

Bacteriophage 에 의한 벼흰빛잎마름병균의 계통분류 및 그 분포에 관한 연구

조용섭* · 박창석* · 최용철** · 이경희**

Strain Identification of *Xanthomonas oryzae* by Bacteriophages and their Distribution in Korea.

Yong Sup Cho* · Chang Seuk Park*
Yong Chul Choi** · Kyung Hee Lee**

Abstract

Fifty-one isolates of *Xanthomonas oryzae* collected from all over the Korean paddy field were classified as the eight different strains by using four different bacteriophage types.

Strain-F was the most prevalent form and strain-H,C, and A followed the strain-F, respectively. Strain-D, however, had not found even single isolate although the strain-D is the most prevalent form at Japan and southern countries of Asia.

There was no correlation between the type of strains and the area from which the strain had been collected.

Six different types of strains were isolated from IR 667 varieties whereas the three strains were maximum that could isolated from single variety other than IR 667.

서 론

벼 흰빛잎마름병은 근년에 이르러 대발생하여 해마다 큰 피해를 주고 있으며 이러한 발생상태로 미루어 보아 앞으로 토착화 되어 계속적인 피해가 예상된다. 따라서 이 병에 대한 장기간에 걸친 근본적인 해결책이 강구되어야 하겠다. 그러나 아직까지 우리나라에서는 이 병에 대한 기초적인 조사가 되어 있지않고 있어서 현재 우리나라에 분포되어 있는 병원세균의 類型이나 각각의 계통간의 병원성 또는 지역적인 특이성이 알려지지 않고 있다.

일반적으로 다른 세균들과 마찬가지로 흰빛잎마름병균도 주위 환경이나 기주식물의 변화에 따라서 많은 변

이를 나타내며 이러한 變異가운데 지금까지 없었던 전혀 새로운 병원성도 나타내게된다. 이러한 점을 감안할때 흰빛잎마름병에 대한 제문제를 해결함에 있어서 우선적으로 행해져야 할것은 전국에 걸쳐서 분포되어 있는 병균을 수집 분류하는 것이라 하겠다.

벼흰빛잎마름병균의 系統을 분류하는데는 여러가지 方法을 들수 있겠으나 가장많이 이용되고 있는 것은 병원세균인 *Xanthomonas oryzae* 에 기생하는 phage의 용균형(Lysotype)에 따라 분류하는 방법과 각각의 균주를 선정된 판별품종에 접종하여 기주식물에 대한 병원성의 차이에 따라 구분하는 방법 등이다.

Bacteriophage 에 의한 분류는 일본에서 처음으로 행해졌는데 Wakimoto(1960)에 의하여 체계화되고 확정되었다. 그는 일본에서 분리하여 순화시킨 phage 를 몇

* 서울대학교 농과대학 : College of Agriculture, Seoul Nat. Univ.

** 농촌진흥청, 식물환경연구소 : Inst. Plant Environment, O.R.D., Korea

The paper accepted for publication 25 December 1971.

가지 생리적 성질과 형태적 차이에 따라 OP₁ OP_{1h} OP_{1h2} OP₂ 등 4가지로 나누고 이들 phage의 용균작용의 차이에 따라 일본의 균주를 5가지 계통으로 구분하였다. 그뒤 필립핀 마테지아 인도등 각지에서 phage에 의한 균주의 계통분류가 시도되었으며 특히 Singh²⁾ 등은 서부 마테지아에서 얻은 6가지의 phage와 일본에서 분양한 4가지 phage에 의해서 마테지아 일대의 균주에 대한 분류를 한 결과 일본의 균주와는 서로 상당한 차이가 있음을 보고 하였다.

한편 우리나라에서는 Lee³⁾ 등이 전국 8개지역에서 채집한 30개의 균주를 일본에서 사용하고 있는 4개의 phage를 분양 받아 분류한 결과 일본과 같은 B계통 4개와 일본에서는 없었던 A'계통 26개로 나누었다. 그러나 전국적인 균주수집은 아직 실시되지 않았고 그동안 많은 변이를 가져온 것으로 추정 되어 본 실험에서는 전국에서 채집분리한 균주를 phage에 의하여 분류하고 각 계통의 지역별 분포를 조사하였다.

끝으로 이실험을 위해 연구비를 보조하여 주신 농촌진흥청 당국과 Bacteriophage를 분양하여 준 식물환경연구소 병리과 관계관에게 감사의 바이다.

실험재료 및 방법

이병식물의 채집

이병식물의 채집은 전국을 도별로 나누되 충남북을 합쳐서 한개군(群)으로 하였고 제주도는 제외하였다. 각군마다 3개지역을 선정하여 그 지역마다 3개소에서 표본을 채집하는 것을 원칙으로 했으나 병발생이 적은 경북은 2개 지역만을 택하고 발생이 많았던 전라남도 와 경기도는 3개이상 지역을 선정하였다. 각도별 채집지를 보면 다음표와 같다.

도 별	채 집 지
강 원 도	춘천시 원성군 춘성군
경 기 도	수원시 평택군 여주군 양평군
충 청 도	천원군 대전시 논산군
전 북	이리시 정읍군 김제군
전 남	나주군 함평군 담양군 영암군 광산군
경 북	고령군 달성군
경 남	진양군 하동군 밀양군

채집방법은 대체로 보아서 전체포장이 농이상의 출수된 곳을 골라 심하게 이병된 부분중에서 아직 병반이 확대되지 않은 지역과 차엽에서 표본을 채취하였다. 이병식물의 병반부위를 7cm 정도 되게 잘라서 비닐주머니(3×10cm)에 넣고 얼음을 채운 채집통에 넣어서 신선하게 보관 운반하였다.

병원균의 분리

채집통에 보관된 이병식물 표본중에서 가장 신선한 것을 골라서 병반이 시작되는 부위를 1cm×0.5cm 되게 잘라내어 75% Ethyl Alcohol에 30초간 담았다가 다시 0.1% HgCl₂용액에 1분간 넣어 표면소독을 한 다음 살균증유수에 씻어내고 P.S.A 평판배양기에 꽂아 놓았다. 이러한 배양기는 28°C에서 4~5일간 배양한 다음 이병식물 표본의 주위로부터 생겨나는 노란색 취락에서 병균을 분리해 내어 다시 P.S.A 배지에 단세포 분리배양하여 순수한 병원균을 얻었다. 여기서 얻은 균주는 각각 독립적으로 배양보존하였다.

균주의 분류

병원균의 분류는 농촌진흥청 병리과에 소장하고 있는 4개의 Phage(OP₁ OP_{1h1} OP_{1h2} OP₂)에 의하여 생겨나는 용균형의 차이에 따라 분류하였다. Bacteriophage의 용균반응을 실험하기 4일전에 각 균주를 새로운 배양기에 옮겨서 생육이 왕성하고 활성이 큰 세균을 Phage반응실험에 사용하였다. 새로이 배양한지 4일된 각 균주에서 소량의 균을 떼어내어 용해된 P.S.A 배양기(45°~50°C)에 넣고 배양기와 완전히 섞이도록 잘 흔든다음 사래에 부어 배양기 전체에 균이 골고루 자라도록 하였다. 배양기가 충분히 굳은 다음 백금이로서 4개의 Phage를 각각의 균주마다 점종시켜서 28°C에서 24시간 지난다음 Phage에 의해서 생겨난 용균작용의 조합(Fig 1)에 따라서 균주를 분리하였다.

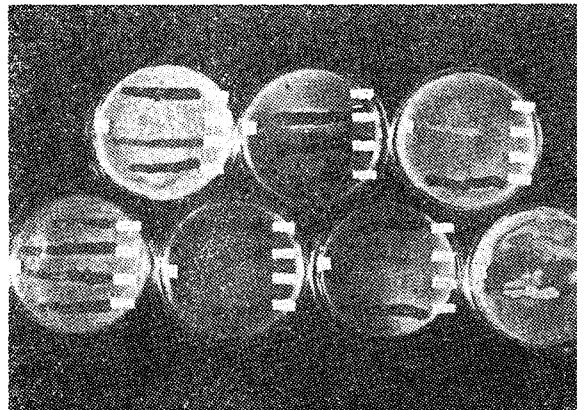


Fig. 1. Seven different types of lysis occurred on the groups of *Xanthomonas oryzae* culture by four different Bacteriophages.

실험 결과

병원균의 분류

전국에서 채집 분리한 균주는 총 51균주였으나 Phage에 의하여 분류된 균주는 42균주였다. 이들 균주의 용균형에 따른 계통의 분류는 표 1과 같다.

표에 나타난 계통중 A.B.C.D.E 다섯 계통은 일본 농업기술연구소에서 채택한 분류 방식을 그대로 인용한 것이고 나머지 F.G.H.I 계통은 본 실험결과에서 임의로 명명한 것이다.

한편 이러한 균주의 계통들이 기주식물인 수도 품종에 따라서 어떠한 분포를 하고 있나를 조사 해본 결과 표 2와 같이 나타났다.

전국 각지에 분포되고 있는 병원균 계통이 지역에따

Table 1. Kinds of strain and their frequencies classified from forty-one isolates of *X. oryzae* by the lysotypes of four different bacteriophages.

Strains	Lysotypes				Number of isolates
	OP ₁	OP _{1h₁}	OP _{1h₂}	OP ₂	
A	+	-	+	+	6
B	-	+	+	+	3
C	-	-	-	-	7
D	-	-	+	+	0
E	-	-	-	+	1
F	-	+	+	-	12
G	+	+	+	-	3
H	+	-	+	-	8
I	+	-	-	+	1

+ Lysis occurred - No reaction

Table 2. Strain distribution of *X. oryzae* on different varieties of rice in Korea.

Rice variety	Frequency of strain occurrence								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Jin-heung	1	1	2	-	-	-	-	-	-
Kimmage	1	1	-	-	-	-	-	2	-
IR 667	2	-	2	-	-	2	1	1	1
Chun-Bon-Uk	-	-	-	-	-	1	-	1	-
Shin-Poong	1	1	-	-	-	1	-	-	-
Nong-Kwang	1	-	-	-	-	2	-	-	-
Pal-Kweng	-	-	1	-	-	1	-	-	-
Akibare	-	-	-	-	2	1	-	-	-
Susukase	-	-	-	-	1	-	-	2	-
Colaro	-	-	-	-	-	1	-	-	-
IR 8	-	-	-	-	-	-	1	-	-

Table 3. Areal distribution of strains of *X. oryzae* on leading paddy fields in Korea.

Area	Frequency of strain occurrence								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
City or County, Province									
Suweon, Gyung-gi	2	-	3	-	-	1	-	1	-
Pyungtaik, Gyung-gi	-	2	1	-	-	2	-	-	-
Jungup, Jun-buk	2	-	-	-	-	-	1	-	-
Iri, Jun-buk	1	-	-	-	-	2	-	-	-
Damyang, Jun-nam	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Naju, Jun-nam	-	-	-	-	-	2	-	-	-
Yungam, Jun-nam	-	-	-	-	1	-	-	5	-
Goryung, Gyung-buk	-	-	-	-	-	3	1	-	-
Hadong, Gyung-nam	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Yangpyung, Gyung-gi	-	-	1	-	-	-	-	1	-
Wonju, Gangweon	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Gimje, Jun-buk	-	-	-	-	-	-	-	-	1

라 어떠한 양상을 나타내는가를 알아보기 위하여 표 3과 같이 몇몇 주요 지역을 선정하여 그곳에 분포되어 있는 균주의 계통을 조사하였다.

고 찰

Bacteriophage에 의한 벼 흰빛잎마름병균의 분류 방법은 실제 분계가 되는 각균주간의 병원성에 관한 지식을 얻지 못한다는 단점을 가지고 있다. 그러나 지금까지 우리나라에서는 전국에 걸친 병원 세균의 조사가 실시되지 않았고 또 이들 균주의 병원성에 따른 분류를 위한 판별품종도 정해져 있지 않았으므로 일차적인 조사로서 판별기준이 확고하고 분류가 용이한 phage법을 사용함이 타당하다 하겠다.

우리나라에서 phage에 의한 분류는 1965년 李³⁾ 등이 전국 7개 지역에서 채집한 30균주를 대상으로 일본에서 분양 받은 4가지 phage의 용균형에 따라 분류한 결과 일본과 같은 B계통 3개와 이와는 용균형이 다른 27균주를 A'계통으로 명명하였다. 그러나 본실험에서는 1965년의 2가지 외에도 6가지가 더 많았으며 이들 계통은 일본에서 Wakimoto⁷⁾ 등이 마래지아에서 분류한³⁾ 것과 판이한 결과가 나왔다. 따라서 본실험에서는 기왕의 일본 phage에 의해서 행해졌던 실험이었으므로 일본에서 정했던 A.B.C.D.E계통은 그대로 사용하였고 이들과 다른 반응을 나타낸 균주에 대하여 임의로 F.G.H.I.로 명명하였다. 李³⁾ 등이 명명한 A'-계통은 본실험결과에 나타난 H-계통과 같은 것이었다.

본 실험에서 나타난 결과에 의하면 李 등의 1965년도 연구와는 간이하게 달라서 F계통이 가장 많았으며 균주가 다양화 되었다. 이것은 세대수가 많은 흰빛잎마름병균이 외부의 영향을 받아 많은 유전적인 변이를 갖어 왔고 외국에서 새로운 품종을 계속 도입하고 새로운 품종이 육성됨에 따라 병원균자체도 이에 적응하기 위한 변이를 갖어왔다고 추측된다.

본 실험에서 특이한 것은 분화가 다양해졌음에도 일본이나 남방계에 존재하는 D-계통은 하나도 없었다. D-계통은 일본에서도 북육지방¹⁰⁾에서는 분포되지 않았다고 했으며 서부마래지아²⁾에 많이 분포되었던 것으로 보아 이 균주는 열대성 품종이나 환경에 적응되었는 것으로 생각된다.

한편 공서균주의 계통들은 기주의 품종에 따라서는 어떤 특이성도 보이지 않음이 알려졌다. 우리나라에 가장 많이 분포되어 있는 F-계통은 거의 모든 품종에서 분리되었고 다른 균주들도 한품종에 한정되어 분리된 것은 없었다. 일반적으로 감수성 품종에서는 여러가지 계

통이 분리되었다. 그러나 기주의 품종에 따른 균주의 특이성에 관한 실험은 충분히 고려되지 못하였고 조사대상도 많지 않았으므로 앞으로 이에 관한 실험이 행해져야 할 것이다. 우리나라에 분포되고있는 흰빛잎마름병균의 계통은 지역에 따른 특이성을 보이지 않고있다는 것을 알수있다. 본실험에서 얻어진 결과에 의하면 위도의 차이나 지역의 차이에 의해서 균주의 범위가 명확하게 한정되지 않았음을 알수있다. 그러나 대체로 경기, 강원, 전북 지방에서는 A.B.C계통이 많이 분류되었고 전남, 경남 지방에서는 G.H.I계통이 대부분이었다. 우리나라에 가장 많은 F계통은 전국 어느곳에서나 분리되었다. 여기서 한가지 특이한 것은 전남, 영암 지방에서 분리한균은 모두 H-계통인 것이다. 영암 지방에서는 저항성 품종으로 알려진 농립 6호나 시로가네 등도 다른 감수성 품종과 마찬가지로 이병되었다.

이러한 phage에 의한 병원균의 분류는 1차적인 것에 불과하고 이들 균주의 병원성에 관한 실험이 앞으로 1차적인 결과를 바탕으로 행하여져야 할것이다.

적 요

1. 전국에서 채집 분리한 51개의 균주를 phage의 용균형에 따라 분류하여 8가지 계통으로 나누었다.
2. 8가지 계통중 F-계통이 우리나라에 가장 많았으며 H.C.A계통이 그다음 순이었고 일본이나 남방계에 많은 D-계통은 발견되지 않았다.
3. 우리나라에 분포하고 있는 흰빛잎마름병균은 지역에 따라서 계통이 한정되거나 특이성을 보이지 않았다.
4. 통일품종은 단일품종내에서 6가지의 계통이 분리되었으나 다른 품종에서는 3가지 이내의 계통이 분리되었다.

參 考 文 獻

1. 久原童松, 關谷直正, 田上義地. 1958. 抵抗性品種の集團栽培地域に激發した稻白葉枯病の病原菌について. 日植病報, 23(1):9.
2. Kishen Gurbachsh Singh, T. Uematsu, S. Wakimoto. 1970. Studies on *Xanthomonas oryzae* and phage from malaysia. Ann. phytopathol. Soc. Japan. 36: 56~63.
3. 이경휘, 정하원. 1965. Bacteriophage의 감수성에 의한 수도백엽고병의 계통 분류. 한국식물보호학회지. 4: 29~31.

4. Mizukami, T., S. Wakimoto. 1969. Epidemiology and control of Bacterial leaf blight of rice. *Ann. Rev. Phytopathol.* 7: 51~72.
5. 向秀夫, 草葉敏彦, 渡邊 實, 脅本 哲, 山崎保子. 1960. 稻白葉枯病 系統菌の 病原性についで(その3) 日植病報. 25(1). 5.
6. 田上義地, 藤井 薄, 久原童松, 栗田年代. (1960). 各地産の 稻白葉枯病 菌株と ファージの 相互關係についで. 日植病報. 25(1): 5.
7. Wakimoto, S. 1960. Classification of strain of *Xanthomonas oryzae* on the basis of their susceptibility against bacteriophage. *Ann. phytopathol. Soc, Japan.* 25(5). 205~208.
8. 吉井甫, 吉田照雄, 松井千秋. 1953. 稻白葉枯病の ファージについで(講要). 日植病報. 17(3~4): 117.
9. 吉村彰治. 1963. 稻白葉枯病の 發生生態に 關する 診斷學的研究. 北陸農試報. 5: 27~182.
10. 吉村彰治, 吉野嶺一, 森橋俊春. 1960. バクテリオファージによって 分類 したイネシラハカレ 病菌 菌型 とその 病原性についで. 北陸病蟲研會報. 8: 21~24.