

벼 도열병에 대한 품종의 지속저항성 발현요인에 관한 연구 3. 품종과 도열병균 레이스의 상호관계

라등수* · 오정행¹ · 한성숙
농업과학기술원 병리과, ¹단국대학교 농과대학 농학과

Factors Affecting the Expression of Durable Resistance of Rice Cultivars to Blast Caused by *Pyricularia grisea* Sacc 3. Interaction of Races of Rice Blast Fungus and Cultivars

Dong Soo Ra*, Jeung Haing Oh¹ and Seong Sook Han

Plant Pathology Division, National Institute of Agricultural Science and Technology,
Suwon 441-707, Korea

¹Department of Agronomy, College of Agriculture, Dankook University, Cheonan 330-180, Korea

ABSTRACT: Interaction of races of rice blast fungus and cultivars has been evaluated. Dongjinbyeo was infected by four KJ races and two KI races, while other varieties were susceptible to four to six KJ or KI races. Among the single spores reisolated from the leaf blast lesion of Dongjinbyeo after mixed inoculation of 10 races, 63% was race KJ-301 which produced a small number and small size lesions, while 30% was race KI-313 which produced a large number of lesions. However, 93% of single spores reisolated from Palgongbyeo was a highly virulent race KJ-105. On the other hand, all the races were equally reisolated from the susceptible cultivar Jimmibyeo. Frequency of races isolated from the naturally infected leaf blast lesions in the field was similar to that of reisolated races from the cultivars inoculated with 10 mixed races in the greenhouse. However, 30% of single spores isolated from the naturally infected Dongjinbyeo was race KI-329 but race KI-313 was not detected. Genetic relationship of the isolates collected from the leaf and neck blast fungus of Jimmibyeo and Nakdongbyeo showed specific bands on RFLP-P64, However, their genetic similarity was 80%.

Key words: *Pyricularia grisea*, durable resistance, rice blast.

벼 도열병은 *Pyricularia grisea* Sacc.에 의하여 벼의 발아 후부터 출수 후 성숙기까지 전 생육기에 걸쳐 식물체 전 부위에서 발생되며 벼에 발생하는 여러 가지 병해 중에서 도열병만큼 벼 재배지역에서 중요시되고 장기간 연구가 된 식물병은 없다고 해도 과언은 아닐 것이다. 이러한 도열병의 피해를 줄이기 위한 방법으로는 저항성 품종의 육성 이용과 시비조절 등 재배법 개선을 통한 경종적 방제법, 살균제 살포에 의한 화학적 방제 방법으로 크게 나눌 수 있으나 어느 한 가지 방법으로 완벽을 기하기란 매우 어렵다(2, 13, 15).

품종의 저항성은 Van der Plank(11, 12)에 의해 수직 저항성과 수평저항성으로 구분 정의되는데 저항성 품종의 육성을 위하여 특정한 균계에 저항성인 단인자

저항성을 도입하여 이용하거나(2), 한 품종내에 여러 가지 유전자를 집적시키는 방법(3, 8), 작물학적인 특성은 동일하나 저항성 유전자는 각기 다른 isogenic-line을 혼합한 multi-line을 육성하여 이용하는 방법(1, 6) 등이 제시되고 있다. 그러나 도열병 방제에는 특정한 균계에 저항성인 단인자 저항성 즉 수직저항성이 주로 이용되어 왔다. 이 저항성은 병원균 레이스에 대해 특이적으로 작용하기 때문에 저항성 품종이 농가에 보급된지 몇년 되지 않아 병원균 집단내에 그 저항성 품종을 침해할 수 있는 새로운 레이스의 출현이나 소수로 존재하던 레이스의 증식으로 저항성이 붕괴되어 막대한 피해를 받게 되는 즉 특정 저항성 유전자만을 갖는 품종이 병원균 집단의 변이, 품종과 레이스와의 친화관계 등에 의하여 이병화되는 위험성을 배제할 수 없는 것이다. 따라서 본 연구는 품종과 도열병

*Corresponding author.

균 레이스와의 상호관계를 구명하여 사전에 지속저항성을 지닌 신품종 육성에 기여코자 수행하였다.

재료 및 방법

벼 유묘재배. 지속저항성 품종으로 알려진 동진벼, 저항성이 강한 팔공벼, 감수성 품종인 진미벼와 Tetep 등 한국 도열병균 race 판별품종을 15×15×10 cm의 플라틱 포트에 논흙을 담아 유안 0.5 g, 중과석 0.5 g, 염화加里 0.2 g씩을 기비로 주고 2줄 5립씩 파종한 후 격리된 온실에서 4~5엽기까지 육묘하였으며 접종 1주일 전에 유안 0.5% 수용액을 추비로 주었다.

접종원. 농업과학기술원 병리과에 보존하고 있는 도열병균 균주 중 비교적 분포밀도가 높은 KJ-101 (KA90-059) 등 10개 race 및 이들 균주를 혼합접종한 유묘에서 형성된 병반 30개씩을 채취하여 단포자 분리한 균주와 농업과학기술원 이천 병리시험지에서 생육시기별로 이병물을 채집하여 단포자 분리한 균주를 쌀겨배지(쌀겨 20 g, 설탕 20 g, 한천 20 g/중류수 1,000 ml)를 담은 샐레에 이식하여 26°C 항온기에 7일 동안 배양한 후 고무부러쉬로 배지 표면의 기중균사를 제거하고 2개의 BLB형광등이 켜진 정온기에서 3일 동안 포자를 형성시켰다. 포자형성에 필요한 광의 유효파장을 고려하여 샐레뚜껑을 열고 형광등의 거리는 약 30 cm로 조절하였다. 포자현탁액은 5000배액의 Tween 20을 포자가 형성된 샐레에 20 ml씩 붓고 고무부러쉬로 포자를 배지로부터 이탈시켜 두겹의 거즈로 현탁액을 여과하였다. 포자농도를 현미경 150배 시야당 포자수 10~20개로 조절하였다.

접종 및 발병조사. 회전접종상에서 분무기를 사용하여 분무접종하였으며 접종 후 25~27°C의 포화습실상에 24시간 정치한 후 온실에 옮겼다. 발병조사는 접종 7일 후에 품종당 5주씩 발병여부를 조사하고 저항성과 감수성으로 구분하였고 race 판별체계에 따라 접종한 균주의 race를 판별하였다.

품종의 생육시기별 도열병균 race 및 유전적 연관

관계. 경기도 이천 소재 농업과학기술원 이천시험지 본답에서 생육시기별(최고분얼기, 등숙기)로 나누어 잎도열병과 이삭도열병에 걸린 부위를 채집하였다. 품종별 및 시기별로 병반당 1개씩, 각각 20개 이상의 병반으로부터 단포자분리 후 배양하여 각 균주별로 판별품종에 분무접종하여 race 판별체계에 따라 접종한 균주들의 race를 판별하였다. RFLP-P64 pattern에 따른 유전적 연관관계를 평가하기 위해 낙동벼 및 진미벼에서 생육시기별로 분리하여 race 판별에 사용했던 균주를 액체배양하여 냉동건조한 균사체로부터 total DNA를 분리(CTAB/NaCl법)하고 제한효소(EcoRI)를 이용하여 절단하였다. 절단된 DNA는 0.8% agarose gel에 전기영동한 후 Sambrook 등(10)에 의해 보고된 blotting 방법에 따라 Hybond N+(Amersham) Nylon membrane으로 DNA를 전이시켰다. 표식인자(probe)로는 도열병균의 DNA로부터 얻어진 middle repetitive single copy인 Plasmid 64(from R. Nelson)를 사용하였다. Hybridization 및 band dection은 Non-radioactive DNA labeling과 Boehringer Mannheim사의 Dig-kit를 이용하여 제작사의 권장방법에 따라 실시하였다. Total DNA와 표식인자의 교잡(hybridization)에 의해 얻어진 polymorphic band의 존재 유무에 따라 1과 0으로 구분하여 기본재료를 입력한 후 Nei and Li(7)의 공식에 따라 만들어진 Neid program에서 유사도를 계산하여 NTsys-PC program을 이용하여 유사관계도를 작성하였다.

결과 및 고찰

도열병균 race별 품종의 반응. 도열병균 10개 race에 대한 품종별 반응을 보면 Table 1과 같다. 팔공벼는 4개, 진미벼는 5개, 동진벼는 6개의 race에 감수성 반응을 보였는데 특히 KJ-101, KJ-107 및 KI-1113 race에는 3품종 모두 감수성 반응을 보였고, 팔공벼는 자포니카형 품종에만 침해할 수 있는 KJ-105, 동진벼는 KJ-301, KJ-401과 통일형 및 자포니카형 품종을 모

Table 1. Reactions of three rice cultivars against 10 races of *Pyricularia grisea* in the greenhouse condition

Cultivars	Pathogenic reactions of races									
	KJ						KI			
	101	105	107	201	301	401	313	409	1113	1117
Palgongbyeo	S*	S	S	R	R	R	R	R	S	R
Dongjinbyeo	S	R	S	R	S	S	S	R	S	R
Jinmiby eo	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R

*R: Resistance, S: Susceptible.

두 침해하는 KI-313, 진미벼는 KJ-201과 KI-409에 감수성 반응을 보임으로써 품종간 race에 대한 반응은 상이하였다. 이러한 현상은 동진벼는 금남풍에 낙동벼를 교배한 후 도열병에 저항성인 사도미노리를 교잡육성한 품종이며, 진미벼는 감수성 품종인 고시히카리와 테레호나미를 교잡 육성한 이나바와세를 모본으로 하여 도복성과 밤맛에 중점을 두어 육성한 품종들으로써 품종간 유전자가 각기 다르기 때문으로 추정되었다(9).

도열병균 race와 품종의 친화성. 품종과 race와의 친화성을 구명하기 위해서 한국에서 분포밀도가 높고, 비교적 병원성이 강한 KJ-101 등 10개 race를 혼합 접종하여 감염된 병반에서 어떤 race들이 분리되는가를 30개의 단포자 분리균주를 대상으로 조사하였다.

Table 2. Races reisolated from leaves of three rice cultivars inoculated with ten mixed races of *Pyricularia grisea* at five leaf stage under the greenhouse conditions

Races	Palgongbyeo	Dongjinbyeo	Jinmiby eo
	No. isolates(%)	No. isolates(%)	No. isolates(%)
KJ-101	1(3.3)	-	3(10.0)
105	28(93.4)	-	-
201	-	1(3.3)	16(53.3)
301	-	19(63.4)	2(6)
KI-313	-	9(30.0)	-
409	-	1(3.3)	6(20.0)
1113	-	-	3(10.0)
1117	1(3.3)	-	-

고도의 저항성인 팔공벼에서는 3개의 race가 분리되었고, 병원성이 강한 KJ-105가 93.4%로써 대부분이었다. 동진벼에서는 4개의 race가 분리되었고, KJ-301이 63.4%, KI-313이 30.0%로써 2종의 race가 대부분이었다. 진미벼에서는 5개의 race가 분리되었고 KJ-201이 53.3%를 차지하였으며, 그 외는 7~20% 단위로 분리빈도가 낮았다(Table 2).

도열병균 race와 품종의 친화성은 매우 중요한 의미를 갖는다. 1960년대 우리나라의 도열병에 저항성 품종으로 육성된 우량품종은 ‘관옥’으로 이 품종에 도열병의 저항성을 증진시키기 위해 Pi-k 유전자를 갖는 관동 55호를 교배하여 육성하였으나 1970년 도열병이 격발되었다. 이러한 원인은 “관옥”을 육성, 보급할 당시는 침해하는 race의 분포가 적었으나 이병될 당시는 관옥으로부터 분리된 균주중 Pi-k에 병원성을 갖는 새로운 race C-8이 94% 분리되었다(5). 본 결과에서도 3품종 모두 여러 race에 침해는 되지만 저항성인 팔공벼와 동진벼는 소수의 특정 race와 고도의 친화성을 갖는 반면, 감수성인 진미벼는 다수의 race와 친화성을 갖는 것으로 생각된다.

품종의 생육시기별 race 분포 변화 및 유전적 연관관계. 본답의 자연상태에서 잎도열병 병반과 이삭도열병에 걸린 이삭을 채집하여 단포자 분리 후 race를 판별한 결과는 Table 3과 같다. 최고분얼기의 잎도열병 병반에서의 race 분리결과는 온실유묘에 10개 race를 혼합접종한 경우와 유사하였다. 다만 동진벼의 경우 KI-313은 전혀 분리되지 않았고, KI-329가 30% 분리되었다. 이삭도열병 이병 부위에서의 분리는 동진

Table 3. Race patterns of *Pyricularia grisea* identified from three rice cultivars at different growth stages in the paddy field at Icheon, Korea, 1995

Race	Palgongbyeo				Dongjinbyeo				Jinmiby eo			
	A ¹		B		A		B		A		B	
	N ²	R	N	R	N	R	N	R	N	R	N	R
KJ-101	2	6.1	- ³	-	-	-	-	-	2	6.7	1	5.0
105	27	90.0	-	-	-	-	1	5.0	-	-	-	-
201	-	-	-	-	1	3.3	2	10.0	17	56.7	2	10.0
301	-	-	-	-	19	63.4	10	50.0	1	3.3	-	-
KI-313	-	-	-	-	9	30.0	-	-	-	-	-	-
409	-	-	-	-	1	3.3	-	-	7	23.3	9	45.0
1113	-	-	-	-	-	-	-	-	3	10.0	-	-
1117	1	3.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Others	-	-	-	-	-	-	7	35.0	-	-	8	40.0

¹ A: Max. tillering stage, B: Maturing stage

² N: Number of isolates, R: Ratio

³ -: Not infected.

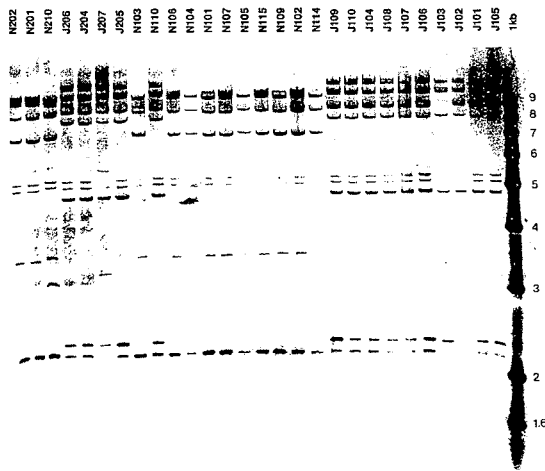


Fig. 1. DNA fingerprints of isolates of *Pyricularia grisea* collected from Icheon, Korea, 1995, defined by a probe P64. 1 kb=marker ladder, J101...J110: isolates from leaf blast lesions of Jinmibyeco, N101...N114: isolates from leaf blast lesions of Nagdongbyeco, J201...J208: isolates from panicle blast lesions of Jinmibyeco, N 101...N110: isolates from panicle blast lesions of Nagdongbyeco.

벼의 경우 KJ-301이 전체 균주 중 50%를 차지하였고 자포니카형 및 통일형 품종 모두 침해할 수 있는 KI race균이 35% 분리된 반면 감수성인 진미벼는 KI race균이 85% 분리되어 대조를 이루었다. Race 분포 변동을 지배하는 가장 큰 요인으로는 재배품종의 저항성 유전자원(4), 균주간의 경합(14) 등이 밝혀져 있다. 감수성인 진미벼보다 지속저항성 품종으로 선정된 동진벼에서 race의 분포변동이 적고 KJ-301 race가 혼합접종한 잎도열병 병반, 자연발병된 잎 및 이삭도열병 이병물에서 다량으로 분리되는 원인은 동진벼가 특정 race와 고도의 친화성을 가지고 있는 특성으로 생각된다. 또한 race 분류를 통하여 잎도열병이 이삭도열병 발병과 밀접한 관계가 있음이 추정되고, 품종과 병원균의 특정 race와의 친화성이 나타남에 따라 이 결과의 신뢰도를 증진시키기 위해 DNA 표식인자를 통한 유전자 수준에서 추적하였다. RFLP-P64에 의한 유전자 연관관계를 생육시기별로 분석한 결과, 진미벼의 잎도열병 병반으로부터 분리한 균주의 경우 약 4.9 kb와 2.3 kb 위치에서 낙동벼에서 분리한 균주에는 없는 특이적 band가 존재하고 있었고 이삭도열병 병반으로부터 분리한 균주의 경우에서도 대부분 같은 경향을 볼 수 있었다. 또한 낙동벼에서도 약 7 kb와 3.5 kb 부분에 진미벼에는 존재하지 않는 특이적

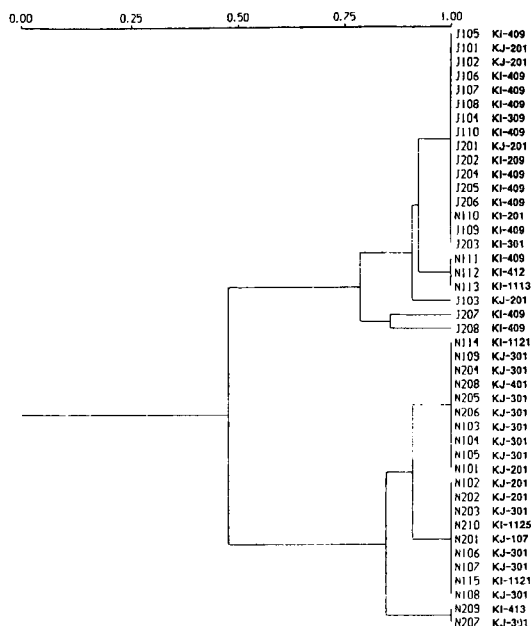


Fig. 2. Phenogram divided by unweighted pair group method, arithmetic mean based on DNA band data obtained using prove P64 and their pathotypes on Korean differential cultivars depicting similarities of isolates of *Pyricularia grisea*. J101...J110: isolates from leaf blast lesion of Jinmibyeco, N101...N114: isolates from leaf blast lesion of Nagdongbyeco, J201...J208: isolates from panicle blast lesion of Jinmibyeco, N101...N110: isolates from panicle blast lesion of Nagdongbyeco.

band가 나타나 두 품종간에 뚜렷한 차이를 볼 수 있었다(Fig. 1). Fig. 2에서와 같이 유전적 유사도를 보면 품종별 두 group은 쉽게 구분되어 병원균의 기주 선택적 침입을 재확인할 수 있었으며, 각각의 품종내에서는 잎도열병 분리균과 이삭도열병 분리균의 유전적 유사도가 높아 두 생육시기별 유연관계가 높거나 일치하는 경향이였다. 따라서 품종과 병원균 race와의 상호 관계에 대해서는 재배품종별로 구체적인 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

품종과 도열병균 레이스의 상호관계를 평가한 결과 도열병균 race에 대한 품종의 반응은 차이를 보여 팔공벼 4개, 진미벼는 5개, 동진벼의 경우에는 6개의 race에 감수성 반응을 보였다. 도열병균 10개 race를 혼합접종 후 형성된 병반으로부터 단포자를 재분리하여 판별품종에 의한 race 판별 결과, 팔공벼에서는 병

원력이 강했던 KJ-105는 전체의 93%가 분리되었고, 진미벼에서도 병원력이 강한 race가 고루 분리되었다. 그러나 동진벼의 경우는 병원력이 약했던 KJ-301 race가 63% 분리되었고 병원력이 강했던 KI-313 race는 30%였다. 본답에서 자연 발병된 잎 및 이삭도열병 이 병물을 채집, 단포자를 분리하여 race를 판별해 본 결과, 잎도열병 이병물의 경우는 온실유묘에서 10개 race를 혼합접종한 결과와 유사하였다. 다만 동진벼의 경우 KI-313은 전혀 분리되지 않았고, KI-329 race가 30% 분리되었다. 진미벼 및 낙동벼의 두 품종내에서 잎 및 이삭도열병으로부터 분리된 균주의 RFLP-P 64에 의한 유전자 연관관계는 품종간 특이적 band를 나타내어 뚜렷한 차이를 볼 수 있었고 유전적 유사도는 80% 정도였다.

참고문헌

1. Browning, J. A. and Frey, K. J. 1969. Multiline cultivars as a means of disease control. *Ann. Rev. Phytopathology* 7: 355-382.
2. Crill, P. and Khush, G. S. 1979. Techniques and procedures for effective and stable control of rice blast with monogenic resistance. Lecture meeting in rice blast disease, pp. 349-368, ASPAC/FFTC and ORD. Suweon, Korea.
3. 江塚昭典, 柚木利文, 櫻井義郎, 條田治躬, 鳥山國土. 1969. いもち病に對するイネ品種の抵抗性に關する研究. 2. 本田および畑苗代におけるほ場抵抗性の檢定. 中國農試報 E4: 33-53.
4. 岩野正敬, 山田昌雄. 1983. イネいもち病菌レ-スの分布とその變動原因に關する研究. 北陸農試報 25: 1-64.
5. 李銀鍾. 1972. 抵抗性品種인 關玉의 稻熱病 激發 原因. 韓植保護誌 11: 41-43.
6. Levy, M., Ramao, J., Marchetti, M. A. and Hamer, J. E. 1991. DNA fingerprinting with a disperse repeated sequence resolves pathotype diversity in the blast fungus. *Plant Cell* 3: 95-102
7. Nei, M. and Li, W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 5269-5273.
8. Nelson, R. R. 1978. Genetics of horizontal resistance to plant disease. *Ann. Rev. Phytopathology* 16: 359-378.
9. 農村振興廳. 1992. 主要 農作物 品種 解説集. 125-131.
10. Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning a laboratory manual*(2nd edition). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
11. Van der Plank, J. E. 1963. *Plant Disease: Epidemics and Control*. Academic Press, New York. 349 pp.
12. Van der Plank, J. E. 1968. *Disease Resistance in Plants*. Academic Press, New York. 206 pp.
13. Yorinori, J. T. and Thurston, H. D. 1975. Factors which may express general resistance in rice to *Piricularia oryzae* Cav., Proc. Semi. Horizontal Resistance to the Blast Disease of Rice. CIAT. Cali. Colombia: 117-135.
14. 吉野嶺一. 1973. イネいもち病菌の侵入に關する豫察的研究. 2. 接種溫度と侵入との經時變化(講要). 日植病報 39: 186.
15. 吉野嶺一. 1979. いもち病菌の侵入に關する生態學的研究. 北陸農試報 22: 163-221.

(Received March 7, 1997)