벼 도열병 저항성 신품종 ‘화원5호’

김동민¹ · 구홍광² · 강주원¹ · 한성숙³ · 안상낙^{1*}

¹충남대학교 농업생명과학대학, ²Agricultural Department, Agricultural College of Yanbian University, Longjing, Jilin 133400, China, ³농촌진흥청 국립식량과학원

A New Rice Variety ‘Hwaweon 5’ with Durable Resistance to Rice Blast

Dong-Min Kim¹, Hong-Guang Ju², Ju-Won Kang¹, Seong Sook Han³, and Sang-Nag Ahn^{1*}

¹Department of Agronomy, College of Agriculture & Life Sciences,
Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

²Agricultural Department, Agricultural College of Yanbian University, Longjing, Jilin 133400, China

³National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

Abstract : ‘Hwaweon 5’ was developed from a cross between the African upland cultivar, ‘Moroberekan’ and ‘Ilpumbyeo’ based on marker-aided backcross selection. The recurrent parent ‘Ilpumbyeo’ is a high grain quality cultivar with medium to late maturity. ‘Hwaweon 5’ is nearly isogenic to ‘Ilpumbyeo’ except for ‘Moroberekan’ introgressed segments on chromosomes 1, 4 and 6. The Moroberekan segment on Chromosome 4 has a resistance gene for blast. The preliminary and replicated yield trial was conducted at Chungnam National University in 2006 and 2007. The local adaptability test was carried out by the National Seed Management Office (NSMO) from 2008 to 2009. This cultivar was registered to NSMO designated as ‘Hwaweon 5’. This cultivar averaged 78 cm in culm length and has medium growth duration. Milled rice of ‘Hwaweon 5’ is translucent and the grain quality traits are comparable to those of the recurrent parent. It has low protein content. The yield potential of ‘Hwaweon 5’ in grain was about 6.53 MT/ha at the ordinary fertilizer level for two years. This variety showed highly resistance reaction at the blast nursery test at four locations and also at the sequential planting method. This resistance is due to the gene designated as *Pi45(t)* on chromosome 4 from Moroberekan. The *Pi45(t)* gene will be useful in enhancing resistance to blast in rice breeding program.

Keywords : Rice, Hwaweon 5, Marker-assisted selection, Blast, Durable resistance

서 언

*Magnaporthe oryzae*에 의해 발병되는 도열병은 세계의 모든 벼 재배 지역에서 발생하며, 벼의 수량 및 품질 등에 큰 영향을 미치는 병해 중 하나이다. 벼 도열병은 주로 불완전 세대(*Pyricularia grisea*)로 침입과 증식을 하는 것으로 알려져 있고(Asuyama 1965), 벼씨의 발아 직후부터 출수후의 성숙기까지 식물체의 전부위, 전 생육기에 걸쳐 지속적으로 발병한다. 도열병에 의한 피해를 줄이기 위해서는 저항성 벼 품종을 육성하여 재배하는 것이 가장 경제적이고 친환경적이다

(Bonnar et al. 1992). 지금까지 12개의 벼 염색체에 걸쳐 약 80 여개 이상의 도열병 저항성 유전자가 존재하고 있다고 보고되었다. 이 중 60 여개는 벼 genome 상의 위치가 밝혀졌고(Gramene database: <http://www.gramene.org/>), *Pita*, *Pi9*, *Pi21* 등 9개의 도열병저항성 유전자가 분리되어 그 기능이 동정되었다(Wang et al. 1999, Bryan et al. 2000, Qu et al. 2006, Chen et al. 2006, Zhou et al. 2006, Lin et al. 2007, Liu et al. 2007, Fukuoka et al. 2009). 이 중 7개의 유전자는 NBS-NRR 유전자 산물을 생산하는 것으로 밝혀졌으며, *Pid2* 유전자는 receptor-like kinase를 코딩하는 것으로 밝혀졌다. 대부분 분리된 유전자들은 단일 균계에 저항성을 보이는 진성저항성과 관련된 유전자들이다. 이러한 유전자를 지니고 있는 품종은 새로운 병원성 분화형의 출현으로 쉽고 빠르게 저항성이 붕괴되는 현상이 일어나고 있다(Han et al.

*Corresponding author (E-mail: ahnsn@cnu.ac.kr, Tel: +82-42-821-5728, Fax: +82-42-822-2631)

(Received on November 23, 2012. Revised on June 6, 2013.

Accepted on June 10, 2013.)

2000). 안정적이고 지속적으로 저항성을 보이는 내구저항성 품종을 육성하기 위해서 많은 연구자들이 광범위한 균계에 대해 지속적인 저항성을 보이는 내구저항성과 관련된 유전자 분석을 위해 많은 노력을 기울이고 있다. Fukuoka et al. (2009)는 발벼인 ‘Owarihatamochi’를 이용하여 여러 균계에 대해 저항성 반응을 지니게 하는 *Pi21*를 탐지하고 그 기능을 보고하였다. 본 연구진은 ‘일품벼’를 반복친, ‘모로베레칸’을 수여친으로 이용하여 도열병저항성, 수량구성요소, 출수기 등 양적형질에서 ‘일품벼’와 근동질 계통을 육성하는 연구를 수행하고 있다. 본 연구는 ‘일품벼’와 ‘모로베레칸’ 조합에서 유래한 이입계통 중에서 출수기 등 주요 농업적 특성은 ‘일품벼’와 유사하며 도열병저항성이 증진된 중간모본 신품종 ‘화원5호’를 개발하였기에 육성 경위와 주요 특성을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

본 연구는 ‘화원5호’와 ‘일품벼’를 공시하여 2001년부터 2005년까지 5년 동안 충남대학교와 식량과학원에서 계통육성과 도열병검정을, 2006, 2007년 2년간 충남대학교포장에서 생산력검정과 도열병 검정을 실시하였다. 도열병 발못자리 검정은 IRRI의 표준방법(1996), 연계재배법은 Kim et al. (2004)의 방법에 준하였다. 생산력검정은 4월 30일 파종하여 30일간 육묘한 후 5월 30일에 30 × 15cm의 재식거리로 주당 1-3본씩 이앙하고, 시비량은 N-P₂O₅-K₂O = 9-4.5-5.7 kg/10a로

재배하였다. 시험구배치는 완전임의배치법 3반복으로 하였다. 그 밖의 재배 관리와 주요 농업적 특성, 수량 특성, 병해충 저항성, 도정특성 조사는 농촌진흥청 신품종개발 공동연구사업 조사 기준에 준하여 실시하였다.

결과 및 고찰

육성경위

‘화원5호’의 육성 경위는 Fig. 1과 같다. 양질이지만 도열병에 이병성인 ‘일품벼’를 반복친으로, 한국에서 수집된 균계 중 약 30여개의 균계에 대하여 중도저항성 및 저항성을 보인 ‘모로베레칸’을 1회친으로 사용하였다. ‘일품벼/모로베레칸’ 조합에서 교배립을 확보하고 F₁ 식물체에 ‘일품벼’를 교배하여 10개의 BC₁F₁ 종자를 확보하였다. 다시 ‘일품벼’와 여교배하여 22개의 BC₂F₁ 식물체를 확보하였고 2,000여개의 BC₃F₁ 종자를 확보하였다. 이들 2,000여개의 식물체를 파종하여 4개의 균계(KJ-201, KI-313, KI-409 그리고 KI-1113a)를 각각 혹은 동시 접종하여 저항성을 보이는 1,105개의 BC₃F₁ 식물체를 포장에 이앙하였다. 이들 중 ‘일품벼’와 유사한 표현형을 보이는 279개의 개체를 선발하고 자식시켜 BC₃F₂ 계통을 육성하였다.

279 BC₃F₂ 계통의 유전자형을 분자표지를 이용하여 검정하고, 포장에서 특성 검정을 실시한 결과 출수기, 간장 등 주요 농업적인 형질에서 ‘일품벼’와 유사한 117 BC₃F₃ 계통을

Year	'07	'97/'98	'02	'03	'04	'05	'06	'07
Gen	F ₁	BC ₁ , BC ₂	BC ₃ F ₁	BC ₃ F ₂	BC ₃ F ₃	BC ₃ F ₄	BC ₃ F ₅	BC ₃ F ₆
Ilpumbyeo/ Moroberekan	1		1	Phenotyping and genotyping 279 BC ₂ F ₂ lines. Select one line.	Select a line (CR501-3) based on genotyping and blast reaction	MAS and phenotyping. Select CR501-59-12	MAS, PYT	MAS, PYT
	22		1105					
No. lines	(10)							
(No. plants)	(22)		(1105)	279	1	1	1	1
Remarks ^z							PYT	PYT

^zPYT: Preliminary Yield Trial

Fig. 1. Pedigree diagram of ‘Hwaweon 5’.

선발하였다(Ju et al. 2009). 117개 계통들의 발뭇자리 도열병 검정을 이전, 제천, 수원 및 대전 4개 지역에서 2년간(대전에서는 2007, 2008) 실시한 결과, 염색체 4번에 위치한 RM3843과 RM5709 사이에서 도열병 저항성 QTL이 탐지되었다(Fig. 2, Ju et al. 2009). 이 QTL은 4개 지역에서 2개년간 동시에 탐지되었으며, ‘모로베레칸’의 대립유전자가 도열병 저항성을 증진시켰는데 이 유전자를 *Pi45(t)*로 명명하였다(Ju et al. 2009). Fukuoka et al. (2012)는 ‘Owarihatamochi’에서 유래한 3개의 도열병 내구저항성 유전자, *qBR4-2a*, *qBR4-2b* 및 *qBR4-2c*가 유전분석을 통해 염색체 4번에 서로 밀접하게 위치하고 있으며, 이중 *qBR4-2a*와 *qBR4-2b*는 SSR 마커 RM3686-RM5709와 연관을 보였고, 육도 Kahei에서 유래한 저항성 유전자는 염색체 4번의 RM17496-RM6627 사이에서 탐지되었는데(Xu et al. 2008), 이들의 위치는 본 연구에서 탐지된 *Pi45(t)*와 유사한 위치인 것으로 나타났다.

Fig. 2. Graphical genotype of ‘Hwaweon5’ based on 134 SSR markers.

4번 염색체의 RM5749과 RM3333 지역에 ‘모로베레칸’의 염색체단편이 이입된 계통(13계통)과 이입되지 않은 계통(12계통)을 공시하여 도열병 내구저항성 검정을 위한 연계재배를 실시한 결과, ‘모로베레칸’의 염색체단편을 가지고 있는 13개 계통은 저항성반응, 없는 계통은 이병성 반응을 보여, ‘모로베레칸’의 유전자가 도열병 저항성을 증진시키는 것으로 나타났다(Ju et al. 2009). 2005년 BC₃F₄ 계통 중에서 ‘일품벼’와 작물학적 특성이 유사하고 목표 부위인 4번 염색체의 도열병 저항성유전자를 포함하는 계통, ‘CR501-59-12’를 선발하였다. 선발된 계통을 2006년과 2007년에 충남대학교 포장 및 식량과학원에서 생산력검정, 도열병 연계재배시험을 실시한 결과 품종보호원 출원조건에 부합하여 ‘화원5호’로 명명하고 품종보호원을 출원하였다.

분자표지인 SSR (Simple sequence repeat) 마커를 이용하여 ‘화원5호’에 이입된 ‘모로베레칸’의 염색체단편 검정한 결과, 3개의 염색체단편이 탐지되었는데, 이들은 각각 1번, 4번 및 6번 염색체의 SSR 마커 RM3468, RM3843-RM567 그리고 RM7269-RM6782 부근에 위치한 지역이었다(Fig. 2).

출수기 및 주요 농업적 특성

‘화원5호’의 출수기는 보통기 보비재배에서 평균 8월 19일로 ‘일품벼’와 동일한 중만생종이며, 간장은 78 cm로 ‘일품벼’와 유사하였다. ‘화원5호’의 이삭길이는 22 cm로 ‘일품벼’와 수준이며, 주당수수, 천립중, 수당립수는 ‘일품벼’와 유사하였다(Table 1). ‘화원5호’의 이삭 형태는 ‘일품벼’의 이삭과는 다른 형태를 보였는데, 등숙이 진행됨에 따라 ‘화원5호’의 1차 지경이 수축(rachis)과 거의 직각으로 발생한 형태를 보였다(Fig. 3). 이와 같은 이삭 구조는 야생벼에 많이 분포하는 형질로서 이를 spreading panicle로 보고하고 있다. 현재까지 4개의 유전자가 보고되고 있는데(Lou et al. 2008), 4번 염색체 장완에 *Spr3* 유전자를 보고하고 있다. Lou et al. (2008)는 아프리카 육도인 *O. glaberrima*에서 유래한 *Spr3*가 SSR 마커 RM5473과 연관됨을 보고하였는데 ‘화원5호’의 4번 염색

Table 1. Comparison of agronomic traits and yield components between Hwaweon5 and Ilpumbyeo.

(RYT : '06 -'07)

Variety	Heading date	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	Panicle number	Spikelets per panicle	Ratio of ripened grain (%)	1,000 grain weight (g) ^z
Hwaweon 5	Aug. 18	78	22	14	176	87.7	23.8
Ilpumbyeo	Aug. 18	76	22	14	169	90.9	24.1

^z1,000 grain weight with hull

Fig. 3. Spreading panicle of ‘Hwaweon 5’ (right).

체에 이입된 ‘모로베레칸’ 단편은 이 유전자를 포함하고 있는 것으로 판단된다. 위 결과로 볼 때 ‘화원5호’가 보유하고 있는 spreading panicle 형질은 *Spr3*에 의해 조절되는 것으로 보인다. 염색체 4번에 위치하고 있는 도열병 저항성 유전자와 *Spr3* 전자가 서로 밀접하게 연관되어 있는 것인지를 확인하기 위해 추가적인 실험을 수행하고 있다.

병해충저항성

‘화원5호’는 도열병에는 강하였으나 흰잎마름병, 줄무늬잎마름병, 오갈병과 검은줄오갈병에는 약하였고, 벼멸구 등 충해에도 약하였다(Table 2, 3, 4). 도열병 발못자리 검정에서 ‘화원5호’는 ‘일품벼’에 비해 저항성 반응을 보였으나, 본답

Table 2. Reaction of ‘Hwaweon 5’ at blast nursery test with percentage of diseased leaf area and neck blast.

Variety		Blast nursery (0-9) at 4 locations ^z				Diseased leaf area (%) at 3 locations			Neck blast (%) at 3 locations		
		Jecheon	Icheon	Suweon	Daejeon	Jecheon	Suweon	Daejeon	Jecheon	Suweon	Daejeon
Hwaweon 5	2006	2	2	3	^y	0	0	0	1	1.5	1
	2007	0	2	1	2	0	0	0	0.5	0	0
Ilpumbyeo	2006	9	6	7	-	0.2	3.0	0.5	10	30	5
	2007	6	7	7	8	0	0.01	0	2	0	0

^z0: resistant, 9: susceptible

^ynot available

Table 3. Disease severity and presence of compatible isolates by sequential planting method in ‘Hwaweon 5’ and the parents, ‘Ilpumbyeo’ and ‘Moroberekan’.

Variety		Diseased leaf area per each planting (%)							No. of compatible isolates ^z	Degree (0-7) ^y
		1	2	3	4	5	6	7		
Hwaweon 5	2006	4	1.5	2.5	4	2	2.8	3.5	9	0
	2007	3	1	0.2	5	5	1	3	9	0
Ilpumbyeo	2006	60	70	75	70	70	80	70	15	7
	2007	40	50	60	60	75	70	60	15	7
Moroberekan	2006	2.5	2.5	7.5	5.0	1.5	2.5	3.5	1	0
	2007	2.1	1.0	3.2	2.5	1.0	2.0	3.5	1	0

^zNumber of compatible isolates among 29 isolates

^y0: resistant, 7: susceptible (Kim et al. 2004)

Table 4. Reaction to major diseases and insects pest.

(NICS: '06)

Variety	Bacterial leaf blight			Virus disease		BPH ^z
	K1	K2	K3	Stripe	Dwarf	
Hwaweon 5	S	S	S	S	S	S
Ilpumbyeo	S	S	S	S	S	S

^zR: Resistant, S: Susceptible, BPH: Brown planthopper

Table 5. Milling properties and grain quality of 'Hwaweon 5'.

(NICS: '06-'07)

Variety	Milling recovery		Brown rice		
	Brown/Rough (%)	Head rice Grain ratio (%)	WC/WB (0-9)	Amylose content	ADV
Hwaweon 5	81.4	94.9	1/1	19.1	6.7
Ilpumbyeo	81.1	96.1	1/1	18.8	6.8

Table 6. Summarized results of Replicated Yield Trials.

('05 ~ '06)

Culture season	Region	No. of Tested site	Grain yield of Ilpumbyeo (MT/ha) (B)	Grain yield of Hwaweon 5 (MT/ha)			
				'05	'06	Mean (A)	Index (A/B)
Ordinary planting	Daejeon	1	6.38	6.54	6.52	6.53	102

에서의 병반면적은 두 계통간 차이가 없었다. 이는 공시된 2006, 2007 두 해의 도열병 피해가 심하지 않았기 때문인 것으로 생각되며 특히 2007년도에는 목도열병 이병률에서도 차이가 관찰되지 않았다.

도정 및 미질 특성

‘화원5호’의 도정특성은 ‘일품벼’와 비슷한 수준이며 쌀의 심복백도 ‘일품벼’에 비해 약간 있는 편이다(Table 5). 아밀로스 함량과 알칼리 붕괴도도 ‘일품벼’와 유사한 값을 보였다(Table 5).

수량성

‘화원5호’의 수량성은 2005년부터 2006년 2년간 실시한 생산력검정시험 결과 6.53 MT/ha로 ‘일품벼’보다 높은 값을 보였다(Table 6).

적 요

‘화원5호’는 ‘일품벼’의 유전적 배경에 ‘모로베레칸’의 도열병 저항성 유전자가 이입된 근동질 계통을 육성하기 위해 ‘일품벼’와 ‘모로베레칸’을 교배하고, 계속적인 여교배와 MAS를 병행 실시하여 육성한 계통이다. ‘화원5호’는 ‘일품벼’의 유전적 배경에 염색체 1번, 4번 및 6번에 ‘모로베레칸’의 염색체단편이 이입된 것으로 나타났으며, 염색체 4번에 위치한 ‘모로베레칸’의 단편이 도열병 저항성을 증진시켰다. ‘화원5호’의 출수기는 보통기 재배에서 8월 19일로 ‘일품벼’와 동일한 중생종 품종이며, 천립중은 23.8 g으로 ‘일품벼’와 유사한 수준이었다. 완전미율은 ‘일품벼’에 비해 약간 낮았고,

아밀로스 함량은 ‘일품벼’보다 높았으나 통계적인 차이는 없었다. ‘화원5호’의 정조수량은 2005년부터 2006년간 실시한 생산력검정 시험에서 평균 6.53 MT/ha로 ‘일품벼’ 대비 102% 수준이었다. 4개 지역에서 2개년간의 발못자리 검정 및 연계 재배법을 이용한 도열병 검정 결과, ‘화원5호’는 ‘일품벼’에 비해 도열병 저항성이 증진된 것으로 나타났다. 생산력검정 시험 결과 조사된 형질 중 도열병저항성을 제외한 기타 형질에서는 ‘일품벼’와 유사한 근동질계통으로, 품종보호 출원 조건에 부합하여 ‘화원5호’로 명명하고 품종보호원을 출원하였다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 차세대 바이오그린21사업(식물분자 육종사업단 과제번호: PJ008136)의 지원에 의해 이루어진 것임.

인 용 문 헌

1. Asuyama M. 1965. Morphology, taxonomy, host range and life-cycle of *Piricularia oryzae*. In rice blast disease. Proc. Symp. IRRI Johns Hopkins Press, Baltimore, MD. pp.9-22.
2. Bonman JM, Khush GS, Nelson RJ. 1992. Breeding Rice for Resistance to Pests. Ann. Rev. Phytopathol. 30: 507-528.
3. Bryan GT, Wu K, Farrall L, Jia Y, Hershey HP, McAdams S, Tarchini R, Donaldson G, Faulk K, Valent B. 2000. A single amino acid difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pi-ta*. Plant Cell 12: 2033-2045.
4. Chen X, Shang J, Chen D, Lei C, Zou Y, Zhai W, Liu

- G, Xu J, Ling Z, Cao G, Ma B, Wang Y, Zhao X, Li S, Zhu L. 2006. A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance. *Plant J.* 46: 794-804.
5. Fukuoka S, Saka N, Koga H, Ono K, Shimizu T, Ebana K, Hayashi N, Takahashi A, Hirochika H, Okuno K, Yano M. 2009. Loss of function of a proline-containing protein confers durable disease resistance in rice. *Science* 325: 998-1001.
 6. Fukuoka S, Mizobuchi R, Saka N, Ivan S, Mastumoto T, Okuno K, Yano M. 2012. A multiple gene complex on rice chromosome 4 is involved in durable resistance to rice blast. *Theor. Appl. Genet.* 125: 551-559.
 7. 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: 67.
 8. International Rice Research Institute. 1996. Standard evaluation system for rice. 4th ed. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
 9. Ju HG, Kim DM, Kim MG, Han SS, Roh JH, Ahn SN. 2009. Mapping and analysis of field resistance gene to rice blast in an advanced backcross population between japonica cultivars in Rice. *SABRAO J. of Breeding and Genet.* Vol. 41 Special Suppl. August 2009 <http://www.sabao.org/apbc14/papers/apb09Final00083.pdf>
 10. Kim BR, Roh JH, Choi SH, Ahn SW, Han SS. 2004. Durability of rice cultivars to blast in Korea by sequential planting method. *Korean J. Breed Sci.* 36: 350-356.
 11. Lin F, Chen S, Que Z, Wang L, Liu X, Pan Q. 2007. The blast resistance gene *Pi37* encodes a nucleotide binding site-leucine-rich repeat protein and is a member of a resistance gene cluster on rice chromosome 1. *Genetics* 177: 1871-1880.
 12. Liu X, Lin F, Wang L, Pan Q. 2007. The in silico map based cloning of *Pi36*, a rice coiled-coil nucleotide-binding site leucine-rich repeat gene that confers race-specific resistance to the blast fungus. *Genetics* 176: 2541-2549.
 13. Luo JJ, Hao W, Jin J, Gao JP, Lin HX. 2008. Fine Mapping of *Spr3*, a Locus for Spreading Panicle from African Cultivated Rice (*Oryza glaberrima* Steud.). *Molecular Plant* 1: 830-838.
 14. 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.
 15. Wang ZX, Yano M, Yamanouchi U, Iwamoto M, Monna L, Hayasaka H, Katayose Y, Sasaki T. 1999. The *Pib* gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine-rich repeat class of plant disease resistance gene. *Plant J.* 19: 55-64.
 16. Xu X, Chen H, Fujimura T, Kawasaki S. 2008. Fine mapping of a strong QTL of field resistance against rice blast, *Pikahei-1(t)*, from upland rice *Kahei*, utilizing a novel resistance evaluation system in the greenhouse. *Theor. Appl. Genet.* 117: 997-1008.
 17. Zhou B, Qu SH, Liu GF, Dolan M, Sakai H, Lu GD, 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 oryzae*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 19: 1216-1228.