표현형 및 분자표지 선발 이용 벼흰잎마름병 저항성 유전자 집적 자포니카 벼 계통 개발

박현수^{1*} · 김기영² · 김우재¹ · 정지웅¹ · 이종희² · 노태환¹ · 남정권¹ · 백만기¹
신운철¹ · 김정주¹ · 정종민¹ · 조영찬¹ · 김보경¹ · 안상낙³

¹농촌진흥청 국립식량과학원, ²농촌진흥청 연구정책국, ³충남대학교 농업생명과학대학

Development of *japonica* Rice Lines with Four Bacterial Blight Resistance Genes using Phenotypic and Marker-assisted Selection

Hyun-Su Park^{1*}, Ki-Young Kim², Woo-Jae Kim¹, Ji-Ung Jeung¹, Jong-Hee Lee², Tae-Hwan Noh¹, Jeong-Kwon Nam¹, Man-Kee Baek¹, Woon-Cheol Shin¹, Jeong-Ju Kim¹, Jong-Min Jeong¹,
Young-Chan Cho¹, Bo-Kyeong Kim¹, and Sang-Nag Ahn³

¹National Institute of Crop Science, RDA, Wanju 55365, Korea

²Research Policy Bureau, RDA, Jeonju 54875, Korea

³Department of Agronomy, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

Abstract : Four bacterial blight resistance genes, *Xa1+Xa3+xa5+Xa21*, pyramid elite *japonica* rice lines were developed for enhancing the resistance of rice against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Korea. Seven doubled haploid (RDL1-7) and ten F₆ lines (RPL1-10) having *Xa1+Xa3+xa5+Xa21* which were derived from the cross between Ilmi, high grain quality *japonica* rice cultivar carrying *Xa1*, and Iksan575, elite line carrying *Xa3+xa5+Xa21*, were developed using marker-assisted selection for resistance genes and phenotypic selection for bacterial blight resistance and agronomic traits. Among resistance genes combinations in F₂ population, four resistance genes combination, *Xa1+Xa3+xa5+Xa21*, showed the highest resistance and conferred the enhanced resistance than three genes combination, *Xa3+xa5+Xa21*. Four genes pyramid lines (RDL and RPL) showed broad-spectrum resistant against 16 Korean bacterial blight isolates and the yield and quality of the lines did not alter by the inoculation of K3a, the most virulent race in Korea. In addition, these lines had excellent plant type and exhibited more enhanced yield than previously developed resistant cultivars. Four bacterial blight resistance genes combination, *Xa1+Xa3+xa5+Xa21*, was efficient and promising combination and developed lines with four genes could be useful materials and will be applied to the breeding programs for enhancing the resistance of *japonica* rice against bacterial blight.

Keywords : Rice, Bacterial blight, Resistance gene, Marker-assisted selection, Phenotypic selection

서 언

벼흰잎마름병은 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*에 의한 세균성 병으로 벼를 재배하는 대부분의 국가에서 발생하여 많은 피해를 주는 병 중 하나이다(Mew 1987). 벼흰잎마름병 방제용으로 몇 가지 화학약제가 개발되어 사용되고 있으나 방제효과가

낮아 저항성 품종 재배가 가장 경제적이고 효율적인 방제 수단으로 알려져 있다(Khush et al. 1989, Shin et al. 2011)

지금까지 약 40여개의 벼흰잎마름병 저항성 유전자가 보고되었는데 이중 우성유전자가 26개, 열성유전자가 14개이며 이들 저항성 유전자는 9번, 10번 염색체를 제외한 10개의 염색체에 위치하며, 특히 4번 염색체 장완에 8개(*Xa1*, *Xa2*, *Xa12*, *Xa14*, *Xa25*, *Xa30(t)*(Cheema et al. 2008), *Xa31(t)*, *Xa38*), 11번 염색체 장완에 12개(*Xa3/Xa26*, *Xa4*, *Xa10*, *Xa21*, *Xa22*, *Xa23*, *Xa30(t)*(Jin et al. 2007), *Xa32(t)*, *Xa35(t)*, *Xa36(t)*, *Xa39*, *Xa40*)

*Corresponding author (E-mail: mayoe@korea.kr, Tel: +82- 63-238-5216, Fax: +82-63-238-5205)

(Received on March 1, 2016. Accepted on April 18, 2016.)

가 존재하여 두 염색체에 집중적으로 모여있다(Kim et al. 2015, Xia et al. 2012, Zhang et al. 2015). 우리나라의 벼흰잎마름병 저항성 육종사업의 초기에는 *Xa1* 저항성 유전자를 주로 이용하였고, 이후 *Xa3* 저항성 유전자를 이용하여 많은 품종들을 개발하였다(Park et al. 2011, Park et al. 2012, Shin et al. 2011). *Xa3* 유전자를 단일 저항성원으로 이용하여 개발된 우량 품종들의 대면적 재배가 장기화됨에 따라서 병원균 레이스 집단의 변화와 새로운 변이균이 발생하여 피해가 확산되었다(Park et al. 2013, Shin et al. 2011). 한 개의 품종이 가지고 있는 두 개 또는 여러 개의 저항성 유전자는 하나의 저항성 유전자에 비해 병원균의 변이에 의한 저항성 붕괴의 확률이 낮다(Mundt 1990). 또한 병원균의 균계에 상호보완적인 저항성 범위를 가지는 유전자들을 집적함으로써 여러 균계에 대한 광범위 저항성을 확보할 수 있으며 저항성 붕괴를 지연시킬 수 있다(Yoshimura et al. 1995).

단일저항성 유전자의 붕괴에 대비하기 위해서 여러 개의 저항성 유전자를 하나의 품종에 집적시키는 저항성 육종사업이 다양하게 진행되고 있다. 국제미작연구소에서 개발된 인디카 품종인 IR24 배경의 단일저항성 유전자 도입 근동질 계통 IRBB4 (*Xa4*), IRBB5 (*xa5*), IRBB13 (*xa13*), IRBB21 (*Xa21*)을 이용하여 DNA 분자표지 이용 선발법(marker-assisted selection; MAS)으로 저항성 유전자 두 개가 집적된 IRBB50 (*Xa4+xa5*), IRBB51 (*Xa4+xa13*), IRBB52 (*Xa4+Xa21*), IRBB53 (*xa5+xa13*), IRBB54 (*xa5+Xa21*), IRBB55 (*xa13+Xa21*)와 세 개가 집적된 IRBB56 (*Xa4+xa5+xa13*), IRBB57 (*Xa4+xa5+Xa21*), IRBB58 (*Xa4+xa13+Xa21*), IRBB59 (*xa5+xa13+Xa21*) 및 네 개가 집적된 IRBB60 (*Xa4+xa5+xa13+Xa21*)을 육성하였다(Huang et al. 1997). 세 개의 저항성 유전자 *xa5*, *xa13*, *Xa21*을 인디카 품종 PR106(Singh et al. 2001)과 Samba Mahsuri(Sundaram et al. 2008)에 MAS를 이용하여 집적시켰고, *Xa4*를 가지고 있는 Tapaswini 품종에 *xa5*, *xa13*, *Xa21*을 추가로 도입하여 네 개의 저항성 유전자를 집적시켰다(Dokku et al. 2013). 부모 품종 Jalmagna에 *xa5*, *xa13*, *Xa21*을 (Pradhan et al. 2015), 향미 Type 3형 바스마티에 *xa13*과 *Xa21*을 (Rajpurohit et al. 2011), 하이브리드 품종에 *Xa7*과 *Xa21*을 집적(Zhang et al. 2006)하는 등 다양한 육종사업이 수행되고 있다.

우리나라 자포니카 벼에서는 분자표지를 이용하여 IRBB57이 보유하고 있는 *Xa4*, *xa5*, *Xa21* 세 개의 저항성 유전자를 중만생종인 만금(Suh et al. 2013)과 조생종인 진부(Suh et al. 2015)에 집적시킨 계통을 개발하였고, *Xa1*을 가지고 있는 일미

품종의 유전적 배경에 화영의 목도열병 저항성유전자 *Pb1* 유전자를 분자표지 이용 여교배법으로 도입하는 과정 중에 *Pb1*과 밀접하게 연관되어 있는 *Xa3*를 함께 도입하여 *Xa1*과 *Xa3*이 집적된 새일미(Lee et al. 2015) 품종을 개발하였다. 벼흰잎마름병 균계에 대한 저항성 검정을 통한 표현형 선발로 *Xa3*과 *xa5*와 집적된 진백(2008년 개발), 신백(2010), 해품(2013), 새신, 안백 및 만백(2014) 등 6개 품종이 개발되었고, *Xa3+Xa21*이 집적된 조생종 계통 익산592호, *Xa3+xa5+Xa21*이 집적된 중만생종 우량계통 익산575호 등이 개발되었다(Park et al. 2013, Park et al. 2015a).

벼흰잎마름병 저항성 유전자는 균계에 특이적인 저항성 반응을 나타낸다(Huang et al. 1997, Park et al. 2013). 여러 개의 저항성 유전자가 집적되어 있을 경우에 저항성 유전자들의 상호작용에 따라 저항성이 양적으로 상승하는 보완 효과 또는 저항성 수준이 높은 유전자가 저항성 수준이 낮거나 균계 특이적 이병성을 나타내는 저항성 유전자의 효과를 숨기는 질적으로 저항성을 보완하는 경우가 있기 때문에 균계 검정을 통한 표현형 정보만을 가지고 저항성 유전자를 추정하거나 확인하기가 어렵다(Jeung et al. 2006, Park et al. 2013, Yoshimura et al. 1995). 이러한 문제는 해당 저항성 유전자를 탐지할 수 있는 DNA 분자표지의 개발과 함께 해결되고 있으며 분자표지의 개발은 저항성 유전자의 도입여부를 초기 세대부터 확인할 수 있어 효율적인 육종이 가능하며 생물검정에 드는 노력과 어려움을 경감시켜 주고 있다(Collard & Mackill 2008). 하지만 도입된 유전자가 실질적으로 저항성을 잘 발현하는지에 대해서는 벼흰잎마름병균 접종을 통한 생물검정이 필수적이며 개발된 저항성 유전자 집적 계통이 실용적인 재배 품종으로서의 수준을 넘어서기 위해서는 초형, 수량성, 밀질 등에서 우수하여야 하기 때문에 저항성 유전자 도입과 함께 주요 농업형질 특성에 대한 표현형 선발이 뒷받침되어야 한다.

본 연구는 자포니카 벼의 흰잎마름병 저항성 증진을 위하여 육종과정 중 분자표지 활용 선발과 표현형 선발을 병행 활용하여 약배양과 계통육종법으로 저항성 유전자가 집적된 계통을 개발하고 이들의 저항성 성능 검증과 수량성 등 농업형질을 분석하여 저항성 육종사업에 반영하고자 수행하였다.

재료 및 방법

시험재료 및 재배방법

벼흰잎마름병 저항성 유전자 *Xa1*을 가지고 있으면서 고품질

Fig. 1. Schematic diagram for pyramiding four *R* genes of bacterial blight based on marker-assisted selection (MAS) and phenotypic selection (PS).

벼 품종인 일미와 세 개의 저항성 유전자 *Xa3*, *xa5*, *Xa21*를 가지고 있는 HR27814-B-47-1-1 (추후에 익산575호로 명명됨)을 교배 모본으로 이용하였다(Park et al. 2013). 인공교배된 F_1 식물체를 자식하여 생성된 F_2 집단의 식물체를 저항성 유전자 표지 DNA 마커를 이용하여 유전자가 집적된 개체를 선발하였고 벤효잎마름병 균계 접종을 통해 유전자 집적 효과를 확인하였다. 저항성 유전자 집적 개체의 이삭을 채취하여 약배양을 Choi (2006)의 방법에 준하여 수행하였다. 이와 병행하여 계통육종법으로 고정 계통을 육성하였다. 육종과정 중에서 분자표지 이용 선발과 벤효잎마름병 생물검정 및 농업형질 조사를 통한 표현형 선발을 함께 적용하여 저항성 유전자가 집적된 계통을 선발하였고 시험에 이용하였다(Fig. 1).

공시 재료를 국립식량과학원 익산 벼 시험포장에서 2015년 4월 10일 파종하여 5월 10일 재식거리 30 x 15 cm로 주당 3본씩 구당 180주를 3반복으로 이양하여 생산력 검정시험을 수행하였다. 벤효잎마름병 접종에 따른 수량성 및 품질 변이를 조사하기 위해 생산력 검정시험과 동일한 재료를 재식거리 30 x 15 cm로 주당 3본씩 구당 180주를 무접종구와 접종구로 나누어 이양하였다. 시비량은 N-P₂O₅-K₂O를 90-45-57 kg/ha으로 질소는 기비 : 분얼비 : 수비를 50 : 20 : 30 비율로 분시하였고 인산은 전량 기비로, 칼륨은 기비 : 수비를 70 : 30 비율로 분시하였다. 기타 재배관리는 농촌진흥청 표준 재배법에 준하여 실시하였다.

벼흰잎마름병 저항성 검정

저항성 유전자 조합에 따른 저항성 반응을 조사하기 위해서 F₁ 식물체에서 자식되어 육성된 F₂ 식물체 199개와 모부본을 2013년 하계에 유리온실에 40 x 10 cm로 주당 1본씩 이양하여 분얼 중기까지 키운 후 뽑아내 줄기를 나누어 유전 조성이 같은 식물체로 2개씩 분주하여 20 x 10 cm 간격으로 재배하였다. 최고분얼기에 같은 유전 조성을 가지는 2개의 분주된 식물체에 대해서 각각 K1 (HB1013)과 K3a (HB1009 균주) 균계를 이용하여 엽선단 3 cm 부위를 가위절엽 접종하여(Kauffman et al. 1973) 접종 후 3주 후에 가장 긴 병반을 가진 3개 엽의 병반장을 측정하여 평균한 값을 이용하였다. 2014년 하계에 목표 저항성 유전자 집적 조합에 대한 벼흰잎마름병 광범위 저항성을 조사하기 위해 플라스틱 상자(78 x 45 x 18 cm)에 국제미작연구소에서 개발된 벼흰잎마름병 단일 저항성 유전자 근동질 계통(Ogawa et al. 1991)과 교배 모본 및 MAS를 통해 저항성 유전자가 집적된 것으로 확인된 약배양 계통을 주당 3본씩 16주 이양하였다. 우리나라의 우점 균주인 HB1014 (K2 균계), HB1015 (K3), HB1009 (K3a)와 *Xa3* 유전자를 침해하는 것으로 알려진 HB2024, HB2038, HB3055, HB3079 (K4), HB4024, HB4040, HB4044 (K5), HB4079, HB6142, HB6159과 *Xa3* 유전자를 침해하지 못하나 *Xa21* 유전자를 침해하는 HB2010, HB3011, HB4027 균주(Park et al. 2013) 등 총 16개 균주를 이용하여 광범위 저항성을 조사하였다. 플라스틱 상자에 이양된 16 주에 한 주당 한 균주씩 엽선단 약 3 cm 부위를 가위 절엽접종하여 접종 3주 후에 가장 긴 병반을 가진 3개 엽의 병반장을 측정하여 평균한 값을 이용하였다. 평균 병반장 길이가 1 cm 이하는 고도저항성(HR; highly resistant), 5 cm 이하는 저항성(R; resistant), 5-10 cm는 중도저항성(MR; moderately resistant), 10 cm 이상은 이병성(S; susceptible)으로 질적저항성을 구분하였다. 2015년 하계에 생산력검정시험에 공시된 재료에 대해서 벼흰잎마름병 대표균계에 대한 저항성 반응을 HB1013 (K1 균계), HB1014, HB1015, HB1009 균주를 이용하여 조사하였다. 접종 방법 및 질적저항성 판단은 2014년 접종시험에 준하여 실시하였다. 벼흰잎마름병 접종에 따른 수량성 및 품질 변이를 조사하기 위해 무접종구는 균을 묻히지 않고, 접종구는 병원성이 강한 HB1009 균주를 이용하여 시험구 전개체에 대해서 최고분얼기에 엽선단 3 cm 부위를 가위 절엽접종하였다.

저항성 유전자 확인

Genomic DNA 추출은 BioSprint 96 (Qiagen Co., Düren,

Germany)을 이용하였다. 샘플을 TissueLyser II (Qiagen Co., Düren, Germany)를 이용하여 마쇄한 후 BioSprint 96 DNA Plant Kit (Qiagen Co., Düren, Germany)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 저항성 유전자를 확인하기 위하여 대상 유전자와 밀접하게 연관된 DNA 분자표지로 *Xa1*은 16PF*Xa1*과 pu*Xa1L* (2015년 이용), *Xa3*은 BB-R, S와 pu*Xa3U1* (2015), *xa5*는 10603.T.10Dw와 pu*Xa5U* (2015), *Xa21*은 U1/I1을 이용하였다(Table 1). PCR은 10 ng의 DNA와 AccuPower® PCR PreMix (Bioneer Co., Daejeon, Korea)를 이용하여 My-Genie 96 Thermal block (Bioneer Co., Daejeon, Korea)에서 수행하였다. PCR 반응 및 제한효소 처리는 2015년에 새로 이용한 pu*Xa1L*, pu*Xa3U1* 및 pu*Xa5U*를 제외한 분자표지에 대해서는 Park et al. (2013)의 방법에 준하여 실시하였다. pu*Xa1L*, pu*Xa3U1* 및 pu*Xa5U*는 95°C에서 5분간 초기변성 후 95°C 30초, 68°C 1분 30초 총 40회 반복하고, 72°C에서 20분간 반응하였다. 증폭된 PCR 산물 5μl를 pu*Xa1L*은 *EcoRV*와 pu*Xa3U1*은 *Pst* I 와 37°C에서, pu*Xa5U*는 *Sml* I 와 55°C에서 2시간 제한효소 처리하여 전기영동에 이용하였다. 2% agarose gel에서 전기영동을 실시하여 EtBr로 염색한 후 UV transilluminator (MiniBIS Pro, DNR Bio-Imaging Systems Ltd., Jerusalem, Israel)를 이용하여 유전자형을 판정하였다.

수량 및 품질 관련 형질 조사

생산력 검정시험에 공시된 재료의 출수기를 조사하고 성숙기에 시험구별로 10개체에 대해서 간장, 수장, 수수를 측정하였다. 출수 후 50일에 시험구별로 3주를 예취하여 등숙률 및 수당립수를 측정하였다. 수량조사는 100주를 예취하여 정조수량을 측정한다. 이 중 1.5 kg에 대해서 수량조사현미기(LST, Gwangyang, Korea)로 제형하여 정현비율을 측정하고, 100주 정조수량에 정현비율을 곱하여 현미수량을 구하고 10a당 수량으로 환산하였다. 제현된 현미를 가지고 현미 천립중을 측정하였다. 현미를 시험용 정미기(VP-32T, Yamamoto Co., Ltd., Yamagata, Japan)를 이용하여 도정 후 RN300 (Kett Co., Ltd., Tokyo, Japan)을 이용하여 백미에 대한 외관품위를 조사하였다. 백미의 단백질 및 아밀로스 함량은 Infratec 1241 Grain Analyzer (Foss Tecator, Hoganas, Sweden)을 이용하였고, 취반미의 윤기치는 식미검정기인 MA-90B (Toyo Co., Tokyo, Japan)을 이용하여 측정하였다. 벼흰잎마름병 접종에 따른 수량성 및 품질 변이를 조사하기 위해 출수 후 50일에 접종구와 대조구에서 3주 3반복을 예취하여 등숙률을 측정하고, 20주 3반복을 예취하여 정조수량

Table 1. Gene-specific PCR primers and functional marker primers used for the identification of bacterial blight resistance genes.

R-genes	Chr. No.	Marker name	Primer sequences	Expected size(bp)	Reference
			Forward(5'-3'), Reverse(5'-3')		
<i>Xa1</i>	4	16PFXa1	ACGGTTCTGAAGGTCGTCAT TGCAAGAGCTCCGGTTTAAG	201, 155	Shin et al. 2006
<i>Xa1</i>	4	puXa1L	ATTTGGGGAGTTTCGTCAGAGC CATTGGAGCGGATTGGTTTTG	473, 350	Jeung et al. (unpublished)
<i>Xa3</i>	11	BB-R	CCACAATGCCATGTCAGGTGGCATCCCTGCA AGGTGTTGGAGGATTGGCAT	255	Hur et al. 2013
<i>xa3</i>	11	BB-S	CGGAGCGACACAGCTATCAT CGTGAGGTTCCCTATGGCGATT	743	Hur et al. 2013
<i>Xa3</i>	11	puXa3U1	CAGTATGGATTTTCGTTGCG CCGTATAGCTGGTTAAACTGTAG	383	Jeung et al. (unpublished)
<i>xa5</i>	5	10603.T.10Dw	GCACTGCAACCATCAATGAATC CCTAGGAGAACTAGCCGTCCA	280	Park et al. 2013
<i>xa5</i>	5	puXa5U	CAAGAAGAGCAGAGCAGAGC TCCTTTAGCAAGGTGTGTACG	496, 300	Jeung et al. (unpublished)
<i>Xa21</i>	11	U1/I1	CGATCGGTATAACAGCAAAAC ATAGCAACTGATTGCTTGG	1,400	Wang et al. 1996

Table 2. Segregation ratio of resistance genes in F₂ population using gene-specific DNA markers.

R-gene	No. of F ₂ plants				Expected ratio	χ^2	P-value
	AA ^z	AB	BB	Total			
<i>Xa1</i>	40	107	52	199	1:2:1	2.578	0.276
<i>Xa3</i>	41	102	56	199	1:2:1	2.387	0.303
<i>xa5</i>	56	101	42	199	1:2:1	2.015	0.365
<i>Xa21</i>	160		39	199	3:1	3.097	0.078

^zAA: homozygote for resistance gene, AB: heterozygote, BB: homozygote for susceptible gene, AA/AB: homo for resistance or heterozygote for *Xa21*

을 측정하였다. 제현기(SY88-TH, Ssangyong Ltd., Incheon, Korea)로 제형하여 현미수량을 구하고 RN300을 이용하여 현미 외관품위를 조사하였다.

통계 분석

통계분석은 SAS 프로그램(Version 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하였다. 농업형질에 대한 평균을 기술 통계법으로 구하였고, 평균간 비교는 PROC ANOVA로 분산분석 후 유의성이 있을 경우 5% 유의수준에서 Duncan's Multiple Range test (DMRT)로 분석하였으며, PROC t-test를 이용하여 균계 집중에 따른 대조구와 집중구간의 농업형질 차이를 비교하였다.

결 과

저항성 유전자 집적 계통 육성

일미와 HR27814-B-47-1-1을 교배하여 육성한 F₂ 분리 집단 199개체의 유전자형을 분석한 결과 *Xa1*, *Xa3*과 *xa5*는 1 : 2 : 1의 분리비를 나타냈고 *Xa21*은 3 : 1의 분리비를 나타냈다 (Table 2). 분리집단에서 *Xa1*, *Xa3*과 *xa5*의 유전자형이 모두 동형접합체이고 *Xa21*은 동형 또는 이형접합체로 목표 저항성 유전자가 발현되는 4개체를 선발하여 약배양과 계통육종법에 이용하였다 (Table 3, Fig. 2). F₂에서 선발된 4개체의 47개 이상을 채취하여 약배양을 수행하여 8개 약배양 계통을 육성하였고 (Table 4), 분자표지 이용 선발을 통해 목표 저항성 유전자

Table 3. Average lesion length of F₂ plants in resistance gene combinations after inoculation with K1 and K3a races.

Gene combination	Genotype				No. of F ₂ plants	Lesion length (cm)	
	<i>Xa1</i>	<i>Xa3</i>	<i>xa5</i>	<i>Xa21</i>		K1	K3a
<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	AA ^z	AA	AA	AA/AB	4	0.1	0.3
	AA	AB	AA	AA/AB	2	0.1	0.6
	AB	AA	AA	AA/AB	1	0.1	0.4
<i>Xa1+Xa3+xa5</i>	AB	AB	AA	AA/AB	13	0.1	0.6
	AB	AB	AA	BB	4	0.1	2.7
	AA	AA	AB	AA/AB	2	0.2	2.6
<i>Xa1+Xa3+Xa21</i>	AA	AA	BB	AA/AB	2	0.1	1.1
	AA	AB	AB	AA/AB	7	0.2	1.9
	AA	AB	BB	AA/AB	6	0.1	1.5
	AB	AA	AB	AA/AB	11	0.1	1.9
	AB	AA	BB	AA/AB	5	0.1	1.9
	AB	AB	AB	AA/AB	25	0.2	2.1
<i>Xa1+xa5+Xa21</i>	AB	AB	BB	AA/AB	9	0.2	2.2
	AA	BB	AA	AA/AB	4	0.1	0.6
	AB	BB	AA	AA/AB	5	0.1	0.7
	BB	AA	AA	AA/AB	6	1.2	0.6
<i>Xa3+xa5+Xa21</i>	BB	AB	AA	AA/AB	7	1.8	0.7
	AA	AA	AB	BB	1	0.2	8.7
<i>Xa1+Xa3</i>	AA	AB	AB	BB	5	0.2	12.1
	AA	AB	BB	BB	1	0.2	11.8
	AB	AA	BB	BB	1	0.2	14.6
	AB	AB	AB	BB	5	0.2	13.7
<i>Xa1+xa5</i>	AB	AB	BB	BB	4	0.2	12.7
	AB	BB	AA	BB	2	0.1	2.6
	AA	BB	AB	AA/AB	3	0.1	1.3
<i>Xa1+Xa21</i>	AA	BB	BB	AA/AB	1	0.2	2.5
	AB	BB	AB	AA/AB	13	0.2	1.8
	AB	BB	BB	AA/AB	2	0.2	2.3
<i>Xa3+xa5</i>	BB	AB	AA	BB	2	1.5	2.9
	BB	AA	AB	AA/AB	6	4.6	2.2
	BB	AA	BB	AA/AB	2	3.5	2.2
<i>Xa3+Xa21</i>	BB	AB	AB	AA/AB	7	3.4	2.3
	BB	AB	BB	AA/AB	3	3.7	2.2
	BB	BB	AA	AA/AB	4	1.4	1.3
<i>xa5+Xa21</i>	AA	BB	AB	BB	1	0.1	13.2
	AA	BB	BB	BB	1	0.3	11.2
	AB	BB	AB	BB	5	0.3	13.0
<i>Xa1</i>	AB	BB	BB	BB	2	0.2	14.3
	BB	AB	AB	BB	2	4.1	11.3
<i>xa5</i>	BB	BB	AA	BB	2	2.6	2.2
<i>Xa21</i>	BB	BB	BB	AA/AB	3	15.9	1.9
	BB	BB	AB	AA/AB	7	12.5	2.0
no gene	BB	BB	AB	BB	1	20.5	18.5
Total					199		

^zAA: homozygote for resistance gene, AB: heterozygote, BB: homozygote for susceptible gene, AA/AB: homo for resistance or heterozygote for *Xa21*

Fig. 2. Resistance reaction (A) against K1 and K3a races and genotyping using gene-specific DNA markers (B) of IR24 donor for IRBB lines, IRBB lines carrying *Xa1*, *Xa3*, *xa5*, and *Xa21*, parents consisted of Ilmi having *Xa1* and HR27814-B-47-1-1 having *Xa3+xa5+Xa21*, F₁ plants, and F₂ plants for anther culture. PCR analysis of lines to confirm resistance genes using the gene specific DNA markers. *Xa1*, *Xa3*, *xa5*, and *Xa21* were confirmed by PCR product amplified with primer, 16PFxa1(cleaved by *EcoRV*), BB3-R and BB3-S, 10603.T10Dw (cleaved by *Rsa I*), and U1/I1, respectively. White bar indicates 10cm.

Table 4. Anther culture ability and doubled haploid lines derived from the cross of Ilmi/HR27814-B-47-1-1.

Cross (gen.)	Anther cultured (no.)	Cali induced (no. and %)	Plant regeneration (no. and %) ^z	Green plants (no. and %) ^y	Albino (no. and %) ^x	Doubled haploid lines (no.) ^w
Ilmi/ HR27814-B-47-1-1 (F ₂)	7,700	180(2.3)	21(11.7)	16(76.2)	5(23.8)	8

^zPercent plant regeneration is the number of plants regenerated over number of cali plated

^yPercent green is the number of green plants regenerated over total plants regenerated

^xPercent albino is the number of albino plants regenerated over total plants regenerated

^wDoubled haploid lines are harvested plants having fertile grain

*Xa1+Xa3+xa5+Xa21*이 집적된 7개 계통을 선발하였다. 선발된 약배양 고정계통에 대해서 벼흰잎마름병에 광범위 저항성을 조사하여 저항성 유전자 집적에 대한 성능검정을 하였고(Table 5, Fig. 3), 그 다음세대에 MAS를 통해 저항성 유전자 도입여부를 재확인하였다(Fig. 5). 약배양 방법과 함께 계통육종법으로 MAS와 벼흰잎마름병에 대한 생물검정과 농업형질 조사 등 표현형 선발을 통해서 최종적으로 목표 저항성 유전자가 집적된 10개의 고정계통을 육성하였다. F₂에서 선발된 24, 164, 172, 178번의 4개체를 F₃세대에 각각 20개체씩 HR30348-24, HR30348-164, HR30348-172, HR30348-178의 4개의 개체군

으로 전개하였고, MAS를 통해 저항성 유전자가 집적된 개체를 개체군별로 각각 15, 18, 20, 20개를 선발하여 F₄ 세대에 계통으로 전개하였다. F₄ 세대에서 벼흰잎마름병 K3a 균계에 대한 저항성 검정을 통해 이병성 개체가 나오지 않은 계통을 계통군별로 3, 6, 20, 20 계통을 선발하였고, 이와 동시에 초형 및 숙색 등 농업형질에 대한 달관조사를 통해 이 중 2, 2, 11, 5 계통을 선발하여 간이수량과 백미의 외관품위를 조사하여 최종적으로 각 계통군에서 1, 0, 8, 1개 계통의 10계통을 선발하였다(Table 6). 선발된 10계통에서 각 1개체씩 수별 선발하여 F₅ 세대를 진전시켜 F₆ 고정계통을 육성하였고, MAS를 통해 이들 육성

Table 5. Resistance reaction of monogenic lines, parents for genes pyramiding, and doubled haploid lines carrying four resistance genes against each of 16 Korean *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates.

Isolate	IR24	IRBB1	IRBB3	IRBB5	IRBB21	Ilmi	Iksan575	DH lines average	HB30348 (F2)-AC1	HB30348 (F2)-AC2	HB30348 (F2)-AC3	HB30348 (F2)-AC4	HB30348 (F2)-AC5	HB30348 (F2)-AC6	HB30348 (F2)-AC7
	<i>Xa18</i>	<i>Xa1</i>	<i>Xa3</i>	<i>xa5</i>	<i>Xa21</i>	<i>Xa1</i>	<i>Xa3+xa5+Xa21</i>	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>
HB1009	16.0(S)	16.3(S)	17.7(S)	1.5(R)	2.2(R)	13.0(S)	0.9(HR)	0.4(HR)	0.2(HR)	0.4(HR)	0.6(HR)	0.4(HR)	0.4(HR)	0.6(HR)	0.5(HR)
HB1014	15.3(S)	14.0(S)	7.3(MR)	1.2(R)	1.8(R)	20.0(S)	0.4(HR)	0.2(HR)	0.1(HR)	0.2(HR)	0.4(HR)	0.2(HR)	0.2(HR)	0.2(HR)	0.2(HR)
HB1015	16.7(S)	13.7(S)	9.7(MR)	1.2(R)	1.2(R)	16.3(S)	0.3(HR)	0.2(HR)	0.1(HR)	0.1(HR)	0.3(HR)	0.1(HR)	0.2(HR)	0.2(HR)	0.2(HR)
HB2010	16.0(S)	0.2(HR)	7.0(MR)	1.1(R)	10.7(S)	0.2(HR)	0.8(HR)	0.1(HR)	0.2(HR)	0.1(HR)	0.2(HR)	0.1(HR)	0.1(HR)	0.1(HR)	0.1(HR)
HB2024	16.3(S)	17.0(S)	15.7(S)	1.2(R)	1.5(R)	17.7(S)	0.3(HR)	0.3(HR)	0.3(HR)	0.4(HR)	0.2(HR)	0.4(HR)	0.3(HR)	0.5(HR)	0.4(HR)
HB2038	16.0(S)	14.7(S)	15.7(S)	0.8(HR)	0.2(HR)	15.3(S)	0.3(HR)	0.2(HR)	0.1(HR)	0.2(HR)	0.1(HR)	0.1(HR)	0.1(HR)	0.1(HR)	0.4(HR)
HB3011	15.0(S)	0.3(HR)	8.3(MR)	1.5(R)	17.3(S)	0.2(HR)	1.2(R)	0.2(HR)	0.2(HR)	0.2(HR)	0.2(HR)	0.2(HR)	0.2(HR)	0.1(HR)	0.1(HR)
HB3055	19.3(S)	17.7(S)	18.7(S)	1.8(R)	4.2(R)	22.7(S)	0.8(HR)	0.6(HR)	0.4(HR)	0.6(HR)	0.6(HR)	0.6(HR)	0.5(HR)	0.7(HR)	0.7(HR)
HB3079	15.0(S)	18.3(S)	18.3(S)	0.6(HR)	2.0(R)	19.0(S)	0.4(HR)	0.3(HR)	0.2(HR)	0.4(HR)	0.3(HR)	0.4(HR)	0.3(HR)	0.4(HR)	0.4(HR)
HB4024	14.3(S)	15.0(S)	16.3(S)	2.3(R)	2.5(R)	14.0(S)	0.8(HR)	0.5(HR)	0.3(HR)	0.3(HR)	0.5(HR)	0.5(HR)	0.4(HR)	0.5(HR)	0.9(HR)
HB4027	15.3(S)	0.3(HR)	9.7(MR)	1.3(R)	10.2(S)	0.3(HR)	1.1(R)	0.3(HR)	0.5(HR)	0.2(HR)	0.2(HR)	0.4(HR)	0.2(HR)	0.2(HR)	0.2(HR)
HB4040	17.7(S)	19.0(S)	19.0(S)	4.2(R)	5.3(R)	20.7(S)	0.8(HR)	0.6(HR)	0.4(HR)	0.6(HR)	0.6(HR)	0.8(HR)	0.5(HR)	0.9(HR)	0.6(HR)
HB4044	18.0(S)	17.7(S)	18.0(S)	3.2(R)	3.7(R)	19.7(S)	0.8(HR)	0.6(HR)	0.4(HR)	0.5(HR)	0.6(HR)	0.7(HR)	0.5(HR)	0.8(HR)	0.7(HR)
HB4079	18.0(S)	16.3(S)	15.3(S)	2.7(R)	2.3(R)	19.0(S)	0.7(HR)	0.6(HR)	0.4(HR)	0.4(HR)	0.7(HR)	0.7(HR)	0.4(HR)	0.8(HR)	0.6(HR)
HB6142	18.7(S)	17.7(S)	17.7(S)	2.2(R)	3.0(R)	20.0(S)	1.1(R)	0.7(HR)	0.5(HR)	0.7(HR)	0.7(HR)	0.7(HR)	0.7(HR)	0.9(HR)	0.8(HR)
HB6159	17.7(S)	19.0(S)	15.7(S)	1.5(R)	3.3(R)	19.0(S)	2.0(R)	0.6(HR)	0.4(HR)	0.6(HR)	0.6(HR)	0.7(HR)	0.6(HR)	0.9(HR)	0.6(HR)
Mean ± SD	16.6±1.47	13.5±6.85	14.4±4.36	1.8±0.94	4.5±4.52	14.8±7.68	0.8±0.43	0.4±0.20	0.3±0.13	0.4±0.18	0.4±0.21	0.4±0.24	0.4±0.19	0.5±0.11	0.5±0.25
C.V. (%)	8.9	50.6	30.3	53.9	101.3	51.9	54.8	50.4	44.3	48.2	51.4	55.1	53.4	67.0	54.6

^zAverage lesion length was measured using 3 leaves severely infected^yHR: Highly resistant (< 1 cm lesion length) R: Resistant (1-5 cm), MR: Moderately resistant (5-10 cm), S: Susceptible (> 10 cm)

계통의 저항성 유전자 집적 여부를 재확인하였다(Fig. 5).

저항성 유전자 조합에 따른 저항성 반응

분리집단인 F₂ 세대에서는 저항성 유전자를 표지할 수 있는 분자 마커를 이용하여 발현되는 저항성 유전자들의 조합을 구분하였고, K1과 K3a 균계 접종에 따른 각 조합의 저항성 반응을 비교 분석하였다(Table 3). 분자표지로 구분되어진 저항성 유전자 조합은 16개로 4개의 저항성 유전자로 작성 가능한 모든 조합이 생성되었다. 분리집단의 199개체 중 발현되는 저항성 유전자가 하나도 없는 개체는 1개체로 K1과 K3a 균계 접종에 따른 병반장이 20.5와 18.5 cm로 이병성 반응을 보였다. 하나의 저항성 유전자가 발현되는 4개의 조합 중 *Xa1*은 K1에 매우 강한 저항성 반응을 나타냈으나 K3a에는 이병성을 나타냈고, *Xa21*은 K1에 이병성을 나타냈으나 K3a에는 저항성을 나타냈다. *Xa3*은 K1에만 저항성을 나타냈으며, *xa5*는 K1과 K3a에 저항성을 나타냈다. 두 개의 저항성 유전자 조합은 *Xa1+Xa3*, *Xa1+xa5*, *Xa1+Xa21*, *Xa3+xa5*, *Xa3+Xa21*, *xa5+Xa21* 등 6개 조합형으로, 이 중 K1에만 매우 강한 저항성 반응을 나타낸 *Xa1+Xa3*을 제외한 5개 조합들은

K1과 K3a에 모두 저항성을 나타냈다. 세 개의 저항성 유전 조합은 *Xa1+Xa3+xa5*, *Xa1+Xa3+Xa21*, *Xa1+xa5+Xa21*, *Xa3+xa5+Xa21* 등 4개 조합형으로, *Xa1+Xa3+xa5*와 *Xa1+Xa3+Xa21*은 K1에 매우 강한 저항성을 K3a에는 저항성을 나타냈으며, *Xa3+xa5+Xa21*은 K3a에 매우 강한 저항성을 K1에는 저항성을 나타냈고, *Xa1+xa5+Xa21*은 K1 및 K3a 모두에 매우 강한 저항성 반응을 나타냈다. 저항성 유전자 조합 중 네 개의 저항성 유전자 조합인 *Xa1+Xa3+xa5+Xa21*이 K1과 K3a에 가장 강한 저항성 반응을 나타냈다.

벼흰잎마름병 저항성 성능검정

약배양 유래 목표 저항성 유전자 집적 7계통과 모부본인 일미와 익산575호, 인디가 벼흰잎마름병 판별품종인 IR24, IRBB1, IRBB3, IRBB5, IRBB21에 대해서 16개 국내 수집 벼흰잎마름병 균주에 대한 광범위 저항성 반응을 조사하였다(Table 5). IR24는 모든 균주에 대해서 이병성 반응을 나타냈으며, *Xa1*을 가지고 있는 IRBB1과 일미는 HB2010, HB3011 및 HB4027에 매우 강한 저항성 반응을 나타냈고 나머지 13개 균주에는 이병성

Fig. 3. Resistance reaction of IR24 (A), IRBB1 (B), IRBB3 (C), IRBB5 (D), IRBB21 (E), Ilmi (F), Iksan575 (G), HR30348(F2)-AC1 (H), and HR30348(F2)-AC4 (I) against 16 bacterial blight isolates. 1: HB1009, 2: HB1013, 3: HB1014, 4: HB2010, 5: HB2024, 6: HB2038, 7: HB3011, 8: HB3055, 9: HB3079, 10: HB4024, 11: HB4027, 12: HB4040, 13: HB4044, 14: HB4079, 15: HB6142, 16: HB6159.

을 나타낸 반면, *Xa21*을 단독으로 가지고 있는 IRBB21은 HB2010, HB3011 및 HB4027에는 이병성을 나타내고 나머지 균주에 대해서는 저항성 반응을 나타냈다(Fig. 3 and 4). *Xa3*을 단독으로 가지고 있는 IRBB3은 HB1014, HB1015, HB2010, HB3011, HB4027에 중도 저항성을 나타냈으며, 나머지 균주에는 이병성을 나타냈고, *xa5*을 가지고 있는 IRBB5는 평균 병반장이 1.8 cm(범위 0.6-4.2 cm)로 모든 균주에 대해서 저항성을 나타냈다. *Xa3+xa5+Xa21* 세 개의 저항성 유전자가 집적된 익산 575호는 HB3011 (병반장 1.2 cm), HB4027 (1.1 cm), HB6142 (1.1 cm) 및 HB6159 (2.0 cm)에 저항성 반응을 나타냈고 나머지 균주에 대해서는 매우 강한 저항성 반응을 나타냈으며, 16개 균주에 대한 평균 병반장은 0.8 cm였다. 네 개의 저항성 유전자 *Xa1+Xa3+xa5+Xa21*이 집적된 7개의 약배양 계통들은 모두 모든 균주에 병반장 1 cm 이하의 매우 강한 저항성 반응을 나타냈고, 평균 병반장도 0.4 cm로 다른 유전자 조합에 비해 저항성이 강화되었다.

생산력검정시험에 공시된 재료에 대해서 벼흰잎마름병 대표 균계인 K1, K2, K3, K3a에 대해서 저항성 검정을 수행하였다(Table 7). 표준품종 남평은 모든 균계에 이병성이었고, *Xa3*과 *xa5* 두 개의 저항성 유전자를 가지고 있는 비교품종 진백은 K1, K2, K3에는 매우 강한 저항성 반응을, K3a에는 저항성 반응을 보였다. *Xa1*을 가지고 있는 일미는 K1에만 매우 강한 저항성 반응을 나타냈고 나머지 균주에는 이병성이었으며, 일미

Fig. 4. Radial graph of resistance reaction of monogenic lines, parents for genes pyramiding, and doubled haploid lines carrying four resistance genes against each of 16 Korean *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates.

에 *Xa3*가 도입된 근동질 품종인 새일미는 K1, K2, K3에 매우 강한 저항성 반응을 나타냈으며 K3a에는 이병성을 나타냈다. *Xa3+xa5+Xa21* 세 개의 저항성 유전자가 집적되어 있는 익산575호와 *Xa1+Xa3+xa5+Xa21* 네 개의 저항성 유전자가 집적된 약배양 유래 7 계통 및 계통육종법 유래 10개 계통은 모든 대표

Fig. 5. Resistance reaction of lines against K3a race (A) and PCR analysis to confirm resistance genes using the gene specific DNA markers (B). *Xa1*, *Xa3*, *xa5*, and *Xa21* were confirmed by PCR product amplified with primers, puXa1L (cleaved by *EcoRV*, a), puXa3U1 (*Pst* I, b), puXa5U (*Sml* I, c), and U1/U1 (d), respectively. The white bar indicates 10 cm. M: DNA size marker, 1: Nampyeong, 2: Jinbaek, 3: Ilmi, 4: Saeilmi, 5: Iksan575 (HR27814-B-47-1-1), 6-12: RDL1-7, 13-22: RPL1-10.

Table 6. History of selection of four breeding families in the F₃ and F₄ generations.

Breeding family	F ₃				F ₄					
	Marker-assisted selection		Marker-assisted selection		Phenotypic selection to					
	No. of plants	Selected plants	No. of lines	Selected lines	K3a inoculation		Agronomic traits		Yield and quality	
					No. of lines	Selected lines	No. of lines	Selected lines	No. of lines	Selected lines
HR30348-24	20	15	15	15	15	3	3	2	2	1
HR30348-164	20	18	18	18	18	6	6	2	2	0
HR30348-172	20	20	20	20	20	20	20	11	11	8
HR30348-178	20	20	20	20	20	20	20	5	5	1
Total	80	73	73	73	73	49	49	20	20	10

균계에 대해서 매우 강한 저항성 반응을 나타냈다. 벼흰잎마름병 접종에 따른 수량성 및 품질 변이에 대한 저항성 성능검정을 위해 K3a 균계를 접종한 결과 이병성인 남평, 일미, 새일미는 수량, 등숙률, 현미 정장립률이 대조구에 비해 유의하게 감소한 반면 진백, 익산575호 및 저항성 유전자 집적 계통인 RDL (resistant lines by doubled-haploid)과 RPL (resistant lines by pedigree method) 등 저항성 계통은 대조구와 차이가 없었다 (Table 8).

육성계통의 농업형질 특성

저항성 유전자 집적 계통과 교배 모부분, 표준 및 비교품종의

농업형질 특성을 비교 분석하였다(Table 9). 출수기는 진백(113 DAS; days after seeding)이 가장 늦었고 이후 익산575호(110 DAS), RPL10 (106 DAS) 순이었고 남평(103 DAS), 일미(102 DAS), 새일미(102 DAS)와 RDL 7계통과 RPL 계통 중 RPL10 (106 DAS)과 출수가 빠른 RPL1 (95 DAS)을 제외한 계통들 (102-103 DAS)은 출수가 비슷한 경향이었다. 간장은 진백(63 cm), 익산575호(65 cm), RPL10 (65 cm), RPL1 (66 cm)은 작은 편이었으며, RPL4 (77 cm), RPL8 (76 cm), RPL9 (76 cm)은 큰 편에 속하였고 나머지 품종 및 계통은 68-74 cm 범위에서 비슷한 경향이었다. 수장은 RPL이 평균 24 cm로 가장 길었고 RDL이 평균 23 cm였고 나머지 품종 및 계통은 20-21 cm 범위에서 비슷한 수준이었으며, RPL 계통들이 수수는 적고 수당

Table 7. Pedigree and resistance genes of varieties and breeding lines and their resistance reaction to bacterial blight.

Var./line	Cross	Gen.	R-genes	Bacterial blight			
				K1	K2	K3	K3a
Nampyeong	Iri390/Milyang95	-	<i>unknown</i>	S ^z	S	S	S
Jinbaek	HR15204-38-3//Milyang165/Iksan438	-	<i>Xa3+xa5</i>	HR	HR	HR	R
Ilmi	Milyang96//Milyang95/Seomjin	-	<i>Xa1</i>	HR	S	S	S
Saeilmi	Ilmi*5/Hwayeong	-	<i>Xa1+Xa3</i>	HR	HR	HR	S
Iksan575	Iksan493//Hopum/HR24670-9-2-1	-	<i>Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RDL1 (HB30348(F2)-AC1-1) ^y	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	AC ₂	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RDL2 (HB30348(F2)-AC2-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	AC ₂	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RDL3 (HB30348(F2)-AC3-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	AC ₂	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RDL4 (HB30348(F2)-AC4-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	AC ₂	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RDL5 (HB30348(F2)-AC5-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	AC ₂	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RDL6 (HB30348(F2)-AC6-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	AC ₂	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RDL7 (HB30348(F2)-AC7-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	AC ₂	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RPL1 (HB30348-24-17-3-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	F ₆	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RPL2 (HB30348-172-1-3-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	F ₆	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RPL3 (HB30348-172-2-3-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	F ₆	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RPL4 (HB30348-172-4-3-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	F ₆	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RPL5 (HB30348-172-6-3-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	F ₆	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RPL6 (HB30348-172-7-3-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	F ₆	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RPL7 (HB30348-172-9-3-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	F ₆	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RPL8 (HB30348-172-10-3-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	F ₆	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RPL9 (HB30348-172-11-3-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	F ₆	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR
RPL10 (HB30348-178-10-3-1)	Ilmi/HR27814-B-47-1-1	F ₆	<i>Xa1+Xa3+xa5+Xa21</i>	HR	HR	HR	HR

^zHR, R, and S mean highly resistant, resistant, and susceptible to bacterial blight, respectively

^yRDL and RPL mean resistant lines by doubled haploid and pedigree method, respectively

립수가 많은 편이었다. 현미천립중은 일미(22.8 g), 새일미(22.4 g), RPL (22.3 g), 익산575호(22.2 g)가 RDL (21.4 g), 남평(21.2 g), 진백(21.1 g)보다 무거운 편이었다. 등숙률은 새일미(96.7%), 일미(96.5%), 진백(96.2%), RPL (96.1%)이 높은 편이었고 이후 RDL (95.1%), 익산575호(95.0%), 남평(93.9%) 순이었으며, 정현비율은 남평(79.8%)과 진백(80.7%)이 낮은 편이었다. 정조 및 현미 수량은 RPL (713, 579 kg/10a)이 가장 높았고 이후 남평(704, 562 kg/10a), 일미(695, 565 kg/10a), RDL (695, 564 kg/10a), 새일미(673, 547 kg/10a), 익산575호(663, 539 kg/10a), 진백(637, 514 kg/10a) 순이었으며, RPL 중 RPL4 (남평 대비 현미수량 110%), RPL9 (108%), RPL2 (107%), RPL7 (106%)는 표준품종인 남평에 비해 수량성이 5% 이상으로 다수성을 나타냈다.

생산력검정시험의 백미를 이용하여 외관품질 및 품질 특성을

비교 분석하였다(Table 10). 외관품질 조사에서 저항성 유전자 집적계통인 RDL (94.7%)과 RPL (94.9%), 익산575호(94.6%)는 정상립이 다른 공시 재료(평균 96.3%)에 비해 낮은 편이었다. 모본으로 이용된 익산575호는 쉼미(4.3%)가 많이 나타났고, RDL은 쉼미(3.7%)와 피해립(1.0%)이 많았으며, RPL은 쉼미(3.3%)와 분상질립(1.2%)이 많아 외관품위가 좋지 않은 경향이 었다. 단백질 함량은 진백(5.4%)이 가장 낮았고 RDL (5.5%), 익산575호(5.7%), 일미(5.7%), 새일미(5.7%), RPL (5.8%), 남 평(5.9%) 순으로 높았으며, 아밀로스 함량은 남평(18.5%)이 가장 낮았고 일미(18.9%), 새일미(19.0%), RPL (19.4%), 익산 575호(20.2%), RDL (20.3%), 진백(20.7%) 순으로 높았다. 취 반미의 기계적 윤기치는 진백(91.4), 남평(89.5), 익산575호 (87.3), 일미(87.2), RDL (85.0), RPL (80.9)로 저항성 유전자 집적 계통들이 다른 공시 재료에 비해 윤기치가 낮았다.

Table 8. Comparison of the control and K3a inoculation about rice yield, ratio of ripened grain, and perfect kernel of brown rice.

Var./line	Control				K3a inoculation			
	Rough rice yield (g)	Brown rice yield (g)	Ratio of ripened grain (%)	Perfect kernel of brown rice (%)	Rough rice yield (g)	Brown rice yield (g)	Ratio of ripened grain (%)	Perfect kernel of brown rice (%)
Nampyeong	621	475	94.3	88.4	542 ^{**z}	406 ^{**}	85.5 ^{**}	80.5 ^{**}
Jinbaek	562	434	96.3	93.0	550 ^{ns}	424 ^{ns}	96.1 ^{ns}	93.2 ^{ns}
Ilmi	630	489	97	88.5	530 ^{**}	412 ^{**}	84.5 ^{**}	81.2 ^{**}
Saeilmi	602	473	96.8	89.2	500 ^{**}	386 ^{**}	83.2 ^{**}	81.4 ^{**}
Iksan575	599	468	95.6	91.2	590 ^{ns}	460 ^{ns}	94.4 ^{ns}	90.5 ^{ns}
RDL1	639	501	94.5	86.6	633 ^{ns}	500 ^{ns}	94 ^{ns}	85.3 ^{ns}
RDL2	606	473	95.1	87.6	600 ^{ns}	469 ^{ns}	95 ^{ns}	86.2 ^{ns}
RDL3	614	482	95.6	84.7	610 ^{ns}	478 ^{ns}	94.9 ^{ns}	82.8 ^{ns}
RDL4	631	494	95.4	88.9	625 ^{ns}	485 ^{ns}	94.4 ^{ns}	86.5 ^{ns}
RDL5	614	482	95.9	87.0	602 ^{ns}	471 ^{ns}	95.8 ^{ns}	86.4 ^{ns}
RDL6	602	470	95.8	87.4	602 ^{ns}	468 ^{ns}	93.4 ^{ns}	85.3 ^{ns}
RDL7	620	484	96.5	89.1	619 ^{ns}	483 ^{ns}	94.4 ^{ns}	88.2 ^{ns}
RPL1	590	468	96.9	82.2	576 ^{ns}	452 ^{ns}	97.0 ^{ns}	81.4 ^{ns}
RPL2	685	537	96.6	88.1	680 ^{ns}	529 ^{ns}	95.5 ^{ns}	87.9 ^{ns}
RPL3	612	473	95.4	86.3	610 ^{ns}	470 ^{ns}	95.6 ^{ns}	86.6 ^{ns}
RPL4	689	543	97.5	88.4	688 ^{ns}	542 ^{ns}	96.9 ^{ns}	88.2 ^{ns}
RPL5	627	490	95.5	89.3	615 ^{ns}	478 ^{ns}	95.2 ^{ns}	89.0 ^{ns}
RPL6	612	476	96.0	87.9	605 ^{ns}	470 ^{ns}	95.9 ^{ns}	88.1 ^{ns}
RPL7	638	495	95.9	89.0	632 ^{ns}	492 ^{ns}	95.8 ^{ns}	88.9 ^{ns}
RPL8	632	498	96.0	89.2	625 ^{ns}	497 ^{ns}	96.1 ^{ns}	88.8 ^{ns}
RPL9	654	513	97.5	88.4	652 ^{ns}	508 ^{ns}	96.8 ^{ns}	86.8 ^{ns}
RPL10	590	453	96.1	90.4	583 ^{ns}	448 ^{ns}	95.0 ^{ns}	89.7 ^{ns}

^zns and ** mean no significant, significant at $p < 0.01$ by t-test, respectively

고 찰

벼흰잎마름병에 대한 피해를 가장 적극적으로 대처하는 방법은 저항성 품종을 개발하고 이를 재배하는 것이다(Park et al. 2013). 저항성 품종 개발을 위한 육종사업은 효과적인 저항성원을 확보하고 저항성 검정을 통해 이를 우량 품종으로 도입하는 일련의 과정을 거친다. 우리나라의 벼흰잎마름병균은 밀양23호, 청청, 풍산, 한강찰, 밀양42호를 판별품종으로 이용하여 저항성 반응에 따라 K1, K2, K3, K4, K5로 분류하여 이용하여 왔다(Yun et al. 1985). 분류된 균계 중에 주로 K1, K2, K3에 대한 저항성 검정을 통하여 저항성 육종사업을 수행해 오다가 2001년에 기존의 저항성 품종인 화영의 이병원에서 K3보다는 병원성이 강하지만 K4보다 병원성이 약한 새로운 균계가 보고(Noh et al. 2003)되었고, 새로운 균계의 발생으로 기존의 저항성 품종들이 급속히 이병화되어 큰 피해가 발생함에 따라 K3a균계를 추가로 하여 K1, K2, K3, K3a 네 개를 대표 균계로 하여 저항성

검정을 수행하고 있다. 농촌진흥청 국립식량과학원에서 1975년부터 2015년까지 개발한 자포니카 벼 품종은 330품종으로 이들 중 대표 균계인 K1, K2, K3, K3a에 모두 이병성인 품종은 178품종(53.9%)이고 K1에만 저항성은 35품종(10.6%), K1과 K2에 저항성은 1품종(0.3%), K1, K2, K3에 저항성은 109품종(33.0%), K1, K2, K3, K3a 모두에 저항성인 품종인 7품종(2.1%)이 개발되었다(Fig. 6). 시대별로 보면 1970년대에는 저항성 품종이 없었고, 1982년에 최초의 저항성 품종인 섬진이 개발되어 1980년대에 K1에 저항성인 품종 7개 품종이 개발되었다. 1991년에 K1, K2, K3에 저항성인 화영과 안중이 개발된 이후에 특히 화영을 저항성원으로 하여 지금까지 많은 품종이 개발되었다. 화영을 이용하여 개발된 신동진, 주남, 동진1호 등 *Xa3*를 보유하고 있는 우량 품종들의 대면적 재배가 장기화 됨에 따라서 새로운 균계인 K3a 균계의 발생 및 전파로 인한 피해가 확대되었다(Shin et al. 2011). 이러한 시점에서 방글라데시 *Aus* 품종 DV85의 *xa5*를 우량 계통 수원345호 배경으로 도입한 근동질 계통이 육성되었고 실질적인 품종 개발로 이어져 강백

Table 9. Yield-related traits of rice varieties and breeding lines at yield trial.

Var./line	Heading date (DAS) ^z	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	No. of panicles per hill	No. of spikelets per panicle	Ratio of ripened grain (%)	1,000 grains weight of brown rice (g)	Rough rice yield (kg/10a)	Brown/rough rice ratio (%)	Brown rice yield (kg/10a)	Index of brown rice yield (%) ^y
Nampyeong	103dC ^x	71defA	20ghB	14aA	96dB	93.9eB	21.2eC	704cAB	79.8eC	562cAB	100
Jinbaek	113aA	63hC	20hB	13abA	99dB	96.2bA	21.1efC	637eC	80.7cdB	514eC	91
Ilmi	102deC	70efA	21gB	13bAB	98dB	96.5bA	22.8bA	695cAB	81.3abcA	565cAB	101
Saeilmi	102deC	68fgAB	21gB	13bAB	95dB	96.7bA	22.4bcA	673cdB	81.2abcA	547cdB	97
Iksan575	110bB	65hBC	21ghB	13abA	95dB	95.0cdAB	22.2cAB	663cdeBC	81.2abcA	539cdeBC	96
RDL1	103d	72deg	23def	13b	105cd	94.3de	21.8cd	714bc	81.2abc	581bc	103
RDL2	103d	69fg	22f	13b	99d	95.1cd	21.0f	698c	81.2abc	567c	101
RDL3	103d	71def	23cdef	12c	106cd	95.2cd	21.3e	682cd	81.0abcd	552cd	98
RDL4	103d	73bcde	23cde	13b	106cd	95.4c	21.3e	697c	81.2abc	566c	101
RDL5	103d	72def	23ef	13ab	102d	95.8bc	21.7d	701c	81.4abc	571c	102
RDL6	103d	72def	24cde	13b	107bcd	94.6d	21.4de	699c	81.0abcd	566c	101
RDL7	103d	72cde	23cdef	13ab	96d	95.4c	21.6d	677cd	81.0abcd	548cd	98
Mean of RDL	103C	71A	23AB	13A	103B	95.1AB	21.4BC	695AB	81.2A	564AB	100
C.V.(%)	0.2	2.2	3.1	4.6	5.5	1.4	1.5	4.5	0.5	4.8	
RPL1	95e	66gh	23cdef	12c	100d	97.0a	23.5a	661cde	81.6a	539cde	96
RPL2	102de	72def	23cde	13bc	124a	96.0b	22.0cd	744ab	81.0abcd	603ab	107
RPL3	102de	74bcd	24bc	11d	127a	95.6bc	22.1c	680cd	80.5d	548cd	97
RPL4	103d	77a	25a	12c	121ab	97.2a	22.7b	764a	81.3abc	621a	110
RPL5	102de	73bcde	24cd	12c	122a	94.6d	22.8b	714bc	81.0abcd	579bc	103
RPL6	102de	73bcde	23cde	12c	107bcd	95.7bc	22.1c	706c	80.8bcd	571c	102
RPL7	102de	73bcd	24cd	12cd	128a	95.4c	21.2e	729b	81.5ab	594ab	106
RPL8	102de	76ab	25ab	11d	121ab	96.6b	22.2c	719b	81.2abc	584b	104
RPL9	103d	76abc	24cde	12cd	120abc	97.1a	21.4de	745ab	81.4abc	606ab	108
RPL10	106c	65h	21g	13bc	101d	96.1b	22.7b	668cd	81.1abcd	542cd	96
Mean of RPL	102C	72A	24A	12B	117A	96.1A	22.3AB	713A	81.1A	579A	103
C.V.(%)	2.9	5.8	5.1	6.7	10.9	1.1	3.3	6.3	0.5	6.4	

^zDays after seeding^yBrown rice yield of Nampyeong as a standard^xMeans with the same letters in a column are not significantly different at $p < 0.05$ (ANOVA followed by DMRT). Small and capital letters indicate statistic difference between lines and breeding methods, respectively.

(2006년 개발)이 육성되었고 이를 활용하여 *Xa3*와 *xa5*가 결합된 진백(2008), 해품(2013), 안백(2014)이 개발되어 변이균인 K3a에 대응한 방안을 마련하였다(Kim et al. 2009, Shin et al. 2011). 또한 IRBB57의 *Xa4*+*xa5*+*Xa21* 유전자를 만금에 집적시킨 SR30075 계통(Suh et al. 2013)을 이용하여 *Xa3*과 *xa5*가 집적된 만백(2014년 개발)을 개발하였고, 수원345호 배경에 *Xa4*, *xa5*, *Xa21*이 도입된 단일저항성 근동질 계통이 육성되었고(Kim et al. 2011), 이들 이용하여 *Xa3*과 *xa5*가 결합된 신백(2010)과 새신(2014)이 개발되었고, 세 개의 저항성 유전자 *Xa3*+*xa5*+*Xa21*가 집적된 익산575호(Park et al. 2013)를 개발하

였다(Fig. 7)

Xal 저항성 유전자는 4번 염색체 장완에 위치하는데 이 위치에는 8개의 벼흰잎마름병 저항성 유전자가 군집을 이뤄 집중적으로 존재(Bhasin et al. 2012, Xia et al. 2012) 할 만큼 이 위치는 벼흰잎마름병 저항성 기작에 있어서 중요한 부위이다. *Xal*은 우리나라의 벼흰잎마름병 K1 균계에 높은 수준의 균계 특이적 저항성을 나타내며 이를 이용하여 일미(1995년 개발) 등 많은 우량 품종이 개발되었으며, K1 균계에 저항성을 나타내는 품종들은 대부분 *Xal*을 가지고 있는 것으로 추정된다(Park et al. 2011). 본 연구는 *Xa3*, *Xa21*(11번 염색체 장완 위치),

Table 10. Quality-related traits of milled rice of varieties and breeding lines at yield trial.

Var./line	Head rice (%)	Opaque rice (%)	Damaged rice (%)	Broken rice (%)	Colored rice (%)	Protein content (%)	Amylose content (%)	Glossiness (TOYO value)
Nampyeong	97.0aA	0.4dAB	0.5cBC	2.0fBC	0.1cA	5.9bA	18.5hE	89.5abAB
Jinbaek	96.9aA	0.5cdAB	0.9bA	1.5gC	0.1cA	5.4dD	20.7aA	91.4aA
Ilmi	95.7bAB	0.4dAB	0.3dC	3.5cA	0.1cA	5.7bcB	18.9gD	87.2bcAB
Saeilmi	96.3abAB	0.4dAB	0.3dC	2.9dAB	0.1cA	5.7bcB	19.0fgD	85.9cB
Iksan575	94.6cdB	0.2dB	0.6cB	4.3bA	0.2bA	5.7bcBC	20.2cB	87.3bcAB
RDL1	93.6e	0.8cd	1.2a	4.4b	0.1c	5.5cd	20.2bc	79.9de
RDL2	95.4b	0.4d	1.1a	3.0d	0.1c	5.5cd	20.5ab	88.9ab
RDL3	93.3e	0.5cd	1.0ab	5.1a	0.2b	5.5cd	20.2bc	83.6cd
RDL4	94.8c	0.5cd	1.0ab	3.6c	0.1c	5.5cd	20.2bc	86.8bc
RDL5	94.8c	0.5cd	1.0ab	3.7c	0.1c	5.6c	20.4abc	86.7bc
RDL6	95.5b	0.4d	0.8b	3.2cd	0.1bc	5.5cd	20.1c	87.0bc
RDL7	95.5b	0.3d	1.0ab	3.2cd	0.1c	5.6c	20.3bc	82.0d
Mean of RDL	94.7B	0.5AB	1.0A	3.7A	0.1A	5.5CD	20.3B	85.0B
C.V. (%)	1.2	40.0	30.0	24.3	100.0	2.0	1.0	4.8
RPL1	94.6cd	0.5cd	0.4cd	4.4b	0.2ab	6.2a	18.7gh	77.7e
RPL2	95.5b	1.6b	0.5c	2.5e	0.0d	5.7bc	19.3ef	84.0cd
RPL3	94.6cd	1.6b	0.6c	3.2cd	0.1c	5.7bc	19.0fg	78.0e
RPL4	92.9f	2.9a	0.4cd	3.6c	0.1c	5.7bc	19.5de	84.4cd
RPL5	95.3b	0.8cd	0.7bc	3.0d	0.2b	5.7bc	19.5de	83.2cd
RPL6	95.8b	1.1bc	0.6c	2.5e	0.1c	5.9b	19.4de	76.2f
RPL7	96.4ab	0.7cd	0.6c	2.2f	0.1cd	5.8b	19.3de	78.6e
RPL8	95.2b	1.7b	0.5c	2.6e	0.1c	5.8b	19.3de	79.7de
RPL9	94.7c	0.7cd	0.7bc	3.7c	0.2b	5.8b	19.6d	79.3de
RPL10	94.1d	0.2d	0.5c	4.9ab	0.3a	5.8b	20.1c	88.0abc
Mean of RPL	94.9B	1.2A	0.5CB	3.3AB	0.1A	5.8AB	19.4C	80.9C
C.V. (%)	1.6	75.0	40.0	39.4	100.0	3.8	2.2	6.9

^zMeans with the same letters in a column are not significantly different at $p < 0.05$ (ANOVA followed by DMRT). Small and capital letters indicate statistic difference between lines and breeding methods, respectively.

xa5(5번 염색체 단위)가 집적된 익산575호와 *Xal*을 가지고 있는 일미를 이용하여 네 개의 저항성 유전자가 집적된 계통을 개발하기 위해서 수행되었다. 저항성 유전자의 도입여부를 확인하기 위해서 저항성 유전자와 밀접하게 연관된 분자표지를 이용하였다. 이용된 분자표지들은 공우성 마커로 분리집단에서 이형접합체의 구분이 가능하나 본 실험에서 *Xa21*의 유전자형은 이형접합체가 판단되지 않았는데, 이는 *Xa21*을 표지하는 U1/I1 마커를 확인하는 과정에서 전기영동을 아크릴아마이드 겔이 아닌 아가로스 겔에서 확인하여 이형접합체의 명확한 구분이 되지 않은 것에 기인한 것으로 생각된다(Table 2, Fig. 2).

MAS를 통해 F₂ 분리집단에서 발현되는 저항성 유전자들의 조합을 구분한 결과 네 개의 저항성 유전자로 작성 가능한 모든 조합인 16개 조합이 생성되었고, 네 개의 저항성 유전자가 모두 발현되는 조합들은 K1 및 K3a에 강한 저항성 반응을 나타냈으며

다른 저항성 유전자 조합에 비해서 저항성 정도도 강하였다(Table 3). 네 개의 저항성 유전자 조합 중에서 *Xal*, *Xa3*, *xa5*가 저항성을 발현하는 동형접합체 유전자형이고 *Xa21*의 유전자형이 *Xa21Xa21*, *Xa21xa21*로 저항성이 발현되는 4개체를 선발(Fig. 2)하여 약배양과 계통육종법의 두 가지 육종방법을 병행하며 분자표지와 표현형 선발법을 적용하여 저항성 유전자 집적 계통을 육성하였다(Fig. 1). 선발된 4개체의 49개 이삭에서 7,700개의 약을 채취하여 약배양을 수행하였으나 생성된 캘러스가 180개체(2.3%)로 낮은 캘러스 형성률을 나타냈고, 재분화 식물체가 21개(11.7%)로 이중 녹색체가 16개(76.2%)며 종실을 맺은 이배체 고정계통은 8개 밖에 생성되지 않아 매우 낮은 약배양 효율을 나타냈다(Table 4). 이 약배양 효율은 기존의 자포니카 품종 간 교잡 F₁을 약배양했을 때의 효율에 비해 상대적으로 낮았다(Park et al. 2014, Park et al. 2015b). *xa5*는 5번

Fig. 6. Number and rate of japonica rice varieties with resistant to bacterial blight developed at National Institute of Crop Science during the indicated period.

Fig. 7. Genealogical relationship of resistant varieties to K3a race. Grey, blue, yellow, and red boxes indicate the susceptible varieties to K1, K2, K3, and K3a races, resistant varieties to K1 race, resistant varieties to K1, K2, and K3 races, and resistant varieties to K1, K2, K3, and K3a races, respectively.

염색체 단원에서 RFLP 분자마커 RG207과 밀접하게 연관 (Yoshimura et al. 1995)되어 있는데, RG207 영역에서 소수의 불임에 관련하는 QTL인 *QS5*가 발견되었으며 이 지역은 아종 혹은 생태형 특이적인 염색체 지역의 하나로 아종간 분리집단에

서 잡종 불임에 관여하여 segregation distortion에 영향을 미친다 (Chin et al. 2007, Li et al. 1997). *Xa21*은 11번 염색체의 장완에서 분자마커 CDO534와 RZ537 사이의 8.3 cM 범위에 존재 (Ronald et al. 1992)하는데, RZ537은 잡종 불임과 관련된

유전자인 *S3*와 연관되어 있어 분리집단에서의 segregation distortion에 관여한다(Xu et al. 1997). 약배양 효율은 인디카가 자포니카에 비해 저조한 것으로 알려져 있어 생태형별로 다르며 (Grewal et al. 2011), 불임 관련 유전자들의 작용에 의해 특정 유전자형의 소멸 또는 약배양 효율이 높은 배우체 유전자형의 선택적 수정으로 인하여 segregation distortion이 발생하는 것으로 알려져 있다(Park et al. 2014, Xu et al. 1997). 본 연구에서도 자포니카인 일미/익산575호 조합 후대 F_2 개체를 약배양에 이용하였지만 이들 양친이 보유한 *xa5*와 *Xa21*은 자포니카가 아닌 *Aus*형 DV85와 인디카 IRBB21에서 유래하였고, 이들 저항성 유전자가 불임과 관련된 유전자와 연관되어 있기 때문에 *xa5*와 *Xa21*을 포함하여 목표 저항성 유전자가 집적된 F_2 개체를 약배양하였을 때 효율이 저조하였던 것으로 생각된다.

MAS를 통해서 8개 약배양 계통 중 네 개의 저항성 유전자 *Xa1*+*Xa3*+*xa5*+*Xa21*가 집적된 7개 고정계통을 선발하였고, 벼흰잎마름병에 대한 광범위 저항성을 조사하였다(Table 5, Fig. 3 and 4). *Xa1*+*Xa3*+*xa5*+*Xa21* 유전자 집적 계통은 모든 균주에 대해서 병반장 1 cm 이하의 매우 강한 저항성 반응을 나타냈으며, HB3011, HB4027, HB6142, HB6159 균주에 대해서 *Xa3*+*xa5*+*Xa21*과 비교하여 *Xa1* 도입에 따른 향상된 저항성 반응을 나타내어 네 개의 저항성 유전자 조합의 저항성 증진 효과를 확인하였다. 약배양과 함께 계통육종법을 이용하여 분자표지 선발과 벼흰잎마름병 생물검정과 농업형질 조사 등 표현형 선발을 이용하여 목표 저항성 유전자가 집적된 10개의 고정계통을 육성하였다(Table 6). 기존의 저항성 품종인 진백과 모본으로 이용된 익산575호가 수량성이 낮은 편이기 때문에 F_4 세대에서 벼흰잎마름병 저항성 도입여부와 함께 농업형질 특성 특히 수량을 중점으로 선발을 수행하였다. 이를 통해 개발된 RPL은 평균 수량이 579 kg/10a로 남평(562 kg/10a) 대비 현미수량 103%였으며 특히 RPL4 (110%), RPL9 (108%), RPL2 (107%), RPL7 (106%)은 남평에 비해 수량성이 5% 이상으로 다수성을 나타내 수량성 측면에서 이전의 저항성 품종들보다 개선된 특성을 나타냈다. 약배양과 계통육종법을 이용해 개발된 저항성 유전자 집적 계통들은 벼흰잎마름병 대표 균계인 K1, K2, K3, K3a에 매우 강한 저항성 반응을 나타냈으며(Table 7), K3a 균계 집종에 따른 수량성 및 품질 변이에 대한 저항성 성능검정에서도 집종구와 대조구와의 차이가 없어(Table 8) 벼흰잎마름병에 대한 효과적인 저항성원으로 판단되었다. 하지만 RDL 및 RPL의 일부 계통들의 백미 품질에 있어서 정상립이 다른 공시 재료에 비해 낮은 편이었고 쉼피, 피해립, 분상질립이 많은 등 외관품위가

다소 좋지 않았고, 취반미의 기계적 윤기치가 낮은 등 품질 특성이 낮은 경향(Table 10)으로 실용적인 재배품종으로 활용되기 위해서는 이에 대한 개선이 필요할 것으로 생각된다.

벼흰잎마름병 저항성 유전자를 정밀하게 표지할 수 있는 분자표지의 개발과 분석에 드는 비용의 절감 및 선발의 효율화는 벼흰잎마름병 저항성 육종사업에서 분자육종의 활용을 가속화시키고 있다. 분자표지를 이용한 선발법은 저항성 생물검정에 드는 노력을 경감시킬 수 있으며 환경변이 등에 따른 검정 결과의 변이에 영향을 덜 받는다. 또한 초기세대부터 저항성 유전자가 도입된 개체를 선발할 수 있으며, 생물검정을 통한 표현형 선발로는 구분이 어려운 저항성 유전자의 집적 여부도 확인이 가능하게 되어 목표 저항성 유전자의 도입과 집적에 정확성, 신속성 및 효율성을 부여하고 있다. 하지만 도입·집적된 유전자가 실질적으로 저항성을 잘 발현하는지에 대해서는 최종적으로 벼흰잎마름병균 집종을 통한 생물검정이 필수적이며 개발된 저항성 유전자 집적 계통이 실용적인 재배품종으로서의 수준을 넘어서기 위해서는 초형, 수량성, 미질 등에서 우수하여야 하기 때문에 육종과정에서 표현형 선발을 통해 다양한 농업형질의 종합적인 고려가 뒷받침되어야 한다. 이를 위해 분자표지 선발과 표현형 선발의 적절한 조화와 활용이 필요할 것이며 이를 통해 우수한 벼흰잎마름병 저항성 품종 개발이 가능할 것이다.

적 요

우리나라 자포니카 벼 품종의 벼흰잎마름병 저항성 증진을 위하여 네 개의 저항성 유전자 *Xa1*+*Xa3*+*xa5*+*Xa21*이 집적된 우량 계통을 개발하였다. *Xa1*을 가지고 있는 일미와 *Xa3*+*xa5*+*Xa21*이 집적된 익산575호를 교배모본으로 하였고 저항성 유전자 연관 분자표지 선발과 벼흰잎마름병 저항성 생물검정 및 농업형질에 대한 표현형 선발을 함께 적용하여 네 개의 저항성 유전자가 집적된 약배양 유래 7 계통과 계통육종법 유래 10 계통을 개발하였다. 분리집단인 F_2 집단의 저항성 유전자 조합 중에서 *Xa1*+*Xa3*+*xa5*+*Xa21* 조합이 가장 강한 저항성 반응을 나타냈으며 *Xa3*+*xa5*+*Xa21*에 비해 향상된 저항성 반응을 나타내 저항성 유전자 집적에 따른 저항성 증진 효과를 확인하였다. 네 개의 저항성 유전자 집적 계통들은 16개 국내 수집 벼흰잎마름병 균주에 대해서 광범위 저항성을 나타냈으며, 병원성이 강한 K3a 균계 집종에 의해서도 수량성 감소 및 품질 저하가 없었다. 게다가 이들 계통들은 초형이 양호하고 이전의 저항성 품종들에 비해서 증가된 수량성을 나타냈다. 네 개의 저항성

유전자 집적 조합 *Xa1*+*Xa3*+*xa5*+*Xa21*은 효율적이고 유망한 저항성 유전자 집적 조합으로 판단되었고, 개발된 저항성 유전자 집적 계통들은 자포니카 벼의 흰잎마름병 저항성 증진을 위한 유용한 육종소재로서 저항성 육종사업에 활용될 것이다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ00871006)의 지원에 의해 이루어진 것임

REFERENCES

- Bhasin H, Bhatia D, Raghuvanshi S, Lore JS, Sahi GK, Kaur B, Vikal Y, Singh K. 2012. New PCR-based sequence-tagged site marker for bacterial blight resistance gene *Xa38* of rice. *Mol. Breed.* 30: 607-611.
- Cheema KK, Grewal NK, Vikal Y, Sharma R, Lore JS, Das A, Bhatia D, Mahajan R, Gupta V, Bharaj TS. 2008. A novel bacterial blight resistance gene from *Oryza nivara* mapped to 38kb region on chromosome 4L and transferred to *Oryza sativa* L. *Genet. Res.* 90: 397-407.
- Chin JH, Kim JH, Jiang W, Chu SH, Woo MO, Han L, Brar D, Koh HJ. 2007. Identification of subspecies-specific STS markers and their association with segregation distortion in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Crop. Sci. Biotech.* 10: 175-184.
- Choi HC. 2006. A guide to rice breeding. NICS, Korea. pp.117-124.
- Collard BCY, Mackill DJ. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philos. Trans. of the R. Soc. B* 363: 557-572.
- Dokku P, Das KM, Rao GJN. 2013. Pyramiding of four resistance genes of bacterial blight in Tapaswini, an elite rice cultivar, through marker-assisted selection. *Euphytica* 192: 87-96.
- Grewal D, Manito C, Bartolome V. 2011. Doubled haploids generated through anther culture from crosses of elite *Indica* and *Japonica* cultivars and/or lines of rice: large-scale production, agronomic performance, and molecular characterization. *Crop Sci.* 51: 2544-2553.
- Huang N, Angeles ER, Domingo J, Magpantay G, Singh S, Zhang G, Kumaravadeivel N, Bennett J, Khush GS. 1997. Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker-assisted selection using RFLP and PCR. *Theor. Appl. Genet.* 95: 313-320.
- Hur YJ, Jeung JU, Kim SY, Park HS, Cho JH, Lee JY, Sohn YB, Song YC, Park DS, Lee CW, Sohn JG, Nam MH, Lee JH. 2013. Functional markers for bacterial blight resistance gene *Xa3* in rice. *Mol. Breed.* 31: 981-985.
- Jeung JU, Heu SG, Shin MS, Vera Cruz CM, Jena KK. 2006. Dynamics of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* populations in Korea and their relationship to known bacterial blight resistance genes. *Phytopathology* 96: 867-875.
- Jin XW, Wang CL, Yang Q, Jiang QX, Fan YL, Liu GC, Zhao KJ. 2007. Breeding of near-isogenic line CBB30 and molecular mapping of *Xa30(t)*, a new resistance gene to bacterial blight in rice. *Sc. Agri. Sinica.* 40: 1094-1100.
- Kauffman HE, Reddy APK, Hsieh SPY, Merca SD. 1973. An improved technique for evaluating resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae*. *Plant Dis. Rep.* 57: 537-541.
- Khush GS, Mackill DJ, Sidhu GS. 1989. Breeding rice for resistance to bacterial blight. *Bacterial blight of rice*:207-217.
- Kim KY, Shin MS, Kim BK, Ko JK, Noh TH, Ha KY, Ko JC, Kim WJ, Nam JK, Baek MG, Noh GI, Park HS, Baek SH, Shin WC, Mo YJ, Choung JI, Kim YD, Kang HJ, Kim JG, Hwang HG, Kim JK. 2009. A mid-late maturing rice cultivar with high-quality and bacterial blight resistance 'Jinbaek'. *Korean J. Breed. Sci.* 41: 314-318.
- Kim KY, Shin MS, Kim WJ, H.S. P, Ko JC, Nam JK, Shin WC, Y.J. M, Jeung JU, Kim BK, Ko JK. 2011. Development of near-isogenic lines (NILs) conferring *Xa4*, *xa5* and *Xa21* genes resistant to bacterial blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) in *japonica* rice genetic background. *Korean J. Breed. Sci.* 43: 383-390.
- Kim SM, Suh JP, Qin Y, Noh TH, Reinke RF, Jena KK. 2015. Identification and fine-mapping of a new resistance gene, *Xa40*, conferring resistance to bacterial blight races in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 128: 1933-1943.
- Lee JH, Lee JY, Yoon YN, Kim SY, Hur YJ, Yeo US, Sohn YB, Song YC, Park DS, Nam MH. JH Cho. 2015.

- Enhancement of panicle blast resistance in Korean rice cultivar ‘Saeilmi’ by marker assisted backcross breeding. *Plant Breed. Biotech.* 3: 1-10.
18. Li Z, Pinson SRM, Paterson AH, Park WD, Stansel JW. 1997. Genetic of hybrid breakdown in an intersubspecific rice (*Oryza sativa* L.) population. *Genetics* 145: 1139-1148.
 19. Mew TW. 1987. Current status and future prospects of research on bacterial blight of rice. *Annu. Rev. Phytopathol.* 25: 359-382.
 20. Mundt CC. 1990. Probability of mutation to multiple virulence and durability of resistance gene pyramids. *Phytopathology* 80: 221-223.
 21. Noh TH, Lee DK, Kang MH, Shin MS, Shim HK, Na SY. 2003. Identification of new race of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) in Korea. *Phytopathology* 93(s): 66.
 22. Ogawa T, Yamamoto T, Khush GS, Mew TW. 1991. Breeding of near-isogenic lines of rice with single genes for resistance to bacterial blight pathogen (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*). *Jap. J. Breed.* 41: 523-529.
 23. Park HS, Kim KY, Shin MS, Noh TH, Ha KY, Baek MG, Baek SH, Kang HJ, Ko JK. 2011. Breeding for *japonica* rice variety with resistance to bacterial blight in Korea. *Korean J. Breed. Sci.* 43(s1): 44.
 24. Park HS, Kim KY, Shin MS, Noh TH, Jeung JU, Kim YG, Suh JP, Ha KY, Baek MG, Baek SH, Kang HJ, Ko JC, Kim BK. 2012. Variation of yield and grain quality by the inoculation of K1 and K3a races of bacterial blight in early maturing *japonica* rice varieties. *Korean. J. Breed. Sci.* 44: 516-525.
 25. Park HS, Shin MS, Kim KY, Noh TH, Baek SH, Lee JH, Ha KY, Baek MK, Kim WJ, Park JH, Yoo JS, Cho YC, Kim BK. 2013. Reaction of single resistance genes and their pyramiding effects in *indica* and *japonica* rice against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Korea. *Korean. J. Breed. Sci.* 45: 119-129.
 26. Park HS, Baek SH, Kim WJ, Jeung JU, Lee JH, Ha KY, Park JH, Nam JK, Baek MG, Yoo JS, Baek CH, Noh TH, Kim KY, Cho YC, Kim BK, Lee JH. 2014. Development of multi-resistant lines to brown planthopper, bacterial blight, and rice stripe virus using anther culture in rice. *Korean. J. Breed. Sci.* 46: 78-89.
 27. Park HS, Nam JK, Kim KY, Kim WJ, Jeong JU, Baek MK, Kim JJ, Cho YC, Lee JH, Kim BK, Ahn SN. 2015a. Development of early maturing rice lines with genes conferring resistance to bacterial blight and rice stripe virus for enhancing the adaptability in plain area. *Korean J. Breed. Sci.* 47: 118-127.
 28. Park HS, Ha KY, Kim KY, Kim WJ, Nam JK, Baek MK, Kim JJ, Jeong JM, Cho YC, Lee JH, Kim BK, Ahn SN. 2015b. Development of high-yielding rice lines and analysis of panicle and yield-related traits using doubled haploid lines derived from the cross between Deuraechan and Boramchan, high-yielding japonica rice cultivars in Korea. *Korean J. Breed. Sci.* 47: 384-402.
 29. Pradhan SK, Nayak DK, Mohanty S, Behera L, Barik SR, Pandit E, Lenka S, Anandan A. 2015. Pyramiding of three bacterial blight resistance genes for broad-spectrum resistance in deepwater rice variety, Jalmagna. *Rice.* 8: 19.
 30. Rajpurohit D, Kumar R, Kumar M, Paul P, Awasthi A, Basha PO, Puri A, Jhang T, Singh K, Dhaliwal HS. 2011. Pyramiding of two bacterial blight resistance and a semidwarfing gene in Type 3 Basmati using marker-assisted selection. *Euphytica.* 178: 111-126.
 31. Ronald PC, Albano B, Tabien RE, Abenes L, Wu KS, McCouch SR, Tanksley SD. 1992. Genetic and physical analysis of the rice bacterial blight disease resistance locus, *Xa21*. *Mol. Gen. Genetics* 236: 113-120.
 32. Shin MS, Kim KY, Park HS, Ko JK. 2011. Breeding for resistance to bacterial blight in rice. *Korean. J. Breed. Sci.* 43: 241-251.
 33. Shin WC, Baek SH, Seo CS, Kang HJ, Kim CK, Shin MS, Lee GS, Hahn JH, Kim HS. 2006. Improvement of selection efficiency for bacterial blight resistance using SNP marker in rice. *J. Plant Biotech.* 33: 309-313.
 34. Singh S, Sidhu JS, Huang N, Vikal Y, Li Z, Brar DS, Dhaliwal HS, Khush GS. 2001. Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5*, *xa13* and *Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106. *Theor. Appl. Genet.* 102: 1011-1015.
 35. Suh JP, Cho YC, Won YJ, Ahn EK, Baek MK, Kim MK, Kim BK, Jena KK. 2015. Development of resistant gene-pyramided *japonica* rice for multiple biotic stresses using molecular marker-assisted selection. *Plant Breed. Biotech.* 3: 333-345.
 36. Suh JP, Jeung JU, Noh TH, Cho YC, Park SH, Park HS, Shin MS, Kim CK, Jena KK. 2013. Development of breeding lines with three pyramided resistance genes that

- confer broad-spectrum bacterial blight resistance and their molecular analysis in rice. *Rice*. 6: 5
37. Sundaram RM, Vishnupriya MR, Biradar SK, Laha GS, Reddy GA, Rani NS, Sarma NP, Sonti RV. 2008. Marker assisted introgression of bacterial blight resistance in Samba Mahsuri, an elite indica rice variety. *Euphytica*. 160: 411-422.
 38. Wang GL, Song WY, Ruan DL, Sideris S, Ronald PC. 1996. The cloned gene, *Xa21*, confers resistance to multiple *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates in transgenic plants. *Mol. Plant Microbe In.* 9: 850-855.
 39. Xia C, Chen H, Zhu X. 2012. Identification, mapping, isolation of the genes resisting to bacterial blight and application in rice. *Mol. Plant Breed.* 3: 121-131.
 40. Xu Y, Zhu L, Xiao J, Huang N, McCouch SR. 1997. Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F₂, backcross, doubled haploid, and recombinant inbred populations in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Gen. Genet.* 253: 535-545.
 41. Yoshimura S, Yoshimura A, Iwata N, McCouch SR, Abenes ML, Baraoidan MR, Mew TW, Nelson RJ. 1995. Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers. *Mol. Bree.* 1: 375-387.
 42. Yun MS, Lee EJ, Cho YS. 1985. Pathogenic specialization of the rice bacterial leaf blight pathogen, *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*: Race classification based on reactions of Korean differential varieties. *Korean J. Plant Prot.* 24: 97-101.
 43. Zhang F, Zhuo DL, Huang LY, Wang WS, Xu JL, Vera Cruz C, Li ZK, Zhou YL. 2015. *Xa39*, a novel dominant gene conferring broad-spectrum resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice. *Plant Pathol.* 64: 568-575.
 44. Zhang J, Li X, Jiang G, Xu Y, He Y. 2006. Pyramiding of *Xa7* and *Xa21* for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. *Plant Breed.* 125: 600-605.