

최 종
연구보고서

고세대 여교잡 QTL 분석이용 도열병 내구저항성
유전자탐색 및 벼 품종 개발

Development of rice cultivars with durable
resistance to blast using AB-QTL analysis

연구기관

충남대학교 농업생명과학대학
작물과학원 환경생명공학과
경희대학교 생명공학원

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “고세대 여교잡 QTL 분석이용 도열병 내구저항성 유전자탐색 및 벼 품종 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

제1 세부 연구과제 : 고세대 여교잡계통 육성 및 도열병 내구저항성

제1협동연구과제 : 벼품종 개발고세대 여교배계통 도열병 내구저항성 검정 및 특성 평가

제2협동연구과제 : 도열병 방어유전자 분리, 특성분석 및 분자표지 개발

2007년 5월 일

주관연구기관명 : 충남대학교

총괄연구책임자 : 안 상 낙

세부연구책임자 : 안 상 낙

연구 원 : 구 홍 광, 송 미 희
김 봉 학, 강 주 원

협동연구기관명 : 작물과학원

협동연구책임자 : 오 인 석

연구 원 : 한 성 숙, 노 재 환
김 기 중, 김 병 련

협동연구기관명 : 경희대학교

협동연구책임자 : 전 중 성

연구 원 : 이 상 규, 유 학 승

연구 원 : 조 지 연, 김 혜 경

여 백

요약문

I. 제목

고세대 여교잡 QTL 분석이용 도열병 내구저항성 유전자탐색 및 벼 품종 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

벼 도열병은 *Magnaporthe grisea*에 의해 발병되는 주요 병해의 하나로서 벼씨의 발아 직후부터 출수 후의 성숙기까지 잎, 마디, 이삭목, 이삭가지, 벼 알 등 식물체의 전 부위, 전생육기에 걸쳐 지속적으로 발병된다. 한국을 포함한 전 세계의 벼 재배지역에서 발생하는 생산성에 가장 큰 영향을 미치는 병해로 벼 재배에서 도열병에 의한 전 세계적인 년 손실액은 50억불이상에 달하는 것으로 추정된다.

도열병에 의한 피해를 줄이기 위해서는 저항성 품종을 육성하여 재배하는 것이 가장 효과적인 방제법으로 인식되어 왔으며, 그 동안 수많은 저항성 품종들이 육성되었다. 도열병 저항성품종 육성에는 대부분 저항성의 표현형과 효과가 명료하고 강력한 주동유전자 (major gene)가 이용되었는데, 많은 도열병 저항성 품종들이 육성되어 품종으로 보급 된지 수년 내에 저항성이 붕괴되는 현상이 빈번히 발생하여 왔다. 도열병 저항성 유전은 다른 형질들의 유전보다 상대적으로 단순한 것으로 밝혀졌으나, 실제 포장에 존재하는 수많은 레이스와 이들 레이스의 변이성이 하나 또는 2~3개의 주동 저항성 유전자 (major resistant gene)를 가지는 벼 품종의 저항성 안정 지속기간을 단축시키는 요인으로 작용하고 있다. 고도 저항성 품종을 개발하는 기존의 육종보다는 안정적이고 지속적으로 저항성을 보이는 내구저항성 품종 (durable blast resistant variety)을 육성하는 것이 중요하다. 내구저항성 품종의 육성을 위하여 주동 저항성 유전자의 집적 (gene pyramiding), 다계품종 (multilines)의 육성, 도열병 저항성에 관여하는 미동유전자와 주동유전자의 결합 등의 방법이 제안되었다.

본 연구는 양질이지만 도열병에 이병성인 일품벼와 한국의 전 균주 및 13개 장소의 발못자리 검정 결과 모두 저항성을 보인 모로베레칸과의 교잡을 통하여 일품벼의 유전적 배경에 모로베레칸의 염색체 단편이 이입된 고세대 여교잡계통을 육성하고 도열병에 대해 연차간, 지역간 안정적인 저항성 효과를 보이는 계통을 선발하여 유전자형을 분석하여 저항성 벼 품종 육성의 중간모본, 다계품종 개발을 위한 근동질계통의 육성 그리고 도열병 저항성 유전자 및 방어유전자 탐색으로 병 저항성 육종에 기초 자료를 제공하고자 수행하였다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

본 연구는 (i) 일품벼와 모로베레칸 조합의 고세대 여교잡 계통을 육성하고 도열병 내구 저항성 유전자를 탐색하며 (ii) 고세대 여교잡 계통에 대한 도열병 내구저항성 평가로 병저항성 관련 유전자를 개발하며 (iii) 도열병 저항성 유전자 및 방어유전자 탐색으로 병 저항성 육종에 기초자료를 제공하며 (iv) 양질미인 일품벼의 유전적 배경에 모로베레칸의 도열병저항성 유전자가 선택적으로 이입된 일품벼 근동질계통을 육성하여 도열병 저항성 중간모본 및 다계품종 육성을 위한 재료를 육성하고자 수행하였다.

IV. 연구개발의 결과 및 활용에 대한 건의

최근 육성된 자포니카형 벼들은 소수의 우수 계통을 모본으로 이용하여 육성되었기 때문에 유전적 다양성의 부족한 실정이다. 도열병은 균계의 변이가 빠르기 때문에 저항성이 쉽게 붕괴되는 현상(break-down)이 있어 광범위한 균계에 지속적인 저항성을 보이는 내구저항성 관련 유전자 분석이 필요할 뿐만 아니라 도열병 저항성 안정화를 위한 다양한 저항성원 탐색 및 이용이 필요하다. 내구저항성 품종 육성을 위하여 고도 양질미인 일품벼 (반복친)와 한국의 전 균주 및 발못자리 결과 모두 저항성으로 판정된 모로베레칸을 교배조합으로 하여 279개의 BC3F2 계통을 육성하였고, 이들 계통들의 SSR 유전자형, 표현형 그리고 도열병 반을 등을 평가하여, 최종적으로 117개의 BC3F5 고세대 여교잡계통을 선발하였다. 선발된 계통을 이용하여 유전자지도를 작성하고 유전자형을 검정하였으며, 여교배계통을 수원의 작물과학원과 대전의 충남대학교 실험포장에 공시하여 농업관련 형질들을 조사하였다. 도열병 저항성은 수원, 제천, 이천, 대전 등 4곳에서 발못자리 검정을 실시하고

QTL 분석을 실시하였다. QTL 분석 결과, 출수기 등 7개의 농업적형질에서 31개의 QTL, 아밀로스 함량 등 11개의 미질 특성에서 23개의 QTL이 탐지되었다. 도열병 저항성과 관련된 QTLs이 4번, 5번 및 7번 염색체에서 탐지되었는데, 모든 유전좌에서 모로베레칸의 단편이 도열병 저항성을 증진시켰다. 이들 저항성 유전자들은 아밀로스 함량 등 미질 관련 유전자들과 연관을 보이지 않은 점은 MAS (marker assisted selection)을 이용함으로써 고품질과 도열병 저항성 유전자를 효율적으로 집적시킬 수 있음을 시사해 준다. 이들 중, 저항성이 증진되고 농업적 형질이 유망한 27개의 계통의 내구저항성 검정을 실시한 결과, 4번 염색체의 RM3843 - RM5709마커 사이에 위치한 것으로 판단되었으며 CR9, CR11 등 10개 계통이 내구저항성 표준품종인 팔공벼와 대등한 내구성을 보여 유망시되었고, 농업적 형질이 일품벼와 유사한 CR9, CR11 등 5개 계통은 품종등록을 위한 예비실험을 수행하였다. 또한 DEG gene fishing system과 microarray를 이용하여 병 저항성에 관여하는 유전자 MAPK 등 100개 이상을 분리하였다. 이 중 강한 유도성 발현을 보이는 유전자들을 형질전환하고 있으며, 형질전환체 분석을 통해 이들 유전자들의 기능을 분석할 예정이다.

육성된 고세대 여교잡계통들은 일품벼의 배경에 모로베레칸의 서로 다른 염색체 단편들이 2-3개 이입된 일품벼 근동질계통으로 앞으로 도열병 저항성 유전자/QTL의 고밀도 지도 작성 및 분리에 소중한 자료로 이용될 것이다. 검정 결과 내구저항성을 보이는 여교잡계통은 내구 저항성의 유전기작 해석 및 관여 유전자/QTL의 분석에 이용될 수 있다. 또한 이들 계통들은 내구 저항성 품종, 내구 저항성 품종의 육성을 위한 중간모본, 그리고 다계품종 육성을 위한 근동질계통으로 이용할 수 있다. 또한 이들 계통들은 도열병 저항성유전자 이외의 다른 양적 형질 유전자의 탐색에 이용될 수 있다.

본 과제는 도열병 저항성 근동질계통 및 우수 품종을 육성하기 위해 수행되었다. 품종 육성을 위해서는 최소한 5년 이상의 연구기간이 필요하나 이 과제가 3년으로 계획되어 있기 때문에 품종육성 단계까지 이르지 못했다. 그러나, 과제 3년차에 5개의 우수 계통에 대한 품종등록 예비시험을 했고, 1-2년 더 생산력 검정을 수행한 후에 품종출원을 할 예정이기 때문에 품종 육성을 위한 추가적인 지원이 필요하다. 육성된 재료들은 개발자와의 협의 하에 타 연구에 이용될 수 있을 것이다.

여 백

SUMMARY

The objectives of the present study were to i) identify durable blast resistance genes using the advanced backcross populations derived from a cross between Ilpumbyeo and Moroberekan, ii) develop DNA markers linked to the blast resistance genes, iii) identify defense-related genes and iv) develop a set of nearly isogenic lines in the Ilpumbyeo genetic background with enhanced blast resistance.

Rice blast disease caused by the filamentous ascomycete fungus *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr. is one of the most destructive diseases of rice worldwide. Host-plant resistance based on the hypothesis of gene-for-gene interaction is the most economical and environmentally safe approach to control the disease. However, the pathogenicity of *M. grisea* isolates is highly variable and sometimes a small section of the virulent isolate spreads rapidly and overcomes resistance genes of rice cultivars. It is necessary to look for novel resistance gene(s) for blast that can express a broad spectrum of resistance in diverse environmental conditions. In this study, we have made an attempt to search for the new genes/QTL from an African upland cultivar, Moroberekan. A total of 117 BC3F5 advanced backcross lines was developed from a cross between Ilpumbyeo as a recurrent parent and Moroberekan. SSR markers were used to map and characterize quantitative trait loci (QTLs) for traits related to blast resistance, agronomic performance and grain quality. A genetic linkage map was constructed for the same population using 124 SSR markers. QTL analysis identified 45 significant QTLs for 21 traits with a range of 1- 5 QTLs detected per trait. Three major QTLs for the blast resistance in the blast nursery test were detected on chromosomes 4, 5, and 7. Direction of additive gene effect for the blast reaction coincided with that predicted by phenotypes of the parents. The percentage of phenotypic variation associated with single QTLs for blast reaction at the nursery ranged from 9.3 to 35.9%. The identification of QTLs underlying the blast resistance may be useful in selecting lines with enhanced

blast resistance. Also the QTLs detected on chromosomes 4, 5, and 7 would be valuable because of their independence from undesirable Moroberekan alleles related to grain quality and late heading. Based on the agronomic performance, blast reaction and grain quality, 27 BC3F5 advanced backcross lines were selected and tested for the durability using a newly designed method (Hahn, in preparation). Ten of the lines showed similar level of durable resistance to the check cultivar, Palgongbyeo. Also, five promising lines nearly isogenic to Ilpumbyeo except for blast resistance were evaluated at the preliminary yield trial. These lines with enhanced blast resistance did not show any differences from the recurrent parent, Ilpumbyeo in terms of days to heading, culm length, grain weight, amylose content and other grain quality traits. The lines will be subjected to rigorous evaluation for traits of economic importance such as quality in multi-location trials to provide the foundation for variety release in the future.

Another goal of this project is to develop a set of introgression lines, each containing only one or a few chromosomal segments from the Moroberekan in the background of Ilpumbyeo. Each of the introgression lines is nearly isogenic to Ilpumbyeo and together, these lines provide nearly complete coverage of the Moroberekan genome. These ILs can not only facilitate the utilization of novel traits of Moroberekan, but also allow identification and fine mapping of QTLs by eliminating epistatic effects. Additional backcrosses and selections are underway to purify the candidate ILs with a few independent introgressions and to construct a complete set of ILs. Also, because the recurrent cultivar, Ilpumbyeo is a leading cultivar, the derived IL population might represent a significant improvement and a basis for the development of a new cultivar.

To develop SSR markers linked to a blast resistant QTL detected on chromosome 4, ten each resistant and susceptible RILs were screened with SSR markers located near the detected QTL. Four markers RM567, RM3367, RM3524, and RM5749 were tightly linked to the gene and would be useful in MAS program. To isolate defense genes in Moroberekan, a novel DEG gene fishing system was

employed. In the analysis, a number of candidate defense genes were identified. In addition, microarray analysis was carried out with the RIL260 carrying Moroberekan *Pi5* resistance gene. The result revealed that many rice genes are up-regulated and down-regulated in response to rice blast. To develop a rice cultivar with enhanced blast resistance, some of defense genes have been transformed or are currently being transformed into Dongjinbyeo via *Agrobacterium* mediation.

여 백

CONTENTS

Chapter I . Introduction	15
Chapter II . Status of research development in the world	17
Chapter III. Experimental strategies and the results.....	22
Chapter IV. Achievements and contribution of the research.....	74
Chapter V. Application of the results.....	81
Chapter VI. Research information collected during research processing.....	83
Chapter VII. References.....	86

여 백

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요.....	15
제 2 장	국내외 기술개발 현황.....	17
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과.....	22
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도.....	74
제 5 장	연구개발결과의 활용계획.....	81
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보.....	83
제 7 장	참고문헌.....	86

여 백

제 1 장 연구개발 과제의 개요

벼 도열병은 *Magnaporthe grisea*에 의해 발병되는 주요 병해의 하나로서 벼씨의 발아 직후부터 출수 후의 성숙기까지 잎, 마디, 이삭목, 이삭가지, 벼 알 등 식물체의 전부위, 전생육기에 걸쳐 지속적으로 발병된다. 한국을 포함한 전 세계의 벼 재배지역에서 발생하는 생산성에 가장 큰 영향을 미치는 병해로 벼 재배에서 도열병에 의한 전 세계적 인 년 손실액은 50억불 이상에 달하는 것으로 추정된다 (Moffat 1994).

도열병에 의한 피해를 줄이기 위해서는 저항성 벼 품종을 육성하여 재배하는 것이 가장 효과적인 방제법으로 인식되어 왔으며, 그 동안 많은 저항성 품종들이 육성되었다. 도열병 저항성 품종 육성에는 대부분 저항성의 표현형과 효과가 명료하고 강력한 주동 유전자 (major gene)가 이용되었는데, 많은 도열병 저항성 품종들이 육성되어 품종으로 보급 된지 수년 내에 저항성이 붕괴되는 현상이 빈번히 발생하여 왔다 (Yaegashi 1994). 도열병 저항성 유전은 다른 형질들의 유전보다 상대적으로 단순한 것으로 밝혀졌으나, 실제 포장에 존재하는 수많은 레이스와 이들 레이스의 변이성이 하나 또는 2~3개의 주동 저항성 유전자 (major resistant gene)를 가지는 벼 품종의 저항성 안정 지속기간을 단축시키는 요인으로 작용하고 있다 (Zeigler et al., 1997). 따라서 1 -2 개의 주동 유전자를 이용하여 저항성 품종을 개발하는 기존의 육종법보다는 안정적이고 지속적으로 저항성을 보이는 내구저항성 품종 (durable blast resistant variety)을 육성하는 것이 중요하다. 내구저항성 벼 품종의 육성을 위하여 주동저항성 유전자의 이용이 제안되었으며 (Ou, 1985), 이를 위한 방법으로 주동 저항성 유전자의 집적 (gene pyramiding) (Chen et al 1996, Correa & Tharreau 2002, Hittalmani et al, 2000), 다계품종 (multilines)의 육성, 그리고 주동 유전자와 미동유전자를 조합하는 방법 등이 제안되었다. 이 중에서 다계품종을 육성하여 도열병 발병율을 줄이는 효과를 가져왔다는 보고들도 있다 (Choi et al. 2000a,b, Koizumi et al. 2004).

최근 많은 연구자들은 광범위한 균계에 대해 지속적인 저항성을 보이는 내구저항성 (durable resistance)과 관련된 유전자 분석을 위해 많은 노력을 기울이고 있다 (Chen et al. 2000, Jeon et al. 2003, Jeong et al. 2007, Liu et al. 2002, Qu et al.

2006, Ramalingam *et al.* 2003). 또한 *Pita*, *Piz*, *Pi5*, *Pi7(t)*, *Pi9* 및 *Pi44(t)* 등의 도열병 저항성유전자들과 연관된 분자표지의 개발로 저항성계통 선발을 위한 MAS 프로그램에 이용되고 있다 (Campbell *et al.* 2004, Chen *et al.* 1999, Jia *et al.* 2002, 2004a, Hayashi *et al.* 2004, 2006, Yi *et al.* 2004).

그러나 지금까지 대부분의 연구는 주동유전자에 국한되어 있고, 도열병 저항성과 관련된 QTL의 보고는 거의 없는 실정이다. 또한 도열병 저항성 QTL의 탐색에 이용된 유전분석 집단으로 F₂, RILs 등 기본 집단이 이용되어 왔다. 그러나 이들 기본적인 집단으로는 목표 QTL의 고밀도 유전자지도 작성, 특성 규명 및 분리 등의 연구를 수행하는 것이 매우 어려운데 이는 유전자간의 상호작용 및 유전자와 환경간의 상호작용 등에 의해 유전자의 효과를 평가하는 것이 어려운 과제이기 때문이다. 즉, QTL의 탐지, 유전분석, 분리 등을 위해서는 여교잡과 근동질 유전자계통, 혹은 염색체 단편 이입계통 등의 2차 분석집단이 필요하다 (Yano 2001).

근동질 유전자계통 혹은 염색체 단편 이입계통 등을 이용하여 출수기, 수량성, 종자중 등에 관여하는 QTL의 고밀도지도 작성, 유전자 분리 등의 연구는 수행되었지만, 도열병 내구저항성 유전자 분석을 시도한 연구는 전 세계적으로 거의 없는 실정이다.

본 연구는 양질이지만 도열병에 이병성인 일품벼와 한국의 전 근주 및 13개 발못자리 검정에서 저항성을 보인 모로베레칸과의 교잡을 통하여 일품벼의 유전적 배경에 모로베레칸의 염색체 단편이 이입된 고세대 여교잡계통을 육성하고, 도열병에 대해 연차간, 지역간 안정적인 저항성 효과를 보이는 계통을 선발하여 유전자형을 분석하여 저항성 벼 품종 육성의 중간모본이나 기초 자료로 활용하고자 수행하였다.

또한 병 저항성에 관여하는 유전자의 특성 규명 및 내구 저항성과의 관계 분석을 위하여 Gene Fishing DEG discovery system과 DNA chip으로 저항성 관련 후보 유전자군의 분리 및 염기서열 분석을 하였다. 이들 유전자들은 저항성 품종의 개발에 이용될 수 있는 주요 유전자원으로 판단된다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1절. 국내동향

- 벼 야생종 및 재래종의 병해충저항성, 내재해성 등의 유용유전자를 재배종으로 이 전시키기 위해 DNA 표지인자 및 관련 생명공학기술을 이용하는 연구가 진행되고 있다 (작물과학원, 충남대, 서울대).
- 양적형질에 관여하는 QTL의 효율적인 분리를 위해서는 DNA 표지인자와 여교잡을 이용하여 형질별 QTL-NILs을 육성하여 QTL의 영향을 확인하고 목적유전자를 분리(chromosome landing)하는 방법이 필요한데, 이를 위한 연구가 진행되고 있다 (충남대).
- 국내 도열병 저항성 연구는 육성된 품종에 대해 주요 균계 집종검정과 발못자리도열병 검정으로 저항성, 중도저항성 및 이병성군으로 분류하여 왔다. Cho *et al.* (1996)은 농가 포장에서 수집된 잡초성벼에 대해 균계 검정으로 이들이 1~3개 정도의 저항성 유전자를 가지며, 저항성 품종육성을 위한 유전자원으로 활용 가능성을 보고하였고, Choi *et al.* (1989)은 국내육성 벼품종의 계보도를 분석하여 도열병 저항성 유전자를 추정 보고하였다. Jin *et al.* (2007)은 국내육성 129개 품종에 대해 10개 일본 도열병 균계 집종검정으로 저항성 *Pia* type, *Pik* type, *Piz* type, *Pik-s* type, *Pita-2* type, *Pib* type, *Pia* and *Pita* type, *Pia* and *Pik* type, *Pik* and *Pii* type, *Pik*, *Pii* and *Pita* type 및 un-grouping type으로 분류한 바 있다.
- 최근 DNA 마커를 활용한 유전자지도 작성 및 연관분석 연구가 활발해지면서 도열병 저항성 유전자/QTLs 분석이 다수 보고되었다. 저항성인 수원365호와 이병성인 추청벼 교잡의 F₂ 세대 분석으로 5번, 6번 및 12번 염색체 상에 각각 *Pi23(t)*, *Pi22(t)* 및 *Pi21(t)* 유전자를 보고하였으며 (Ahn *et al.* 1997), 변이균계 KI-313에 대한 race-specific 저항성 분석으로 *Pi18* 유전자가 11번 염색체 long arm의 telomere에 위치함을 보고하였다 (Ahn *et al.* 2000). Cho *et al.* (2004a)은 일품벼가 *Pib*, *Pii* 유전자와 소수의 QTLs를 보유한다고 보고하였으며, 수원365호/추청벼 재조합집단 (RIL)에 대한 유전 분석으로 10개 QTLs를 보고하였다 (Cho *et al.* 2004b). 내구저항성 유전자 탐색을 위하여 야생벼 *Oryza australiensis* (Acc. 100882)에 대한 유전분석 결과 6번 염색체 상의 *Pi9*와 *Piz*의 gene family region

에서 *Pi38(t)* 유전자를 확인하였다 (Jeong *et al.* 2007). 저항성유전자 선발을 위해 9번 염색체상의 *Pii*와 *Pi5(t)* 유전자와 연관된 3개 우성 마커 개발과 (Yi *et al.* 2004), *Pib* 유전자 sequence (GenBank accession No. AB013448)로부터 NSb 마커를 개발하여 추청벼와 수원345호 근동질 계통에 대한 유전자 분석에 활용하였었다 (Cho *et al.* 2003). 또한 Hwang *et al.* (2004)은 국내 육성 양질미 품종에 대해 도열병 저항성 유전자와 연관된 SSR 마커에 대한 allele type을 분석하였으며, 밀양 95호로부터 육성된 품종들간 공통적으로 공유하는 allele을 확인하였다.

- o 국내 유전자원 잡초성벼와 재래도에서 안정적인 효과를 보이는 QTLs를 확인하여 고품질 일품벼의 근동질계통 BC₃F₃를 육성하였다. 육성품종에 대한 10개 도열병 저항성 유전자 분석으로 우리나라 벼 품종의 유전자정보를 제공하고 이들 유전자 선발을 위한 마커 셋트 확보로 저항성 품종 육성을 위한 MAS 체계를 확립하였다. 또한 국내 재배조건과 균계에 대해 안정 지속적인 저항성을 보이는 유전자를 확인을 위하여 단인자계통의 저항성 평가와 주요 저항성 및 이병성 벼품종의 haplotype 분석으로 *Pita* 및 *Piz* 유전자가 안정적인 저항성효과를 가지는 것을 밝혔다. 이들 결과는 도열병 저항성 벼 품종 육성을 위한 육종가와 도열병 균계를 연구하는 병리학자들에게 기초적인 정보와 자료를 제공할 수 있다 (바이오그린 과제 “벼 분자표지 이용 선발효율 증진 및 신품종 개발”(과제 번호 20050301034357, 2007 보고서).

제 2절. 국외동향

- o 토마토, 벼, 애기장대 등의 식물에서 양적형질에 관여하는 QTL의 효율적인 분리가 성공적으로 보고되고 있는데, 주요 형질은 출수기, 수량성 등에 관련된 형질이다 (Yano 2001).
- o 야생종의 유용유전자를 활용하기 위해 이입계통을 육성하고 있는데, 대표적인 성과는 토마토 야생종으로부터 염색체 단편이 재배종으로 이전된 근동질 유전자 계통을 육성하고, 야생종의 어느 단편이 이전되었는지를 DNA 표지인자로 검정한 연구이다. 이들 계통들은 품종육성, QTL 유전자의 기능 연구 및 분리에 유용하게 이용되고 있다 (Eshed and Zamir 1995).
- o 최근 벼 등 작물에서 유전자/QTL 분석을 통해 재배종의 형질을 개선시키는 유용 QTL 유전자를 탐색하는 연구가 수행되고 있다. 또한 애기장대, 토마토, 벼 등의 식물

에서 positional cloning 방법 등으로 다수의 QTLs 유전자를 분리하였다. 이렇게 탐색된 QTLs들은 MAS (marker aided selection)를 이용, 품종에 집적 (gene pyramiding) 함으로써 맞춤 작물의 육성에 이용될 수 있고 또한 QTL 변이에 관여하는 분자유전학적 기작의 연구에 이용될 수 있다 (Tian *et al.* 2006, Jena *et al.* 2006, Ashikari *et al.* 2006).

- o DNA 표지인자를 이용 벼, 콩, 목화 등의 여러 작물에서, 재배종의 양적형질을 개선시킬 수 있는 야생종 새로운 allele을 탐색하고 이를 재배종에 선택적으로 이전시키기 위한 연구를 수행하고 있음 (몬산토, 미국 USDA 등).
- o 일본의 Genome project에서도 QTL의 분리 및 세밀한 유전 분석을 위해 염색체 단편 치환 계통을 육성하고 있는데 수여친으로 주로 *O. glaberrima*, *O. rufipogon* 등 야생벼가 이용되고 있다 (Kubo 등 2002, Yano 등 2000).
- o 도열병저항성 유전자의 다양화 및 광범위한 균계에 대해 안정지속 저항성 유전자 분석은 많은 연구자들에 이루어져 약 40여 개의 주동 저항성유전자 (major resistant gene)가 확인되었으며, 대부 우성이나 *pi21*은 열성유전자 (minor gene)이고 (Fukuoka and Okuno 2001), *Pi35(t)* 등 일부는 양적형질 유전자이다 (Nguyen *et al.* 2006). 이들 유전자들의 대부분은 *indica* 아종의 landrace 재배종으로부터 유래되었으나, *Pi9*와 *Pi38(t)* 유전자는 각각 *O. minuta*와 *O. australiensis*의 야생벼에서 유래되었다 (Liu *et al.* 2002, Jeong *et al.* 2007). 3개 유전자 *Pib*, *Pita* 및 *Pi9* 유전자는 cloning되어 염기서열과 유전자 발현관련 정보가 밝혀졌으며 (Wang *et al.* 1999, Bryan *et al.* 2000, Qu *et al.* 2006), 이들 모두가 NBS-LRR 유전자 산물을 생산하는 것으로 밝혀졌다. 또한 *Pi2*와 *Piz-t* 저항성 단백질 간 3개 leucine-rich repeat 내에서 8개 amino-acid 차이가 *M. grisea*에 대한 저항성 specificity를 결정하는 것으로 밝혀졌다 (Zhou *et al.* 2006).
- o 앞 도열병에 관련된 저항성 유전자 *Pi7(t)* (Campbell *et al.* 2004), *Pi24(t)* ~ *Pi32(t)* (Sallaud *et al.* 2003), *Pi33* (Berruyer *et al.* 2003), *Pi36(t)* (Liu *et al.* 2005), *Pi37(t)* (Chen *et al.* 2005), *Pi38* (Gowda *et al.* 2006), *Pi44(t)* (Chen *et al.* 1999), *Pi10(t)* 및 *Pi157* (Naqvi and Chattoo 1996), *Pi-tp(t)* (Barman *et al.* 2004), *Pi-g(t)* (Zhou *et al.* 2004), *Pi-tq1*, *Pi-tq5*, *Pi-tq6* 및 *Pi-lm2* (Tabien *et al.* 2000) 등과 같이 대분 유전자들은 race-specific 저항성 특성을 가지며, 저항성 품종육성에 이용된 유전자 대부분은 지속적인 저항성을 보이지 못했다. 또한 야생

며 *O. minuta*에서 유래된 *Pi9* 유전자는 강력한 저항성을 보인다고 보고되었으나, 한국 도열병 균계들 중 일부가 친화성을 보이는 것으로 밝혀졌다. 따라서 내구저항성 품종으로 알려진 유전자원을 활용하여 *M. grisea*의 광범위한 균계에 대해 저항성을 보이는 안정저속 저항성 유전자 분석 결과가 몇몇 보고되었다. Wang *et al.* (2004)은 내구저항성 품종 Moroberekan에 대해 저항성 유전자와 QTLs 분석을 했으며, Gumei 2는 내구저항성 유전자 *Pi25(t)* 및 *Pi26(t)* 유전자와 다수의 QTLs를 가진다고 보고하였다 (Wu *et al.* 2005). Deng *et al.* (2006)은 광범위 균계 저항성 품종 Gumei 4로부터 6번 염색체상에서 *Pi2*와 *Pi9* 유전자와 연관된 *Pigm(t)* 유전자를 보고하였다.

- 도열병 저항성에 대한 많은 putative quantitative trait loci (QTL)이 보고되었으나 (Sato *et al.* 2006, Tabien *et al.* 2002, Zenbayashi *et al.* 2002), 이들의 정확한 염색체상 위치 확인과 유전자 기능 분석에 어려움이 많다. 이 같은 한계를 극복하기 위하여 ‘식물방어기작유전자’(plant defense gene)의 광범위한 database를 genome mapping에 활용한 ‘candidate gene approach’에 의한 QTL 분석이 이루어지고 있다 (Liu *et al.* 2004, Ramalingam *et al.* 2003). 목도열병에 관련된 저항성 유전자/QTLs 분석은 몇몇 연구자에 의해 수행되었으며 (Ramalingam *et al.* 2003, Sirithunya *et al.* 2002, Zhuang *et al.* 2002), Fujii *et al.* (2000)은 11번 염색체상에 목도열병 관련 주동 저항성 유전자 *Pb1*을 보고하였다.
- 주동 유전자 (major resistant gene)를 이용하여 육성된 도열병 저항성 품종들이 새로운 균계의 분화에 의해 육성 후 1~3년내 저항성이 붕괴되는 (break down) 현상을 최소화하기 위하여 일본에서는 서로 다른 저항성유전자를 보유한 근동질 계통을 육성하여 서로 다른 유전자를 조합한 다계품종을 이용하고 있다 (Ishizaki *et al.* 2005, Koizumi *et al.* 2004).
- 벼 genome sequence를 활용한 분자표지 개발로 저항성 품종육성을 위한 MAS 체계 확립이 활발히 진행되었다. AFLP 기법을 활용한 *Pi10(t)* 유전자 연관 SCAR 마커 개발 (Naqvi and Chattoo 1996)과 *Piz*, *Piz-t*, *Pit*, *Pik*, *Pik-m*, *Pik-p*, *Pita*, *Pita-2*, *Pib* 등의 9개 유전자 확인이 가능한 SNP와 InDel 마커를 개발하였고 (Hayashi *et al.* 2004, 2006), *Pik-h*에 대한 fine mapping이 이루어졌다 (Sharma *et al.* 2005). 미국 도열병 균계에 효과적인 저항성을 보이는 *Pita* 및 *Pita-2* 유전자 확인에 유용한 2개의 *Pita* 특이적, 1개의 *pita* 특이적 tri-primer

PCR SNLP 마커를 개발하였다 (Jia et al. 2004a). *Pi9* 유전자는 6번 염색체상의 7개 candidate gene으로 구성된 gene family cluster region에서 위치하는데, *Pi9*, *Pi2*, *Piz* 및 *Piz-t* 등을 분석하기 위한 마커의 개발이 진행되고 있다 (Qu et al. 2006, Zhuo et al. 2006).

- o 고세대 여교잡 육성계통 (BC3F3)에 대하여 내구성관련 유전자 (Oxalate oxidase, PR-1 등)가 실제로 병 저항성과 관련이 있다는 것이 증명되었으며 ('03, IRRI), 국내에서 고세대 여교잡육성 계통을 이용하여 병저항성 유전분석을 시도한 연구 결과는 지금까지 없었으며, 또한 염색체 단편 이입계통을 이용한 도열병 내구저항성 유전자 탐색 연구는 지금까지 없는 실정이다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 고세대 여교잡계통 육성 및 도열병 내구저항성 벼품종 개발

1. 재료 및 방법

가. 실험재료

본 실험에서는 양질이지만 도열병에 이병성인 일품벼를 반복친으로, 도열병에 지속적 저항성인 모로베레칸을 1회친으로 사용하였다. 일품벼/모로베레칸 조합에서 교배립을 확보하고 F1 식물체에 일품벼를 교배하여 10개의 BC1F1 종자를 확보하였다. 다시 일품벼와 여교배하여 22개의 BC2F1 식물체를 확보하였고 2000 여개의 BC3F1 종자를 확보하였다. 이들 2000여개의 식물체를 파종하여 4개의 Isolates(KJ-201, KI-313, KI-409 그리고 KI-1113a)를 각각 혹은 동시 접종하여 저항성을 보이는 1105개의 BC3F1 식물체를 포장에 이양하였다. 이들중 일품벼와 유사한 표현형을 보이는 279개의 개체를 선발하여 BC3F₁ 계통을 육성하였다. 이들 계통들을 3회 자식과 선발을 거쳐 BC3F₄ 계통을 육성하였으며, 이들 계통들의 유전자형을 SSR 표지인자로 검정하였다. 이들 계통 중에서 일품벼의 유전적 배경에 모로베레칸의 서로 다른 염색체단편을 2~7개 보유하는 117개 BC₃F₅ 계통을 선발하여 본 시험에 공시하였다.

나. 특성 평가

117개 BC₃F₅ 계통을 2006년 4월 20일에 파종하여 5월 30일에 계통별로 2열씩 대전 충남대학교 실험포장에 이양하였으며 재식거리는 30×15cm로 하였다. 포장에서 BC₃F₅ 여교배 계통들의 반복친인 일품벼와의 유사성 정도를 알아보기 위해 계통들의 출수기, 간장, 수장, 수수, 수량성을 조사하였다. 파종일로부터 전체 이삭의 50%가 출수한 시점까지를 출수 일수로 산출하였다. 간장, 수장과 수수는 계통별 열의 중간 10개체씩 조사하여 평균값을 이용하였으며 천립중은 5개체로부터 수확한 현미 1,000립의 무게를 3반복으로 조사하였다. 동일한 계통을 제천 시험포장과 화성에 공시하여 잎도열병 병반 면적율을 조사하였고, 제천, 남양, 대전, 수원 및 이천 밭못자리 검

정포에 공시하여 도열병 발못자리 검정을 실시하였다. 미질 특성은 충남대학교 포장에서 수확된 종자를 이용하여 도정특성(정현비율, 도정율, 설미율, 쇠미율)과 백미품질특성(완전미율, 분상질미, 싸라기 피해립) 및 아화학적 특성(단백질, 아밀로스, 백도, 아밀로그래프 특성)을 조사하였다. 기타 재배관리는 농촌진흥청 벼 표준재배법에 의거하였다. 도열병 실내 검정은 내구성 정도를 조사하였다.

다. DAN 추출 및 SSR 분석

벼 DNA 추출은 파종 후 30일에 BC₃F₅계통의 20~30 개체의 어린 잎을 채취하여 Causse *et al.* (1994)의 방법에 의해 추출하였다. SSR 분석에 사용된 primer들의 PCR 증폭은 각 primers 별로 annealing 온도는 다르지만 94°C에서 30초, 55~65°C에서 30초, 72°C에서 1분의 cycle을 35회 반복하여 4%의 denaturing polyacrylamide gel 로 전기영동한 후 Panaud *et al.* (1996)의 방법으로 silver staining 하였다.

라. 유전자 지도 작성 및 QTL 분석

분석된 SSR 마커의 위치와 마커 간 거리는 기 보고된 유전자지도에 의거하여 표시하였다 (Temnykh *et al.* 2000, 2001, McCouch *et al.* 2002). 모로베레칸 유래 염색체 단편의 크기는 인접한 몇 개의 마커들이 모로베레칸 특이적 밴드를 보이는 경우에는 이들 전체 길이에, 단편의 양쪽 끝 마커와 모로베레칸 특이적 밴드를 보이지 않는 마커 간의 거리의 반을 합한 값으로 정하였다. QTL 분석은 Q-Gene 프로그램을 이용하여 분석하였다. 1개의 유전자좌에서 일품벼 동형접합체 계통과 이형접합체 계통 간의 표현형 차이가 1개의 SSR 유전자좌에서 0.1% 수준에서 유의하거나, 인접한 두 개의 마커에서 동시에 1% 수준에서 유의하거나 혹은 세 개의 인접한 마커가 5% 수준에서 유의할 때 QTL이 존재한다고 결정하였다.

2. 결과 및 고찰

전체 SSR 마커 400개를 선정하여 양친의 다형성을 검정한 결과 181개 (45.3%)의 SSR 마커가 양친간 다형성을 보였다. 181개의 다형성 마커 중 125개의 SSR 마커가 유전자형 검정에 이용되었다.

가. 질적 및 양적형질의 표현형 변이

실험에서 사용된 고세대 여고잡계통들의 특성을 알아보기 위하여 주요 농업형질 특성, 미질 특성과 도열병저항성 관련 형질들을 2004-2006년 연차적으로 조사하였다.

1) 농업형질

농업형질의 경우 2005년과 2006년의 결과를 관찰하였을 때 실험에 사용된 계통들은 대부분이 일품벼와 유사한 것으로 관찰되었다 (Fig. 1).

가) 출수일수: 출수일수는 05년과 06년 일품벼가 113일과 114일, 모로베레칸은 모두 135일로 차이가 없었으며 대부분 계통들이 일품벼 쪽으로 치우치는 경향을 보였으며 일품벼보다 조숙인 초월변이 계통들도 다수 관찰되었다.

나) 간장: 간장은 05년과 06년 일품벼와 모로베레칸이 각각 78.2cm와 74.2cm, 106.3cm와 101.2cm로 간장이 양친이 05년이 06년 보다 큰 것으로 나타났으며 후대 계통은 간장이 일품벼 쪽으로 치우치는 경향이었고, 일품벼보다 간장이 작은 초월변이 계통들도 관찰되었다.

다) 수장: 수장은 05, 06년 일품벼와 모로베레칸이 각각 21.9cm, 21.6cm와 25.1cm, 25.4cm 였고 선발된 계통들은 대부분이 일품벼와 비슷하였다. 수장이 일품벼보다 짧은 초월변이 계통들은 관찰되었으나 모로베레칸보다 큰 계통은 관찰되지 않았다.

라) 수수: 05년과 06년 일품벼가 12개와 9개, 모로베레칸은 8개와 6개로 06년에 비해 05년이 많았으며 대부분이 일품벼 쪽으로 많이 치우치는 경향이였다. 일품벼보다 많은 수수를 가진 초월변이 계통들은 관찰되었지만 모로베레칸보다 수수가 적은 계통들은 관찰되지 않았다.

마) 수당립수: 06년 일품벼가 135립, 모로베레칸이 195립이었으며 후대계통들은 정규 분포를 보였다. 수당립수가 일품벼보다 많은 초월변이 계통들도 관찰되었다.

바) 임실율: 06년 일품벼는 92.9% 모로베레칸은 88.8% 이었으며 대부분의 계통들이

일품벼쪽으로 많이 치우친 것을 알 수 있다.

2) 미질특성

실험에 사용된 계통들의 미질 특성을 분석한 결과 심백, 도정율, 분상질미와 단백질 등 형질을 제외한 기타 특성에서 반복친인 일품벼와 비슷한 것으로 관찰되었다 (Fig.2.).

가) 현미 천립중: 05년과 06년 일품벼가 21.6g, 20.9g, 모로베레칸은 모두 24.4g이었으며 대부분의 계통들은 일품벼와 유사하였다. 천립중이 '05년에는 모로베레칸보다 큰 계통이 관찰되었으나 06년에는 관찰되지 않았다.

나) 완전미율: 완전미율은 05년에는 일품벼와 모로베레칸이 각각 87.3%와 83.1%였으며 06년에는 일품벼의 완전미율은 76.0%, 모로베레칸의 완전미율은 32.8%로 05년에 비해 낮은 것으로 나타났으며 06년에는 모로베레칸보다 낮은 계통은 관찰되지 않았다.

다) 심,복백: 심백의 경우 일품벼가 3, 모로베레칸이 3의 값을 보였고, 대부분의 계통들은 2보다 낮은 값을 보였다. 복백은 일품벼가 1, 모로베레칸이 1의 값을 보였고, 대부분의 계통들은 일품벼보다 낮은 것으로 관찰되었다.

라) 정현비율: 일품벼와 모로베레칸의 정현비율은 각각 81.4%와 77.8%로서 대부분 계통은 일품벼와 유사하였으며 모로베레칸보다 낮은 계통은 관찰되지 않았다.

마) 도정율: 일품벼와 모로베레칸이 각각 70.8%과 68.6%로 양친이 비슷하였으며 일품벼를 초월하는 초월변이 계통들이 많이 관찰되었다.

바) 피해립: 대부분의 계통들이 일품벼와 유사하였고 일품벼와 모로베레칸의 피해립 정도는 각각 0.7%와 2.0%였다.

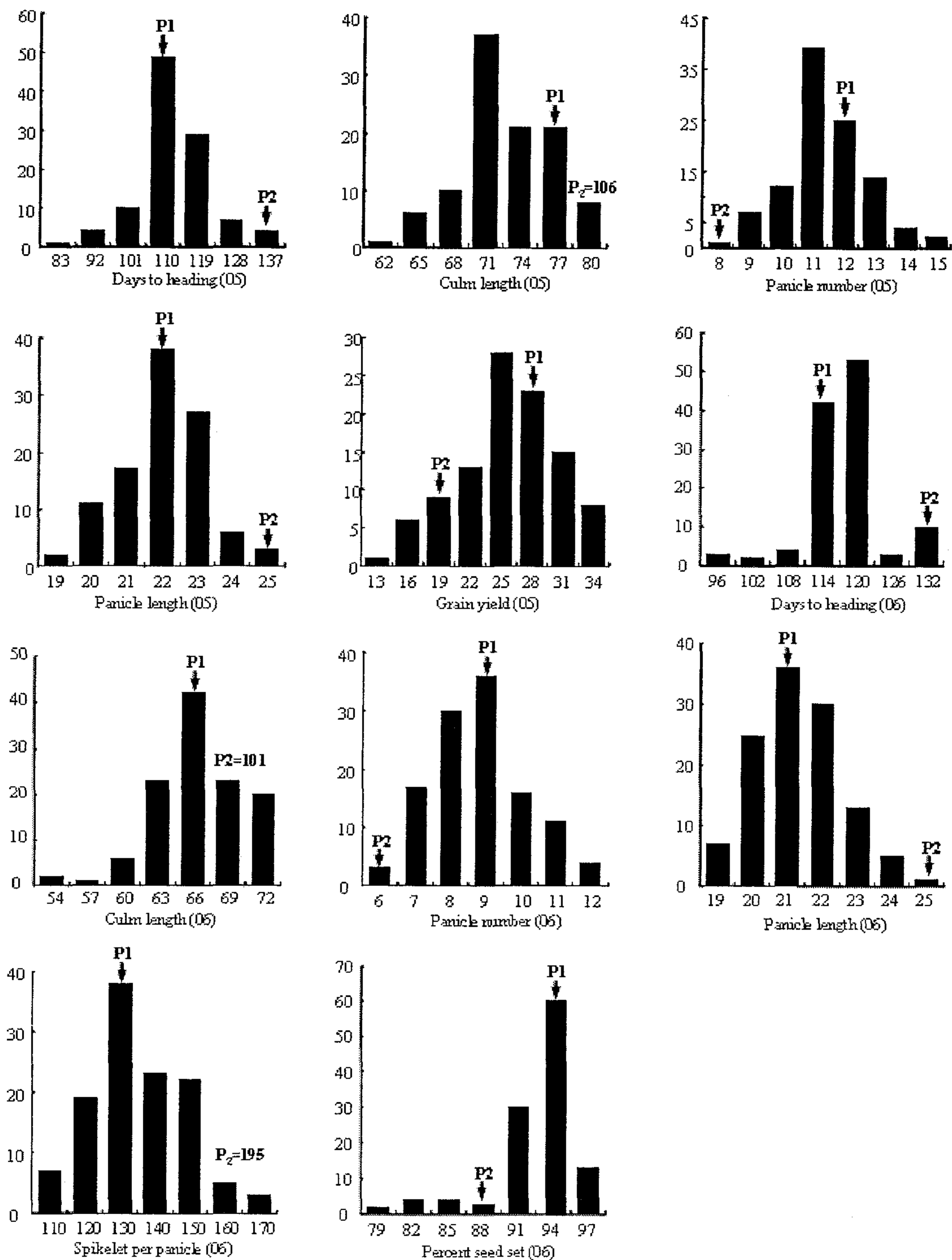


Fig.1. Frequency distribution for Agricultural traits in the BC3F4-5 population. (P1: Ilpumbyso P2: Mozobarekan)

사) 분상질미: 분상질미의 경우, 일품벼가 15.2%, 모로베레칸이 89.9%의 값을 보였고, 대부분의 계통들이 일품벼와 비슷하였고 모로베레칸보다 높은 값을 보이는 계통은 관찰되지 않았다.

아) 단백질: 양친의 단백질 함량은 각각 5.1%과 5.3%로 비슷하게 나타났으며 대부분의 계통들은 모두 양친보다 높게 나타났다.

자) 아밀로스: 아밀로스 함량도 양친이 각각 18.8과 18.3%로 비슷하였으며 대부분의 계통들이 양친과 비슷하였고 초월변이 계통도 다소 관찰되었다.

차) 아밀로그래프 특성: 최고점도는 일품벼가 224.7, 모로베레칸은 117.0이었으며 최저점도는 일품이 154.2, 모로베레칸이 113.3이었고 치반점도는 일품이 34.7, 모로베레칸이 52.6이었다. 선발된 대부분 계통들은 세가지 형질이 모두 일품벼쪽으로 치우치는 것으로 나타났다.

3) 도열병 특성 검정

도열병 저항성을 알아보기 위해 연차별 지역별로 발못자리, 잎 도열병, 이삭 도열병을 조사하였다. 조사결과 연차별 지역별 차이를 보였으며 일품벼보다 저항성이 증진된 계통들도 관찰되었다. 여기에서는 발못자리 검정 결과만 선택하여 도수 분포도를 제시하였다 (Fig. 3).

발못자리 검정은 2004년은 제천, 2005년은 제천, 수원, 이천에서 2006년 제천, 이천, 대전, 수원에서 발못자리 검정을 실시하였다. 모본인 일품벼는 7-9의 이병성 반응을 보였고 모로베레칸은 '04년 제천에서 4를 보인 반응 외에 모두 0-3의 저항성 반응을 보였다. 공시계통은 지역별로 그 반응이 차이를 보였다. '06년 이천과 수원을 제외한 기타 연도나 지역에서 모든 공시계통들의 도열병 저항성 정도가 모로베레칸을 초월하는 계통은 없었으나 이 두 지역에서는 도열병 저항성이 모로베레칸보다 강한 초월변이 계통들도 다소 관찰되었다. 이 5개의 실험지역에서 공통적으로 관찰된 것은 일부 계통들이 모로베레칸과 비슷한 저항성 반응을 보였으며, 대부분의 계통들이 일품벼보다 저항성이 증진된 반응을 보인 점이다. 내구저항성 정도를 검정한 결과 모로베레칸은 7의 반응을, 일품벼는 0 반응을 보였다. 선발된 계통들 중 1/3정도가

일품벼와 동일하거나 조금 강한 반응을 보였고, 2/3 정도가 일품벼보다 저항성이 증진되었고 모로베레칸과 같이 내구저항성을 가진 계통인 것으로 관찰되었다.

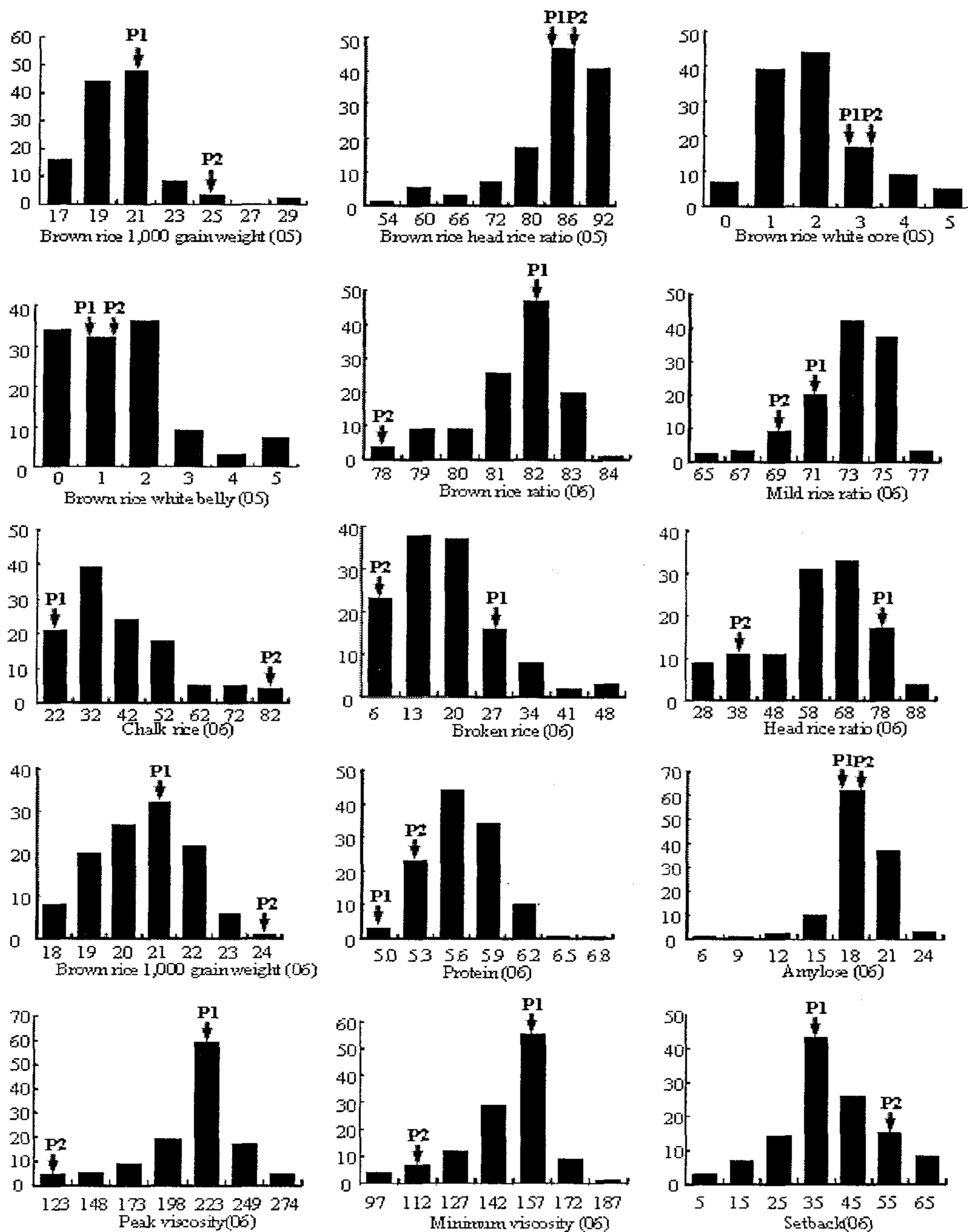


Fig.2 Frequency distribution for rice quality traits in the BC3F4-5 population.

(P1: Ilpumbyeo P2: Moroberekan)

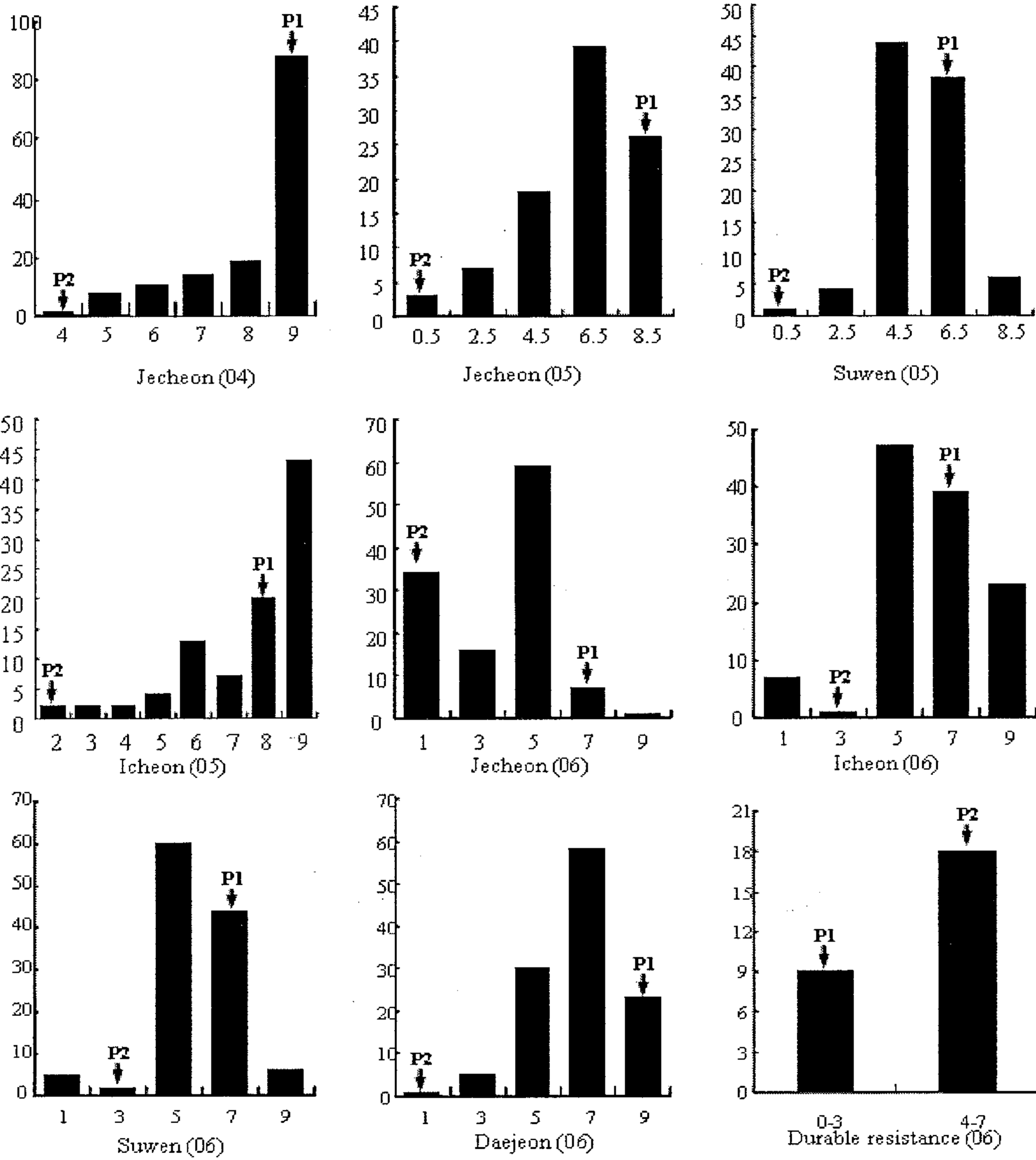


Fig. 3 Frequency distribution for blast resistance in the blast nursery.
(P1: Ipumbyeo P2 : Moroberekan; 04, 05, 06 indication year)

나. 유전자/QTL 분석

(1) 농업형질 관련 유전자/QTL

선발된 계통들의 7개 농업형질에 대해 QTL 분석을 실시하고 그 결과 총 21개의 QTLs이 탐지되었으며 형질별 2-4개의 분포를 보였다 (Table 1, Fig. 4).

(가) 출수일수: 출수일수에 대한 QTL 분석 결과 4개의 QTL이 각각 1, 4, 6, 7번 염색체에 위치하였고 2004년 1번 염색체의 RM265 - RM472마커와 4번 염색체의 RM273-RM255마커 부근에서 탐지된 QTL은 일품벼가 출수일수를 길게 하는 쪽으로 작용하였고 2005년과 2006년 6번과 7번 염색체에서 탐지된 QTL에서는 모로베레칸의 대립유전자가 출수일수를 길게 하는 쪽으로 작용하였으며 전체 표현형변이의 5.4-13.6%를 설명하였다.

(나) 간장: 간장에 관여하는 QTL은 4개가 탐지되었고 4개의 QTLs은 각각 1, 5, 6, 8번 염색체에 위치하였으며 *c11.1*과는 모로베레칸의 대립유전자가 간장을 길게 하는 쪽으로 작용하였고 나머지 3개의 QTL은 일품벼의 대립유전자가 간장을 길게하는 쪽으로 작용하였으며 전체변이의 12.6-16.3%를 설명하였다.

(다) 수수: 수수에 관여하는 QTL은 2번 4번과 6번 염색체에서 각각 1개씩 탐지되었으며 탐지된 QTLs들은 모두 일품벼가 수수를 많게 하는 쪽으로 작용하는 것으로 나타났다. 또한 2번 염색체 (*pn2.1*)의 RM492 - RM327 마커 부근에서 2005년과 2006년 대전에서 연속적으로 탐지되었으며 4번 염색체에서는 2005년과 2006년은 대전과 수원에서, 6번 염색체에서는 2004년과 2006년 대전지역에서 탐지되었다. 탐지된 QTLs은 전체 표현형변이의 5.7-11.4%를 설명하였다.

(라) 수장: 3개의 QTL이 수장과 관련되었고 각각 1번, 6번, 7번에 위치하였다. 6번 염색체의 *pl6.1*은 RM3567 - RM162마커 부근에서 2006년 대전과 수원에서 공동으로 탐지되었고 7번 염색체의 RM445 - RM11 마커 부근에서 대전에서 2005년과 2006년에 모두 탐지되었으며 3개의 QTLs은 모두 모로베레칸의 대립유전자가 수장을 길게 하는 쪽으로 작용하였고 전체변이의 5.0%-15.5%를 설명하였다.

(마) 주당수량: 2번, 5번, 7번 염색체에서 주당수량에 관여하는 QTL이 각각 하나씩 탐지되었고 모두 모로베레칸의 대립유전자가 주당수량을 낮추는 쪽으로 작용하였으며 전체 표현형변이의 7.8-19.5%를 설명하였다.

(바) 수당립수: 수당립수에 관여하는 QTL은 6번 염색체 (*spp6.1*)의 RM3430 - RM461 마커 부근에서 2006년 대전과 수원에서 각각 하나씩 공동으로 탐지되었고, 1번 염색체(*pps1.1*)는 RM1 - RM259 마커 부근에서 1개가 탐지되었다. 이 2개의 QTL은 모두모로베레칸의 대립유전자가 수당립수를 증가시키는 쪽으로 작용하였고 각각 전체 표현형 변이의 9.4%와 12.0%를 설명하였다.

(사) 임실율: 임실율에 관여하는 QTLs은 모두 2개가 탐지되었는데 각각 6번 염색체 (*pss6.1*)의 RM510 - RM314와 9번 염색체 (*pss9.1*)의 RM219 - RM5526 마커 부근에 위치하고 있었다. 2개의 QTLs은 모로베레칸의 대립유전자가 모두 임실율을 낮게 하는 쪽으로 작용하였고 각각 전체표현형 변이의 12.5%와 10.4%를 설명하였다.

Table 1. QTLs detected for agronomic traits in Ilpum/Moroberekan population.

QTL	Chr.	SSR marker	Increased effect	2004		2005		2006			
				Daejeon		Daejeon		Daejeon		Suwon	
				LOD	R ²	LOD	R ²	LOD	R ²	LOD	R ²
Days to heading											
<i>dth1.1</i>	1	RM265-RM472	IP	2.03	6.3						
<i>dth4.1</i>	4	RM273-RM255	IP	2.54	10.8						
<i>dth6.1</i>	6	RM510-RM314	MR			1.44	7.4	3.39	13.6	2.87	11.6
<i>dth7.1</i>	7	RM234-RM5455	MR			1.46	8.0	2.52	9.5	1.03	5.4
Culm length											
<i>cl1.1</i>	1	RM259-RM140	MR	2.24	7.4			2.09	6.0		
<i>cl5.1</i>	5	RM405-RM574	IP			2.51	12.6				
<i>cl6.1</i>	6	RM510-RM314	IP							4.13	16.3
<i>cl8.1</i>	8	RM339-RM42	IP			2.68	12.7				
Panicle no											
<i>pn2.1</i>	2	RM492-RM327	IP			1.50	7.3	4.51	11.4		
<i>pn4.1</i>	4	RM551-RM335	IP			1.12	5.7			2.00	7.2
<i>pn6.1</i>	6	RM3307-RM461	IP	2.11	6.4			2.38	7.6		
Panicle length											
<i>pl1.1</i>	1	RM259-RM140	MR	2.00	5.0						
<i>pl6.1</i>	6	RM3567-RM162	MR					2.34	9.1	3.31	12.5
<i>pl7.1</i>	7	RM445-RM11	MR			1.48	7.2	3.89	15.5		
Grain yield											
<i>gy2.1</i>	2	RM208-RM48	MR	—	—	2.43	9.2	*	*	—	—
<i>gy5.1</i>	5	RM122-RM405	MR	—	—	2.21	7.8	*	*	—	—
<i>gy7.1</i>	7	RM505-RM10	MR	—	—	5.11	19.5	*	*	—	—
Spikelet per panicle											
<i>spp1.1</i>	1	RM1-RM259	MR	—	—	—	—	2.32	9.4	—	—
<i>spp6.1</i>	6	RM3430-RM461	MR	—	—	—	—	1.98	7.4	3.08	12.0
Percent seed set											
<i>pss6.1</i>	6	RM510-RM314	IP	—	—	—	—			3.20	12.5
<i>pss9.1</i>	9	RM219-RM5526	IP	—	—	—	—			2.20	10.4

*: not evaluated

(2) 미질 특성 관련 유전자/QTL

미질 특성 관련 QTLs은 11개 형질에서 19개가 탐지되었으며 1번, 5번, 7번과 8번을 제외한 염색체에 분포하였다 (Table 2 Fig. 4).

(가) 정현비율: 6번 염색체 (*br6.1*)의 RM190 - RM314마커와 9번 염색체 (*br9.1*)의 RM219 - RM5526 마커 부근에서 탐지되었으며 모로베레칸의 대립유전자가 정현비율을 낮추는 방향으로 작용하였고 각각 전체 표현형변이의 22.0%과 17.4%를 설명하였다.

(나) 분상질미: 분상질미에 관여하는 QTL은 2번 염색체 (*cr2.1*)의 RM561 - RM475, 9번 염색체 (*cr9.1*)의 RM219 - RM5526 마커 부근에서 2005년과 2006년 모두 탐지되었는데 모로베레칸의 대립유전자가 분상질미율을 높이는 쪽으로 작용하였고 전체 표현형 변이의 6.0-17.7%를 설명하였다.

(다) 복백: 복백에 관여하는 QTL은 각각 2번 염색체(*wb2.1*)의 RM475-RM263마커, 3번 염색체 (*wb3.1*)의 RM60-RM22마커 부근에서 탐지되었으며 두 QTL 모두 모로베레칸의 대립유전자가 복백을 크게 하는 쪽으로 작용하였다.

(라) 심백: 심백에 관여하는 QTL은 9번 (*wc9.1*) 염색체의 RM316 - RM219 마커 부근에서 1개가 탐지되었으며 모로베레칸의 대립유전자가 심백을 증가시키는 쪽으로 작용하였고 표현형변이의 15.9%를 설명하였다.

(마) 현미천립중: 3번 염색체 (*gw3.1*)의 RM60 - RM545 마커, 4번 염색체(*gw4.1*)의 RM349 - RM567마커 부근에서 현미 천립중에 관여하는 QTL이 탐지되었다. 이 중 *gw3.1*은 동일한 위치에서 2년 연속 탐지되었으며 탐지된 QTL 모두가 모로베레칸의 대립유전자가 천립중을 크게 하는 쪽으로 작용하는 것으로 나타났다.

(바) 완전미율: 완전미율에 관여하는 QTLs은 6번, 11번, 12번 염색체에서 탐지되었으며 모로베레칸의 대립유전자가 완전미율을 낮추는 쪽으로 작용하였으며 6번 염색체의 RM510 - RM314와 RM314 - RM217 마커 부근에서 탐지된 QTL은 각각 전체

표현형 변이의 25.0%와 22.9%를 설명하였다.

(사) 아밀로스: 아밀로스 함량에 관여하는 QTL은 6번 염색체 (*amy6.1*)와 10번 염색체 (*amy10.1*)의 RM276과 RM228 마커 부근에서 탐지되었고 2개의 QTLs에서 모로베레칸의 대립유전자가 아밀로스 함량을 낮게하는 쪽으로 작용하였으며 각각 전체 변이의 17.9%와 15.3%를 설명하였다.

(아) 단백질: 단백질에 관여하는 QTL은 4번 염색체 (*pr4.1*)의 RM273 - RM252 마커 부근에서 탐지되었고 모로베레칸의 대립유전자가 단백질의 함량을 낮추어주는 방향으로 작용하였으며 전체 변이의 10.6%를 설명하였다.

(자) 아밀로그램 특성: 아밀로그램 특성에 관여하는 3가지 형질(*pv6.1*, *mv6.1*, *sb6.1*)의 QTLs은 모두 6번 염색체의 RM190 - RM314 마커 부근에서 각각 1개씩 공동으로 탐지되었으며 전체표현형 변이의 17.8%-35.2%를 설명하였다.

Table 2. rice quality trait QTLs detected in a Ilpumbyeo/Moroberekan population

QTL	Chr.	SSR marker	Increased effect	2005		2006	
				Daejeon		Daejeon	
				LOD	R ²	LOD	R ²
Brown rice ratio							
<i>br6.1</i>	6	RM190-RM314	IP	—	—	5.76	22.0
<i>br9.1</i>	9	RM219-RM5526	IP	—	—	4.41	17.4
Chalk rice							
<i>cr2.1</i>	2	RM561-RM475	MR	2.10	11.2	2.03	6.0
<i>cr9.1</i>	9	RM219-RM5526	MR	3.63	17.7	3.42	13.8
Brown rice white belly							
<i>wb2.1</i>	2	RM475-RM263	MR	2.52	12.0	—	—
<i>wb3.1</i>	3	RM60-RM22	MR	2.16	10.5	—	—
Brown rice white core							
<i>wc9.1</i>	9	RM316-RM219	MR	3.22	15.9	—	—
1,000 Grain weight							
<i>gw3.1</i>	3	RM60-RM545	MR	1.56	7.9	2.27	9.0
<i>gw4.1</i>	4	RM349-RM567	MR			4.23	17.4
Head rice							
<i>hr6.1</i>	6	RM510-RM314	MR			6.93	25.0
<i>hr6.2</i>	6	RM314-RM217	MR	5.96	22.9		
<i>hr11.1</i>	11	RM209-RM21	MR	2.95	11.5		
<i>hr12.1</i>	12	RM309-RM270	MR	3.76	15.0		
Peak viscosity							
<i>pv6.1</i>	6	RM190-RM314	MR	*	*	10.7	35.2
Minimum viscosity							
<i>mv6.1</i>	6	RM190-RM510	MR	*	*	7.3	25.6
Setback							
<i>sb6.1</i>	6	RM190-RM314	MR	*	*	4.8	17.8
Amylose							
<i>amy6.1</i>	6	RM276	MR	—	—	4.66	17.9
<i>amy10.1</i>	10	RM228	MR	—	—	3.99	15.3
Protein							
<i>pr4.1</i>	4	RM273-RM252	MR	—	—	2.69	10.6

*: not evaluated

Table 3. Blast resistance QTLs detected in a Ilpumbyeo/Moroberekan population

QTL	Chr.	SSR marker	Increased effect	2004		2005				2006											
				Jecheon		Jecheon		Icheon		Suwon		Daejeon		Daejeon		Jecheon		Suwon		Icheon	
				LOD	R ²	LOD	R ²	LOD	R ²	LOD	R ²	LOD	R ²	LOD	R ²	LOD	R ²	LOD	R ²	LOD	R ²
Blast nursery																					
<i>bn4.1</i>	4	RM273-RM255	MR	4.36	17.3	7.71	35.9	7.29	31.1	3.47	14.5	*	*	5.79	21.4	2.48	9.8	2.56	20.6	6.36	24.8
<i>bn7.1</i>	7	RM234-RM134	MR			2.10	10.4	2.75	13.4			*	*	2.49	9.3	1.48	4.0	3.96	14.8	1.51	4.6
Leaf blast																					
<i>lb6.1</i>	6	RM5850-RM7269	MR	2.21	7.7			*	*					-	-	-	-	-	-	*	*
Neck blast																					
<i>nb4.1</i>	4	RM252-RM317	MR	2.02	6.0	2.0	5.4	*	*					-	-					*	*
<i>nb6.1</i>	6	RM217-RM276	MR	2.36	8.1			*	*					-	-					*	*

*: not evaluated

(3) 도열병 저항성유전자/QTL

(가) 잎도열병:

잎도열병 관련 QTLs은 2004 - 2006년 3개 지역에서 3년간 조사한 결과 2004년 6번 염색체의 RM5850 - RM7269 마커 부근에서 1개만 탐지되었으며 2005년과 2006년에는 탐지되지 않았다. 2004년 6번 염색체에서 탐지된 QTL은 모로베레칸의 대립유전자가 저항성을 증진시키는 것으로 나타났다(Table 3). 2005년과 2006년에는 QTL이 탐지되지 않았는데 이는 잎도열병이 2개년간 심하게 발병하지 않아 계통간의 차이가 관찰되지 않았고 여교잡계통들이 모로베레칸의 염색체단편들을 다수 보유하고 있기 때문에 유전적인 차이를 정확하게 분석하지 못한 때문으로 판단된다.

(나) 이삭도열병:

이삭도열병도 2004-2006년 3개 지역에서 조사를 실시하였는데 2004년과 2005년 제천에서만 QTL이 탐지되었다. 4번 염색체 (*nb4.1*)의 RM252-RM317 마커 부근에서 2004년과 2005년 모두 탐지되었고 6번 염색체의 RM217 - RM276마커 부근에서는 2004년에는 탐지되었지만 2005년에는 탐지되지 않았다. 탐지된 QTL은 모두 모로베레칸의 대립유전자가 저항성을 증진시키는 것으로 나타났으며 전체 표현형 변이의 6.0%과 8.1%를 설명하였다. 2006년에는 QTL이 탐지되지 않았는데 이는 잎도열병과 같이 병이 심하게 발병하지 않아 계통간에 차이가 보이지 않아 정확한 분석을 하지 못한 원인일 것이라고 판단된다(Table 3).

(다) 발못자리:

발못자리 검정에 의한 QTLs 분석 결과 2개의 QTLs이 탐지되었다. 이중 4번 염색체의 RM273-RM255마커 부근에서 연차적 지역별로 모두 탐지되었으며 또한 모두 모로베레칸의 대립유전자가 저항성을 증진시키는 것으로 작용하였으며 이들은 전체 표현형 변이의 9.8-35.9%를 설명하였다. 7번 염색체 (*bn7.1*)의 RM234 - RM134마커 부근에서 2005년과 2006년 제천과 이천에서 공동으로 탐지되었으며 마찬가지로 모로베레칸의 대립유전자에 의해 저항성이 증진되었고 전체 표현형 변이의 4.0-14.8%를 설명하였다.

(4) 내구저항성 유전자 탐색

117개의 BC3F5계통 중에서 27개를 선발하여 내구저항성 검정을 실시하였다. 27계통을 저항성과 이병성 두 집단으로 나누어 분석한 결과 표 4에서 보는 바와 같이 4번 염색체의 RM3843 - RM5709 마커 사이에 내구성저항성 유전자가 위치할 것이라고 추정된다. 두 마커사이의 거리는 약 1.7cM이며 더 많은 계통과 반복실험을 통하여 보다 정확한 저항성 유전자의 위치 탐지가 필요하다.

Table 4. 선발된 라인들의 유전자형과 내구 저항성 평균 병반면적율.

Marker cM	RM317	RM3474	RM5503	RM3276	RM3843	RM5709	RM3306	RM1153	RM7410	평균 병 반 면적 (%)	내구 정도 저항성
line	96.0	99.3	100.7	102.4	108.2	109.9	113.2	113.2	123.6		
CR10	///	///	///	///	///	///	///	///	///	0.3	저 항 성
CR51	///	///	///	///	///	///	///	///	///	0.7	
CR5	///	///	///	///	///	///	///	///	///	0.9	
CR31	///				///					1.4	
CR33	///									2.8	
CR59					///	///	///	///	///	2.9	
CR61					///	///	///	///	///	4.0	
CR35			///		///	///	///	///	///	4.9	
CR9					///	///	///	///	///	5.2	
CR11										10.9	
CR15			///							11.4	
CR18	///									11.6	
CR91							///	///	///	13.6	
CR96										21.4	
CR27										41.8	
CR43										43.9	
CR93										56.8	
CR120										60.7	
CR94										63.6	
CR99								///	///	63.9	
CR119										64.7	

/// Moroberekan homozygous |||| Heterozygous □ Ilpumbyeo homozygous

(5) 핵심 이입계통의 선정

123개 마커를 이용, 117개 BC3F5 계통에 대한 유전자형을 검정한 결과, 계통별로 이입된 모로베레칸 단편의 길이는 3.9 - 112.1cM (평균 27.9cM)의 분포를 보였으며 이입단편의 수도 1-10 개의 분포를 보였다. 이들 117개 계통 중에서 모로베레칸의 전 염색체를 대표하며 반복친인 일품벼로의 회복률이 높은 37계통을 선정하였다

(Fig. 5). Fig. 5는 이들 37계통이 각각 모로베레칸 염색체의 어느 부분을 대표하는지 그리고 일품벼로의 회복 정도를 표시하고 있다. 즉 계통 1-1은 일품벼의 유전적 배경에 모로베레칸 1번염색체 단완의 telomere 부분을 대표하는데 이 계통의 일품벼와의 유사성 정도는 마커의 거리로 보았을 때 96%에 해당된다. 이들 37계통의 회복 정도는 72-96%였으며 모로베레칸의 전 염색체를 대표하고 있다. 이들 선정된 계통들에 일품벼를 여교배하고 있으며 모로베레칸의 이립 염색체단편의 수를 1-2개까지 줄이기 위해 MAS를 이용해 선발을 실시하고 있다.

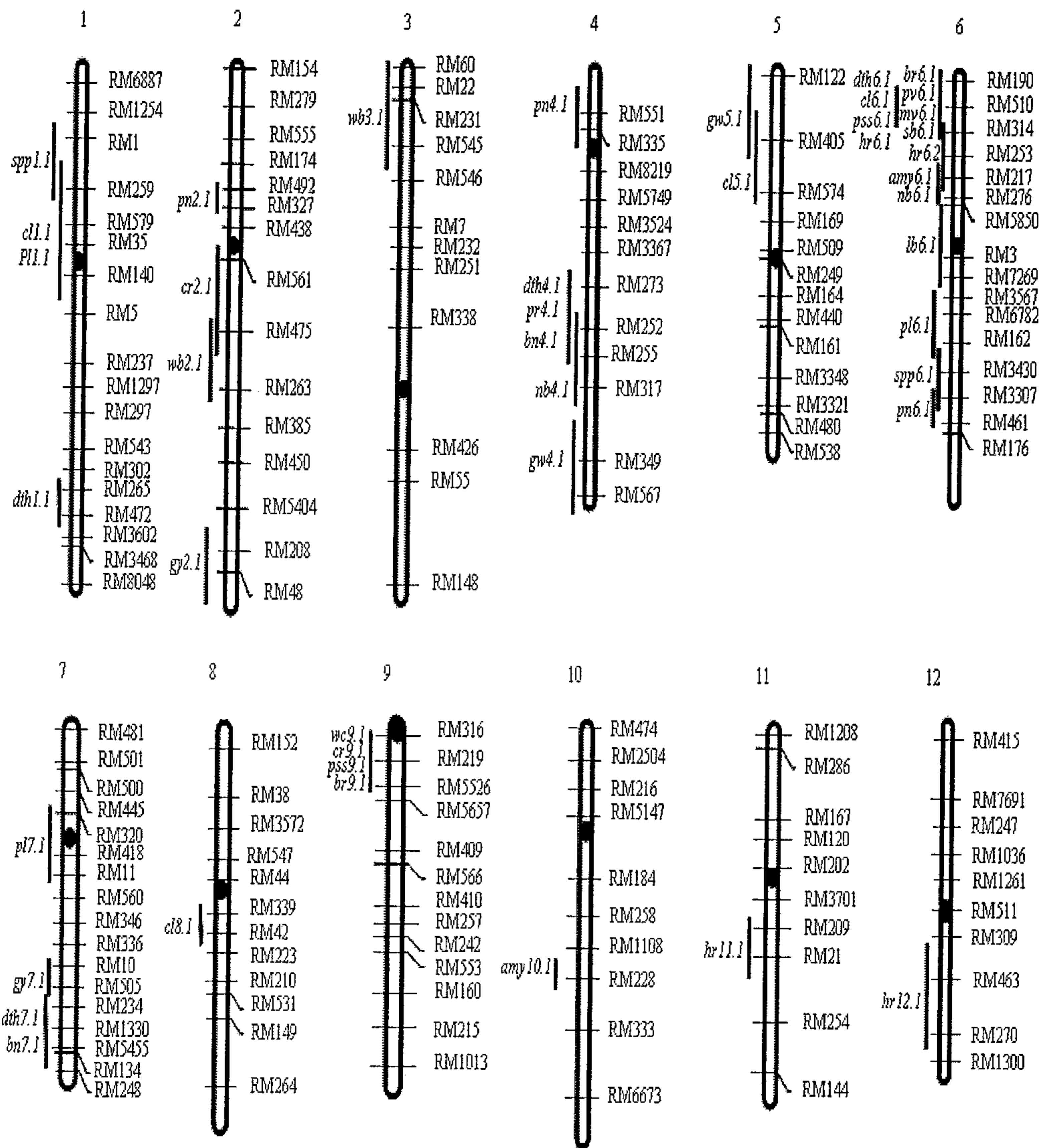


Fig. 4. A linkage map with the putative QTLs.

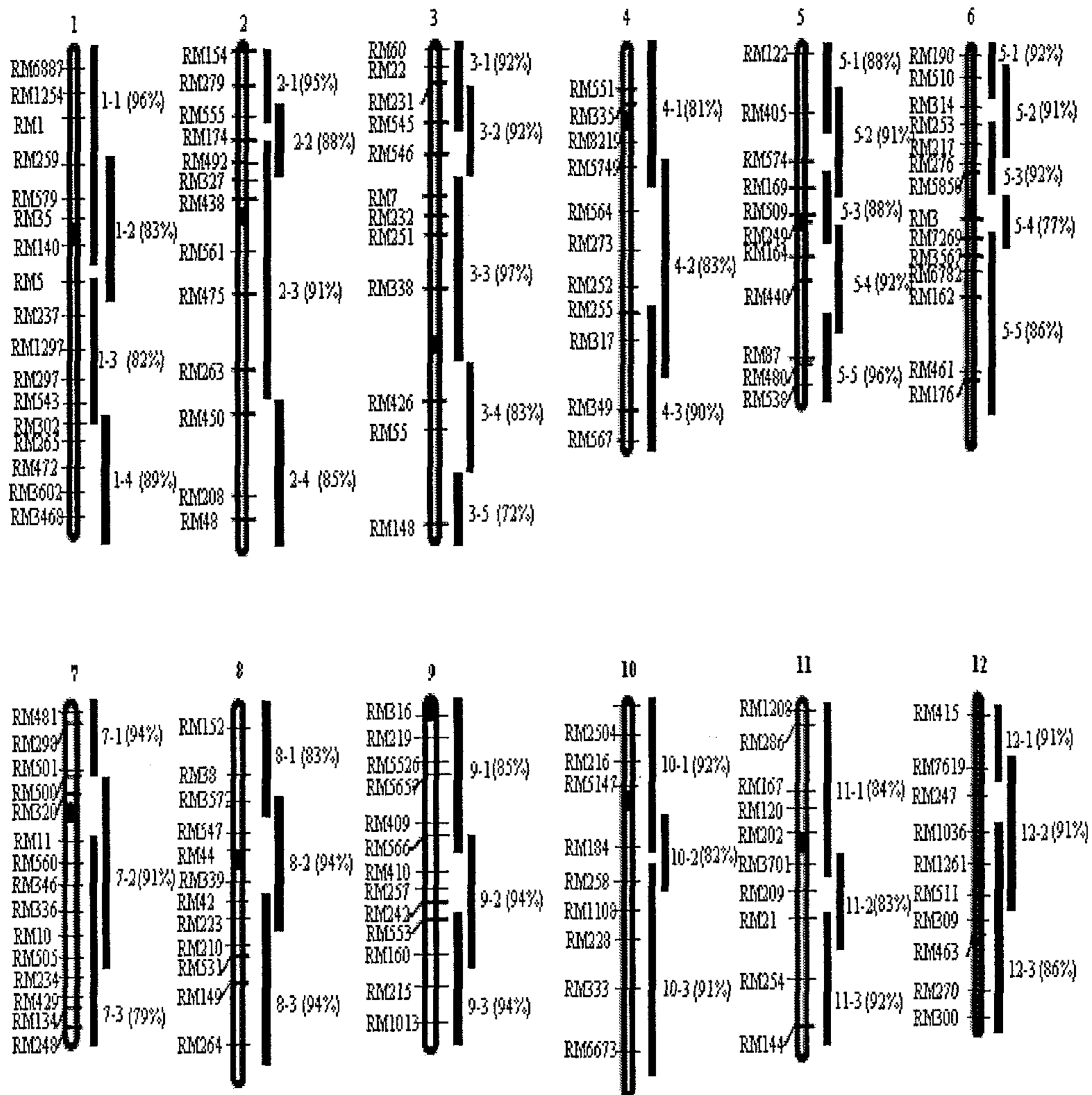


Fig.5. The white bars represent rice 12 chromosomes with SSR markers to the left, and black bars indicate introgression segment region in each IIs(e.g. 1-1, 1-2,), respectively. The percentages in parentheses represent the recurrent genome restoration in IIs.

(6) 유전자/QTLs-NIL 및 중간모본 육성

고세대 여교잡계통을 이용하여 농업형질과 미질, 도열병 등에 관여하는 유전자 분석을 실시한 결과 4번 염색체의 RM273 - RM252 마커 부근에서 탐지된 QTL이 도열병 저항성을 증진시키는 것으로 분석되었다. 이 염색체 지역은 도열병 저항성에 관여하는 QTL외에도 출수일수, 간장, 수장, 단백질 함량에 관여하는 QTL들도 위치하고 있었는데 이는 동일한 유전자에 의한 다면발현인지 혹은 밀접하게 연관된 몇몇 유전자들의 독립적인 작용에 의한 것인지에 대해서는 추후 자세한 검토가 필요하다. 도열병 저항성에 관여하는 유전자의 특성 및 유전양식의 분석을 위해서는 일품벼의 유전적 배경에 목표 유전자좌에만 모로베레칸의 대립유전자를 가진 근동질 유전자계통이 필요하며 이를 위해 도열병 연계재배 검정을 통해 도열병 저항성이 강한 계통들을 선발하였다 (Table 5). 선발된 계통들의 특성을 보면 일품벼와 출수기가 비슷하거나 좀 늦고 간장, 수장, 수수, 천립중, 아밀로스 함량, 단백질 함량 등 농업적 특성과 품질이 유사하였으며 일품벼보다 도열병이 증진된 유망계통들이다. 선발된 계통들은 중간모본으로 사용하거나 새로운 품종으로 육성하는데 유용하게 이용할 계획이다. (Table 5, Fig. 6). Fig. 6은 선발된 2 계통들의 graphical genotyp를, Fig. 7은 포장에서의 성숙기 사진이다.

Table 5. Comparison of agronomic performance of five promising lines with the recurrent parent, Ilpumbyeo

Line	Gen	DTH* (days)	CL (cm)	PL (cm)	PN (개)	GT (gr)	DR	PR (%)	AMY (%)
CR5	BC3F5	116	67.4	22.0	9.4	18.7	7	5.2	17.7
CR9	BC3F5	120	66.8	22.0	8.7	20.2	7	5.6	19.6
CR11	BC3F5	122	72.0	22.6	9.4	20.6	7	4.9	19.8
CR31	BC3F5	120	64.0	19.4	9.0	20.9	7	5.9	18.6
CR59	BC3F5	118	66.6	20.6	9.9	21.0	7	5.5	19.1
일품벼		118	66.0	21.9	9.4	20.9	1	5.1	18.8

* DTH: days to heading, CL: culm length, PL: panicle length, PN: panicle no,

GT: 1,000-grain weight, DR: durable resistance, AMY: amylose, PR: protein

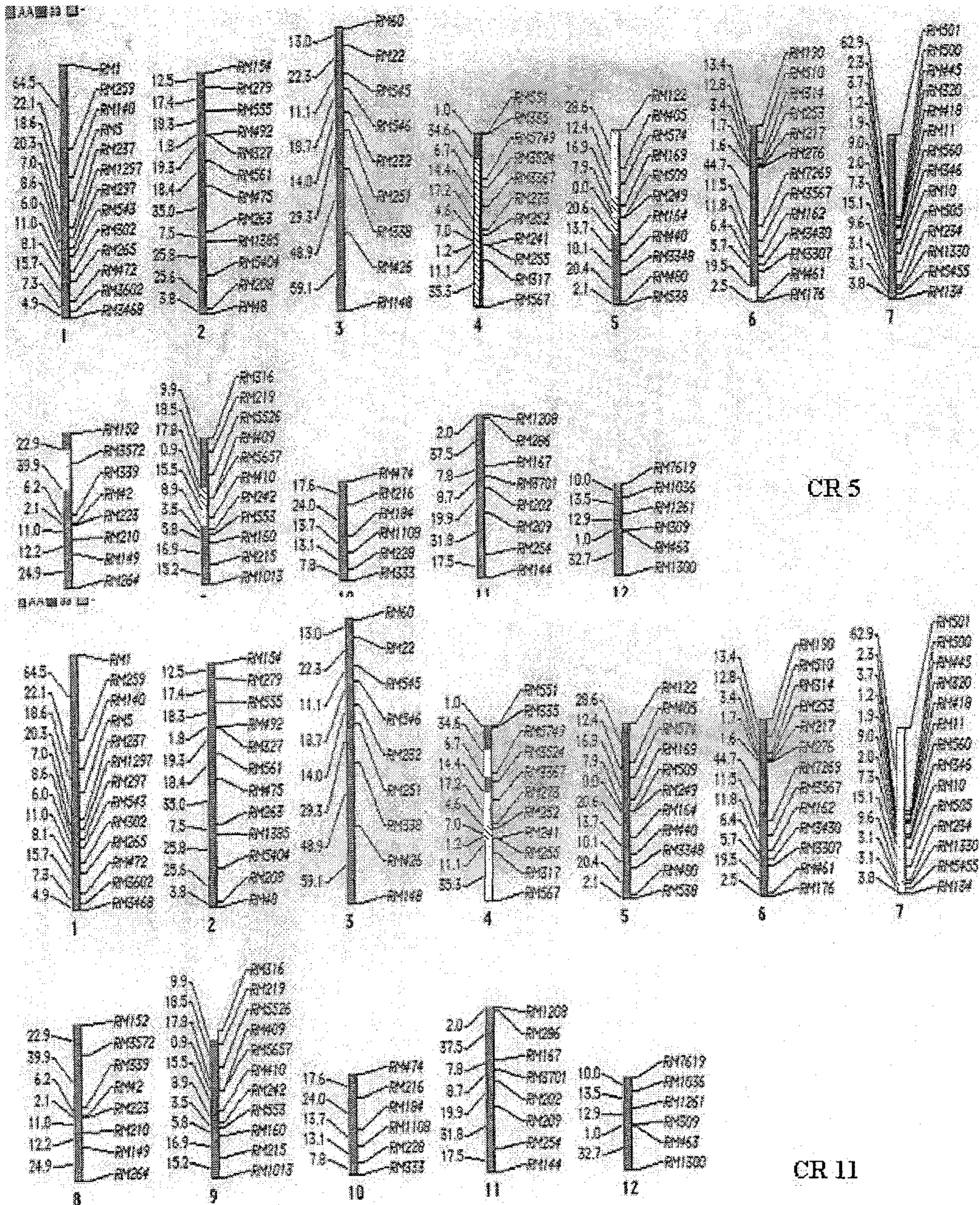


Fig. 6. Graphical genotype of two resistant lines.

■ Ipumbyeo homo ▨ Moroberekan homo □ Hetero

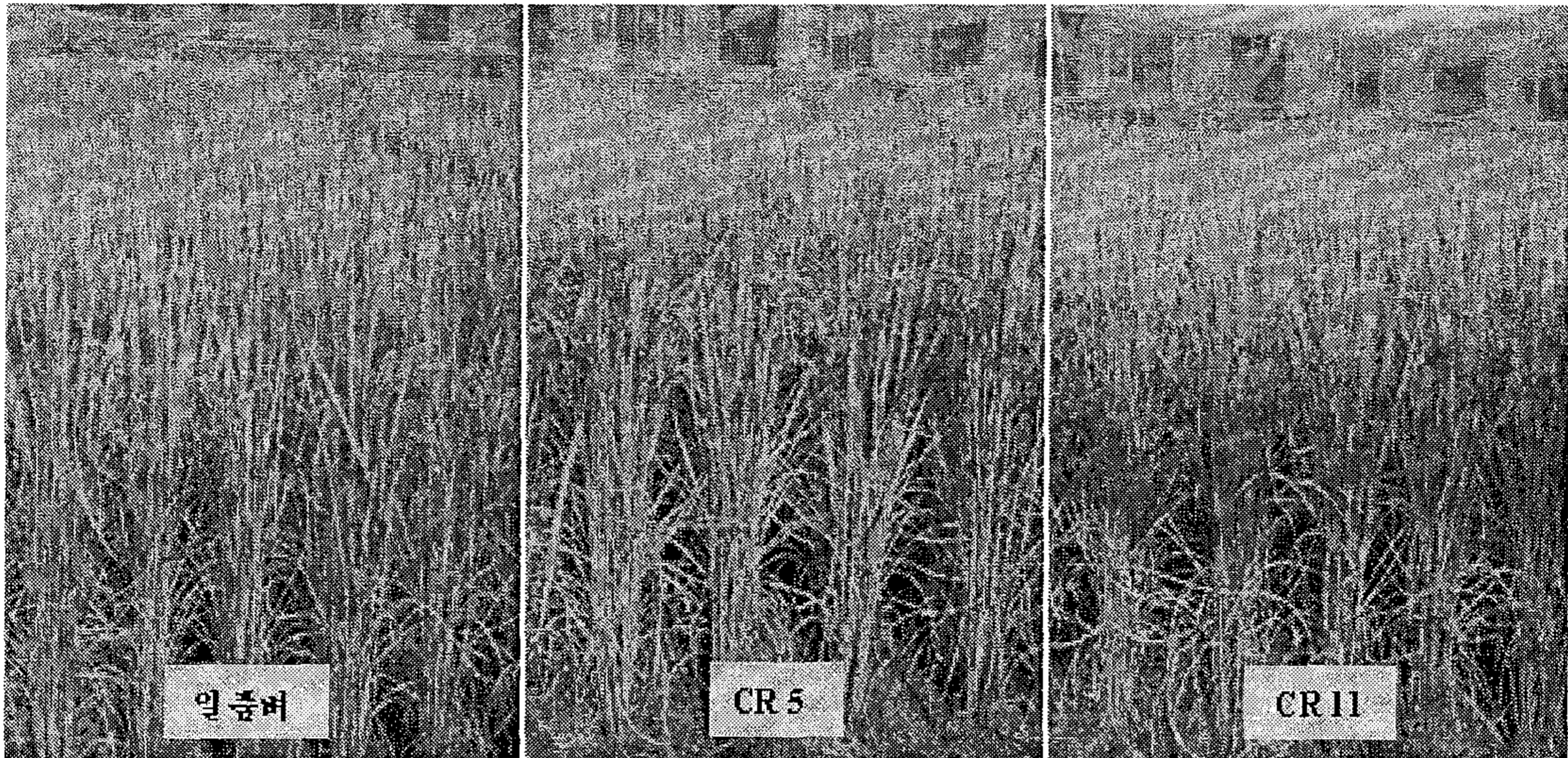


Fig. 7. Comparison of agronomic performance of the two promising lines with Ilpumbyeo.

다. 고찰

본 실험은 일품벼와 모로베레칸의 고세대여교잡 집단을 이용하여 고밀도 유전자지도
를 작성하고 도열병 내구저항성 등에 관여하는 유전자 정보를 분석하고 도열병 저항
성 품종 육성을 목표로 실시하였다. 내구저항성 유전자 탐색과 저항성 품종 육성을
위하여 농업형질, 미질 특성, 발뭇자리검정, 잎도열병, 이삭도열병, 내구저항성 검정
등을 실시하였으며 이들에 대한 분석 결과 도열병에 관여하는 유전자를 탐색하였으
며, 반복친인 일품벼와 농업형질이나 미질특성이 비슷하면서도 도열병 저항성이 증
가된 계통들도 선발하였다.

3년간의 실험에서 농업형질에 관련하여 21개의 QTLs이, 미질특성에 관여하는 19개
의 QTLs과 도열병에 관여하는 3개의 QTLs을 탐지하였다.

농업 형질에서 출수기에 관여하는 QTLs은 모두 4개가 탐지되었으며 각각 1, 4, 6, 7
번에 위치하였으며 20004년 탐지된 *dth1.1*, *dth4.1*은 모로베레칸의 대립유전자가 출수
기를 앞당기는 쪽으로 작용하였고 2005년과 2006년에 탐지된 나머지 2개의 QTLs은
모두 모로베레칸의 대립유전자가 출수기를 지연시키는 쪽으로 작용하였다. *dth1.1*과
*dth4.1*은 Thomson. *et al.*(2003)이 보고한 출수기 관련 QTL과 비슷한 위치에서 탐지

되었다.

미질특성의 경우 일품벼의 완전미율이 이전의 실험이나 다른 지역에 재배한 일품벼의 완전미율보다 낮게 나왔는데 이는 연차간 및 지역간 차이에 의한 것으로 사료된다.

6번 염색체에의 RM190 - RM314 마커 부근에서 완전립, 정현비율, 분상질미, 최고점도, 최저점도, 치반점도 등에 관여하는 QTLs이 공동으로 탐지되었으며 일품벼의 대립유전자가 미질을 향상시키는 쪽으로 작용하는 것으로 나타나 미질 관련 유전자가 이 부근에 위치하고 있는 것으로 판단되어 금후 자세한 검토가 필요하다.

밭못자리 저항성과 관련된 QTLs은 4번과 7번 염색체에서 탐지되었다. 4번 염색체에서 탐지된 QTLs은 4개 지역에서 3년간 연속적으로 RM273 - RM255 마커 부근에서 공통적으로 탐지되었으며 Jeon *et al.* (2003)이나 Pan *et al.* (2003)등이 탐지된 *PI5(t)* 유전자의 위치와 비슷한 곳에 위치하였고 모로베레칸의 대립유전자에 의해 저항성이 증진되었다. 7번 염색체에서 탐지된 4개의 QTLs은 모두 RM234 - RM134마커 부근에 공동으로 위치하고 있었다. 이중 2005년 제천과 이천에서 탐지된 2개의 QTL은 각각 전체표현형 변이의 35.9%와 31.1%를 설명하였는데 이는 major QTL일 것이라 추정된다.

잎 도열병에 관여하는 QTL은 6번 염색체에서 하나가 탐지되었다. 6번에서 탐지된 QTL은 모로베레칸의 대립유전자가 저항성을 증가시키는 방향으로 작용하였으며 이는 Hayashi *et al.* (2004) 등이 보고한 *Piz* 유전자와 비슷한 곳에 위치하고 있다. 전체표현형 변이의 28.2%를 설명하였다.

이삭도열관 관련 QTL은 4번, 6번 염색체에서 탐지되었으며 *nb4.1*, *nb6.1* 모두 모로베레칸의 대립유전자가 도열병 저항성을 증가시키는 것으로 나타났다. 이 중 4번 염색체에서 탐지된 QTL은 밭못자리 저항성 유전자와 비슷한 위치에서 탐지되었다.

내구저항성 실험 결과 4번 염색체의 RM3843 - RM5709마커 사이에 내구성 저항성 유전자가 있을 것이라고 추정되며 두 마커사이의 거리는 약 1.7cM로서 더 많은 계통에 대한 반복실험을 통하여 보다 정확한 저항성 유전자의 위치탐지가 필요하다.

제 2절. 고세대 여교배계통 도열병 내구저항성 검정 및 특성 평가

1. 서언

도열병은 벼의 전 생육기간을 거쳐 발생하는 병해로서 직접적으로 수량의 감소를 초래하고 쌀의 품질을 저하시키는 등 그 피해가 심각하다. 이러한 피해를 줄이는 방법으로는 저항성 품종의 이용, 약제 방제 및 경종적 대책 등 종합적인 방법으로 대처해야 하는데 그 가운데 가장 경제적인 방법은 저항성 품종의 이용으로 알려져 있다.

지금까지 개발된 저항성 품종은 특정한 레이스에 저항성인 주동유전자를 도입, 이용하는 것으로 보급된 지 수년 내에 급격히 이병화 되는 경우가 많았으며, 특히 1992년 이후 자포니카 품종들만이 재배되어 재배품종의 유전적 배경이 단순화되고 소수 품종의 재배면적 비율이 증가함으로써 집단적인 발병에 따른 피해의 위험성이 있는 실정이다.

도열병 저항성 품종의 이병화가 지속적으로 발생하는 이유는 보급된 품종의 대부분이 소수의 품종에서 유래한 레이스 특이적 저항성을 집중적으로 이용하여 육성되었기 때문에 친화성이 높은 레이스의 분포 증가나 새로운 변이 레이스의 발생에 따른 것으로 판단된다. 따라서 도열병 저항성 유전자의 다양성을 증대시키기 위하여 현재 집중적으로 이용되고 있는 자포니카 모본 뿐 아니라, 인디카 저항성 모본을 적극적으로 이용해야 되며, 이를 위해 전 세계적으로 광범위 저항성을 나타내는 도열병 저항성 유전자원들을 도입 이용하여야 한다.

빠르게 발전하고 있는 DNA 표지인자를 이용하는 방법은 안정적인 저항성 품종 육성시 어려운 유전자 간에 상위효과가 있는 유전자 조합을 선발하는 일을 DNA 표지인자를 이용함으로써 해결할 수 있다. 지금까지 전세계적으로 30여개의 저항성 주동유전자와 QTL들이 밝혀졌으며, 새로운 저항성 유전자의 분자표지 연구도 활발히 진행되고 있다. 또한 안정지속 저항성인 내구저항성 유전자를 탐색하고 우수 계통으로 이전시키는 연구들도 수행되고 있으며, 이를 위해서 고세대 여교배 계통 혹은 근동질 유전자계통의 육성이 필요한데, 최근 결과에 의하면 고세대 육성계통에 대해 내구성 관련 유전자가 실제로 병 저항성과 관련이 있음이 보고되고 있다.

본 연구는 도열병에 대해 광범위 저항성을 나타내는 모로베레칸을 양질 다수성 품종인 일품벼를 반복친으로 교배하여 육성된 고세대 여교배 계통들의 도열병에 대

한 저항성 증진여부를 유묘접종, 발못자리 및 포장저항성 검정, 그리고 연계재배법을 이용하여 구명하고, 도열병에 대해 저항성을 나타내면서 농업적으로 유망한 계통들을 탐색하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 시험재료

국내 육성 고품질 다수확 양질미 일품벼의 도열병 저항성을 보완하기 위하여 도열병에 대해 광범위 저항성을 나타낸 모로베레칸의 저항성 단편을 도입하기 위하여 여교잡을 실시한 고세대 계통 244개를 충남대에서 분양받아 이용하였다.

나. 유묘 접종

고세대 여교배계통 가운데 저항성 개체를 선발하기 위하여 일품벼에 친화성을 나타내고 모로베레칸에 저항성을 나타낸 균주를 선발하여 244개 고세대 여교배계통에 대해 분무접종을 실시하였다. 계통당 10 개체씩 파종하여 21일 표에 배양한 균계를 스프레이 접종을 하였다. 포자밀도는 100배 현미경 하에서 20~30개 되도록 조정하였으며, 접종후 24시간 동안 포화습도의 $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ 인큐베이터에 치상 후 온실로 옮겨 발병을 유도하여 접종 후 7일째에 발병조사를 실시하여 병 발생정도가 일품벼보다 저항성이 증진된 계통들을 선발하였다.

다. 발못자리 및 포장 검정

고세대 여교배 계통들의 앞도열병 저항성을 검정하기 위하여 제천, 이천, 남양 등 3곳에서 6월 하순에 발못자리에 파종하고, 7월 하순에서 8월 초순에 걸쳐 발병조사를 실시하였으며, 포장에서 앞도열병 및 이삭도열병 저항성 특성을 평가하기 위하여 제천, 화성, 대전 등 3개 지역에서 포장 검정 시험을 실시하였으며 병반면적율 및 이병수율을 조사하였다.

라. 내구저항성 검정

244개 고세대 여교배계통 가운데 유묘접종, 발못자리 및 포장검정을 실시하여 도열병에 대한 저항성이 증진된 것으로 확인된 계통들을 선발하여 연계재배법을 이용한 내구저항성을 검정하였다. 선발된 계통을 2주 간격으로 7회 파종하여 1차 파종후

21일된 유묘에 국내에서 수집된 30개 균주를 각각 배양 후 혼합한 포자 현탁액을 분무접종하여 완전히 발병시켜 다음 과종회차 포트결에 옮겨 자연 발병이 유도되도록 하였으며, 각 회차의 병반면적을 및 발병정도를 조사하여 각 계통들의 내구성을 평가하였다.

마. 농업적 특성 검정

일품벼와 모로베레칸 고세대 여교배 244개 계통들의 농업적 특성을 평가하기 위하여 농촌진흥청 시험연구 기준에 시험을 수행하였다. 시험계통들의 출수기, 간장, 수수, 초형 등의 농업적 특성을 검정하였고, 수확한 시료를 분석하여 도정특성, 미질 특성, 식미특성, 그리고 이화학적 특성등을 조사하였다. 244개 계통 가운데 간장, 수수, 수장, 출수 일수 등 작물학적 특성이 일품벼와 비슷하고 도열병 저항성 평가 결과 저항성이 증진된 계통들을 1차 선발하고, 선발된 계통들에 대해 도정특성 및 미질특성 등을 조사하여 실용화 또는 품종화 가능성이 있는 유망 계통을 선발하여 수량평가 및 식미특성, 이화학적 특성을 종합하여 한 농업적 특성을 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 고세대 여교배 계통에 대한 균계 검증

도열병에 이병성인 일품벼와 광범위 저항성 품종으로 알려진 모로베레칸간 교잡에 의해 F1을 육성하였으며, 일품벼와 F1 간 여교잡을 통해 육성된 BC3F2 244개 계통에 대해 유묘접종을 실시한 결과는 표 1과 같다. 1차 접종에서 일품벼보다 발병정도가 낮아 저항성이 증가된 것으로 판단된 계통을 대상으로 반복 검정을 실시하여 일품벼보다 도열병 저항성이 증진된 총 52계통이 저항성이 증진된 것으로 확인되었으며, 이는 저항성 품종인 모로베레칸의 저항성 단편이 여교잡을 통해 도입된 것으로 생각된다.

나. 발못자리 및 포장 저항성 검정

일품벼/ 모로베레칸 고세대 여교배 244계통을 이용한 제천, 이천, 남양 등 3개 지역에서 발못자리 검정을 실시한 결과는 그림 1 과 같다. 일품벼는 발병정도 9를 나타내어 고도의 감수성 반응을 보인 반면, 저항성원인 모로베레칸은 전혀 발병되지 않았다. 제천 등 3개 검정지역에서 공히 7 이하의 발병정도를 나타낸 계통은 전체

계통의 13.9%인 34개 계통이었다.

또한 3개 지역 잎도열병 발병정도가 일품벼의 7.7보다 낮은 계통은 전체 계통의 53.7%인 131개 계통으로 나타나 고세대 여교배 집단인 과반수 이상이 저항성원으로 이용한 모로베레칸의 저항성 단편의 이입으로 도열병 저항성이 증진된 것으로 생각되었다. 또한 고세대 여교배 계통 244개의 검정지역간 평균 잎도열병 발병정도간 큰 차이가 발생하여, 전체 244개 계통의 잎도열병 평균 발병정도는 이천에서 8.1로 가장 높게 나타난 반면, 제천 검정지에서 6.7, 그리고 남양 검정지에서는 5.8의 발병정도를 나타내어 검정지역에 존재하는 친화성 도열병원균의 분포가 차이가 있으며, 검정지역간 온도, 습도, 강수량, 및 강우시기 등의 기상적인 요인들의 차이등이 복합적으로 작용하여 나타난 결과라고 생각된다.

제천, 화성, 대전 등 3개 지역에서 실시한 도열병 포장 저항성 검정결과는 표 2과 같다. 고세대 여교배 244계통의 도열병 포장검정 결과, 잎도열병 발생은 화성 시험지에서 평균 병반면적율이 0.92%로 가장 높게 나타났고, 대전 시험지에서 평균 병반면적율이 0.07%로 발병이 가장 저조하였다. 3개 시험지에서 병반면적율이 공통으로 0.2% 이하를 나타낸 계통은 140개 계통이었다. 도열병 평균이병수율은 제천 시험지에서 19.7%로 가장 발병이 많았고, 화성 시험지에서 15.5%, 그리고 대전 시험지에서 5.9%로 발병이 가장 적었다. 시험지역에 따라 잎도열병과 이삭도열병 발병 양상이 변하는 것을 알 수 있었는데, 이는 지역에 따른 기상변화에 기인하는 것으로 판단되었다. 3개 시험지에서 일품벼보다 낮은 잎도열병 발병정도를 나타낸 계통은 85% 이상이었으며, 이삭도열병에서는 65% 이상의 계통들이 일품벼보다 이병수율이 낮은 경향을 나타냈으며, 잎도열병과 이삭도열병에서 공히 일품벼보다 낮은 발병정도를 나타낸 계통은 125개 계통으로 나타났다.

244개 고세대 여교배 집단에서 도열병에 대한 저항성이 증진된 것으로 확인된 계통들과 DNA 검정을 통해 저항성원으로 사용한 모로베레칸의 저항성 단편이 이입된 계통 121개를 선발하여 2006년에 제천, 대전, 화성, 수원, 이천 등 5개 지역에서 밭못자리 검정을 실시하고, 제천, 대전, 화성 등 3곳에서 포장 저항성 검정을 실시한 결과는 표 3과 같다. 121개 집단의 밭못자리 검정지역간 평균 발병정도는 대전에서 6.3으로 가장 높게 나타났고, 이천, 수원, 화성, 제천에서 각각 5.7, 5.3, 4.7, 3.0을 나타내어 2005년 밭못자리 검정시험에서 검정지역간 차이가 컸던 것과 유사한 결과를 나타내어, 병 발생정도는 기주, 병원균, 그리고 환경요인의 작용에 따라 크게 다른 것

을 확인할 수 있었다. 121개 계통들을 이용한 도열병 포장 저항성 검정에서도 검정 지역간 잎도열병 및 이삭도열병 발병차이가 심하게 발생하였는데, 잎도열병 평균 병반면적율이 가장 높게 나타난 지역은 0.11%의 병반면적율을 나타낸 제천시험지이었으며, 대전시험지에서는 극히 소수의 계통들만이 낮은 잎도열병 발병이 되었으며, 이삭도열병 발병에서도 제천에서 전체 계통의 평균 이병수율이 2.2%로 가장 높았지만 대전시험지에서는 전혀 이삭도열병이 발생하지 않았다. 이러한 결과도 역시 밭못자리 검정에서와 같이 환경적인 요인에 따라 년차간 지역간 발병양상이 크게 다르게 나타나는 것을 잘 보여준 결과라고 생각된다.

244개 고세대 여교배 계통 가운데 유묘 접종 1차와 2차 검정, 제천, 남양, 이천 등 3개 밭못자리 지역에서 검정 결과, 그리고 제천, 화성, 대전 등 3개 시험포장에서 실시한 도열병 포장 저항성 검정을 종합한 결과 24개 계통들은 일품벼 대비 도열병에 대한 저항성이 증진된 계통으로 선발할 수 있었다 (표 4).

표 1. 일품벼/Moroberekan 고세대 여교배 계통에 대한 온실 유묘검정

No.	접종성적*		No.	접종성적		No.	접종성적		No.	접종성적		No.	접종성적		No.	접종성적	
	1차	2차		1차	2차		1차	2차		1차	2차		1차	2차		1차	2차
1	4	4	42	5	-	83	4	5	124	5	-	165	5	-	206	4-5	-
2	3-4	2	43	5	-	84	0	2	125	5	-	166	5	-	207	4-5	-
3	4-5	-	44	5	-	85	4	2	126	5	-	167	5	-	208	5	-
4	3-4	2	45	5	-	86	0	2	127	5	-	168	4-5	-	209	4-5	-
5	4-5	2	46	5	-	87	3	1	128	5	-	169	4	4	210	4-5	-
6	5	-	47	5	-	88	3	2	129	5	-	170	5	-	211	4-5	-
7	2	0	48	5	-	89	0	2	130	5	-	171	5	-	212	3	1
8	2-3	1	49	4	-	90	4	4	131	5	-	172	5	-	213	4-5	-
9	2	2	50	4	4	91	4-5	-	132	5	-	173	5	-	214	4-5	-
10	3	4	51	5	-	92	4-5	-	133	4	4	174	5	-	215	4	4
11	5	-	52	5	-	93	4-5	-	134	2	0	175	5	-	216	0	4
12	3	4	53	5	-	94	4-5	-	135	5	-	176	4-5	-	217	3-4	-
13	4-5	-	54	5	-	95	4-5	-	136	5	-	177	4-5	-	218	4-5	-
14	4-5	-	55	5	-	96	4	0	137	4-5	-	178	4-5	-	219	4-5	-
15	4-5	-	56	5	-	97	4	4	138	4-5	-	179	5	-	220	4-5	-
16	2	2	57	5	-	98	4-5	-	139	4-5	-	180	4-5	-	221	4-5	-
17	3-4	1	58	5	-	99	4-5	-	140	4-5	-	181	3-4	4	222	4-5	-
18	4-5	-	59	5	-	100	4-5	-	141	4-5	-	182	4	4	223	4-5	-
19	3-4	1	60	5	-	101	4-5	-	142	4-5	-	183	5	-	224	4-5	-
20	2	1	61	4	5	102	4-5	-	143	4-5	-	184	5	-	225	4-5	-
21	4-5	-	62	4-5	-	103	4-5	-	144	5	-	185	5	-	226	4-5	-
22	3-4	-	63	4-5	-	104	4-5	-	145	1	4	186	5	-	227	4-5	-
23	3-4	2	64	5	-	105	4-5	-	146	4-5	-	187	5	-	228	3	4
24	2-4	1	65	5	-	106	3	1	147	3	2	188	5	-	229	3	2
25	4	5	66	5	-	107	4-5	-	148	0	1	189	5	-	230	4	4
26	4-5	-	67	5	-	108	3	1	149	0	4	190	5	-	231	4	4
27	4-5	-	68	5	-	109	4	4	150	0	2	191	5	-	232	4-5	-
28	4	4	69	5	-	110	4-5	-	151	4-5	-	192	4	2	233	4-5	-
29	4	4	70	5	-	111	4-5	-	152	4-5	-	193	4	4	234	4	4
30	5	-	71	4-5	-	112	4-5	-	153	4-5	-	194	4-5	-	235	4	2
31	2-5	-	72	4-5	-	113	4	1	154	4-5	-	195	5	-	236	3-4	-
32	5	-	73	4	5	114	5	-	155	4-5	-	196	5	-	237	4	5
33	5	-	74	3	5	115	5	-	156	4	4	197	5	-	238	3	5
34	4-5	-	75	4	4	116	5	-	157	3	4	198	5	-	239	4	5
35	0	1	76	3	2	117	5	-	158	4	4	199	5	-	240	0	5
36	4	4	77	4	5	118	5	-	159	5	-	200	5	-	241	3-4	4
37	0	4	78	4-5	-	119	5	-	160	5	-	201	5	-	242	4	-
38	0	2	79	4-5	-	120	4-5	-	161	5	-	202	5	-	243	4	-
39	4	4	80	4	4	121	4	-	162	5	-	203	5	5	244	4	-
40	4-5	-	81	4	4	122	4-5	-	163	5	-	204	0	0			
41	5	-	82	4-5	-	123	5	-	164	5	-	205	3	4			

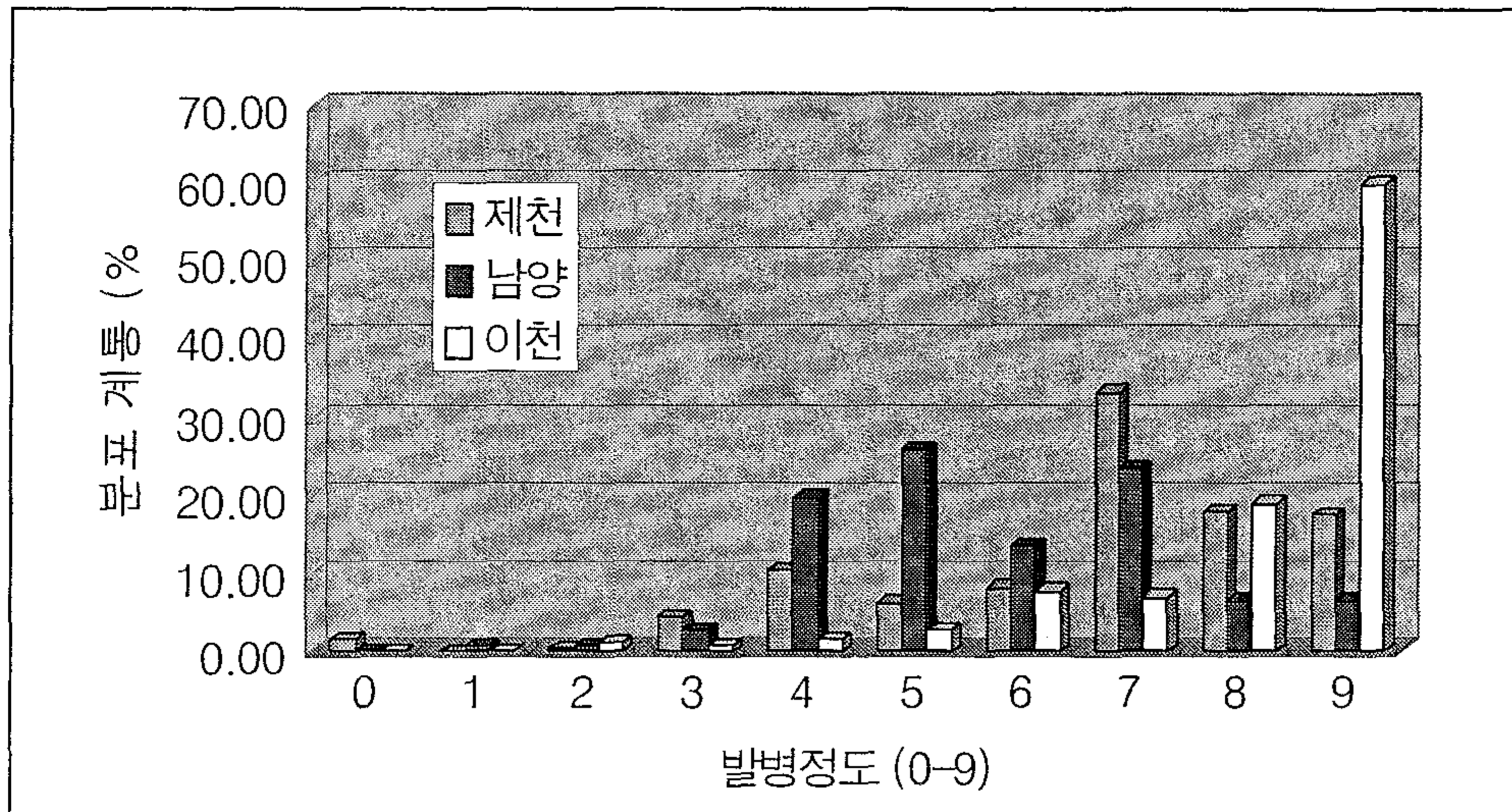


그림 1. 일품벼/모로베레칸 고세대 여교배 계통의 발못자리 검정지역간 앞도열병 발생분포

표 2. 일품벼/모로베레칸 고세대 여교배계통의 도열병 포장 저항성 검정

앞도열병 (평균 병반면적율, %)			이삭도열병 (평균 이병수율, %)		
제천	화성	대전	제천	화성	대전
0.18	0.92	0.07	19.7	15.5	5.9

표 3. 일품벼/모로베레칸 조합 고세대 여교배계통들의 발못자리 및 포장검정

구 분	제천	대전	화성	수원	이천
발못자리					
평균발병정도 (0-9)	3.0	6.3	4.7	5.3	5.7
앞도열병					
평균 병반면적율 (%)	0.11	0.0	0.02	-	-
평균 이병수율 (%)	2.2	0.0	0.2	-	-

표 4. 일품벼/모로베레칸 고세대 여교배계통 중 도열병 저항성 증진 계통

계통번호	유묘접종 ¹		밭못자리 ²			잎도열병(포장) ³		
	1차	2차(7/18)	제천	남양	이천	제천	화성	대전
7	2	0	0	3	2	0.00	0.00	0.00
8	2-3	1	0	3	4	0.00	0.00	0.10
9	2	2	4	5	6	0.00	0.20	0.00
16	2	2	4	5	6	0.00	0.00	0.10
19	3-4	1	4	4	6	0.00	0.00	0.10
20	2	1	0	3	2	0.00	0.00	0.00
22	3-4	3	3	5	5	0.20	0.00	0.10
29	4	4	4	4	4	0.00	0.10	0.00
35	0	1	4	4	4	0.00	0.00	0.00
37	0	4	5	5	6	0.00	0.20	0.20
38	0(4)	2	6	4	6	0.00	0.00	0.10
86	0	2	4	3	3	0.00	0.00	0.00
87	3	1	4	4	6	0.10	0.00	0.00
88	3(4)	2	5	5	6	0.00	0.00	0.10
89	0(4)	2	4	5	5	0.00	0.00	0.10
90	4	4	6	5	6	0.10	0.00	0.00
96	4	0	5	5	6	0.20	0.10	0.00
106	3	1	3	4	6	0.00	0.00	0.00
108	3(4)	1	3	5	6	0.10	0.00	0.10
134	2	0	2	5	5	0.10	0.20	0.00
148	0	1	4	4	5	0.00	0.00	0.00
149	0	4	4	4	6	0.00	0.00	0.00
204	0	0	0	1	2	0.00	0.00	0.00
212	3	1	3	1	6	0.10	0.00	0.00
일품벼	5	5	9	6	7	0.5	0.7	0.2
모로베레칸	0	0	0	0	1	0	0	0

다. 내구저항성 검정

유묘접종 검정, 발못자리 검정 및 포장 저항성 검정을 통하여 모로베레칸의 저항성 단편이 이입된 것과 저항성 증진이 확인된 계통들을 선발하여 연계재배법을 이용하여 내구저항성 정도를 검정하였다 (표 5).

CR 5등 16개 계통의 내구저항성은 우리나라에서 내구저항성 품종으로 밝혀진 팔공벼와 대등한 내구성을 나타내었지만, CR5, CR10, CR12 등 3개 계통은 친화성 균주수가 적어 추후 친화성 균주가 증가할 경우 내구성정도가 변할 가능성이 있는 것으로 예상되며, 나머지 13개 계통은 친화성 균주수가 5개 이상이면서도 1회차 파종에서 7회차 파종에 이르기까지 파종회차 별 병반면적율이 40%를 계속하여 유지함으로써 팔공벼와 같은 내구저항성을 가진 것으로 판단되어 농업적 형질이 양호한 계통들은 품종화 또는 실용화가 가능할 것으로 판단되었다.

표 5. 일품벼/모로베레칸 고세대 여교배 유망계통의 연계검정에 의한 내구 저항성 검정

No.	품종명	파종회차별 병반면적율 (%)							친화성 균주수	내구성 정도
		1	2	3	4	5	6	7		
1	일품	60.0	70.0	75.0	70.0	70.0	80.0	70.0	15	7
2	모로	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1	0
3	CR5	1.0	0.5	0.0	1.3	1.0	1.0	1.5	3	0
4	CR8	30.0	30.0	45.0	45.0	55.0	65.0	55.0	14	5
5	CR9	3.0	5.5	6.5	3.5	5.0	7.5	5.5	8	0
6	CR10	0.6	0.5	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3	3	0
7	CR11	20.0	11.5	15.0	7.5	10.0	5.0	7.5	8	0
8	CR12	20.0	25.0	30.0	30.0	22.5	20.0	17.5	3	0
9	CR13	37.5	30.0	40.0	45.0	40.0	35.0	35.0	13	5
10	CR15	17.5	9.0	11.5	14.0	10.0	10.0	7.5	10	0
11	CR18	12.5	9.0	11.5	12.5	10.0	10.0	7.5	6	0
12	CR27	37.5	45.0	37.5	42.5	50.0	40.0	40.0	12	6
13	CR31	4.0	0.5	0.4	1.0	0.5	2.0	1.1	5	0
14	CR33	12.5	2.0	1.3	0.6	1.5	0.8	0.8	10	0
15	CR35	12.5	2.5	5.0	4.0	4.0	3.0	3.0	7	0
16	CR40	14.0	17.5	15.0	15.0	14.0	12.5	10.0	5	0
17	CR43	27.5	45.0	40.0	50.0	60.0	45.0	40.0	9	6
18	CR47	60.0	65.0	67.5	55.0	60.0	50.0	55.0	15	7
19	CR51	1.5	0.5	0.3	1.1	1.3	0.0	0.1	8	0
20	CR59	4.0	1.5	2.5	4.0	2.0	2.8	3.5	9	0
21	CR61	7.5	2.0	3.5	4.0	3.5	2.0	5.5	8	0
22	CR91	12.5	10.0	17.5	22.5	15.0	7.5	10.0	8	0
23	CR93	50.0	70.0	60.0	55.0	60.0	52.5	50.0	12	7
24	CR94	70.0	75.0	75.0	75.0	70.0	40.0	40.0	12	7
25	CR96	20.0	22.5	30.0	27.5	27.5	10.0	12.5	10	0
26	CR99	62.5	75.0	77.5	67.5	60.0	55.0	50.0	15	7
27	CR118	30.0	50.0	50.0	45.0	45.0	42.5	45.0	10	6
28	CR119	60.0	75.0	72.5	70.0	60.0	55.5	60.0	17	7
29	CR120	50.0	70.0	75.0	70.0	65.0	45.0	50.0	15	6
30	팔공벼	11.5	6.5	3.0	3.0	1.8	2.5	2.5	15	0

라. 농업적 형질 특성 검정

일품벼/모로베레칸 고세대 여교배 계통들의 농업적 형질을 조사한 결과는 그림 2와 같다. 244개 고세대 여교배 계통들의 평균 출수일수는 114일로 일품벼의 113일보다 1일 늦은 것으로 나타나 대체로 고세대 여교배 계통들의 출수일수가 길어진 것으로 나타났다. 시험계통들의 평균 간장은 73cm로, 일품벼의 74.2cm 보다 1.2cm 적어 시험계통들의 간장이 줄어드는 경향을 나타냈다. 시험계통 평균 수장이 22cm로 대부분의 계통들의 수장이 19~23cm 부분에 분포하고 있었다. 주당 수수는 전체 시험계통 평균이 12개 였으며, 일품벼의 11.6개와 모로베레칸의 7.2개보다 수수가 증가하는 경향을 나타내었다. 전체적으로 시험계통들의 출수기는 길어지는 경향을 나타내고 간장은 약간 줄어들었으며, 수장과 주당 수수는 증가하는 경향을 나타내었다.

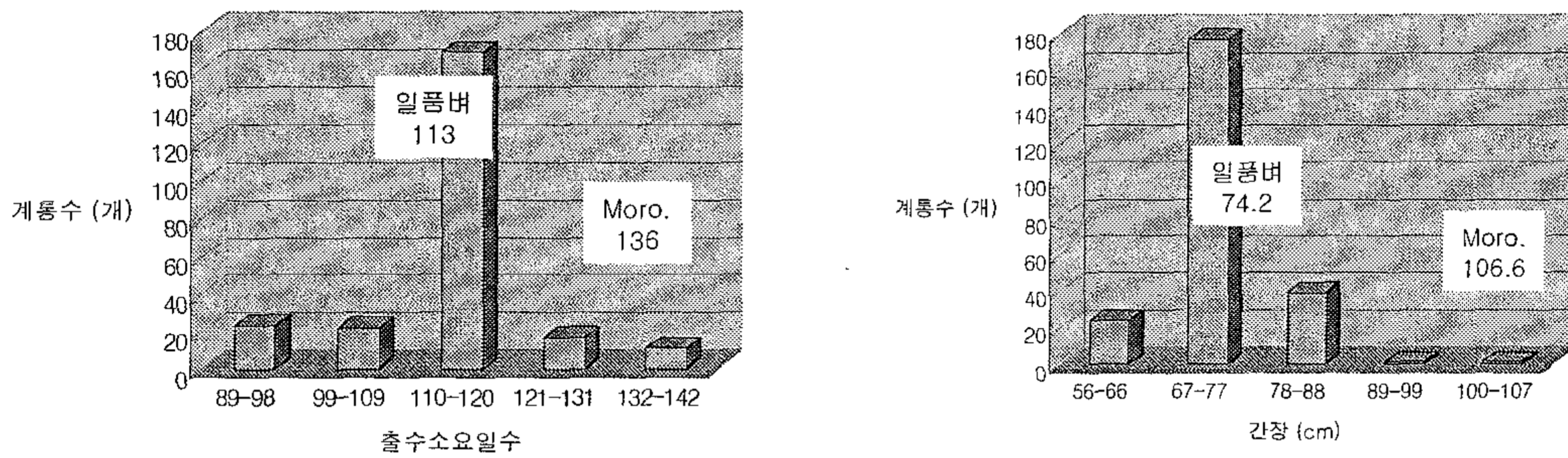


그림 2. 일품벼/모로베레칸 고세대 여교배계통의 농업적 특성 분포도

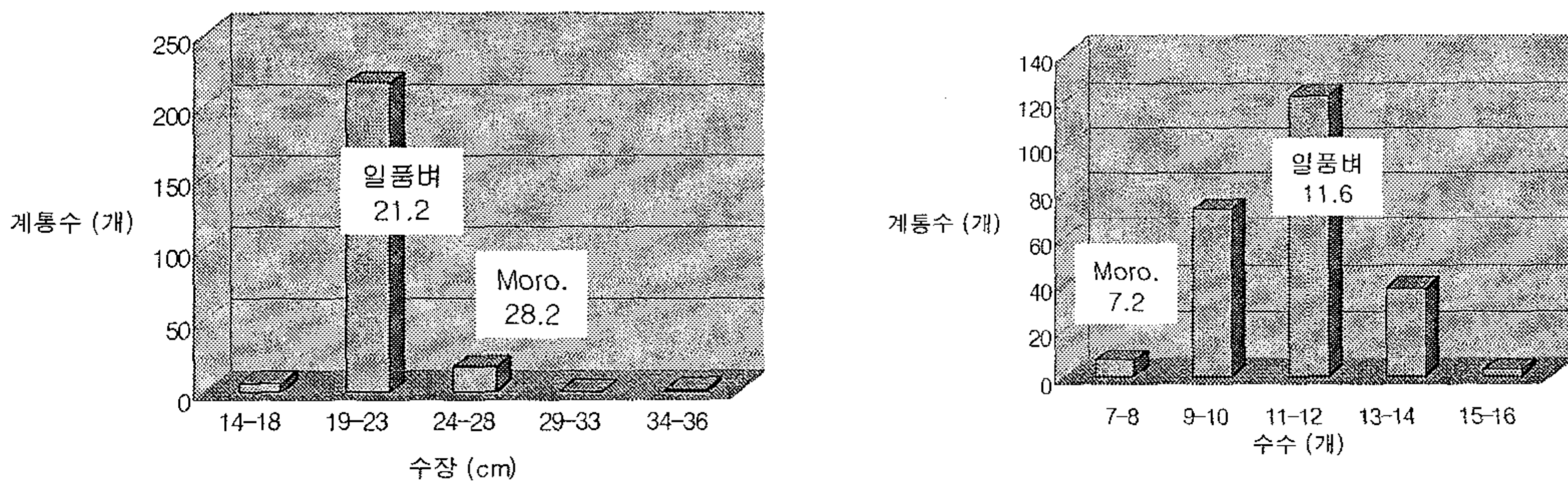


그림 2-1. 일품벼/모로베레칸 고세대 여교배계통의 농업적 특성 분포도

표 6. 일품벼/모로베레칸 고세대 여교배 유망계통의 수량 구성요소

No.	출수기 (월.일)	간장 (cm)	수장 (cm)	수수 (개)	수당립수 (개)	등숙율 (%)	수량 (kg/10a)
일품벼	8.22	64.9	19.6	9.4	103.4	93.9	545.0
CR 5	8.22	67.0	19.6	9.4	110.0	93.8	472.0
CR 9	8.25	69.1	20.5	8.7	120.3	88.0	498.0
CR11	8.27	70.6	19.6	9.4	113.4	91.1	521.0
CR31	8.25	65.1	18.6	9.0	92.2	83.4	451.5
CR35	8.26	69.6	19.6	9.4	108.6	94.0	489.5
CR59	8.23	66.0	19.9	9.9	102.3	87.5	484.0
CR91	8.23	71.3	19.6	9.4	101.6	95.2	490.5

고세대 여교배 계통 가운데 유묘접종, 발못자리검정, 포장 저항성 검정 및 내구저항성 검정을 통해 도열병 저항성이 증진된 것으로 확인되고, DNA 분석을 통해 저항성원인 모로베레칸의 저항성 단편이 이입된 것이 확인된 유망계통 가운데 농업적 형질이 우수하여 실용화 가치가 높은 CR5, CR 9, CR11, CR31, CR35, CR59, CR91 등 7개 계통을 선발하여 농업적 특성을 조사한 결과는 표 6, 7 및 8과 같다. 선발된 개체의 출수기는 일품벼 출수기인 8월 22일부터 8월 27일까지 분포하고 있어 출수가 약간 늦어지는 경향을 나타내었으며, 간장은 일품벼보다 약간 크지만 72cm 이하를 나타냈다. 수수는 일품벼와 비슷한 9개 전후를 나타냈으며, 수당립수에서는 CR 9 계통은 일품벼보다 8.4%가 많았으나 CR 31계통의 수당립수는 일품벼 대비 89% 수준을 나타냈다. 등숙율에서도 약간씩 계통간 차이를 나타냈으며, 수량성은 모든 계통이 일품벼보다 4.4~13.4% 낮은 것으로 나타났다. 이들 계통들이 수량성은 떨어지지만 도열병 저항성이 증진되어 품질 특성이 우수한 경우 품종화 될 가능성이 있다고 판단되었다.

이들 유망 7개 계통들의 쌀 품질 가운데 쌀의 길이와 폭은 일품벼보다 약간 짧은 경향으로 단립형을 나타냈으며, 현미 천립중은 CR 5 등 5계통은 일품벼의 20.8g보다 약간 가벼웠으나 CR11와 CR31 계통은 일품벼와 비슷한 천립중을 나타냈다. 완전립율은 CR5는 75.6%로 크게 떨어지는 경향을 보였으며, CR35와 CR91은 일품벼보다 약간 높은 완전립율을 나타냈다.

7개 고세대 여교배계통들의 식미 평가 결과, 밥 모양은 모든 계통들이 일품벼보다 좋은 것으로 나타났으며, 밥 냄새에서도 CR5 계통을 제외한 모든 계통들이 우수한

것으로 나타났다. 밥맛 평가에서는 CR9, CR31, CR35 등 3개 계통은 일품벼보다 약간 낮았으나 나머지 계통들은 일품벼보다 약간 좋은 것으로 나타났으며, 찰기는 모든 계통들이 일품벼보다 좋은 것으로 나타났다. 이들 조사 항목을 종합하여 볼 때 CR9, CR11 등 2개 계통을 제외한 5개 계통들은 일품벼와 유사하거나 약간 좋은 것으로 평가되었다.

고세대 여교배 유망계통들의 이화학적 특성 중 단백질 함량은 CR5, CR11은 일품벼보다 낮게 나타났고, 나머지 계통들은 일품벼보다 약간 높게 나타났으며, 아밀로스함량은 CR9계통을 제외한 모든 계통들이 일품벼와 비슷하거나 약간 낮은 결과를 나타냈다. 쌀의 백도에 있어서 CR5, CR35 등 2계통은 일품벼보다 약간 떨어졌지만, 나머지 계통들은 높은 수치를 나타냈다. 도열병 저항성이 증진되고 농업적 형질이 우수한 고세대 여교배 계통들 가운데 CR31, CR35, CR59, CR91 등 4개 계통은 식미평가 및 미질특성 등을 종합할 때 일품벼와 대등하거나 약간 우수한 특성을 나타내어 앞으로 실용화 또는 품종화 가능성이 높은 것으로 생각된다.

표 7. 일품벼/모로베레칸 고세대 여교배 유망계통의 품질특성

No.	장 폭 (mm)	폭 (mm)	장폭비	현 미 천립중(g)	정현비 (%)	완전립 (%)	분상질립 (%)	싸라기 (%)	피해립 (%)
일품벼	4.75	2.90	1.94	20.8	82.0	96.1	0.9	2.0	0.8
CR 5	4.57	2.71	1.87	18.9	81.3	75.6	4.9	18.5	0.9
CR 9	4.65	2.84	1.91	19.1	80.7	85.2	2.2	10.5	1.4
CR11	4.75	2.93	1.95	20.9	81.5	92.8	1.2	3.9	1.8
CR31	4.79	2.86	1.86	20.9	78.6	94.6	1.8	1.9	1.4
CR35	4.61	2.78	1.87	18.1	80.8	96.3	1.0	1.7	0.7
CR59	4.67	2.78	1.92	18.7	80.6	94.9	1.1	3.1	0.7
CR91	4.68	2.87	1.95	19.7	81.2	96.8	0.5	1.9	0.7

표 8. 일품벼/모로베레칸 고세대 여교배 유망계통의 이화학적 특성 및 식미 평가

구분	단백질 함량	아밀로스 함량	백도	수분	밥모양	밥냄새	밥맛	찰기	경도	총평
일품벼	5.7	17.9	38.2	19.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
CR 5	5.6	18.0	37.6	19.1	0.1	-0.1	0.0	0.4	-0.3	0.0
CR 9	6.4	17.7	39.7	19.5	0.8	0.0	-0.1	0.0	0.2	-0.2
CR11	5.7	17.8	38.0	20.1	0.8	0.3	0.3	0.4	-0.2	-0.1
CR31	6.0	17.7	39.4	19.5	0.6	0.6	-0.1	0.8	-0.3	0.2
CR35	5.9	18.3	37.8	19.9	0.9	0.8	-0.3	0.2	0.3	0.3
CR59	6.1	18.0	38.0	19.1	0.7	0.7	0.1	0.5	0.8	0.5
CR91	6.1	18.3	38.6	19.6	0.7	0.9	0.6	0.4	0.0	0.4

* 대비품종 : 일품벼, -3~+3

4. 적 요

일품벼/모로베레칸 고세대 여교배 계통들에 대한 도열병 저항성 평가 및 농업적 특성 평가한 결과는 다음과 같다.

1. 유묘접종 결과 전체 계통의 21.3%인 52개 계통이 일품벼보다 도열병 저항성이 증진된 것으로 밝혀졌다.
2. 고세대 여교배 계통들은 발뭇자리 검정 지역간 발병차이가 크게 나타났으며, 3개 검정지역 평균 발병정도가 일품벼보다 낮았던 계통은 전체 계통의 53.7%인 131개 계통이었다.
3. 도열병 포장 저항성 검정 3개 지역에서 일품벼보다 잎도열병과 이삭도열병이 증진된 계통은 51.2%인 125개 계통이었다.
4. 도열병 저항성이 증진되고 농업적 형질이 유망한 계통들의 내구저항성 검정결과, CR9, CR11, CR15, CR18, CR33, CR35, CR51, CR59, CR61, CR91 등 10개 계통들이 팔공벼와 대등한 내구성을 나타내어 유망시 되었다.
5. 농업적 형질이 우수하면서 도열병 저항성이 증진된 CR9, CR11, CR35, CR59, CR91등 5개 계통은 실용화 및 품종화 가능성이 있는 계통으로 선발되었다.

제 3절. 도열병 방어 유전자 분리, 특성 분석 및 분자표지 개발

1. 재료 및 방법

가. 모로베레칸과 일품벼의 RIL 교배집단의 SSR 분석

모로베레칸과 일품벼의 교배집단 중 일품벼과 표현형이 유사한 계통 중에서, 10개의 도열병 저항성 계통과 10개의 이병성 계통을 선정하여 사용하였다. 종자를 파종 후 2주 쯤 어린 잎으로부터 genomic DNA를 추출하였다. SSR 분석에 사용된 primer들은 QTL 분석결과 도열병 저항성 QTL이 위치하는 4번 염색체 상의 SSR 마커 RM252, RM255, RM273, RM317, RM551, RM567, RM3367, RM3524, RM5749를 사용하였다. PCR은 94°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 1분의 cycle을 35회 반복하여 실시하였다. 증폭된 PCR 산물을 4% denatured polyacrylamide gel 로 전기영동한 후 silver staining하여 각 계통별로 SSR 유전자형을 결정하였다.

나. DEG (Differentially Expressed Gene) gene fishing system을 통한 도열병 방어 유전자 분리

광범위 도열병 저항성 품종인 모로베레칸을 실험재료로 사용하였다. 실험에 사용된 균주는 필리핀 레이스인 *M. grisea* PO6-6이며, 이것은 모로베레칸과 비친화적 반응을 보이는 균주이다. 또한 대조균으로는 물만 처리하여 이용하였다. 균주는 쌀겨 배지에서 2주간 암 배양 한 후 4일간 접종에 사용할 포자 형성을 유도한 후 사용하였다. 접종 24시간 후 잎을 수집하여 RNA를 추출한 후 cDNA를 만들고, DEG kit (SeeGene, Korea)를 사용하여 PCR을 수행하여 병 방어 후보 유전자를 분리하였다. 각 PCR product는 T-vector에 클로닝하였으며, 도열병 처리균에서 발현이 증가한 27개에 대하여 염기서열을 분석하였다. DEG 실험 결과를 분석하기 위하여 도열병 감수성 품종인 낙동벼를 대조구로 사용하여 도열병 처리 후 시간별로 발현분석을 실시하여 검정하였다.

다. Microarray를 통한 유전자 분석

광범위 도열병 저항성유전자 *Pi5*를 갖는 RIL260 (모로베레칸과 CO39의 교배에서 유도됨)을 주 식물재료로 사용하였으며, 비친화적 도열병균인 PO6-6를 접종하여 24

시간 후에 수집된 잎과 균이 접종되지 않은 대조구 잎으로부터 각각 전체 RNA를 분리하여 분석하였다. 7회의 반복 실험을 통하여 발현이 증가한 집단과 감소한 집단을 각각 동정하였으며, 식물에서의 발현을 확인하기 위하여 RNA blot을 수행하였다. RNA blot은 도열병균 접종 후 0, 24, 48, 120 시간의 샘플 RNA 10ug을 이용하여 RNA blot에 이용하였다. 이중 강한 발현은 보이는 유전자에 대하여 아그로박테리움 매개법 형질전환을 이용하여 형질전환 벼를 생산하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 일품/모로베레칸의 교배집단 이용 SSR 분자표지 분석

도열병 저항성 품종인 모로베레칸과 이병성 품종인 일품의 여교배계통 중 도열병 검정 결과 저항성인 계통군과 이병성 계통군을 선정하여 실험에 사용하였다. SSR 마커는 주관연구 기관의 결과를 바탕으로 도열병 저항성 유전자/QTL이 집중적으로 탐지된 4번 염색체상의 SSR marker를 이용하여 저항성 및 이병성 군간의 차이를 분석하였다 (그림 1). 4번 염색체에 존재하는 9개의 SSR marker를 통해 확인한 결과, 약 29.03 cM에서 34.50 cM에 존재하는 RM317, RM255, RM507 marker에 양친간 다형성을 보였다. 이들 마커들의 유전자형을 보면 이병성 군은 1-2개 계통을 제외하고는 모두 일품벼와 동일한 유전자형을 보였으며, 저항성계통 중에서는 한 계통만 모두 모로베레칸 유전자형을 보인 반면 다른 9계통들은 일품벼와 모로베레칸의 유전자형이 혼재하는 경향을 보였다. 이 지역이 모로베레칸의 도열병 저항성유전자와 밀접하게 연관된 것으로 판단되나, 추가적인 실험이 요구된다 (표 1).

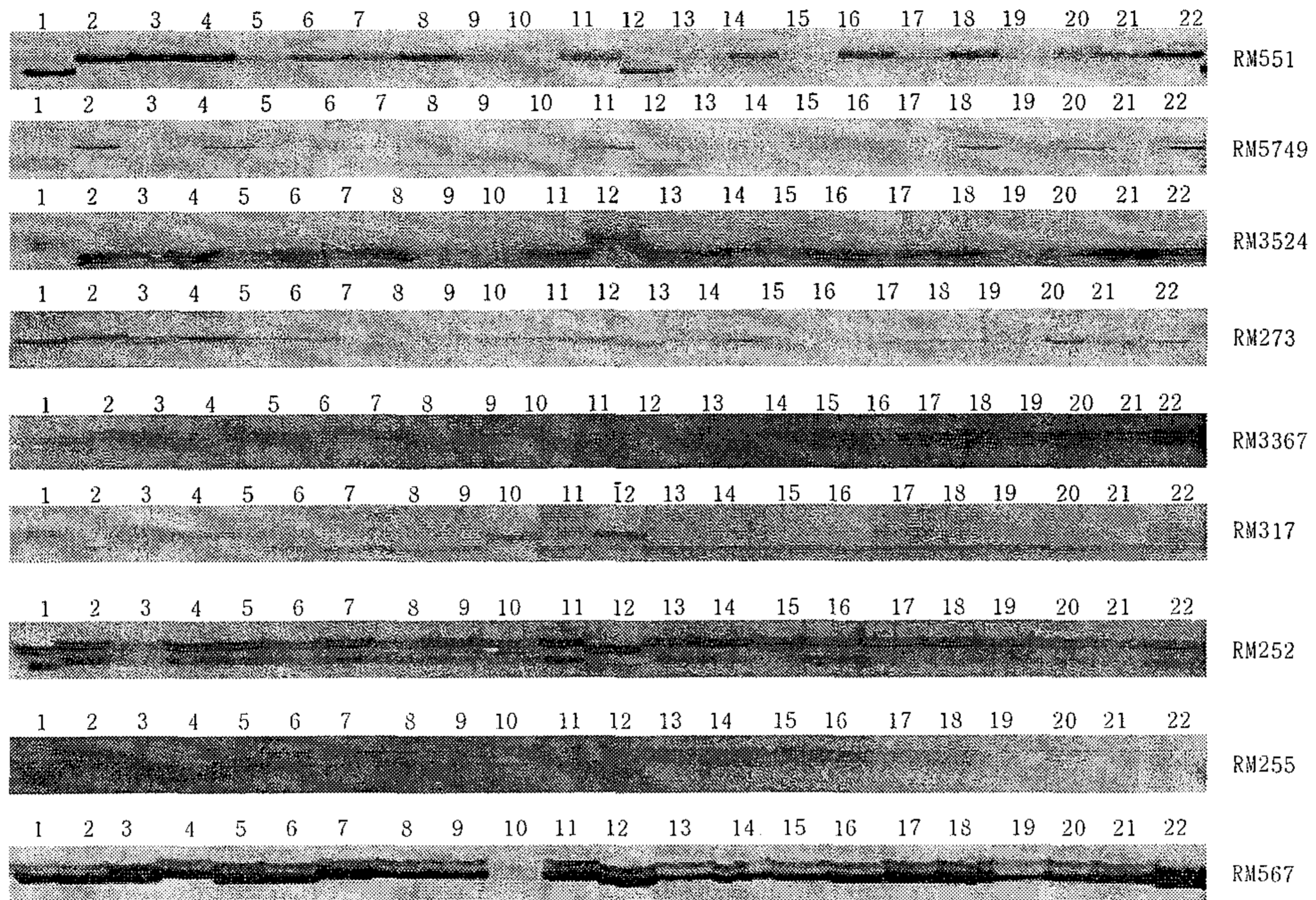


그림 1. 저항성 및 이병성 계통들에서 SSR marker 유전자형 분석
1-22; 라인번호, 11; 일품, 12; 모로베레칸

표 1. 저항성 및 이병성 계통들의 SSR 유전자형. RIL1-RIL10 (저항성)
RIL13-RIL22 (이병성계통) I: 일품, M: 모로베레칸, 1: 일품 동형접합체, 2: 이형접합체, 3, 모로베레칸 동형접합체

	RIL1	RIL2	RIL3	RIL4	RIL5	RIL6	RIL7	RIL8	RIL9	RIL10	I	M	RIL13	RIL14	RIL15	RIL16	RIL17	RIL18	RIL19	RIL20	RIL21	RIL22	
RM551	3	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	3	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1
RM5749	3	1	1	1	1	1	1	3	3	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
RM3524	3	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1
RM273	3	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
RM3367	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
RM252	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
RM317	3	1	2	3	3	1	1	1	1	3	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
RM255	3	1	2	3	3	1	3	1	1	3	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
RM567	3	3	3	1	3	3	1	1	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3

나. Gene fishing DEG (Differentially Expressed Gene) system을 통한 도열병 방어 후보 유전자 분리

(1) Gene fishing DEG (Differentially Expressed Gene) system을 통한 발현분석
도열병 저항성 품종인 모로베레칸을 비친화적 *M. grisea* PO6-6를 접종한 후 24시간 후에 수집된 잎과, 도열병균이 접종되지 않은 대조구 잎으로부터 전체 RNA 분리 후 cDNA를 합성하여 실험재료로 이용하였다. 실험에서는 유전자 발현 변화를 정확하게 분석할 수 있는 GeneFishing kit의 120쌍의 primer를 이용하여 2회 반복하였으며 (그림 2), 도열병균의 공격에 반응하여 증가 또는 감소하는 모로베레칸 유전자 29개를 분리하였다 (그림 3). DEG (Differentially Expressed Gene)로 확인된 유전자는 PCR로 증폭한 후에 T-vector에 cloning하고, 이들의 염기서열을 결정하였다. 최종적으로 BlastX 분석을 통하여 예측되는 유전자의 기능을 확인하였다 (표 2).

(2) RT-PCR 분석을 통하여 병 방어 관련 유전자의 확인

분리된 DEG에 대한 유전자 특이적인 primer를 개발하여, 병원균 처리에 따라 이들 DEG 유전자의 발현 변화를 RT-PCR을 통해 확인하였다. 또한 도열병균의 감염 시에 급격한 증가를 보이는 유전자를 중심으로 병원균 접종 0, 6, 12, 24, 48 시간 후 저항성 모로베레칸과 이병성인 낙동벼 잎으로부터 분리된 전체 RNA를 이용하여 DEG 유전자 발현의 변화를 비교 분석하였다 (그림 4). DEG를 통해 발굴된 유전자들은 대부분 병원균 처리에 의해 증가됨을 확인하였고, 이 결과로부터 발굴된 DEG 유전자들이 도열병 저항성에 중요한 역할을 할 것으로 예상하였다.

(3) 병 방어 후보유전자의 분석

비타민 합성과 관련된 VTC2, serine/threonine-protein kinase receptor precursor, Mitogen-activated protein kinase homolog (MAPK) 유전자는 낙동벼와 모로베레칸 모두에서 *M. grisea* PO6-6 및 mock 처리 모두에서 강한 유도성 발현을 보여 각종 복합스트레스에 관련될 가능성이 높을 것으로 예상되었다. 특히 serine/threonine-protein kinase receptor precursor는 낙동벼와 비교하여 모로베레칸에서 강한 유도성 발현을 보이며, mitogen-activated protein kinase homolog (MAPK)는 낙동벼와 비교하여 모로베레칸에서 또한 높은 유도성 발현을 보임을 확

인하였다. 이는 기존의 보고와 일치하는 결과로서 DEG 실험의 정확성을 뒷받침한다.

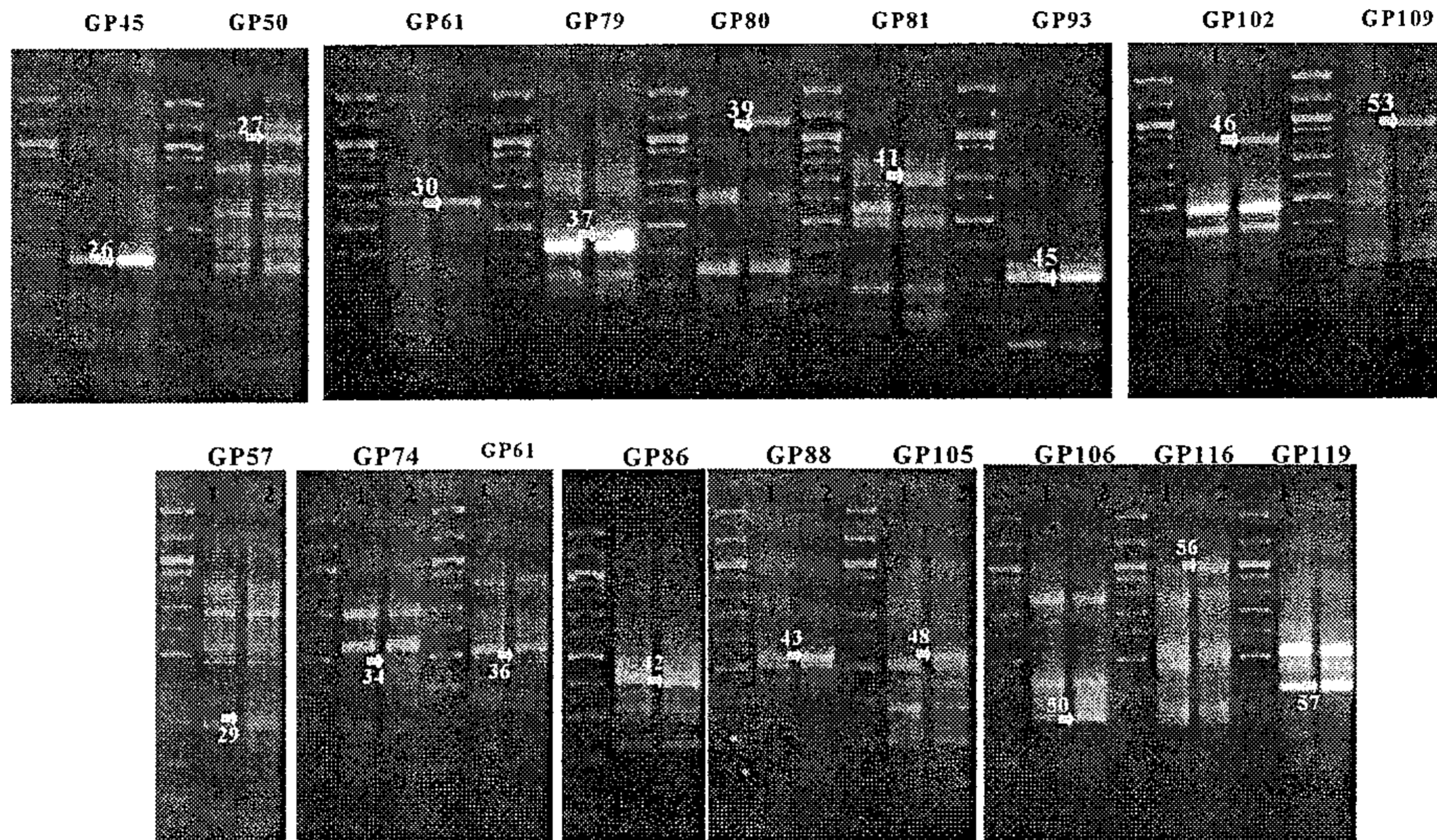


그림 3. 병 처리균에서 발현이 증가 또는 감소를 보이는 유전자를 분리함. 각 유전자를 DEG X라고 명명함.

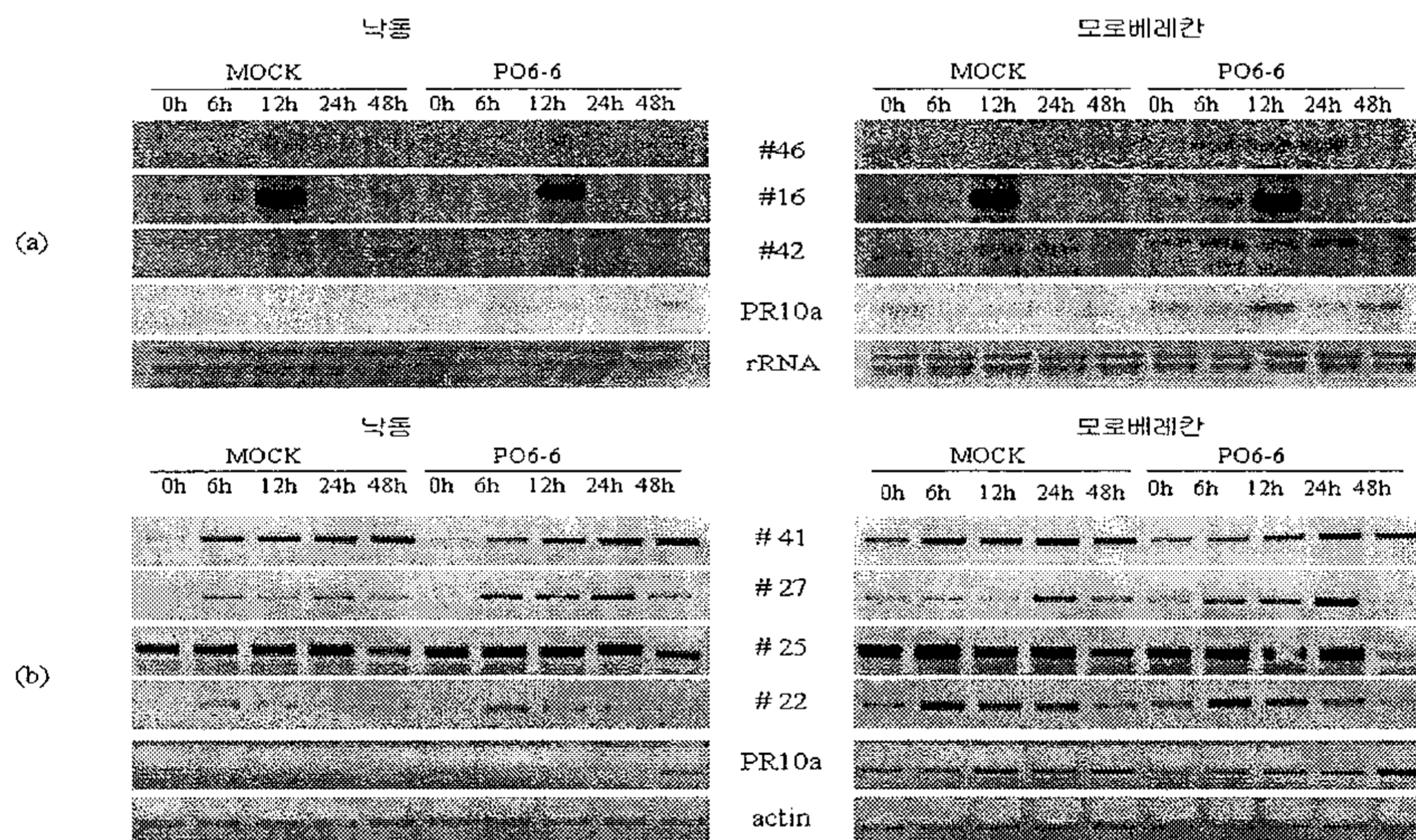


그림 4. *M. grisea* PO6-6에 대해 친화성 식물체인 낙동벼와 비친화성 식물체인 모로베레칸을 도열병균을 처리한 후 시간별로 수집하여 RNA gel blot (a) 및 RT-PCR (b)를 통하여 발현을 확인한 결과, DEG를 통해 발굴한 유전자들의 발현이 증가함을 확인함.

다. DNA chip 분석을 통한 도열병 방어 유전자 분리

(1) DNA chip 분석

DNA chip을 이용하여 분석을 7개월에 걸쳐서 모두 7차례 실시하였으며, 전체 118개의 방어후보 유전자 분리하였다 (표 3, 4). 도열병균의 공격에 발현이 급격히 증가되는 유전자군은 전체 90개를 확보하였으며 (표 4), 도열병균의 공격에 발현이 현저히 감소되는 유전자군 28개를 확보하였다.

(2) RNA gel-blot 분석을 통하여 병 방어 관련 유전자의 확인

DNA chip 분석을 통하여 확보된 병 방어 후보유전자를 탐침으로 이용하여 실제 병에 대한 생체 내에서의 반응을 RNA gel-blot 분석을 통해서 확인하였다. 도열병균 접종 0, 24, 48시간 및 5일후의 RIL260 식물체 잎으로부터 분리된 RNA를 이용하여 발현의 변화를 확인하였다(그림 5).

라. 도열병 저항성 관련 유전자를 통한 형질전환체 생산

DEG system과 microarray를 통해 분리된 도열병 저항성에 관련된 유전자를 동진벼에 도입하였다. 벼 캘러스에 아그로박테리움을 매개로 하여 유전자를 도입하였다. Microarray를 이용해서 분리한 유전자 중 도열병 처리에 의해 강하게 유도되는 1933 (unknown), 2171 (LRR), 2717 (translation initiation factor)을 동진벼에 도입하였으며, 형질전환 식물체에서 병 방어 표지 유전자 중의 하나인 PBZ 증가를 확인할 수 있었다 (그림 6). 이로서 이들 유전자의 도입을 통한 저항성 증가를 간접적으로 확인하였다. 최종적으로 이들 개체들은 후대계통을 수확하여 도열병 처리를 통한 병 반응의 변화 여부를 확인할 것이다.

또한 DEG system을 통해 분리한 유전자중 비타민 합성과 관련된 VTC2 유전자에 대한 동진벼 돌연변이 라인으로부터 동형접합 돌연변이라인을 분리하였다. 분리된 돌연변이 라인은 후대 계통을 수확하여 동진벼에 비친화성인 *M. grisea* race 007를 사용하여 접종하여 병반응의 변화를 본 별과 저항성의 차이는 없는 것으로 확인되어 병 저항성에 직접적으로 연관되지 않은 것으로 추측된다.

표 2. 병 유도성 발현을 보인 유전자들의 염기서열 분석

DEG #	예측된 유전자 기능
DEG07	transposable element
DEG08	peroxidase 53 precursor
DEG09	DNAJ heat shock N-terminal domain-containing protein
DEG11	polygalacturonase isoenzyme 1 beta subunit
DEG16 =13	hypothetical protein VTC2
DEG17	beta-1,3-glucanase homolog
DEG18	universal stress protein (USP) family protein
DEG19	esterase/lipase/thioesterase family protein
DEG20	unknown
DEG22	putative serine/threonine-protein kinase receptor precursor
DEG25	alpha-galactosidase precursor
DEG26	eukaryotic translation initiation factor SUI1
DEG27	oxygenase-related similar to myo-inositol oxygenase
DEG29	putative 60S ribosomal protein
DEG30	putative heat shock factor
DEG34	fructose-bisphosphate aldolase, cytoplasmic isozyme
DEG37	unknown
DEG36	homoserine kinase
DEG39	putative threonine dehydratase/deaminase
DEG41	pathogenesis-related protein 1 (PR-1)
DEG42	unknown
DEG43	beta-glucanase
DEG45	isovaleryl-CoA-dehydrogenase (IVD)
DEG46 =53	rice MAP5 Mitogen-activated protein kinase homolog
DEG48 =56	putative aldehyde dehydrogenase
DEG50	senescence-associated protein
DEG57	putative prephenate dehydratase family protein

표 3. 도열평균의 공격에 대하여 발현이 증가된 유전자들

No	Exp1	Exp 2	Exp 3	Exp 4	Exp 5	Exp 6	Exp 7	Mean	SD	Putative function
882	0.987	0.934	0.492	0.426	0.978	1.013	0.56	0.770	0.263	polyubiquitin
617	0.832	0.822	0.53	0.498	0.996	1.055	0.341	0.725	0.271	tumor protein
715	0.955	0.914	0.492	0.447	0.771	0.807	0.679	0.724	0.196	F1F0-ATPase inhibitor
1863	0.935	0.819	0.484	0.408	0.978	1.023	0.371	0.717	0.286	hsp70 gene
1037	0.918	0.918	0.619	0.494			0.625	0.715	0.193	tumor protein
1640	0.973	0.872	0.437	0.219	1.006	1.049	0.416	0.710	0.342	Oryza sativa polyubiquitin (RUBQ2)
2620	1.024	0.907	0.437	0.232	0.942	1.05	0.246	0.691	0.370	MAP kinase MAPK2 & MAP kinase 3
1990	0.908	0.782	0.459	0.331	0.817	0.94	0.339	0.654	0.268	Unknown
142	0.797	0.773	0.232	0.157	1.076	1.106	0.28	0.632	0.404	GOS9
168	0.727	0.711	0.415	0.386	0.808	0.878	0.492	0.631	0.197	NA
154	0.747	0.712	0.436	0.369	0.829	0.864	0.444	0.629	0.206	NA
2717	0.971	0.837	0.396	0.202	0.821	0.836	0.331	0.628	0.307	LRR
1191	0.725	0.682	0.344	0.304	0.936	0.98	0.359	0.619	0.285	DNA-directed RNA polymerase
1234	0.761	0.717	0.372	0.326	0.843	0.938	0.365	0.617	0.256	corepressor
864	0.842	0.784	0.251	0.248	0.823	0.9	0.359	0.601	0.299	stress-inducible protein
2606	0.77	0.664	0.412	0.217	0.845	0.89	0.36	0.594	0.263	cycloartenol synthase
1004	0.737	0.644	0.312	0.297	0.937	1.032	0.19	0.593	0.333	NA
787	0.819	0.742	0.248	0.137	0.966	0.969	0.236	0.588	0.367	Oryza sativa polyubiquitin (RUBQ2)
98	0.76	0.701	0.296	0.28	0.799	0.802	0.456	0.585	0.235	NA
2279	0.994	0.852	0.489	0.218			0.355	0.582	0.330	polyubiquitin
1933	0.786	0.748	0.323	0.169	0.809	0.836	0.332	0.572	0.284	Unknown
2507	0.66	0.507			0.722	0.783	0.183	0.571	0.240	RNA polymerase
2032			0.658	0.563			0.482	0.568	0.088	TINP1
2853	0.744	0.604			0.548	0.678	0.254	0.566	0.189	Unknown
2493	0.751	0.595			0.673	0.702	0.101	0.564	0.265	Unknown
2004	0.773	0.692	0.334	0.182	0.786	0.92	0.243	0.561	0.299	cellulose synthase-9
2424	0.737	0.547			0.627	0.721	0.162	0.559	0.235	P0445E10.7
841	0.802	0.711	0.296	0.236	0.776	0.866	0.168	0.551	0.303	F-box protein family
506	0.725	0.717	0.336	0.319	0.693	0.745	0.297	0.547	0.216	enolase
3068	0.86	0.729	0.492	0.225			0.419	0.545	0.252	DNAJ
2591	0.862	0.726	0.268	0.104	0.742	0.799	0.31	0.544	0.306	eIF-2-beta
2059	0.9	0.801	0.385	0.266			0.37	0.544	0.285	ferredoxin-NADPoxidoreductase
1026	0.662	0.644	0.28	0.244	0.815	0.846	0.314	0.544	0.259	Unknown

Table 3. continued

No	Exp1	Exp 2	Exp 3	Exp 4	Exp 5	Exp 6	Exp 7	Mean	SD	Putative function
1331	0.826	0.695	0.269	0.181	0.718	0.739	0.372	0.543	0.261	Unknown
813	0.752	0.663	0.26	0.206	0.832	0.858	0.196	0.538	0.304	SF16 protein
516	0.735	0.633	0.454	0.427	0.615	0.632	0.26	0.537	0.163	NA
3026	0.828	0.666	0.438	0.144	0.578	0.691	0.385	0.533	0.229	Unknown
253	0.669	0.621	0.258	0.251	0.734	0.74	0.433	0.529	0.214	Unknown
3025			0.6	0.44			0.541	0.527	0.081	polyubiquitin
2419	0.574	0.454			0.585	0.685	0.304	0.520	0.146	NA
806	0.783	0.762	0.278	0.264	0.644	0.68	0.171	0.512	0.263	P0019E03.13
2018			0.4	0.251	0.752	0.842	0.312	0.511	0.268	calmodulin
52	0.696	0.643	0.241	0.222	0.666	0.695	0.383	0.507	0.217	Unknown
702	0.653	0.586	0.282	0.279	0.726	0.73	0.288	0.506	0.214	P0435H01.30
1378	0.739	0.569	0.297	0.255	0.67	0.735	0.226	0.499	0.232	AKINbeta3
2017	0.658	0.548	0.2	0.067	0.725	0.853	0.403	0.493	0.286	beta-D-glucan exohydrolase
2550	0.618	0.571	0.244	0.098	0.786	0.873	0.261	0.493	0.295	histone H2B
2185	0.816	0.741	0.228	0.023	0.58	0.692	0.368	0.493	0.294	beta-adaptin
2682	0.708	0.559	0.274	0.162	0.714	0.757	0.27	0.492	0.250	C-terminal binding protein
2984	0.833	0.652	0.489	0.177	0.485	0.548	0.253	0.491	0.224	RNA binding protein
2522	0.776	0.655	0.263	-0.01	0.785	0.864	0.1	0.490	0.363	glutathione S-transferase
2179	0.7	0.606	0.23	0.002	0.631	0.701	0.559	0.490	0.268	Cell wall-associated hydrolase
317	0.592	0.546	0.223	0.093	0.832	0.94	0.201	0.490	0.328	Unknown
2450					0.601	0.613	0.253	0.489	0.204	NA
282	0.552	0.416	0.261	0.235	0.715	0.743	0.501	0.489	0.201	zinc finger
547	0.688	0.67	0.276	0.271	0.691	0.736	0.088	0.489	0.267	cytosolic chorismate mutase
2970	0.86	0.714	0.397	0.119	0.442	0.589	0.286	0.487	0.254	GA20
983	0.602	0.596	0.192	0.172	0.821	0.838	0.17	0.484	0.302	HIR3
2452	0.449	0.359			0.672	0.694	0.239	0.483	0.198	hsp70
2598	0.354	0.228	0.266	0.088	0.835	0.92	0.684	0.482	0.327	NA
504	0.72	0.711	0.158	0.111			0.7	0.480	0.316	endosomal protein
43	0.612	0.527	0.109	0.084	0.905	0.908	0.184	0.476	0.357	Unknown
2547	0.549	0.421			0.566	0.611	0.207	0.471	0.163	NA
2171	0.584	0.509	0.313	0.146	0.553	0.618	0.553	0.468	0.173	translation initiation factor
757	0.717	0.646	0.334	0.237	0.423	0.477	0.415	0.464	0.168	dnaJ
2397	0.598	0.498			0.541	0.573	0.108	0.464	0.202	PHD-finger
2435					0.597	0.644	0.133	0.458	0.282	NA
2676	0.713	0.578	0.257	0.082	0.597	0.623	0.283	0.448	0.237	drought-induced protein
2011					0.441	0.533	0.361	0.445	0.086	Unknown

Table 3. continued

No	Exp1	Exp 2	Exp 3	Exp 4	Exp 5	Exp 6	Exp 7	Mean	SD	Putative function
211	0.498	0.475	0.145	0.052	0.706	0.839	0.383	0.443	0.281	glycosylated polypeptide
3043			0.586	0.253			0.485	0.441	0.171	tumor protein
1499	0.712	0.65	0.25	0.148	0.284	0.399	0.637	0.440	0.225	Ran
1387	0.508	0.49	0.197	0.104	0.683	0.686	0.407	0.439	0.224	Bowman Birk trypsin inhibitor
280	0.559	0.553	0.168	0.132	0.542	0.605	0.499	0.437	0.199	NA
2122	0.292	0.166	0.248	0.156	0.672	0.749	0.749	0.433	0.277	PSII 10kD
1556	0.719	0.641	0.228	0.101	0.416	0.457	0.463	0.432	0.216	Unknown
2802	0.636	0.511	0.271	0.037	0.604	0.709	0.25	0.431	0.248	Unknown
1275	0.608	0.578	0.165	0.139	0.647	0.664	0.199	0.429	0.246	GTPase
379	0.47	0.432	0.13	0.105	0.715	0.745	0.398	0.428	0.251	zinc-finger protein
1114			0.259	0.202	0.73	0.77	0.174	0.427	0.297	Unknown
351	0.483	0.463	0.203	0.157	0.578	0.672	0.424	0.426	0.187	zinc finger
1093	0.789	0.641	0.253	0.221			0.213	0.423	0.272	zinc finger and C2 domain
2632	0.437	0.323			0.42	0.505	0.415	0.420	0.065	NA
295	0.476	0.472	0.115	0.097	0.639	0.643	0.487	0.418	0.226	ATP/ADP translocator
2255	0.521	0.431	0.314	0.198	0.491	0.593	0.366	0.416	0.135	Stem rust resistance protein
1373	0.651	0.638	0.179	0.165	0.476	0.509	0.269	0.412	0.207	major facilitator superfamily antiporter
1052	0.543	0.476	0.211	0.122	0.565	0.645	0.259	0.403	0.203	26S proteasome regulatory subunit1
1829	0.503	0.421	0.236	0.145	0.625	0.701	0.189	0.403	0.219	ADP-ribosylation factor
561	0.645	0.579	0.133	0.131	0.537	0.566	0.21	0.400	0.230	2-oxoglutarate dehydrogenase E2
1430	0.559	0.506	0.326	0.233	0.387	0.398	0.389	0.400	0.108	cationic amino acid transporter

표 4. 도열병균의 공격에 대하여 발현이 감소된 유전자들

No	Exp 1	Exp 2	Exp 3	Exp 4	Exp 5	Exp 6	Exp 7	Mean	SD	Putative function
2248	-0.042	-0.213			-0.245	-0.174	-0.446	-0.224	0.146	chlorophyll a/b binding
1867			-0.041	-0.134	-0.526	-0.472	-0.452	-0.325	0.221	Glycine cleavage H
2919			-0.301	-0.526	-0.297	-0.093	-0.454	-0.334	0.167	Ferredoxin I
999			-0.269	-0.32			-0.458	-0.349	0.098	NA
480	-0.488	-0.604	-0.442	-0.493	-0.16	-0.045	-0.509	-0.392	0.206	Ferredoxin I
2314	-0.505	-0.546	-0.084	-0.263	-0.544	-0.45	-0.431	-0.403	0.171	chlorophyll a/b-binding
2442	-0.455	-0.471			-0.487	-0.402	-0.224	-0.408	0.108	chlorophyll a/b-binding
1713	-0.594	-0.599			-0.302	-0.149	-0.452	-0.419	0.194	hydroxypyruvate reductase
1852			-0.477	-0.647	-0.264	-0.247	-0.498	-0.427	0.169	Glutamine synthetase
2974	-0.481	-0.503	-0.31	-0.43			-0.447	-0.434	0.075	chlorophyll a/b-binding
2664			-0.306	-0.482	-0.547	-0.404	-0.496	-0.447	0.094	Phosphoribulokinase
1951	-0.566	-0.644	-0.261	-0.35	-0.477	-0.382	-0.499	-0.454	0.132	chlorophyll a/b-binding
116			-0.324	-0.397	-0.544	-0.52	-0.534	-0.464	0.098	chlorophyll a/b-binding
536	-0.455	-0.549	-0.336	-0.639			-0.434	-0.483	0.116	Photosystem II 10 kDa
442	-0.532	-0.627	-0.501	-0.533	-0.471	-0.418	-0.44	-0.503	0.070	Unknown
1136	-0.436	-0.626	-0.588	-0.638	-0.431	-0.396	-0.433	-0.507	0.105	Unknown
1670	-0.607	-0.723	-0.337	-0.532	-0.451	-0.436	-0.543	-0.518	0.126	chlorophyll a/b-binding
1348	-0.692	-0.745	-0.397	-0.43	-0.518	-0.419	-0.429	-0.519	0.143	Unknown
1365	-0.513	-0.626	-0.403	-0.434	-0.502	-0.457	-0.705	-0.520	0.109	chlorophyll a/b-binding
33	-0.686	-0.709	-0.48	-0.494	-0.513	-0.513	-0.457	-0.550	0.103	Unknown
592	-0.69	-0.696	-0.456	-0.565			-0.396	-0.561	0.135	glyoxalase II
1209	-0.504	-0.61			-0.67	-0.647	-0.431	-0.572	0.101	RuBisCO small subunit
985	-0.69	-0.795	-0.554	-0.588	-0.585	-0.525	-0.45	-0.598	0.113	Phytoene synthase
554	-0.682	-0.687	-0.608	-0.614	-0.592	-0.52	-0.537	-0.606	0.064	chlorophyll a/b binding
608	-0.656	-0.738	-0.572	-0.684			-0.43	-0.616	0.120	RuBisCO small subunit
523	-0.765	-0.789			-0.746	-0.65	-0.42	-0.674	0.151	RuBisCO small subunit
1784	-0.717	-0.828			-0.913	-0.837	-0.49	-0.757	0.165	RuBisCO small subunit
2554	-1.032	-1.067			-0.932	-0.825	-0.516	-0.874	0.221	RuBisCO small subunit

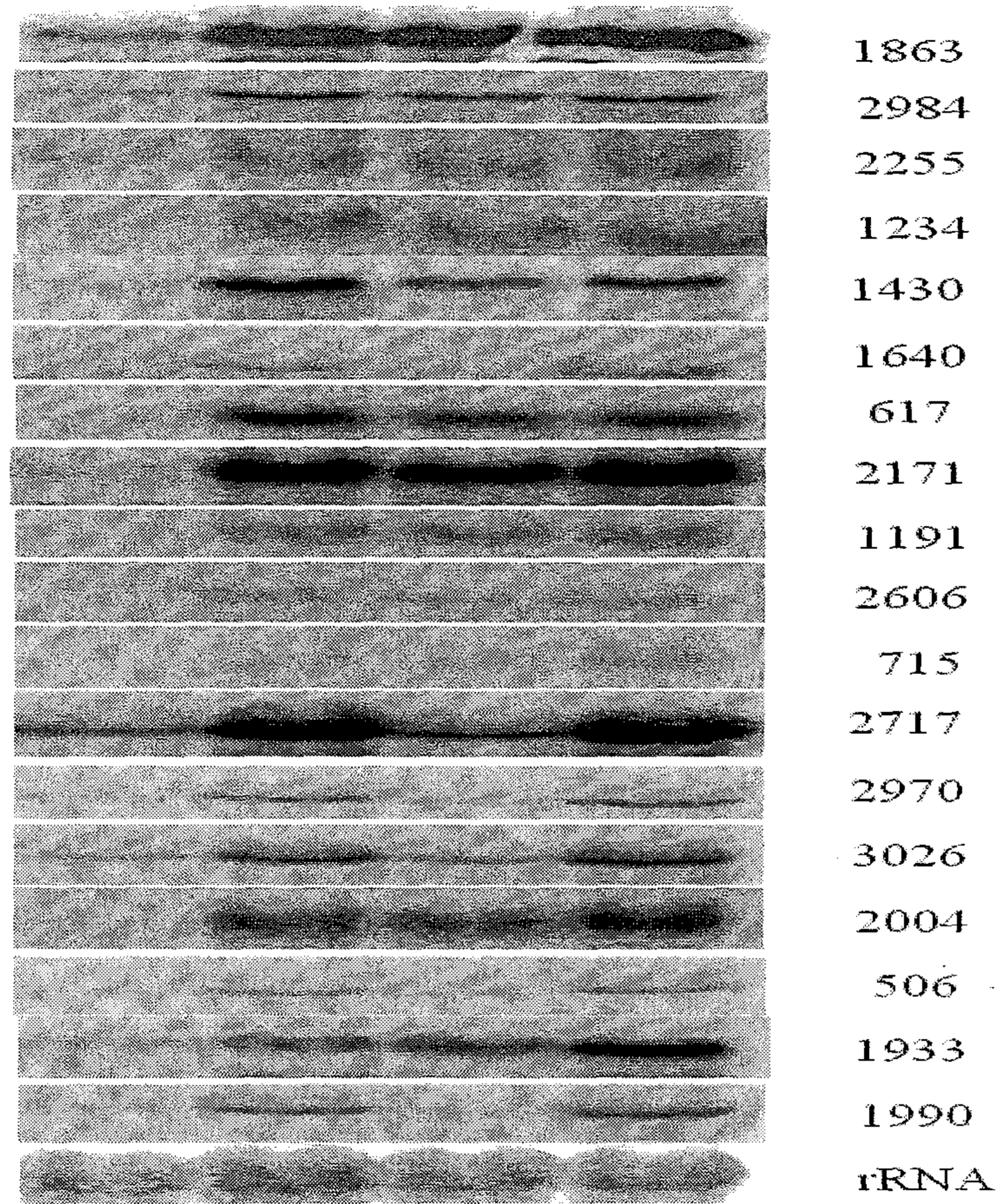


그림 5. 18개 병 방어후보 유전자의 RNA gel-blot 분석. 왼쪽부터 0, 24h, 48h, 5d 후의 RNA 시료를 10 ug씩 사용하여 분석하였음

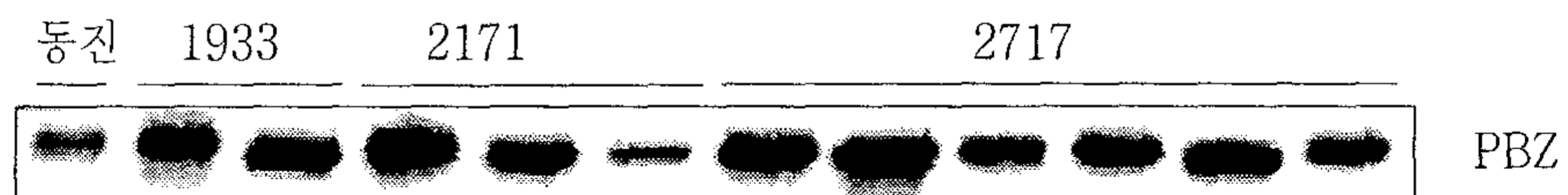


그림 6. 병 방어후보 유전자 형질전환체의 RNA gel-blot 분석. 탐침으로는 PBZ1이 사용되었음.

3. 결론

가. 모로베레칸과 일품벼 여교배 계통집단 중 저항성군과 이병성군을 이용한 SSR marker 분석을 통하여 4번 염색체의 도열병 저항성 지역과 연관성이 있는 분자표지를 동정하였다. 분석결과, 최종적으로 도열병 저항성과 연관된 4개의 SSR marker (RM567, RM3367, RM3524, RM5749)를 확인하였다. 이들 분자표지들은 육종연구에서 도열병 저항성계통을 선발하는데 이용할 수 있을 것이다.

나. 광범위 도열병 저항성 품종인 모로베레칸을 이용하여 DEG gene fishing system으로 도열병 방어 유전자로 기대되는 비타민 합성과 관련된 VTC2, serine/threonine-protein kinase receptor precursor, Mitogen-activated protein kinase homolog (MAPK) 유전자는 모로베레칸에서 *M. grisea* PO6-6 접종시에 강한 유도성 발현을 보였다. 또한 이들은 mock 처리 등과 같은 처리에도 민감하게 반응하는 것으로 나타나 각종 복합스트레스 내성에 관련될 가능성이 높은 것으로 예측된다. 특히 VTC의 경우 순종 돌연변이에 도열병균 접종실험을 통해 저항성의 차이는 없는 것으로 확인되어, 다른 복합스트레스 처리를 통하여 유전자의 특성을 규명할 수 있을 것으로 판단된다.

다. 모로베레칸에서 유래된 도열병 저항성유전자인 *Pi5*를 갖는 계통 “RIL260”을 이용하여 microarray 분석을 실시한 결과 Translation initiation factor, HSP70, RNA binding protein, LRR 등 병 방어유전자들의 발현이 증가함을 확인할 수 있었으며, RNA blot 분석을 통해 재검정을 수행하였다. 이들 중에서 특히 강한 유도성 발현을 보이는 1933 (unknown), 2171 (LRR), 2717 (translation initiation factor)을 동진벼에 형질전환하여 대표적인 병 방어유전자인 PBZ 증가를 확인할 수 있었다. 결국 microarray 분석을 통하여 발굴된 병 방어유전자가 실제로 병 방어 기작을 작동할 수 있음을 확인 할 수 있었고, 이들의 후대 계통을 이용하여 도열병균에 대한 병 반응을 최종 검정할 수 있을 것이며, 궁극적으로 도열병 저항성 증가를 확인 후 품종 개발에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절. 연차별 연구 개발 목표 및 내용

1. 1차년도(2004 - 2005)

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위	연구 개발 결과
주관기관	○ 일품벼 x 모로베레칸 조합 고세대 여교잡 계통 육성, 유전자형 검정 및 유전자지도 작성	1. 양친의 DNA 다형성 검정 ○ 표지인자: 400 개 이상 2. 염색체 이입계통 유전자형 검정 ○ 염색체 이입계통의 유전자형 결정 ○ 전 염색체를 대표하는 표지인자 선발 3. 유전자지도 작성 및 계통 선정 ○ 유전자지도 작성 (기존의 정보 이용) ○ 대표적인 염색체 이입계통 선정	1. 다형성 표지인자 및 방어 관련 유전자의 연관 정보 2. 염색체 이입계통의 유전자형 정보 3. 일품벼의 배경에 모로베레칸의 염색체 단편이 이입된 이입 계통 육성
제1협동	○ 일품벼 X 모로베레칸 조합 유래 고세대 여교잡 계통 (BC3)의 균주별 저항성 증진 계통 선발 및 농업적 특성 평가	1. 도열병 내구저항성 검정 ○ 균주: 일품벼에 친화적인 5-6개 대표 균주 ○ 시험품종: 양친 및 염색체단편 이입 계통 100 -150 여개 계통 ○ 시험방법: 각 균주별 접종 및 혼합접종 - 포자농도: $X10^5/ml$ - 시험품종 육묘: 3-4엽기로 육묘 ○ 조사내용: 양친 및 계통의 병 발생 정도, 접종균주별 계통별 병반면적(%) 조사 2) 염색체 이입계통 특성 검정 - 시험품종: 고세대 약 300 여 계통 - 조사내용: 출수기, 간장 등	1. 도열병 내구저항성 고세대 여교배 계통 선정 (50 여 계통) 2. 고세대 계통 중 일품벼 근동질 유전자계통 선정 (50 여 계통)
제2협동	○ DNA chip 활용 도열병방어 관련 유전자군 분리	1. 도열병 방어 관련 후보 유전자군 분리 - 내구저항성 유전자 <i>P5</i> 에 비친화적인 PO6-6를 접종함. 24시간 후 앞에서 분리된 RNA를 DNA chip 실험에 사용 - 현재 3K cDNA chip을 이용 도열병 유도성 발현을 보이는 182개의 후보 유전자를 확보하고 있음 - 방어 후보유전자의 염색체 위치 확인 2. RNA gel-blot 분석 이용 병 방어 유전자의 확인 - RNA gel-blot 분석을 통해 유도성 발현을 보이는 5개 선정 및 재료로 활용	1. 병 방어 관련 유전자의 분리, 특성 규명 및 특허 2. 병 방어 유전자의 연관 및 발현 정보

2. 2차년도 (2005 - 2006)

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위	연구 개발 결과
주관기관	<ul style="list-style-type: none"> ○ 고세대 여교잡 계통 유전자형 검정, 유전자지도 작성 및 내구 저항성 유전자 고밀도지도 작성 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 염색체 이입계통 유전자형 검정(계속) <ul style="list-style-type: none"> ○ 염색체 이입계통의 유전자형 결정 <ul style="list-style-type: none"> - 다형성 표지인자좌에서 250개 계통 ○ 전 염색체를 대표하는 표지인자 선발 2. 유전자지도 작성 및 계통 선정 <ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자지도 작성 및 염색체 이입계통 선정 및 추가 여교배 실시 3. 내구저항성 유전자 연관 정보 확인 및 고밀도 유전자지도 작성 <ul style="list-style-type: none"> - 내구저항성 유전자 탐색 및 고밀도 유전자지도 작성 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 염색체 이입계통의 유전자형 정보 2. 일품벼의 배경에 모로베레칸의 염색체 단편이 이입된 이입 계통 육성 3. 내구저항성 유전자 연관 정보 및 고밀도 유전자지도 작성
제 1 협동	<ul style="list-style-type: none"> ○ 일품벼 X 모로베레칸 조합 유래 고세대 품종의 포장도열병 저항성 검정 (밭못자리, 잎도열병, 이삭도열병) 및 농업적 특성 검정 	<ol style="list-style-type: none"> 1) 도열병 내구저항성 검정 <ul style="list-style-type: none"> ○ 균주: 일품벼에 친화성이 높은 균주 ○ 품종: 1년차에서 선정된 계통 ○ 시험방법: (밭못자리 및 포장검정) <ul style="list-style-type: none"> 가. 밭못자리 검정(과종시가 6월 하순-7월 상순, 경기 1, 충남, 충북 각 1 지역, 7월 하순-8월초 조사) <ul style="list-style-type: none"> - 조사내용: 병발생정도 및 병반면적율 등 나. 포장검정(검정지역: 일품벼 재배지역, 경기 1, 충남 1, 충북 각 1 지역) <ul style="list-style-type: none"> - 잎도열병 병반면적율: 발병최성기 - 이삭도열병 이병수율: 출수 30~35일경 - 모본보다 저항성이 증진된 계통 선발 2) 농업적 특성 검정 <ul style="list-style-type: none"> - 품종: 시험 1과 동일 - 조사형질: 출수기, 미질 특성 등 - 수량 등 특성별 초월변이 개체 확인 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 1년차에서 선정된 이입계통의 지역별 군 population에 따른 저항성 검정 및 계통 선정 2. 1년차에서 선정된 계통의 정밀 평가를 통해 일품벼 근동질 계통 육성 <ul style="list-style-type: none"> - 반복친인 일품벼와의 특성 비교를 통해 형질별 초월변이 개체 확인 및 유전적 원인 규명
제 2 협동 (경희대)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 도열병 내구 저항성 계통 육성 및 분석을 위한 분자표지 개발 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 방어관련 후보 유전자군 염기서열 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 확보된 182개의 후보유전자의 염기서열 분석 및 PCR 마커 개발 - 후보유전자의 염색체 위치 확인 (일품벼 x 모로베레칸 조합 이용) - 기 분리된 저항성 유전자 이용 마커 개발 2. 병 방어 유전자의 특성 규명 <ul style="list-style-type: none"> - 유도성 발현을 보이는 5개 유전자의 내구저항성 유전자와의 관계 분석 - 유전자 과다발현 형질전환체 육성 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 병 방어 관련 유전자의 특성규명 및 내구저항성과의 관계 분석 2. 병 방어 유전자의 특성 규명 및 형질전환체 개발

3. 3차년도 (2006 - 2007)

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위	연구 개발 결과
주관기관	○ 고세대 여교잡 계통 이용 내구 저항성유전자 고밀도지도 작성 및 저항성계통 육성	1. 유전자지도 작성 및 저항성 계통 선정 - 유전자지도 이용 염색체 이입계통 선정 - 선정된 계통에 여교배 실시, 이입계통 육성 - 저항성 근동질 계통 육성 2. 내구저항성 유전자 연관 정보 확인 및 고밀도 유전자지도 작성 - 내구저항성 유전자 고밀도 유전자지도 작성 - 자포니카 염기서열 정보 이용 마커 개발	1. 일품벼의 배경에 모로베레칸의 염색체 단편 이입 계통 육성 2. 내구저항성 유전자 연관 정보 및 고밀도 유전자지도 작성 3. 내구저항성 계통 육성 4. 농업적 특성에 대한 QTL 분석 및 분자표지 개발
제1협동	○ 고세대 품종의 도열병 연계 재배에 의한 내구저항성 등급 선정 및 농업적 특성 검정 (미질 특성)	1) 도열병 내구저항성 검정 ○ 균주: 일품벼에 친화성이 높은 균주 ○ 품종: 저항성 증진 계통 (약 30계통) ○ 시험방법: (연계재배 방법) 가. 검정시기: 5월 하순 - 10월 상순 나. 연계재배법: 각 품종별 1회-7회까지 2주 간격으로 파종(온실검정) -1회차 파종구: 일품벼에 친화성이 높은 균주 접종(전염원) -2~7회차 파종구; 전회차로부터 자연 감염, 인접차상 다. 조사일: 감염시작 후 10일, 14일 ○ 조사내용: 가. 발병조사: 병반면적을 등 조사 나. 내구성정도 2) 벼 품질 특성 검정 - 품종: 이입계통 50 여 계통 - 특성검정: 미질특성 및 도정특성 검정	1. 연계재배법에 의한 품종별 피해도 신출로 내구성 품종을 구분 2. 방어관련 유전자 보유 품종별 균주별, 포장 검정 3. 근동질 계통의 미질 특성 검정, 우수 계통 중간모본 및 생산력 검정 4. 반복친인 일품벼와의 특성 비교를 통해 형질별 초월변이 개체 확인
제2협동	○ 도열병 내구 저항성 계통 육성 및 분석을 위한 분자표지 개발	1. 방어관련 후보 유전자 이용 마커 개발 - 후보유전자의 염색체 위치 확인 (일품벼 x 모로베레칸 조합 이용) - 기 분리된 저항성 유전자 이용 마커 개발 2. 병 방어 유전자의 특성 규명 - 유도성 발현을 보이는 5개 유전자의 내구 저항성 유전자와의 관계 분석 - 유전자 과다발현 형질전환체 육성 - 형질전환 벼에서 도열병 방어 유전자의 기능 분석 - 형질전환 벼 종자 증식	1. 병 방어 관련 유전자의 특성규명 및 내구 저항성과의 관계 분석 2. 병 방어 유전자의 특성 규명 및 형질전환체 T1 종자 확보

제 2절. 연구기관의 착안점

구분	연도	세부연구목표	가중치	평가의 착안점 및 기준
1차 연도	2004	o고세대 여교배 계통 육성 및 모본 다양성 검정	20 %	고세대여교배계통 육성 여부
		o고세대 여교배계통 유전자형 검정 및 평가	15 %	유전자형 검정 및 특성평가 여부
		o고세대 여교배계통의 도열병 균주 저항성검정	20 %	고세대 여교배계통의 국내 도열병 균주 저항성검정 및 저항성 증진 계통 선정
		o고세대 여교배계통의 농업적 형질 평가	15 %	미질, 출수기 등
		o도열병 방어 후보 유전자군 분리(RIL260)	15 %	DNA chip 분석 이용 도열병 방어 유전자 후보 유전자군의 분리 (100건 이상)
		o도열병 방어 후보 유전자군의 발현 분석	15 %	RNA 분석 이용 도열병 방어관련 유전자의 확인 (5건 이상)
2차 연도	2005	o고세대 여교배계통 유전자형 검정 및 평가	20 %	고세대여교배계통 육성 여부
		o유전자지도 작성 및 이입계통 선정	10 %	이입계통 선정 여부
		o내구저항성 유전자 연관 정보 확인 및 고밀도 유전자지도 작성	10 %	저항성유전자 작성 여부
		o고세대 여교배계통의 도열병 포장 저항성 검정	20 %	온실검정, 밭못자리검(3지역), 잎 및 이삭도열병검정(3지역)
		o농업적 형질 평가	10 %	쌀 품위 등 주요 농업적 특성
		o도열병 방어관련 후보 유전자군 염기서열 분석 (Moroberekan)	15 %	도열병 방어 관련 유전자의 분자표지 개발 (10건 이상)
		o병 방어 유전자의 특성 규명	15 %	도열병 방어유전자의 형질전환 벼 생산 (5종 이상)

구분	연도	세부연구목표	가중치	평가의 착안점 및 기준
3차 연도	2006	o유전자지도 작성 및 저항성 계통 선정	15 %	117계통 중에서 27계통 선발 병 저항성 검정
		o내구저항성 유전자 연관 정보 확인 및 고밀도 유전자지도 작성	15 %	내구저항성 검정 및 유전자 고밀도지도 작성
		o염색체단편 이입계통 육성	15 %	117개 계통 육성
		o연계재배에 의한 고세대 품종의 내구저항성 검정	20 %	27계통 연계재배 검정
		o병저항성과 미질 특성이 인정된 계통의 품종 등록	10 %	7개 계통 품종등록 예비시험 실시
		o도열병 저항성 분자 표지 및 방어 유전자 응용	25 %	도열병 저항성이 증가된 T1 형질 전환 벼 확보 (1종 이상)
최종 평가	2007	o염색체 단편 이입 계통 육성 (50여 계통)	15 %	117개 계통 육성
		o고세대 여교배 계통 내구저항성 검정 및 특성 검정	20 %	117계통 특성 검정, 이중 27계통은 내구저항성 검정 실시
		o저항성 후보 유전자 분리, mapping 및 특성 검정	15 %	저항성유전자 고밀도 지도 작성 및 분리
		o방어 유전자 특허 및 논문 발표	15 %	논문 발표 및 특허 준비
		o안정지속 저항성인 내구저항성 품종 확보	20 %	7계통 품종등록 예비시험 실시
		o도열병 방어 유전자의 분리	15 %	도열병 방어 유전자의 확보

제 3절. 연구 개발 목표의 달성도

1. 고세대 여교잡계통 육성 및 도열병 내구저항성 벼품종 개발(충남대)

도열병 내구저항성 관련 유전자를 탐색하고 양질미 품종의 도열병 저항성을 증진시키기 위하여 양질미인 일품벼와 한국의 모든 균주에 안정적인 저항성을 보인 모로베레칸을 교배시켜 고세대 여교잡 계통을 육성하였다. 양친과 선정된 117개의 BC3F5계통들을 충남대학교와 수원작물과학원 포장에 공시하여 농업형질을 조사하였고 수원, 대전, 화성, 이천, 제천 등 5곳에서 밭못자리 검정을 실시하여 도열병 저항성을 조사하였다. 선정된 계통들은 SSR마커를 이용하여 유전자지도를 작성하였고, QTL분석을 실시하였다. 분석결과 4번 염색체에서 도열병 저항성을 증진시키는 QTL이 탐색되었으며 농업형질 관련 유전자와 미질 관련 유전자들도 탐지 되었다. 이중 27계통을 선발하여 내구저항성검정을 실시한 결과 일품벼와 농업적 특성이 나 품질이 비슷하지만 도열병 저항성이 증진된 계통들도 선발 되었다. 선발된 계통들은 고세대 여교잡 육성 계통을 이용한 내구저항성 유전자 탐색에 이용할수 있으며 내구저항성 관련 유전자의 탐색 및 특성 규명으로 저항성 품종 육성에 전환점으로 될 것이며 또한 염색체 단편 이입계통을 이용한 도열병 내구저항성 유전자 및 기타 양적형질 유전자를 육종적으로의 이용이 가능하며 벼 염기서열을 이용한 유용유전자의 기능 탐색 연구가 활발하게 진행될 것이며 이 과제에서 개발될 이입계통이 유전자의 기능 연구에 중요한 역할을 담당할 것이다.

2. 도열병 저항성검정 및 농업적 특성 평가 (작과원)

유묘접종 검정, 밭못자리 검정, 포장검정 및 연계재배법을 이용한 내구저항성 검정을 100% 완료하였다. 저항성원으로 이용된 모로베레칸의 저항성 단편이 일품벼에 이입되어 저항성이 증진된 계통들을 선정하여, 각 계통들의 도열병에 대한 저항성 특성 기초 자료를 확보하였다. 포장 재배시험을 통하여 계통들의 출수기, 간장, 수장, 수수, 수당립수, 천립중, 수량등의 작물학적 생육특성에 관한 조사를 완료하였으며, 이들 계통들의 도정율, 외관특성, 이화학적 특성 및 식미평가 등을 통해 쌀 품질 특성 평가 및 밥맛 평가를 100% 완료하였다.

도열병 저항성검정을 통해 도열병 저항성원으로 이용된 모로베레칸의 도열병 저항성원으로 이용 가치를 재차 확인하였으며, 아시아 벼 연구 심포지움 및 육종학회 등에 연구 결과 발표를 통해 도열병 저항성 및 저항성 육종에 관심을 가지고 있는 연구자들에게 유용한 정보를 제공하였다. 또한 쌀 품질 및 밥맛이 우수하지만 도열병

에 대해 취약하였던 일품벼의 단점을 보완할 수 있는 고세대 여교배계통들이 선발되어 실용화 가능성을 보여줌으로써 국내 벼 육종가들이 이들 재료들을 유용하게 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

3. 도열병 저항성 유전자 분리 및 분자표지확립 (경희대)

교배 집단을 이용하여 모로베레칸의 도열병 저항성과 연관된 분자표지 개발하였다. 또한 DEG gene fishing system과 microarray를 이용하여 병 저항성에 관여하는 유전자를 분리하였으며, 유전자 삽입방법을 통해 형질전환체를 생산 중에 있다. 이들 유전자가 도입된 형질전환체는 유전자의 기능 분석 및 신품종 개발의 교배모본으로 이용할 수 있을 것이다.

제 5 장 연구 개발 결과의 활용 계획

제 1절. 연구결과의 활용화 방안

1. 기술적 측면

- 도열병 저항성 검정은 유전자 간의 상호작용 및 환경에 의해 변이가 심하기 때문에 DNA 표지인자를 이용함으로써 계통 선발의 효율성을 제고할 수 있다.
- 주동 저항성유전자보다는 미동유전자 및 방어관련 유전자가 내구저항성과 관련된 내구저항성 유전자를 탐색하는데 기초자료로 활용할 수 있다.
- 목표 형질별 근동질 유전자계통의 육성하여 밝혀진 벼 염기서열 정보를 활용하는 벼 기능체 유전연구를 위해 재료를 제공하여 준다.

2. 경제·산업적 측면

- 벼의 draft 게놈 염기서열을 이용하여 유용유전자의 기능 규명 연구를 진행하고 있는데 특히 6만개 정도로 추정되는 벼 유전자 집단으로부터 병저항성 관련 유전자를 발굴 선점하는데 기여할 수 있다.
- 농약 사용 회수 및 사용량을 줄이면 인건비 및 농약비가 절감될 수 있으므로 쌀 개방에 따른 생산비를 낮추어야 하는 현실에 대응할 대책을 마련할 수 있다

3. 사회·문화적 측면

- 도열병 내구성 품종을 육성함으로써 병 방제에 투입될 수 있는 인력과 시간을 다른 여가 활동에 투자하도록 할수 있을 수 있으며 방제 약제 사용을 줄여 환경 오염 및 농산물 안전 생산에 기여 할 수 있다.

제 2절. 추가연구의 필요성 및 타 연구에의 응용

- 본 과제는 도열병 저항성 근동질계통 및 우수 품종을 육성하기 위해 수행되었다. 품종 육성을 위해서는 최소한 5년 이상의 연구기간이 필요하나 이 과제가 3년으로 계획되어 있기 때문에 품종육성 단계까지 이르지 못했다. 그러나, 과제 3년차에 5개의 우수 계통에 대한 품종등록 예비시험을 했고, 1-2년 더 생산력 검정을 수행한 후에 품종출원을 할 예정이기 때문에 품종 육성을 위한 추가적인 지원이 필요하다. 육성된 재료들은 개발자와의 협의 하에 타 연구에 이용될 수 있을 것이다.

제 6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

제 1절. 도열병 저항성유전자 분석 및 유전자 분리

- o 도열병 저항성 유전은 다른 형질들의 유전보다 상대적으로 단순한 것으로 밝혀졌으나, 실제 포장에 존재하는 수많은 레이스와 이들 레이스의 변이성이 하나 또는 2-3개의 주동 저항성 유전자 (major resistant gene)를 가지는 벼 품종의 저항성 안정 지속기간을 단축시키는 요인으로 작용하고 있다 (Zeigler *et al.* 1997). 도열병 저항성을 안정적으로 지속시키기 위한 대안으로 내구저항성 벼 품종 (durable blast resistant variety)의 육성, 주동 저항성 유전자의 집적 (gene pyramiding) (Correa & Tharreau 2002, Hittalmani *et al.* 2000, Zeigler *et al.* 1995)과 다계품종 (multilines)의 육성이 제안되었고, 실제 다계품종을 육성하여 도열병 발병율을 줄이는 효과를 가져왔다 (Choi *et al.* 2000a,b, Koizumi *et al.* 2004).
- o 최근 연구자들은 광범위한 균계에 대해 지속적인 저항성을 보이는 내구저항성 (durable resistance)과 관련된 유전자 분석을 위해 많은 노력을 기울이고 있다 (Chen *et al.* 2000, Jeon *et al.* 2003, Jeong *et al.* 2007, Liu *et al.* 2002, Qu *et al.* 2006, Ramalingam *et al.* 2003, Wang *et al.* 1994). 또한 *Pita*, *Piz*, *Pi5*, *Pi7(t)*, *Pi9* 및 *Pi44(t)* 등의 도열병 저항성유전자들과 연관된 분자표지를 이용하여 저항성계통을 선발하는 MAS (marker assisted selection) 방법이 육종에 이용되고 있다 (Campbell *et al.* 2004, Chen *et al.* 1999, Jia *et al.* 2002, 2004a, Hayashi *et al.* 2004, 2006, Liu *et al.* 2002, Yi *et al.* 2004).
- o 도열병 저항성에 관여하는 putative quantitative trait loci (QTL)의 정확한 염색체상 위치 확인과 유전자 기능 분석을 위하여 ‘식물방어기작유전자’ (plant defense gene)의 광범위한 database를 genome mapping에 활용한 ‘candidate gene approach’에 의한 QTL 분석이 이루어지고 있다 (Chen *et al.* 1998, Liu *et al.* 2004, Ramalingam *et al.* 2003). 목도열병에 관련된 저항성 유전자/QTLs 분석은 몇몇 연구자에 의해 수행되었으며 (Ramalingam *et al.* 2003, Sirithunya *et al.* 2002, Zhuang *et al.* 2002), Fujii *et al.* (2000)은 11번 염색체상에 목도열병 관련 주동 저항성 유전자 *Pbl*을 보고하였다.
- o 소수의 주동유전자 (major resistant gene)를 이용하여 육성된 도열병 저항성품종들이 육성 후 1~3년 내에 저항성이 붕괴되는 현상을 최소화하기 위하여 일본에서는 서로 다른 저항성유전자를 보유한 근동질 계통을 육성하여 서로 다른 유전자를 조

합한 다계품종을 이용하고 있으며 (Ishizaki *et al.* 2005, Koizumi *et al.* 2004), 국내에서도 동일한 방법을 이용하여 새추청벼, 안성벼를 육성하였다.

- o 벼 genome sequence를 활용한 목표유전자와 초밀집 분자표지 개발로 저항성 품종 육성을 위한 MAS 체계 확립이 활발히 진행되고 있다. *Pik-h*의 fine mapping (Sharma *et al.* 2005), *Pita* 및 *Pita-2* 유전자 확인에 유용한 PCR SNLP 마커 개발 (Jia *et al.* 2004a), *Pi9*, *Pi2*, *Piz* 및 *Piz-t* 등을 분석하기 위한 마커의 개발이 진행되고 있다 (Qu *et al.* 2006, Zhuo *et al.* 2006).

제 2절. 양적형질 유전자 분석 및 분리

- o 토마토, 벼, 애기장대 등의 식물에서 양적형질에 관여하는 QTL의 효율적인 분리가 성공적으로 보고되고 있는데, 주요 형질은 출수기, 수량성 등에 관련된 형질이다 (Yano 2001). 벼는 전체 염기서열의 해독 등으로 인해 QTL의 분리가 용이해졌는데, 분리된 대부분의 QTLs은 출수기에 관여하는 유전자들 *Hd1*, *Hd3a*, *Hd6* 그리고 *Ehd1*이다 (Yano *et al.* 2000, Takahashi *et al.* 2001, Kojima *et al.* 2002). 이들 유전자들은 애기장대의 개화 관련 유전자들의 orthologs들인데 *Hd1*은 CONSTANS (CO), *Hd3a*는 flowering locus T (FT) 그리고 *Hd6*는 casein kinase 2 (CK2)의 alpha subunit로 보고하고 있다. 그러나 *Ehd1*은 애기장대에서 알려지지 않은 B-형 반응 조절유전자로 밝혀졌다.
- o 최근 벼에서 농업적으로 중요한 형질에 관여하는 유전자/QTL들이 분리되었는데, 이들 QTL들은 수당립수 (*Gn1a*), 종자크기 (*GS3*), 내염성 (*SKC1*), 재분화율 (*PSR1*), 탈립성 (*Sh4*, *qSH1*), 종자폭 (*GW2*) 등이다 (Ashikari *et al.* 2006, Fan *et al.* 2006, Ren *et al.* 2005, Nishimura *et al.* 2005, Li *et al.* 2006, Konishi *et al.* 2006, Song *et al.* 2007). 수당립수를 조절하는 QTL *Gn1a*는 파이토크롬 cytokinin을 분해하는 cytokinin oxidase/dehydrogenase (*OsCKX2*)를 합성하는 유전자이다. *OsCKX2*의 발현 감소는 inflorescence meristem에서 cytokinin의 축적을 유도하고 이는 수당립수의 증가로 이어져서 수량성이 증대하게 된다. 종자크기 관여 QTL *GS3*는 그 기능이 밝혀지지 않았으나, *GS3*에 돌연변이가 발생하면 종자의 크기가 증가하는 것으로 볼 때, negative regulator로 추측된다. 내염성 QTL인 *SKC1*은 염조건 하에서 K^+/Na^+ homeostasis의 조절에 관여하는 sodium transporter를 합성한다. 신초 재분화 촉진 QTL인 *PSR1*은 nitrite의 환원을 촉매하는 ferredoxin-nitrite reductase (*NiR*)를 합성한다. 자포니카인 고시히끼리를 캘루스에서 재분화시키는 것이 매우 어렵기 때문에 형질전환체를 생산하는 것이 힘든 실정인데 이는 고시히끼리에서 *NiR* 발현이 억제되어 캘루스에 독성인 ferredoxin nitrite가 축적되기 때문이다. 탈립성 유전

자 Sh4는 그 기능이 밝혀지지지는 않았지만 이 유전자에 돌연변이가 발생하면 탈립에 필요한 이층(abscission layer)의 정상적인 발전이 저해한다. 또 다른 탈립성 유전자인 qSH1에서의 SNP는 12kb downstream에 위치하는 Bell-type homeobox 단백질 합성에 관여하는 유전자를 조절하는데, SNP에 의해 abscission layer에서의 단백질의 합성이 저해되면 자포니카 벼의 탈립을 저해하는 것으로 밝혀졌다. 분리된 유전자들은 육종연구에 직접적으로 이용될 뿐아니라 벼의 진화 기작을 이해하는데 기여할 수 있을 것이다.

- o 최근 벼 등 작물에서 유전자/QTL 분석을 통해 재배종의 형질을 개선시키는 유용 QTL 유전자를 탐색하는 연구가 수행되고 있다. 이렇게 탐색된 QTLs들은 MAS (marker aided selection)를 이용, 품종에 집적 (gene/QTL pyramiding) 함으로써 맞춤 작물의 육성에 이용될 수 있고 또한 QTL 변이에 관여하는 분자유전학적 기작의 연구에 이용될 수 있다 (Tian *et al.* 2006, Jena *et al.* 2006, Ashikari *et al.* 2006).
- o DNA 표지인자를 이용 벼, 콩, 목화 등의 여러 작물에서, 재배종의 양적형질을 개선시킬 수 있는 야생종 새로운 allele을 탐색하고 이를 재배종에 선택적으로 이전시키기 위한 연구를 수행하고 있다 (몬산토, 미국 USDA 등).
- o 일본의 Genome project에서도 QTL의 분리 및 세밀한 유전 분석을 위해 염색체 단편 치환계통을 육성하고 있는데 수여친으로 주로 *O. glaberrima*, *O. rufipogon* 등 야생벼가 이용되고 있으며, 아종간 조합을 이용한 계통도 육성 하고 있다 (Kubo 등 2002, Yano 등 2000).
- o 고세대 여교잡 육성계통 (BC3F3)에 대하여 내구성관련 유전자 (Oxalate oxidase, PR-1 등)가 실제로 병 저항성과 관련이 있다는 것이 증명되었으며 (03, IRRI), 국내에서 고세대 여교잡육성 계통을 이용하여 병저항성 유전분석을 시도한 연구 결과는 지금까지 없었으며, 또한 염색체 단편 이입계통을 이용한 도열병 내구저항성 유전자 탐색 연구는 지금까지 없는 실정이다.

제 7 장 참고문헌

- Ahn SN, Kim YK, Hong HC, Han SS, Choi HC, McCouch SR, Moon HP (1997) Mapping of genes conferring resistance to Korean isolates of rice blast fungus using DNA markers. *Korean J Breed* 29: 416-423
- Ahn SN, Kim YK, Hong HC, Han SS, Kwon SJ, Choi HC, Moon HP, McCouch SR (2000) Molecular mapping of a new gene for resistance to rice blast (*Pyricularia grisea* Sacc.). *Euphytica* 116: 17-22
- Ashikari, M, Sakakibara H, Lin S, Yamamoto T, Takashi T, Nishimura A, Angeles E, Qian Q, Kitano H, and Matsuoka M (2005) Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science* 309: 741-745
- Barman SR, Gowda M, Venu RC, Chattoo BB (2004) Identification of a major blast resistance gene in the rice cultivar 'Tetep'. *Plant Breeding* 123: 300-302
- Berruyer R, Adreit H, Milazzo J, Gaillard S, Berger A, Dioh W, Lebrun MH, Tharreau D (2003) Identification and fine mapping of *Pi33*, the rice resistance gene corresponding to the *Magnaporthe grisea* avirulence gene *ACE1*. *Theor Appl Genet* 107: 1139-1147
- Bonman JM and Mackill DJ (1988) Durable resistance to rice blast. *Oryza* 25, 103-110
- Campbell MA, Chen D, Ronald PC (2004) Development of co-dominant amplified polymorphic sequence markers in rice that flank the *Magnaporthe grisea* resistance gene *Pi7(t)* in recombinant inbred line 29. *Phytopathology* 94: 302-307
- Causse MA, Fulton TM, Cho YG, Ahn SN, Chunwongse J, Wu KS, Xiao JH, Yu ZH, Ronald PC, Harrington SE, Second G, McCouch SR, and Tanksley SD (1994) Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population. *Genetics* 138: 1251-1274
- Chen DH, dela Vina M, Inukai T, Mackill DJ, Ronald PC, Nelson RJ (1999)

- Molecular mapping of the blast resistance gene, *Pi44(t)*, in a line derived from a durably resistant rice cultivar. *Theor Appl Genet* 98: 1046-1053
- Chen DH, RJ Nelson, GL Wang, Inukai T, Mackill DJ, Ronald PC (2000) Characterization of blast resistance in the durably resistant rice cultivar Moroberekan. *In* Tharreau et al. (eds.), *Advances in Rice Blast Research*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. pp. 17-27.
- Chen S, Wang L, Que Z, Pan R, Pan Q (2005) Genetic and physical mapping of *Pi37(t)*, a new gene conferring resistance to rice blast in the famous cultivar St. No. 1. *Theor. Appl. Genet.* 111: 1563-1570
- Chen DH, Zeigler RS, Ahn SW and Nelson RJ (1996) Phenotypic characterization of the rice blast resistance gene *Pi2(t)*. *Plant Dis.* 80: 52-56
- Cho YC, Baek MK, Suh JP, Kwon SJ, Choi IS, Kim YG, Han SS, Choi HC, Hwang HG (2004b) Mapping of quantitative resistance to leaf blast in Japonica resistance rice, Suweon365. *Korean J Breed* 36: 125-132
- Cho YC, Choi IS, Baek MK, Yanoria MJT, Suh JP, Roh JH, Kim YG, Jena KK, Choi HC, Hwang HG (2004a) Analysis of resistance genes to blast (*Magnaporthe grisea*) in the Japonica rice, Ilpumbyeo. *Korean J Breed* 36: 81-89
- Cho YC, Choi IS, Han SS, Shin YS, Moon HP and Suh HS (1996) Inheritance of resistance to blast (*Pyricularia grisea* Sacc.) in Korean weedy rice (*Oryza sativa* L.). *Korean J Breed* 28(3): 309-316
- Choi HC, Kim YG, Hong HC, Hwang HG, Ahn SN, Moon HP, Han SS, Ryu JD (2000a) Deveopment of blast-resistant multilines and its blast infection and yield performance in rice. *Treatises of crop res.* 1: 9-18
- Choi HC, Kim YG, Hong HC, Moon HP, Ahn SN, Hwang HG, Song MT, Yang SJ, Kim HY, Han SS, Cho SY, Park RK, Chung MN (2000b) A new high-quality and blast-resistance multiline of rice "Saechucheongbyeo". *Treatises of Crop Res.* 1: 49-57

- Choi JE, Park JS, Park NK (1989) Resistance of varieties to rice blast in Korea, I. Japonica type of rice varieties. J. Agri Sci Chungnam Natl' Univ, Korea 16(1): 1-18
- Correa F, Tharreau D (2002) Identification of molecular markers associated with the blast resistance genes *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33* and their incorporation into commercial Rice varieties through backcrossing and marker assisted selection (MAS). In The Report of Centro International de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia, pp. 81-86
- Deng Y, Zhu X, Shen Y, He Z (2006) Genetic characterization and fine mapping of the blast resistance locus *Pigm(t)* tightly linked to *Pi2* and *Pi9* in a broad-spectrum resistant Chinese variety. Theor. Appl. Genet. 113: 705-713
- Doi et al. (2002) Ehd1, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls FT-like gene expression independently of *Hdl*. Genes Dev 19: 926-936
- Fan C, Xing YZ, Mao HL, Lu TT, Han B, Xu C, Li XH and Zhang Q (2006) *GS3*, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. Theor. Appl. Genet. DOI 10.1007/s00122-006-0218-1
- Fukuoka S, Okuno K (2001) QTL analysis and mapping of *pi21*, a recessive gene for field resistance to rice blast in Japanese upland rice. Theor Appl Genet 103: 185-190
- Gowda M, Braman SR, Chattoo BB (2006) Molecular mapping of a novel blast resistance gene *Pi38* in rice using SSLP and AFLP markers. Plant Breeding 125: 596-599
- Han SS, Ahn SW, Ryu JD, Choi HC, Leung H (2000) Molecular and pathological characterization of rice blast pathogen, *Pyricularia grisea* in Korea. Plant Path. J. 16(3):67
- Hayashi K, Hashimoto N, Daigen M, Ashikawa I (2004) Development of

- PCR-based SNP markers for rice blast resistance genes at the *Piz* locus. *Theor. Appl. Genet.* 108: 1212-1220
- Hayashi K, Yoshida H, Ashikawa I (2006) Development of PCR-based allele-specific and InDel marker sets for nine rice blast resistance genes. *Theor. Appl. Genet.* 113: 251-260
- Hittalmani S, Parco A, Mew TV, Zeigler RS, Huang N (2000) Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice. *Theor Appl Genet* 100: 1121-1128
- Ishizaki K, Hoshi T, Abe S, Sasaki Y, Kobayashi K, Kasaneyama H, Matsui T, zuma S (2005) Breeding of blast resistant isogenic lines in rice variety "Koshihikari" and evaluation of their characters. *Breeding Sci* 55: 371 - 377
- Jena et al. (2006) High-resolution mapping of a new brown planthopper (BPH) resistance gene, *Bph18(t)*, and marker-assisted selection for BPH resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 112: 288-297
- Jeon JS, Chen D, Yi GH, Wang GL, Ronald PC (2003) Genetic and physical mapping of *Pi5(t)*, a locus associated with broad-spectrum resistance to rice blast. *Mol Genet Genomics* 269: 280-289
- Jeung JU, Kim BR, Cho YC, Han SS, Moon HP, Lee YT, Jena KK (2007) Discovery of a novel gene, *Pi38* linked to the DNA markers derived from NBS-LRR motifs confers broad spectrum of blast resistance. *Proc Natl AcadSci, USA* (in press).
- Jia Y, Wang Z, Fjellstrom RG, Moldenhauer KAK, Azam Md.A, Correll J, Lee FN, Xia Y, Rutger JN (2004a) Rice *Pi-ta* gene confers resistance to the major pathotypes of the rice blast fungus in the United States. *Phytopathology* 94: 296-301
- Jia Y, Wang Z, Shing P (2002) Development of dominant rice blast *Pi-ta* resistance gene markers. *Crop Sci* 42: 2145-2149
- Jin et al. (2007) Classification of Korean rice cultivars based on reaction pattern

- to Japanese isolates of blast fungus. *J. Crop Sci. Biotech.* 10: 5-9.
- Kim YK, Kim YJ, Choi HC, Han SS (1995) Inheritance of leaf blast reactions four races of blast fungus in segregating population of eight rice crosses. *RDA J. Agri. Sci.* 37: 283-298.
- Kiyosawa S (1972) Genetics of blast resistance, *In Rice Breeding*, pp.203-225. IRRI. Philippines
- Koizumi S, Ashizawa T, Zenbayashi KS (2004) Durable control of rice blast disease with multilines. In *Proceedings of the 3rd International Rice Blast Conference of "Rice Blast : Interaction with Rice and Control"*, Edited by S. Kawasaki, pp. 191-199
- Kojima S, Takahashi Y, Kobayashi Y, Monna L, Sasaki T, Araki T and Yano M (2002) *Hd3a*, a rice ortholog of the Arabidopsis FT gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under shortday conditions. *Plant Cell Physiol.* 43: 1096-1105
- Konishi et al. (2006) An SNP caused loss of seed shattering during rice domestication. *Science* DOI: 10.1126/science.1126410
- Lee EJ, Cho SY (1990) Variation in races of rice blast diseases and varietal resistance in Korea, Paper presented at the Focus on Irrigated rice. Seoul. pp. 27-35
- Lee SJ, Suh JP, Oh CS, McCouch SR, Ahn SN (2003) Development of introgression lines of *Oryza rufipogon* in the background of japonica rice. *Rice Genet Newsl* 20
- Li et al. (2006) Rice domestication by reducing shattering. *Science* 311: 1936-1939
- Liu G, Lu G, Zeng L, Wang GL (2002) Two broad-spectrum blast resistance genes, *Pi9(t)* and *Pi2(t)*, are physically linked on rice chromosome. *Mol Genet Genomics* 267 : 472-480
- Liu XQ, Wang L, Chen S, Lin F, Pan QH (2005) Genetic and physical mapping

- of *Pi36(t)*, a novel rice blast resistance gene located on rice chromosome 8. *Mol Gen Genomics* 274: 394-401
- Moffat AS (1994) Mapping the sequence of disease resistance. *Science* 265 : 1804-1805
- Nishimura A et al. (2006) Isolation of a rice regeneration quantitative trait loci gene and its application to transformation systems. *Pro Natl Aca Sci* 102: 1936-1939
- Naqvi NI, Chattoo BB (1995) Molecular genetic analysis and sequence characterized amplified region-assisted selection of blast resistance in rice. In *Proceeding of 3rd International Rice Genetics Symposium, Rice Genetics III*, edited by GS Khush. pp. 570-576
- Nguyen TTT, Koizumi S, La TN, Zenbayashi KS, Ashizawa T, Yasuda N, Imazaki I, Miyasaka A (2006) *Pi35(t)*, a new gene conferring partial resistance to leaf blast in the rice cultivar Hokkai 188. *Theor. Appl. Genet.* 113: 697-704
- Nimchuk Z, Eulgem T, Holt BF 3rd and Dangl JL (2003) Recognition and response in the plant immune system. *Annu. Rev. Genet.* 37, 579-609
- Qu S, Liu G, Zhou B, Bellizzi M, Zeng L, Dai L, Han B, Wang G (2006) The broad-spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes an NBS-LRR protein and is a member of a multigene family in rice. *Genetics* 172: 1901-1914
- Ramalingam J, Vera Cruz CM, Kukreja K, Chittoor JM, Wu JL, Lee SW, Baraoidan M, George ML, Cohen MB, Helbert SH, Leach JE, Leung H (2003) Candidate defense genes from rice, barley and maize and their association with qualitative and quantitative blast resistance in rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 16: 14-24.
- Ren et al. (2005) A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nat Genet* 37: 1141-1146
- Ryu JD, Ye WH, Han SS, Lee YH, Lee EJ (1987) Regional and annual fluctuation of races of *Pyricularia grisea* during 1977-1985 in Korea. *Korean*

- J. Plant Path. 3: 174-179
- Sato H, Takeuchi Y, Hirabayashi H, Nemoto H, Hirayama M, Kato H, Imbe T, Ando I (2006) Mapping QTLs for field resistance to rice blast in the Japanese upland rice variety Norin 12. *Breeding Sci* 56: 415-418
- Song et al. (2007) A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. *Nat Genet* doi: 10.1038/ng2014
- Tabien RE, Li Z, Paterson AH, Marchetti MA, Stansel JW, Pinson SRM (2000) Mapping of four major rice blast resistance genes from 'Lemont' and 'Teqing' and evolution of their combinational effect for field resistance. *Theor. Appl. Genet.* 101: 1215-1225
- Tabien RE, Li Z, Paterson AH, Marchetti MA, Stansel JW, Pinson SRM (2002) Mapping QTLs for field resistance to the rice blast pathogen and evaluating their individual and combined utility in improved varieties. *Theor. Appl. Genet.* 105: 313-324
- Takahashi et al. (2001) Hd6, a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the alpha subunit of protein kinase CK2. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98: 7922-7927
- Tian et al. (2006) Construction of introgression lines carrying wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) segments in cultivated rice (*Oryza sativa* L.) background and characterization of introgressed segments with yield-related traits. *Theor. Appl. Genet.* 112: 5870-5880
- Tsunematsu H, Yanoria MJT, Ebron LA, Hayashi N, Ando I, Kato H, Imbe T, Khush GS (2000) Development of monogenic lines of rice for blast resistance. *Breeding Sci.* 50: 229-234
- Wang GH, Mackill DJ, Bonman JM, McCouch SR, Guiguerdoni E, Notteghem JL, Tanksley SD (1996) Molecular mapping of genes for resistance to rice blast (*Pyricularia grisea* Sacc.). *Theor. Appl. Genet.* 93: 859-863
- Wang ZX, Yano M, Yamanouchi U, Iwamoto M, Monna L, et al. (1999) The

- Pib for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine-rich repeat class of plant disease resistance gene. *Plant J.* 19: 55-64
- Wu JL, Fan YY, Li DB, Zheng KL, Leung H, Zhuang JY (2005) Genetic control of rice blast resistance in the durably resistant cultivar Gumei 2 against multiple isolates. *Theor. Appl. Genet.* 111: 50-56
- Yaegashi H (1994) Use of resistant varieties and disease control for paddy rice. *Agric Horticult* 69(1): 149-154
- Yano M (2001) Genetic and molecular dissection of naturally occurring variation. *Curr Opin in Plant. Biol.* 4: 130-135
- Yano et al. (2000) *Hdl*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene *CONSTANS*. *The Plant Cell* 12:2473–2483.
- Yi G, Lee SK, Hong YG, Cho YC, Nam MH, Kim SC, Han SS, Wang GL, Hahn TR, Ronald PC, Jeon JS (2004) Use of *Pi5(t)* markers in marker-assisted selection to screen for cultivars with resistance to *Magnaporthe grisea*. *Theor. Appl. Genet.* 109: 978-985
- Zamir D (2001). Improving plant breeding with exotic genetic libraries. *Nature Review Genetics* 2: 983-989
- Zeigler RS, Scott RP, Leung H, Bordeos AA, Kumar J, Nelson RJ (1997) Evidence of parasexual exchange of DNA in the rice blast fungus challenges its exclusive clonality. *Phytopathology* 87: 284-294
- Zenbayashi K, Ashizawa T, Tani T, Koizumi S (2002) Mapping of the QTL (quantitative trait locus) conferring partial resistance to leaf in rice cultivar Chbu 32. *Theor. Appl. Genet.* 104: 547-552
- Zhou JH, Wang JL, Xu JC, Lei CL, Ling ZZ (2004) Identification and mapping of a rice blast resistance gene *Pi-g(t)* in the cultivar Guangchangzhan. *Plant Pathology* 53: 191-196

- Causse MA, et al. (1994) Saturated molecular map of the rice genome based on interspecific backcross population. *Genetics* 138:1251-1274
- Chen XM, Line RF, Leung H (1998) Genome scanning for resistance-gene analogs in rice, barley, and wheat by high-resolution electrophoresis. *Theor. Appl. Genet.* 97: 345-355
- Cho YC, Choi IS, Baek MK, Suh JP, Hong HC, Kim YG, Koizumi S, Jana KK, Choi HC, Hwang HG (2003) Resistant genes and their effects to rice blast in isogenic lines of genetic background of Chucheongbyeon and Suweon345. *Rice Genetic Newsl.* 20: 101-105
- Eshed Y, Zamir D (1995) An introgression line population of *Lycopersicon pennillii* in the cultivated tomato enable the identification and fine mapping of yield-associated QTLs. *Genetics* 141:1147-1162
- Fujii K, Hayano-Saito Y, Saito K, Sugiura N, Hayashi N, Tsuji T, Izawa T, Iwasaki. M (2000) Identification of a RFLP marker tightly linked to the panicle blast resistance gene, *Pb1*, in rice. *Breeding Sci.* 50: 183-188
- Kubo T, Aida Y, Nakamura K, Tsunematsu H, Doi K, Yoshimura A (2002) Reciprocal chromosome segment substitution series derived from Japonica and Indica cross of rice (*Oryza sativa* L.) *Breed. Sci.* 52: 319-325
- McCouch SR, Teyetlman L, Xu Y, Lobos KB, Clare K, Walton M, Fu B, Maghirang R, Li Z, Xing Y, Zhang Q, Kono I, Yano M, Fjellstrom R, DeClerck G, Scheider D, Cartinhour S, Ware D, Stein L (2002) Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Res.* 9: 199-207
- Naqvi NI, Chattoo BB. (1996) Development of a sequence characterized amplified region (SCAR) based indirect selection method for a dominant blast-resistance gene in rice. *Genome* 39 : 26-30
- Ou SH (1985) Rice diseases (second edition). Commonwealth Mycological Institute. 380p

- Pan QH, Hu ZD, Takatoshi T, Wang L (2003) Fine mapping of the rice blast resistance gene Pi15, linked to Pii, on rice chromosome 9. *Acta Botan. Sin.* 45: 871-877
- Panaud O, Chen X, McCouch SR (1996) Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism in rice (*Oryza sativa*) *Mol. Gen. Genet.* 252: 597-607
- Sharma TR, Madhav MS, Singh BK, Shanker P, Jana TK, Dalal V, Pandit A, Singh A, Gaiwad K, Upreti HC, Singh NK (2005) High-resolution mapping, cloning and molecular characterization of the Pikh gene of rice, which confers resistance to *Magnaporthe grisea*. *Mol. Gen. Genomics* 274: 569-578
- Sirithunya P, Tragoontung S, Vanavichit A, Pa-In N, Vongsaprom C, Toojinda T (2002) Quantitative trait loci associated with leaf and neck blast resistance in recombinant inbred line population of rice (*Oryza sativa*). *DNA Research* 9: 79-88
- Song et al. (2007) A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. *Nat. Genet.* doi:10.1038/ng2014.
- Temnykh S, Park WD, Ayres N, Cartinhour, S, Hauck, N, Lipovich L, Cho YG, Ishii T, McCouch SR (2000) Mapping and genome organization of Microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.) *Theor. Appl. Genet.* 100: 697-712
- Temnykh, S, DeClerck G, Lukashova A, Lipovich L, Cartinhour S, McCouch SR (2001) Computational and Experimental Analysis of Microsatellites in Rice (*Oryza sativa* L.): Frequency, Length Variation, Transposon Associations and Genetic Marker Potential. *Genome Research* 11: 1441-1452
- Thomson M, Tai T, McClung A, Lai XH, Hinga M, Lobos K, Xu Y, Martinez C, McCouch S (2003) Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. *Theor. Appl.*

Genet. 107: 479-493

Zhang G, Angeles ER, Abenes MLP, Khush GS and Huang N (1996) RAPD and RFLP mapping of the bacterial blight resistance gene *xa13* in rice. Theor. Appl. Genet. 93: 65-70

Zhou B, Qu S, Liu G, Dolan M, Sakai H, Lu G, Bellizzi M, Wang GL (2006) The eight amino-acid differences within three leucine-rich repeats between Pi2 and Piz-t resistance proteins determine the resistance specificity to *Magnaporthe grisea*. Molecular? Plant-Microbe Interactions 19 : 1216-1228

Zhuang JY, Ma WB, Wu JL, Chai RY, Lu J, Fan YY, Jin MZ, Leung H, Zheng KL (2002) Mapping of leaf and neck blast resistance genes with resistance gene analog, RAPD and RFLP in rice. Euphytica 128: 363-370