

## 국내 수집 벼흰잎마름병균의 유전적 다양성 및 병원형

오창식<sup>†</sup> · 노은정 · 이승돈<sup>1</sup> · 나동수<sup>2</sup> · 허성기\*

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물과, <sup>1</sup>농촌진흥청 운영지원과

<sup>2</sup>국립농업과학원 농자재평가과

### Genetic Diversity and Pathotypes of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Isolated in Korea

Chang-Sik Oh<sup>†</sup>, Eunjung Roh, Seungdon Lee<sup>1</sup>, Dongsoo La<sup>2</sup> and Sunggi Heu\*

Microbial Safety Division, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

<sup>1</sup>Research Policy Bureau, RDA, Suwon 441-707, Korea

<sup>2</sup>Pesticide Safety Evaluation Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

(Received on June 18, 2010; Accepted on August 4, 2010)

*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, causal agent of bacterial leaf blight (BLB) of rice, had been collected and identified using Biolog and fatty acid analysis. Epidemics of BLB had been occurred all the times at several rice cultivating areas in Korea in 1999-2004. Most *X. oryzae* pv. *oryzae* isolated in 1999 and 2002 belonged to Korean race K1, but more than 50% of the pathogen isolated in 2003 belonged to Korean race K3. Especially, most pathogens isolated in Jeonnam and Jeonbuk provinces belonged to Korean race K3. Inoculation test of near isogenic lines (NIL) of rice carrying single resistance genes against BLB showed that many isolates belonging to Korean race 1 reacted differently to diverse resistant monogenic lines of rice. Southern blot analysis also showed that the bacterial pathogens belonged to the same race had different numbers of avirulence genes. This results suggested that each Korean race type may respond to many resistance genes of rice. All the K3 races isolated in Jeonnam and Jeonbuk provinces were able to cause disease on Xa3 monogenic lines of rice. Since most rice cultivars cultivated in Jeonnam and Jeonbuk were carrying Xa3 resistance genes, the bacterial pathogens isolated in Jeonnam and Jeonbuk were likely to develop to adapt to Xa3 resistance gene. Together with avirulence gene patterns of the bacterial isolates and the results of disease reaction of monogenic lines of rice to them, Korean *X. oryzae* pv. *oryzae* was classified into 19 pathotypes. This newly classified pathotypes should help the breeding of new resistance rice cultivars in Korea.

**Keywords :** Genetic diversity, Pathotype, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

벼흰잎마름병은 그람 음성 간균으로 황색, 점질성의 콜로니를 형성하는 세균인 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*에 의해 발생하는 벼의 주요 병해 중의 하나이다(Mew, 1987). 벼흰잎마름병에 감염된 벼는 잎마름병징을 보이고 결국은 잎 끝이 하얗게 타면서 고사한다(Choi 등, 1967).

이 병은 지금까지 아시아 전역, 오스트레일리아, 미국 등에서 발생이 보고되어 있다. 벼흰잎마름병은 도관부 병으로서 주로 잎에서 발생된다. 병원균은 이병주의 그루터기, 잡초 기주 및 종자 등에서 월동하여 이듬해 1차 전염원이 되며, 본답에서의 전파는 관개수와 비파람 등에 의해 이루어진다. 잎에서는 자연 개구인 수공과 상처를 통해 침입하여 도관부에 도달하면 급속히 증식하고 엽신의 기부 및 심할 경우 엽초에까지 이동 감염된다(Choi 등, 1983). 우리나라에서는 일반적으로 7월 하순-8월 초순 사이에 병원균의 증식과 감염이 시작되며 포장에서 육안

\*Corresponding author

Phone) +82-31-290-0455, Fax) +82-31-290-0407

Email) heu@rda.go.kr

<sup>†</sup>Boyce Thompson Institute for Plant Research, Tower Road, Ithaca, New York 14853, USA

상 발병이 관찰되는 시기는 대부분 8월 중순 이후부터였으나 최근의 온난화 현상의 여파로 7월에도 심한 병징을 보인다. 벼흰잎마름병균은 기주식물의 도관에서만 증식이 가능하다. 대부분의 도관부 세균병과 같이 벼흰잎마름병도 약제방제 효율이 매우 낮아 전적으로 저항성 품종의 육성과 재배에 의해 병해를 회피하고 있는 실정이다. 이러한 경종적 방제의 어려움은 아시아는 물론 벼 재배 나라에서 벼흰잎마름병에 의한 피해가 큰 요인이라 생각된다. 본 병의 방제를 위해서는 저항성 품종의 이용이 특히 중요한 방법이므로 벼흰잎마름병에 대한 벼 저항성 기작의 구명이나 병원성 기작 구명이 급선무라 할 수 있다. 현재 약 25개 이상의 저항성 유전자가 동정되어 있고(Gu 등, 2005; Iyer 등, 2004; Porter 등, 2003; Sun 등, 2003, 2004; Song 등, 1995; Sanchez 등, 1999; Yoshimura 등, 1998), Xa21의 경우 재조합식물체가 작성되어 벼흰잎마름병 저항성 벼로 이미 알려져 있다(Ezuka와 Kaku, 2000; Khush 등, 1990; Noda 등, 1989; Sun 등, 2004). 그러나, 이렇게 단일자 저항성 유전자를 이용한 품종저항성은 그 저항성 유전자를 무력화 시킬 수 있는 새로운 레이스의 출현 등 병원균 집단 구조의 변화로 곧 무너지게 된다. 이는 Flor의 유전자대유전자설(gene-for-gen) 이론에 의해 처음 제기된 다음 1990년대 분자생물학 발달과 함께 병원균의 비병원성 유전자를 분리, 기능을 검정함으로써 증명되었다. 우리나라와는 달리 이미 일본을 포함한 여러 아시아에서는 벼흰잎마름병균 집단 구조 변이 등의 연구가 활발히 되어 있다. 일본의 레이스 분포 결과 일본 레이스 I과 II는 특정 지역에서만 우점하나 III, IV, V의 비율은 낮고, 또 지역차를 보이고 있다. 일본의 경우 큐슈, 오키나와 등에서 레이스 II의 분포가 높은 것은 특정 품종의 재배가 계속되어 생긴 결과다. 그러나 다른 레이스가 상당량 분포함은 저항성 품종을 도입하기 전부터 그 품종을 침해할 수 있는 레이스가 낮은 비율로 분포되어 있음을 뜻한다. 보고된 결과들을 살펴보면 수직 저항성만을 이용하여 병을 방제하기에는 일본 등 아시아에 분포하는 각 레이스의 병원성 관련 유전의 변이 폭이 넓고 복잡하게 분화되어 있다(Choi 등, 1996; Lee 등, 1999; Noh 등, 2003). 국내에서는 벼흰잎마름병의 약화로 병균의 레이스 변화에 대한 연구가 수년간 미흡하였는데 최근 몇 년간 온난화 현상과 이상 기온으로 인하여 벼흰잎마름병이 전라도 및 경상도 지역에서 크게 발생하였다. 새로이 발생하는 벼흰잎마름병의 방제를 위하여는 우리나라 균계의 레이스 분화형을 정확하게 알아야 하며 또한 단일자 저항성 품종을 이용하여 우리나라 균계에 사용 가능한 저항성 유전자를 파악하여야 한다(Jeung 등, 2006). 병

원균 집단은 지역적으로 해에 따라 레이스 분포가 달라 지므로(Choi 등, 2003) 저항성 품종의 지역적 안배가 중요하다. 만약 병원균 집단의 변이를 결정하는 요인을 밝혀내면 병원균 집단 구조 변화를 예측할 수 있을 것이며, 이에 따라 저항성 품종 육성과 연차적, 지리적 품종 안배로 품종저항성 이용효율을 증대시킬 수 있을 것이다. 이러한 목적을 가지고 본 연구가 수행되었으며 본 연구에서는 벼흰잎마름병균의 생리분화형을 알아보았고 그에 따른 단일자 저항성 품종에서의 반응을 보았으며 또한 국내 주 재배 품종에서의 반응을 측정하여 판별품종을 선별하였다.

## 재료 및 방법

**벼흰잎마름병균 수집.** 전국적인 벼흰잎마름병균 수집을 위하여 7월 말부터 9월 중순 사이 전국 주요 벼 재배 지역을 중심으로 이병엽을 채집하였다. 이병엽을 채집 시 플라스틱백에 분리하여 넣어 병균 분리 시까지 4-10°C에 냉장 보관하였다. 균 분리 방법은 이병엽을 1% NaCl로 10분간 표면 살균 뒤 살균 증류수로 세척하고 다시 70% EtOH로 표면살균하고 다시 살균 증류수로 세척한 뒤 이병 부위를 1 mm<sup>2</sup> 크기로 잘라내어 PSA 배지에 치상한 뒤 약 3-5일간 28°C에 배양하여 균을 분리하였다. 또한 조직 배양에 사용하는 Magenta box에 이병엽을 꽂아 분출된 액을 이용하여 순수 분리하였다. 균의 동정은 Biolog와 Fatty acid 분석을 이용하여 동정하였으며 100% *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*로 동정된 균들을 감수성인 밀양 23호에 접종하여 병원성을 확인하였다. Biolog를 이용한 균의 동정은 분리된 세균을 BACTOTRYPTIC Soy Agar(TSBA, BD211825) 배지에 접종하여 28°C에서 24-48시간 배양한 후, 신선한 균총을 면봉으로 채취하여 GN/GP-IF(0.40% sodium chloride, 0.03% pluronic F-68, 0.01% gallan gum) 용액에 5 × 10<sup>8</sup> cfu/ml 농도로 현탁시킨 후, 각각 GN2 microplate (BIOLOG, USA) 150 μl씩 분주하여 배양하였다. 24-48시간 배양 후 Biolog 시스템을 이용하여 분석 및 동정하였다. 지방산 분석은 밀러(Miller, 1982)의 방법에 따라 수행하였다. 분리된 무름병균을 트립티카제 소이 아가(Trypticase Soy Agar, TSA) 배지에서 배양하고, 배양된 세균을 40 mg 정도 채취한 후, 지질의 비누화 반응을 위하여 시약 I(NaOH 45 g, methanol 150 ml, 증류수 150 ml) 1 ml를 첨가하고 완전히 혼합하여 100°C에서 25분간 반응시켰다. 그 후, 찬물에 급랭시키고 시약 II(6 N HCl 325 ml, methanol 275 ml)를 2 ml씩 첨가하여 혼합하고 80°C에서 10분간 반응시켜 메틸화하였다. 그

후, 다시 찬물에 급랭시키고, 추출용매(hexane:methyl-tertbutyether=1:1, v/v)를 1.25 ml 첨가하고 10분간 부드럽게 진탕하였다. 분리된 층에서 아래층 부분을 제거하고, 시약 IV(NaOH 10.8 g, 3차 증류수 900 ml)를 3 ml씩 첨가하고, 5분 동안 부드럽게 섞어준 후 층이 완전히 분리될 때까지 방치하였다. 층이 완전히 분리되면 아래층 액이 섞이지 않도록 상층액을 GC 분석용 병으로 옮겼다. 지방산 분은 'MIDI Library version TABA 3.90'과 'Library Generation system software version 3.90'을 이용하여 분석하였다.

**DNA 분리.** *Xanthomonas* sp.의 genomic DNA를 분리하기 위하여 약간 변형시킨 Sodium Dodecyl Sulfate(SDS) lysis 방법을 사용하였다. 세균을 5 ml의 LB에 접종하여 200 rpm, 28°C 배양기에서 24시간 진탕 배양하였다. 1.5 ml tube에 배양액을 넣고 12,000 rpm에서 3분간 원심 분리하여 상층액은 버리고 세균의 pellet을 얻었다. 1 M NaCl 1 ml를 첨가하여 세균을 한번 씻은 뒤 다시 원심 분리하여 세균의 pellet을 얻은 다음 0.3 ml GTE solution(50 mM glucose, 25 mM Tris-Cl, pH 8.0, 10 mM EDTA, pH 8.0)을 첨가하여 현탁한 후 lysozyme을 처리하여 상온에 30분간 방치하였다. 10% SDS 15  $\mu$ l을 첨가하여 50°C에서 10분간 배양한 후 RNaseA(10  $\mu$ g/ml) 10  $\mu$ l를 처리하고 30°C에서 6시간 이상 배양하였다. PCI(Phenol:chloroform: isoamyl alcohol=25:24:1)를 첨가하여 4°C에서 12,000 rpm에 10분간 원심 분리하고 상층액 만을 취하여 다른 tube에 옮겨 담고 2-3회 반복하였다. 3 M sodium acetate 0.1% 부피를 첨가한 뒤 ethanol 2 부피를 첨가하여 4°C 12,000 rpm에서 30분간 원심분리한 뒤 pellet을 취하였다.

**Southern blot analysis.** DNA를 알맞은 제한 효소로 digestion시킨 뒤 각각의 lane에 맞는 DNA 양을 측정하여 loading한 뒤 전기영동하였다. 전기영동한 gel을 200 mM HCl로 Denaturation하고 neutralization 용액에 40분 중화시킨 뒤 10  $\times$  SSC solution에서 membrane에 capillary 방법으로 transfer시켰다. Transfer된 membrane은 자연건조시킨 뒤 UV linker로 fixing하였다. Membrane은 hybridization solution으로 30분간 65°C에서 prehybridization시키고 P-32로 labelling한 probe를 넣고 hybridization시켰다. 하루동안 hybridization solution에서 incubation시킨 뒤 1  $\times$  SSC, 0.1  $\times$  ssc solution 등의 washing solution에서 washing한 뒤 x-ray film을 부착시켜 노출시켰다. 보통 southern blotting을 24시간 노출 뒤 developing한 후 fixing시켰다.

**병원력 검정.** 벼흰잎마름병균들을 생육상이나 온실에 서 30일 정도 키운 벼 식물체에 가위접종이나 주사접종

한 후 병징의 형태 및 심도, 식물체내에서의 병원균의 증식 정도를 조사하였다. 병징은 수침상은 이병성 반응으로, 과민감반응은 저항성으로 구분하였으며, 병징의 심도는 병반장으로 조사하였다. 식물체내 병원균의 증식은 접종 후 1일-5일까지 매일 잎을 채취하여 유발에 곁게 마쇄한 다음 희석하여 PSA 배지에 도말하여 조사하였다. 모든 병원성 검정은 1999년도 40 균주, 2002년도 20 균주, 2003년도 104 균주 그리고 2004년도 270 균주를 반복 접종 실험하였다.

**품종과 병원균 계통간 상호작용.** 본 시험은 식물병리과 이천시험지 포장에서 3년간 수행하였다. 병원균 접종은 공시품종의 진성저항성 정도를 평가하기 위해서는 최고 분얼기에 최상위엽 잎 끝 부분 1-2 cm를 병원균 현탁액( $10^9$  cfu/ml)에 적신 가위로 절단하여 접종한 후 21일에 병반장으로 조사하였다. 병원균 계통 동정을 위하여 분리된 병원균주를 밀양23호, 청청벼 및 IRBB21호 등 공시품종에 가위 접종한 후 10일에 병반장을 조사하여 레이스를 검정하였다.

## 결과 및 고찰

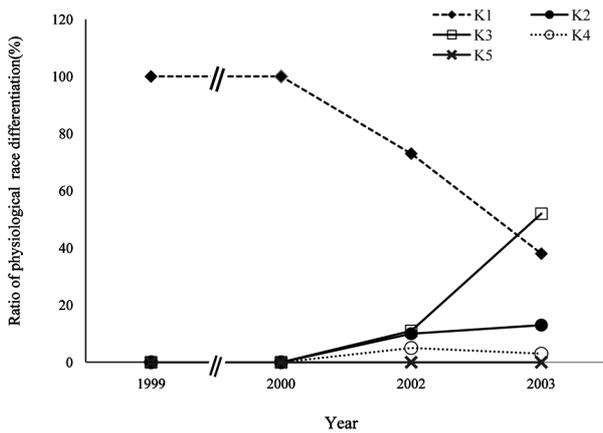
**벼흰잎마름병균 수집 및 동정.** 전국 벼 주요 재배지역 38개 지역에서 벼흰잎마름병징이 발견되었으며 전 지역에서 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*균의 분리 동정이 가능하였다. 본 실험실에서 분리 동정된 균주는 1999년도 40균주, 2002년도 20 균주, 2003년도 104 균주 그리고 2004년도 270 균주가 되었으며 모든 균주를 한국 판별품종에 반복 접종 실험하여 -80°C 냉동고에 장기 보관하였다. 2004년도에는 상주, 의성 등 벼흰잎마름병의 주 발생 단지가 아닌 경상도 지역에서도 벼흰잎마름병이 대 발생하였다. 벼흰잎마름병의 상습 발생지역인 해남, 장흥, 장성, 논산 등지에서는 3년간 계속 벼흰잎마름병이 대 발생

**Table 1.** Rice cultivars which *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* was isolated from in Jangheung experimental station

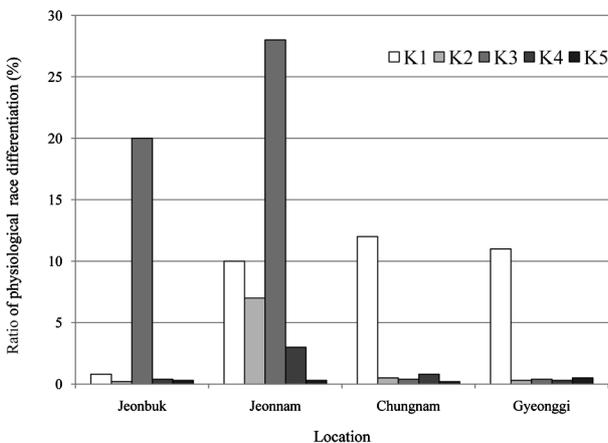
Previously known as		
BLB resistant cultivars	BLB susceptible cultivars	Functional cultivars
Daepyeong	Seogan	Daewangchal
Dongjin 1	Daeseong	Mihyang
Sindongjin 1	Namyang 40	
Junam	Iksan462	
Iksan	Iksan463	
Nampyeong	Jeungsan	
	Bonghwang	

하였으며 장흥 시험포에서는 품종 별 벼흰잎마름병균 수집이 가능하였으며 기존에 벼흰잎마름병에 저항성으로 알려진 동진1호, 신동진 1호 등에서도 벼흰잎마름병이 발생하여 균의 분화가 일어나고 있다고 추측할 수 있었다 (Table 1).

**한국 판별품종에 대한 반응.** 분리 동정된 벼흰잎마름병균의 생리 분화형의 변화를 알아보기 위하여 한국 판별 품종에 모두 접종하여 병원성을 살펴보았다(Fig. 1, Fig. 2). 우리나라 전역에서 수집 동정된 벼흰잎마름병균은 대부분 K1 레이스에 속함을 알 수 있었다. 그러나 1999년도에 분리된 레이스들은 모두 K1 레이스에 속한 반면, 2002년, 2003년도에 분리된 균들에서는 계속 K3 레이스의 출현빈도가 증가하였다. 특히 2003년도의 경우 분리된 벼흰잎마름병균의 50% 이상이 K3 레이스에 속하였



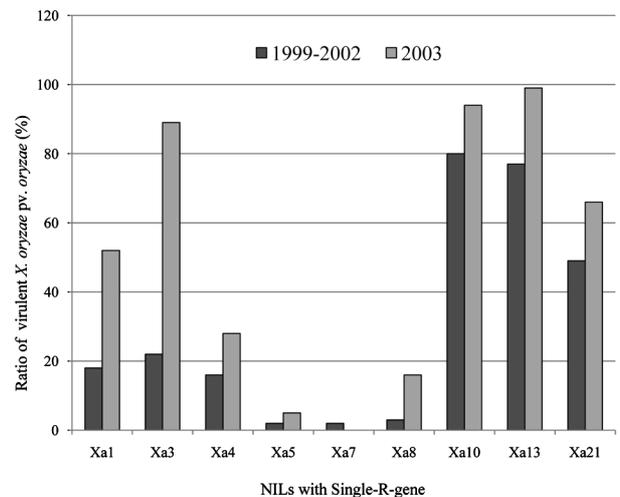
**Fig. 1.** Longitudinal changes in the ratio of physiological race differentiation of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolated in Korea.



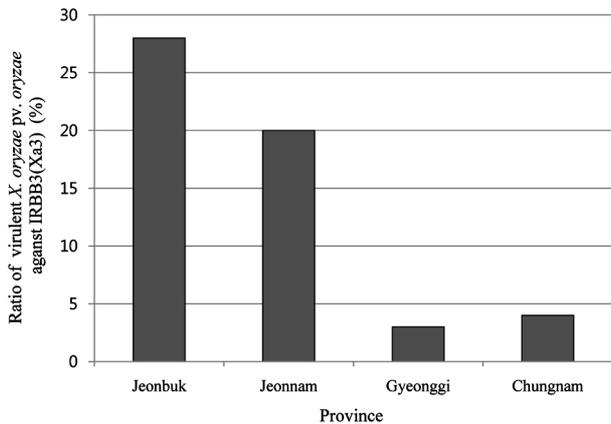
**Fig. 2.** Regional distribution of physiological race of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolated in 2003.

다. 2003년도에 분리된 벼흰잎마름병균의 지역별 생리분화형 분포 비율을 살펴 보면 대부분의 K3 레이스들이 전라남북도 지역에서 분리되었음을 알 수 있었다. 특히 전라북도의 경우 분리 동정된 거의 모든 균들이 K3에 속하였다. 경기도와 충청지역에서 분리된 균들은 모두 K1 레이스에 속하였으며 전남에서 분리된 균들은 K3 레이스가 가장 많으나 아직도 K1 레이스와 K2 레이스가 골고루 있었다(Fig. 2).

**단일자 저항성 품종에 대한 반응.** 생리분화형의 변화와 국내 재배 벼 품종과의 연관관계를 알아보기 위하여 IRR1에서 개발한 단일자 저항성 벼에 접종하여 그 병원성을 알아보았다(Fig. 3). 벼흰잎마름병균 분리 연도별 단일자 저항성 품종에 대한 균들의 반응을 보면, 2003년에 분리된 균들의 Xa1과 Xa3 저항성 유전자를 가지고 있는 품종의 이병율이 월등히 높아졌다. 즉 2003년에 분리된 균들이 Xa1과 Xa3 저항성 유전자를 침해할 수 있는 균들이 많아 졌음을 의미하며 더 이상 Xa1과 Xa3 저항성 인자가 그 지역에서 저항성으로서의 역할을 할 수 없음을 의미한다. Xa3 단일자 저항성 품종을 침해하는 균주의 증가와 함께 그 분리 지역을 살펴보았다(Fig. 4). 결과 대부분의 Xa3 침해 균들은 전라도 지역에서 분리된 벼흰잎마름병균들이었으며 경기도와 충청도 지역에서 분리된 벼흰잎마름병균의 극소수만이 Xa3 저항성 품종을 침해할 수 있었다. 전라도 지역에서 분리된 균들 중 K1 레이스와 K3 레이스에 속하는 균들을 각각 50 균주씩 단일자 저항성 품종에 접종하고 결과를 분석하였다(Table 2). 대표 균주들의 반응만 보여준 Table 2에서 보면 모든 K3 레이스들은 Xa3 단일자 저항성 품종을 침해하였다. 본 결



**Fig. 3.** Proportion of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates capable of infecting NILs single R gene.



**Fig. 4.** Regional distribution of virulent *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* on Near Isogenic Line IRBB3 carrying Xa3 resistance gene.

과는 K3 레이스의 증가는 Xa3 저항성과 상관관계가 있음을 제시한다. 한국형 판별품종 중 K3 레이스 판별에 결

정적인 풍산 품종에 Xa3 유전자가 있는지는 잘 알려지지 않았으나 풍산 품종은 한가지 저항성원인자가 아닌 최소한 2개 이상의 저항성원이 있어 각각 다른 K1 레이스가 다른 반응을 보이는 것으로 생각된다. 이와 같은 전라남북도에서 급격한 Xa3 침해 균주의 증가는 최근 전라남북도 지역의 주요 재배 벼 품종에 그 원인을 둘 수 있을 것으로 생각된다. 2002-2004년 전라남북도 총 논 벼 재배면적의 47%가 Xa3 저항성 인자를 넣어 육종한 벼이다. Xa3 유전자가 도입된 동진1호가 36.0%를 차지하며 세계화, 신동진, 주남 등의 품종이 모두 Xa3가 도입된 품종들이다(신문식 unpublished data). 이와 같이 Xa3 저항성원의 과다한 도입으로 인하여 Xa3 침해 균주의 선별적 증식을 유도하게 되었을 것으로 추측된다.

**벼흰잎마름병균의 다양한 비병원성 유전자형.** 위의 결과(Table 2)에서 보면 분리된 한국 판별품종을 이용한 레이스 구분에서는 같은 K1 또는 K3 레이스에 속한다 하더라도 단일자 저항성 품종에 대한 반응이 다를 수

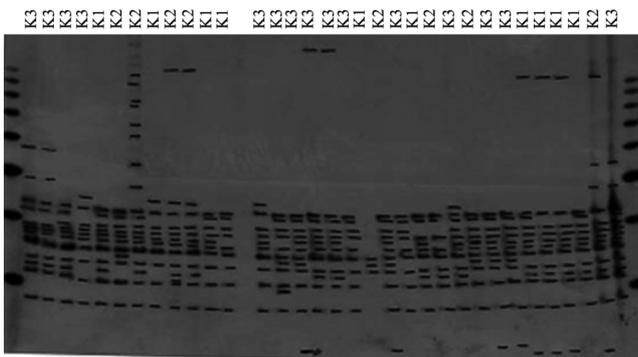
**Table 2.** Reaction of Korean *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates to Korean differential varieties and Near Isogenic Lines carrying single resistance gene

No.	M23	CC	PS	HC	M42	IRBB1	IRBB2	IRBB3	IRBB4	IRBB5	IRBB7	IRBB8	IRBB10	IRBB13	IRBB21	Race
						Xa1	Xa2	Xa3	Xa4	Xa5	Xa7	Xa8	Xa10	Xa13	Xa21	
1	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	K1
2	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	K1
3	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	K3
4	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	K1
5	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	K1
6	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	K1
7	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R	K1
8	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	K3
9	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	K3
10	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	K1
11	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	K1
12	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	K1
13	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	K1
14	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	K3
15	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	K3
16	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	K3
17	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	K3
18	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	K3
19	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	K3
20	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	K3

\*This data represent the summary of the 100 individual inoculation results with 50 different K3 races and 50 different K1 races. More than 5 leaves were inoculated with one race and the mean of the symptom length was used for the reaction. The reaction S means susceptible and R means resistance.

있었다. 이는 같은 K1 레이스에 속하는 균이라 하더라도 다른 종류의 비병원성 유전자를 가지고 저항성원에 대한 반응을 달리함을 뜻한다. 즉 다른 유전형으로 구분되어야 함을 뜻한다. 많은 K1 레이스에 속하는 균들이 이러한 다양한 저항성원에 대한 다른 반응을 보였다. 즉 한국형 관별품종으로 분류된 K1 레이스에는 다양한 비병원성 유전자가 있으며 다양한 저항성 인자에 대하여 다르게 반응할 수 있음을 뜻한다. 다양한 레이스에 속하는 국내 벼흰

잎마름병균의 비병원성 유전자 분포를 알아보기 위하여 *Xanthomonas* 속의 대표적 비병원성 유전자인 *avrXa3* 상동 유전자 분포를 알아보았다. 잘 알려진 *avrXa3* family에 속하는 벼흰잎마름병균의 *avrXa10* 유전자를 probe로 하여 국내 분리 병원균의 비병원성 유전자 패턴을 southern hybridization으로 확인하였다(Fig. 4). 한국에서 분리된 벼흰잎마름병균은 대부분 9개 이상의 비병원성 유전자를 가지고 있는 것으로 보인다. 이는 최소한 9개 이상의 저항성 인자와 다르게 반응을 보일 수 있음을 뜻한다. 또한 같은 K3 레이스 또는 K2나 K1 레이스에 속하는 균이라도 매우 다른 비병원성 유전자 패턴을 가지고 있다. 이러한 결과는 현재의 단순한 5개 품종으로는 다양한 비병원성 유전자의 반응을 구분할 수 없으며 저항성 품종 육종을 위하여는 좀더 보강된 저항성 인자를 넣은 관별 품종의 개발이 필요함을 의미한다.



**Fig. 5.** Patterns of Southern hybridization of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolated in Korea with avirulent gene *avrXa10*. DNA was isolated from a total of 33 different isolates belonging to K1, K2 or K3 race. The letter on top of the blot showed the races of individual isolate which DNA was isolated from.

**한국 벼흰잎마름병균의 pathotyping.** 위에서와 같이 국내의 벼흰잎마름병균은 끊임없이 분화하여 저항성 품종을 침해할 수 있는 균들의 분포가 점점 증가하고 있다. 단일자 저항성 반응 및 비병원성 유전자 패턴을 보면 국내 분리 균들의 유전적 배경은 매우 다양하여 현재의 단순한 관별 품종으로는 더 이상 새로운 저항성 품종의 육성을 기대하기 어려운 실정이다. 따라서 빠르게 변화하는

**Table 3.** Pathotyping of Korean *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates based on the reaction to Near Isogenic lines carrying single resistance gene and avirulence gene pattern

Pathotype	Resistant cultivars								
	Xa1	Xa3	Xa4	Xa5	Xa7	Xa8	Xa10	Xa13	Xa21
KP1	R	R	R	R	R	R	S	R	R
KP2	R	R	S	R	R	R	R	S	R
KP3	R	R	R	R	R	R	S	S	R
KP4	R	R	R	R	R	R	S	S	S
KP5	R	R	R	R	S	S	S	S	S
KP6	R	R	R	R	R	R	S	S	S
KP7	R	R	R	S	R	R	S	S	S
KP8	R	R	S	R	R	R	S	S	S
KP9	R	R	S	R	S	R	S	S	S
KP10	R	S	R	R	R	R	S	S	R
KP11	R	S	S	R	R	R	S	S	S
KP12	S	R	R	R	R	S	S	S	R
KP13	S	R	R	R	R	R	S	S	S
KP14	S	R	R	S	R	S	S	S	R
KP15	S	S	R	R	R	R	S	S	R
KP16	S	S	R	R	R	S	S	S	R
KP17	S	S	R	S	R	S	S	S	R
KP18	S	S	S	R	R	R	S	S	R
KP19	S	S	S	R	R	R	S	S	S

병원형을 알아내고 그 병원형에 맞는 저항성 인자를 찾는 작업이 시급히 요구되어진다. 이러한 배경에서 병원균의 다양한 비병원성 유전자형 및 벼의 단인자 저항성 유전자에 대한 병원균의 침해반응을 고려하여 국내 분리된 벼흰잎마름병원균들을 19개의 병원형(pathotype)으로 구분하였다(Table 3). 이러한 병원형을 기본으로 매년 분리되는 국내 벼흰잎마름병원균의 분화 추이를 살펴보면 저항성 품종의 육종 방향을 설정하는 데 많은 도움이 될 것으로 기대된다.

## 요 약

1999년부터 2004년 사이에 벼흰잎마름병의 원인균인 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*를 전국적으로 분리하여 Biolog와 지방산 분석법을 이용하여 동정하였다. 한국의 벼 관별품종을 기준으로 분류한 결과 1999년도와 2002에 각각 분리된 벼흰잎마름병원균은 모두 K1 레이스에 속하였다. 2003년도에 분리된 벼흰잎마름병원균의 경우는 50% 이상이 K3 레이스에 속하였으며 대부분 전라도 지역에서 분리된 균주였다. 분리 년도 별로 단인자 벼 저항성 품종에 대한 균들의 반응을 보았을 때 많은 K1 레이스로 분류된 균주들이 단인자 저항성 품종에 대해 달리 반응을 보였다. Southern bolt 결과, 동일한 레이스에서도 다양한 비병원성 유전자들을 가지고 있었다. 이러한 결과들은 하나의 레이스가 여러 개의 벼 저항성 유전자와 반응한다는 것을 제시한다. 전남과 전북에서 분리된 모든 K3 레이스들은 Xa3 단인자 저항성 품종을 침해하였는데 이러한 결과는 전남과 전북에 Xa3 저항성원을 지닌 벼 품종의 과다한 재배로 인하여 Xa3 침해 균주의 선별적 증식이 유도된 것으로 추측된다. 이러한 다양한 비병원성 유전자 패턴 및 단인자 저항성 유전자에 대한 반응을 고려하여 국내 분리된 벼흰잎마름병원균들을 19개의 병원형으로 분류하였다. 새롭게 분류된 병원형들은 국내의 새로운 저항성 품종을 육종하는데 도움이 될 것이다.

## 감사의 글

본 연구는 2008년 농촌진흥청의 바이오그린 21 (Code#20070301034035) 연구비 지원에 의한 결과입니다.

## 참고문헌

Choi, J. E., Kang, H. K. and Lee, D. G. 1996. Classification of Korean isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* on the basis of their virulenceto Korean, Japanese and IRRI

- differential varieties. *Kor. J. Plant. Pathol.* 12: 202-208.
- Choi, J. E., Park, S. H. K. and Bae, S. H. 1983. Resistance of rice varieties to bacterial leaf blight in Korea. *Res. Rept. ORD.* 25: 134-143.
- Choi, S. H., Lee, S. W., Han, S. S., Lee, D. K. and Noh, T. H. 2003. Identification of durable resistance genes against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Korea. *Kor. J. Breed.* 35283-288.
- Choi, Y. C., Lee, S. K., Chung, B. J., Lee, K. H. and Cho, Y. S. 1967. Studies on the varietal trials of rice to the bacterial leaf [*Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama) Dowson] in Korea. *The Res. ORD* 20: 93-100.
- Ezuka, A. and Kaku, H. 2000. A historical review of bacterial blight resistance. *Bull. Natl. Inst. Agrobiol. Resour.* 15: 1-207.
- Gu, K., Yang, B., Tian, D., Wu, L., Wang, D., Sreekala, C., Yang, F., Chu, Z., Wang, G. L., White, F. F. and Yin, Z. 2005. R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature* 435: 1122-1125.
- Iyer, A. S. and McCouch, S. R. 2004. The rice bacterial blight resistance gene xa5 encodes a novel form of disease resistance. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 17: 1348-1354.
- Jeung, J. U., Heu, S. K., Shin, M. S., Vera Cruz, C. M. and Jena, K. K. 2006. Dynamics of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* population in Korea and their relationship to known bacterial blight resistance genes. *Phytopathology* 96: 864-875.
- Khush, G. S., Bacalanco, E. and Ogawa, T. 1990. A new genes for resistance to bacterial blight from *O. longistaminata*. *RGN* 7: 121-122.
- Lee, S. W., Choi, S. H., Han, S. S., Lee, D. G. and Lee, B. Y. 1999. Distribution of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* strain virulent to Xa21 in Korea. *Phytopathology* 89: 928-933.
- Mew, T. W. 1987. Current status and future prospects of research on bacterial blight of rice. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25: 359-382.
- Noda, T. and Ohuchi, A. 1989. A new pathogenic race of *Xanthomonas campestris* pv. *Oryzae* and inheritance of resistance of differential rice variety, Te-tep to it. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 55: 201-207.
- Noh, T. H., Lee, D. K., Kang, M. H., Shin, M. S. and Na, S. Y. 2003. Identification of new race of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* (Xoo) in Korea. (Abstr.) *Phytopathology* 93(suppl.): S66.
- Porter, B. W., Chittoor, J. M., Yano, M., Sasaki, T. and White, F. F. 2003. Development and mapping of markers linked to the rice bacterial blight resistance gene Xa7. *Crop Sci.* 43: 1484-1492.
- Sanchez, A. C., Ilag, L. L., Yang, D., Brar, D. S., Ausubel, F., Khush, G. S., Yano, M., Sasaki, T., Li, Z. and Huang, N. 1999. Genetic and physical mapping of xa13, a recessive bacterial blight resistance gene in rice. *Theor. Appl. Genet.* 98: 1022-1028.
- Song, W. Y., Wang, G. L., Chen, L. L., Kim, H. S., Pi, L. Y., Holsten, T., Gardner, J., Wang, B., Zhai, W. X., Zhu, L. H., Fauquet, C. and Ronald, P. 1995. A receptor kinase-like

- protein encoded by the rice disease resistance gene, Xa21. *Science* 279: 1084-1086.
- Sun, X., Yang, Z., Wang, S. and Zhang, Q. 2003. Identification of a 47 kb DNA fragment containing Xa4, a locus for bacterial blight resistance in rice. *Theor. Appl. Genet.* 106: 683-687.
- Sun, X., Cao, Y., Yang, Z., Xu, C., Li, X., Wang, S. and Zhang, Q. 2004. Xa26, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J.* 37: 517-527.
- Yoshimura, S., Yamanouchi, U., Katayose, Y., Toki, S., Wang, Z. X., Kono, I., Kuruta, N., Yano, M., Iwata, N. and Sasaki, T. 1998. Expression of Xa1, a bacterial blight resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 1663-1668.