

콩 톱다리 개미허리노린재 저항성 유전양식 구명 및
내충성 콩 계통 개발

Identification of resistance inheritance mode to *Riptortus clavatus* Thunberg and development of resistant soybean lines to *R. clavatus* Thunberg

콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전분석 및 내충성 콩 계통
육성

Analysis of resistance inheritance mode to *Riptortus clavatus* Thunberg and development of resistant soybean lines to *R. clavatus*

콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법 확립 및 내충성 평가
Screening for resistance of soybean cultivars to *Riptortus clavatus* Thunberg and evaluation of insect resistance

연구 기관
서울대학교

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전양식 구명 및 내충성 콩 계통 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2007 년 5 월 일

주관연구기관명 : 서 울 대

총괄연구책임자 : 이 석 하

세부연구책임자 : 이 준 호

연 구 원 : 김 문 영

연 구 원 : 전 태 환

연 구 원 : 김 길 현

연 구 원 : 이 원 신

연 구 원 : 류 위 선

연 구 원 : 이 성 우

연 구 원 : 김 경 도

연 구 원 : 김 현 성

연 구 원 : 김 세 진

연 구 원 : 이 수 연

요 약 문

I. 제 목

콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전양식 구명 및 내충성 콩 계통 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 필요성

○ 콩에 가해하는 노린재류는 톱다리개미허리노린재, 썩덩나무노린재, 알락수염노린재, 남쪽풀색노린재, 가로줄노린재 등 20여 종이 알려져 있는데 그 중 톱다리개미허리노린재가 가장 큰 피해를 주는 것으로 알려져 있다.

○ 톱다리개미허리노린재(Riptortus clavatus Thunberg)는 노린재목, 호리허리노린재과에 속하는 비교적 크기가 큰 흡즙성 해충으로 우리나라에서는 1980년대 말 여름철의 이상고온으로 발생이 증가하기 시작하여 지금은 콩의 주요 해충으로 알려져 있고 그 피해정도 및 피해면적이 매년 증가하고 있는 실정이다..

○ 톱다리개미허리노린재는 콩의 꼬투리를 가해하는데 흔적은 분명히 보이지 않으나 시일이 경과하면 꼬투리의 빨아먹은 곳이 회황색으로 변하며 꼬투리가 떨어지거나 꼬투리는 달려있어도 알이 생기지 않는 경우, 또 알은 생기지만 비정상립이 생기는 경우 등 세 종류로 구분된다. 피해를 받은 콩은 잎이나 줄기에서 양분의 전류가 종실로 이루어지지 않아서 잎과 줄기에 탄소동화 산물이 남아 있어서 노화되지 않고 수확기까지 푸르고 무성한 채로 있으며 줄기의 마디에 작은 잎이 나오는 경우도 있다.

○ 톱다리개미허리노린재는 7월 하순(꼬투리신장초기)부터 성숙기까지 피해를 주는데 이동성이 강해서 약제를 뿌릴 때는 다른 곳으로 날아가 있다가 약효가 떨어지면 다시 이동해 오기 때문에 약제 방제효과가 떨어진다. 지금까지 콩의 노린재류에 대한 방제효과가 뚜렷한 농약은 없지만 스미치온유제, 파프유제, 알파스린, 델타린, 그로메유제, 메프유제 등이 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

○ 톱다리개미허리노린재는 이동성이 강하기 때문에 약제 방제를 꼬투리 신장 초기 혹은 종실 비대기의 1회 방제에 의해서는 그 효과를 기대하기 어렵고 꽃이 핀 후 17일부터

37일 사이의 20일 동안 2회 정도 방제해주어야 약간의 효과가 있다. 발생이 심할 때는 꼬투리신장기부터 종실비대중기 사이에 7일 간격으로 3~4회 살포해야 한다. 약제 3회 처리 시에는 콩 수량이 10a당 258kg인 것이 무처리시엔 109kg으로 격감하는 것으로 보아 콩의 수량이 톱다리개미허리노린재에 의해 크게 감소하는 것을 확인하였다 (http://www.hsgatc.go.kr/tech_2-08.html).

○ 국내 콩 재배시 병충해 방제를 위한 농약으로 콩나방, 굽벥이, 뿌리혹선충 등 해충방제용, 종자소독용, 제초용 농약 등이 일부 사용하고 있지만 톱다리개미허리노린재 방제를 위한 농약에 대해서는 개발 및 보급이 상대적으로 미흡하다. 현재 국내에서 몇 가지 농약들이 톱다리개미허리노린재에 방제효과가 있는 것으로 알려져 있기는 하나 그 효과가 미미하여 실용적이지 못하다.

○ 톱다리개미허리노린재는 이동성이 신속하고 기주 식물체 범위가 넓어서 1회 약제로는 방제효과가 적다. 따라서 톱다리개미허리노린재 해충에 대한 저항성이 높은 품종을 개발하여 재배하는 것이 경제적으로 피해를 최소화하는 방안으로 생각된다.

2. 연구개발의 목적

콩의 톱다리개미허리노린재 복합저항성 및 감수성인 콩 계통들을 동시에 선발하여 두 계통간 교배를 통해 생성된 후기 분리세대에서 저항성 유전자의 유전양식을 구명하고, 내충성 콩 계통 선발의 효율성을 높이기 위한 분자표지 (molecular marker)를 개발하여 우수한 콩 장려품종에 이들 유전자를 도입, 집적함으로써 콩 톱다리개미허리노린재에 대한 내충성 콩 계통을 육성하고자 한다. 또한, 우리나라에서 이용하고 있는 콩 품종, 내충성 유전자를 가지고 있는 유전자원, 야생종 콩 계통 등을 수집, 조사하여 내충성 유전자원을 평가한다. 한편, 지금까지 콩 톱다리개미허리노린재의 저항성은 일부 포장에서만 평가되어서 검정결과가 지역간, 연차간 변이에 따라 상이한 결과가 나올 가능성이 높다. 이는 안정적인 검정방법이 확립되어 있지 않기 때문이므로 톱다리개미허리노린재에 대한 효과적이고 재현성이 뛰어난 검정체계를 조속히 확립해야 한다. 동시에 지속적인 유전자원 검정으로 내충성을 가진 새로운 유전자원을 발굴하고 유전자 지도 작성을 위한 집단 및 계통에 대한 내충성을 검정하여 내충성 유전자 연관 DNA 마커를 조속히 개발한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

- 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전자원 수집

콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법 확립에 대한 실험결과에 의거하여 지금까지 복합 내충성 콩 계통으로 알려진 우수한 계통, 새롭게 육성된 계통 및 야생콩을 수집하여 이들을 대상으로 저항성 여부에 대해 종합적으로 평가한다.

- 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법 확립

현재 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법은 확립되어 있지 않다. 특히 해충 저항성은 생태형의 분포가 그 나라 또는 지역마다 다를 수가 있고 지역이나 기주 작물의 품종에 따라서 저항성 반응이 다르기 때문에 이를 고려한 저항성 검정 방법을 확립해야 한다. 우리나라에서 널리 사용하는 콩 장려 품종과 저항성으로 보고된 유전자원을 대상으로 해충의 가해에 따른 저항성 정도를 검정한다. 또한 톱다리개미허리노린재의 사육 및 검정 방법에 대한 체계를 확립한다.

- 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전연구

콩 톱다리개미허리노린재의 저항성 유전 분석을 위하여 PI229358 등 내충성으로 생각되는 유전자원과 감수성인 국내 장려 품종간에 수 개의 교배조합을 작성하고, 이들 조합 중에서 제 2 세부과제의 결과에 의거한 최적정 조합을 선정한 후 이에 대하여 충해정도를 검정하여 저항성 여부를 판단한다. 분리세대에서 저항성에 관여하는 유전자의 수와 유전양식을 분석하고 이를 통해 구명된 각각의 유전양식에 적합한 육종방법을 결정한다.

- 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전자 보유 신 유전자원 발굴

현재 내충성 콩 유전자원은 콩 품종 및 수집 계통의 Glycine max에 한정되어 있다. Glycine max 이외에도 콩의 야생종 등 타 Glycine 속에 대해서도 지속적인 저항성 검정이 필요하다. 본 연구에서는 톱다리개미허리노린재 저항성을 지속적으로 검정하여 새로운 유전자원을 발굴한다.

- 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전자 연관 분자표지 개발

콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전연구에서 채택된 집단 (장려 품종과 내충성 PI 계통의 집단)을 대상으로 톱다리개미허리노린재 저항성 유전자 연관 분자표지를 탐색한다. 2004년도 하계기간중에 서울대에서 교배된 F1 종자를 베트남의 Can Tho 대학교에 송부하여 2004년 동계기간 부터 single seed decent (SSD) 방법에 의하여 세대를 진전시켜

2005년 동계기간중 F2:5 종자를 국내에서 반입하여 한세대 진전하여 종자당 계통화를 시키고, 2006년 포장에서 F2:6를 대상으로 DNA를 채취하고, 내충성을 검정하여 저항성 유전자 연관 표지를 탐색한다. 콩의 연관군이 20개 이기 때문에 연관군당 30~40cM 간격으로 위치하면서 모부분간에 다형성을 보이는 SSR 마커를 6개 정도 선발하여 총 120 여개의 마커를 가지고 최소 120 계통으로 이루어진 집단의 유전자 지도를 완성한다. 각 계통의 표현형과의 관계를 조사하여 저항성 유전자의 위치를 탐색한다. 유전자 효과가 큰 유전자와 연관된 마커가 탐색되면 그 부근을 좀더 세밀화하여 유전자를 동정한다.

- 콩 유전자지도 집단 및 분리집단의 톱다리개미허리노린재 저항성 검정

내충성 저항성 유전자 탐색용 분리집단을 만들기 위하여 교배 모본과 부분으로 이용된 콩 품종에 대해 저항성을 검정함과 동시에 환경에 따른 품종간의 상호작용 효과를 평가한다. 제 3년차에서는 교배 집단 가운데 선발된 교배 모부분과 세대가 진전된 최소 120 계통에 대해 검정을 실시하여 저항성 유전자에 연관된 마커를 탐색, 발굴하고, 뿐만 아니라 여러 집단에서 세대 진전된 계통에 대해서도 톱다리개미허리노린재 저항성을 검정하여 다수의 콩 계통을 선발한다.

- 톱다리개미허리노린재 저항성 콩 계통의 육성

SSD에 의하여 세대가 진전된 후기세대의 집단(조합당 500 계통이상)으로부터 이미 탐색된 DNA 표지인자를 이용하여 확인하고, 검정하여 톱다리개미허리노린재 대한 저항성 콩 계통을 육성한다. 선발방법은 유전자지도에서 탐색된 마커를 대상으로 SSD방법으로 세대가 진전된 분리집단에서 대량으로 선발한다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

가. 제 1세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전분석 및 내충성 콩 계통 육성

1) 노린재 저항성 콩 계통 육성

○ 지금까지 복합 내충성 콩 계통으로 알려진 유전자원 32점을 미국 USDA-ARS를 통

하여 분양받았으며, 내충성 여부에 대한 종합적인 평가와 더불어 복합 내충성 계통과 감수성 계통들의 유연관계를 SSR 마커를 통해 분석하였다. 마커들에 대한 내충성 및 저항성 품종들의 분리 양상을 토대로 유연관계 분석을 한 결과 여러 서브그룹이 존재하였다. 국내 감수성 품종들 중 태광콩을 제외한 4개의 품종이 하나의 큰 서브 그룹 안에 존재하였다. 이 결과는 내충성 품종들과 저항성 품종들의 유전적 차이가 있는 것을 나타낸다.

○ 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 콩 계통 육성을 위한 집단 양성은 복합 내충성 유전자원들(PI171451, PI227687, PI229358)과 국내 장려 품종들(단백콩, 태광콩, 풍산나물콩, 화엄꽃콩)의 교배 및 SSD 전개를 통해 수행하였다. 베트남 칸토 대학에서는 F1 종자 획득을 위한 저항성 품종과 국내 감수성 품종간에 교배를 하여 얻은 종자를 F2 세대로 전개하였다. F2 세대를 SSD 방법을 이용하여 지속적으로 2-3세대를 더 진전시켰다. 그 결과 양성된 총 11개의 콩 RI 계통 분리집단을 국내로 반입하여 서울대 부속농장에 파종하여 국내 적응성 검정과 종자증식을 수행하였다.

○ 이들 집단중 PI171451 x 화엄꽃콩과 단백질 x PI227687의 RI 계통에 대한 노린재 피해율 조사가 제 2세부과제에 의해 수행되었다. 두 집단의 RI 계통들 중에서 피해율(처리구/대조구)이 0.5정도의 낮은 수치를 보이는 계통들을 집단별 10개씩 선발하였다. 이 계통들은 2007년 춘계기간에 서울대 부속농장에 파종하여 다른 농업적 우량 형질들(초형, 초장, 수확기, 수량, 품질 등)에 대한 조사를 통해 우량 계통으로 육성할 계획이다.

2) 콩 유전자 지도 제작

○ 노린재 내충성과 중요 농업형질 관련 양적형질유전자좌 탐색을 위한 유전자 지도 제작을 위하여 PI171451 x 화엄꽃콩의 RIL 집단을 양성하였으며 현재 F6 세대 120여 계통이 육성되었다.

○ 총 322개 SSR 마커에 대한 PI171451와 화엄꽃콩간의 다형성을 조사하였다. 사용한 SSR primer는 일반적인 SSR primer 153개와 M13 universal sequence를 연결한 SSR primer 169개를 사용하였다. 사용한 primer들 중에서 200종(62.1%)의 SSR 마커에서 양친간 다형성을 나타내었다.

○ 선발된 201개 SSR primer들 중에서 111개 마커들을 가지고 PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단에서 분리 양상을 조사하였다. 본 유전지도 집단은 SSD에 의한 F5 세대로서

이 집단에 대한 마커들의 기대치 분리비는 1:1이므로 카이(x^2) 검정으로 마커들의 분리비를 적합성검정하였다. 하지만 아직 상당히 높은 수준($P < 0.01$ 에서 38%와 $P < 0.05$ 에서 48%)에서 마커의 분리비가 기대치에 어긋나는 것으로 나타났다. PI171451과 화엄꽃콩의 유연관계가 멀어서 아직 RIL F5 세대의 유전적 조성이 균일하게 이루어지지 않은 것으로 판단된다.

○ PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단에 대한 콩 유전자 지도를 제작하였다. MAPMAKER 프로그램 version 3.0을 사용하여 Kosambi map function을 이용하였으며 최소 LOD 값은 3.0으로, 최대 거리는 50cM으로 하였다. 또한 미국 USDA map의 연관군을 기본으로 하여 본 유전자 지도를 작성하였다. 본 작성된 유전자 지도에서는 총 111종의 SSR 마커를 이용하였으며 총 102개의 마커가 18개의 연관군으로 분류되었다. 측정된 콩 게놈의 크기는 686cM이었으며 마커간 평균 거리는 6.7 cM으로 나타났다. 콩의 염색체 수는 20개이므로 아직 두 개의 연관군이 만들어지지 못하였다.

3) 노린재 내충성 및 농업형질 관련 QTL 탐색

○ 노린재 저항성 이외의 몇 가지 유용한 농업 형질들의 QTL 분석을 위하여, 신장, 절간수, 개화기, 성숙기, 100립중 등을 PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단에 대해 조사하였다. 본 RIL 집단에서는 성숙기를 제외한 나머지 형질들에 대해서 거의 정규분포를 나타내었으므로 여러 개의 유전자가 관여하는 양적형질인 것으로 재차 확인할 수 있었다. 성숙기의 경우, 양친 PI171451과 화엄꽃콩이 크게 차이를 보임과 동시에 후대 RI 집단에서도 두 개의 큰 피크를 관찰하였다.

○ 2006년도 상반기에 PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단의 종자를 서울대 곤충실 연구실에 분양하여 노린재 내충성 조사를 의뢰하였다. 노린재 내충성 QTL 탐색에 이용된 표현형 데이터를 토대로 RI 후대 집단에서 노린재 피해율은 양적형질의 정규분포를 나타내었다.

○ 양적형질 유전자좌 탐색을 위하여 QTLmapper version 1.6을 사용하였고 이 프로그램은 composite interval analysis을 원칙으로 하여 양적형질에 관여하는 유전자좌를 동정하고 있다. 분석된 5종류의 농업 형질에 대한 QTL 분석 결과 개화기, 성숙기, 신장에 관여하는 QTL만이 SSR 마커를 통해 탐색되었다. 개화기 QTL은 연관군 F와 O에서, 성숙기는 연관군 O에서, 신장은 연관군 C2와 O에서 동정되었다. 대부분의 QTL이 10%이상의 R^2 값을 나타내었다. 노린재 내충성 QTL은 연관군 B1의 Satt509-Satt197 사이에서 12%이

상의 R^2 값을 나타내었다. 본 연구에서 작성한 콩 유전자 지도의 연관군 O에서는 개화기, 성숙기, 신장 세가지 형질에 대한 QTL이 모두 탐색되었으므로 농업 형질에 밀접한 양향을 미칠 수 있는 여러 유전자들이 위치하고 있음을 간접적으로 보여주는 것으로 설명할 수 있다.

나. 제 2세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법 확립 및 내충성 평가

1) 톱다리개미허리노린재의 사육환경 구명

톱다리개미허리노린재의 최적사육환경 구명을 위해 실험실에서 7개의 온도 조건에서 약충 발육 실험, 최적 먹이 선정을 위하여 시장에서 쉽게 구할 수 있는 8개의 콩 종류를 이용하여 실험을 수행하였다. 그 결과 사육최적 온도는 28 - 30℃, 최적 먹이는 백태가 제시되었다.

2) 톱다리개미허리노린재의 저항성검정실험 및 저항성 검정법 확립

톱다리개미허리노린재의 저항성 품종 검정법 개발 및 저항성 콩품종 선발을 위하여 실험실과 포장에서 실험을 수행하였다. 톱다리개미허리노린재의 저항성 품종 검정법으로는 콩 품종 별 톱다리개미허리노린재 유충의 발육과 사망률 등을 조사하는 약충 발육 실험, 톱다리개미허리노린재의 콩 품종에 대한 선호도를 조사하는 콩 품종 선호성 실험, 콩 품종 별 톱다리개미허리노린재의 섭식 차이를 조사하는 콩 피해도 실험 등의 종합적 활용을 제시하였다. 총 30개 콩 품종의 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성은 콩 품종 별 유충 발육 실험, 톱다리개미허리노린재의 가해에 따른 콩 품종별 피해도 검증 실험, 콩 품종 별 톱다리개미허리노린재의 선호도 판별 실험을 통하여 검정하였다. 각 실험의 결과를 종합하면, PI561575, PI561401, PI417136이 톱다리개미허리노린재에 대하여 감수성이 높은 것으로 나타났으며, PI559336, PI381660, PI559365, PI576446, PI227687, PI572237등은 저항성이 높은 것으로 나타났다.

3) 톱다리개미허리노린재의 가해판별 기준 확립

톱다리개미허리노린재의 가해를 콩과 꼬투리에서 조사해 본 결과 콩 가해 식흔은 현미경을 통해 구분이 가능하였으며, 심한 가해 식흔은 육안으로도 구별이 가능한 외형 변화가 일어났으며, 꼬투리 가해의 경우, 초기에는 꼬투리에 검은 반점이 나타나고 가해가 진행됨에 따라 갈변 부위가 점차 커지다가 꼬투리가 더 이상 성장하지 못하고 떨어졌다.

2. 활용에 대한 건의

가. 제 1세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전분석 및 내충성 콩 계통 육성

본 연구에서는 미국 USDA 종자은행으로부터 내충성 유전자원을 도입하여 내충성 유전자원과 국내장려품종간 교배를 통해 총 11개의 RIL 분리집단들에 대한 F₆₋₇ 세대 육성하였다. 육성된 분리 집단은 성숙기와 개화기와 같은 다른 주요한 농업적 형질에 대한 유전적 분리 현상을 관찰할 수 있으므로 앞으로 이러한 유용 형질들에 대한 연관 마커 동정과 QTL 탐색에 이용될 수 있을 것이다. 또한 내충성 형질은 콩 종자의 직접적인 파괴적인 방법에 의해 표현형의 조사가 이루어지는데 이는 종자의 손실로 인해 세대 진전에 많은 어려움을 야기하므로 계측이 매우 어려운 주요 양적 형질의 품종 개량에 동정된 연관 SSR 마커와 QTL를 이용함으로써 육종 프로그램을 가속화시킬 수 있다. 선발된 노린재 저항성 콩 20계통들은 지속적인 유전적 고정과정과 함께 다른 농업적 우량 형질들(초형, 초장, 수확기, 수량, 품질 등)에 대한 조사를 통해 우량 계통으로 육성할 수 있을 뿐만 아니라 향후 다른 품종 육성을 위한 중간 모본으로도 사용할 수 있을 것이다.

나. 제 2세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법 확립 및 내충성 평가

이번 과제를 통하여 실시한 여러 가지 저항성 검정법 실험 경험과 결과를 토대로 하여 적절하다고 생각되는 톱다리개미허리노린재에 대한 콩 저항성 검정법은 콩 품종 별 톱다리개미허리노린재에 대한 antibiosis를 알아보기 위해 각 품종을 먹이로 한 톱다리개미허리노린재 발육 실험, 콩 품종 별 톱다리개미허리노린재에 대한 antixenosis를 알아보기 위한 품종 선택 실험 (Choice experiment)과 콩 품종별 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성을 종합적으로 알아보기 위한 품종 별 피해도 실험 (Non-choice experiment)을 제안할 수 있다. 위의 실험들 중 어느 하나의 실험만으로도 어느 정도의 저항성 파악이 가능할 것으로 생각되나, 세 가지 실험을 모두 조합하여 실험하게 되면 그 결과의 해석이 더욱 쉽고, 설득력도 높아 질 것으로 생각된다.

SUMMARY

(영문 요약문)

Identification of resistance inheritance mode to *Riptortus clavatus* Thunberg and development of resistant soybean lines to *R. clavatus* Thunberg

1. Analysis of resistance inheritance mode to *Riptortus clavatus* Thunberg and resistant soybean lines to *R. clavatus*

1) Development of insect resistant soybean lines

After 32 insect resistant soybean germplasm were received from USDA-ARS, USA, we investigated phenotypes related to insect resistance and genetic relationship between resistant and susceptible germplasm by analysis of SSR markers. With NTsys 2.1 program, there are several subgroups based on segregation of SSR markers between resistant and susceptible germplasm. Four Korean susceptible germplasm except Taekwangkong consist one subgroup. Thus, genetic differences were detected between insect resistant and susceptible germplasm.

Populations for bean bug (*Riptortus clavatus* Thunberg) resistant soybean cultivars were developed by the crosses of insect resistant germplasm (PI171451, PI227687, PI229358) and Korean recommended cultivars (Danbaekong, Taekwangkong, Pungsannamulkong, Hwaeomputkong) and SSD. At Cantho Univ. in Vietnam, F1 was generated and two to three generations were more developed by SSD with F2. A total of nine soybean RI populations were examined adaptability and seed propagation at SNU farm in Suwon.

2) Construction of soybean genetic map

To construct the soybean genetic map for QTLs related to bean bug resistance and main agricultural phenotype, more than 120 RILs from the cross of PI171451 and Hwaeomputkong were currently developed as F6 generation.

111 out of selected 201 SSR markers were used for analysis of segregation in

PI171451 x Hwaeomputkong RIL population. Segregation ratio was not 1:1, although F5 population developed by SSD was used for Chi test. To uniform genetic composition, three to four more generations should be developed because PI171451 and Hwaeomputkong are quite different in genetic similarity.

Soybean genetic map was constructed with PI171451 x Hwaeomputkong RIL population. The frame map was constructed using the MAPMAKER v. 3.0 program and a minimum LOC score of 3.0 and maximum distance of 50 cM were chosen to establish the degree of linkage. LGs were named according to the designation of the consensus USDA map. Among the 111 SSR markers, a total of 102 markers were incorporated into 18 LGs. A total map distance was 686 cM and on average, one marker every 6.7 cM was positioned. The remaining two LGs from the consensus map were not identified.

3) Identification of QTLs related to *R. clavatus* resistance and agronomic traits

With PI171451 x Hwaeomputkong RIL population, several agronomically important phenotypes, such as height, number of internode, flowering time, maturity and 100-seed weight, were examined. Normal distribution was observed in these phenotypes except maturity, indicating multiple genes were involved in these quantitative traits. Not only PI171451 and Hwaeomputkong showed quite different maturity but also two peaks in distribution were observed in their RIL population.

QTL controlling traits were mapped by composite interval analysis with QTLmapper v. 1.6. Among five analysed agronomic traits, QTLs for flowering time, maturity and height were detected by SSR marker analysis. Flowering time QTL was identified on LGs F and O, QTL for maturity was located on LG O and height QTL was identified on LGs C2 and O. Most of QTLs showed higher than 10% in R² value. QTL for *R. clavatus* resistance have >12% of R² value between Satt509 and Satt197 on LG B1. Based on soybean genetic map constructed by this study, QTLs for flowering time, maturity and height were incorporated into the same LG O. Thus, it suggested many genes responsible to agronomic traits might be located on this linkage group.

2. Screening for resistance of soybean cultivars to *Riptortus clavatus* Thunberg and evaluation of insect resistance

The objectives of this project were 1) to determine the optimal conditions for mass rearing of bean bug (*Riptortus clavatus* Thunberg) in laboratory 2) to develop a experimental protocol of screening for resistance soybean lines to bean bug, 3) to develop a guide line for identification of feeding race of bean bug, and 4) to screen for the resistance soybean line to bean bug. A laboratory experiment using 7 constant temperature regimes were conducted to determine the optimal temperature for development of bean bug and 28°C - 30°C was optimal temperature condition for rearing bean bug in the laboratory. To determine the better food source for mass rearing of bean bug, 8 varieties of beans, which were commercially available in a market, were tested by the feeding experiment. Baek-tae was the best food source for bean bug biologically and economically. Bean bug's feeding on soybean resulted in black spots on the surface of beans while the feeding on pod caused brownish spot on pod, dropping of pod, and twisted pod. A experimental procedure for screening resistance soybean lines to bean bug was suggested. Thirty 30 soybean lines were tested for resistance to bean bug in a series of experiment. First, nymphal development and mortality was examined; second, damage and yield loss by bean bug was examined; finally, preference of bean bug was tested in a choice test. Among 30 soybean lines, 3 lines (PI561575, PI561401, and PI417136) were identified as strong susceptible lines and 6 lines (PI559366, PI381660, PI559365, PI576466, PI227687, and PI572237) were screened as strong resistant lines.

CONTENTS

(영 문 목 차)

Ch. 1. Introduction	18
Sec. 1 Necessary of research	18
Ch. 2. Situation of international technology development	20
Sec. 1 Situation of international technology development	20
Sec. 2 Further prospect	23
Sec. 3 Reasonability of technology introduction	24
Ch. 3. Contents and results of research development	25
Sec. 1 Methods and plans of research development	25
Sec. 2 Forward system of research development	27
Sec. 3 Forward system of international cooperation	28
Sec. 4 Objectives and contents of study	28
Sec 5 Study results	28
1. Subtitle 1: Analysis of resistance inheritance mode to <i>Riptortus clavatus</i> Thunberg and resistant soybean lines to <i>R. clavatus</i>	30
A. Development of resistant soybean lines to <i>R. clavatus</i>	31
B. Construction of soybean molecular linkage map	38
다. Detection of QTLs associated with resistant to <i>R. clavatus</i>	49
2. Subtitle 2: Screening for resistance of soybean cultivars to <i>Riptortus clavatus</i> Thunberg and evaluation of insect resistance	59
A. Determination of the optimal conditions for rearing of Thunberg in laboratory	65
B. Development of a experimental protocol of screening for resistance soybean lines to bean bug in laboratory	72
C. Screening for the resistance soybean line to bean bug in greenhouse	

.....	73
D.. Development of a guide line for identification of feeding race of bean bug	90
Ch. 4. Achievement and contribution in related fields	94
Ch. 5. Application plans of the study results	96
Sec. 1 Application plan	96
Sec. 2 Further study	96
Ch. 6. Information of new international scientific technology	98
Ch. 7. Reference	99

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	18
제 1 절	연구개발의 필요성	18
제 2 장	국내외 기술개발 현황	20
제 1 절	국내외 관련 기술의 현황	20
제 2 절	앞으로의 전망	23
제 3 절	기술도입의 타당성	24
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	25
제 1 절	연구개발 방법 및 설계	25
제 2 절	연구개발 추진체계	27
제 3 절	국제공동연구개발 추진체계	28
제 4 절	연구개발 목표와 내용	28
제 5 절	연구 결과	30
1.	제 1세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전분석 및 내충성 콩 계통 육성	30
가.	톱다리 개미허리노린재 저항성 콩 계통 육성을 위한 집단 양성	31
나.	콩 분자 유전자 지도 제작	38
다.	콩 노린재 저항성 관련 양적형질유전좌 탐색	49
2.	제 2세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법 확립 및 내충성 평가	59
가.	톱다리개미허리노린재의 사육환경 구명	65
나.	실내에서 톱다리개미허리노린재의 저항성검정실험	72
다.	온실에서 톱다리개미허리노린재의 저항성검정실험 및 저항성 검정법 확립	73
라.	톱다리개미허리노린재의 가해판별 기준 확립	90

제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	94
제 5 장	연구개발결과의 활용계획	96
제 1 절	활용방안	96
제 2 절	추가적 연구	96
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	98
제 7 장	참고문헌	99

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

○ 콩에 가해하는 노린재류는 톱다리개미허리노린재, 썩덩나무노린재, 알락수염노린재, 남쪽풀색노린재, 가로줄노린재 등 20여 종이 알려져 있는데 그 중 톱다리개미허리노린재가 가장 큰 피해를 주는 것으로 알려져 있다.

○ 톱다리개미허리노린재(Riptortus clavatus Thunberg)는 노린재목, 호리허리노린재과에 속하는 비교적 크기가 큰 흡즙성 해충으로 우리나라에서는 1980년대 말 여름철의 이상고온으로 발생이 증가하기 시작하여 지금은 콩의 주요 해충으로 알려져 있고 그 피해정도 및 피해면적이 매년 증가하고 있는 실정이다. 체장은 14~27mm이고 암컷이 수컷보다 약간 더 크다. 몸은 전체적으로 짙은 갈색을 띠며 구릿빛 광택이 있다. 하지만 개체에 따른 체색의 변이가 심하다. 성충은 5~10월에 출현하며 콩과 식물체에 해를 끼친다. 유충의 형태와 행동은 개미와 비슷하며 성충은 비상시 벌과 유사하다.

○ 톱다리개미허리노린재는 콩의 잎과 줄기도 가해하지만 주로 콩 꼬투리의 즙액을 흡즙하여 피해를 주는데 콩의 가해시기는 꽃이 핀 후 꼬투리 신장기에서 성숙기까지이다. 그러나 피해가 가장 심한 시기는 꽃핀 후 12일(꼬투리 신장 중기)부터 32일(종실 비대 중기)까지의 20일간이다. 피해정도를 콩의 생육단계별로 살펴보면 콩 종자가 형성되는 초기에 가장 심하고, 그 다음이 꼬투리 신장기, 그리고 콩 종자 비대 중기 순서인데, 이 기간 중에 보통 5~9일간 흡즙하며 가해한다.

○ 톱다리개미허리노린재는 콩의 꼬투리를 가해하는데 흔적은 분명히 보이지 않으나 시일이 경과하면 꼬투리의 빨아먹은 곳이 회황색으로 변하며 꼬투리가 떨어지거나 꼬투리는 달려있어도 알이 생기지 않는 경우, 또 알은 생기지만 비정상립이 생기는 경우 등 세 종류로 구분된다. 피해를 받은 콩은 잎이나 줄기에서 양분의 전류가 종실로 이루어지지 않아서 잎과 줄기에 탄소동화 산물이 남아 있어서 노화되지 않고 수확기까지 푸르고 무성한 채로 있으며 줄기의 마디에 작은 잎이 나오는 경우도 있다.

○ 톱다리개미허리노린재는 7월 하순(꼬투리신장초기)부터 성숙기까지 피해를 주는데

이동성이 강해서 약제를 뿌릴 때는 다른 곳으로 날아가 있다가 약효가 떨어지면 다시 이동해 오기 때문에 약제 방제효과가 떨어진다. 지금까지 콩의 노린재류에 대한 방제효과가 뚜렷한 농약은 없지만 스미치온유제, 파프유제, 알파스린, 델타린, 그로메유제, 메프유제 등이 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

○ 톱다리개미허리노린재는 이동성이 강하기 때문에 약제 방제를 꼬투리 신장 초기 혹은 종실 비대기의 1회 방제에 의해서는 그 효과를 기대하기 어렵고 꽃이 핀 후 17일부터 37일 사이의 20일 동안 2회 정도 방제해주어야 약간의 효과가 있다. 발생이 심할 때는 꼬투리신장기부터 종실비대중기 사이에 7일 간격으로 3~4회 살포해야 한다. 약제 3회 처리 시에는 콩 수량이 10a당 258kg인 것이 무처리시엔 109kg으로 격감하는 것으로 보아 콩의 수량이 톱다리개미허리노린재에 의해 크게 감소하는 것을 확인하였다 (http://www.hsgatc.go.kr/tech_2-08.html).

2. 경제·산업적 측면

○ 국내 콩 재배시 병충해 방제를 위한 농약으로 콩나방, 굽벥이, 뿌리혹선충 등 해충방제용, 종자소독용, 제초용 농약 등이 일부 사용하고 있지만 톱다리개미허리노린재 방제를 위한 농약에 대해서는 개발 및 보급이 상대적으로 미흡하다. 현재 국내에서 몇 가지 농약들이 톱다리개미허리노린재에 방제효과가 있는 것으로 알려져 있기는 하나 그 효과가 미미하여 실용적이지 못하다.

○ 톱다리개미허리노린재는 이동성이 신속하고 기주 식물체 범위가 넓어서 1회 약제로는 방제효과가 적다. 따라서 톱다리개미허리노린재 해충에 대한 저항성이 높은 품종을 개발하여 재배하는 것이 경제적으로 피해를 최소화하는 방안으로 생각된다.

3. 사회·문화적 측면

○ 톱다리개미허리노린재에 대한 내충성 콩 품종의 조기육성을 통한 우수한 식용콩의 생산 및 공급으로 안정적 콩 생산기반을 유지한다.

○ 수입콩과 국산콩의 차별화로 국민건강 유지에 기여함으로써 소비자에게 우리콩에 대한 인식을 고취시킬 필요가 있다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1절 국내외 관련기술의 현황

1. 국내 연구현황

○ 특히 우리나라에서 주로 재배되고 있는 밭밀콩과 같은 검정콩의 피해가 심하고 장려 품종으로 지정된 거의 모든 품종이 현재로서는 저항성을 가지고 있지 않는 것으로 추정되고 있다. 톱다리개미허리노린재는 이동성이 강하여 최소 3회에 걸쳐서 방제해야 하는 재배 관리상 어려운 점이 있다. 그러나 아직 내충성 저항성 기준 설정이 확보되지 않아서 톱다리개미허리노린재의 저항성이 높은 콩 유전자원의 탐색 및 확보가 어려우며 유전적 연구 또한 전무한 실정이다.

○ 최근 콩 톱다리개미허리노린재의 발생이 전국적으로 확산되고 그 피해가 심각한 상황에서 콩 톱다리개미허리노린재 사육 및 저항성 검정에 대한 기술 부족으로 저항성 콩 계통 육성에 관한 연구는 미진한 상태이고, 다만 농약을 이용한 방제에만 편중되어 있다.

○ 본 연구진의 예비실험에 의하면 국내에서 톱다리개미허리노린재의 실험실 사육이 가능하였으며, 이는 톱다리개미허리노린재에 대한 콩 계통 및 품종의 저항성 검정을 위한 기초 기술로서 본 연구계획에 대한 실행을 가능하게 하였다.

○ 국내에서 약 30여 개의 콩 품종을 대상으로 톱다리개미허리노린재 저항성에 대해 검정해 본 결과 유한신육형의 경우 5~12.5%, 무한신육형의 경우 36.1~50.0% 등으로 그 피해 정도에 변이를 나타내어 품종간 차이가 있음을 보고한 바 있고 (손 등, 2000), 경북지방에서 수집된 톱다리개미허리노린재는 *Riptortus clavatus*, *Nezara antennata*, *Piezodorus hybneri*, *Dolycoris baccarum*, *Halyomorpha halys* 등으로 그 종이 다양한 것을 확인하였다.

○ 이외에 국내에서 저장 종실에 대한 콩바구미 저항성 콩 육종은 부분적으로 이루어진 바 있으나, 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 계통 육성을 위한 콩 육종은 전무한 실정이다. 향후 지구온난화의 영향으로 한반도의 기온이 점차 상승함에 따라 톱다리개미허리노린재의 피해가 더욱 심해지고 그로 인해 콩의 안정적인 생산기반에도 치명적인 악영향을 가져올 것으로 예측하고 있다.

2. 국외 연구현황

○ 작물의 내충성은 한 두 개의 주동 유전자가 지배하는 내병성과는 달리 일반적으로 여러 개의 유전자가 관여하는 양적형질로 알려져 있다. 지금까지 보고된 바에 의하면 Homoptera와 Cecidomyiidae 해충에서만 주동 유전자가 관여하는 것으로 알려져 있다 (Yencho 등, 2000).

○ 콩의 꼬투리 흡즙성 해충인 stinkbug의 경우 1974년 이전 미국에 도입된 성숙군 V와 VIII의 모든 콩 품종 및 계통 그리고 루이지애나주에서 재배되고 있는 상업용 콩 품종을 대상으로 내충성 시험을 검정한 결과, PI171444가 남쪽풀색노린재(southern green stink bug; *Nezara viridula*), green stink bug (*Acrosternum hilare*), brown stink bug (*Euschistus servus*), dusky stink bug (*Euschistus tristigmus*)에 대한 내충성이 있다고 보고하였다 (Gilman 등, 1982).

○ 또 다른 독립적인 시험에서는 PI171451, PI227687 및 PI229358 등이 남쪽풀색노린재에 저항성을 가지고 있고, 특히 PI229358이 가장 저항성이 크다고 하였다 (Jones와 Sullivan, 1979). PI227687은 포장시험에서 종실 손상에 대해 적정 저항성을 나타내었다.

○ Layton 등(1987)은 노린재에 저항성인 PI171444는 bean leaf beetle와 banded cucumber beetle에 대해서도 저항성을 나타내는 것으로 보아 이 계통은 복합 층 저항성을 가진다고 보고하였다.

○ 이후 계속된 연구에서도 콩 단일 계통의 다양한 해충들에 대한 복합저항성이 인정되었다. 대만에서는 PI227687은 beet armyworm, PI171451은 나비목 해충, PI229358은 딱정벌레목 해충에서 저항성을 보고하였다 (Talekar 등, 1988). 브라질에서는 PI274453와 PI274454는 여러 종류의 노린재에 저항성을 가지며, 이 두 계통과 PI227687은 나비목 해충에도 저항성을 보인다고 하였다 (Lourencao 등, 1989).

○ Boethel(1999)은 여러 가지 해충에 대한 콩 계통 및 품종에 대한 저항성 연구에 대한 고찰을 통해 복합저항성에 대하여 보고하였으며, 아래 표에서 보는 바와 같이 PI171451와 PI229358은 12개, PI227687은 10개, PI17144는 3개의 해충에 대하여 저항성을 보였다. 이 네 개의 유전자형들은 우리나라 톱다리개미허리노린재와 유사한 노린재들에 저항성을 보이므로 이러한 콩 유전자형들을 내충성 저항성원으로 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

해충		콩 계통			
		PI171444	PI171451	PI227687	PI229358
Lepidoptera	<i>H. Zea</i>		R	R	R
	<i>P. icludens</i>		R	R	R
	<i>A. gemmatalis</i>		R	R	R
	<i>S. exigua</i>		R		R
	<i>H. virescens</i>		R	R	R
	<i>T. ni</i>		R	R	R
Coleoptera	<i>E. varivestis</i>		R	R	R
	<i>C. trifurcata</i>	R	R	R	R
	<i>D. balteata</i>	R	R	R	R
Heteroptera	<i>E. vittata</i>		R	R	R
	<i>B. tabaci</i>		R		R
	Stink bug	R	R	R	R

○ 작물의 내충성 향상을 위한 DNA 마커 선발 이용의 가능성들이 논의된 바가 있는데 (Yencho 등, 2000), 벼, 보리, 옥수수, 콩, 감자, 토마토 등의 6개 작물에서 매미목, 노린재목, 파리목, 나비목, 딱정벌레목 곤충 등에 대한 30개의 주동 유전자 혹은 단일자가 분자 마커에 의해 탐색되었다.

○ 토마토의 root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)에 대한 저항성 우성유전자인 Mi 유전자가 처음으로 내충성 유전자로서 분리되었으며, 이 유전자는 NBS LRR 계통의 유전자로서 바이러스, 박테리아, 곰팡이 등에 대한 저항성 유전자와 유사하였다 (Hammon-Kosack 와 Jones, 1997).

3. 문제점

○ 본 연구 과제의 수행 기간은 3년으로 계획하였다. 따라서 이 기간 내에 내충성 관련 양적형질 유전자 탐색을 위한 후기세대의 분리 집단을 양성하기에는 시간적 어려움이 있지만, 자연포장에서 연간 3세대를 진전시킬 수 있는 베트남의 Can Tho 대학교의 Prof. Nong과 협력이 약속되어 있어 본 연구의 문제점을 해결할 수 있다.

○ 내충성 콩 계통을 선발하기 위해서는 톱다리개미허리노린재의 사육과 접종, 저항성

관별 등의 고도의 정밀기술이 필요하기 때문에 곤충학자(서울대 이준호)와의 공동 연구가 선결되어야 한다. 이와 같은 협동연구를 통해서만이 내충성 계통 선발을 위한 기본적인 유전 양식 구명과 DNA 마커 탐색을 효율적으로 수행할 수 있고, 이렇게 탐색된 마커들을 이용하여 분리세대의 선발에 직접적으로 적용함으로써 톱다리개미허리노린재에 대한 내충성 저항성 계통을 성공적으로 선발할 수 있다.

○ 본 연구의 내병성 계통의 육성은 3년이란 단기간내에 이루어져야 한다. 그러기 위해서는 DNA 표지인자 탐색시에 기존 염기서열 장치보다 약 5배 이상 신속한 mapping을 가능하게 하는 자동염기서열 분석장치를 필수적으로 사용해야 한다 (Virk 등, 1999). 그러나, 이 장치를 사용하기 위해서는 먼저 fluorescence-labelled primer들을 다량으로 구입해야 하는데, 이 primer들은 한 세트당 약 260,000원으로 고가이어서 다른 종류의 SSR 마커 분석 기술이 필요하다. 현재 본 실험실에서는 Schuelke (2000)이 보고한 M13 primer를 SSR의 forward primer에 부착하여 PCR를 하는 single-reaction nested PCR 방법을 적용하여 지금까지 미국 USDA-ARS에서 개발된 SSR 마커 (<http://129.186.26.94/ssr.html>)들에 대한 적용 가능성을 타진한 후 이에 대한 보완을 할 예정이다.

제 2 절 앞으로 전망

○ 앞으로는 친환경 생산을 위한 품종 육성이 주를 이룰 것이며, 이를 위해서는 내병충성 품종 육성이 주요한 위치를 차지하게 될 것이다. 우리 품종의 세계 시장 진출을 위해서는 국내 문제 병충해뿐만 아니라 세계적으로 보편적인 병충해에 대한 육종 프로그램도 필수적으로 개발해야 한다. 농약 사용을 최소화한 안전한 식품 생산을 위해서 병충해에 강한 품종의 육종이 불가결하다.

○ 우리나라는 콩의 원산지로서 다양한 콩이 재배되고 있어서 이에 따른 톱다리개미허리노린재가 생리생태적으로 다양하게 분화되어 있을 것이다. 그러나 최근 우리나라의 거의 모든 장려품종들은 톱다리개미허리노린재에 대하여 저항성이 없었다. 게다가 거의 모든 콩 재배지에 톱다리개미허리노린재가 출몰하고 있는 상황이므로 향후 톱다리개미허리노린재에 의한 콩의 수확손실은 점차 증가할 것이다.

○ 육종초기세대에서 DNA marker-assisted breeding이 보편적 기술로 확립되어 있기 때문에 톱다리개미허리노린재 저항성 콩 계통의 육성에도 관련 마커 개발을 먼저 이루어져야 하고 이는 품종육성을 위한 귀중한 자료로 이용될 수 있을 것이다.

○ 본 연구진의 실험결과는 식물분자유종학과 곤충학과의 접목을 통해 현재 콩의 수확에 악영향을 미치고 있는 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성 계통을 확보하고 짧은 시간 내에 내충성 작물 계통을 육성하는 기본모델을 제공할 것이다.

○ 본 연구에서 육성된 계통은 톱다리개미허리노린재 뿐만 아니라 여러 종류의 곤충에 저항성인 계통으로 육성하여 앞으로 기상 및 재배환경 변화로 인한 해충의 종류 및 빈도의 비정상적 변화에 대한 대처로서 향후 콩의 안정적 생산에 기여하리라 전망된다.

제 3 절 기술도입의 타당성

○ 최근 marker-assisted selection의 한계는 throughput한 저가의 유전자 표지의 이용이 어려운 점이지만, 본 연구진이 콩 계통 선발에 적용하기 위하여 universal M13 primer를 이용한 신속한 SSR 마커 genotyping 방법을 개발 · 실험중이고 (Schuelke, 2000), automatic DNA sequencer를 이용하여 microsatellite의 유전자지도를 신기법으로 단시일 내에 작성함으로써 신품종 육성에 필요한 시간을 단축할 수 있다.

○ 세대단축을 위해서 국내에서는 동계 기간중 온실을 사용하여 2세대까지 진전시킬 수 있지만 고가의 연료비 및 시설비 등이 요구된다. 베트남의 경우 자연포장 상태에서 연간 3세대 진전이 가능하므로 본 연구의 일환으로 베트남 Can Tho 대학의 Nong 연구원과의 협력을 통해 여타 육종목표에 따른 세대 진전을 신속하게 대처할 수 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

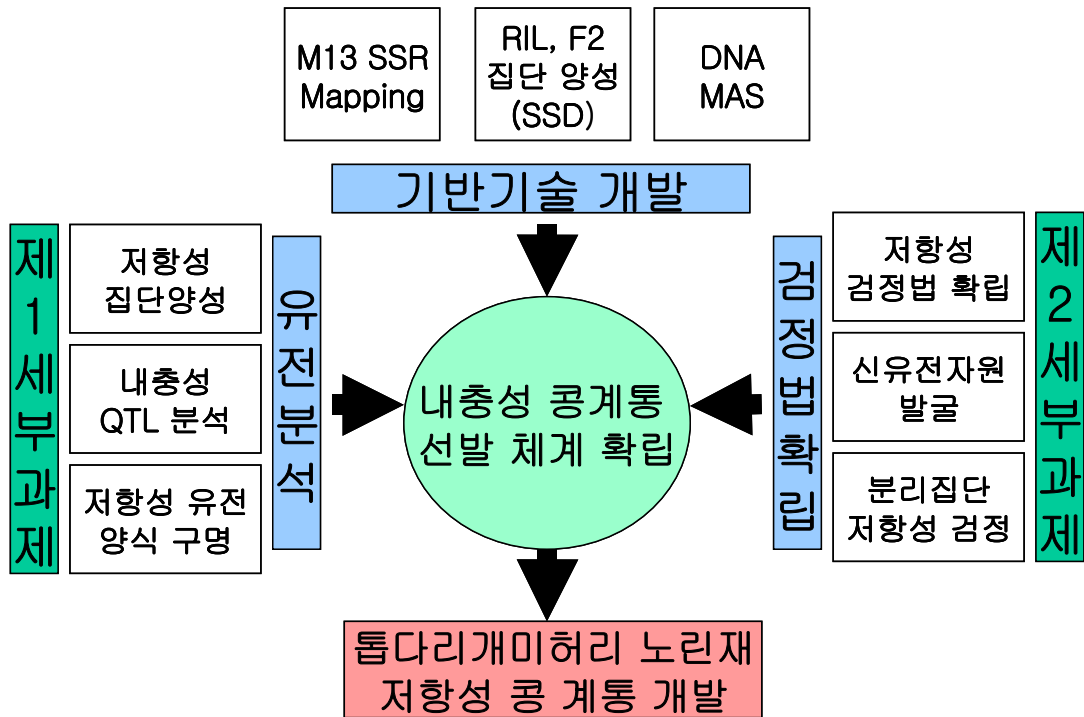
제 1절 연구개발 방법 및 설계

내충성 콩 품종의 성공적인 육성을 위해서는 기주식물의 해충에 대한 저항성 유전자(resistance gene)와 해충간의 상호작용에 대한 정확한 이해가 필요하다. 따라서 본 연구의 성공적인 결과를 도출하기 위해서 기주식물인 콩의 해충 저항성 유전을 구명하고 내충성 계통을 선발할 수 있는 집단을 양성하는 콩 육종가(서울대 이석하)와 톱다리개미허리노린재의 분리, 사육, 접종 등의 일련의 해충 실험과 해충에 의한 가해 부위 및 그 손실에 대하여 정확하게 알고 해충 저항성 기작을 구명할 수 있는 곤충생태학자(서울대 이준호)의 협력이 필수적이다.

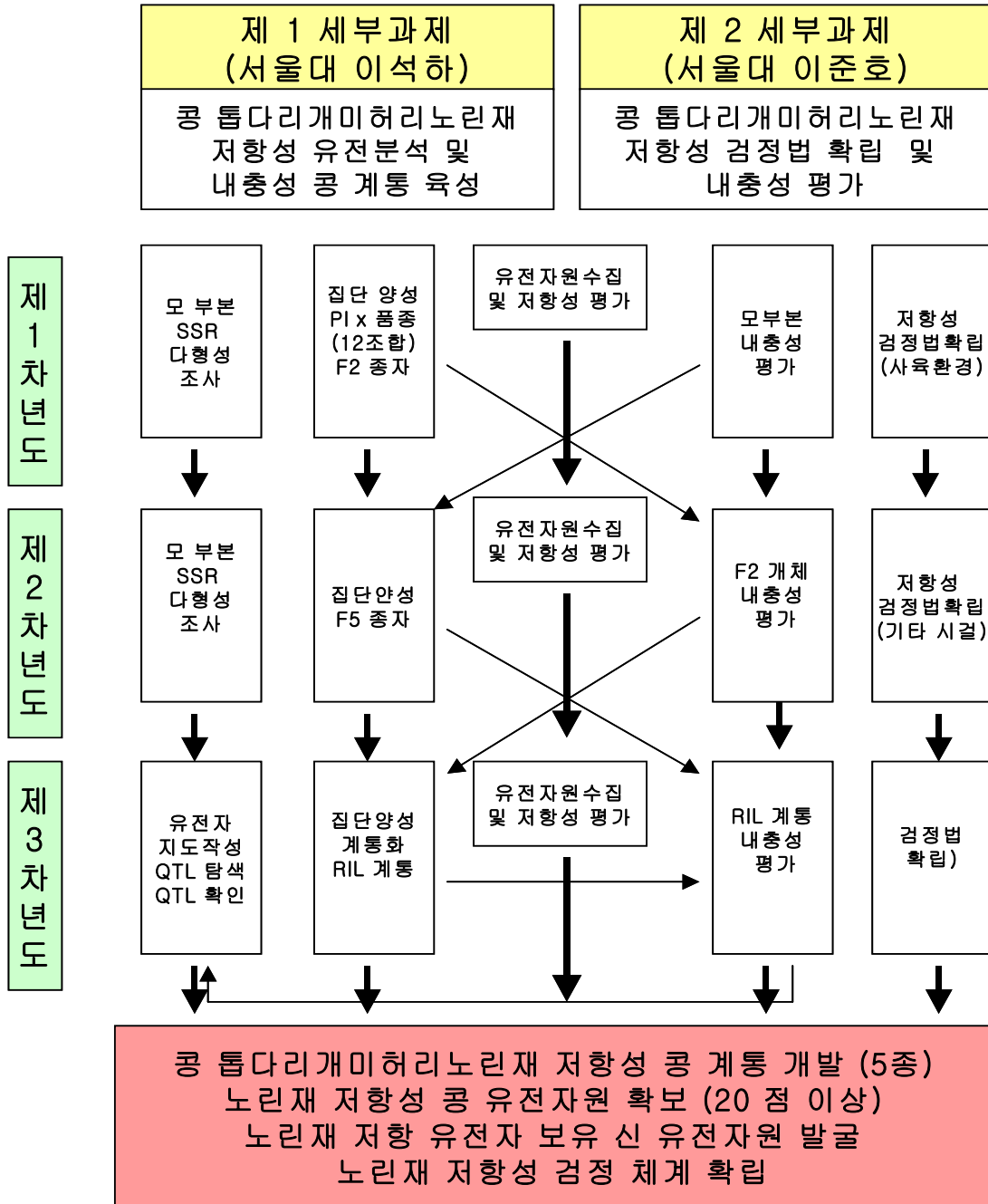
또한, 해충에 대한 저항성은 일반적으로 양적 형질로서 다수의 유전자가 지배하는 것으로 알려져 있으므로 저항성 콩 계통을 조기에 선발하기 위해서는 DNA 표지인자를 이용하는 것이 가장 효율적이다. 콩에서 잘 개발된 SSR 마커를 이용한 유전자지도 제작 및 집단내 각각의 계통에 대한 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성을 조사하여 저항성 유전자를 선발할 수 있는 분자표지를 탐색한다.

무엇보다도 양적 형질인 내충성 유전자의 탐색 및 유전자지도를 제작하기 위해서는 F2 집단보다 더 세대가 진전되어 유전자가 고정된 RIL에서 내충성을 평가하는 것이 유전자의 위치를 보다 더 정확하게 파악할 수 있다. 이에 동계기간을 포함한 모든 시험 기간 중에는 SSD 방법에 의한 세대진전을 수행하며, 2007년에는 RIL 집단이 완성되어 이를 이용한 유전자지도를 작성하는 것이 본 연구의 성공의 핵심이라고 할 수 있다.

그러나, 본 시험의 연구기간은 3년으로, 단기간내에 성공적인 결과를 도출하기 위해서는 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성 관련 다수의 분리집단을 만들어 2년차에는 F2에서 내충성 유전양식을 조사하여 가장 유망한 조합을 선정하고, 선발된 조합에 대해서는 RIL 집단을 양성하여 내충성에 연관된 SSR 마커를 이용, 선발하여 목적하는 내충성 계통을 육성해야 한다.



제 2절 연구개발 추진체계



제 3절 국제공동연구개발 추진 계획

유전자지도 제작용 RIL 집단을 위한 SSD 방법에 의한 세대진전 및 내충성 계통의 분리세대 양성을 위한 베트남의 협조가 필요하지만 이는 국제공동연구 수준이 아닌 기본적인 협조로 가능함.

제 4절 연구개발 목표와 내용

1. 연구목표

콩의 톱다리개미허리노린재 복합저항성 및 감수성인 콩 계통들을 동시에 선발하여 두 계통간 교배를 통해 생성된 후기 분리세대에서 저항성 유전자의 유전양식을 구명하고, 내충성 콩 계통 선발의 효율성을 높이기 위한 분자표지 (molecular marker)를 개발하여 우수한 콩 장려품종에 이들 유전자를 도입, 집적함으로써 콩 톱다리개미허리노린재에 대한 내충성 콩 계통을 육성하고자 한다. 또한, 우리나라에서 이용하고 있는 콩 품종, 내충성 유전자를 가지고 있는 유전자원, 야생종 콩 계통 등을 수집, 조사하여 내충성 유전자원을 평가한다. 한편, 지금까지 콩 톱다리개미허리노린재의 저항성은 일부 포장에서만 평가되어서 검정결과가 지역간, 연차간 변이에 따라 상이한 결과가 나올 가능성이 높다. 이는 안정적인 검정방법이 확립되어 있지 않기 때문이므로 톱다리개미허리노린재에 대한 효과적이고 재현성이 뛰어난 검정체계를 조속히 확립해야 한다. 동시에 지속적인 유전자원 검정으로 내충성을 가진 새로운 유전자원을 발굴하고 유전자 지도 작성을 위한 집단 및 계통에 대한 내충성을 검정하여 내충성 유전자 연관 DNA 마커를 조속히 개발한다.

2. 연구내용

- 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전자원 수집

콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법 확립에 대한 실험결과에 의거하여 지금까지 복합 내충성 콩 계통으로 알려진 우수한 계통, 새롭게 육성된 계통 및 야생콩을 수집하여 이들을 대상으로 저항성 여부에 대해 종합적으로 평가한다. 내충성 콩 계통은 미국 USDA-ARS를 통하여 유전자원을 수집하며 확보 및 검정 대상 유전자원들은 아래와 같다.

대상 내충성 유전자원	
품종	N80-50232, N80-53201, D86-3429, D75-10169, D89-9121, D88-5328, D88-5272, D90-9216, D90-9220, HC-83-123-9, MBB80-133, L86K-73, L86K-96 (13점)
수집계통	PI163453, PI171444, PI171451, PI209837, PI227219, PI227687, PI229358, PI245331, PI336119, PI381660, PI407073, PI407132, PI407300, PI407301, PI417061, PI417136, PI417310, PI423911, PI464935-1 (19점)

- 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법 확립

현재 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법은 확립되어 있지 않다. 특히 해충 저항성은 생태형의 분포가 그 나라 또는 지역마다 다를 수가 있고 지역이나 기주 작물의 품종에 따라서 저항성 반응이 다르기 때문에 이를 고려한 저항성 검정 방법을 확립해야 한다. 우리나라에서 널리 사용하는 콩 장려 품종과 저항성으로 보고된 유전자원을 대상으로 해충의 가해에 따른 저항성 정도를 검정한다. 또한 톱다리개미허리노린재의 사육 및 검정 방법에 대한 체계를 확립한다.

- 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전연구

콩 톱다리개미허리노린재의 저항성 유전 분석을 위하여 PI229358 등 내충성으로 생각되는 유전자원과 감수성인 국내 장려 품종간에 수 개의 교배조합을 작성하고, 이들 조합 중에서 제 2 세부과제의 결과에 의거한 최적점 조합을 선정된 후 이에 대하여 충해정도를 검정하여 저항성 여부를 판단한다. 분리세대에서 저항성에 관여하는 유전자의 수와 유전양식을 분석하고 이를 통해 구명된 각각의 유전양식에 적합한 육종방법을 결정한다.

- 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전자 보유 신 유전자원 발굴

현재 내충성 콩 유전자원은 콩 품종 및 수집 계통의 Glycine max에 한정되어 있다. Glycine max 이외에도 콩의 야생종 등 타 Glycine 속에 대해서도 지속적인 저항성 검정이 필요하다. 본 연구에서는 톱다리개미허리노린재 저항성을 지속적으로 검정하여 새로운 유전자원을 발굴한다.

- 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전자 연관 분자표지 개발

콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전연구에서 채택된 집단 (장려 품종과 내충성 PI 계통의 집단)을 대상으로 톱다리개미허리노린재 저항성 유전자 연관 분자표지를 탐색한다. 2004년도 하계기간중에 서울대에서 교배된 F1 종자를 베트남의 Can Tho 대학교에 송부하여 2004년 동계기간 부터 single seed decent (SSD) 방법에 의하여 세대를 진전시켜 2005년 동계기간중 F2:5 종자를 국내에서 반입하여 한세대 진전하여 종자당 계통화를 시키고, 2006년 포장에서 F2:6를 대상으로 DNA를 채취하고, 내충성을 검정하여 저항성 유전자 연관 표지를 탐색한다. 콩의 연관군이 20개 이기 때문에 연관군당 30~40cM 간격으로 위치하면서 모부분간에 다형성을 보이는 SSR 마커를 6개 정도 선발하여 총 120 여개의 마커를 가지고 최소 120 계통으로 이루어진 집단의 유전자 지도를 완성한다. 각 계통의 표현형과의 관계를 조사하여 저항성 유전자의 위치를 탐색한다. 유전자 효과가 큰 유전자와 연관된 마커가 탐색되면 그 부근을 좀더 세밀화하여 유전자를 동정한다.

- 콩 유전자지도 집단 및 분리집단의 톱다리개미허리노린재 저항성 검정

내충성 저항성 유전자 탐색용 분리집단을 만들기 위하여 교배 모본과 부분으로 이용된 콩 품종에 대해 저항성을 검정함과 동시에 환경에 따른 품종간의 상호작용 효과를 평가한다. 제 3년차에서는 교배 집단 가운데 선발된 교배 모부분과 세대가 진전된 최소 120 계통에 대해 검정을 실시하여 저항성 유전자에 연관된 마커를 탐색, 발굴하고, 뿐만 아니라 여러 집단에서 세대 진전된 계통에 대해서도 톱다리개미허리노린재 저항성을 검정하여 다수의 콩 계통을 선발한다.

- 톱다리개미허리노린재 저항성 콩 계통의 육성

SSD에 의하여 세대가 진전된 후기세대의 집단(조합당 500 계통이상)으로부터 이미 탐색된 DNA 표지인자를 이용하여 확인하고, 검정하여 톱다리개미허리노린재 대한 저항성 콩 계통을 육성한다. 선발방법은 유전자지도에서 탐색된 마커를 대상으로 SSD방법으로 세대가 진전된 분리집단에서 대량으로 선발한다.

제 5절 연구 결과

1. 제 1세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전분석 및 내충성 콩 계통 육성

<1차년도>

가. 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전자 연관 분자표지 개발을 위한 유전 집단 양성

콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전자 탐색을 위한 유전집단 양성은, 복합 내충성 저항성 품종과 국내 재래 품종들의 교배 및 SSD 전개를 통해 수행된다. 이에 대한 연구는 서울대학교 농업생명과학대학 실험 포장 뿐만아니라 베트남 칸토 대학에서 공동으로 수행되고 있다. 현재 베트남 칸토 대학에서 는 F1 종자 획득을 위한 저항성 품종과 국내 감수성 품종간의 교배가 이루어지고 있으며, 교배를 통해 얻은 종자는 F2 세대로 전개되고 있다. 유전집단 제작을 위해서는 우선적으로 충분한 F2 개체수가 필요하며, 이를 위해 계속적인 교배 및 F2 개체가 양성이 진행될 계획이다. 또한 차후 SSD 방법을 이용하여 본 연구 수행에 적합한 유전집단이 만들어 질 것이다. 칸토 대학에서 교배를 통해 얻은 결과는 표 1과 같으며 교배는 정역교배를 실시하였다. 현재 얻어진 F1 종자들은 재 파종 되어 F2세대로 전개되고 있다. Single Seed Decent(SSD) 전개를 위한 F2 개체 양성에 대한 결과는 표 2와 같다.

표 1. 교배를 통해 얻어진 F1 꼬투리수 및 종자 수 (베트남 칸토 대학 실험 포장)

교배조합(정교배)	꼬투리수	종자수	교배조합(역교배)	꼬투리수	종자수
단백콩 X PI171451	10	16	PI171451 X 단백콩	-	-
태광콩 X PI171451	R	R	PI171451 X 태광콩	-	-
풍산나물콩 X PI171451	6	10	PI171451 X 풍산나물콩	2	5
화엄꽃콩 X PI171451	6	9	PI171451 X 화엄꽃콩	-	-
단백콩 X PI227687	-	-	PI227687 X 단백콩	17	44
태광콩 X PI227687	-	-	PI227687 X 태광콩	6	11
풍산나물콩 X PI227687	-	-	PI227687 X 풍산나물콩	2	3
화엄꽃콩 X PI227687	-	-	PI227687 X 화엄꽃콩	4	8
단백콩 X PI229358	1	2	PI229358 X 단백콩	-	-
태광콩 X PI229358	3	6	PI229358 X 태광콩	-	-
풍산나물콩 X PI229358	-	-	PI229358 X 풍산나물콩	-	-
화엄꽃콩 X PI229358	1	2	PI229358 X 화엄꽃콩	-	-
SS-2 X PI548445	-	-	PI548445 X SS2-2	-	-

표 2. 각 교배 조합에 대한 F2 개체수 (베트남 칸토 대학 실험 포장)

교배조합	과종된 line 수	과종 된 F2 line 수	총 F2 개체수
태광콩 X PI171451		25	1504
태광콩 X PI229358		6	239
화엄꽃콩 X PI171451		4	144
화엄꽃콩 X PI229358		5	154
PI227687 X 풍산나물콩		4	139
풍산나물콩 X PI229358		6	310
PI229358 X 단백질		5	147
풍산나물콩 X PI171451		2	69
단백콩 X PI171451		2	104
단백콩 X PI227687		2	68

그림 1. 유전 집단 양성을 위한 F2 개체 재배 사진 (베트남 칸토 대학)



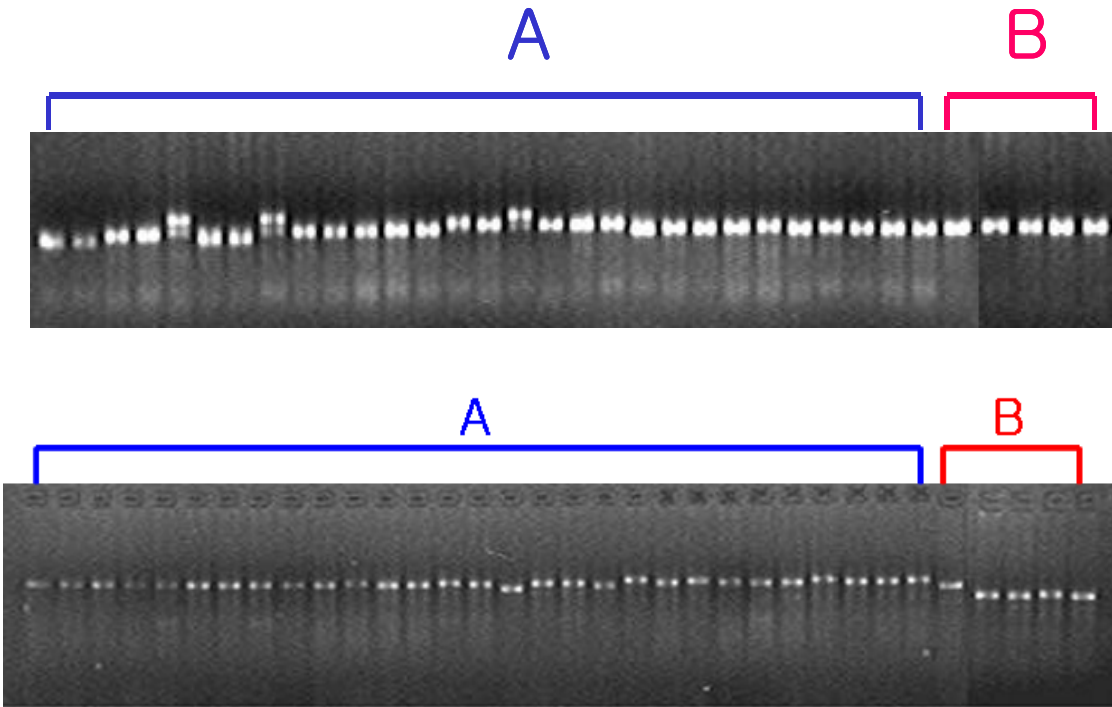
나. 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전연구 및 연관 분자표지 개발

1) 미국 USDA-ARS를 통하여 지금까지 복합 내충성 콩 계통으로 알려진 유전자원 32 점을 분양 받았 으며, 이들 유전자원을 통해 내충성 여부에 대한 종합적인 평가하고자 한다. 이들 유전자원들은 온실에 파종되었으며, 각각의 유전자원으로부터 DNA를 추출하였다 (표 3).

2) SSR marker를 이용하여 Polymerase Chain Reaction(PCR) 과정을 거친 후, 복합 내충성 저항성 유전자원과 국내 장려품종들의 polymorphism 조사를 하였다. 내충성 저항성 유전자원은 총 29점, 국내 장려품종은 총 5점을 이용하였으며, 국내 장려품종은 태광콩, 신팔달콩 2호, SS2-2, 진품콩 2호 그리고 장엽콩을 사용하였다. 본 실험에서는 70여개의 SSR 마커를 사용하였고, 분석은 ABI377 자동염기서열분석기, GeneScan3.1 그리고 Genotyper 2.0 프로그램을 이용하였다. 실험결과 대부분의 SSR 마커에서 내충성 품종들과 감수성 품종들 사이에서 다형현상(polymorphism) 이 나타났다. 이는 내충성 품종들과 감수성 품종들 간에 유전형질의 차이가 있음을 의미하며, 앞으로 두 집단에서 보이는 polymorphism을 바탕으로 톱다리개미허리노린재 저항성 유전자를 탐색하기 위한 유전자 지도를 제작하게 된다 (그림 2와 그림 3).

표 3. USDA-ARS 로부터 분양 받은 복합내충성 유전자원 목록

개체번호	PI 번호	분류군	기원
1	PI572237	<i>Glycine max</i>	미국
2	PI574530	<i>Glycine max</i>	미국
3	PI561575	<i>Glycine max</i>	미국
4	PI561570	<i>Glycine max</i>	미국
5	PI576446	<i>Glycine max</i>	미국
6	PI561573	<i>Glycine max</i>	미국
7	PI561572	<i>Glycine max</i>	미국
8	PI518771	<i>Glycine max</i>	미국
9	PI559365	<i>Glycine max</i>	미국
10	PI559366	<i>Glycine max</i>	미국
11	PI559364	<i>Glycine max</i>	미국
12	PI561403	<i>Glycine max</i>	미국
13	PI561401	<i>Glycine max</i>	미국
14	PI163453	<i>Glycine soja</i>	중국
15	PI245331	<i>Glycine soja</i>	대만
16	PI407073	<i>Glycine soja</i>	일본
17	PI407132	<i>Glycine soja</i>	일본
18	PI407300	<i>Glycine soja</i>	중국
19	PI407301	<i>Glycine soja</i>	중국
20	PI464935	<i>Glycine soja</i>	중국
21	PI171444	<i>Glycine max</i>	중국
22	PI171451	<i>Glycine max</i>	일본
23	PI209837	<i>Glycine max</i>	네팔
24	PI227219	<i>Glycine max</i>	일본
25	PI227687	<i>Glycine max</i>	일본
26	PI229358	<i>Glycine max</i>	일본
27	PI381660	<i>Glycine max</i>	우간다
28	PI417061	<i>Glycine max</i>	일본
29	PI417136	<i>Glycine max</i>	일본
30	PI417310	<i>Glycine max</i>	일본
31	PI423911	<i>Glycine max</i>	일본



(A는 복합 내충성 저항성 유전자원, B는 국내 장러 품종)

그림 2. 복합 내충성 저항성 유전자원과 국내 장러품종간의 SSR 마커 다형성 조사

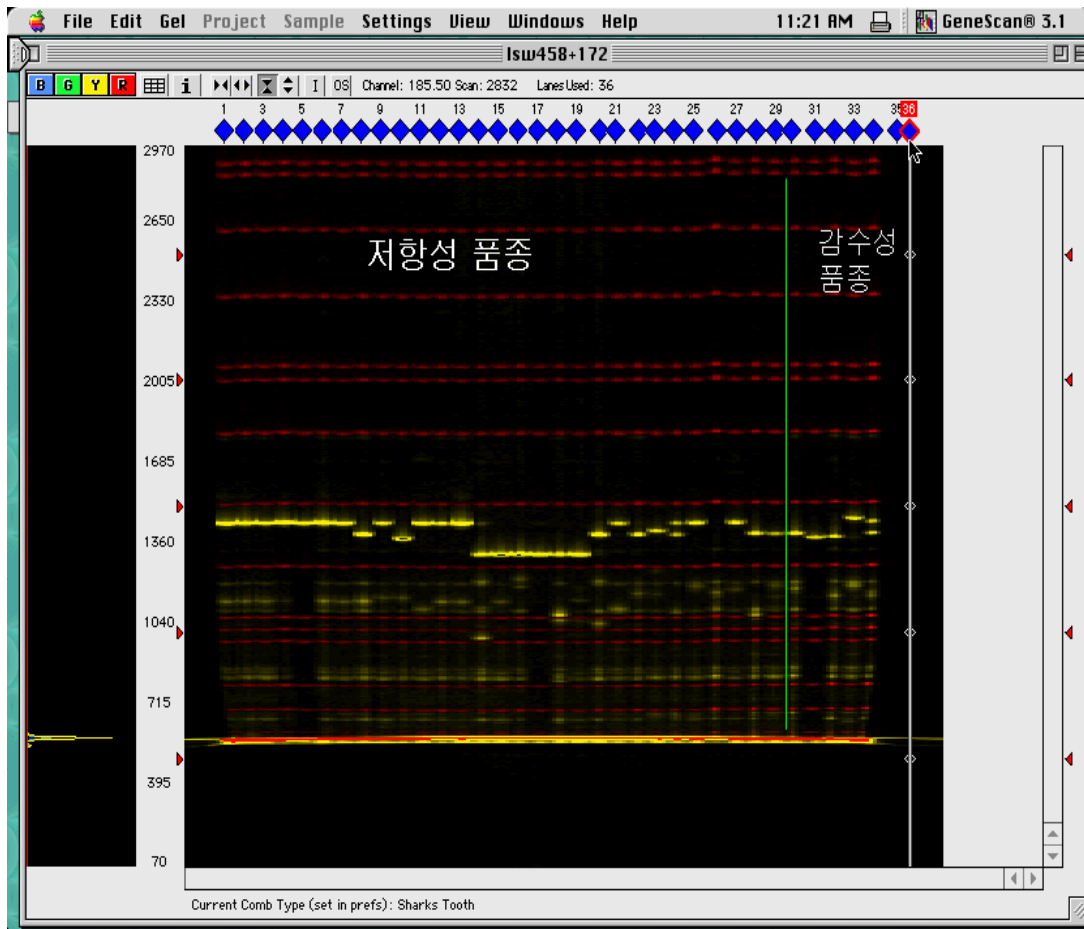


그림 3. ABI377 자동염기서열분석기에서 보이는 각 품종에 대한 SSR 마커의 다형성 현상

3) 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전양식 구명을 위한 추가적인 방법으로 PCR-SSR 기법을 통해 복합 내충성 계통과 감수성 계통들의 유연관계 분석을 하였다. 유연관계 분석은 NTsys 2.1 프로그램을 통해 수행되었다. 마커들에 대한 내충성 및 저항성 품종들의 분리 양상을 토대로 유연관계 분석을 한 결과 여러 서브그룹이 존재하였다. 그림 4에서 볼 때 국내 감수성 품종들 중 태광콩을 제외한 4개의 품종이 하나의 큰 서브 그룹 안에 존재하였다. 이 결과는 내충성 품종들과 저항성 품종들의 유전양식의 차이를 나타내며, 앞으로 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전 기작을 구명하는데 중요한 자료가 될 것으로 생각된다.

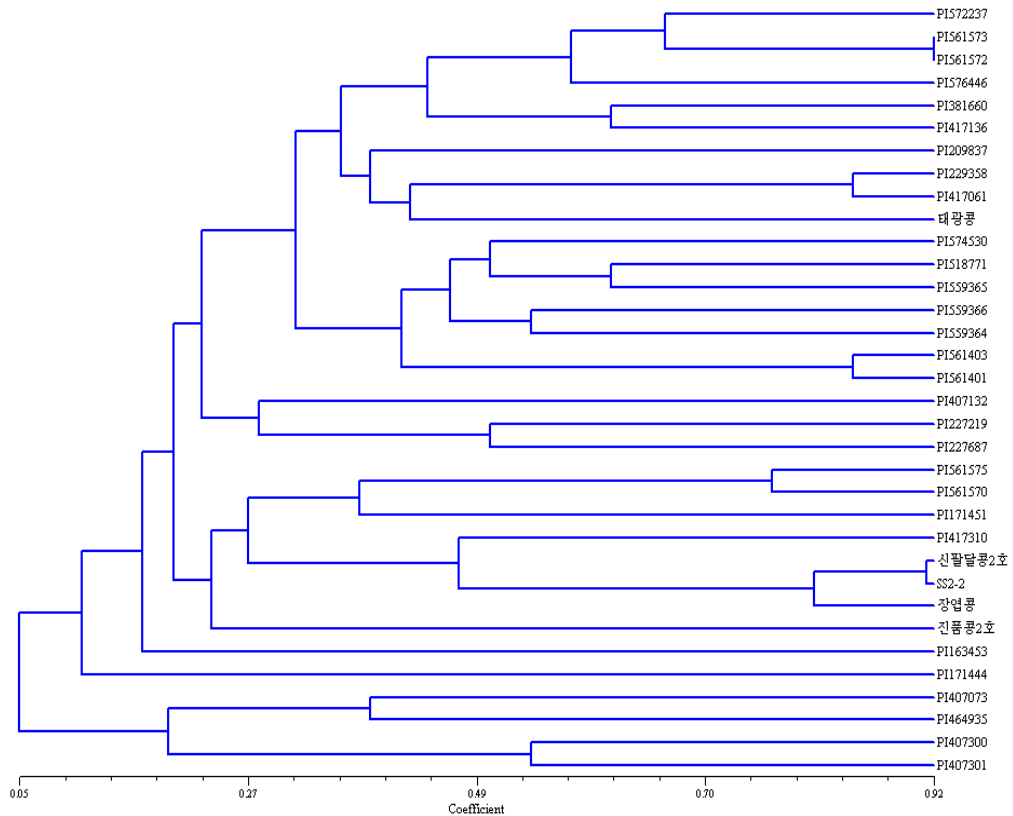


그림 4. 유연관계 분석

<2차년도>

가. 톱다리개미허리 노린재 저항성 유전자 지도 작성을 위한 교배 분리집단 양성

본 연구에서는 향후 노린재 저항성 유전자 지도 작성을 위해 3개의 F5 세대 분리 집단을 사용할 것이다. 이들 집단의 교배 조합은 단백콩 x PI227687, 태광콩 x PI229358 그리고 PI171451 x 화엄꽃콩 등이다. 내 장려 콩 품종들은 거의 대부분 이병성으로 알려져 있고 계획서에서 이미 언급한 바 있는 본 과제에서의 수집계통들(USDA 유전자원은행에서 분양받음)은 타 논문에서 노린재 저항성이 있다고 보고되었다. 그 중 PI227687, PI229358, PI171451는 남쪽풀색노린재에 대한 저항성 및 복합내충성을 나타낸다고 하였다. 이와 같은 문헌조사를 통해 위의 3개 교배 집단을 양성하였다. 이 집단들의 종자를 작년 12월에 베트남 칸토대학교로부터 받아서 서울대 부속농장 온실에 파종하였다. 베트남에서는 고온

과 단일 환경에 의해 세대축진이 빠르게 진전될 수 있지만 충분한 영양생육을 하기 전에 개화하기 때문에 종자의 활력이 그다지 좋지 않았다. 불량한 종자 상태는 종자의 발아율과 직결되므로 세 개의 집단에 대해 각기 350개 종자들을 파종하였지만 대부분 발아율이 40%정도를 나타내었다(표 4). 그러나 여전히 세 집단들의 크기가 100여개 이상이므로 앞으로의 수행할 노린재 저항성 형질의 유전분석과 유전자지도 작성에는 지장이 없을 것으로 생각된다.

이 세 집단들의 모부본뿐만 아니라 후대 개체들에 대해 genomic DNA를 추출하여 SSR 마커 분석에 사용하였다.

표 4. Percentage of germinated seeds in three mapping populations

Cross	No. of seeds	No. of germinated seeds	Percent(%)
단백콩 x PI227687	350	165	47
태광콩 x PI229358	350	120	34
PI171451 x 화염꽃콩	350	130	37

나. 유전자지도 작성을 위한 집단의 모부본간 SSR 마커 다형성 조사

노린재 저항성 연관 SSR 마커를 탐색하기 위한 SSR 마커를 토대로 한 연관지도를 작성하고자 세 집단들의 모부본의 genomic DNA를 가지고 SSR 마커의 다형성 정도를 조사하였다. SSR 마커는 총 224개를 사용하여, 단백콩과 PI227687, 태광콩과 PI229358, 그리고 PI171451과 화염꽃콩간에 SSR 크기 차이를 조사한 결과를 표 5에 나타내었다.

지금까지 총 224개 SSR 마커들의 프라이머들을 제작하였는데 이 프라이머들은 6-FAM (bule), HEX(green), NED(yellow)와 같은 형광표식을 달아서 형광색깔의 구별로 한번에 3개 이상의 마커를 동시에 분석 가능하도록 하여 실험의 효율성을 극대화하였다. SSR 마커 분석을 위한 PCR은 다음과 같은 조건으로 반응액을 조제하였다. 총 5 uL의 반응액에 10ng genomic DNA, 5uM forward + reverse primer, 160uM dNTP, 1x PCR buffer, 0.5U Taq DNA polymerase을 첨가하였다. PCR 반응 조건은 94°C에서 2분간 초기 denaturation를 시킨 다음 94°C에서 30초, 46°C에서 45초, 68°C에서 45초간 28회 반응한 다음 72°C에서 10분간 최종 extension을 하였다. 이렇게 생성된 PCR 산물들은 형광색을 달리하여 3개 이상 혼합한 다음 Hi-Di formamide와 size strandandard을 권장하는 대로 첨가한 후 ABI 3730 자동염기서열분석기를 이용하여 분석하였다.

모부본간 SSR 다형성 분석 결과 내충성 유전자원과 국내 장려 품종들간에 상당한 유전

적 다양성을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 특히 단백콩과 PI227687에서는 사용한 224개의 SSR 마커들 중에서 48%(107개)의 마커가 다형성을 나타내었다. 다른 두 교배조합들, 태광콩 x PI229358과 PI171451 x 화엄꽃콩도 각기 78개와 95개의 다형성을 보이는 SSR 마커들을 나타내었다. 사용된 연관지도 작성 집단들이 높은 SSR 다형성을 나타내는 것은 국내 장려 품종들과 내충성 유전자원들의 기원과 유전적 배경이 상이하다는 것을 의미한다고 할 수 있을 것이다.

3차년도에는 이렇게 다형성을 보이는 마커들을 가지고 후대 개체들에 대해 SSR 마커분석을 실시하여 각 마커들의 allele를 조사한 다음 분리비를 확인하고 MapMaker 프로그램을 사용하여 유전자 지도를 작성할 계획이다. 또한 지속적으로 더 많은 SSR 마커들에 대해 모부분간의 다형성을 조사하여 유전자 지도 작성에 이용할 계획이다.

표 5. Parental polymorphisms of SSR markers in three mapping populations

No.	SSR marker	Parental polymorphism (bp)		SSR marker	Parental polymorphism (bp)		SSR marker	Parental polymorphism (bp)	
		단백콩	PI227687		태광콩	PI229358		PI171451	화엄꽃콩
1	satt185	238	196	satt185	238	235	Sat_038	115	117
2	Satt197	171	134	Satt197	186	183	Satt335	137	148
3	Satt226	318	338	Satt226	323	347	Sat_088	125	151
4	Sat-022	218	218/220	Sat-022	230/232	219	Satt175	173	158
5	Sat_038	113	109	Sat_038	111	123	Satt066	103	159
6	Satt002	122	142	Satt002	142	132	Satt353	169	165
7	Satt014	198	180	Satt050	195	168	Satt545	171	165
8	Satt050	168	171	Satt239	190	193	Sat_069	172	170
9	Satt239	160	190	Satt066	168	109	Sct033	160	172
10	Satt066	156	97	Satt243	231	201	Satt591	123	177
11	Satt243	210	204	Satt251	208	211	Satt050	168	180
12	Satt132	249	243	Satt175	173	158	Satt197	183	186
13	Satt175	173	167	Satt269	234	245	Satt509	231	187
14	Satt269	341	251	Satt134	319	307	Satt565	164	187
15	Satt134	307	325	Satt279	190	193	Satt242	192	189
16	Satt374	211	202	Satt336	171	174	Satt239	134	190
17	Satt335	148	137	Satt496	363	341	Satt279	181	190
18	Satt414	311	302	Satt354	233	237	Sat-022	226	196
19	Satt353	160	169	Satt509	190	231	Satt206	210	207
20	Satt496	348	363	Satt590	318	337	Satt374	202	208
21	Satt354	225	237	Satt513	135	110	Satt243	201	231
22	Satt509	231	187	Satt148	292	301	Satt354	179	235
23	Satt590	318	337	Satt521	257	227	Satt472	247	238
24	Satt513	134	107	Satt229	225/226	201/202	Satt288	236	245
25	Satt148	292	286	Sat_069	160	170	Satt148	289	292
26	Satt229	201/202	178/179	Satt545	180	186	Satt134	322	319
27	Sat_069	152	154	Satt548	212	209	Sat_120	328	330
28	Satt545	189	180/195	Sat_120	349	330	Satt590	334	331
29	Satt548	209	212	Satt565	161	164	Satt226	347	338
30	Satt568	240	259	Satt568	234	240	Satt269	234	341
31	Sct033	138	138/140	Satt242	186	195	Satt496	372	363
32	Satt288	220	248	Satt288	254	230	Sat_003	107/153	107/159
33	Satt591	121	159	Satt154	271	268	Satt229	178/179	201/202
34	Sat_003	107/159	119	Satt202	282	279	Sat_039	118	110

35	Sat_088	151	128	Sat_001	224	232	Sat_033	185/187	118
36	Satt216	219	189	Sat_033	111/179	181/183	Satt411	95	126
37	Satt154	253	268	Sat_108	151	153	Satt380	128	137
38	Satt260	215	257	Satt152	209/210	229/230	Sat_108	153	149
39	Satt202	279	299	Satt244	139	142/158	Satt540	164	155
40	Sat_001	248/250	230	Satt160	246	201	Satt440	194	159
41	Sat_033	199/197	118	Satt172	223	231	Satt216	159	168
42	Sat_108	177	199	Satt236	208	211	Satt524	162	171
43	Satt152	188/189	229/230	Satt173	234	208	Satt190	176	179
44	Satt167	245	251	Satt190	220	182	Satt190	126	179
45	Satt244	205	167	Satt285	204	236	Satt199	160	198
46	Satt160	267	231	Satt431	199	221	Satt160	246	201
47	Satt172	223	231	Satt314	237	240	Satt173	234	208
48	Satt245	214	180	Satt389	229	209/231	Satt188	231	210
49	Satt173	236	208	Satt455	225	223	Satt260	254	212
50	Satt190	220	173	Satt524	197	162	Sat_001	230	212
51	Satt280	232	228	Sat_116	221	162	Satt389	231	212
52	Satt411	95	123	Satt188	231	228	Satt280	232	228
53	Satt292	222	252	Satt332	249	243	Satt431	224	228
54	Satt415	283	292	Satt540	155	164	Satt314	240	237
55	Satt302	253	205	Satt584	129/175	129/166	Satt592	251	239
56	Satt431	230	199	Satt587	162	168	Satt505	236	248
57	Satt314	237	240	Satt190	220	182	Satt292	219	249
58	Satt440	206	185	Sat_133	219	261/263	Satt332	246	249
59	Satt389	231	209	Sat_005	147	134	Satt455	257	252
60	Satt469	139	144	Satt022	170	164	Satt167	266	263
61	Satt524	166	162	Satt041	175	178	Satt159	216	265
62	Sat_039	114	116	Satt135	161	191	Satt584	132/178	132/169
63	Satt551	215/224	230/257	Satt146	308	318	Satt244	158	158/179
64	Satt592	242	251	Satt253	148	151	Satt551	224/254	213/224
65	Satt188	234	231	Satt038	170	167	Satt152	209/210	235/236
66	Satt199	156	168/195	Satt373	223	255	Satt215	134	122
67	Satt584	132/169	129/175	Satt434	348	355	Satt460	139	129
68	Satt587	164	174	Satt442	243	261	Satt477	147	134
69	Satt190	150	160	Satt399	175	172	Satt102	148	145
70	Sct065	160	158	Satt409	185/200	166	Satt253	151	148
71	Satt390	228	222	Satt478	225	230	Satt409	169	150
72	Sat_133	263/265	219	Satt427	174	209	Satt135	191	161
73	Sat_005	160	154/157	Satt501	340	327	Satt022	170	164

74	Satt183	250/251	237/238	Satt530	216	213/237	Satt038	167	170
75	Satt022	158	179	Satt554	262	256	Satt427	209	171
76	Satt215	131	128	Sat_109	162	168	Satt541	178	171
77	Satt041	175/177	177/184	Scaa001	100	111	Satt399	181	172
78	Satt135	164	182	Satt042	169	173	Satt041	181	178
79	Satt143	270	243				Satt181	176	206
80	Satt146	308	315				Satt390	225	222
81	Satt369	234	246				Satt236	213	222
82	Satt253	148	144				Satt478	254	230
83	Satt038	170	167				Satt442	261	234
84	Satt373	223	288				Satt530	216	237
85	Satt434	348	342				Satt428	234	240
86	Satt386	198	165				Satt486	263	245
87	Satt442	240	309				Satt369	243	246
88	Satt399	175	154				Satt516	218	254
89	Satt409	185	200				Satt373	282	276
90	Satt478	233	242				Satt417	287	302
91	Satt427	171	174				Satt146	315	308
92	Satt495	231	231/237				Satt260	224/254	212/224
93	Satt501	350	340/327				Satt546	240/241	216/217
94	Satt516	251	218				Satt596	250/251	247/248
95	Satt571	131/157	128				Sat_133	251	251/253
96	Satt530	222	216						
97	Satt596	259/260	247/248						
98	Satt236	213	222						
99	Satt260	215	230/257						
100	Sat_324	227	239						
101	Satt554	259	277						
102	Satt567	106	109						
103	Satt181	206	176/212						
104	Sat_109	164	174						
105	Satt411	214	160						
106	Satt009	181	175						
107	Satt042	169	153						

다. 톱다리 개미허리노린재 저항성 콩 계통 육성을 위한 집단 양성

콩 톱다리개미허리노린재 저항성 콩 계통 육성을 위한 집단 양성은 복합 내충성 유전자 원들과 국내 재래 품종들의 교배 및 SSD 전개를 통해 수행하였다. 현재까지 베트남 칸토

대학에서는 F1 종자 획득을 위한 저항성 품종과 국내 감수성 품종간에 교배를 하여 얻은 종자를 F2 세대로 전개하였다. F2 세대를 SSD 방법을 이용하여 지속적으로 2-3세대를 더 진전시켰다. 그 결과 양성된 콩 유전집단은 표 6과 같으며 이들 집단의 종자들은 수확되어 지난 동계기간에 국내로 반입되었다. 이들 집단 중에서 유전자 지도 작성에 이용될 집단들은 이미 온실에 파종하여 생육 중에 있으며 나머지 9개 집단들에 대해서는 서울대 부속농장에 파종하여 국내 적응성 검정과 종자증식을 수행하였다.

표 6. Filial generation, seed number and seed weight of 11 soybean populations derived from crosses between Korean cultivars and insect resistant germplasm

No.	Cross	Filial generation	No. of seeds	Seed weight (g)
1	단백콩 x PI227687	5	350	35
2	태광콩 x PI227687	5	350	40
3	PI227687 x 풍산나물콩	4	350	30
4	화엄꽃콩 x PI227687	5	350	51
5	PI171451 x 태광콩	4	350	48
6	PI171451 x 풍산나물콩	4	350	35
7	PI171451 x 화엄꽃콩	4	350	59
8	단백콩 x PI229358	5	350	46
9	태광콩 x PI229358	5	350	50
10	풍산나물콩 x PI229358	4	350	37
11	화엄꽃콩 x PI229358	5	350	52

<3차년도>

가. 톱다리개미허리 노린재 저항성 유전자 지도 작성을 위한 교배 분리집단 양성

본 연구에서 노린재 저항성 유전자 지도 작성을 위해 3개의 F6 세대 분리 집단을 사용하고 하였으나 단백콩 x PI227687과 태광콩 x PI229358 두 RIL 집단에서 SSR 마커의 극심한 segregation distortion 현상이 나타났다. 이것은 SSD에 의한 정상적인 집단 양성 결과라고 생각하기 어려우므로 일단 두 집단을 유전자 지도 작성 연구에서 배제하였다. 따라서 PI171451 x 화엄꽃콩 F5:6세대 한 집단만을 이용하여 유전자 지도 작성 및 농업형질과 노린재 내충성 관련 QTL 분석을 실시하였다. 현재 F6 세대 126계통을 SSD 진전하여 육성하였다.

나. PI171451 x 화엄꽃콩 F5:6 RIL 집단을 이용한 콩 유전자 지도 작성

1) SSR 마커에 대한 모부분간 다형성 조사 및 집단에서 SSR 마커의 분리양상

총 322개 SSR 마커에 대한 PI171451와 화엄꽃콩간의 다형성을 조사하였다. 사용한 SSR primer는 일반적인 SSR primer 153개와 M13 universal sequence를 연결한 SSR primer 169개를 사용하였다. M13 universal sequence를 연결한 SSR primer는 서로 다른 형광 표지로 각각 라벨링하는 기존의 primer 제작 방법을 대신하여 M13 universal primer에 각각 서로 다른 4가지 형광표지를 첨가하는 것이다. M13 universal sequence를 연결한 SSR primer에 PCR 반응 동안 형광 표지 M13 primer가 상보적으로 결합하는 nested PCR 기법을 사용한 것으로 형광 표지 M13 primer를 매 다른 SSR primer에 사용할 수 있으므로 형광표지 SSR primer 제작 비용을 효과적으로 감소시킬 수 있었다(표 7 과 그림 5.). 사용한 primer들 중에서 200종(62.1%)의 SSR 마커에서 양친간 다형성을 나타내었다(표 8).

표 7. M13 universal sequence를 연결한 SSR primer를 사용한 PCR 반응액의 조성

Component	Stock conc.	1 rxn (ul)	Final Conc.
Buffer (w/t 15 mM MgCl ₂)	10 X	0.50	1 X
DNTPs Mix	2.5 mM	0.32	160 uM
Forward primer with M13 tail	2.5 uM	0.50	0.25 uM
Reverse primer	5 uM	0.10	0.1 uM
Fluorescent M13 primer	5 uM	0.10	0.1 uM
Taq DNA polymerase	2 U/ul	0.25	0.5 U
Sterilized TDW	-	2.23	
Template DNA	10 ng/ul	1.00	10 ng
Total		5.00	

그림 5. PCR 수행조건

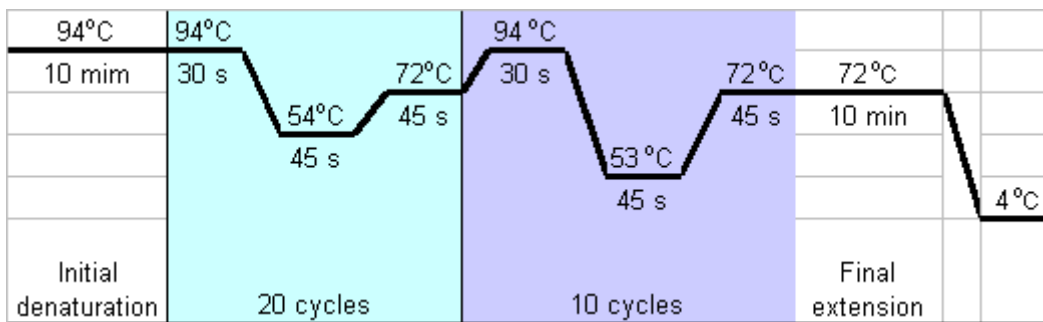


표 8. PI171451와 화엄꽃콩간의 다형성 SSR 마커의 비율

	No. of screened marker	No. of selected marker	Percent(%)
Normal primer	153	94	61.4%
Universal primer	169	107	63.3%
Total	322	201	62.4%

선발된 201개 SSR primer들 중에서 111개 마커들을 가지고 PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단에서 분리 양상을 조사하였다. 본 유전지도 집단은 SSD에 의한 F5 세대로서 이 집단에 대한 마커들의 기대치 분리비는 1:1이므로 카이(x^2) 검정으로 마커들의 분리비를 집

합성검정하였다. 하지만 아직 상당히 높은 수준($P < 0.01$ 에서 38%와 $P < 0.05$ 에서 48%)에서 마커의 분리비가 기대치에 어긋나는 것으로 나타났다(표 9). PI171451과 화엄꽃콩의 유연 관계가 멀어서 RIL F5세대의 유전적 조성이 균일하게 이루어지지 않은 것으로 생각된다. 향후 3-4 세대를 더 진전하면 유전적 조성이 균일해 질 것으로 생각된다.

표 9. PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단에서 1:1 분리비에 어긋난 마커의 수와 퍼센트

	x >3.84*	x >6.64**
No. of markers skewed to PI171451	29	23
No. of markers skewed to Hwaumputkong	20	16
total	49	39
Distortion(%)	48.04	38.24

(*: $P < 0.05$ **: $P < 0.01$)

2) PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단을 이용한 콩 유전자 지도 작성

PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단에 대한 콩 유전자 지도를 제작하였다. MAPMAKER 프로그램 version 3.0을 사용하여 Kosambi map function을 이용하였으며 최소 LOD 값은 3.0으로, 최대 거리는 50cM으로 하였다. 또한 미국 USDA map의 연관군을 기본으로하여 본 유전자 지도를 작성하였다.

본 작성된 유전자 지도에서는 총 111종의 SSR 마커를 이용하였으며 표 10와 그림 6과 같이 총 102개의 마커가 18개의 연관군으로 분류되었다. 측정된 콩 계놈의 크기는 686 cM이었으며 마커간 평균 거리는 6.7 cM으로 나타났다. 콩의 염색체 수는 20개이므로 아직 두 개의 연관군이 만들어지지 못하였고 연관군 B1과 C2는 단지 두개의 SSR 마커만이 위치하고 있어 좀더 많은 마커들을 사용할 필요가 있다.

표 10. PI171451 x 화엄꽃콩 유전자 지도의 특징

Characteristics	PI171451 X Hwaumputkong
SSR loci (NO.)	111
Linked loci (NO.)	102
Linked groups (NO.)	18
Estimated genome size (cM)	686.1
Average two marker interval (cM)	6.73

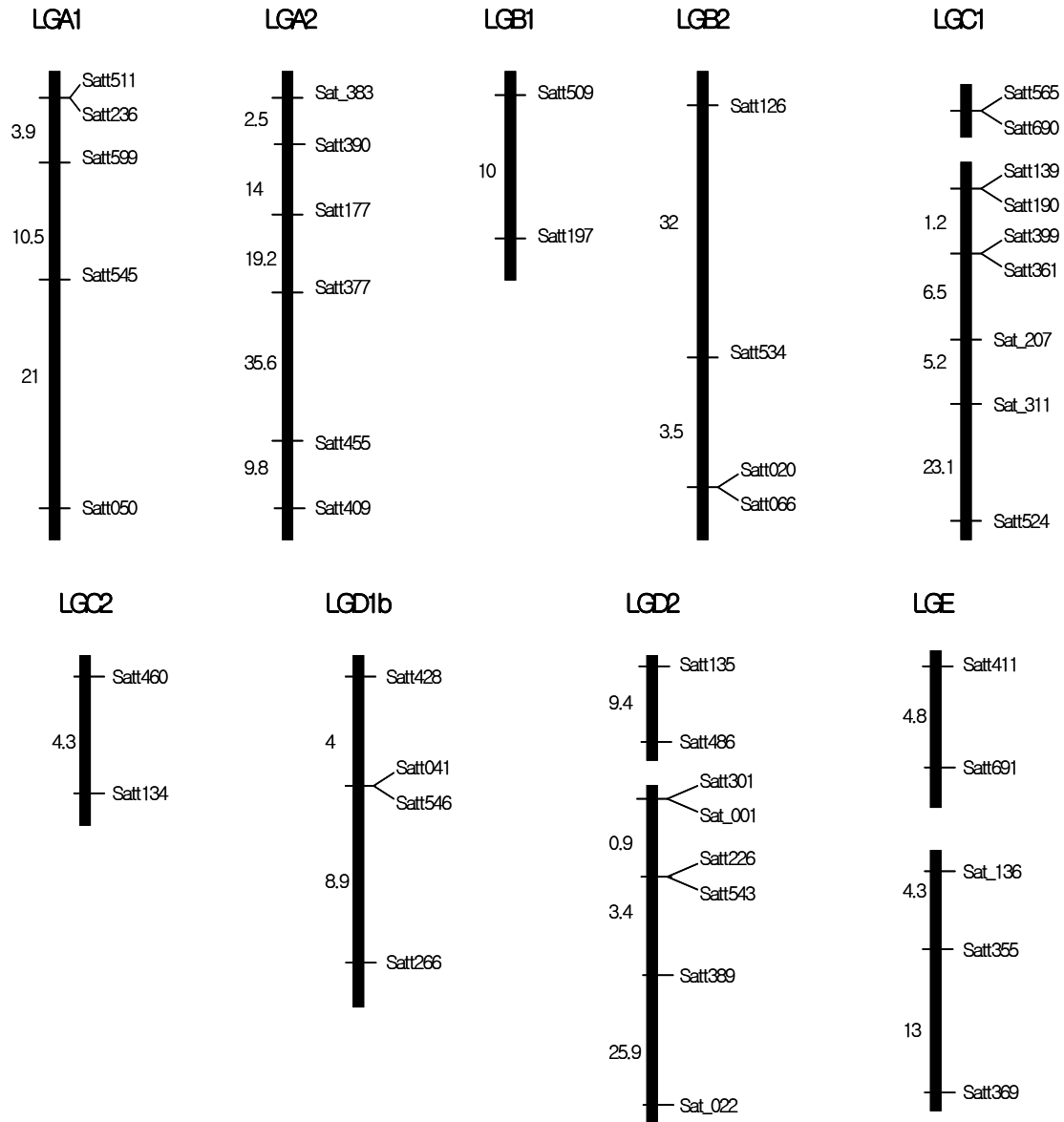


그림 6. SSR 마커를 이용하여 제작된 PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단의 유전자 지도. 지도의 오른쪽에는 마커의 위치를, 왼쪽에는 지도상의 거리를 표시하였다.

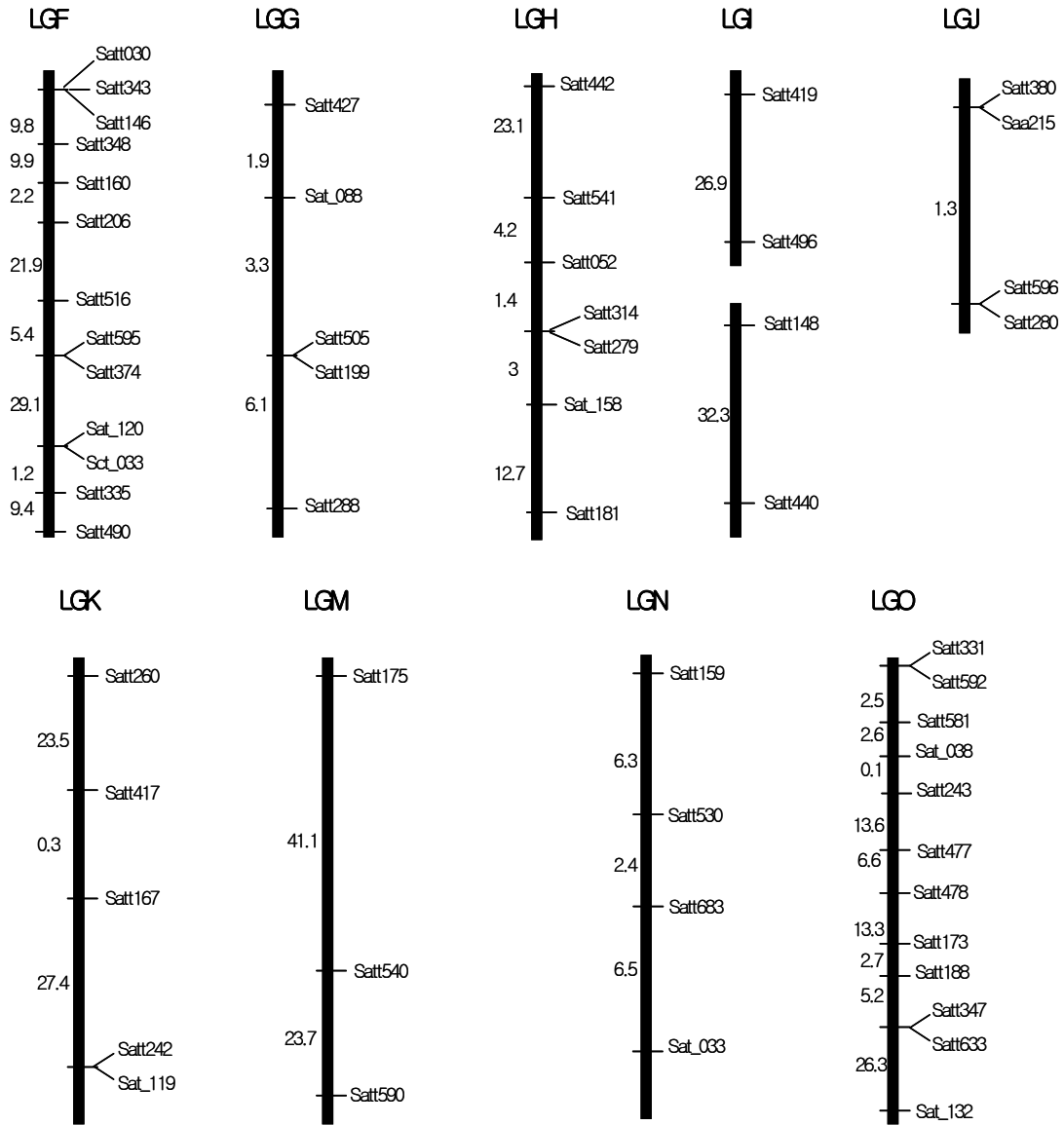


그림 6. 계속

다. 농업 형질과 노린재 내충성 관련 QTL 탐색

1) 농업 형질 유전 조사 (신장, 절간수, 개화기, 성숙기, 100립중)

PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단에서 몇 가지 유용한 농업 형질들의 QTL 분석을 위하여, 신장, 절간수, 개화기, 성숙기, 100립중 등을 조사하였다(표 11). F5 RI 계통마다 10-15 개의 식물체를 대상으로 각 형질에 대해 조사하였으며 2006년 6월 1일에 파종하였고 11월 6일에 수확하였다.

본 RIL 집단에서는 성숙기를 제외한 나머지 형질들에 대해서 거의 정규분포를 나타내었으므로 여러 개의 유전자가 관여하는 양적형질인 것으로 재차 확인할 수 있었다(표 12 와 그림 7-11). 성숙기의 경우, 양친 PI171451과 화엄꽃콩이 크게 차이를 보임과 동시에 후대 RI 집단에서도 두 개의 큰 피크를 관찰할 수 있었다(그림 8). 따라서 이 집단은 향후 성숙기 형질을 조사하는 데에도 유용하게 이용할 수 있을 것이다.

표 11. PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단에서 사용된 농업 형질들에 대한 설명

Trait	ab.	Description
Flowering time (day)	FT	50% plants flowered
Maturity (day)	MD	90% pods yellow
100-seed-weight (g)	SW	
Plant height (cm)	PH	5 plants randomly selected after maturity
Node number	NN	5 plants randomly selected after maturity

표 12. PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단에 대한 개화기, 성숙시, 100립중, 신장, 절간수 데이터

Trait	Parents		RIL	
	PI171451	Hwaumputkong	MeanSD	Range
Flowering time	78.0	54.0	65.8±7.4	54.0~83.0
Maturity	155.0	100.0	147.4±10.7	100.0~155.0
100-seed-weight	13.8	26.7	21.6±3.2	12.6~29.3
Plant height	78.0	33.0	65.8±12.3	33.0~93.0
Node number	13.8	9.2	10.1±2.0	6.0~17.0

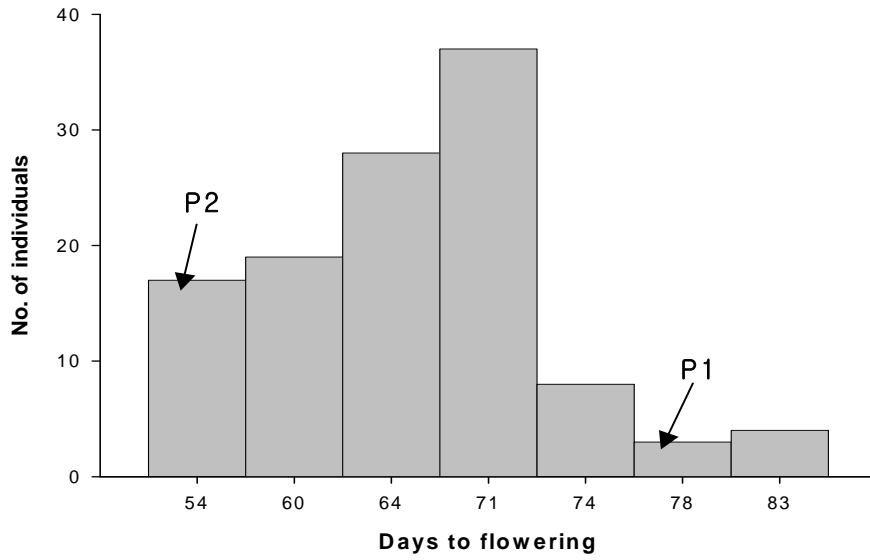


그림 7. Frequency distribution of days to flowering in F5 RILs of PI171451 x Hwaumputkong

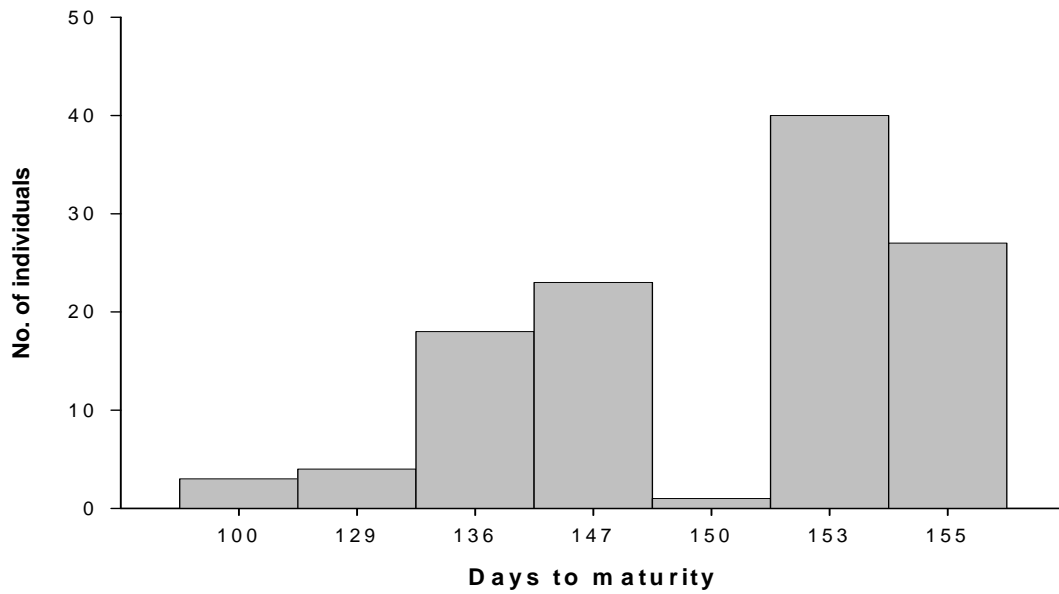


그림 8. Frequency distribution of days to maturity in F5 RILs of PI171451 x Hwaumputkong

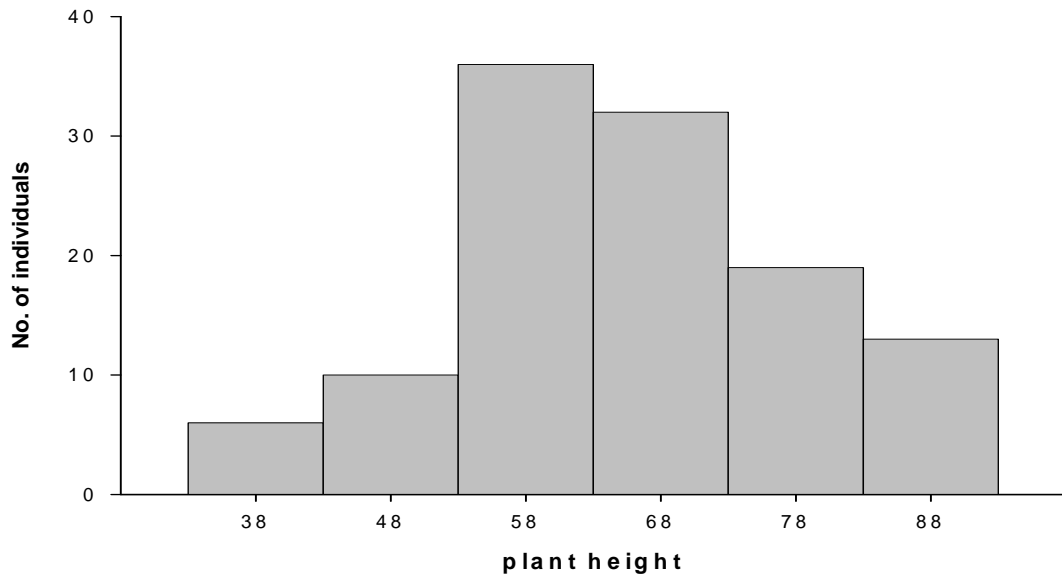


그림 9. Frequency distribution of plant height in F5 RILs of PI171451 x Hwaumputkong

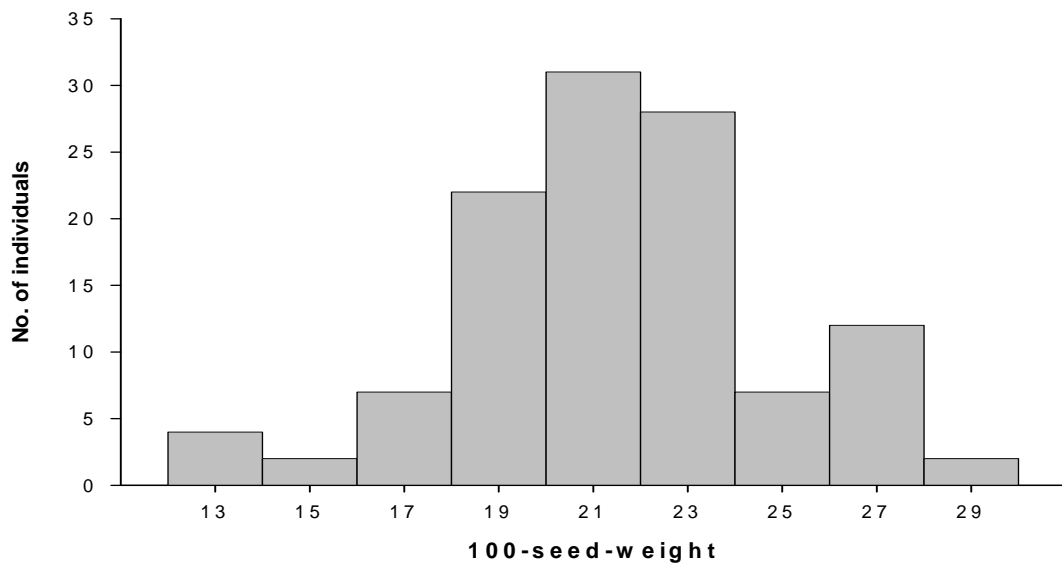


그림 10. Frequency distribution of 100-seed-weight in F5 RILs of PI171451 x Hwaumputkong

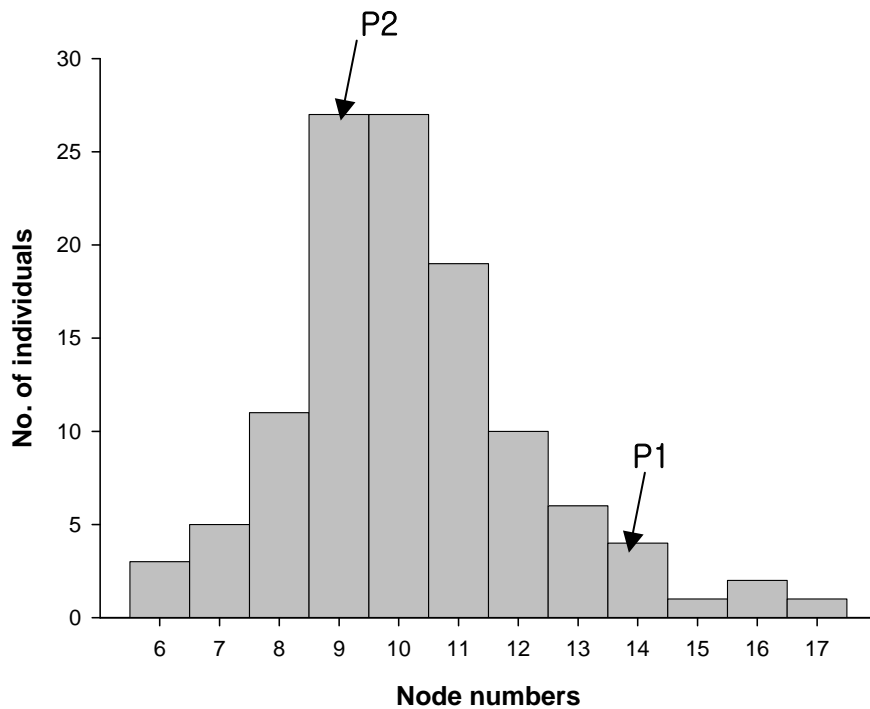


그림 11. Frequency distribution of node number in F5 RILs of PI171451 x Hwaumputkong

2) 노린재 내충성 유전 조사

2006년도 상반기에 RIL 분리집단으로 육성한 단백콩과 PI227687, 태광콩 x PI229358, PI171451 x 화엄꽃콩과 함께 후대 계통들의 종자들을 서울대 곤충실 연구실에 분양하여 노린재 내충성 조사를 의뢰하였다. 하지만 육성한 단백콩과 PI227687, 태광콩 x PI229358, 두 집단에서 아직 유전적 고정미 덜 이루어져 후대의 유전적 비균일성이 두드러져 본 연구에서 mapping population으로서 사용은 불가하다고 판단되었다. 노린재 내충성 QTL 탐색에 이용된 표현형 데이터는 곤충실 연구실로부터 2007년도 4월에 받은 것으로서 PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단의 노린재 내충성 자료만을 이용하였다. 이 조사에서는 PI171451의 피해율(처리구/대조구)은 1.38이고 화엄꽃콩은 1.87로서 화엄꽃콩에서 노린재 감수성이 조금 높게 나타났다(제 2세부과제 연구결과에서 표 12 참조). 본 집단의 RI 계통들의 노린재 피해율은 1.030~0.50이었고 평균피해율 0.759로서 양적형질의 정규분포곡선을 보였다.

3) 농업형질과 노린재 내충성 관여 QTL 탐색

양적형질 유전자좌 탐색을 위하여 QTLmapper version 1.6을 사용하였고 이 프로그램은 composite interval analysis을 원칙으로 하여 양적형질에 관여하는 유전자좌를 동정하고 있다. 분석된 5종류의 농업 형질에 대한 QTL 분석 결과 개화기, 성숙기, 신장에 관여하는 QTL만이 SSR 마커를 통해 탐색되었다. 개화기 QTL는 연관군 F와 O에서, 성숙기는 연관군 O에서, 신장은 연관군 C2와 O에서 동정되었다. 대부분의 QTL이 10%이상의 R^2 값을 나타내었다(표 13). 노린재 내충성 QTL은 연관군 B1의 Satt509-Satt197 사이에서 12%이상의 R^2 값을 나타내었다(표 13). 하지만 LOD 값이 3이하이므로 보다 많은 SSR 마커를 사용하여 유전자 지도의 조밀도를 향상시킨다면 보다 정확한 노린재 내충성 QTL를 탐색할 수 있을 것이다.

그림 12는 PI171451 x 화엄꽃콩 RIL 집단의 유전자 지도에서 개화기, 성숙기, 신장 그리고 노린재 내충성 연관 QTL의 위치를 보여주고 있다. 특히 연관군 O에서는 개화기, 성숙기, 신장 세가지 형질에 대한 QTL이 모두 탐색된 것을 알 수 있으므로 이러한 농업 형질에 밀접한 양향을 미칠 수 있는 여러 유전자들이 위치하고 있음을 간접적으로 보여주는 것으로 설명할 수 있다.

표 13. The identified QTLs linked to FT, MD, PH and *Riptortus* resistance in the RIL population of PI171451 X Hwaumputkong

Trait	Interval	LG	QTL ab.	LOD	A	R^2
Flowering time	Satt516-Satt595	F	QFT	3.53	2.5401	0.1113
	Satt581-Sat_038	O	QFT	4.68	3.0866	0.1132
Maturity	Satt592-Satt581	O	QMD	4.24	4.6938	0.1173
Plant height	Satt460-Satt134	C2	QPH	7.57	7.0609	0.2280
	Satt581-Sat_038	O	QPH	3.20	4.5097	0.1020
Riptortus resistance	Satt509-Satt197	B1	QRR	2.78	0.0624	0.1254

A : additive genetic effects estimated at the testing points

R^2 partial determination coefficients of the selected main-effect markers

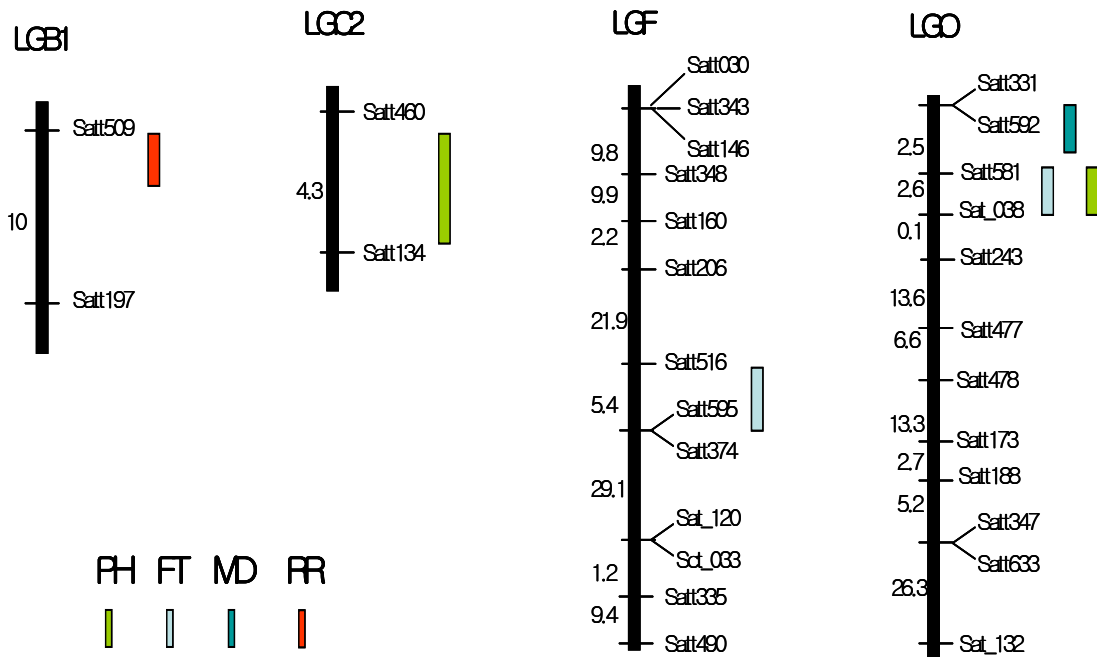


그림 12. PI171451 x 화염꽃콩 RIL 집단의 유전자 지도에서 탐색된 개화기, 성숙기, 신장, 그리고 노린재 내충성 연관 양적형질유전자들의 위치

4) 노린재 저항성 콩 계통 육성

콩 톱다리개미허리노린재 저항성 콩 계통 육성을 위한 집단 양성은 복합 내충성 유전자원(PI227687, PI229358, PI171451)들과 국내 재래 품종들(단백콩, 태광콩, 화염꽃콩)의 정역 교배 및 SSD 전개를 통해 수행하였다. 베트남 칸토 대학에서는 육성된 11개의 RIL 분리 집단을 2006년도 5-6월에 서울대 부속농장에 파종하여 국내 적응성 검정과 종자증식을 수행하여 F₆ 세대 종자를 수확하였다.

이들 집단중 PI171451 x 화염꽃콩과 단백질 x PI227687의 RI 계통에 대한 노린재 피해율 조사가 제 2세부과제에 의해 수행되었다. 이 검정 결과 PI227687은 상당히 높은 노린재 저항성을 나타내었고, PI171451은 중정도의 저항성을 가진 것으로 나타났다. 국내 장려 품종들은 모두 노린재에 대해 감수성을 보이는 것으로 확인되었다. 두 집단의 RI 계통들의 노린재 피해율은 표 14와 같고 이들 중 피해율(처리구/대조구)이 0.6이하의 낮은 수치를 보이는 계통들을 집단별로 총 20계통을 선발하였다. PI171451 x 화염꽃콩 교배집단으로부터 17H43, 17H4, 17H20, 17H65, 17H116, 17H6, 17H92, 17H95, 17H37, 17H79 등 10계

통을 선발하였고, 단백콩 x PI227687 교배집단으로부터는 22D109, 22D12, 22D100, 22D86, 22D92, 22D37, 22D51, 22D54, 22D90, 22D17 등 10계통을 선발하였다 (표 15). 이 계통들은 2007년 춘계기간에 서울대 부속농장에 파종하여 다른 농업적 우량 형질들(초형, 초장, 수확기, 수량, 품질 등)에 대한 조사를 통해 우량 계통으로 육성할 계획이다. PI171451과 PI227687은 극만생종으로서 우리나라 재배에 상당한 어려움이 있으므로 생육적응성검정시험을 통해 우리나라에 적합한 숙기를 가진 계통들에 대해 면밀한 조사를 할 예정이다. 선발된 노린재 내충성 콩 20계통들은 지속적인 유전적 고정과정을 통해 우량 계통들은 직접적인 품종으로 개발할 수 있을 뿐만 아니라 향후 다른 품종 육성을 위한 중간 모본으로 사용할 수 있을 것이다.

표 14. PI171451 x 화엄꽃콩과 단백콩 x PI227687의 RIL 집단의 노린재 저항성 검정

PI171451 x 화엄꽃콩					단백콩 x PI227687				
RIL No.	피해율	group	노린재 처리구	대조구	RIL No.	피해율	group	노린재 처리구	대조구
42	1.030	a	0.735	—	61	1.571	a	1	—
22	1.016	ab	0.7	0.159	127	1.224	b	0.573	0.254
41	1.006	a~c	0.693	0.267	121	1.189	bc	0.829	0.444
119	0.993	a~d	0.684	0.222	95	1.156	b~d	0.837	—
74	0.981	a~e	0.656	—	53	1.088	b~e	0.7	0.184
98	0.961	a~f	0.671	0.125	9	1.086	b~e	0.775	0.058
80	0.954	a~g	0.664	0.169	72	1.085	b~e	0.776	0.414
93	0.923	a~h	0.608	0.216	32	1.076	b~e	0.766	0.331
54	0.918	a~i	0.63	0.366	85	1.061	b~f	0.712	0.200
60	0.910	a~j	0.618	0.958	99	1.023	b~g	0.729	0.269
2	0.883	a~k	0.597	0.482	36	1.011	b~h	0.713	0.596
109	0.875	a~l	0.584	0.389	10	1.004	b~i	0.706	0.419
56	0.865	a~m	0.579	—	115	0.958	b~j	0.651	0.458
48	0.860	a~m	0.571	0.283	58	0.928	b~k	0.634	0.241
63	0.846	a~m	0.559	0.278	118	0.927	b~k	0.629	0.287
118	0.845	a~m	0.549	0.390	35	0.924	b~k	0.635	0.259
69	0.843	a~m	0.542	0.309	71	0.919	b~l	0.628	0.259
16	0.827	a~m	0.536	0.500	108	0.919	b~l	0.632	0.163
18	0.823	a~m	0.534	0.206	97	0.918	b~l	0.619	0.289
1	0.811	a~m	0.519	0.402	74	0.914	b~l	0.602	0.174
67	0.810	a~m	0.523	0.217	98	0.901	b~l	0.613	0.237
82	0.810	a~m	0.525	—	48	0.891	b~l	0.604	0.235
86	0.808	a~m	0.522	0.217	7	0.889	b~l	0.588	0.348

94	0.806	a~m	0.517	0.222	20	0.886	b~l	0.6	—
112	0.802	a~m	0.517	0.543	16	0.883	b~l	0.595	0.232
25	0.801	a~m	0.516	0.370	62	0.875	b~l	0.589	0.529
90	0.799	a~m	0.514	0.250	89	0.867	b~l	0.581	0.070
68	0.791	a~m	0.506	0.233	84	0.862	b~l	0.575	0.144
57	0.790	a~m	0.505	0.213	125	0.858	b~l	0.388	0.273
21	0.783	a~m	0.498	0.367	29	0.856	b~l	0.57	0.464
59	0.778	a~m	0.493	0.347	101	0.855	b~l	0.57	0.100
39	0.777	a~m	0.499	0.359	119	0.855	b~l	0.57	0.358
45	0.777	a~m	0.492	0.553	114	0.834	b~l	0.549	—
9	0.775	a~m	0.491	0.192	93	0.824	c~l	0.538	0.320
40	0.775	a~m	0.491	0.481	76	0.822	c~l	0.536	0.560
96	0.759	a~m	0.471	0.301	41	0.821	c~l	0.535	—
62	0.756	a~m	0.474	0.299	83	0.821	c~l	0.536	0.151
12	0.755	a~m	0.472	0.189	102	0.82	c~l	0.535	—
13	0.745	a~m	0.46	0.224	107	0.82	c~l	0.531	0.177
85	0.744	a~m	0.46	0.282	79	0.818	c~l	0.533	0.126
55	0.739	a~m	0.455	0.347	64	0.815	c~l	0.53	0.252
7	0.736	a~m	0.452	0.500	40	0.8	c~l	0.515	—
84	0.735	a~m	0.45	0.203	69	0.8	c~l	0.515	0.517
36	0.727	a~m	0.443	0.161	44	0.799	c~l	0.515	0.625
3	0.724	a~m	0.44	—	49	0.783	d~l	0.494	0.586
33	0.717	a~m	0.433	—	31	0.781	d~l	0.496	—
49	0.716	a~m	0.432	0.128	50	0.776	d~l	0.49	0.391
28	0.715	a~m	0.432	0.024	78	0.774	d~l	0.491	0.222
104	0.710	a~m	0.438	0.667	4	0.771	d~l	0.488	0.366
17	0.709	a~m	0.426	0.312	75	0.765	d~l	0.48	0.211
11	0.705	a~m	0.423	0.372	57	0.761	d~l	0.48	0.471
103	0.703	a~m	0.429	0.224	6	0.759	d~l	0.475	0.188
38	0.699	a~m	0.417	0.265	45	0.758	d~l	0.473	—
75	0.699	a~m	0.42	0.278	14	0.753	d~l	0.768	0.439
27	0.697	a~m	0.413	0.167	11	0.75	e~l	0.467	0.468
64	0.697	a~m	0.413	0.200	25	0.749	e~l	0.466	—
47	0.696	a~m	0.412	0.401	110	0.749	e~l	0.465	—
117	0.693	a~m	0.41	—	82	0.748	e~l	0.463	0.289
26	0.689	a~m	0.405	0.384	111	0.748	e~l	0.461	0.416
70	0.689	a~m	0.405	0.509	13	0.746	e~l	0.461	0.250
73	0.689	a~m	0.405	0.208	42	0.741	e~l	0.456	0.096
89	0.689	a~m	0.406	0.311	65	0.741	e~l	0.456	0.155
30	0.688	a~m	0.405	0.298	105	0.741	e~l	0.457	—

61	0.681	a~m	0.398	0.162	87	0.74	e~l	0.456	0.306
51	0.679	a~m	0.395	0.411	103	0.735	e~l	0.45	0.256
32	0.677	a~m	0.393	—	96	0.73	e~l	0.448	0.427
105	0.672	a~m	0.39	0.101	88	0.719	e~l	0.436	0.200
34	0.669	a~m	0.385	—	112	0.717	e~l	0.434	0.298
107	0.665	b~m	0.384	0.156	67	0.716	e~l	0.431	0.231
91	0.658	b~m	0.375	0.299	5	0.711	e~l	0.427	—
50	0.656	b~m	0.372	0.205	56	0.711	e~l	0.426	0.550
101	0.655	b~m	0.374	—	68	0.709	e~l	0.426	0.207
108	0.654	b~m	0.374	0.164	21	0.707	e~l	0.426	0.292
5	0.653	b~m	0.37	0.183	2	0.698	e~l	0.415	0.077
100	0.653	b~m	0.37	0.823	3	0.693	e~l	0.409	0.161
71	0.652	c~m	0.375	0.326	1	0.692	e~l	0.508	0.467
113	0.651	c~m	0.37	0.171	26	0.691	e~l	0.407	0.332
87	0.642	c~m	0.361	0.326	94	0.69	e~l	0.406	0.341
111	0.642	d~m	0.359	—	47	0.686	e~l	0.407	0.173
44	0.637	d~m	0.362	0.083	122	0.685	e~l	0.402	—
14	0.634	d~m	0.356	0.156	120	0.668	f~l	0.385	0.190
76	0.633	d~m	0.351	—	19	0.663	f~l	0.383	0.317
115	0.631	d~m	0.349	0.425	59	0.663	f~l	0.38	0.228
83	0.625	e~m	0.346	0.222	106	0.661	f~l	0.38	0.417
52	0.614	f~m	0.341	0.410	15	0.659	f~l	0.384	—
19	0.610	f~m	0.332	0.531	124	0.658	f~l	0.551	0.615
72	0.610	f~m	0.328	0.129	46	0.653	g~l	0.372	0.254
77	0.608	f~m	0.327	0.197	116	0.653	g~l	0.371	—
10	0.594	g~m	0.315	0.176	34	0.651	g~l	0.368	0.265
58	0.585	h~m	0.309	0.286	18	0.64	g~l	0.36	0.208
66	0.581	h~m	0.302	0.194	81	0.64	g~l	0.394	—
31	0.580	h~m	0.303	0.328	23	0.625	g~l	0.345	0.059
79	0.576	h~m	0.298	0.138	43	0.621	g~l	0.344	0.373
37	0.559	i~m	0.282	0.192	80	0.608	h~l	0.328	—
95	0.558	i~m	0.282	0.318	17	0.605	h~l	0.328	0.183
92	0.554	i~m	0.288	0.203	90	0.603	i~l	0.324	0.226
6	0.553	j~m	0.283	0.276	54	0.602	i~l	0.324	—
116	0.538	k~m	0.264	0.275	51	0.596	j~l	0.316	0.425
65	0.534	k~m	0.261	0.293	37	0.588	j~l	0.312	0.306
20	0.530	k~m	0.258	0.619	92	0.584	j~l	0.313	0.462
4	0.513	lm	0.245	—	86	0.553	j~l	0.276	0.238
43	0.505	m	0.235	0.282	100	0.538	kl	0.285	0.061
					12	0.537	kl	0.263	—

					109	0.513	1	0.242	—
--	--	--	--	--	-----	-------	---	-------	---

표 15. PI171451 x 화엄꽃콩과 단백콩 x PI227687의 RIL 집단에서 선발된 노린재 저항성 계통들

집단	PI171451 x 화엄꽃콩	단백콩 x PI227687
계통명	17H43, 17H4, 17H20, 17H65, 17H116, 17H6, 17H92, 17H95, 17H37, 17H79	22D109, 22D12, 22D100, 22D86, 22D92, 22D37, 22D51, 22D54, 22D90, 22D17
계통수	10계통	10계통

2. 제 2 세부과제: 콩 톱다리개미허리 노린재 저항성 검정법 확립 및 내충성 평가 (서울대 이준호)

< 연구방법 >

1. 톱다리개미허리노린재의 사육환경 구명

1) 톱다리개미허리노린재의 약충 온도발육실험을 통한 최적 사육온도의 구명

톱다리개미허리노린재 사육을 위한 최적의 온도 조건을 결정하기 위하여, 7개의 온도 조건(19.7, 21.3, 25.3, 27.4, 30.4, 33.8, 36.7℃)을 이용하여 알과 약충의 온도발육실험을 실시하였다. 실험에 사용된 톱다리개미허리노린재는 2003년 11월 대구사과연구소에서 분양받아 서울대학교 곤충생태실험실의 사육실에서(25±1℃, RH 50-60%)에서 콩(백태)을 이용하여, 누대 사육된 개체를 공시충으로 사용하였다. 산란된지 1일 이내의 알을 실내 사육개체군에서 채집하여, 7개 온도 조건의 항온조건에서 발육기간을 조사하였다(그림 1a). 온도별로 알의 부화여부와 알기간을 조사한 후, 부화된 1령 유충을 개체별로 플라스틱 인공사육용기(그림 1b, 지름 10cm x 높이 3cm)에 넣고 콩(백태)과 물을 공급하면서 사육하여 매일 약충의 탈피여부를 조사하였다. 이때 상대 습도 조건은 50-70%정도로 일정하게 유지되었으며, 광조건은 16L:8D였다.



a



b

그림 1. 톱다리개미허리노린재 약충 온도 발육 실험. a. 항온기속 인공 사육 용기 배치 모습. b. 인공 상육 용기 속의 톱다리개미허리노린재 약충.

2) 분석 및 모델적용

온도와 발육의 선형모델은 온도별 발육기간을 역수로 변환하여 발육속도로 바꾼 후 각 영기별 발육속도를 PROC REG (SAS 1999)를 이용하여 직선회귀식을 구하였다. 구해진 발육영점온도는 발육속도 직선 회귀식에서 발육속도가 0이 되는 온도로 정하였다. 유효적산온도는 각 영기별로 구하여진 직선회귀식의 기울기 값의 역수(1/기울기)를 계산하여 얻었다. 비선형발육속도모델은 각 사육온도별 평균발육기간에 대한 조사결과를 extreme value function (Kim and Lee 2003)에 적용하였으며, 식은 다음과 같다.

$$f(T) = a \cdot e^{\left[1 + \frac{(b - T_c)}{k} - e^{\frac{(b - T_c)}{k}}\right]}$$

여기서 $f(T_c)$ 는 발육속도를 나타내며, T_c (C)는 최고 발육속도를, b 최고 발육속도가 나타나는 온도를 그리고 k 는 식에서 구해지는 파라미터이다. 모델식의 파라미터는 PROC NLIN (SAS 1999)를 이용하여 구하였다. 발육기간의 분포양상에 관한 온도모델을 얻기 위해 degree-day를 이용하여 각 발달단계내의 온도별 분포양상을 표준화 하였다. 표준화된 분포양상은 다시 Weibull function(Cockfield et al. 1994)을 이용하여 모델화 하였다. 모델 식은 다음과 같다.

$$F (px) = 1 - \exp[- (px / \alpha)^\beta]$$

여기서 $F(px)$ 는 degree-day px 에 탈피한 개체의 누적빈도의 비율을 나타내며, a 와 β 는 식에서 구해지는 파라미터들이다.

3) 톱다리개미허리노린재의 최적 먹이 선발 실험.

톱다리개미허리노린재의 실험실 사육 시 대상 곤충의 산란력과 생육기간에 가장 좋은 영향을 미치는 먹이를 찾아보기 위하여 먹이 선발 실험을 수행하였다. 지금까지 톱다리개미허리노린재의 사육에 쓰인 콩 품종은 대부분 백태였으며, 이 품종에 의한 사육은 대체로 용이하게 이루어져 온 실정이다. 그러나, 좀 더 과학적이고 체계적이며 효율 높은 사육 기술을 개발하기 위해서는 보다 적합한 먹이를 찾는 것이 필수적이라고 할 수 있을 것이다. 실험에 사용된 콩은 실제 시장에서 구하기 용이한 콩 중에서 가격면에서 경쟁력이 있다고 생각되는 품종을 8종 선정하였다 (표 6). 실험에 사용된 톱다리개미허리노린재는 2003년 11월 대구사과연구소에서 분양 받아 서울대학교 곤충생태실험실의 사육실에서($25\pm 1^\circ\text{C}$, RH 50-60%)에서 콩(백태)을 이용하여, 누대 사육중인 개체군을 공시충으로 사용하였다. 알에서 부화한지 1일 이내의 1령 약충을 실내 사육 개체군에서 채집하여, 각 개체별로 플라스틱 인공사육용기(지름 10cm x 높이 3cm)에 넣고 각각의 지정된 품종의 콩과 물을 공급하였다. 각 사육 용기는 온도 $28\pm 1^\circ\text{C}$, 상대 습도 50-70%, 광주조건 16L:8D의 항온기에 서 유지하였고, 매일 각 약충의 탈피여부와 사망여부를 조사하였다. 각 콩 품종이 톱다리개미허리노린재 약충의 발달기간, 성충의 생존기간, 산란력등에 미치는 영향에 차이가 나타나는 것을 알아보기 위해 ANOVA 분석을 실시하였고, 각 콩 품종 간 비교는 Duncan 다중검정을 이용하였다.

2. 실내에서 톱다리개미허리노린재의 저항성검정실험

1) 콩 품종 별 톱다리개미허리노린재 약충의 발육기간

실험에 사용된 톱다리개미허리노린재는 2003년 11월 대구사과연구소에서 분양 받아 서울대학교 곤충생태실험실의 사육실에서($25\pm 1^\circ\text{C}$, RH 50-60%)에서 콩(백태)을 이용하여, 누대 사육중인 개체를 공시충으로 사용하였다. 알에서 부화한지 1일 이내의 1령 약충을 실내 사육 개체군에서 채집하여, 각 개체별로 플라스틱 인공사육용기(지름 10cm x 높이 3cm)에 넣고 각각의 지정된 품종의 콩과 물을 공급하였다. 각 사육 용기는 온도 $28\pm 1^\circ\text{C}$,

상대 습도 50-70%, 광조건 16L:8D의 항온기에 넣어져 유지되었고 각 약층은 매일 그 탈피여부와 사망여부가 조사되었다 (그림 1). 실험은 품종별로 12 - 60 반복 하였다. 콩 품종의 노린재 성장기간에 대한 영향여부는 ANOVA분석을 통하여 통계학적 유의성을 검정했으며, 각 품종간의 차이는 Duncan 다중검정을 이용하여 판별하였다.

3. 온실에서 톱다리개미허리노린재의 저항성검정실험 및 저항성 검정법 확립

1) 톱다리개미허리노린재의 가해에 따른 콩의 품종별 피해도 조사

톱다리개미허리노린재의 가해에 따른 콩의 종자별 피해도 조사 실험을 위하여 콩 30품종을 플라스틱 포트(지름 20cm, 높이 30cm)에 포트 당 한 종자씩을 심어 이용하였다. 실험디자인은 30 (종자) x 3 (접종 시기) 완전임의요인 배치법을 이용하였으며 총 5반복 하였다. 톱다리개미허리노린재의 접종 시기는 콩의 생육 단계중 꼬투리 형성 완료기인 R4와 콩 비대기인 R6 시기로 하였으며, 접종시 톱다리개미허리노린재 발육단계는 3~4령 약층으로 포트당 6마리를 접종하였다. 톱다리개미허리노린재 접종시기는 콩 종자간 또는 콩 개체 간의 생육시기에 따른 차이를 줄이기 위해 각 콩의 개체별 생육 정도를 조사하여 콩 개체가 미리 지정된 R4단계 또는 R6단계에 이르면 톱다리개미허리노린재를 접종하였고 망사케이지를 씌워 노린재의 탈출을 방지하였다(그림 2). 접종한 톱다리개미허리노린재는 접종 12일 후 제거하였다. 제거 후에는 다른 곤충에 의한 피해를 최소화하기 위하여 망사케이지를 수확 때까지 유지하였다. 수확한 꼬투리는 형성된 모든 씨방에 과실이 차면 정상, 하나라도 과실이 차지 못한 개체는 피해꼬투리로 구분하였다. 수확한 콩은 48시간 건조 시킨 후, 육안조사와 현미경을 통하여 조사하였으며 종자의 피해정도에 따라 정상인 개체(A), 형태와 크기는 정상이나 흠집 자국이 있는 개체(B), 크기와 형태에 기형이 있는 개체(C), 여물지 못하여 종자로 보기 어려운 개체(D)로 나누었다. 톱다리개미허리노린재에 의한 피해 정도를 나타내는 여러 가지 지수가 품종 차이에 의해 영향을 받는지 여부를 ANOVA분석 통하여 알아본 후, Duncan 다중검정을 이용하여 품종 간 비교하였다.



그림 2. 온실 내 톱다리개미허리노린재의 가해에 따른 콩의 종자별 피해도 조사 전경.

2) 온실에서 각 콩 품종에 따른 톱다리개미허리노린재의 선호도 조사

톱다리개미허리노린재의 콩에 대한 품종별 선호도를 조사하기 위하여 총 30개의 콩 품종을 플라스틱 포트(지름 20cm, 높이 30cm)에 포트 당 한 종자씩, 총 240포트를 심어 이용하였다. 실험은 서울대학교 실험포장 내 유리온실에서 실시되었으며, 실험 배치는 난 피법을 이용하였다. 먼저 한 구역 당 30품종 5줄 6열로 임의 배치한 후 각 구역 간 톱다리개미허리노린재의 이동을 막기 위하여 각 구역별로 망사케이지(180cm * 260cm * 190cm)를 씌웠다. 톱다리개미허리노린재의 접종 시기는 콩의 생육 단계 중 콩 비대기인 R6 시기로 하였다. 톱다리개미허리노린재 접종 시 각 품종 간 생육시기를 일치시키기 위하여, 전체 콩 품종을 생육 속도에 따라 3개 그룹으로 나눈 후, 생육속도가 느린 그룹부터 1주일 간격으로 재식하였다. 전반적으로 재식한 콩이 접종 적정시기(R6)가 되었을 때, 240개의 포트 중 생육이 비슷한 120개체를 선발한 후, 선발된 각 개체의 꼬투리 수를 10개로 통일 하기위하여 발달 된 꼬투리 수가 10개 이상일 경우 초과분의 꼬투리는 제거한 후 실험을 실시하였다. 구역 당 100마리의 톱다리개미허리노린재 성충을 접종하였으며, 접종 12일 후, 접종된 노린재는 살충제를 뿌려 1차 제거하였으며, 2차적으로 육안 조사를 통하여 생사 여부를 조사한 후 생존 개체를 제거하였다. 톱다리개미허리노린재를 제거 한 후 다른 곤충에 의한 피해를 최소화하기 위하여 망사케이지를 수확 때까지 유지하였다. 수확한 콩은 48시간 건조와 염색(폭신법(fucshin)과정을 거친 후, 육안조사와 현미경을 통하여 조

사하였으며 종자의 피해정도에 따라 정상인 개체(A), 형태와 크기는 정상이나 흠집 자국이 있는 개체(B), 크기와 형태에 기형이 있는 개체(C), 여물지 못하여 종자로 보기 어려운 개체(D)로 나누었다. 조사 후, 개체 당 종자 수, 피해 종자 수, 피해율 등을 ANOVA분석에 의해 품종 간 유의한 차이가 있는지를 알아 본 후, Duncan 다중검정을 통하여 비교하였다.

4. 톱다리개미허리노린재의 가해판별 기준 확립

1) 종자에서의 톱다리개미허리노린재의 가해판별 기준 확립

노린재 가해 여부에 대한 콩 종자나 식물의 변화에 대해 발생 초기에 명확하고 쉽게 육안으로 알 수 있는 방안은 아직 연구된 바가 없다. 따라서 여기서는 실내에서 현미경을 통해 식흔을 찾아보고 식흔이 없는 것과 있는 것의 차이가 용이하게 구분될 수 있는 방안을 모색하였다.

2) 톱다리개미허리노린재의 가해시기별 꼬투리변화에 따른 가해판별 기준 확립

톱다리개미허리노린재의 가해시기별 꼬투리 변화를 통한 가해판별 기준 확립실험은 서울대학교 실험포장 내 유리온실에서 수행하였다. 총 30개의 플라스틱 포트(지름 45cm, 높이 50cm)에 포트 당 백태 3종자씩 심어 총 30포트를 이용했다. 콩 꼬투리가 생기기 시작할 무렵부터 콩 꼬투리의 발달 정도를 단계별로 나누어 매주 미리 정해진 발달 단계의 꼬투리 3개를 선정하여 톱다리개미허리노린재의 암컷 접종구, 수컷 접종구, 무접종구로 나누어 실험하였다. 접종단계는 꼬투리형성기, 꼬투리성장기(3cm), 씨방형성기, 종자형성기, 종자성장기, 종자성숙기로 총 6단계로 나누어 실험을 수행하였다. 하나의 꼬투리당 한 마리의 톱다리개미허리노린재를 접종하였으며, 접종된 꼬투리는 망사케이지를 씌어 톱다리개미허리노린재의 탈출을 방지하였다(그림 3). 접종된 꼬투리가 수확될 때까지 48시간 간격으로 꼬투리의 피해 정도를 관찰, 기록하였으며, 도중에 사망한 개체는 새로운 개체로 교체하였고 산란된 알은 제거하였다.



그림 3. 톱다리개미허리노린재의 가해시기별 꼬투리변화에 따른 가해판별 기준 확립 실험의 꼬투리 망사 케이지와 망사속의 접종 성충.

<연구결과>

1. 톱다리개미허리노린재의 사육환경 구명

1) 톱다리개미허리노린재의 약충 온도발육실험을 통한 최적 사육온도의 구명

온도에 따른 톱다리개미허리노린재의 각 발육단계별 발육기간은 표 1과 같다. 전체적으로 온도가 증가함에 따라 톱다리개미허리노린재의 발육기간이 점차 짧아졌다. 톱다리개미허리노린재의 전체 발육단계의 발육기간은 19.7℃에서 67일로 가장 길었으며, 36.7에서 18.8℃일로 가장 짧았다. 온도에 따른 사망률은 19.7℃에서 가장 높게 나타난 후, 점차 감소하다가 30.4℃를 기점으로 다시 증가하는 형태를 보였다 (표 2). 전체 발육기간과 사망률을 고려하여 보았을 때, 30.4℃에서 톱다리개미허리노린재의 발육과 활력이 가장 좋은 것으로 나타났다.

발육속도(1/발육기간)와 온도와의 관계를 직선회귀에 의해 분석한 결과는 표3과 같다. 전체 발육단계별 직선회귀식의 적합도(r^2)는 각각 알 0.98, 1령 0.95, 2령 0.99, 3령 0.98, 4령 0.97, 5령 0.99, 전체 0.99 이상으로 높게 나타났다. 각 발육단계별 발육영점온도는 알 15.6℃, 1령 15.2℃, 2령 14.7℃, 3령 15.8℃, 4령 15.1℃, 5령 15.5℃로 나타났으며, 전체 발

육기간동안의 발육영점온도는 15.0℃ 이었다. 또한 각 발육단계별 유효적산온도는 알 90.1, 1령 23.1, 2령 42.7, 3령 41.8, 4령 53.2, 5령 70이였으며, 전체 발육단계의 유효적산온도 (DD)는 312.5로 나타났다.

툽다리개미허리노린재의 평균발육속도를 비선형모델인 extreme value model에 적용한 결과는 그림 4와 표 4와 같다. 그림 4와 표 4에서 나타난 것처럼 전체적으로 extreme value model이 툽다리개미허리노린재의 각 발육단계별 발육속도를 설명하는데 적합한 것으로 나타났다. 알에서부터 5령 약충까지의 전체 발육단계에 대한 extreme value model의 적합도(r^2)는 0.92에서 0.99로 대체로 높게 나타났다.

Extreme value 모델과 이 모델식에서 얻어진 파라미터 값들을 이용해 생리적 수명을 구하여, 사육온도 조건마다 다르게 나타나는 시간을 정규화하는 과정을 거쳐 각 발육단계별 발육기간의 누적빈도분포곡선을 Weibull function을 통해 모델링 하였다. Weibull function의 모델을 이용하여 얻어진 파라미터값과 그래프를 그림 5와 표 5에 나타내었다. 탈피시기에 따른 누적빈도분포곡선에 대한 weibull function의 적합도는 0.86 - 0.94로 대체로 만족할 수준으로 나타났다 (표 5). 또한, 그림 5에서 나타나는 것과 같이 툽다리개미허리노린재의 각 발육단계의 발육분포는 weibull function을 통해 잘 설명될 수 있는 것으로 나타났다.

표 18 툽다리개미허리노린재의 온도에 따른 발육단계별 평균발육기간.

온도(℃)	발육단계(평균발육일±표준오차)						
	알	1령	2령	3령	4령	5령	전체
19.7	17.4±0.10	4.9±0.08	8.3±0.12	9.1±0.23	10.5±0.65	17.0±1.00	67.0±1.68
21.3	14.7±0.13	4.2±0.06	6.5±0.30	8.1±0.46	8.7±1.33	11.6±0.40	50.0±1.82
25.3	10.0±0.02	2.1±0.03	4.1±0.73	4.7±0.16	6.0±0.29	7.3±0.26	31.9±0.59
27.4	7.5±0.07	2.0±0.03	3.2±0.11	3.7±0.10	4.3±0.11	5.9±0.13	25.7±0.33
30.4	6.0±0.03	1.9±0.04	2.8±0.08	2.8±0.11	3.4±0.11	4.7±0.13	20.3±0.20
33.8	5.3±0.07	2.0±0.04	2.2±0.06	2.8±0.11	3.2±0.14	4.3±0.11	19.2±0.24
36.7	5.0±0.00	1.5±0.10	2.8±0.19	2.5±0.14	3.0±0.13	4.0±0.26	18.8±0.70

표 19 톱다리개미허리노린재의 온도에 따른 사망률(%).

온도(°C)	발육단계 (개체수)						전체
	알	1령	2령	3령	4령	5령	
19.7	0(126)	56.3(55)	50.9(27)	55.6(12)	66.7(4)	0.0(4)	96.8
21.3	0(69)	20.3(55)	32.7(37)	56.8(16)	62.5(6)	16.7(5)	92.8
25.3	0(130)	10.0(117)	4.2(112)	18.8(91)	41.8(53)	60.4(21)	83.8
27.4	0(77)	28.6(55)	12.7(48)	8.3(44)	11.4(39)	23.1(30)	61.0
30.4	0(66)	15.2(56)	3.6(54)	9.3(49)	16.3(41)	12.2(36)	45.4
33.8	0(66)	10.6(59)	11.9(52)	23.1(40)	15.0(34)	20.6(27)	59.1
36.7	0(99)	56.6(43)	32.6(29)	55.2(13)	15.4(11)	45.5(6)	93.9

표 20 톱다리개미허리노린재의 발육단계별 발육속도 직선회귀식, 발육영점온도, 유효적산온도.

발육단계	직선회귀식	r^2	발육영점온도(°C)	유효적산온도
알	0.0111x-0.1728	0.98	15.6	90.1
1령	0.0432x-0.6546	0.95	15.2	23.1
2령	0.234x-0.3437	0.99	14.7	42.7
3령	0.239x-0.3771	0.98	15.8	41.8
4령	0.0188x-0.286	0.97	15.1	53.2
5령	0.0143x-0.2219	0.99	15.5	70.0
전체	0.0032x-0.048	0.99	15.0	312.5

표 21 Extreme value 모델에 의해 구하여진 파라미터 값들과 모델의 적합도 (r^2).

발육단계	모델 파라미터			r^2
	T_c	b	k	
알	0.2040	39.5184	15.5670	0.99
1	0.6250	38.9148	16.3003	0.92
2	0.3985	34.2407	11.4595	0.95
3	0.3907	36.8745	13.1169	0.99
4	0.3395	38.1528	14.2816	0.99
5	0.2492	37.6898	13.7420	0.99

표 22. Two-parameter Weibull function 모델에 의해 구하여진 파라미터 값들과 모델의 적합도 (r^2).

발육단계	모델 파라미터		r^2
	α	β	
알	0.9614	24.4673	0.94
1	0.9076	5.3579	0.86
2	0.8717	5.4745	0.93
3	0.8846	4.0419	0.94
4	0.9088	5.4920	0.89
5	1.2283	7.4609	0.88

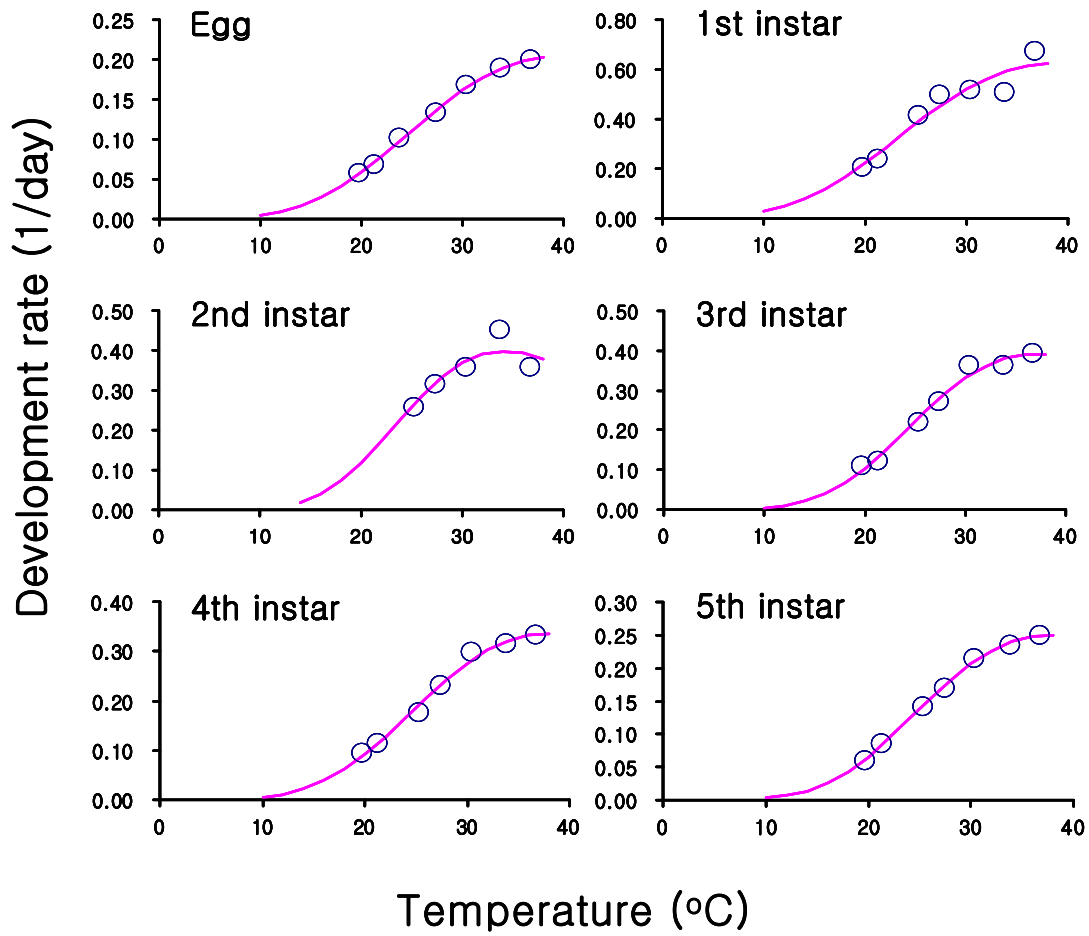


그림 4. 톱다리개미허리노린재의 각 발육 단계별 발육속도와 온도의 관계를 extreme-value model에 의해 표현한 비선형 그래프.

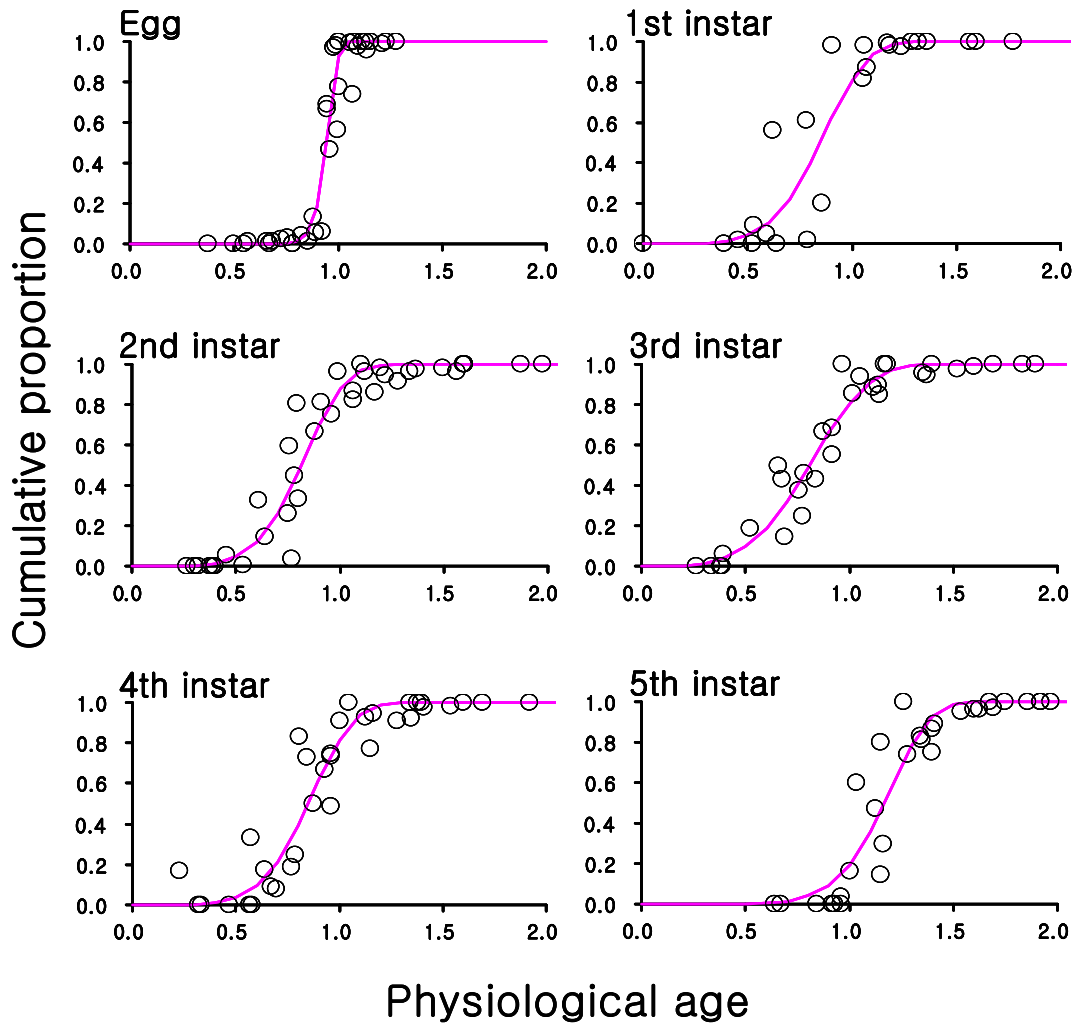


그림 5. 톱다리개미허리노린재의 각 발육단계별 발육기간 분포를 Weibull function을 통해 나타낸 그래프.

톱다리개미허리노린재의 온도 발육실험에 대한 논문과 위 실험 결과를 토대로 볼 때 톱다리개미허리노린재는 고온 적응성 곤충으로 보인다. 사육에 적당한 온도는 28℃~31℃가 가장 적당할 것으로 보이며 실험 시기 조절을 위해 25℃에서 사육하는 것도 무리가 없을 것으로 보인다.

2) 톱다리개미허리노린재의 최적 먹이 선발 실험.

톱다리개미허리노린재의 최적먹이선정 실험에 쓰인 콩 품종과 그 품종의 시장가격을 표 6에 나타내었다. 표 6에서 나타난 것과 같이 선정된 대부분의 콩은 시장가격이 3400 - 6300원/500g 사이였으며, 현재 톱다리개미허리노린재 사육에 가장 많이 사용되는 백태의 경우 3500원/500g으로 가장 낮은 가격을 가진 콩 품종 중 하나였다.

콩 품종에 따른 톱다리개미허리노린재의 약충 발육기간, 성충 발육기간, 산란수에 대한 통계 분석 결과를 표7에 나타내었다. 총 8 콩 품종이 실험에 사용되었으나, 울타리콩의 경우 너무 낮은 우화율로 인하여 성충의 생장기간과 산란수가 분석에서 제외 되었다. 표7에서 나타나는 것과 같이, 약충 발육기간의 경우, 백태와 흑태를 먹이로 했을 경우가 다른 콩들을 먹이로 했을 경우에 비하여 톱다리개미허리노린재 유충의 발육속도가 통계적으로 유의하게 짧게 나타났다. 성충의 경우, 실험에 사용된 모든 콩 품종중 성충의 생존기간에서는 약콩이 가장 길었으며 다음이 흑태로 나타났다. 산란수에서는 백태와 흑태를 먹이로 했을 경우 유의하게 많았다. 이들 콩을 먹이로 하였을 경우, 평균 산란수가 흑태 389.1, 백태 395.5로 다른 콩 품종에 높은 산란수를 보여주었다.

표 23. 톱다리개미허리노린재의 최적먹이선정 실험에 쓰인 콩 품종과 각 품종의 시장가격.

품	종	시장가격(500g/원)*
흑	태	4,500
강	낭 콩	4,400
울	타 리 콩	5,200
황	태	4,700
서	리 태	6,300
청	태	4,900
약	콩	3,400
백	태	3,500

*시장가격은 2005년 3월 15일 농업협동조합 하나로마트 가격 기준임.

표24. 콩 품종에 따른 톱다리개미허리노린재의 약충 발육기간, 성충 발육기간, 산란 수.

콩 품종	약충 (평균±표준오차)		성충 (평균±표준오차)	
	발육기간(일)*	생존기간(일)*	산란수*	
흑태	26.5±0.30 b	61.6±5.45 ab	389.1±33.10 a	
강낭콩	30.8±1.14 a	40.3±5.22 b	50.1±16.73 c	
울타리콩**	30.0±2.42 a	-	-	
황태	29.2±0.44 a	36.0±3.73 b	122.8±36.99 bc	
서리태	31.3±1.39 a	36.7±13.28 b	175.3±111.51 bc	
백태	25.7±0.32 b	53.5±3.89 b	395.5±30.68 a	
약콩	29.5±0.55 a	80.3±6.31 a	246.9±28.03 ab	
황태	31.2±0.58 a	43.6±6.63 b	130.0±42.85 bc	

* 같은 세로줄 내에서 같은 문자를 갖는 처리구는 통계적으로 다르지 않다. (P>0.05, Duncan 다중검정)

** 성충 생존기간과 산란수는 너무 낮은 성충 우화율로 인해 결과를 얻지 못함.

약충의 발육기간이나 성충의 생존기간, 산란수 등을 고려해 볼 때 흑태나 백태가 가장 사육에는 적합한 것으로 생각된다. 가격 면에서 백태의 가격이 더 저렴하여 사육만을 위해서는 백태가 가장 적합할 것으로 보이나 흑태의 경우 성충의 수명이 통계적으로 유의차는 없으나 조금 더 긴 것으로 판단되며 따라서 성충이 대량 필요한 실험의 경우 흑태를 이용하여 사육하는 것도 좋을 것으로 생각된다

2. 실내에서 톱다리개미허리노린재의 저항성검정실험

1) 콩 품종 별 톱다리개미허리노린재 약충의 발육기간 조사

전체 30개의 콩 품종을 이용하여 노린재 발육기간을 알아본 실험의 결과는 표8과 같다. ANOVA 분석 결과 전체 30개 품종에서 톱다리개미허리노린재의 약충발육기간은 품종 간에 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다(F=6.73, P<0.0001). Duncan 다중검정을 이용하여

콩 품종에서 톱다리개미허리노린재 약충의 발육기간을 비교한 결과, PI 559365가 평균 19.95일로 가장 길었고, PI417135가 평균 15.50일로 가장 짧았다. 특히 PI 561573, PI 561575, PI56401, PI 417135의 경우는 유충 발육 기간이 현재 톱다리개미허리노린재의 사육에 쓰이고 있는 품종인 백태의 경우보다도 그 평균 발육 기간이 짧게 나타났으며, 특히 PI 56401과 PI 417135의 경우는 통계적으로도 유의한 차이가 나타나 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성 품종으로 보기에 어려울 것으로 생각된다.

백태를 톱다리개미허리노린재의 적합한 먹이로 본다면, 백태에 비해서 평균 발달 기간이 긴 품종들은 모두 어느 정도의 저항성을 의심해 볼 수 있으나, 이중 PI559365, PI423911, PI559364, PI559366, PI209837, PI381660은 톱다리개미허리노린재 유충 발육 기간이 백태에 비해 통계적으로도 유의하게 길게 나타났다. 특히 PI559365와 PI423911은 다른 어떠한 품종보다도 긴 유충발육 기간을 나타내어, 톱다리개미허리노린재 유충발육을 저해하는 저항성 작용이 있을 것으로 생각된다.

3. 온실에서 톱다리개미허리노린재의 저항성검정실험 및 저항성 검정법 확립

1) 톱다리개미허리노린재의 가해에 따른 콩의 품종별 피해도

각 품종의 전체 꼬투리 수, 대조구내 정상 꼬투리 수와 비정상 꼬투리 수, 처리구내 정상 꼬투리 수와 비정상 꼬투리 수는 표9에 나타나 있다. 톱다리개미허리노린재의 흡즙에 의한 콩 품종 별 꼬투리 피해도 차이에 대한 분석을 실시하기 전에, 먼저 실험에 사용된 콩 품종들의 꼬투리 수에서 차이가 나타나는지 여부를 ANOVA 검정을 통하여 분석하였다. 그 결과, 품종 간에 꼬투리 수가 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다 ($F= 23.23, P< 0.0001$). 품종 간 꼬투리 수의 차이는 대조구와 처리구로 나누어 실시하였을 때 도 역시 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다(대조구, $F= 8.28, P< 0.0001$; 처리구, $F= 15.05, P< 0.0001$). 대조구와 처리구 내, 비정상 꼬투리 수도 역시 품종 간에 통계적으로 유의한 차이가 나타났다(대조구, $F= 2.62, P= 0.0002$; 처리구, $F=4.86, P< 0.0001$). 대조구 내 품종 별 비정상 꼬투리 수가 통계적으로 유의한 차이가 나타났기 때문에 처리구에서의 품종 별 비정상 꼬투리 수의 차이가 톱다리개미허리노린재에 의한 것인지에 대한 해석이 불가능하게 되었다. 또한, 각 품종별 전체 꼬투리 수가 차이가 났기 때문에 비정상 꼬투리율(비정상꼬투리수/정상꼬투리수)을 이용한 품종 간의 비교는 제외되었다. 각 콩 품종의 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성 정도를 알아보기 위하여 종 내에서 처리구와 대조구의 비정상 꼬투리율의 차이를 ANOVA를 이용하여 분석하였다. 데이터의 오차를 줄이고 표본집단을 정규분포에 가깝게 하고자 피해율을 Arcsin 변환하였다. 각 품종의 대조구와 처리구의 비정상 꼬투리율과 대조구 대비 처리구 비정상 꼬투리율(처리구 비정상

꼬투리율/대조구 비정상 꼬투리율)이 표 10에 나타나 있다. 각 콩 품종간 비정상 꼬투리율을 비교한 결과 PI561572와 PI574530, 두 품종에서 대조구와 처리구 간에 통계적 유의성을 찾을 수 있었다. 두 품종 모두 처리구에서의 비정상 꼬투리율이 대조구의 비정상 꼬투리율 보다 높게 나왔으며, 이는 처리구에서 톱다리개미허리노린재의 흡즙에 의한 비정상 꼬투리 발생율이 더 높았다는 것을 의미한다. 그러므로 이들 두 품종은 대조구와 처리구 사이에 비정상 꼬투리 발생율 차이가 나타나지 않은 다른 콩 품종들에 비하여 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성이 낮은 것으로 사료된다. 비록 통계적 유의성은 나타나지 않았으나 PI171444, PI229358, PI417061, PI423911, PI518771, PI561573, 단백콩, 화엄꽃콩 등도 대조구 대비 처리구에서의 비정상꼬투리율이 높게 나타났기 때문에 톱다리개미허리노린재에 대한 낮은 저항성이 의심된다(표 10).

표 25. 콩 품종 별 톱다리개미허리노린재 유충 발육 기간.

품종	약충발육기간(평균±표준오차)*
PI 559365	19.95 ± 0.450a
PI 423911	19.88 ± 0.288a
PI 559364	19.67 ± 0.418ab
PI 559366	19.63 ± 0.418abc
PI 209837	19.51 ± 0.230abc
PI 381660	19.50 ± 0.569abc
PI 576446	18.83 ± 2.257abcd
PI 561403	18.66 ± 0.342abcd
PI 227219	18.52 ± 0.281abcde
PI 518771	18.48 ± 0.274abcdef
PI 229358	18.13 ± 0.229abcdefg
PI 561572	18.04 ± 0.206abcdefg
PI 417061	17.98 ± 0.245abcdefg
PI 561570	17.94 ± 0.285abcdefg
PI 171444	17.67 ± 0.408bcdefg
PI 417310	17.56 ± 0.648cdefgh
PI 572237	17.40 ± 0.206defgh
PI 227687	17.29 ± 0.529defgh
PI 171451	17.29 ± 0.425defgh
PI 574530	17.20 ± 0.442defgh
화엄꽃콩	17.00 ± 1.043defgh
백태	16.82 ± 0.630defgh
단백콩	16.50 ± 0.500efgh
풍산나물콩	16.44 ± 0.475efgh
PI 561573	16.43 ± 0.202efgh
흑태	16.40 ± 0.321efgh
PI 561575	16.38 ± 0.324efgh
태광콩	16.00 ± 0.655gh
PI 561401	16.00 ± 0.298gh
PI 417136	15.50 ± 0.189h

* 같은 영문 알파벳을 공유하는 품종은 통계적으로 유의차를 보이지 않음. (Duncan 다중 검정 $\alpha=0.05$).

표 26. 툽다리개미허리노린재 집종구와 비집종구의 콩 품종별 전체 꼬투리수와 비정상 꼬투리수(평균±평균오차).

품종	처리구		대조구		전체꼬투리수
	전체꼬투리수	비정상꼬투리수	전체꼬투리수	비정상꼬투리수	
PI 171444	58.89±2.38	16.00±1.89	44.60±4.22	5.40±0.90	53.78±1.55
PI 171451	52.30±3.10	16.10±1.32	55.20±3.28	16.80±2.35	53.26±1.02
PI 209837	66.56±1.40	29.00±1.24	62.50±2.82	23.00±0.65	65.30±0.91
PI 227219	35.30±0.89	17.50±0.67	56.60±2.87	25.80±2.13	42.40±0.98
PI 227687	197.75±11.59	42.25±2.64	220.20±20.44	52.60±5.80	206.38±7.15
PI 229358	74.29±4.02	35.28±2.96	77.20±4.20	20.80±2.10	75.50±2.03
PI 381660	84.75±9.44	28.87±6.17	129.67±40.26	77.67±37.97	97.00±6.48*
PI 417061	63.30±1.84	24.90±1.14	31.40±2.33	6.20±0.92	52.66±1.49
PI 417136	50.25±2.05	18.87±0.91	57.50±3.18	24.50±2.47	51.70±1.49
PI 417310	23.89±1.09	7.11±.38	17.50±3.18	7.25±1.59	21.92±0.82
PI 423911	47.67±1.33	23.33±1.14	43.25±6.57	19.25±5.92	46.30±1.27
PI 518771	32.00±1.86	14.00±1.56	49.50±4.95	8.75±0.97	38.36±1.57
PI 559364	47.70±1.30	26.90±1.14	44.75±2.49	26.50±3.72	46.85±0.85
PI 559365	47.38±1.90	27.25±1.33	35.00±0.74	14.75±1.75	43.25±1.14
PI 559366	54.56±2.01	33.33±1.58	53.25±1.25	33.25±0.80	54.15±1.15
PI 561401	60.75±2.37	28.00±1.93	68.20±1.94	23.60±0.64	63.61±1.23
PI 561403	48.60±1.51	20.30±0.92	37.00±2.73	11.80±2.26	44.73±1.02
PI 561570	38.14±1.96	13.14±1.36	36.80±1.11	12.00±0.75	37.58±0.89
PI 561572	50.10±1.89	17.20±1.28	32.60±4.39	4.80±0.88	44.26±1.40
PI 561573	39.90±1.49	13.80±0.85	38.20±3.20	9.20±1.90	39.33±0.98
PI 561575	44.10±0.89	14.70±0.64	44.20±1.25	12.20±1.47	44.13±0.53
PI 572237	53.00±2.94	17.42±1.34	47.80±2.81	16.20±2.75	50.83±1.47
PI 574530	49.33±2.13	22.50±1.45	40.25±1.69	10.75±0.94	45.70±1.13
PI 576446	38.33±1.29	14.77±0.47	30.60±2.11	16.60±1.64	35.57±0.82
단 백 콩	26.63±0.93	5.87±0.47	27.80±2.61	4.20±0.70	25.23±0.74
백 태	28.14±0.75	14.42±1.12	28.20±2.33	15.00±1.46	28.16±0.67
태 광 콩	31.13±1.35	12.87±0.87	41.25±2.30	17.00±2.19	34.50±0.92
풍산나물콩	27.25±1.42	9.00±0.93	25.00±3.64	6.20±0.90	26.38±1.05
화엄꽃콩	15.00±0.65	9.00±1.08	13.67±1.29	3.83±0.44	14.33±0.49
흑 태	22.33±1.06	10.88±0.92	20.8±2.81	8.60±1.32	21.78±0.77

표 27 툽다리개미허리노린재 집중구와 비집중구의 콩 품종별 꼬투리 피해율(피해꼬투리수/진체꼬투리수, 평균±평균오차).

품종 ¹	처리구 비정상 콩립 율	대조구 비정상 콩립 율	처리구/대조구 비정상 콩립 율
PI 171444	0.29±0.03	0.18±0.04	1.67
PI 171451	0.31±0.02	0.28±0.03	1.11
PI 209837	0.42±0.01	0.38±0.02	1.13
PI 227219	0.49±0.01	0.44±0.02	1.11
PI 227687	0.24±0.01	0.25±0.03	0.95
PI 229358	0.46±0.03	0.27±0.02	1.74
PI 381660	0.33±0.13	0.39±0.12	0.86
PI 417061	0.38±1.14	0.22±0.04	1.76
PI 417136	0.37±0.91	0.43±0.07	0.86
PI 417310	0.30±0.38	0.43±0.08	0.71
PI 423911	0.48±1.14	0.34±0.07	1.44
PI 518771	0.38±1.56	0.17±0.00	2.22
PI 559364	0.54±1.14	0.56±0.07	0.97
PI 559365	0.55±1.33	0.42±0.05	1.32
PI 559366	0.60±1.58	0.63±0.02	0.96
PI 561401	0.44±1.93	0.35±0.01	1.27
PI 561403	0.42±0.92	0.27±0.04	1.59
PI 561570	0.31±1.36	0.32±0.02	0.97
PI 561572*	0.32±1.28	0.13±0.02	2.45
PI 561573	0.35±0.85	0.19±0.03	1.86
PI 561575	0.31±0.64	0.28±0.03	1.12
PI 572237	0.32±1.34	0.35±0.06	0.91
PI 574530*	0.45±1.45	0.26±0.02	1.71
PI 576446	0.40±0.47	0.54±0.04	0.74
단 백 콩	0.26±0.47	0.14±0.02	1.91
백 태	0.48±1.12	0.57±0.05	0.86
태 광 콩	0.39±0.87	0.40±0.03	1.00
풍산나물콩	0.33±0.93	0.25±0.04	1.34
화엄꽃콩	0.57±1.08	0.28±0.03	2.01
흑 태	0.46±0.92	0.44±0.07	1.06

¹*는 품종 내 처리구와 대조구간에 통계적으로 유의한 차이가 있음을 나타냄(ANOVA, $\alpha = 0.05$).

각 품종의 전체 콩 립 수, 대조구내 정상 콩 립 수와 비정상 콩 수, 처리구내 정상 콩 립 수와 비정상 콩 립 수가 표11에 나타나 있다. 톱다리개미허리노린재의 흡즙에 의한 콩 품종 별 콩립의 피해도 차이에 대한 분석을 실시하기 전에, 먼저 실험에 사용된 콩 품종들의 콩립 수에서 차이가 나타나는지 여부를 ANOVA를 통하여 분석하였다. 그 결과, 품종 간에 콩립 수가 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다 ($F=24.76$, $P<0.0001$). 품종 간 콩립 수의 차이는 대조구와 처리구로 나누어 실시하였을 때 도 역시 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다 (대조구, $F=8.61$, $P<0.0001$; 처리구, $F=15.14$, $P<0.0001$).

대조구와 처리구 내, 비정상 콩립 수도 역시 품종 간에 통계적으로 유의한 차이가 나타났다(대조구, $F=3.44$, $P<0.0001$; 처리구, $F=7.92$, $P<0.0001$). 대조구 내 품종 별 비정상 콩립 수가 통계적으로 유의한 차이가 나타났기 때문에 처리구에서의 품종 별 비정상 콩립 수의 차이가 톱다리개미허리노린재에 의한 것인지에 대한 해석이 불가능하게 되었다. 또한, 각 품종별 전체 콩립 수가 차이가 났기 때문에 비정상 콩립율(비정상콩립수/정상콩립수)을 이용한 품종 간의 비교는 제외되었다. 각 콩 품종의 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성 정도를 알아보기 위하여 종 내에서 처리구와 대조구의 비정상 콩립율의 차이를 ANOVA를 이용하여 분석하였다. 데이터의 오차를 줄이고 표본집단을 정규분포에 가깝게 하고자 피해율을 Arcsin Transformation하였다. 각 품종의 대조구와 처리구의 비정상 콩립율과 대조구 대비 처리구 비정상 콩립율(처리구 비정상 콩립율/대조구 비정상 콩립율)이 표12에 나타나 있다. 각 콩 품종간 비정상 콩립율을 비교한 결과 PI171451, PI209837, PI227219, PI417136, PI417310, PI423911, PI561401, PI561403, PI561570, PI561573, PI561575, PI574530, 단백콩, 백태, 태광콩, 풍산나물콩, 화엄꽃콩, 흑태, 총 19 품종에서 대조구와 처리구 간에 통계적 유의성을 찾을 수 있었다. 이들 19품종 모두 처리구에서의 비정상 콩립율이 대조구의 비정상 콩립율 보다 높게 나왔으며, 이는 처리구에서 톱다리개미허리노린재의 흡즙에 의한 비정상 콩립의 발생율이 더 높았다는 것을 의미한다. 그러므로 이들 19 품종은 대조구와 처리구 간에 비정상 꼬투리 발생율 차이가 나타나지 않은 다른 콩 품종들에 비하여 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성이 낮은 것으로 사료된다. PI381660과 PI561572의 경우 대조구 대비 처리구에서의 비정상콩립율이 다른 콩 품종에 비해 현격히 낮게 나타나 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성을 가지고 있을 가능성이 높은 것으로 사료된다(표12).

표 28. 톱다리개미허리노린재 접종구와 비접종구의 콩 품종별 전체 콩립 수와 비정상 콩립 수(평균±평균오차).

품종	처리구		대조구		전체콩립수
	콩립 수	비정상콩립 수	콩립 수	비정상 콩립 수	
PI 171444	96.56±4.72	33.56±2.67	79.80±8.65	8.60±0.97	90.57±2.99
PI 171451	97.80±6.12	51.30±3.76	96.20±5.96	29.00±1.57	97.27±1.95
PI 209837	130.22±3.88	81.33±1.45	118.25±7.80	36.75±4.58	126.54±2.54
PI 227219	64.00±2.18	43.80±1.61	95.40±5.28	27.60±2.43	74.47±1.81
PI 227687	403.75±25.73	132.5±7.68	410.60±39.60*	104.40±10.51	406.38±14.95
PI 229358	121.71±7.38	71.71±2.60	144.40±8.72	57.40±7.99	131.17±3.98
PI 381660	189.88±19.25	78.13±9.91	177.00±59.18	96.33±44.15	186.36±11.30
PI 417061	112.50±3.72	72.20±2.67	60.20±5.22	17.40±1.49	95.07±2.78
PI 417136	86.88±3.33	56.88±2.62	102.50±11.67	21.00±9.19	90.00±2.56
PI 417310	35.89±1.85	25.56±1.25	22.00±2.67	8.00±1.24	31.62±1.23
PI 423911	89.56±3.34	51.22±1.55	90.25±10.12	35.75±5.25	89.77±2.45
PI 518771	45.43±1.32	32.14±1.89	78.25±7.19	34.75±6.38	57.36±2.18
PI 559364	103.80±2.78	56.20±2.10	102.00±4.58	34.00±4.92	103.29±1.77
PI 559365	91.50±2.81	56.38±2.80	82.25±3.19	34.00±3.91	88.42±1.64
PI 559366	113.22±4.34	54.78±2.96	123.00±2.37	41.00±0.94	116.23±2.51
PI 561401	104.25±5.31	50.88±2.56	127.80±3.93	33.20±2.52	113.31±2.80
PI 561403	88.50±2.79	58.50±1.20	67.00±3.96	17.00±1.03	81.33±1.79
PI 561570	61.00±3.53	35.71±2.36	62.80±1.20	21.00±2.21	61.75±1.55
PI 561572	77.50±2.68	55.00±1.94	56.60±7.29	32.00±1.90	70.53±2.05
PI 561573	55.70±2.71	41.7±2.23	66.80±7.81	28.00±3.98	59.40±2.04
PI 561575	79.60±1.42	41.7±0.83	84.80±3.34	20.20±0.92	81.33±0.98
PI 572237	91.57±5.47	57.86±2.20	81.20±5.20	30.80±2.26	87.25±2.73
PI 574530	82.50±3.17	47.67±2.57	68.25±2.57	10.75±0.97	76.80±1.71
PI 576446	75.67±3.07	58.89±3.01	54.60±5.17	32.60±2.10	68.14±2.00
단 백 콩	37.75±1.65	25.00±1.27	44.40±5.00	11.40±2.32	40.31±1.38
백 태	50.00±1.46	43.29±1.47	54.40±4.67	18.40±2.96	51.83±1.34
태 광 콩	53.13±1.79	34.63±1.72	77.75±3.56	17.25±2.44	59.67±1.39
풍산나물콩	44.00±2.41	31.38±1.73	48.00±7.55	15.20±1.59	45.54±2.03
화엄꽃콩	26.00±1.24	19.50±0.66	23.17±1.47	8.00±0.91	24.58±0.66
흑 태	35.33±1.58	26.78±0.97	37.20±5.02	12.60±2.02	36.00±1.28

표 12. 톱다리개미허리노린재 집종구와 비집종구의 콩 품종별 콩립 피해율(피해콩립수/전체콩립수, 평균±평균오차).

품종 ¹	처리구 비정상 콩립율	대조구 비정상 콩립율	처리구/대조구 비정상 콩립율
PI 171444	0.32±0.03	0.10±0.03	2.56
PI 171451*	0.36±0.03	0.30±0.03	1.64
PI 209837*	0.55±0.02	0.31±0.04	2.13
PI 227219*	0.51±0.02	0.28±0.01	2.50
PI 227687	0.28±0.01	0.25±0.01	1.41
PI 229358	0.46±0.03	0.39±0.04	1.73
PI 381660	0.33±0.11	0.54±0.08	1.15
PI 417061*	0.55±0.01	0.28±0.04	1.85
PI 417136*	0.39±0.01	0.20±0.07	3.42
PI 417310*	0.45±0.02	0.36±0.06	1.90
PI 423911*	0.41±0.01	0.39±0.05	1.58
PI 518771	0.60±0.03	0.44±0.08	1.57
PI 559364	0.37±0.02	0.33±0.04	1.68
PI 559365	0.50±0.03	0.41±0.05	1.54
PI 559366	0.38±0.01	0.33±0.01	1.47
PI 561401*	0.34±0.01	0.26±0.02	1.90
PI 561403*	0.57±0.02	0.25±0.05	2.24
PI 561570*	0.39±0.02	0.33±0.03	1.76
PI 561572	0.50±0.01	0.56±0.05	1.07
PI 561573*	0.67±0.01	0.41±0.06	1.89
PI 561575*	0.30±0.01	0.23±0.02	2.17
PI 572237	0.49±0.03	0.37±0.05	1.61
PI 574530*	0.38±0.02	0.15±0.02	3.59
PI 576446	0.58±0.02	0.59±0.03	1.13
단 백 콩 *	0.57±0.04	0.25±0.03	2.80
백 태*	0.62±0.01	0.33±0.05	2.47
태 광 콩*	0.42±0.02	0.22±0.03	2.68
풍산나물콩*	0.56±0.02	0.31±0.07	1.87
화엄꽃콩*	0.61±0.02	0.34±0.02	2.42
흑 태*	0.56±0.01	0.33±0.06	2.30

¹*는 종 내 처리구와 대조구간에 통계적으로 유의한 차이가 있음을 나타냄(ANOVA, α =0.05).

콩 생장시기별(R4, R6) 톱다리개미허리노린재 접종에 의한 콩 꼬투리 피해율과 콩 꼬투리 수가 표13과 표14에 나타나 있다. 먼저 콩 꼬투리 수를 중간 비교해 보았을 때, R4와 R6 접종 시 모두 콩 꼬투리 수에서 품종 간에 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 (R4, $F=11.93$, $P<0.0001$; R6, $F=4.96$, $P<0.0001$). 또한, R4와 R6 접종 시 모두 비정상 콩 꼬투리 수가 품종 간에 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 (R4, $F=3.81$, $P<0.0001$; R6, $F=2.29$, $P=0.0013$). 앞의 전체 콩 꼬투리 수 분석 시 대조구 내 품종 별 비정상 꼬투리 수에서 통계적으로 유의한 차이가 나타났기 때문에 콩 생육 시기에 따른 품종 별 비정상 꼬투리 수의 차이가 톱다리개미허리노린재에 의한 것인지에 대한 해석이 불가능하게 되었다. 또한, 각 품종별 전체 꼬투리 수가 차이가 낮기 때문에 비정상 꼬투리율(비정상꼬투리수/정상꼬투리수)을 이용한 품종 간의 비교는 제외되었다. 콩 생육 시기별 각 콩 품종의 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성 정도를 알아보기 위하여 종 내에서 처리구와 대조구의 비정상 콩 꼬투리의 차이를 ANOVA를 이용하여 분석하였다. 데이터의 오차를 줄이고 표본집단을 정규분포에 가깝게 하고자 피해율을 Arcsin 변환하였다. 종 내 비정상 꼬투리 수 비교시, R4의 경우 통계적으로 유의한 차이를 나타낸 품종이 없었다. 반면 R6의 경우, PI561572, PI561575, PI574530이 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 (표 14). 이들 세 품종 모두 R6 접종 시에 대조구에 비해 처리구에서의 비정상 꼬투리 율이 높았으나, R4 접종시에는 유의한 차이가 나타나지 않았다. PI518771의 경우는 비록 R4와 R6 두 접종 시기에 대조구 대비 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 못하였지만, 대조구 대비 피해율을 보면 두 접종시기 모두 다른 종들에 비하여 높은 대조구대비 피해율을 보이고 있다 (표 14). 이와 같은 결과로 미루어 보았을 때, 이들 세 품종의 경우 콩 꼬투리가 좀 더 발달된 시기인 R6 생육시기가 R4 생육시기에 비해 좀 더 톱다리개미허리노린재의 가해에 민감한 것으로 사료되나 정확한 기작을 이해하기 위해서는 좀 더 정밀한 실험이 필요할 것으로 생각된다.

표 30. 콩 성장시기별(R4, R6) 톱다리개미허리노린재 접종 실험의 콩 꼬투리 수와 피해
 꼬투리수(평균±평균오차).

품종	꼬투리수		비정상 꼬투리수	
	R4	R6	R4	R6
PI 171444	60.60±5.28	56.75±4.25	22.22±4.22	8.25±1.53
PI 171451	51.80±2.60	52.8±3.85	17.8±1.29	14.4±1.41
PI 209837	65.75±3.84	67.2±2.36	30.5±2.52	27.8±2.61
PI 227219	42.20±1.02	28.40±1.18	22.4±0.83	12.6±0.99
PI 227687	234.80±18.19	136.00±22.12	53±4.78	32.33±1.39
PI 229358	60.33±8.44	84.75±7.15	34.66±10.63	35.75±3.36
PI 381660	76.67±12.76	89.6±13.61	22.33±5.06	32.8±10.39
PI 417061	72.40±3.81	54.20±2.74	27.6±2.98	22.2±1.48
PI 417136	48.50±2.98	52±5.45	18.75±0.85	19±2.64
PI 417310	23.40±2.50	24.5±1.71	5.6±0.39	9±1.04
PI 423911	44.40±0.58	51.75±3.93	17.2±0.74	31±3.42
PI 518771	28.00±5.93	35±2.52	14.33±4.55	13.75±2.69
PI 559364	55.00±1.52	40.4±2.73	33.4±1.93	20.4±1.96
PI 559365	52.50±2.44	42.25±4.84	31.25±0.92	23.25±3.59
PI 559366	61.25±6.13	49.2±2.22	41±4.21	27.2±1.85
PI 561401	73.33±3.37	53.2±3.95	41.67±3.36	19.8±2.38
PI 561403	51.40±3.93	45.8±2.10	21.2±2.11	19.4±1.74
PI 561570	45.50±3.44	28.33±1.68	18.75±2.38	5.66±1.64
PI 561572	53.40±3.18	46.8±4.56	15.8±2.15	18.6±3.13
PI 561573	48.00±3.49	34.5±3.13	14.75±1.70	13.16±2.17
PI 561575	45.80±1.44	42.4±2.19	15.8±0.74	13.6±1.72
PI 572237	66.50±18.03	47.6±2.69	24.5±9.55	14.6±0.52
PI 574530	44.50±4.60	51.75±3.71	16.5±0.35	25.5±2.37
PI 576446	48.67±18.89	33.17±1.24	18.66±8.05	12.83±0.46
단 백 콩	23.40±1.76	24±2.03	6.2±0.88	5.33±1.07
백 태	29.00±0.79	27±9.00	16±1.06	12.33±5.03
태 광 콩	35.80±1.72	23.33±10.56	15.6±1.31	8.33±5.01
풍산나물콩	26.33±2.83	27.8±2.74	13.66±3.42	6.2±0.86
화엄꽃콩	14.00±1.08	17±1.41	8.5±0.97	10±6.36
흑 태	26.60±2.19	17.00±0.96	12.8±1.95	8.5±1.60

표 31. 콩 성장시기별(R4, R6) 톱다리개미허리노린재 접종 실험의 콩 꼬투리 피해율(평균±평균오차)과 대조구 대비 피해율.

품종	비정상 꼬투리율 ¹		처리구/대조구 비정상 꼬투리율	
	R4	R6	R4	R6
PI 171444	0.42±0.07	0.14±0.02	2.40	0.80
PI 171451	0.36±0.03	0.27±0.01	1.29	0.96
PI 209837	0.46±0.03	0.40±0.03	1.22	1.06
PI 227219	0.54±0.02	0.45±0.03	1.22	1.02
PI 227687	0.22±0.01	0.29±0.05	0.85	1.12
PI 229358	0.49±0.11	0.44±0.05	1.85	1.66
PI 381660	0.26±0.03	0.37±0.06	0.67	0.96
PI 417061	0.36±0.02	0.41±0.01	1.64	1.87
PI 417136	0.39±0.01	0.35±0.04	0.90	0.81
PI 417310	0.27±0.02	0.36±0.02	0.63	0.84
PI 423911	0.39±0.01	0.60±0.05	1.16	1.79
PI 518771	0.43±0.08	0.53±0.05	2.47	3.05
PI 559364	0.60±0.03	0.49±0.02	1.07	0.88
PI 559365	0.60±0.01	0.51±0.04	1.43	1.21
PI 559366	0.68±0.04	0.54±0.02	1.08	0.86
PI 561401	0.57±0.05	0.36±0.03	1.63	1.03
PI 561403	0.41±0.02	0.44±0.05	1.52	1.64
PI 561570	0.41±0.04	0.18±0.05	1.28	0.56
PI 561572	0.29±0.03	0.36±0.02*	2.20	2.73
PI 561573	0.30±0.02	0.31±0.05	1.58	1.63
PI 561575	0.34±0.01	0.49±0.03*	1.20	1.73
PI 572237	0.34±0.05	0.31±0.01	0.96	0.88
PI 574530	0.38±0.05	0.49±0.02*	1.44	1.86
PI 576446	0.39±0.17	0.41±0.03	0.72	0.76
단 백 콩	0.29±0.03	0.26±0.08	2.09	1.87
백 태	0.55±0.03	0.40±0.15	0.97	0.71
태 광 콩	0.44±0.03	0.32±0.20	1.11	0.81
풍산나물콩	0.47±0.07	0.25±0.03	1.89	1.00
화엄꽃콩	0.59±0.02	0.53±0.33	2.08	1.87
흑 태	0.47±0.05	0.46±0.07	1.07	1.05

¹*는 중 내 대조구와 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있음을 나타냄(ANOVA, $\alpha = 0.05$).

콩 생장시기별(R4, R6) 톱다리개미허리노린재 접종에 의한 콩립 피해율과 콩립 수가 표15와 16에 나타나 있다. 먼저 콩립 수를 중간 비교해 보았을 때, R4와 R6 접종 시 모두 콩립 수에서 품종 간에 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다(R4, $F=13.4$, $P<0.0001$; R6, $F=5.66$, $P<0.0001$). 또한, R4와 R6 접종 시 모두 비정상 콩립 수 역시 품종 간에 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 (R4, $F=5.66$, $P<0.0001$; R6, $F=3.26$, $P<0.0001$). 앞의 전체 콩립 수 분석 시 대조구 내 품종 별 비정상 콩립 수에서 통계적으로 유의한 차이가 나타났기 때문에 콩 생육 시기에 따른 품종 별 비정상 콩립 수의 차이가 톱다리개미허리노린재에 의한 것인지에 대한 해석이 불가능하게 되었다. 또한, 각 품종별 전체 콩립 수가 차이가 났기 때문에 비정상 콩립율(비정상콩립수/정상콩립수)을 이용한 품종 간의 비교는 제외되었다. 콩 생육 시기별 각 콩 품종의 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성 정도를 알아보기 위하여 종 내에서 처리구와 대조구의 비정상 콩립율의 차이를 ANOVA를 이용하여 분석하였다. 데이터의 오차를 줄이고 표본집단을 정규분포에 가깝게 하고자 피해율을 Arcsin 변환하였다. 종 내 비정상 꼬투리 수 비교시, R4의 경우 PI227219, PI229358, PI417061, PI417136, PI561401, PI561403, PI561575, 백태, 태광콩, 화엄꽃콩, 흑태가 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다. R6의 경우는 PI209837, PI227219, PI417136, PI559365, PI561401, PI561403, PI561573, PI574530, 백태, 태광콩, 화엄꽃콩, 흑태가 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다(표 16). 이들 중, PI227219, PI417061, PI417136, PI561401, PI561403, PI574530, 백태, 태광콩, 화엄꽃콩, 흑태는 R4와 R6 접종시 모두 통계적으로 유의하게 높은 비 정상 콩립율을 나타내었다. 반면에 PI229358과 PI561575의 경우는 R4 시기에만 통계적으로 유의하게 높은 비정상콩립율을 나타내었으며, PI209837, PI559365, PI561573의 경우는 R6 접종시기에만 통계적 유의성이 나타났다. PI574530의 경우는 비록 R4와 R6 두 접종 시기에 대조구 대비 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 못하였지만, 대조구 대비 피해율을 보면 두 접종시기 모두 다른 종들에 비하여 높은 대조구대비 피해율을 보이고 있다(표 16). R4와 R6 접종시기 모두 대조구에 비해 유의하게 높은 비정상 콩립율을 나타낸 종들의 경우, 유의 차이가 나타나지 않은 콩 품종들에 비해 톱다리개미허리노린재의 가해에 대하여 민감한 것으로 볼 수 있을것이다. 그러나 PI229358, PI561575, PI209837, PI559365, PI561573 처럼 어떤 한 접종 시기에만 유의하게 높은 비정상 콩립율을 나타낸 경우는 좀 더 정밀한 조사가 필요할 것으로 생각된다. 이들의 경우 어떠한 한 시기에 톱다리개미허리노린재의 가해에 대한 저항성을 높이는 기작이 발현 되었다가 사라지거나, 또는 톱다리개미허리노린재의 주로 가해하는 생육시기에 맞춰 저항성이 발현 되거나 하는 기작이 있을 수 있다.

표 32. 콩 생장시기별(R4, R6) 톱다리개미허리노린재 접종 실험의 콩립 수와 피해 콩립 수(평균±평균오차).

품종	콩립 수		비정상 콩립 수	
	R4	R6	R4	R6
PI 171444	97.60±10.81	95.25±7.55	40.60±6.19	24.75±2.16
PI 171451	99.00±5.82	96.6±7.08	59.4±4.12	43.2±2.86
PI 209837	144.00±11.15	119.2±4.90	77.75±3.13	84.2±2.82
PI 227219	81.20±1.97	46.80±3.02	56±2.04	31.6±2.06
PI 227687	497.60±39.11	247.33±38.09	156.6±13.31	92.33±7.35
PI 229358	92.00±8.09	144±14.59	77±9.87	67.75±1.38
PI 381660	185.33±36.07	192.6±28.27	80.33±13.00	76.8±15.65
PI 417061	128.60±7.20	96.4±6.82	80.4±5.73	64±4.94
PI 417136	81.25±4.87	92.5±8.62	51.25±3.48	62.5±6.82
PI 417310	35.20±4.66	36.75±0.90	26±2.62	25±2.59
PI 423911	83.20±2.06	97.5±10.02	47.6±2.35	55.75±3.88
PI 518771	42.67±3.56	47.5±2.24	28±3.33	35.25±3.99
PI 559364	119.20±4.43	88.4±5.14	63.6±4.14	48.8±4.14
PI 559365	100.50±5.61	82.5±5.36	43.25±4.52	69.5±4.92
PI 559366	107.00±12.39	118.2±6.74	53.5±9.58	55.8±3.58
PI 561401	124.67±10.42	92±9.32	62.67±4.82	43.8±4.30
PI 561403	91.40±6.59	85.6±5.06	52.8±2.27	64.2±2.14
PI 561570	65.75±6.18	54.67±5.72	39.5±4.14	30.67±2.99
PI 561572	78.20±3.63	76.8±7.18	54±3.43	56±4.71
PI 561573	65.25±5.33	49.33±6.81	44.5±4.81	39.83±5.64
PI 561575	83.40±2.87	75.8±2.92	40.6±1.57	42.8±1.88
PI 572237	116.50±32.17	81.6±5.40	63±12.73	55.8±2.64
PI 574530	71.50±10.96	88±4.50	32±1.41	55.5±3.04
PI 576446	94.33±39.13	66.33±4.04	67.67±24.03	50±3.71
단 백 콩	40.80±2.41	53.33±5.32	25.6±2.64	24±1.00
백 태	47.50±1.27	53.33±18.21	44±1.08	42.33±14.97
태 광 콩	59.40±1.91	42.67±19.83	39.6±1.21	26.33±10.88
풍산나물콩	44.67±4.53	43.6±4.72	34±4.41	29.8±3.11
화엄꽃콩	21.75±1.13	34.5±0.35	17.25±0.43	24±1.41
흑 태	41.00±3.26	28.25±2.05	28.8±1.98	24.25±1.88

표 33. 콩 성장시기별(R4, R6) 톱다리개미허리노린재 접종 실험의 콩립 피해율(평균 ±평균오차)과 대조구 대비 피해율.

품종	비정상 콩립 율 ¹		대조구대비비정상콩립율	
	R4	R6	R4	R6
PI 171444	0.51±0.07	0.28±0.04	3.19	1.75
PI 171451	0.60±0.03	0.48±0.04	1.82	1.45
PI 209837	0.58±0.05	0.73±0.03*	1.87	2.35
PI 227219	0.70±0.03*	0.70±0.03*	2.50	2.50
PI 227687	0.31±0.01	0.42±0.05	1.24	1.68
PI 229358	0.82±0.04*	0.54±0.06	2.16	1.42
PI 381660	0.45±0.02	0.45±0.03	1.15	1.15
PI 417061	0.62±0.02*	0.68±0.03*	1.77	1.94
PI 417136	0.63±0.01*	0.67±0.02*	3.32	3.53
PI 417310	0.79±0.03	0.68±0.07	2.03	1.74
PI 423911	0.57±0.03	0.62±0.03	1.54	1.68
PI 518771	0.65±0.04	0.72±0.06	1.48	1.64
PI 559364	0.53±0.03	0.57±0.06	1.61	1.73
PI 559365	0.44±0.04	0.85±0.03*	1.05	2.02
PI 559366	0.49±0.05	0.48±0.02	1.48	1.45
PI 561401	0.50±0.02*	0.49±0.02*	1.92	1.88
PI 561403	0.61±0.03*	0.78±0.03*	1.97	2.52
PI 561570	0.60±0.04	0.6±0.07	1.76	1.76
PI 561572	0.69±0.02	0.75±0.02	1.03	1.12
PI 561573	0.66±0.02	0.63±0.02*	1.65	1.58
PI 561575	0.50±0.03*	0.75±0.03	2.00	3.00
PI 572237	0.57±0.05	0.72±0.04	1.36	1.71
PI 574530	0.46±0.05*	0.63±0.02*	2.88	3.94
PI 576446	0.71±0.22	0.75±0.03	1.09	1.15
단 백 콩	0.67±0.07*	0.26±0.08*	2.58	1.00
백 태	0.93±0.01*	0.78±0.27*	2.66	2.23
태 광 콩	0.68±0.02*	0.59±0.19*	2.83	2.46
풍산나물콩	0.77±0.06	0.74±0.04	1.93	1.85
화엄꽃콩	0.82±0.04*	0.7±0.05*	2.56	2.19
흑 태	0.72±0.02*	0.86±0.03*	2.12	2.53

¹*는 중 내 대조구와 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 있음을 나타냄(ANOVA, α =0.05).

2) 온실에서 각 콩 품종에 대한 톱다리개미허리노린재의 선호도

온실에서 실시한 톱다리개미허리노린재의 콩 30품종에 대한 선호도 조사 실험의 결과(품종당 종자 수와 품종별 피해율)가 표17에 나타나 있다. 우선 품종 간의 종자수를 비교하여 보면 11.50개 - 25.00개이며 PI 171444와 화엄꽃콩은 실험 시 꼬투리의 성장 속도가 다른 품종과 시간적 차이가 커서 7개의 꼬투리로 실험에 들어가 다른 품종들에 비해 상대적으로 낮은 종자수를 보이고 있다. 품종간의 종자 수는 평균 20개 전 후로 PI 171444, PI 209837, PI 417310과 화엄꽃콩은 상대적으로 낮은 종자수를 보여 전체적으로는 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다($F= 4.02, P < 0.0001$). 전체 콩 수에서 차이가 나므로 중간 피해 콩립 수와 중간 피해율 분석이 불가능해 졌기 때문에, 통계 분석은 생략한 후, 실제 나타난 비정상 콩립수와 비정상 콩립율을 비교하여 참고 자료로 이용하였다. 비록, 통계적으로 분석 되지는 않았으나 PI559366, PI559365, PI227687, PI381660등이 다른 품종에 비해 상대적으로 낮은 비정상콩립율을 보여 이들 품종에 대한 톱다리개미허리노린재의 선호도가 낮은 것으로 보이며 PI 561572와 PI 561575는 다른 품종에 비해 상대적으로 높은 피해정도를 보이고 있어 좀 더 높은 선호도를 보여주고 있다.

표 34. 톱다리개미허리노린재의 콩 종자별 노린재 선호도 실험의 비정상 콩립 수 및 콩립률.

품 종	종 자 수	비정상종자수	피해율
PI 171444*	13.25±1.36	3.00±0.97	0.25±0.04
PI 171451	24.00±0.20	6.00±0.84	0.25±0.04
PI 209837*	13.25±0.69	11.00±1.00	0.55±0.04
PI 227219	18.50±0.60	8.00±0.87	0.36±0.05
PI 227687	23.25±0.47	8.00±0.65	0.36±0.03
PI 229358	21.50±0.43	7.00±0.80	0.3±0.04
PI 381660	22.75±0.43	5.00±0.85	0.21±0.03
PI 417061	20.00±0.46	6.00±1.06	0.31±0.05
PI 417136	19.00±0.91	9.00±1.05	0.42±0.06
PI 417310*	12.33±0.51	6.00±0.58	0.48±0.03
PI 423911	21.00±1.88	9.00±0.38	0.69±0.06
PI 518771	17.00±0.54	7.00±0.97	0.35±0.06
PI 559364	20.67±1.92	6.00±0.77	0.42±0.00
PI 559365	17.25±0.90	7.00±0.72	0.36±0.04
PI 559366	17.75±1.14	1.00±0.88	0.05±0.04
PI 561401	25.00±0.68	6.00±0.85	0.26±0.03
PI 561403	20.50±0.60	5.00±0.88	0.29±0.04
PI 561570	20.75±0.52	4.00±1.26	0.19±0.06
PI 561572	20.00±0.35	9.00±1.30	0.45±0.05
PI 561573	21.75±0.85	5.00±0.94	0.22±0.07
PI 561575	23.00±0.88	14.00±0.84	0.58±0.05
PI 572237	19.25±0.78	5.00±0.43	0.22±0.02
PI 574530	23.00±0.77	9.00±0.69	0.34±0.03
PI 576446	18.50±0.20	6.00±1.08	0.42±0.05
단 백 콩	20.75±0.88	8.00±1.16	0.42±0.05
백 태	22.33±0.96	5.00±1.84	0.2±0.08
태 광 콩	22.25±0.55	8.00±1.37	0.34±0.06
풍산나물콩	19.50±1.06	7.50±1.77	0.39±0.11
화엄꽃콩*	11.50±0.52	3.00±0.46	0.33±0.03
흑 태	19.75±0.43	5.00±0.77	0.26±0.04

¹ *로 표시된 품종은 ANOVA분석에서 제외 되었음.

3) 저항성 품종과 감수성 품종

이번 과제를 통하여 실시한 여러 가지 실험 결과를 종합하여 볼 때, 몇 종의 감수성 품종과 저항성 품종을 선별할 수 있었다. 대부분의 콩들이 하나 또는 두 개의 실험에서 어

느 정도의 감수성 특징을 나타내는 결과를 보였으나, 전체적으로 몇몇 종들은 뚜렷한 감수성 또는 저항성 성질을 전체 실험을 통하여 나타내었다 (표 18). 먼저 전체 실험을 통하여 가장 뚜렷한 감수성 특징을 나타낸 품종은 PI561575로 전체 콩립 피해율에서 처리구가 대조구에 비해 통계적으로 유의하게 높게 나타났으며, 톱다리개미허리노린재의 R4시기 집중 시 비정상 꼬투리 율과 비정상 콩립 율 역시 대조구에 비해 유의하게 높게 나타났다. 또한 톱다리개미허리노린재 유충 발육 기간의 실험에서 유충 발육 기간이 가장 짧은 품종 중 하나였으며 (16.38 ± 0.324 , 표 8), 선호도 실험에서도 높은 콩 종자 피해율을 나타내 선호도 역시 높았던 것으로 나타났다. 이 밖에 PI561401과 PI417136의 경우도 톱다리개미허리노린재의 유충 발달이 가장 짧게 나타난 두 콩 품종으로, 전체 콩립 피해율을 볼 때, 비정상 콩립 율이 처리구에서 대조구보다 통계적으로 유의하게 높게 나타났으며, R4시기 집중 시에도 역시 비정상 콩립 율이 처리구에서 대조구보다 유의하게 높게 나타나 강한 감수성 특징을 나타내었다. 이에 반하여 PI559366, PI381660은 강한 저항성 특징을 나타냈는데, 이들 두 품종은 전체 피해율 실험을 통하여 단 한 경우도 대조구에 비하여 유의하게 높은 피해율을 나타내지 않았으며, 톱다리개미허리노린재 유충 발육 실험에서도 가장 긴 발육 기간을 나타낸 종들에 들었었고, 선호도 실험에서도 매우 낮은 선호도 결과를 나타내었다. 이들 외에도 PI559365, PI576446, PI227687, PI572237등도 매우 강한 저항성 특징들을 전체 실험을 통하여 나타내었다.

표 18. 톱다리개미허리노린재에 대한 감수성 품종과 저항성 품종

감수성 품종	저항성 품종
PI561575	PI572237
PI561401	PI227687
PI417136	PI576446
	PI559365
	PI381660
	PI559366

4) 톱다리개미허리노린재에 대한 콩 저항성 검정법

이번 과제를 통하여 실시한 여러 가지 저항성 검정법 실험 경험과 결과를 토대로 하여 적절하다고 생각되는 톱다리개미허리노린재에 대한 콩 저항성 검정법을 제안한다.

a. 각 품종을 먹이로한 톱다리개미허리노린재 발육 실험

목적- 콩 품종 별 톱다리개미허리노린재에 대한 antibiosis를 알아보기 위한 실험으로 콩에서 생성된 화학물질에 의한 톱다리개미허리노린재의 발육이나 사망률등이 품종 간에 차이가 나타나는가를 알아본다. 콩에서 생성된 화학물질이 콩에서 주로 발현되는지, 또는 콩 꼬투리에서 발현되는지는 정확히 알려져 있지 않으므로 콩, 콩 꼬투리 두 가지를 먹이로 하는 두 개의 개별적 실험을 실시하는 것도 개연성이 있으나, 이번 과제에서는 콩만을 먹이로 하여 실험을 실시하였으며, 콩 품종 간 차이를 얻어낼 수 있었다.

방법 - 저항성 검정 대상 콩 품종들을 먹이로 하여 톱다리개미허리노린재 사육 적정 온도인 28℃에서 사육하여 각 품종 별 톱다리개미허리노린재의 유충 발육 기간, 유충 사망률, 성충우화율등을 조사한다. 각 품종 당 톱다리개미허리노린재 10개체씩 5반복 정도면 어느 정도의 콩 품종 간 차이를 판별할 수 있을 것이다.

b. 품종 선택 실험 (Choice experiment)

목적 - 콩 품종 별 톱다리개미허리노린재에 대한 antixenosis를 알아보기 위한 실험으로 콩에서 발현되는 어떠한 화학물질 또는 물리적 특성의 차이가 톱다리개미허리노린재의 콩 품종에 대한 선호도에 미치는 영향을 알아본다.

방법- 콩 품종이 적을 경우는 간단히 y 튜브등을 이용한 choice 실험을 실시할 수 있으나, 이번 과제에서와 같이 품종이 많을 경우는 조합이 너무 많아지기 때문에, 전체 품종을 일시에 검정할 수 있는 방법을 이용한다. 이번 과제에서 이용한 방법은 각 품종 간 생육 시기와 콩 꼬투리 수를 일치 시키고 이들 품종을 온실 내에서 일정 한 간격으로 배치한 후, 톱다리개미허리노린재를 각 품종이 배치된 위치로부터 동일한 거리에서 방사하여 콩 품종을 선택하도록 하였다. 선호도가 높은 품종은 가해정도가 높을 것으로 생각하여 콩 수확 후 전체 꼬투리 수, 전체 콩 수, 비정상 꼬투리 수, 비정상 콩 수를 파악하여 품종 간 피해정도의 차이를 알아보았다.

c. 품종 별 피해도 실험 (Non-choice experiment)

목적 - 콩 품종별 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성을 종합적으로 알아보기 위한 실험

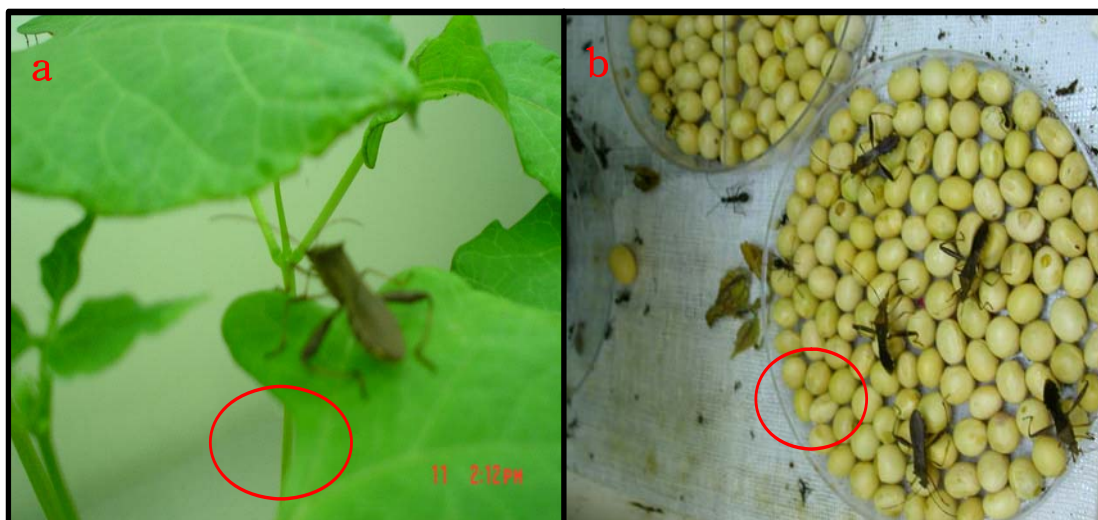
험으로 콩의 물리적, 화학적 특성으로 인한 톱다리개미허리노린재의 섭식, 발달의 품종 간 차이를 알아본다.

방법 - 콩 생육 시기 중 톱다리개미허리노린재의 주요 가해시기로 알려진 R4와 R6 두 시기에 톱다리개미허리노린재를 접종하여 콩 품종 간 가해정도의 차이를 알아본다. 콩을 수확한 후, 전체 꼬투리 수, 피해 꼬투리 수, 전체 콩 수, 피해 콩 수 등을 파악하여, 품종간에 피해 꼬투리 수와 콩 수, 꼬투리 피해율, 콩 피해율 등에 차이가 나타나는 지 알아본다.

위의 실험들 중 어느 하나의 실험만으로도 어느 정도의 저항성 파악이 가능할 것으로 생각되나, 세 가지 실험을 모두 조합하여 실험하게 되면 그 결과의 해석이 더욱 쉽고, 설득력도 높아 질 것으로 생각된다.

4. 톱다리개미허리노린재의 가해판별 기준 확립

1) 종자에서의 톱다리개미허리노린재의 가해판별 기준 확립



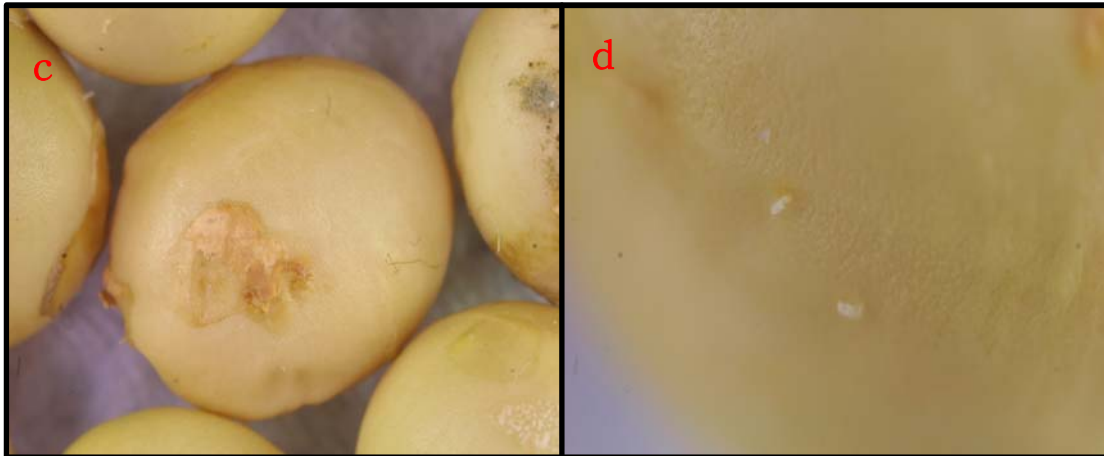


그림 3. 톱다리개미허리노린재의 가해 (a; 강낭콩 기주 식물을 가해 하는 톱다리개미허리노린재, b; 백태를 먹고 있는 톱다리개미허리노린재, c; 톱다리개미허리노린재의 배설물, d; 현미경으로 관찰한 톱다리개미허리노린재의 식흔)

그림에서 볼 수 있듯이 노린재의 식흔은 피해가 심하지 않은 경우라도 현미경으로 쉽게 확인할 수 있으며, 가해 정도가 심할 경우는 외형적인 콩의 변화가 일어나 육안으로도 구별이 가능하다. 그러나 가해 초기에는 육안으로 가해를 확인하기 어렵다.

2) 톱다리개미허리노린재의 가해시기별 꼬투리변화에 따른 가해판별 기준 확립

톱다리개미허리노린재에 의한 가해 초기에는 흡즙에 의해 꼬투리에 구침자국과 함께 검은 반점 같은 얼룩 무늬가 나타나게 되며(그림 a) 가해가 진행됨에 따라 꼬투리의 갈변부위가 점차 커지게 되고(그림 b) 결국 꼬투리가 마르면서(그림 c) 더 이상 성장하지 못하고 떨어지게 되거나 꼬투리 생성 초기에 가해 당할 경우는 갈변 현상 없이 바로 기형 꼬투리를 형성하기도 한다 (그림 d). 노린재의 흡즙에 의한 자국이나 얼룩은 노린재 흡즙시 모든 성장단계에서 나타나는 증상이었으나 꼬투리의 기형이나 마르는 증상은 종자가 생성되기 전 꼬투리가 노린재에 의해 피해를 받을 시 나타났고 종자가 생성된 후에 피해를 받을 시에는 약간의 기형은 생기나 꼬투리가 마르거나 낙과하지 않았다. 노린재의 흡즙에 의한 얼룩은 노린재를 접촉 한 후 일주일 전후로 나타났으며 꼬투리가 생성될 시기에 노린재의 피해를 받은 개체들은 10일을 전후하여 8개체 중 5개체에서 꼬투리가 떨어졌다. 꼬투리 성장기에서는 8개체 중 4개체에서 꼬투리가 조기에 떨어졌으며 씨방형성기에서는 1개체가 떨어졌으며 종자형성기, 종자 성장기, 종자성숙기에서는 조기에 떨어진 꼬투

리가 없었다.



(a)

(b)



(c)

(d)

그림. 톱다리개미허리노린재의 가해사진 (a) 꼬투리에 나타난 노린재의 흡즙자국, (b) 꼬투리에 나타난 노린재의 흡즙에 의한 얼룩, (c) 노린재가해에 의한 꼬투리의 갈변현상 (d) 노린재에 의한 꼬투리 기형).

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 제 1세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전분석 및 내충성 콩 계통 육성

노린재 저항성 유전 연구를 위하여 미국 USDA 종자은행으로부터 내충성 유전자원을 도입하여 내충성 유전자원과 국내장려품종간 교배를 통해 총 11개의 RIL 분리집단들에 대한 F₆₋₇ 세대 육성하였다. 노린재 저항성 유전자 연관지도 작성을 위해 모부분간 SSR 마커 다형성 조사와 집단들에 대한 SSR 마커 분석을 분석하였고 100여개의 SSR 마커가 위치한 유전자 지도를 작성하였으며 노린재 내충성 연관 QTL을 동정하여 앞으로 노린재 내충성 유전 연구와 marker-assisted selection에 활용하여 초기 세대에서 내충성 형질 선발이 가능하게 할 수 있다. 서울대 곤충학연구실과의 협동연구로 육성된 RIL 집단과 양친의 노린재 저항성 정도에 대해 조사하였다. 이러한 노린재 저항성 표현형과 동정된 노린재 저항성 연관 마커를 이용하여 육성된 분리집단들에서 노린재 저항성 콩 계통을 선발할 수 있다. 베트남의 칸토대학과의 협력연구로 단기간에 4-5세대를 진전시킬 수 있었으므로 F₄₋₅세대 종자를 국내로 반입하여 유용형질에 대한 MAS를 활용한다면 체계적이고 효율적인 육종 프로그램을 확립하는 계기가 되었으며 특히, 내충성 형질과 같은 복잡한 양적 형질들의 개량이 더욱 가속화할 수 있다고 사료된다. 또한 육성된 분리 집단은 내충성 형질이외에는 다른 유용한 형질들을 많이 가지고 있을 것으로 추측되며 이러한 유전자원들에 대해 다각적인 표현형 조사를 통해 앞으로 다른 유용 형질들에 대한 연관 마커 동정과 QTL 탐색에 이용될 수 있을 것이다.

선발된 노린재 저항성 콩 20계통들은 지속적인 유전적 고정과정과 함께 다른 농업적 우량 형질들(초형, 초장, 수확기, 수량, 품질 등)에 대한 조사를 통해 우량 계통으로 육성할 수 있을 뿐만 아니라 향후 다른 품종 육성을 위한 중간 모본으로도 사용할 수 있을 것이다.

SSR 마커 분석은 형광표지된 primer를 이용하여 자동염기서열장치와 Genemapper 소프트웨어를 사용하여 최대한 자동화 체계를 구축토록 하여 단기간에 작물의 유전자 지도 작성을 할 수 있는 기술을 발전시켰다. 1회의 전기영동작업으로 1개의 well에 최대 12개의 서로 다른 SSR 마커를 분석할 수 있고 특히 매 SSR 마커마다 형광표지로 제작 방법 대신 M13 universal primer에 형광표지로 라벨링함으로써 형광표지 primer 제작 비용을 획기적으로 감소시킬 수 있었다.

2. 제 2세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법 확립 및 내충성 평가

여러 가지 저항성 검정법 실험 경험과 결과를 토대로 하여 적절하다고 생각되는 톱다리개미허리노린재에 대한 콩 저항성 검정법으로는 각 품종을 먹이로 한 톱다리개미허리노린재의 발육 실험, 품종 선택 실험(Choice experiment)과 품종 별 피해도 실험(Non-choice experiment)이 제안되며 효과적이고 재현성이 뛰어난 검정체계로 생각되어진다. 이번 과제를 통하여 실시한 여러 가지 실험 결과를 종합하여 볼 때, 몇 종의 감수성 품종과 저항성 품종을 선별할 수 있었다. PI561575, PI561401, PI417136이 톱다리개미허리노린재에 대하여 감수성이 높은 것으로 나타났으며, PI559336, PI381660, PI559365, PI576446, PI227687, PI572237등은 저항성이 높은 것으로 나타나 톱다리개미허리노린재에 대한 내충성 콩 계통을 육성하는데 기여할 것으로 전망된다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1절 활용 방안

1. 제 1세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전분석 및 내충성 콩 계통 육성

본 연구에서는 미국 USDA 종자은행으로부터 내충성 유전자원을 도입하여 내충성 유전자원과 국내장려품종간 교배를 통해 총 11개의 RIL 분리집단들에 대한 F₆₋₇ 세대 육성하였다. 육성된 분리 집단은 성숙기와 개화기와 같은 다른 주요한 농업적 형질에 대한 유전적 분리 현상을 관찰할 수 있으므로 앞으로 이러한 유용 형질들에 대한 연관 마커 동정과 QTL 탐색에 이용될 수 있을 것이다. 또한 내충성 형질은 콩 종자의 직접적인 파괴적인 방법에 의해 표현형의 조사가 이루어지는데 이는 종자의 손실로 인해 세대 진전에 많은 어려움을 야기하므로 더욱더 예측이 매우 어려운 주요 양적 형질의 품종 개량에 동정된 연관 SSR 마커와 QTL를 이용하여 육종 프로그램을 가속화시킬 수 있다.

콩의 국내 소비량은 2000년대에 들어서 꾸준히 증가하는 추세이지만 자급도는 계속 감소하는 현상을 보이고 있다. 궁극적으로 우량한 농업 형질을 가진 고품질 콩 품종의 개발 촉진으로 콩의 생산비용을 절감하여 부가가치를 향상시킬 수 있으며 이를 통해 중국과 미국에 대한 콩의 수입 의존도를 상당 부분 해결할 수 있을 것이다.

2. 제 2세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법 확립 및 내충성 평가

톱다리개미허리노린재에 대한 콩 저항성 검정법으로 콩 품종 별 톱다리개미허리노린재에 대한 antibiosis를 알아보기 위해 각 품종을 먹이로 한 톱다리개미허리노린재 발육 실험, 콩 품종 별 톱다리개미허리노린재에 대한 antixenosis를 알아보기 위한 품종 선택 실험 (Choice experiment)과 콩 품종별 톱다리개미허리노린재에 대한 저항성을 종합적으로 알아보기 위한 품종 별 피해도 실험(Non-choice experiment)을 제안할 수 있다. 위의 실험들 중 어느 하나의 실험만으로도 어느 정도의 저항성 파악이 가능할 것으로 생각되나, 세 가지 실험을 모두 조합하여 실험하게 되면 그 결과의 해석이 더욱 쉽고, 설득력도 높아 질 것으로 생각된다

제 2절 추가적 연구

1. 제 1세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전분석 및 내충성 콩 계통 육성

본 연구를 통해 노린재 내충성에 관련된 양적 형질 유전자좌의 위치를 SSR 마커를 통해 확인하였다. 그러나 콩의 전체 게놈의 크기가 3000cM인데 반해 본 연구에서 작성된 유전자 지도의 전체 게놈 크기는 690cM 정도이다. 유전자 지도를 작성시 연관되지 못한 마커들로 인해 크기가 다소 작아진 면도 있지만 무엇보다도 더 많은 SSR 마커들을 보강하여 더욱 세밀한 유전자 지도를 작성할 필요가 있다. 결과적으로 더 세밀한 유전자 지도 제작을 통해 좀더 많은 QTL에 근접하는 마커를 동정할 수 있다고 생각한다.

제 2세부과제의 연구결과를 토대로 본 연구에서 육성한 교배 분리 집단 중에서 특히 PI227687이 노린재 저항성이 높게 나타났기 때문에 이것을 양친중 하나로 이용하여 단백콩, 태광콩, 풍산나물콩과 교배한 RI 집단들을 대상으로 동정한 노린재 내충성 관련 QTL를 재확인하고 이 집단에 대한 유전자 지도를 작성하여 다른 내충성 관여 유전자들도 탐색하고 보다 더 근접한 연관 마커를 찾을 수 있다.

2. 제 2세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법 확립 및 내충성 평가

본 연구를 통해 톱다리개미허리노린재에 대한 콩 저항성 검정법을 제시하였고 그 검정법을 토대로 진행된 실험에서 저항성품종을 판별할 수 있었다. 그러나 실험이 온실과 실내에서 진행되어 환경 영향에 대한 정확한 평가가 보완된다면 환경변위에 따른 보다 효과적이고 재현성이 뛰어난 검정체계가 확립될 것으로 보인다. 아울러 본 연구에서 사용된 국내품종에서는 저항성이 나타나지 않았지만 그 외에 좀더 다양한 국내품종에 대한 추가적 실험을 수행한다면 좋은 결과를 얻을 수 있을 것으로 평가된다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 제 1세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 유전분석 및 내충성 콩 계통 육성

최근(2007년 5월) 미국 농무성 USDA는 새로운 콩 유전자 지도 작성을 'Genetics' 학술지에 보고하였는데 지난 2002년부터 차세대 DNA 마커인 단일염기변이(single nucleotide polymorphism: SNP)를 탐색하여 총 2000여개의 SNP 마커를 개발하였다. 1000여개의 SSR 마커가 위치한 유전자 지도를 바탕으로 세 개의 서로 다른 분리 집단을 이용하여 1000여개 이상의 SNP 마커를 포함한 고밀도 콩 유전자 지도를 작성한 것이다. SNP 마커는 비기능적인 SSR 마커와 달리 유전자와 전사체의 염기서열을 토대로 한 DNA 마커이므로 직접적인 유전자의 위치를 알 수 있으므로 향후 유용 유전자의 분리와 동정에 획기적으로 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

2. 제 2세부과제: 콩 톱다리개미허리노린재 저항성 검정법 확립 및 내충성 평가

콩을 가해하는 노린재류의 밀도억제요인으로서 알기생벌은 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 그중에서 *Ooencyrtus nezrae*(Hymenoptera: Encyrtidae)는 기주범위가 넓어 콩을 가해하는 노린재류의 유력한 천적으로 간주된다. 톱다리개미허리노린재 수컷은 (*E*)-2-hexynyl (*Z*)-3-hexenote(E2HZ3H), (*E*)-2-hexynyl (*E*)-2-hexenote(E2HE2H)와 myristyl isobutyrate (MI)의 세 성분으로 구성되는 집합페로몬을 분비하여 동종의 암컷과 약충을 유인한다. 이 집합페로몬은 톱다리개미허리노린재 뿐만 아니라 알기생벌인 *O. nezrae*도 유인하는데(Masuta *et al.*, 2001, Mizutani, 2001), 이 현상을 이용하여 노린재를 방제를 시도하거나 알기생벌 *O. nezrae*를 자체를 이용한 생물학적 방제가 시도되고 있다(Kikuchi 1995).

제 7 장 참고문헌

- All, J.N., H.R. Boerma, J.W. Todd. 1989. Screening soybean genotypes in the greenhouses for resistance to insects. *Crop Sci.* 29:1156-1159.
- Boethel, D. J. 1999. Assessment of soybean germplasm for multiple insect resistance. In *Global plant genetic resources for insect-resistant crops* (pp101-129). Edited by S. L. Clement and S.S. Quisenberry. CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C.
- Boetherl, D.J., J.S. Russin, A.T.Wier, M.B. Layton, J.S. Mink and M.L. Boyd. 2000. Delayed maturity associated with southern green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) injury at various soybean phenological stages. *J. Econ. Entomol.* 93:707-712.
- Bowling, C.C. 1979. The stylet sheath as an indicator of feeding activity of the rice stink bug. *J. Econ. Entomol.* 72:259-260.
- Choi, I.-K., D. L. Hyten, L. K. Matukumalli, Q. Song, J. M. Chaky, C.V. Quigley, K. Chase, K. G. Lark, R. S. Reiter, M.-S. Yoon, E.-Y. Hwang, S.-I. Yi, N. D. Young, R. C. Shoemaker, C. P. van Tassell, J. E. Specht, P. B. Cregan. 2007. A soybean transcript map: Gene distribution, haplotype and SNP analysis. *Genetics* 10.1534/genetics.107.070821
- Cregan, P. B., T. Jarvik, A. L. Bush, R. C. Shoemaker, K. G. Lark, A. L. Kahler, N. Kaya, T. T. VanToai, D. G. Lohnes, J. Chung, J. E. Specht. 1999. An integrated genetic linkage map of the soybean genome. *Crop Sci.* 39:1464-1490
- Fehr, W.R., C.E. Caviness, D. T. Bernood, J. S. Pennington. 1971. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop Sci.* 11:929-931.
- Gilman, D. F., R. M. McPherson, L. D. Newsom, D. C. Herzog, C. Williams. 1982. Resistance in soybeans to the southern green stink bug. *Crop Sci.* 22:573-576.

- Gilmar, D.F., M. McPherson, L.D. Newsom, D.C. Herzog, C. Williams. 1982. Resistance in soybeans to the southern green stink bug. *Crop Sci.* 22:573-576.
- Hammond-Kosack K. E., J. D. G. Jones. 1997. Plant disease resistance genes. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:575-607.
- Jones, Jr., W. A., M. J. Sullivan 1979. Soybean resistance to the southern green stink bug, *Nezara viridula*. *J. Econ. Entomol.* 71:534-536.
- Jung, J.K., D.J. Im. 2003. Attraction of the bean bug, *Riptortus clavatus* (Thurberg) (Hemiptera: Alydidae) by opposite sexes in a soybean field. *J. Asia-Pacific Entomol.* 6:239-241.
- Jung, J.K., J.T. Youn, D.J. Im, U.K. Kim 2004. Population density of the bean bug, *Riptortus clavatus* (Thurberg) (Hemiptera: Alydidae) and soybean injury in soybean fields. *Treat. of Crop Res.* 5:473-483.
- Jung, J.K., J.T. Youn, D.J. Im, J.H. Park, U.H. Kim. 2005. Soybean seed injury by the bean bug, *Riptortus clavatus* (Thurberg) (Hemiptera: Alydidae) at reproductive stage of soybean (*Glycine max* Linnaeus). *Korean J. Appl. Entomol.* 44:299-306.
- Kingaed, R.T., M.L. Laster and E.E. Hartwig. 1971. Simulated pod injury to soybeans. *J. Econ. Entomol.* 64:984-985.
- Kono, S. 1989. Analysis of soybean seed injuries caused by three species of stink bug. *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.* 33: 128-133.
- Laviolette, F. A., K. L. Athow, A. H. Probst, J. P. Wilcox. 1970. Effect of bacterial pustule on yield of soybeans. *Crop Sci.* 10:150-151.
- Layton, M. B., D. J. Boethel, C. M. Smith. 1987. Resistance to adult bean leaf beetle and banded cucumber beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in soybean. *J. Econ. Entomol.* 80: 151-155.
- Lee, G.H., C.H. Paik, M.Y. Choi, Y.J. Oh, D.H. Kim, S.Y. Na. 2004. Seasonal

- occurrence, soybean damage and control efficacy of bean bug, *Riptortus clavatus* (Thurberg) (Hemiptera: Alydidae) at soybean field in Honam province. *Korea J. Appl. Entomol.* 43:249-255.
- Lourencao, A. L., A. S. Costo, M. A. G. de Miranda. 1989. Sources of resistance to insect pests and virus vectors in soybean germplasm tested at the Instituto Agronomico, SP, Brazil, In: A. J. Pascale, Ed., Proc. World Soybean Res. Conf. IV, AASOJA, Buenos Aires.
- Schuelke, M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotech.* 18:233-234.
- Son, C., S. Park, Y. Hwang, B. Choi. 2000. Field occurrence of stingbug and its damage in soybean. *Korean Journal of Crop Science.* 45(6):405-410.
- Song, Q. J., L. F. Marek, R. C. Shoemaker, K. G. Lark, V. C. Concibido, X. Delannay, J. E. Specht, P. B. Cregan. 2004. A new integrated genetic linkage map of the soybean. *Theor. Appl. Genet.* 109:122-128
- Talekar, N. S., H. R. Lee, Suharsano. 1988. Resistance of soybean to four defoliator species in Taiwan. *J. Econ. Entomol.* 81:1469-1473.
- Virk, P. S., H. S. Pooni, N. H. Syed, M. J. Kearsey. 1999. Fast and reliable genotype validation using microsatellite markers in *Arabidopsis thaliana*. *Theor. Appl. Genet.* 98:462-464.
- Yencho, G. C., M. B. Cohen, P. F. Byrne. 2000. Applications of tagging and mapping insect resistance loci in plants. *Annu. Rev. Entomol.* 45:393-422.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.