

남일벼 돌연변이 유래 중간찰 계통의 작물학적 특성 및 배유특성 지배유전자위 표지

전재범 · 정지웅[†] · 조성우 · 김우재 · 하기용 · 강경호 · 고재권 · 김현순 · 김보경

농촌진흥청 국립식량과학원 작물육종과

Agronomic and Genetic Evaluation on a Dull Mutant Line Derived from the Sodium Azide Treated 'Namil', a Non-Glutinous Japonica Rice

Jae-Buhm Chun, Ji-Ung Jeung[†], Seong-Woo Cho, Woo-Jae Kim, Ki-Young Ha,
Kyung-Ho Kang, Jae-Kwon Ko, Hyun-Soon Kim, and Bo-Kyeong Kim

Crop Breeding Division, National Institute of Crop Science, RDA, 181 Hyeoksin-ro,
Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeollabuk-do, 54955, Korea

ABSTRACT Developing rice lines with various amylose contents is necessary to diverse usages of rice in terms of raw materials for processed food production, and thereby to promote rice consumption in Korea. A rice mutant line, 'Namil(SA)-dull1' was established through sodium azide mutagenesis on 'Namil', a non-glutinous Korean Japonica rice cultivar. Namil(SA)-dull1 had dull endosperm characteristics and the evaluated amylose content was 12.2%. A total of 94 F₂ progenies from a cross between 'Namil(SA)-dull1' and 'Milyang23', a non-glutinous Tongil-type rice cultivar, was used for genetic studies on the endosperm amylose content. Association analyses, between marker genotypes of 53 SSR anchor markers and evaluated amylose contents of each 94 F_{2.3} seeds, initially localized rice chromosome 6 as the harboring place for the modified allele(s) directing low amylose content of 'Namil(SA)-dull1'. By increasing SSR marker density on the putative chromosomal region followed by association analyses, the target region was narrowed down 0.94 Mbp segment, expanding from 28.95 Mbp to 29.89 Mbp, on rice chromosome 6 pseudomolecule. Among the SSR loci, RM7555 explained 84.2% of total variation of amylose contents in the F₂ population. Further physical mapping on the target region directing low amylose content of 'Namil(SA)-dull1' would increase the breeding efficiency in developing promising rice cultivars with various endosperm characteristics.

Keywords : rice, mutant, amylose, dull, DNA marker

쌀은 세계 3대 작물 중 하나로 우리나라의 주곡이다(You *et al.*, 2014). 그러나 근래 서구화, 음식소비패턴의 다양화 등으로 우리나라에서 쌀이 차지하는 주식비중은 지속적으로 낮아져 2014년 현재 1인당 쌀 소비량은 65.1 kg까지 감소하였다(KOSTAT, 2014). 벼 재배면적 역시 2002년도 이후 지속적으로 감소하여 2014년 현재 93만 3천 ha에서 4,241천톤의 쌀이 생산되었다(KOSTAT, 2014). 쌀 생산기반을 유지하는 것은 우리나라의 식량안보 측면에서 매우 중요하기 때문에 현재 다양한 가공제품을 개발하여 쌀 소비를 확대시키려는 노력이 진행되고 있다(You *et al.*, 2014). 우리나라에서 쌀은 가공용으로 떡, 면, 주류 등의 제조분야에서 주로 소비되어 왔으나, 최근 즉석밥, 즉류 등 다양한 분야로 그 이용이 확대되고 있다(Kum, 2010). 이러한 추세에 맞추어 쌀 가공용도에 적합한 품종들이 꾸준히 개발되고 있는데, 뿐만 아니라 주정용으로 쓰이는 '설갱'(Hong *et al.*, 2011), 중간찰 특성을 가진 '백진주'(Hong *et al.*, 2012b), 아밀로스 함량이 높은 '고아미2호'(Choi *et al.*, 2005), 거대배아미인 '큰눈'(Hong *et al.*, 2012a) 및 색소함량이 높고 찰성인 '조생흑찰'(Song *et al.*, 2010) 등을 들 수 있다. 특히 중간찰은 현미밥, 떡, 과자, 식혜, 술 등 다양한 가공식품 소재로 이용성이 높아(Choi, 2002), 최근에는 '설백'과 같이 생육기간이 짧은 중간찰 품종들도 육성되고 있다(Shin *et al.*, 2012).

쌀 배유의 아밀로스 함량에 기준하여 찰쌀과 멥쌀의 중간적인 특성을 나타내는 돌연변이인 중간찰들은 대부분 메벼에 대한 돌연변이 처리로부터 확보되었으며 현재까지 총 13종의 유전자들이 중간찰 특성에 관여하는 것으로 보고되었다(Kiswara *et al.*, 2014). 이들 중 *du1*과 *du4*는 염색체 7번과 4번에 각각

[†]Corresponding author: (Phone) +82-63-238-5236 (E-mail) jrnj@korea.kr

<Received November 2, 2015; Revised December 10, 2015; Accepted December 13, 2015>

표지 되었으며(Yano *et al.*, 1988), 최근 *du12(t)*가 염색체 6번 말단에 표지 되었다(Kiswara *et al.*, 2014). 유전자 발현 연구를 통해 *du1*과 *du2*는 자포니카 벼 품종에서 주로 확인되는 Wx^b 대립인자의 배유발현을 현저히 낮추어 완전한 찰이 아닌 중간찰로 표현형이 나타나도록 작용한다고 보고된 바 있다(Isshiki *et al.*, 2000; Zeng *et al.*, 2007).

본 연구에서는 자포니카 벼 품종인 ‘남일’에 아지드화나트륨 처리로 유기된 돌연변이계통으로 중간찰인 ‘Namil(SA)-dull1’의 주요 작물학적 특성을 평가하고 아밀로스 함량을 지배하는 유전자좌의 염색체상 위치를 파악함으로써, 새로운 중간찰 품종육성을 위한 육종소재를 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

돌연변이 유래 중간찰 계통육성 및 작물학적 특성 평가

자포니카(*Oryza sativa L. sp Japonica*)계 벼로서 숙기가 빠르고(8월 4일 출수: 수원기준) 다수성(662 kg/10a: 백미기준)인 ‘남일’(Kim *et al.*, 2003)에 대해 돌연변이원으로 인산칼륨 완충용액에 희석한 아지드화나트륨이 처리된 돌연변이 후대계통이 확보되었다(Shin *et al.*, 2009). 간략하게는, M_1 식물체들로부터 1개 이상씩 수확하였으며(M_2 종자), 이후부터는 M_7 세대까지 계통육종법에 의거하여 세대를 진전시키면서 고정계통을 확립하였다. 매 세대마다 각 계통 당 임성이 높은 1개 식물체를 무작위로 선발하고 1수-1열법에 의거하여 후대계통을 전개하였다. M_7 세대에서 수확된 총 5,135개 계통에 대한 현미외관 및 요소화칼륨용액을 이용한 염색평가를 수행하여 다수의 중간찰 계통들을 확보하였다. 이들 중 ‘Namil(SA)-dull1’은 ‘Namil(SA) M_2 -1299-RGA-1-1-1-1-1-2’의 계보를 가진다.

‘Namil(SA)-dull1’로 명명된 중간찰 계통을 원품종인 ‘남일’과 함께 2010년 국립식량과학원 춘천출장소 포장에 생산력 시험으로 공시하여 작물학적 특성을 관찰하였다. 4월 25일에 파종하여 약 30일간 육묘한 후, 5월 25일에 25 × 15 cm의 재식거리로 주당 3본을 손 이양하였다. 재배관리는 표준영농교본-벼생력재배(농촌진흥청, 2000)의 표준재배법에 따랐으며, 농업과학기술 연구조사분석기준(농촌진흥청, 2003)에 의거하여 주요 작물학적 특성을 3반복 조사하였다.

유전분석집단의 DNA 추출 및 표현형 평가

‘Namil(SA)-dull1’과 통일형 품종인 ‘밀양23호’간의 교배에서 유래된 F_1 식물체를 자가수정 시켜 육성한 F_2 집단을 양친들 즉, ‘Namil(SA)-dull1’과 ‘밀양23호’ 그리고 원품종인 ‘남일’과 함께 2011년 국립식량과학원 수원포장에 공시하였다. 전개된 F_2 집단에서 간장과 수수가 너무 작은 극단적인 분리후

대를 제외하면서 총 94개 개체를 무작위로 선정하여 ‘Namil(SA)-dull1’의 중간찰 특성을 지배하는 유전자위를 탐색하기 위한 유전분석집단으로 확정하였다. 유전분석집단과 ‘Namil(SA)-dull1’ 및 ‘밀양23호’의 잎 일부분을 취해 CTAB방법(Murray and Thompson, 1980)을 변형하여 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 1% agarose gel에 전기영동을 하여 확인하였으며, NanoDrop spectrophotometer (Thermo Fisher scientific, USA)를 이용하여 정량 후 PCR 반응에 사용하기 위한 적정농도로 희석하였다.

중간찰과 관련된 유전분석을 위한 표현형으로는 각 F_2 식물체로부터 수확한 $F_{2.3}$ 종자들의 아밀로스 함량을 측정하였다. 이를 위해 각 개체에서 무작위로 취해진 약 100립씩의 현미를 마쇄하고 100 mesh 체에 통과시켜 가루시료를 확보한 후, 줄리아노 방법(Juliano, 1971)으로 현미의 아밀로스 함량을 2반복 측정하여 그 평균을 대푯값으로 이용하였다. 각 $F_{2.3}$ 종자들과 함께 수확된 ‘Namil(SA)-dull1’, ‘밀양23호’ 및 ‘남일’의 아밀로스 함량도 현미를 이용하여 평가하였다.

유전분석집단의 유전자지도 작성

기존에 보고된 SSR 마커 정보에 의거하여(McCouch *et al.*, 2002) 12개 벼 염색체상에 균등하게 배치되면서 ‘Namil(SA)-dull1’과 ‘밀양23호’ 간에 다형성을 보이는 SSR 마커를 선정하였다. 이를 위하여 각 SSR 마커에 의해 표지되는 벼 유전체 정보상의 물리적 위치를 프라이머 염기서열을 이용하는 e-Landing (Jeung *et al.*, 2007; Table 2; physical information) 기법으로 파악하였다. 본 연구에서 활용한 벼 표준유전체 정보는 ‘Os-Nipponbare-Reference-IRGSP-1.0’ (<http://rapdb.dna.affrc.go.jp/download/irgsp1.html>)이다. 확인된 물리적 위치에 대응하는 BAC/PAC 클론 정보와 각 클론들의 유전자지도상의 위치(cM; mirror map)는 International Rice Genome Sequencing Project (IRGSP)에서 2008년 보고된 벼 전장유전체정보(pseudomolecules)인 ‘IRGSP Build5’ (<http://rgp.dna.affrc.go.jp/E/IRGSP/Build5/build5.html>)의 자료를 참고하였다(Table 2; mirror map).

각 염색체당 3-6개씩 배치된 분자표지에 대한 유전분석집단 내 94개 F_2 개체들의 유전자형을 판정함으로써 총 53개 SSR 마커로 구성된 유전자지도 초안(linkage map skeleton)을 작성하였다. 연관성분석(association analysis)에 의해 6번 염색체 하단에 목표 유전자위가 확인된 이후, 해당부위의 분자표지인자 밀도를 높이기 위해 8개의 SSR 마커를 추가로 분석하였다(Table 3, Fig. 3). 각 SSR 마커에 대하여 F_2 식물체들로부터 조사된 유전자형의 분리비가 기대값(1:2:1)에 적합한지를 카이제곱검정(χ^2 test)을 통해 확인하였다.

최종적으로는 염색체 6번에 배치된 13개 SSR 마커를 대상으로 유전분석집단에서 실질적으로 관찰된 교차율(recombination

fraction)을 바탕으로 유전자지도(genetic map)를 별도로 작성하여 벼 유전체정보에 의거하여 작성된 유전자지도(mirror map)와 비교하였다. 이를 위해 MAPMAKER/EXE3.0 (Lincoln *et al.*, 1992)의 'Haldane' mapping function을 사용하여 교차율을 계산하고 'ripple'과 'map' 명령어를 이용하여 유전자지도를 작성하였다.

PCR은 10 ng의 template DNA, 5 picomole의 forward 및 reverse primer, 0.2 mM dNTP mix, 1X PCP buffer [50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 0.1% Triton X-100, 1.5 mM MgCl₂] 및 1 unit의 *Taq* polymerase (Nurotics, Korea)를 이용하여 전체 volume 20 μ l로 수행하였다. PCT-100 thermocycler (Waltham, USA)를 이용하여 95°C에서 20초, 55°C에서 30초, 72°C에서 60초로 총 35회 반복하고, 72°C에서 5분간 반응시켰다. PCR 산물은 Sequencing gel [5% polyacrylamide (19:1, acrylamide:bis-acrylamide), 6 M Urea, 1X TBE, 80W]을 이용하여 전기영동 후 silver staining 하여 유전자형을 판별하였다.

'Namil(SA)-dull1'의 중간찰 특성지배 유전자위 표지를 위한 통계분석

'Namil(SA)-dull1'의 중간찰 특성에 관여하는 유전자위를 탐지하기 위해 'Namil(SA)-dull1'와 '밀양23호'간의 교잡에서 유래된 분리집단 내 각 개체들의 표현형(phenotype)과 각 SSR 마커에 대응하는 유전자형(genotype)간의 연관성 정도를 일원 분산분석(one-way ANOVA 혹은 single-locus ANOVA)으로 추정하였다(Jeung *et al.*, 2007). 이를 위해 94개 F₂ 개체로 구성된 유전분석집단의 각 개체에서 조사된 표현형 즉, F₂₃ 종자의 아밀로스 함량에 대해 각 SSR 마커로 조사된 유전자형을 이용한 일원분산분석을 실시하였다. 통계량(*F* 값)에 대응하는 *P* 값이 0.05보다 작으면 유의하다고 판단하고, 유전분석집단에서 관찰된 아밀로스 함량 변이에 대한 해당 유전자좌의 설명력(*R*²), 유전적 작용가(additive effect) 및 기작양상(degree of dominance) 등을 추정하였다(Jeung *et al.*, 2011b). 유전분석

집단의 기술통계량 계산에는 SAS 9.2 (SAS institute, 2000)의 'PROC MEANS'를 이용하였으며, 일원분산분석은 'PROC GLM'을 이용하였다.

결과 및 고찰

'Namil(SA)-dull1'의 주요 작물학적 특성평가

중간찰인 'Namil(SA)-dull1' 계통을 원품종인 '남일'과 함께 공시하여 주요 작물학적 특성을 평가하였다(Table 1). 'Namil(SA)-dull1'은 출수기가 '남일'(8월1일)에 비해 9일 정도 늦은 중생계통으로 이삭길이는 별 차이가 없었으나, 간장과 수당립수가 '남일'보다 유의하게 증가하였다. 반면에 백미수량은 '남일'보다 유의하게 낮은 456 kg/10a로 평가되었는데, 이는 'Namil(SA)-dull1'의 수수와 현미 천립중이 원품종에 비해 매우 유의하게 감소한 데서 기인한 것으로 추론되었다. 건조한 'Namil(SA)-dull1'의 현미와 백미 외관은 불투명하여 중간찰 벼 계통의 배유 특성이 잘 발현될 뿐 아니라 원품종인 '남일'과 뚜렷이 구분되었다(Fig. 1).

유전변이의 방향성을 제어할 수 없는 돌연변이육종의 특성상 'Namil(SA)-dull1'의 획득형질인 중간찰 이외에도 출수의 지연 및 간장과 수당립수의 증가 등 주요 작물학적 특성을 지배하는 다양한 유전자위들의 변이를 완전히 배제할 수 없다. 그러므로 원품종인 '남일'에 대해 'Namil(SA)-dull1'이 발현하는 주요 작물학적 형질은 고유한 표현형으로 간주되어야 할 것이다. 기 개발된 찰 및 중간찰 벼 품종들은 배유 전분의 밀도가 낮아 현미 천립중이 메벼에 비해 유의하게 낮다(Hong *et al.*, 2012b; Hong *et al.*, 2012c; Shin *et al.*, 2012). 그러므로 향후 'Namil(SA)-dull1'의 낮은 수량성을 개선하기 위해서는 재배적으로는 단위면적 당 충분한 수수를 확보할 수 있는 높은 재식밀도가 적용되어야 하며, 육종적으로는 수수의 수가 다소 증가될 수 있는 교배조합 선정하여 후대선발을 실시해야 할 것으로 판단된다.

Table 1. Major agronomic traits of 'Namil(SA)-dull1' in comparison with its wild type, 'Namil'.

Line	HD (month.day)	CL (cm)	PL (cm)	TN (No.)	SN (No.)	TGW (g)	YD (kg/10a)
Namil(SA)-dull1	8.10 ^a	79.1 ^a	22.5 ^a	7.1 ^b	123 ^a	19.8 ^b	456 ^b
Namil	8.01 ^b	72.8 ^b	22.4 ^a	9.0 ^a	101 ^b	24.0 ^a	529 ^a

Means with the same letter are not significant at *P*<0.05 in the least significant difference test (LSD_{0.05}). The means of each line were obtained from replicated yield trials with three replication plots.

HD: heading date, CL: culm length, PL: panicle length, TN: tiller number, SN: spikelet number per panicle, TGW: 1,000-grain weight of brown rice, YD: yield of polished rice.

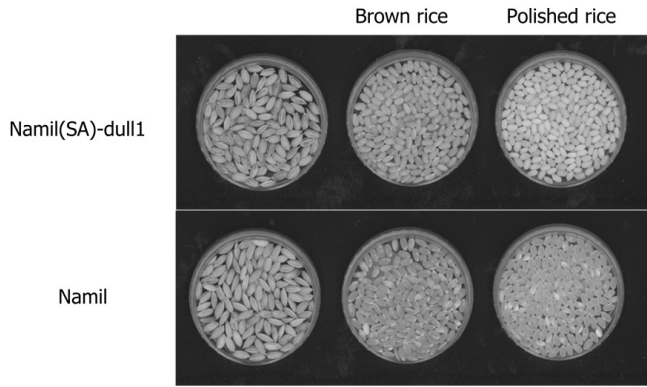


Fig. 1. Grain appearance of ‘Namil(SA)-dull1’ and its wild type, ‘Namil’. The mutant line, ‘Namil(SA)-dull1’, shows opaque type, which can be distinguished from the grain appearance of ‘Namil’.

유전분석집단의 아밀로스 함량 분포

‘Namil(SA)-dull1’, ‘밀양23호’ 및 ‘남일’과 함께 유전분석 집단으로 공시된 94개 F₂ 개체들로부터 수확한 F_{2:3} 종자의 일부를 취해 현미수준에서 아밀로스 함량을 측정하고 그 분포를 비교하였다(Fig. 2). 중간찰인 ‘Namil(SA)-dull1’은 아밀로스 함량이 12.2%로 평가되어 원품종인 ‘남일’(21.1%)은 물론 유전분석집단의 부친인 ‘밀양23호’(19.5%) 보다 유의하게 낮았다. F₂ 개체에서 수확된 F_{2:3} 종자들의 아밀로스 함량은 약 8~13%에 해당하는 하위그룹과 14~19%에 해당하는 상위그룹으로 뚜렷이 나뉘며 그 빈도는 상위그룹으로 편기된 이항분포 양상을 나타내었다. 94개 개체로 구성된 유전분석집단 중 아밀로스 함량이 13% 이하인 개체들의 누적빈도는 18 (19.1%)로써 ‘Namil(SA)-dull1’의 중간찰 특성은 단일(혹은 소수의) 열성 유전자(들)에 의해 지배된다는 것을 추론할 수 있었다.

유전분석집단을 이용한 유전자지도 작성

유전자지도 작성에는 처음부터 전 염색체 상에 분자표지인자를 고밀도로 배치하는 대신, 각 염색체마다 소수의 SSR 마커가 균일한 간격으로 배치된 유전자지도 초안(linkage map skeleton)을 우선 작성하였다. 염색체별 SSR 마커 배치에는 Jeung *et al.* (2007)이 제시한 e-Landing 기법에 의거, 각 SSR 마커에 대응하는 벼 유전체 정보를 파악하여 ‘mirror map’을 구축함으로써 부가적인 유전통계분석 절차를 생략하였다. 약 230여개의 SSR 마커에 대해 ‘Namil(SA)-dull1’과 ‘밀양23호’ 간의 다형성을 검토한 후, 분자표지인자의 균등배치에 유의하며 다형성 SSR 마커를 각 염색체별로 3~6개씩을 배치하였다. 각 분자표지에 대해 94개 F₂ 개체로 구성된 유전분석집단의 유전자형을 판정함으로써 총 53개의 SSR 마커로 구성된 유전자

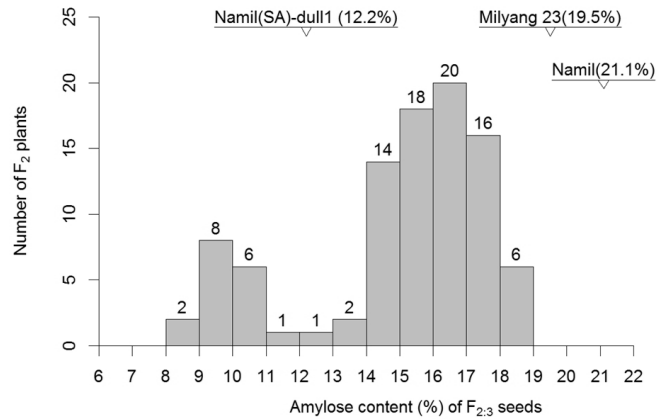


Fig. 2. Histogram of amylose content among F_{2:3} seeds derived from the 94 F₂ progenies of ‘Namil(SA)-dull1’ × ‘Milyang 23’. The amylose content of ‘Namil(SA)-dull1’, ‘Namil’ and ‘Milyang23’ are presented above the histograms.

지도 초안을 작성하였다(Table 2). 유전분석집단 내 각 개체들의 아밀로스 함량 변이와 유전자형간의 연관성을 평가하여 목표 유전자위가 염색체 6번 하단에서 확인된 후, 해당영역에 대해서만 분자표지의 밀도를 높이기 위해 8개의 다형성 SSR 마커를 추가로 투입하여 총 13개의 SSR 마커에 의한 유전자지도가 작성되었다(Table 2, Table 3, Fig. 3). 벼 유전체정보에 의해 약 1.4cM 정도 떨어져 있는 것으로 보고되었던 RM5814와 RM461가 실질 교차율을 이용한 유전자지도에서는 동일한 염색체상 위치에 배치되었는데, 이는 제한된 수의 F₂ 개체들 (*n*=94)로 인하여 좁은 영역에 위치한 두 분자표지간 교차가 확인되지 않았기 때문이다.

유전자지도 작성에 사용된 SSR 마커에 의해 조사된 유전분석집단의 유전자형 분리비를 검정한 결과, 벼 염색체들의 3번 중단, 5번 하단, 6번 중단, 11번 중단 그리고 12번 하단부위에서 매우 유의한(*P*<0.01) 분리비 이상이 확인되었는데 모두 ‘Namil(SA)-dull1’의 유전자형 빈도가 기대값 보다 낮은 경향을 보였다(Table 2; segregation test). 특히 RM3370에 의해 표지되는 염색체 6번 상단의 분리비 이상은 가장 유의하여($\chi^2 = 22.39, P < 0.001$), 벼 유전체 정보를 참조하여 작성된 유전자지도(mirror map; Fig. 3A)에 비해 인접한 분자표지들(RM3353, RM541)과의 유전적 거리가 매우 왜곡되는 현상을 보였다(genetic map; Fig. 3B). 이러한 염색체 6번 상단의 분리비 이상은 ‘남일’의 또 다른 돌연변이 계통이며 분질배유인 ‘Namil(SA)-flo1’의 유전연구 연구를 위해 사용되었던 ‘밀양23호’와의 교잡후대 F₂ 집단에서도 확인된 바 있다(Mo *et al.*, 2013a). 그러나 목표유전자위가 포함된 염색체 6번 하단부위의 분리비는 유의하지 않았고, 유전분석집단에서 조사된 실질

Table 2. List of SSR markers used, their *e*-Landing mediated physical positions on a rice pseudomolecule, corresponding BAC/PAC clones with their determined cM positions, and the segregation test (χ^2) results on the 94 F₂ progenies derived from a cross between ‘Namil(SA)-dull1’ and ‘Milyang23’.

Marker ^z	Physical information ^y						Mirror map ^x		Segregation test ^w				
	Ch	Start	Stop	<i>e</i> -PCR	<i>e</i> %	BAC/PAC	cM	cM%	A	H	B	M	χ^2
RM3252	1	302,879	303,050	172	0.7	AP002818.2	0.3	0.7	20	48	26	0	0.56
RM0600	1	9,464,568	9,464,788	221	21.9	AP001081.1	49.6	21.7	23	50	21	0	0.30
RM0449	1	15,124,290	15,124,405	116	35.0	AP006530.3	72.8	35.1	17	57	20	0	3.84
RM1349	1	25,071,234	25,071,452	219	57.9	AP002744.2	103.1	57.9	25	45	24	0	0.09
RM1003	1	33,476,952	33,477,079	128	77.4	AP003345.3	136.6	77.5	23	55	16	0	3.28
RM6321	1	42,924,171	42,924,338	168	99.2	AP003277.2	181.8	99.2	22	47	25	0	0.09
RM0154	2	1,083,895	1,084,077	183	3.0	AP005851.2	4.7	2.2	23	46	25	0	0.05
RM5699	2	8,981,411	8,981,577	167	25.0	AP005803.3	42.1	25.0	16	51	27	0	2.73
RM1211	2	18,456,296	18,456,457	162	51.4	AP005299.3	59.5	51.4	18	53	23	0	1.71
RM3220	2	28,463,977	28,464,117	141	79.2	AP004118.4	118.1	79.2	26	48	20	0	0.56
RM3850	2	35,431,667	35,431,776	110	98.6	AP003989.4	157.9	98.6	27	45	22	0	0.47
RM6301	3	2,652,360	2,652,502	143	7.3	AC090485.3	13.3	7.2	19	45	30	0	2.26
RM7	3	9,829,489	9,829,659	171	27.0	AC134232.2	44.4	40.8	7	46	41	0	23.20 ***
RM1164	3	14,861,796	14,861,995	200	40.8	AC084766.8	68.7	40.8	15	48	31	0	4.81
RM6266	3	23,823,769	23,823,928	160	65.4	AC091246.8	94.9	65.4	15	58	21	0	5.24
RM1350	3	28,683,340	28,683,508	169	78.8	AC087181.9	126.8	78.8	24	51	19	0	0.94
RM3585	3	36,141,626	36,141,794	169	99.3	AC128647.8	161.7	99.3	23	46	25	0	0.05
RM0551	4	178,080	178,271	192	0.5	AL606442.3	3.1	0.5	21	51	22	0	0.47
RM5633	4	13,084,092	13,084,302	211	36.9	AL731595.1	19.9	37.1	32	49	13	0	7.03 *
RM3839	4	24,089,850	24,090,067	218	67.9	AL606614.3	72.8	67.7	21	52	20	1	1.00
RM0559	4	35,336,720	35,336,879	160	99.5	AL606637.3	129.6	99.6	29	40	25	0	2.01
RM5693	5	463,830	464,029	200	1.5	AC129716.3	4.6	1.5	28	43	23	0	0.94
RM3322	5	4,262,754	4,262,874	121	14.2	AC087553.3	32.0	14.2	21	45	28	0	0.90
RM3838	5	16,553,562	16,553,759	198	55.3	AC136221.2	60.7	55.1	17	45	30	2	3.16
RM5558	5	21,251,913	21,252,085	173	70.9	AC105769.2	86.0	70.9	28	31	34	1	10.13 **
RM1054	5	29,227,307	29,227,456	150	97.6	AC098598.2	122.0	97.6	16	49	29	0	3.20
RM3353	6	436,581	436,696	116	1.4	AP001129.1	1.4	1.4	20	42	32	0	3.54
RM3370	6	6,435,835	6,436,011	177	20.6	AP005545.3	34.3	21.2	5	51	38	0	22.39 ***
RM541	6	19,514,538		NA	62.4	AP005470.3	67.7	62.5	19	54	20	1	1.98
RM3628	6	23,738,029	23,738,154	126	76.0	AP003612.2	85.4	76.0	17	49	28	0	2.26
RM6071	6	25,020,606	25,020,699	94	80.1	AP003539.3	91.9	80.1	22	41	29	2	1.77
RM3430	6	27,433,603	27,433,758	156	87.8	AP003628.3	105.6	87.8	21	46	25	2	0.20
RM3138	6	28,470,082	28,470,186	105	91.1	AP004797.3	110.6	91.1	21	44	29	0	1.4
RM3307	6	28,947,284	28,947,475	192	92.6	AP003770.3	113.4	92.6	20	46	28	0	1.1
RM7555	6	29,570,771	29,570,911	141	94.6	AP003726.3	117.0	94.6	19	46	29	0	1.8
RM5814	6	29,886,013	29,886,117	105	95.6	AP003761.3	118.1	94.9	19	47	28	0	1.4
RM461	6	30,114,556	30,114,750	195	96.4	AP003634.3	119.5	96.1	19	47	28	0	1.4

Table 2. List of SSR markers used, their *e*-Landing mediated physical positions on a rice pseudomolecule, corresponding BAC/PAC clones with their determined cM positions, and the segregation test (χ^2) results on the 94 F₂ progenies derived from a cross between ‘Namil(SA)-dull1’ and ‘Milyang23’ (Continue).

Marker ^z	Physical information ^y						Mirror map ^x		Segregation test ^w				
	Ch	Start	Stop	<i>e</i> -PCR	<i>e</i> %	BAC/PAC	cM	cM%	A	H	B	M	χ^2
RM1150	6	30,381,262	30,381,408	147	97.2	AP003614.2	121.7	97.2	19	47	28	0	1.4
RM5753	6	30,967,848	30,968,048	201	99.1	AP004685.3	124.4	99.1	18	46	30	0	2.60
RM1093	7	669,862	670,011	150	2.3	AP003746.2	2.5	2.3	22	51	21	0	0.47
RM1377	7	12,784,523	12,784,703	181	43.0	AP004305.3	49.7	43.1	27	44	23	0	0.52
RM3743	7	19,344,028	19,344,207	180	65.1	AP003815.2	67.0	65.2	26	48	20	0	0.56
RM0172	7	29,562,285	29,562,443	159	99.5	AP005199.3	118.6	99.6	19	46	29	0	1.75
RM0408	8	126,282	126,410	129	0.4	AP005406.3	0.5	0.4	29	36	29	0	4.47
RM0547	8	5,592,402	5,592,635	234	19.7	AP004746.3	40.2	19.7	23	47	22	2	0.03
RM3262	8	22,381,176	22,381,342	167	78.7	AP005483.3	86.7	78.6	20	47	26	1	0.54
RM5545	8	28,274,770	28,274,926	157	99.4	AP004623.3	121.2	99.4	18	53	23	0	1.71
RM0219	9	7,888,585	7,888,788	202	34.3	AP005912.3	20.7	34.5	31	40	23	0	2.98
RM0566	9	14,705,799	14,706,037	239	63.9	AP005397.2	50.7	63.9	22	50	22	0	0.22
RM0205	9	22,721,127	22,721,282	156	98.7	AP005546.3	93.5	98.7	15	49	30	0	4.30
RM7492	10	54,866	55,010	145	0.2	AC108883.1	0.0	0.2	22	45	27	0	0.47
RM0311	10	9,818,621	9,818,917	297	42.3	AC090482.3	16.8	41.5	15	55	23	1	3.96
RM1375	10	16,716,154	16,716,333	180	72.0	AC025905.3	42.7	71.6	19	54	21	0	1.75
RM0590	10	23,114,684	23,114,821	138	99.6	AC018727.10	83.8	98.7	29	41	24	0	1.71
RM0286	11	384,837	384,958	122	1.3	BX000497.1	1.4	1.3	13	54	27	0	5.54
RM3428	11	13,945,470	13,945,626	157	48.1	AC128642.3	56.2	47.2	10	59	25	0	10.05 **
RM5349	11	19,650,313	19,650,435	123	67.7	AC134925.4	79.1	67.3	17	53	24	0	2.18
RM0144	11	28,804,933	28,805,157	225	99.3	AC134045.2	116.2	99.2	28	46	20	0	1.07
RM8215	12	1,586,781	1,587,001	221	5.8	BX000498.1	9.7	5.8	16	43	35	0	7.50 *
RM0277	12	18,319,022	18,319,147	124	66.5	AL831799.3	62.2	66.5	17	39	38	0	11.07 ***
RM0017	12	26,988,269	26,988,436	168	98.0	AC027133.3	107.4	98.0	9	44	41	0	20.77 ***

^zFor the rice chromosome 6, the 8 SSR markers are underlined, which was additionally included to the DNA marker density after conducting initial association analysis on ‘linkage map skeleton’ composed with 53 SSR markers.

^yTo take some convenient in comparing the cM positions from various mapping populations having different total lengths, the percentage expressed relative genetic positions, ‘cM%’, was also calculated.

^xA and B are homozygous for the ‘Namil(SA)-dull1’ and ‘Milyang23’ allele types, H is for heterozygous progenies at the tested locus, and M indicates the number of missing. Segregation distorted loci are indicated with asterisk; *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, and * $P < 0.05$.

교차율에 의해 작성된 염색체 6번 유전자지도에 배치된 분자표지들의 상대적 위치가 ‘mirror map’과 일치하였다(Fig. 3).

‘Namil(SA)-dull1’의 중간찰 특성 지배유전자위 표지

분석대상 형질의 발현에 관여하는 주동 유전자(major gene)의 염색체상 위치를 효율적으로 파악하기 위한 수단으로, 표현형이 상이하고 유전적으로 이질적인 두 계통간 교잡에서 유래

된 분리후대집단의 각 개체들의 표현형과 분자표지에 의해 밝혀진 유전자형간의 연관성을 일원분산분석의 일종인 ‘Single-Locus ANOVA’를 이용하여 확인하는 방법이 제시된 바 있다 (Jeung *et al.*, 2007; Mo *et al.*, 2013b). 이에 따라 중간찰인 ‘Namil(SA)-dull1’을 아밀로스 함량뿐만 아니라 유전적으로도 이질적인 ‘밀양23호’와 교잡한 분리후대(F₂) 중 94개 개체를 취하여 유전분석집단으로 이용하였다. 유전자지도 작성에 사용

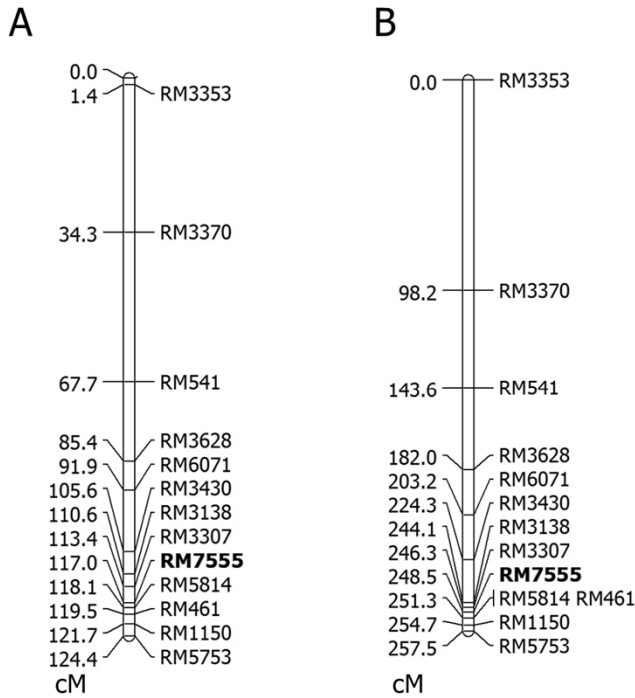


Fig. 3. Linkage maps of rice chromosome 6 constructed with 13 SSR markers based on ‘Mirror-Map’ information (A), and practical recombination fractions estimated by using 94 F₂ segregants derived from a cross between ‘Namil(SA)-dull1’ and ‘Milyang23’ (B). The most putative locus tagged by a SSR marker, RM7555 is in bold.

된 각 SSR 마커의 유전자형에 따른 표현형(아밀로스 함량)에 대한 분산분석을 수행하고 그 통계량(*F* 값)과 함께 *R*²값(유전자형이 표현형분산을 설명하는 비율)을 검토하였다(Table 2, Table 3).

일차적으로 총 53개로 구성된 유전자지도 초안의 SSR 마커를 이용한 분산분석에서 염색체 4번 하단의 RM3839 (*F*=3.5, *P*=0.034, *R*²=0.073), 염색체 12번 상단의 RM8215 (*F*=3.8, *P*=0.034, *R*²=0.077) 및 6번 염색체 하단의 RM3430 (*F*=20.0, *P*<0.001, *R*²=0.311)과 RM5753 (*F*=100.7, *P*<0.001, *R*²=0.689)에서 유의한 통계량이 확인되었는데(Table 2 참조, Table 3; single-locus ANOVA), 모두 ‘Namil(SA)-dull1’의 유전자형에 의해 아밀로스 함량이 감소하는 경향을 나타내었다(Table 3; genetic effect). 특히 염색체 4번 및 12번의 SSR 마커에 비해 염색체 6번 하단영역에 배치된 2개 SSR 마커(RM3430, RM5753)의 월등히 높은 *F* 값과 *R*² 값은 ‘Namil(SA)-dull1’의 중간찰 특성을 지배하는 주동유전자의 존재를 강하게 시사하였다(Table 3).

중간찰 주동유전자위를 염색체 6번 하단으로 추정하고 목표 부위에 8개의 SSR 마커를 추가하여 연관성분석을 재실시하였다(Table 3; *Ap*=2). RM7555에서 최대의 *F* 값(198.3)을 가지

면서 유전분석집단 아밀로스 함량 변이를 81% (*R*²=0.810) 설명하는 것으로 확인되었고, 해당 위치를 정점으로 하여 위아래로 멀어지는 SSR 마커들의 *F* 값이 점차로 감소하는 경향을 보였다(Table 3; single-locus ANOVA). 그러므로 ‘Namil(SA)-dull1’의 아밀로스 함량 특성을 지배하는 유전자위는 3개 SSR 마커로 표시되는 약 5.0 cM 크기의 염색체 절편(RM3307~RM7555~RM5814/RM461) 내에 위치하며 RM7555에 가장 근접하다고 결론 내릴 수 있었다(Table 3, Fig. 3B). 더 나아가 벼 유전체 정보에서는 약 1.4 cM 떨어진 RM5814와 RM461을 고려하면, 목표 유전자위를 포함하는 염색체 절편은 RM3307~RM7555~RM5814에 대응하는 영역으로 더욱 축소될 수 있다고 판단하였다(Table 3; mirror map, Fig. 3A).

F₂ 개체들의 아밀로스 함량분포를 RM7555에 의해 구명된 유전자형 별로 살펴보면(Table 3; mean amylose %) ‘Namil(SA)-dull1’의 대립인자에 대해 동형(homo)인 개체들(A; *n*=19)의 평균 아밀로스 함량은 10.2%, ‘밀양23호’의 대립인자에 대해 동형인 개체들(B; *n*=29)의 평균 아밀로스 함량은 16.9%, 유전자형이 이형(hetero)인 개체들(H; *n*=46)의 평균 아밀로스 함량이 15.7%이었다. 즉, 교잡 후대에서 RM7555에 의해 표시되는 목표유전자위의 유전자형이 ‘밀양23호’에서 ‘Namil(SA)-dull1’로 바뀔 때 아밀로스 함량은 약 6.8% 감소하여(breeding value) 대립인자의 치환효과(additive effect)는 약 3.4%로 추정되었다(Table 3; genetic effect).

분자표지의 프라이머 서열을 이용한 벼 표준유전체 정보 ‘Os-Nipponbare-Reference-IRGSP-1.0’로의 e-Landing (Table 2; physical information)을 검토한 결과, ‘Namil(SA)-dull1’의 중간찰성을 지배하는 목표유전자위로 제한된 RM3307~RM7555~RM5814 영역은 그 물리적 위치가 염색체 6번의 28.95~29.89 Mbp 영역의 약 0.94 Mbp 절편으로 제한되었다. 한가지 특이한 점은 해당 부위가 ‘밀양262호’의 낮은 아밀로스 함량을 지배하는 열성 유전자위로 보고된 *dul2(t)*에 대한 근접 분자표지들을 포함한다는 것이다(Kiswara *et al.*, 2014). 이는 ‘Namil(SA)-dull1’의 중간찰 특성이 ‘밀양262호’의 *dul2(t)*가 위치한 동일한 유전자좌(locus)가 변형되었음을 강하게 시사하는 결과이나, ‘Namil(SA)-dull1’이 ‘밀양268호’ 육성에 사용된 양친과는 전혀 다른 ‘남일’에 대한 돌연변이처리를 통해 확보된 계통이라는 것을 고려할 때 *dul2(t)*와 동일한 대립인자형(allele type)을 지닐 가능성은 매우 희박하다고 판단된다. 현재 ‘Namil(SA)-dull1’의 중간찰 목표 유전자위로 제한된 RM3307~RM7555~RM5814 부위에서 많은 재조합체를 확보하고자 해당 영역의 유전자형이 이형인 F₂ 개체들로부터 유래된 F_{2:3} 계통을 ‘추가분리집단’으로 선정하여 육성하고 있다. 추가분리집단을 이용한 후속연구를 통해 ‘Namil(SA)-dull1’의 중간찰 특성을 지배하는 목표

Table 3. Summary of association analysis between the SSR marker genotypes of F₂ progenies and amylose content of F_{2:3} seeds derived from a cross between ‘Namil(SA)-dull1’ and ‘Milyang23’.

Locus ^z		Mirror-map			Mean amylose (%) ^y			Single-locus ANOVA ^x				Genetic effect ^w		
Marker	Ap	Ch	cM	cM(%)	A	H	B	SSM	SSE	F	R ²	Add	Dom	DeD
RM3353	1	6	1.4	1.4	14.4	14.7	15.7	25.8	682.6	1.7				
RM3370	1	6	34.3	21.2	15.2	14.8	15.2	3.7	704.7	0.2				
RM541	1	6	67.7	62.5	15.6	14.6	15.8	27.7	656.7	1.9				
RM3628	2	6	85.4	76.0	13.9	14.5	16.5	92.3	616.1	6.8 **	0.130	1.3	-0.7	-0.6
RM6071	2	6	91.9	80.1	13.2	15.5	15.7	99.9	584.4	7.6 ***	0.146	1.3	1.1	0.8
RM3430	1	6	105.6	87.8	12.7	15.2	16.8	197.5	438.4	20.0 ***	0.311	2.1	0.5	0.2
RM3138	2	6	110.6	88.9	10.6	15.8	16.9	543.1	165.4	149.4 ***	0.767	3.2	2.0	0.6
RM3307	2	6	113.4	92.6	10.1	15.7	16.9	586.0	122.4	217.8 ***	0.827	3.4	2.2	0.6
RM7555	2	6	117.0	94.1	9.9	15.7	16.9	596.6	111.8	242.8 ***	0.842	3.5	2.3	0.6
RM5814	2	6	118.1	94.9	10.2	15.8	16.8	558.1	150.3	168.9 ***	0.842	3.3	2.3	0.7
RM461	2	6	119.5	96.1	10.2	15.8	16.8	558.1	150.3	168.9 ***	0.788	3.3	2.3	0.7
RM1150	2	6	121.7	97.8	10.4	15.8	16.7	508.2	200.2	115.5 ***	0.717	3.1	2.2	0.7
RM5753	1	6	124.4	100.0	10.4	15.7	16.7	487.9	220.5	100.7 ***	0.689	3.1	2.2	0.7

^zAfter first round of association analysis by using 53 anchor markers (application: Ap=1), additional 8 SSR makers were applied (Ap=2).

^yMean amylose content for each genotype categories revealed by SSR markers. A and B are homozygous for ‘Namil(SA)-dull1’ and ‘Milyang23’ allele types, respectively, and H indicates heterozygous progenies at the tested locus.

^xThe significant loci were declared as *** $P < 0.001$ and ** $P < 0.01$ for the corresponding F -values.

^wAdditive effect (Add), dominant effect (Do) and degree of dominance (DeD) were estimated at the declared loci: Add=(Bmean-Amean)/2 and DeD=Do/Add, where A and B are homozygous F₂ individuals for ‘Namil(SA)-dull1’ and ‘Milyang 23’, H is heterozygous individuals at the tested locus, and Do(dominant effect) = Hmean-(Bmean+Amean)/2.

유전자위에 대한 초정밀 분자표지를 개발함으로써 향후 다양한 아밀로스 함량을 지니는 벼 신품종 육성의 효율성을 높일 수 있을 뿐 아니라, ‘밀양262호’의 *dul2(t)*와의 차별성도 규명할 수 있을 것으로 기대한다.

적 요

다양한 가공제품을 개발하여 쌀 소비를 확대시키기 위하여 가공용도에 적합한 물성을 지닌 벼 품종을 개발하려는 노력이 계속되고 있는데, 특히 중간찰은 현미밥, 떡, 과자, 식혜, 술 등 다양한 가공식품 소재로 이용성이 높다. 국립식량과학원에서는 조생, 다수성 품종인 ‘남일’에 돌연변이원으로 아지드화나트륨을 처리하여 다수의 배유변이 계통을 확보한바 있다. 본 연구는 중간찰 특성을 발현하는 ‘Namil(SA)-dull1’의 작물학적 특성을 평가하고 아밀로스 함량을 지배하는 주동유전자위의 염색체상 위치를 규명하고자 수행되었다. 주요 결과는 아래와 같다.

1. 생산력 시험을 통해 ‘Namil(SA)-dull1’의 주요 작물학적

특성을 평가한 결과, 원품종인 ‘남일’에 비해 출수는 약 9일정도 늦은 중생종으로 간장과 수당립수가 유의하게 증가하였으나, 수수와 천립중은 다소 감소하여 수량성은 다소 낮게 평가되었다.

2. ‘Namil(SA)-dull1’과 통일형인 ‘밀양23호’와의 교잡에서 유래한 94개 F₂ 개체로 구성된 유전분석집단에 대해 53개 SSR 마커의 유전자형을 검정하고, F_{2:3} 종자의 아밀로스 함량을 조사하여 연관성분석(association analysis)를 수행한 결과 목표 유전자위는 염색체 6번 하단으로 추정되었다.
3. 염색체 6번 하단부위의 분자표지 밀도를 높이기 위하여 8개 SSR 마커를 추가로 배치하여 연관성분석을 수행한 결과, 염색체 6번 하단을 표지하는 RM7555의 유전자형 변이가 유전분석집단의 아밀로스 함량변이의 81%를 설명한다는 것을 확인하였다.
4. 유전자지도 작성에 사용된 분자표지들이 표지하는 염색체 부위를 벼 전장유전체정보(rice pseudomolecule)에서 확인한 결과, 중간찰 특성을 지배하는 유전자위를 염색체

6번 28.95~29.89 Mbp 영역에 해당하는 약 0.94 Mbp 절편으로 제한할 수 있었으며, 향후 추가분리집단을 이용하여 목표 유전자를 동정하고 다양한 아밀로스 함량을 지니는 벼 신품종 육성의 효율성을 제고할 수 있는 초정밀 분자표지를 개발할 계획이다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 작물시험연구사업(과제번호: PJ0092622015)의 지원에 의해 이루어졌습니다.

인용문헌(REFERENCES)

- Choi, H. C. 2002. Current status and perspectives in varietal improvement of rice cultivars for high-quality and value-added products. *Kor. J. Crop Sci.* 47 : 15-32.
- Choi, H. C., H. G. Hwang, H. C. Hong, Y. G. Kim, H. P. Moon, I. S. Choi, H. Y. Kim, J. H. Lee, J. D. Yea, K. Y. Ryu, K. H. Kang, Y. S. Shin, Y. H. Choi, C. I. Yang, Y. C. Cho, M. K. Baek, T. Y. Kim, K. J. Kim, K. H. Jung, E. G. Jeong, O. Y. Jeong, and Y. H. Jeon. 2005. A new non dietary starch and high amylose rice cultivar, "Goamy 2". *Korean J. Breed.* 37 : 131-132.
- Consuelo, M. Perez, Evelyn P. Palmiano, Lyda C. Baun, and Bienvenido O. Juliano 1971. Starch Metabolism in the Leaf Sheaths and Culm of Rice. *Plant Physiol.* 47 : 404-408.
- Hong, H. C., H. P. Moon, H. C. Choi, H. G. Hwang, Y. G. Kim, H. Y. Kim, J. D. Yea, Y. S. Shin, K. H. Kang, Y. H. Choi, Y. C. Cho, M. K. Baek, C. I. Yang, I. S. Choi, S. N. Ahn, and S. J. Yang. 2011. New cultivar developed: A lodging tolerant, opaque rice cultivar "Seolgaeng". *Kor. J. Breed. Sci.* 43 : 532-537.
- Hong, H. C., Y. G. Kim, Y. H. Choi, S. J. Yang, K. S. Lee, J. H. Lee, O. Y. Jung, C. I. Yang, Y. C. Cho, I. S. Choi, M. K. Baek, M. K. Kim, J. D. Yea, H. G. Hwang, J. H. Roh, S. R. Kim, H. C. Choi, Y. T. Lee, and S. H. Lee. 2012a. A medium-maturing, giant-embryo, and germination brown rice cultivar "Keunnun". *Kor. J. Breed. Sci.* 44 : 160-164.
- Hong, H. C., Y. H. Choi, H. G. Hwang, Y. G. Kim, H. P. Mun, H. Y. Kim, J. D. Yea, Y. S. Shin, Y. H. Choi, Y. C. Cho, M. K. Baek, J. H. Lee, C. I. Yang, K. H. Jeong, S. N. Ahn, and S. J. Yang. 2012b. New cultivar developed: A lodging-tolerance and dull rice cultivar "Baegjinju". *Kor. J. Breed. Sci.* 44 : 51-56.
- Hong, H. C., S. J. Yang, J. H. Lee, O. Y. Jung, C. I. Yang, Y. H. Choi, Y. G. Kim, K. S. Lee, I. S. Choi, Y. C. Cho, M. K. Kim, J. I. Lee, E. K. Jeong, J. H. Roh, K. J. Kim, H. G. Hwang, H. P. Moon, and Y. T. Lee. 2012c. A Medium-Maturing, Dull Cultivar 'Baegjinju 1' *Kor. J. Breed. Sci.* 44 : 57-61.
- Isshiki, M., M. Nakajima, H. sato, and K. Shimanoto, 2000. dull: rice mutants with tissue-specific effects on the splicing of the waxy pre-mRNA. *The Plant Journal* 23(4) : 451-460.
- Jeung, J. U., B. R. Kim, Y. C. Cho, S. S. Han, H. P. Moon, Y. T. Lee, and K. K. Jena. 2007. A novel gene, *Pi40(t)*, linked to the DNA markers derived from NBS-LRR motifs confers broad spectrum of blast resistance in rice. *Theor. Appl. Genet.* 115 : 1163-1177.
- Jeung, J. U., B. J. Choi, K. H. Kang, Y. J. Mo, S. B. Lee, S. K. Oh, and B. K. Kim. 2011. Genetic analysis on the bacterial blight resistance gene from a wild relative, *Oryza minuta*. *Kor. J. Breed. Sci.* 46 : 17-27.
- Jeung, J. U., T. H. Roh, K. H. Kang, Y. S. Shin, and Y. G. Kim. 2011b. Genetic analysis on the bacterial blight resistance gene from a wild relative, *Oryza minuta*. *Korean J. Crop Sci.* 56(2) : 124-133.
- Kaushik, R. P. and G. S. Khush. 1991. Genetic analysis of endosperm mutants in rice *Oryza sativa L.*. *Theor. Appl. Genet.* 83 : 146-152.
- Kim, H. Y., K. H. Kang, H. G. Hwang, H. P. Moon, and I. S. Choi. 2003. A semi-early maturing, high yielding and processing japonica rice cultivar "Namilbyeo". *Treat. Of Crop Res.* 4 : 141-148.
- Kiswara, G., J. H. Lee, Y. J. Hur, J. H. Cho, J. Y. Lee, S. Y. Kim, Y. B. Sohn, Y. C. Song, M. H. Nam, B. W. Yun, and K. M. Kim. 2014. Genetic analysis and molecular mapping of low amylose gene *du12(t)* in rice (*Oryza sativa L.*). *Theor. Appl. Genet.* 127 : 51-57.
- KOSTAT 2014. Food Grain Consumption Survey. Statistics Korea.
- Kum, J. S. 2010. Nutrition of rice and rice processing food. *Food Preservation and Processing Industry* 9 : 38-54.
- Lincoln, S., M. Daly, and E. S. Lander. 1992. Constructing Genetic Maps with MAPMAKER/EXP 3.0. Whitehead Institute Technical Report, Cambridge, Massachusetts.
- Mo, Y. J., J. U. Jeung, K. H. Kang, J. S. Lee, and B. K. Kim. 2013a. Genetic Analysis on Floury Endosperm Characteristics of 'Namil(SA)-flo1', a Japonica Rice Mutant Line. *Kor. J. Crop. Sci.* 58 : 283-291.
- Mo, Y. J., J. U. Jeung, Y. S. Shin, C. S. Park, K. H. Kang, and B. K. Kim. 2013b. Agronomic and genetic analysis of Suweon 542, a rice floury mutant line suitable for dry milling. *Rice* 6 : 37.
- McCouch, S. R., L. Teytelman, Y. Xu, K. B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. Li, Y. Xing, Q. Zhang, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S. Cartinhour, D. Ware, and L. Stein. 2002. Development and Mapping of 2240 New SSR Markers for Rice (*Oryza sativa L.*). *DNA Res.* 9 : 199-207.
- Shin, Y. S., Y. J. Won, E. K. Ahn, Y. G. Kim, M. K. Kim, H. G. Hwang, Y. H. Yoon, J. H. Lee, I. S. Choi, K. S. Yoon, S. K. Oh, K. H. Kang, J. Y. Shon, Y. H. Jeon, and J. C. Shin. 2012. An Early-Maturing, Blast Resistant and Low Amylose Rice Variety 'Seolbaek'. *Kor. J. Breed. Sci.* 44 : 597-601.
- Song, Y. C., J. S. Lee, W. G. Ha, H. G. Hwang, S. J. Lim, U. S.

- Yeo, N. B. Park, D. Y. Kwak, J. K. Jang, J. H. Lee, D. S. Park, K. H. Jung, E. K. Jeong, M. H. Nam, Y. D. Kim, M. K. Kim, O. K. Kwon, and B. G. Oh. 2010. A New Early Maturing Blackish Purple Pigmented Glutinous Rice Variety, 'Josaengheugchal'. Kor. J. Breed. Sci. 42 : 262-266.
- Yano, M., K. Okuno, H. Satoh, and T. Omura. 1988. Chromosomal location of genes conditioning low amylose content of endosperm starches in rice, *Oryza sativa* L. Theor. Appl. Genet. 76 : 183-189.
- You, S. Y., E. J. Lee, and H. J. Chung. 2014. Study of Molecular and Crystalline Structure and Physicochemical Properties of Rice Starch with Varying Amylose Content. Korean J. Food Sci. Technol. 46 : 682-688.
- Zeng, D., M. Yan, Y. Wang, X. Liu, Q. Qian, and J. Li. 2007. *Du1*, encoding a novel *Prp1* protein, regulates starch biosynthesis through affecting the splicing of *Wx^b* pre-mRNAs in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Mol. Biol. 65 : 501-509.