX, Lin HX. 2018. *Grain Size And Number1* negatively regulates the OsMKKK10-OsMKK4-OsMPK6 cascade to coordinate the trade-off between grain number per panicle and grain size in rice. *The Plant Cell* 30: 871-888.
5. Hammond EG, Duvick DN, Fehr WR, Hildebrand DF, Lacefield EC, Pfeiffer TW. 1992. Rapid screening techniques for lipoxygenases in soybean seeds. *Crop Sci* 32: 820-821.
6. Huang R, Jiang L, Zheng J, Wang T, Wang H, Huang Y, Hong Z. 2013. Genetic bases of rice grain shape: So many genes, so little known. *Trends Plant Sci* 18: 218-226.
7. Ida S, Masaki Y, Morita Y. 1983. The isolation of multiple forms and product specificity of rice lipoxygenase. *Agri Biol Chem* 47: 637-641.
8. Jena KK, Hechanova SL, Verdeprado H, Prahalada G, Kim S-R. 2017. Development of 25 near-isogenic lines (NILs) with ten BPH resistance genes in rice (*Oryza sativa* L.): Production, resistance spectrum, and molecular analysis. *Theor Appl Genet* 130: 2345-2360.
9. Ji HS, Kim TH, Lee GS, Kang HJ, Lee SB, Suh C, Kim SL, Choi IC. 2018. Mapping of a major quantitative trait locus for bakanae disease resistance in rice by genome sequencing. *Mol Genet Genomics* 293: 579-586.
10. Kang DY, Cheon KS, Oh HJ, Kim SL, Kim NH, Lee EG, Choi IC, Baek JH, Kim KH, Chung NJ, Ji HS. 2019. Rice genome resequencing reveals a major quantitative trait locus for resistance to bakanae disease caused by *fusarium fujikuroi*. *Int J Mol Sci* 20: 2598.
11. Kim JJ, Baek MK, Kim KS, Yoon MR, Kim KY, Lee JH. 2014. Changes of physicochemical properties and fatty acid compositions of rough rice stored at different storage temperatures and periods. *Korean J Crop Sci* 59: 413-426.
12. Kim KY, Noh GI, Park HS, Shin SH, Park HK, Kim BK, Kim CK. 2008. Difference of germination rate, fat acidity, and lipoxygenase activity of rice grain according to storage temperature and period. *J Korean Soc Intl Agric* 20: 79-84.
13. Kim KY, Shin MS, Ko JK, Ha KY, Kim BK, Nam JK, Ko JC, Baek MK, Kim YD, Kang HJ, Noh GI, Kim WJ, Park HS, Choung JI, Baek SH, Shin WC, Mo YJ, Kim KH, Kim CK. 2008. A new mid-late maturing, lodging tolerance and good-quality rice variety "Saenuri". *Korean J Breed Sci* 40: 503-506.
14. Kwak JE, Lee JS, Yoon MR, Kim IH, Lee JH, Kim MJ, Lee CK, Kim BK, Kim WH. 2015. Changes of seed germination rate and lipid components if different brown rices during ageing. *Korean J Food Nutr* 28: 933-940.
15. Kwon TM, Lee JH, Park SK, Hwang UH, Cho JH, Kwak DY, Youn YN, Yeo US, Song YC, Nam JS. 2012. Fine mapping and identification of candidate rice genes associated with *qSTV11 SG*, a major QTL for rice stripe disease resistance. *Theor Appl Genet* 125: 1033-1046.
16. Lee KM, Park HS, Baek MK, Kim CS, Park SG, Lee CM, Suh JP, Cho YC. 2019. Characterization of seed longevity and stale flavor of lipoxygenase-3 null rice line under high temperature storage. *J Korean Soc Int Agric* 31: 53-59.
17. Li T, Jiang J, Zhang S, Shu H, Wang Y, Lai J, Du J, Yang C. 2015. *OsAGSW1*, an ABC1-like kinase gene, is involved in the regulation of grain size and weight in rice. *J Exp Bot* 66: 5691-5701.
18. Long Q, Zhang W, Wang P, Shen W, Zhou T, Liu N, Wang R, Jiang L, Huang J, Wang Y. 2013. Molecular genetic characterization of rice seed lipoxygenase 3 and assessment of its effects on seed longevity. *J Plant Bio* 56: 232-242.
19. Neeraja CN, Maghirang-Rodriguez R, Pamplona A, Heuer S, Collard BC, Septiningsih EM, Vergara G, Sanchez D, Xu K, Ismail AM. 2007. A marker-assisted backcross approach for developing submergence-tolerant rice cultivars. *Theor Appl Genet* 115: 767-776.
20. Park HS, Nam JK, Kim KY, Kim WJ, Jeong JU, Baek MK, Kim JJ, Cho YC, Lee JH, Kim BK, Ahn SN. 2015. Development of early maturing rice lines with genes conferring resistance to bacterial blight and rice stripe virus for enhancing the adaptability in plain area. *Korean J Breed Sci* 47: 118-127.
21. Park HS, Baek MK, Nam JK, Shin WC, Jeong JM, Lee GM, Park SG, Kim CS, Cho YC, Kim BK. 2017. Development and characterization of breeding materials with diverse grain size and shape in *japonica* rice. *Korean J Breed Sci* 49: 369-389.
22. Park HS, Baek MK, Nam JK, Shin WC, Lee GM, Park SG, Lee CM, Kim CS, Cho YC. 2018. Development and

- characterization of *japonica* rice line with long and spindle-shaped grain. Korean J Breed Sci 50: 116-130.
23. Semagn M, Babu R, Hearne S, Olsen M. 2014. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): Overview of the technology and its application in crop improvement. Mol Breed 33: 1-14.
24. Shen W, Zhou T, Wang Y, Yu W, Zheng T, Zhai H, Wan J. 2002. One simple and rapid spectrophotometric method for screening lipoxygenase-3-null in rice embryos. Rice Genet Newslett 19: 52-53.
25. Shirasawa K, Takeuchi Y, Ebitani T, Suzuki Y. 2008. Identification of gene for rice (*Oryza sativa*) seed lipoxygenase -3 involved in the generation of stale flavor and development of SNP markers for lipoxygenase-3 deficiency. Korean J Breed Sci 58: 169-176.
26. Shomura A, Izawa T, Ebana K, Ebitani T, Kanegae H, Konishi S, Yano M. 2008. Deletion in a gene associated with grain size increased yields during rice domestication. Nature Genet 40: 1023-1028.
27. Stam P, Zeven AC. 1981. The theoretical proportion of the donor genome in near-isogenic lines of self-fertilizers bred by backcrossing. Euphytica 30: 227-238.
28. Steele KA, Quinton-Tulloch MJ, Amgai RB, Dhakai R, Khatiwada SP, Vyas D, Heine M, Witcombe JR. 2018. Accelerating public sector rice breeding with high-density KASP markers derived from whole genome sequencing of *indica* rice. Mol Breed 38: 38.
29. Suzuki T, Kim SJ, Mukasa Y, Morishita T, Noda T, Takigawa S, Hashimoto N, Yamauchi H, Matsuura-Endo C. 2010. Effects of lipase, lipoxygenase, peroxidase and free fatty acids on volatile compound found in boiled buckwheat noodles. J Sci Food Agric 90: 1232-1237.
30. Suzuki Y, Nagamine T, Kobayashi A, Ohtsubo K. 1993. Detection of a new rice variety lacking lipoxygenase-3 by monoclonal antibodies. Japan J Breed 43: 405-409.
31. Suzuki Y. 1995. Screening and mode of inheritance of a rice variety lacking lipoxygenase-3. Gamma Field Symp 33: 51-62.
32. Suzuki Y, Nagamine T, Okuno K. 1996a. Genetic analysis of a null-allele for lipoxygenase-3 in rice seeds. Euphytica 91: 99-101.
33. Suzuki Y, Yasui T, Matsukura U, Terao J. 1996b. Oxidative stability of bran lipids from rice variety [*Oryza sativa* (L.)] lacking lipoxygenase-3 in seeds. J Agric Food Chem 44: 3479-3483.
34. Suzuki Y, Ise K, Li C, Honda I, Iwai Y, Matsukura U. 1999. Volatile components in stored rice [*Oryza sativa* (L.)] of varieties with and without lipoxygenase-3 in seeds. J Agric Food Chem 47: 1119-1124.
35. Suzuki Y, Miura K, Shigemune A, Sasahara H, Ohta H, Uehara Y, Ishikawa T, Hamada S, Shirasawa K. 2015. Marker-assisted breeding of a LOX-3-null rice line with improved storability and resistance to preharvest sprouting. Theor Appl Genet 128: 1421-1430.
36. Voorrips RE. 2002. MapCart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. J Hered 93: 77-78.
37. Weng J, Gu S, Wan X, Gao H, Guo T, Su N, Lei C, Zhang X, Cheng Z, Guo X. 2008. Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight. Cell Res 18: 1199-1209.
38. Xu Q, Chen W, Xu Z. 2015. Relationship between grain yield and quality in rice germplasms grown across different growing area. Korean J Breed Sci 65: 226-232.
39. Yamamoto A, Fujii Y, Yasumoto K, Mitsuda H. 1980. Product specificity of rice germ lipoxygenase. Lipids 15: 1-5.
40. Yaobin Q, Peng C, Yichen C, Yue F, Derun H, Tingxu H, Xianjun S, Jiezheng Y. 2018. QTL-Seq identified a major QTL for grain length and weight in rice using near isogenic F2 population. Rice Sci 25: 121-131.
41. Zhou Z, Robards K, Helliwell S, Blanchard C. 2002. Ageing of stored rice: changes in chemical and physical attributes. J Cereal Sci 35: 65-78.