

DNA marker를 이용한 벼의 조직배양 효율 개선

김 경 민*

상주대학교 생명자원과학대학 환경원예학과

Received March 23, 2006 / Accepted April 18, 2006

Improvement of Cultural Efficiency Using DNA Markers in Anther and Seed Culture of Rice.
 Kyung-Min Kim*. *Department of Environmental Horticulture, Sangju National University, Sangju, Kyungbuk, 742-711, Korea* – The purpose of this study is to improve the culturability of a *indica* type rice cultivar, IR 36, using DNA marker associated with the ability of plant regeneration in anther and seed culture. The varietal difference of ability of callus formation and plant regeneration was investigated in anther and seed culture of 8 rice cultivars. Three *japonica* rice cultivars showed to have better culturability than those of *tongil* and *indica* type genotypes. But two *indica/japonica* lines, 'MGRI 079' and 'MGRI 036', which were selected to have good culturability in previous study showed the highest regenerability (20%) in anther culture of 8 rice cultivars. Thirty four BC₂F₄ lines were selected by marker screening using RZ400 for 100 BC₂F₄ lines derived from a cross 'MGRI 079/IR 36'^{3r}. The frequency of callus formation of 30 BC₂F₄ lines was higher than those of 'IR 36' in anther culture of the selected BC₂F₄ lines. The ability of plant regeneration of 15 lines was higher than that of 'IR 36' in the seed culture of 34 BC₂F₄ lines. A promising line, BC₂F₄-28, was selected to have better culturability in the anther and seed culture of the BC₂F₄ lines. The heading date and grain shape of the BC₂F₄-28 was similar to 'IR 36'. In seed culture of 50 BC₄F₃ lines derived from a rice cross 'MGRI 079/IR 36'^{5r}, 11 lines including BC₄F₃-3 showed to have higher regenerability compared with 'IR 36'. The highest frequency of plant regeneration (11%) was obtained from BC₄F₃-46 in seed culture of the BC₄F₃ lines.

Key words – IR36, anther culture, MAS, culturability

서 론

벼 약배양(anther culture) 기법은 자식성 작물의 경우 조기에 homozygous한 계통을 얻을 수 있어 육종연환을 크게 단축시킬 수 있고, 생산된 반수체는 열성형질의 출현빈도가 높아 유용열성인자를 쉽게 이용할 수 있는 등의 장점이 있다 [1]. 그러나 높은 빈도로 출현되는 백색체와 변이체, 배양 효율의 genotype 간 차이 등은 약배양의 실용화에 큰 장애요인이 되고 있다[2,4]. 특히 인디카형 벼의 조직배양에서 식물체 재분화율을 향상시키기 위한 여러 가지 연구가 수행되어 왔지만 자포니카형에 비해 배양 효율의 개선효과는 저조한 실정이다. 이런 이유 때문에 다양한 유전자원을 대상으로 한 재분화율을 향상시키려는 노력에도 불구하고 인디카형 벼의 품종개량에는 조직배양의 이용성효과가 그다지 높지 못하다. 오늘날 분자 생물학이 발달하면서 양적형질에 대해서도 관련 유전자의 염색체상 위치를 구체적으로 밝히고 이를 질적형질처럼 선발할 수 있는 방법들이 제시되고 있다. 즉 DNA marker를 이용한 유전자 지도의 작성과 양적형질 유전자좌 분석(QTL: quantitative trait loci) 및 QTL marker를 이용한

유용형질의 선발방안이 다수의 식물에서 연구되고 있다 [5,8,10,11,13,14]. 통일형 벼인 '밀양23호'에 자포니카형인 '기호벼'가 교배되어 육성된 164 RIL (recombinant inbred line) 집단의 약과 현미를 배양하여 배양효율과 관련된 QTL을 mapping하였다[6,7]. 그리고 식물체 재분화율에 관여하는 QTL과 관련된 DNA marker를 선발하고 이 marker에 의해 배양효율을 개선할 수 있다고 하였다. 따라서 본 연구에서는 인디카형 벼인 'IR 36'의 조직배양 효율을 개선하기 위하여 양성된 여교잡 집단을 대상으로 약과 현미배양을 실시하고, 각각의 배양효율과 DNA marker와의 관계를 비교하면서 marker-assisted selection (MAS)의 실용성에 대해 검토한 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

배양재료

본 실험에는 '밀양23호'와 '기호벼'가 교배된 재조합 자식성유전집단 (MG RIL; Milyang23-Gihobyeo recombinant inbred lines)[8]에서 약배양 효율이 높은 계통으로 선발된 'MGRI 079'에 'IR36'이 반복친으로 교배되어 양성된 BC₂F₄세대 100계통과 'MGRI 036'에 'IR36'이 여교배(back cross)되어 양성된 BC₄F₃세대 50계통을 공시하였다. 2004년 하계에 'MGRI 079/IR 36' 조합의 BC₃F₄ 100계통을 경북대학교 농업

*Corresponding author

Tel : +82-54-530-5233, Fax : +82-54-530-5239

E-mail : kkm@sangju.ac.kr

생명과학대학 실습포장에 30×15 cm의 재식밀도로 주당 1본씩 계통재배하였다. 최고본엽기 전후에 각 계통별로 DNA를 채취하여 Kwon과 Shon[6] 및 Kwon 등[9]이 선발한 RFLP marker (RZ400) 분석을 실시하고, DNA marker에 의해 선발된 계통의 약과 현미를 계통별로 배양하였다. 'MGRI 036/IR 36'조합의 BC₄F₂세대를 2003년 하계에 위와같은 방법으로 교내 실습포장에 전개하고 계통별로 종자를 채종한 BC₄F₃계통의 현미를 배양하였다.

Southern hybridization 분석

Southern 분석을 위해서 3 µg의 genomic DNA를 EcoR I (Takara)으로 digestion 처리한 후 0.8%의 agarose gel 상에서 37 V의 전압으로 16~19시간 전기영동을 하여 nylon membrane (Hybond-N⁺, Amersham)에 transfer 하였다. Probe 제작은 RZ 400을 농촌진흥청 농업과학기술원으로부터 분양받아 marker로 알려진 부분만을 PCR로 증폭한 뒤 probe로 사용하였다. Prehybridization은 prehybridization용액 (5×SSC, 5×Denhardt's solution, 0.1% SDS, 50 mM Na-Pi (pH 6.5), 0.1 mg/ml denatured sperm DNA, 50% dextran sulfate)에 42℃ 용액에서 2시간 동안 incubation하여 α-P³²-dCTP로 labeling한 뒤 hybridization하였다. Hybridization이 끝난 membrane은 X-ray film에 장착한 후 -70℃, 3일간 노출시켜 다형성 밴드를 조사하였다.

약배양

약배양은 화분발달단계가 1핵성 소포자의 이삭을 채취하여 12℃에 10일간 저온처리 된 약을 2 mg/ℓ NAA, 0.2 mg/ℓ kinetin, 30 g/ℓ sucrose, 5 g/ℓ gelrite 가 첨가된 N₆-Y₁배지[3]에 배양한 다음 Kwon과 Sohn[6]의 방법에 준하여 수행하였다. 종자배양은 캘러스를 형성하기 위하여 2

mg/ℓ 의 2,4-D와 2 g/ℓ 의 casein hydrolysate (CH), 30 g/ℓ sucrose와 5 g/ℓ gelrite가 첨가된 N₆-Y₁배지를 이용하였으며, sucrose와 gelrite 농도가 캘러스형성에서와 동일하고 5 mg/ℓ kinetin과 1 mg/ℓ NAA가 첨가된 N₆-Y₁배지에서 캘러스로부터 식물체를 재분화 시켰다.

생육 특성조사

본 실험에 공시한 'MGRI 079/IR 36'조합의 BC₂F₄ 100 계통을 대상으로 출수기(heading data), 간장(culm length), 수장(panicle length), 수수(panicle number)를 농촌진흥청의 농사시험 조사기준에 따라 조사하였고 그중 배양 효율이 높았던 6계통은 현미의 길이, 폭, 두께 및 무게를 조사하고 길이와 폭의 비로 장폭비를 구하였다.

결과 및 고찰

Genotype간 재분화능력 비교

품종간 식물체 재분화 능력을 비교하기 위하여 자포니카형 벼 3품종('기호벼', '낙동벼', '일품벼'), 통일형 4품종 및 계통('밀양23호', '삼강벼', 'MGRI 079', 'MGRI 036')과 인디카형인 'IR 36'의 약과 현미를 배양하고 품종별로 캘러스형성과 식물체 재분화율을 조사하였다(Table 1).

그 결과 자포니카형이 통일형이나 인디카형 벼에서보다 캘러스형성률이나 식물체 분화율이 높게 나타났으며, 자포니카형 벼의 약배양에서는 '기호벼'의 식물체 재분화율이 8.5%로 가장 높게 나타났다. Kwon과 Sohn[6]에 의해 MGRI 164계통 중에서 약배양 효율이 높은 계통으로 선발된 'MGRI 036'과 'MGRI 079'의 약배양에서 조사된 식물체 분화율은 각각 19.8%와 19.9%로 공시품종 중에서 가장 높게 나타났으며, 현미배양에서도 같은 경향이였다.

Table 1. Genotypic difference of callus formation and plant regeneration in anther and seed culture of rice

Cultivars	Anther culture			Seed culture			
	No. of anthers inoculated	% of anthers forming callus	% of plant regeneration	No. of seeds cultured	% of seeds forming callus	Callus weight per a seed (mg)	% of plant regeneration
<i>Japonica</i>							
Gihobyeo	588	15.8	8.5	60	86.7	186.6± 5.4 ^{a)}	14.8
Nagdongbyeo	329	18.2	5.1	60	93.3	181.8±10.9	69.0
Ilpumbyeo	500	18.2	4.9	60	95.0	161.7± 5.6	57.0
<i>Tongil</i>							
Milyang 23	901	11.4	1.0	60	36.7	84.8± 7.5	8.7
Samgangbyeo	309	4.4	1.0	60	55.0	79.8± 5.2	12.3
MGRI 079	343	43.1	19.8	60	80.0	157.7± 8.8	27.0
MGRI 036	357	43.7	19.9	60	95.0	179.0± 3.5	52.0
<i>Indica</i>							
IR 36	1000	0.2	0.0	60	56.7	58.7± 5.6	0.0

^{a)} Mean±SD.

벼 약배양에서 식물체 재분화 능력이 genotype간에 큰 차이를 보인다는 것은 약배양 초기부터 알려져 왔는데[1,12], 본 연구에서도 식물체 재분화능력은 자포니카>인디카/자포니카>인디카 형 품종의 순으로 나타났다. Kwon과 Sohn[6]은 '밀양 23호/기호벼' 조합에서 양성된 RIL 164 계통의 약배양에서 'MGRI 079'와 '036'의 식물체 재분화율은 양친중 재분화율이 높은친인 '기호벼'보다도 높다고 하였는데 본 연구에서도 이 두 계통의 약배양 효율은 공시된 자포니카형 품종들 보다도 훨씬 높게 나타났다.

DNA marker를 이용한 식물체 분화능력 개선

'MGRI 079/IR 36'조합의 BC₁F₁ 종자를 세대 진전시켜 BC₁F₂ 집단을 양성하고 100개체를 대상으로 marker (RZ 400)분석을 실시하여 'MGRI 079' type 11개체를 선발하였다. 선발된 BC₁F₂ 개체에 'IR 36'을 한 번 더 여교배하여 BC₂F₂ 및 BC₂F₃ 세대를 양성하였다. BC₂F₃ 세대에서 농업형질이 'IR 36'과 유사한 100개체를 선발하여 BC₂F₄ 계통을 양성하고 marker screening을 실시하여 'MGRI 079'형의 밴드 양상을 보이는 34개체를 선발하였다(Fig. 1).

공시 계통의 교배 모·부분인 'MGRI 079'와 'IR 36'및 이들 조합의 BC₂F₄계통에 대해 marker 검정을 실시하여 선발된 34 계통의 약 및 현미를 배양한 결과, 약배양에서 'MGRI 079'는 49.5%의 높은 켈러스 형성률을 보였으나 인디카형인 'IR 36'은 켈러스가 거의 생성되지 않았고, 약배양된 BC₂F₄ 계통의 대부분은 'IR 36'보다 높은 켈러스 형성률을 나타내었다. 현미배양에서도 'MGRI 079'는 26%의 비교적 높은 식물체 분화율을 보이는데 비해 'IR 36'은 전혀 식물체가 생성되지 않았다. 현미배양된 BC₂F₄ 계통중에서 BC₂F₄-28 외 5계통은 2% 이상의 비교적 높은 식물체 재분화율을 나타내었다(Table 2).

이상의 결과로부터 벼의 약 및 현미배양에서 DNA mark-

er 이용에 의한 배양 효율 개량 효과를 실험적으로 확인할 수 있었는데, Kwon 등[7,9]도 벼의 약배양과 현미배양에서 MAS에 의해 배양효율을 개량할 수 있다고 하였다. 그리고 조직배양 효율이 비교적 높았던 BC₂F₄ 6계통의 미립특성을 조사한바(Table 3), 조사된 계통들의 현미길이는 대부분 'IR 36'과 유사하였고 장·폭비도 자포니카형인 '낙동벼'보다 높게 나타났다. 그러나 현미의 천립중에서는 아직도 계통간 차이가 비교적 큰 편이었다. 약 및 현미배양 효율이 'IR 36'보다 높고 주요 작물학적 특성이 'IR 36'과 유사한 계통을 선발하여 'IR 36'을 반복친으로 여교잡을 추가로 실시하고 marker 검정과 약배양을 병행한다면 조직배양 효율이 높은 'IR 36'의 선발이 가능할 것으로 사료된다.

'IR 36'의 현미배양효율을 개선하기 위하여 현미배양에서 재분화율이 높은 계통으로 선발된 'MGRI 036'을 자방친으로 하고 'IR 36'을 화분친으로 인공교배하여 양성된 F₃ 계통을 대상으로 marker (RZ575) 검정을 실시하였다. 그리고 DNA marker 검정에 의해 선발된 계통을 1회친으로 하고 'IR 36'을 반복친으로 여교잡하여 양성된 BC₄F₃ (Fig. 2) 50계통에 대한 현미배양을 실시한바(Table 4), 'MGRI 036'은 43.0%의 높은 식물체 재분화율을 나타내었으나, 'IR 36'은 전혀 식물체를 형성하지 못하였고, 공시계통 중에서 5% 이상의 식물체 재분화율을 보이는 계통은 BC₄F₃-3 외 3계통이었다. 이 중에서 BC₄F₃-46의 식물체 재분화율이 11%로 가장 높았다. Kwon 등[9]도 벼의 현미배양에서 DNA marker를 이용하여 배양효율을 개량할 수 있다고 하였는데, 'IR 36'이 3회 여교잡된 BC₄F₃ 계통의 현미를 배양한 본 연구에서도 식물체 재분화율이 높은 계통을 선발할 수 있었다.

본 연구에서 식물체 재분화율이 높게 나타난 계통들은 앞으로 인디카형 품종들의 조직배양 효율 개선에 중간모본으로 매우 유익하게 이용될 수 있을 것이다.

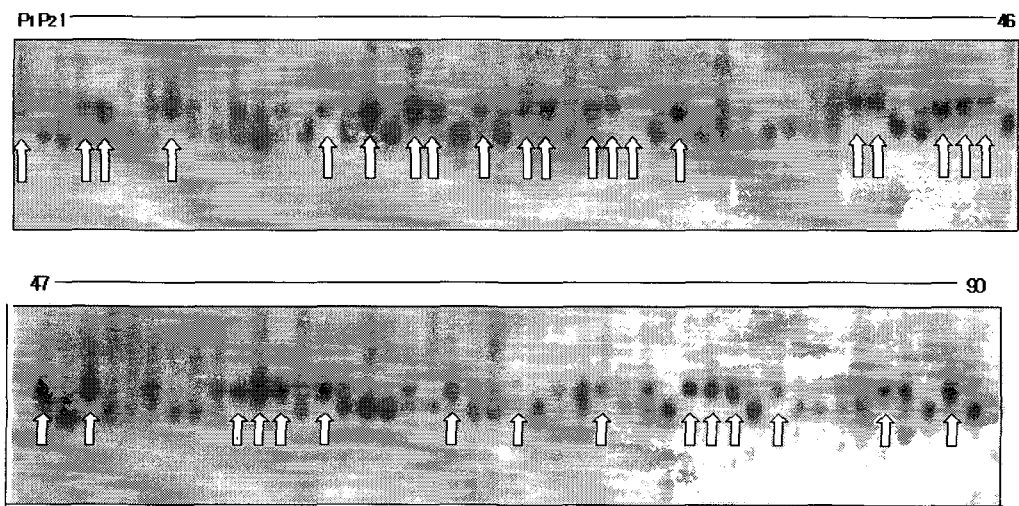


Fig. 1. Autoradiography of southern hybridization of genomic DNAs with radiolabelled probe RZ400 in 90 BC₂F₄ lines derived from a cross 'MGRI 079/IR 36'. P₁ : MGRI 079, P₂ : IR 36, ↑ : Designated MGRI 079 allele.

Table 2. Comparison of cultural efficiency in anther and seed culture of 34 BC₂F₄ lines from a cross 'MGRI 079/IR 36'^{3r}

Cultivars	Anther culture		Seed culture		
	No. of anthers inoculated	% of anthers forming callus	No. of seeds cultured	% of seeds forming callus	% of plant regeneration
MGRI 079(P ₁)	800	49.5	196	68.4	26.0
IR 36(P ₂)	1600	0.2	174	49.4	0.0
BC ₂ F ₄ -2	412	2.2	144	69.4	4.3
BC ₂ F ₄ -3	351	2.6	118	40.7	0.0
BC ₂ F ₄ -6	265	4.5	88	54.5	0.0
BC ₂ F ₄ -13	1000	0.0	156	73.1	0.0
BC ₂ F ₄ -15	552	1.1	219	58.0	2.0
BC ₂ F ₄ -17	147	2.0	139	58.3	0.0
BC ₂ F ₄ -18	491	1.6	196	66.3	2.1
BC ₂ F ₄ -21	165	1.2	149	51.7	0.6
BC ₂ F ₄ -23	1000	0.0	138	66.7	0.0
BC ₂ F ₄ -24	721	4.2	120	75.8	1.3
BC ₂ F ₄ -26	988	6.5	77	72.7	0.0
BC ₂ F ₄ -27	450	0.4	86	70.9	2.0
BC ₂ F ₄ -28	652	5.7	89	40.4	3.1
BC ₂ F ₄ -31	189	1.1	86	61.6	0.0
BC ₂ F ₄ -39	543	1.3	87	62.1	0.0
BC ₂ F ₄ -40	364	1.9	106	80.2	0.0
BC ₂ F ₄ -43	752	3.9	115	69.6	0.0
BC ₂ F ₄ -44	172	1.2	146	74.7	0.0
BC ₂ F ₄ -45	93	1.1	102	53.9	0.0
BC ₂ F ₄ -47	241	1.7	125	76.0	0.0
BC ₂ F ₄ -49	496	2.8	114	87.7	0.5
BC ₂ F ₄ -56	405	5.4	178	52.2	0.0
BC ₂ F ₄ -57	262	2.3	175	45.1	0.0
BC ₂ F ₄ -58	393	2.0	174	58.0	0.0
BC ₂ F ₄ -60	418	3.3	207	73.9	0.3
BC ₂ F ₄ -66	364	1.1	182	85.7	0.5
BC ₂ F ₄ -69	557	3.1	139	76.3	1.6
BC ₂ F ₄ -73	262	1.5	199	69.3	0.0
BC ₂ F ₄ -77	759	5.9	217	70.0	0.0
BC ₂ F ₄ -78	800	0.0	200	78.5	1.5
BC ₂ F ₄ -79	294	5.4	170	66.5	0.0
BC ₂ F ₄ -81	400	0.0	180	70.0	1.7
BC ₂ F ₄ -86	266	1.1	190	69.5	3.5
BC ₂ F ₄ -89	463	3.7	186	64.0	0.0
Nagdongbyeo	395	18.2	137	92.7	53.7

Table 3. Grain characteristics of 6 BC₂F₄ lines from a rice cross 'MGRI 079/IR 36'^{3r}

Cultivars and lines	Brown rice				1000-grain weight of brown rice (g)
	Grain length (mm)	Grain width (mm)	Length/width	Grain thickness (mm)	
MGRI 079	5.96±0.19 ^{a)}	2.25±0.10	2.65±0.11	1.83±0.07	1.91
IR 36	6.58±0.09	2.11±0.07	3.12±0.10	1.66±0.07	1.89
BC ₂ F ₄ - 2	6.02±0.48	2.14±0.10	2.81±0.23	1.69±0.06	1.76
BC ₂ F ₄ -15	6.33±0.24	2.07±0.08	3.06±0.14	1.67±0.10	1.64
BC ₂ F ₄ -18	6.43±0.15	2.23±0.10	2.88±0.22	1.63±0.06	1.84
BC ₂ F ₄ -27	6.07±0.16	2.20±0.13	2.76±0.14	1.65±0.07	1.79
BC ₂ F ₄ -28	6.48±0.88	2.11±0.13	3.07±0.13	1.71±0.08	1.66
BC ₂ F ₄ -86	6.49±0.31	2.10±0.09	3.09±0.18	1.64±0.08	1.82
Nagdongbyeo	5.09±0.11	2.87±0.11	1.78±0.07	2.07±0.08	2.11

^{a)} Mean±SD.

요약

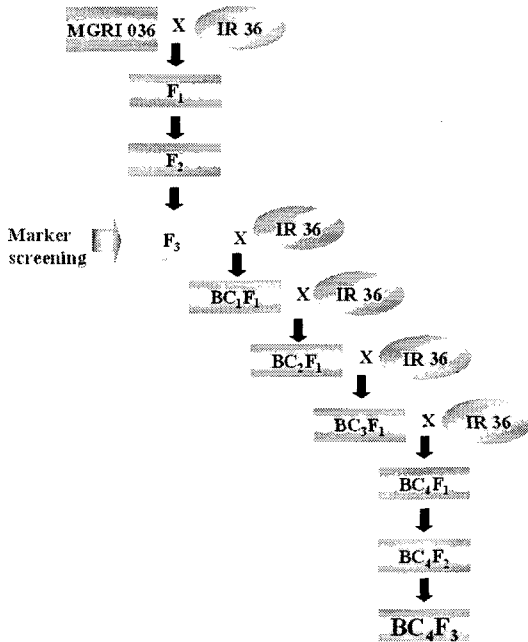


Fig. 2. Development of backcrossed generation from a cross 'MGRI 036/IR 36'.

벼의 약 및 현미 배양효율과 관련된 DNA marker를 이용하여 인디카형 벼 품종인 'IR 36'의 조직배양 효율을 개선하기 위하여 실험한 결과를 요약하면 다음과 같다. MGRI 집단 의 약배양에서 식물체분화율이 높은 계통으로 선발된 'MGRI 079'와 'MGRI 036'의 약배양 효율은 각각 19.8%, 19.9%로 가장 높게 나타났다. 'MGRI 079'에 'IR 36'이 여교배 되어 양성된 BC₂F₄ 100 계통에 대한 marker 검정을 실시하여 선발된 34 계통중 약배양에서 캘러스 형성률이 'IR 36'보다 높은 계통은 30계통이었고, 현미배양에서 'IR 36'보다 식물체 분화율이 높은 계통은 BC₂F₄-28 외 14 계통이었다. BC₂F₄ 34계통 중에서 식물체분화능력이 높은 계통으로 선발된 BC₂F₄-28은 간장이 'IR 36'보다 큰 편이었으나 출수기와 미립특성은 'IR 36'과 비슷하였다. 'MGRI 036'에 'IR 36'을 반복친으로 여교배하여 양성된 BC₄F₃ 50계통의 현미배양을 실시한 결과 'IR 36'보다 식물체 재분화율이 높은 계통은 BC₄F₃-3 외 10 계통이었고, 그중 BC₄F₃-46의 식물체 재분화율이 11%로 가장 높게 나타났다.

Table 4. Capacity of callus formation and plant regeneration in seed culture of 50 BC₄F₃ lines from a rice cross 'MGRI 036/IR 36'

Cultivars	No. of seeds cultured	% of seeds forming callus	Fresh weight per a seed (mg)	No. of calli transferred	% of plant regeneration
MGRI036(P ₁)	60	95.0	172.9±9.2 ^{a)}	100	43.0
IR36(P ₂)	60	80.0	60.3±10.6	100	0.0
BC ₄ F ₃ -1	60	83.3	30.8±1.5	-	-
BC ₄ F ₃ -2	60	81.7	47.0±3.9	100	0.0
BC ₄ F ₃ -3	60	65.0	69.8±8.9	100	7.0
BC ₄ F ₃ -4	60	66.7	69.8±1.4	100	0.0
BC ₄ F ₃ -5	60	66.7	27.9±3.4	100	0.0
BC ₄ F ₃ -6	60	75.0	60.2±6.6	100	0.0
BC ₄ F ₃ -7	60	75.0	84.6±8.2	100	0.0
BC ₄ F ₃ -8	60	78.3	87.4±8.2	-	-
BC ₄ F ₃ -9	60	80.0	112.0±7.9	100	0.0
BC ₄ F ₃ -10	60	78.3	84.4±2.6	100	0.0
BC ₄ F ₃ -11	60	80.0	113.5±6.9	100	0.0
BC ₄ F ₃ -12	60	75.0	110.6±5.3	100	0.0
BC ₄ F ₃ -13	60	75.0	172.6±9.3	100	0.0
BC ₄ F ₃ -14	60	71.7	114.0±5.8	100	0.0
BC ₄ F ₃ -15	60	66.7	109.1±8.5	100	1.0
BC ₄ F ₃ -16	60	70.0	126.2±9.2	100	0.0
BC ₄ F ₃ -17	60	81.7	78.7±5.0	100	0.0
BC ₄ F ₃ -18	60	78.3	98.5±9.6	100	0.0
BC ₄ F ₃ -19	60	86.7	175.5±9.4	100	0.0
BC ₄ F ₃ -20	60	83.3	111.4±10.0	100	0.0
BC ₄ F ₃ -21	60	90.0	158.0±8.6	100	0.0
BC ₄ F ₃ -22	60	68.3	165.7±5.3	100	0.0
BC ₄ F ₃ -23	60	95.0	152.9±3.1	100	0.0

^{a)} Mean±SD.

Table 4. continued

Cultivars	No. of seeds cultured	% of seeds forming callus	Fresh weight per a seed (mg)	No. of calli transferred	% of plant regeneration
BC ₄ F ₃ -24	60	56.7	163.7±5.3 ^{a)}	100	0.0
BC ₄ F ₃ -25	60	65.0	163.6±7.7	100	1.0
BC ₄ F ₃ -26	60	88.3	121.2±2.7	100	0.0
BC ₄ F ₃ -27	60	83.3	131.7±6.9	100	0.0
BC ₄ F ₃ -28	60	81.7	181.6±7.1	100	1.0
BC ₄ F ₃ -29	60	80.0	170.9±2.1	100	1.0
BC ₄ F ₃ -30	60	80.0	147.6±9.3	100	0.0
BC ₄ F ₃ -31	60	81.7	172.0±3.5	100	0.0
BC ₄ F ₃ -32	60	73.3	151.0±4.0	100	0.0
BC ₄ F ₃ -33	60	65.0	205.7±9.7	100	0.0
BC ₄ F ₃ -34	60	53.3	142.2±3.7	100	0.0
BC ₄ F ₃ -35	60	73.3	155.3±9.6	100	0.0
BC ₄ F ₃ -36	60	81.7	146.8±11.1	100	0.0
BC ₄ F ₃ -37	60	76.7	210.5±10.1	100	2.0
BC ₄ F ₃ -38	60	81.7	193.7±7.5	100	0.0
BC ₄ F ₃ -39	60	66.7	173.4±8.9	100	0.0
BC ₄ F ₃ -40	60	68.3	122.0±11.9	100	0.0
BC ₄ F ₃ -41	60	70.0	130.0±11.3	100	1.0
BC ₄ F ₃ -42	60	71.7	144.0±9.7	100	1.0
BC ₄ F ₃ -43	60	80.0	70.4±10.0	100	6.0
BC ₄ F ₃ -44	60	78.3	82.1±5.4	100	5.0
BC ₄ F ₃ -45	60	85.0	60.6±6.5	100	0.0
BC ₄ F ₃ -46	60	60.0	59.7±7.2	100	11.0
BC ₄ F ₃ -47	60	63.3	65.9±3.0	100	0.0
BC ₄ F ₃ -48	60	66.7	72.5±8.4	100	0.0
BC ₄ F ₃ -49	60	56.7	77.7±6.2	100	0.0
BC ₄ F ₃ -50	60	85.0	87.2±8.6	100	0.0

^{a)} Mean±SD.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고 문헌

- Chen, C., H. Tsay and C. Huang. 1991. Factors affecting androgenesis in rice (*Oryza sativa* L.). In : Rice, Y.P.S. Bajaj (ed), Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 14, Springer-Verlag, Berlin, pp. 193-215.
- Chung, G. S. 1985. Application of anther culture techniques to rice improvement. *Korean J. Plant Tissue Culture* **12**, 35-55.
- Chung, G. S. and J. K. Sohn. 1986. Application of anther culture techniques to rice improvement, Research Report Yeongnam Crop Experimental Station, Rural Development Administration, Korea, Milyang, pp. 277-286.
- Croughan, T. P. and Q. R. Chu. 1991. Rice(*Oryza sativa* L.) : Establishment of callus culture and the regeneration of plants. In : Rice, Y.P.S. Baja(ed), Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 14, Springer-Verlag, Berlin, pp. 19-37.
- Kearsey, M. J. 1998. The principles of QTL analysis(a minimal mathematics approach). *Journal of Experimental Botany* **49**, 1619-1623.
- Kwon, Y. S. and J. K. Sohn. 2000. Varietal difference and inheritance of plant regenerability in anther culture of rice. *Korean J. Plant Tissue Culture* **27**, 163-167.
- Kwon, Y. S., M. Y. Eun and J. K. Sohn. 2001. Marker-assisted selection for identification of plant regeneration ability of seed-derived calli in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Cells* **12**, 103-106.
- Kwon, Y. S., K. M. Kim., M. Y. Eun. and J. K. Sohn. 2001. Quantitative trait loci mapping associated with plant regeneration ability from seed derived-calli in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Cells* **11**, 64-67.
- Kwon, Y. S., K. M. Kim., D. H. Kim., M. Y. Eun. and J. K. Sohn. 2002. Marker-assisted introgression of quantitative trait loci associated with plant regeneration ability in

- anther culture of rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Cells* **14**, 24-28.
10. Law, C. N. 1995. Genetic manipulation in plant breeding-prospects and limitation, *Euphytica* **85**, 1-12.
 11. Nagamura, Y., B. A. Antonio and T. Sasaki. 1997. Rice molecular genetic map using RFLP and its applications. *Plant Molecular Biology* **35**, 79-87.
 12. Niizeki, H. and K. Oono. 1968. Induction of haploid rice plant form anther culture. *Proc. Jpn. Acad.* **44**, 554-557.
 13. Ukai, Y. 1999. Theory of QTL analysis. *Breeding Science* **1**, 25-31.
 14. Yano, M. and T. Sasaki. 1997. Genetic and molecular dissection of quantitative traits in rice. *Plant Molecular Biology* **35**, 145-153.