식물병연구
Res. Plant Dis. 13(1) : 45-49 (2007)

Research in Plant Disease
©The Korean Society of Plant Pathology

국내 배추 뿌리혹병균, *Plasmodiophora brassicae*의 race와 그 우점 양상

장세정 · 허승환 · 장창순 · 강성우 · 임용표[1] · 김홍기*
충남대학교 농업생명과학대학 농생물학과, [1]충남대학교 농업생명과학대학 원예학과

Races and Dominant Population of Chinese Cabbage Clubroot Pathogen, *Plasmodiophora brassicae* in Korea

Se Jeong Jang, Seung Hwan Heo, Chang Soon Jang, Sung Woo Kang, Yong Pyo Lim[1] and Hong Gi Kim*
Department of Agricultural Biology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea
[1]Department of Horticultural Science, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea
(Received on November 21, 2006)

Single spores were isolated from infected roots of Chinese cabbage with a typical clubroot symptom, collected from different Chinese cabbage cultivation areas in Korea. When the single spore isolates were inoculated on Chinese cabbage, radish, turnip, kale, leaf mustard and Williams' differential varieties, among 321 roots harvested two weeks after inoculation, a visual symptom was observed on only one root and light/uncommon symptoms were done on 70 roots. These 71 individuals were homogenized and used as inocula. These inocula caused generally higher pathogenicity than that of single spore. Finally 15 isolates, with enough growth for conducting further experiment, were selected. These 15 individuals were grouped four, seven, two and two into race 1, race 4, race 9 and race 11, respectively, using Williams' differential set. It was confirmed that race 4 were dominantly present in Korea. These 15 had been obtained from roots of Chinese cabbages, radishes and turnips inoculated with single resting spores and had shown pathogenicity to Laurentian and Wilhelmsburger belong to Rutabaga in Williams' differential variety set. Therefore, we assume that such characteristic pathotypes including race 4, especially, of *P. brassicae* showing strong pathogenicity to Chinese cabbage, radish and turnip may be dominant in Korea.

Keywords **: Chinese cabbage, Clubroot, *Plasmodiophora brassicae*, Race, Single spore isolate (SSI)**

Plasmodiophora brassicae (Woron.)는 토양전염성 순활물 기생체로서 주로 십자화과 식물에 뿌리혹병을 일으킨다. 이 병원균은 서울과 수원에서 발생이 최초로 보고된 이래 1990년대 이후 전국적으로 급속히 확산되어 최근 국내 배추 생산을 크게 위협하고 있다(김 등, 1997; 조 등, 2002). 지난 10년 동안 국내 배추 재배지역이 지속적으로 증가하고 있음에도 불구하고 그에 따른 생산량이 상대적으로 감소하는 이유도 1990년대 이후의 배추 뿌리혹병 발생증가와 관련이 있다고 볼 수 있다(Lee, 2005).

*P. brassicae*의 자연계 개체군은 다양한 생리적 분화형(race)들이 혼합된 상태로 존재하지만, 휴면포자는 반수체이기 때문에 단일한 휴면포자의 자손들은 유전적으로 동일한 유전형을 가질 것이라 추측된다. 따라서 이 병원균의 유전연구와, 기주의 병 저항성과 관련된 기주-병원균 간 상호작용을 이해하기 위해서는 무엇보다도 단포자 균주(Single Spore Isolates; SSIs)의 획득이 우선적으로 필요하다(Voorrips, 1996).

순활물기생체인 이 병원균의 단포자 균주 획득은 크기가 극히 작은 단일 휴면포자를 방어벽이 상대적으로 매우 발달한 기주식물의 뿌리에 접종함으로써만 가능하기 때문에, 단포자 접종의 성공률을 높이기 위한 많은 방법들이 시도되어왔다(Buczacki, 1977; Jones 등, 1982; Scott, 1985; Kageyama 등, 1995; Tinggal과 Webster, 1981). 그러나 이 균의 휴면포자는 크기가 매우 작고(약 3.8 μm) 기주조직 내에서의 증식과정을 거쳐야 하는 이유로, 여전

*Corresponding author
Phone) +82-42-821-7847, Fax) +82-42-823-8679
E-mail) hgkim@cnu.ac.kr

히 시간과 노력이 많이 들며 성공률 또한 매우 낮다. 이로 인해 이 균의 연구는 다른 병원균에 비해 매우 더디고, 특히 생리적 분화형의 연구는 세계적으로도 단지 몇 균주만을 사용함으로써 단편적으로만 수행되었으며(Buhariwalla 등, 1995; Möller와 Harling, 1996), 국내의 순수하게 분리된 race 관련 보고는 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 배추의 뿌리혹병 저항성 품종 육성과 뿌리혹병 방제체계 개발의 일환으로 국내에 분포하는 *P. brassicae* 집단의 생리적 분화형의 분포와 우점 현황을 밝히기 위해 수행되었다.

균주의 단포자 분리 및 접종. 2002년~2004년에 걸쳐 강원도 철원, 용평, 평창, 횡성 등지와 경기도 연천, 충남 아산, 전북 장수, 전남 해남 및 경북 울진 등지의 배추 재배포장에서 전형적인 뿌리혹을 채집하였다. 채집된 혹을 homogenizer로 갈아 8겹의 거즈를 통해 식물조직을 제거한 후, sucrose법(Castlebyry 등, 1994)을 이용하여 미세한 식물 유래의 불순물을 다시 제거하고 휴면포자를 수거하였다. 이들 뿌리혹들로부터 약 1,000여 개의 단일 휴면포자(Single Spore Isolate, SSI)를 커버글라스법(Kageyama 등, 1995)을 통해 분리하여 2~3일 자란 뿌리배추[진흥종묘(주), **A**], 무['백운무', 농우바이오(주), **B**], 배추['장미', 농우바이오(주), **C**], 순무['개량강화순무', 제일종묘농산, **D**], 케일['제일귀족케일', 제일종묘농산], 갓['돌산갓', 농우바이오(주)] 등과 Williams의 판별품종인 'Laurentian', 'Wilhelmsburger', 'Badger Shipper', 'Jersey Queen'의 뿌리에 접종하고 20~25°C의 온실에서 배양하였다. 배양 시 사용된 토양은 피트모스와 상토를 1:1 비율로 혼합한 것으로 병원균 생육에 호조건인 pH 6~6.5로 조정하였다.

온실에서 7~8주 재배한 후, 접종된 개체 중 321주를 뽑아 흐르는 물에 수세하며 병징을 확인한 결과, 전형적인 혹 증상을 보이는 개체는 단 1주뿐이었다. 그러나 기존의 연구에서 감염이 성공하였다 하더라도 극히 낮은 밀도로 인해 외관상으로는 아무런 병징이 나타나지 않아 후속 실험에 사용하지 않았던 개체의 PCR 검출을 실시한 결과 감염되어 확인된 개체는 70개 개체로, 잔뿌리의 변색과 미세한 꼬임 증상 등이 나타났다. 이들 증상은 재배 품종 중에서는 배추와 무, 순무에서, 그리고 Williams의 판별품종 중에서는 Rutabaga 계열(스페인산 순무)에 속하는 'Laurentian'과 'Wilhelmsburger'에서만 발견되었고, 케일과 갓 및 'Badger Shipper'와 'Jersey Queen'에서는 단 한 개체에서도 병징이 나타나지 않았다(Table 1). 이로써 국내의 생리적 분화형들이 주로 배추, 무, 순무 등에 강한 병원성을 보인다는 것을 알 수 있었다. 특히 그동안 대부분의 연구자들이 1차 접종 후 감염이 되지 않은 것으로 판단하여 폐기하였던 개체도 PCR 분석 결과 상당수 감염이 이루어진 것으로 밝혀져 후속 연구에 사용 가능함을 밝힌 것도 매우 의미있는 일이라 하겠다.

Table 1. Comparison of rate of single-spore inoculation between host plants

Host		Total plants used	No. of diseased plants	Percent of diseased plants
Chinese cabbage		126	26	20.6
Radish		31	17	54.8
Turnip		61	19	31.1
Kale		6	0	0.0
Leaf mustard		40	0	0.0
Williams' differential set[a]	Laurentian	13	4	30.8
	Wilhelmsburger	15	5	33.3
	Badger shipper	16	0	0.0
	Jersey queen	13	0	0.0
Total		321	71	23.1

[a]L, W and B, J are belong to the systematization of Rutabaga and cabbage, respectively.

단포자 접종 후 병징을 확인한 개체들은 병원균이 침입하기는 하였지만 증식이 만족할 만큼 이루어지지 않았다고 판단하여, 다시 혹을 갈아 비교적 혹이 잘 형성되는 뿌리배추와, 원래 단포자의 접종에 사용되었던 기주 유묘 모두에 재접종하여 다시 7~8주 배양함으로써 단포자 균주들의 안정적인 증식을 시행하였다.

재접종 후 감염상의 특징. 71개 균주를 각 기주에 재접종했을 때, 모든 개체에서 병반이 확대되어 표면의 갈라짐, 변색, 잔뿌리 굴곡, 뿌리 끝이 까맣게 변하는 것 등과, 무에서는 전형적으로 뿌리가 한 갈래로 곧게 뻗지 못하고 여러 갈래로 갈라지거나 나선형으로 꼬이는 증상 등을 확인할 수 있었다. 이들 증상으로부터 주사전자현미경(SEM) 분석을 통해 증식된 휴면포자의 존재를 확인하였다(Fig. 1).

1차 단포자 접종에 비해 재접종은 많은 휴면포자를 접종에 사용하였기 때문에 균의 증식이 용이하리라는 예상과 달리, 포장에서와 같은 전형적인 혹 증상을 나타내는 개체는 거의 없었다. 이는 단일 휴면포자가 증식한 균주는 다양한 병원형을 내포하고 있는 포장균주(field isolate)에 비해 병원성이 훨씬 낮다고 밝힌 Voorrips(1996)의 보고와 일치한다. 또한 이런 이유로 단포자 균주가 획득되었다 하더라도 충분한 증식이 이루어지지 않아 이후 실험에 어려움이 따르는 경우가 대부분이다.

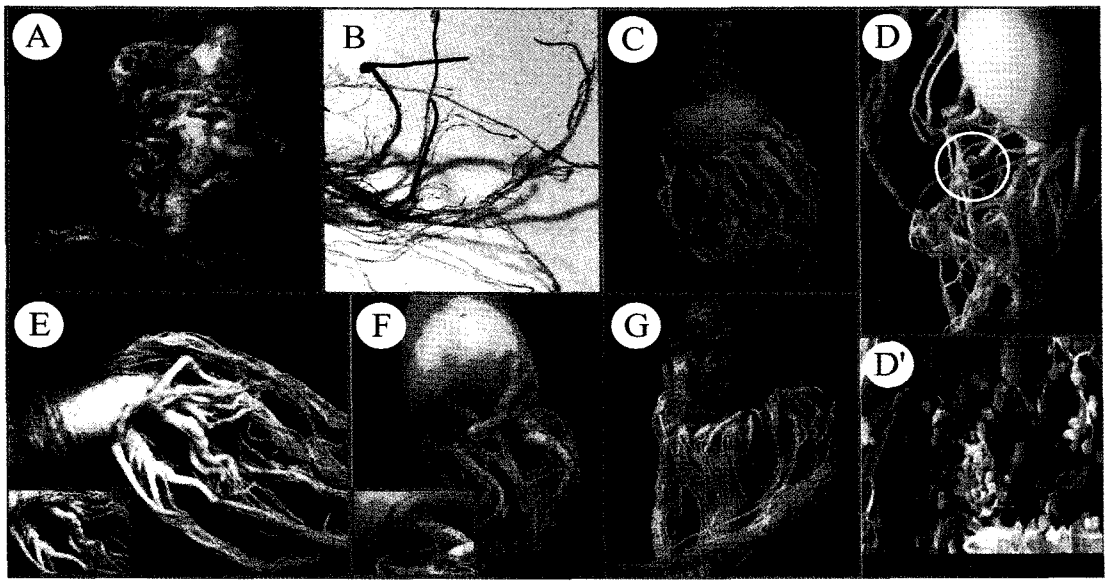

Fig. 1. Various symptoms of clubroots caused by *Plasmodiophora brassicae*. **A**: typical clubroot in the field; **B, C, D, E, F** and **G**, various symptoms of the clubroot in cruciferous plants after re-inoculation (**B**, discolored hair roots in chinese cabbage; **C**, root branched by several divisions in radish; **D**, branched roots and screw-shaped hair root in radish; **D'**, Scanning Electron Microscopy of an clubroot in a white circle of **D**, resting spores observed on screw-shaped hair root; **E**, uneven side roots in chinese cabbage; **F**, small and many clubroots on the surface in radish; **G**, discolored and creviced root in chinese cabbage).

판별품종을 이용한 race 검정. 단포자 접종을 통해 얻어진 71개의 균주 중 비교적 큰 병징을 나타낸 15개의 개체를 선발하여 판별기주인 'Jersey Queen'와 'Badger Shipper'(양배추 2품종), 'Laurentian'와 'Wilhelmsburger'(스페인 순무 2품종)에 접종하였다. 접종된 단포자 균주는 Williams의 판별 분류표(Table 2)에 따라 race 1이 4균주, race 4는 7균주, race 9는 2균주, race 11이 2균주로 각각 판별되었고(Table 3), 허(2004)가 밝힌 바와 같이 race 4가 가장 우점하는 것으로 나타났다. 또한 허(2004)에 의해 밝혀진 race 9번과 race 11번이 본 실험을 통해서도 나타났으며, 특히 race 1번의 존재가 국내에서 새로이 밝혀졌다. 이 실험을 통해 적어도 국내의 십자화과 채소에 가장 큰 피해를 주는 race는 이들일 가능성이 클 것으로 판단된다.

분석된 15균주 외의 56균주는 재접종을 통해서도 대량 증식이 어려울 만큼 약병원성 균주들로서 밝혀진 4개의 race와는 구별되는 새로운 병원형을 포함하고 있을 가능성도 있다. 이들은 단독으로는 약한 병원성을 보이지만, 작물 품종의 다양화에 따른 새로운 병원형의 생성 단계에서 유전적 자원이 될 수 있고, 다른 병원형과의 중복감염 등의 상호작용을 통해 병징의 확대에 일조할 수도 있을 것이다. 이들 약병원성 균주들을 분석하기 위해서는, 먼저 더욱 감수성인 기주체에서 안정적으로 증식시킬 필요가 있다.

국내 균주의 병원학적 특성. 본 실험에서 얻어진 race들은 국내 각지에서 고르게 분리되었다(Table 3). 또한 이들 race들은 Williams의 판별기주 중 Rutabaga 계열에 속하는 'Laurentian'와 'Wilhelmsburger' 두 품종 모두에 병원성을 나타내고 있었다(Table 3). 따라서 국내에는 Rutabaga 계열(스페인산 순무)에 강한 병원성을 보이는 race 4를 포

Table 2. Possible host reactions to infection by races of *Plasmodiophora brassicae* using differential varieties (Paul H. Williams, 1966)

Differential variety		Race															
		1[a]	2	3	**4**	5	6	7	8	**9**	10	**11**	12	13	14	15	16
Cabbage :	Jersey Queen	+[b]	+	+	+	–	+	+	–	–	+	–	+	–	–	–	–
	Badger Shipper	–	+	–	+	–	–	+	–	–	+	+	–	+	+	+	–
Rutabaga :	Laurentian	+	+	+	+	–	–	–	+	+	–	+	–	+	–	–	–
	Wilhelmsburger	+	–	–	+	–	–	–	–	+	+	+	+	–	+	–	+

[a]Bold letters mean races analyzed in this study.
[b]+, – indicate a susceptible and a resistant host reaction, respectively.

Table 3. List of *Plasmodiophora brassicae* SSIs (single spore isolates) isolated in this study

Isolate	Host	Collection site
R1-1	*Brassica rapa*	Yongpyong, Kangwon
R1-2	"	Uljin, Gyeongbuk
R1-3	"	Cheorwon, Kangwon
R1-4	"	Haenam, Jeonnam
R4-1	"	Hoengseong, Kangwon
R4-2	"	Yeoncheon, Kyunggi
R4-3	"	"
R4-4	"	Cheorwon, Kangwon
R4-5	"	Pyungchang, Kangwon
R4-6	"	Asan, Chungnam
R4-7	*Raphanus sativus* L.	Cheorwon, Kangwon
R9-1	*Brassica rapa*	Jangsu, Jeonbuk
R9-2	"	"
R11-1	"	Yeoncheon, Kyunggi
R11-2	"	Haenam, Jeonnam

함한 race들이 전국적으로 우점하는 것으로 판단된다. 다만 추후 더 많은 단포자 균주, 특히 병원성이 약했던 균주들의 병원성 분석을 통해 또 다른 race의 존재여부를 확인하는 것도 필요할 것이다.

또한 단포자 접종에 다양한 재배품종들을 사용하고 그 접종 성공률을 살펴봄으로써, 국내에 존재하는 race들이 주로 배추와 무, 순무 품종에 강한 병원성을 보이고, 케일과 갓에 병원성을 보이는 것은 드물다는 것을 알 수 있었다.

요 약

국내의 여러 배추 생산지로부터 뿌리혹을 채집하여 단포자 균주(SSI)를 분리하였다. 분리한 단포자를 접종한 후 총 321개의 뿌리를 수거하여 병징 발현 여부를 관찰하였다. 접종한 개체 중 단 한 개체에서만 작은 혹이 형성되었고, 70개 개체에서 미약한 기형 증상을 보였다. 이들 이상 증상을 보인 개체를 마쇄하여 단포자 균주의 안정적 증식을 위한 접종원으로 사용하였다.

단포자를 접종하여 발병시킨 개체로부터 얻은 포자들을 재접종하였을 때가 1차 단포자 접종하였을 때보다 병징이 훨씬 확대되었고, 이후 실험에 사용할 수 있을 정도로 증식된 개체는 15균주였다. 이 15균주들을 Williams의 판별기주에 접종하여 분석하였을 때, race 1이 4균주, race 4는 7균주, race 9는 2균주, race 11이 2균주로 각각 판별되어, race 4가 국내에 가장 우점하는 것으로 밝혀졌다.

이들 race들은 모두 배추, 무, 순무에 단포자 접종하여 얻어진 균주들로, 병원성 검정에서도 4종의 판별품종 중 Rutabaga 계열(스페인산 순무)에 속하는 'Laurentian'과 'Wilhelmsburger' 두 품종에만 병원성을 보였다. 따라서 이 race들이 배추, 무, 순무에 대해 강한 병원성을 보이는 것으로 보아 국내의 *P. brassicae* 균집은 배추와 무, 순무 등에 강한 병원성을 나타내는 race가 우점하는 것으로 판단된다. 이는 이들 작물이 병 발생량에 따른 국내 십자화과 채소 감수 비율과도 연관이 있으리라 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21 사업의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사를 표합니다.

참고문헌

Buczacki, S. T. 1977. Roots infections from single resting spores of *Plasmodiophora brassicae*. *Transactions of the British Mycological Society* 69: 328-329.

Buhariwalla, H. and Mithen, R. 1995. Cloning of a Brassica repetitive DNA element from resting spores of *Plasmodiophora brassicae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 47: 95-101.

Castlebyry, L. A., Maddox, J. V. and Glawe, D. A. 1994. A technique for the extraction and purification of viable *Plasmodiophora brassicae* resting spores from host root tissue. *Mycologia* 86: 458-460.

조광수, 한영한, 이정태, 허은주, 양태진, 우종규. 2002. 고랭지 지역 배추 무사마귀병원균의 생리형 분화와 저항성 품종 선발. 한국육종학회지 34(3): 168-173.

Jones, D. R. and Ingram, D. S. 1982. Characterization of isolates derived from single resting spores of *Plasmodiophora brassicae* and studies of their interaction. *Plant Pathology* 31: 239-246.

허승환. 2004. 국내 배추무사마귀병균(*Plasmodiophora brassicae*)의 변이특성분석. 충남대학교 대학원 석사학위논문.

Kageyama, K., Kamimura, Y. and Hyakumachi, M. 1995. A simple inoculation method with a single resting spore of *Plasmodiophora brassicae*. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn* 61: 415-418.

김두욱, 오정행. 1997. 배추 무사마귀병의 발생상황과 병원균(*Plasmodiophora brassicae*)의 병원성 및 배추품종의 병저항성. 한국식물병리학회지 13(2): 95-99.

Lee, W. C. 2005. Genetic analysis of *Plasmodiophora brassicae* resistance locus and expression profile of genes induced by the pathogen in Chinese cabbage. Degree of Master of Philosophy in Agricultural Science, Graduate School, Chungnam National University.

Möller, M. and Harling, R. 1996. Randomly amplified polymorphic

DNA(RAPD) profiling of *Plasmodiophora brassicae*. *Letters in Applied Microbiology* 22: 70-75.

Scott, E. S. 1985. Production and characterization of single spore isolates of *Plasmodiophora brassicae*. *Plant Pathol.* 34: 287-292.

Tinggal, S. H. and Webster, J. 1981. Technique for single spore infection by *Plasmodiophora brassicae*. *Transactions of the British Mycological Society* 76: 187-190.

Voorrips, R. E. 1996. Production, Characterization and interaction of single-spore isolates of *Plasmodiophora brassicae*. *European Journal of Plant Pathology* 102: 377-383.

Williams, P. H. 1966. A system for the determination of race of *Plasmodiophora brassicae* that infect cabbage and rutabaga. *Phytopathology* 56: 624-626.