

우리나라 벼 도열병균의 대표 균주 및 벼의 저항성 유전자형 선발

고재덕¹ · 김병련² · 이세원³ · 노재환⁴ · 신동범¹ · 정지웅⁵ · 조영찬⁶ · 한성숙^{1*}

¹국립식량과학원 작물환경과, ²충남농업기술원 농업환경연구과, ³국립농업과학원 농업미생물과,

⁴국립식량과학원 맥류사료작물과, ⁵국립식량과학원 답작과, ⁶국립식량과학원 벼육종재배과

Selection of Representative *Magnaporthe oryzae* Isolates and Rice Resistant Gene Types for Screening of Blast-resistant Rice Cultivars

Jaeduk Goh¹, Byung-Ryun Kim², Se-Won Lee³, Jae-Hwan Roh⁴, Dong-Bum Shin¹, Ji-Ung Jeung⁵, Young-Chan Cho⁶ and Seong-Sook Han^{1*}

¹Crop Environment Research Division, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 441-857, Korea

²Agricultural Environment Research Division, Chungcheongnam-do Agriculture Research & Extension Services, Yesan 340-861, Korea

³Agricultural Microbiology Division, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

⁴Winter Cereal and Forage Crop Research Division, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Iksan 570-080, Korea

⁵Rice Research Division, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 441-857, Korea

⁶Rice Breeding and Cultivation Research Division, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Iksan 570-080, Korea

(Received on September 3, 2013; Revised on November 22, 2013; Accepted on November 28, 2013)

Rice blast is one of the most serious disease threatening stable production of rice. Breeding of resistant cultivars has been used as the most effective and useful method to control rice blast caused by *Magnaporthe oryzae*. To collect rice blast isolates in fields and test their pathogenicity on new cultivars are important for establishment of new resistant cultivars breeding program of rice. Pathotypes of Korean rice blast isolates have been categorized to Korean differential race system developed in 1985. However, it is little known about genetic background of Korean differential cultivars, so that it is hard to understand for relationship between each pathogen and each host plant at genetic level. In this study, we suggested necessity of a new differential system by analyzing pathogenic responses between 24 monogenic rice lines and 200 Korean rice blast isolates. In addition, we determined the nine representative resistant genes based on the resistance responses of the monogenic lines to rice blast isolates, indexed resistant responses of the monogenic lines to ten representative rice blast isolates and selected 30 Korean representative rice blast isolates proper to Korean system. We think the newly developed differential race system can be broadly used to select resistant cultivars to rice blast in Korea.

Keywords : Differential system, *Magnaporthe oryzae*, Monogenic lines, Resistance, Rice blast

서 론

벼는 우리나라를 포함한 아시아 및 세계 여러 국가에

서 주식으로 사용하고 있는 중요한 작물이다. 벼 재배 시 쌀의 안정적인 생산을 저해하는 요인으로는 병해충 피해를 들 수 있는데, 그 중에서도 벼 도열병은 치명적인 쌀 수량 감소를 초래하는 병으로 알려져 왔다. 우리나라에서 벼 도열병에 대한 연구가 본격적으로 시작된 1960년대 후반부터 1990년대 초반까지는 잎도열병뿐만 아니라 특

*Corresponding author

Phone) +82-31-290-6796, Fax) +82-31-290-6773

Email) sshan0306@korea.kr

히 이삭도열병이 벼 수량 감소에 주원인인 것으로 알려졌는데, 최근에는 이러한 잎도열병이나 이삭도열병도 발생이 감소하고 있다(Lee 등, 2009). 농가 포장에서 도열병의 발병 감소의 원인은 질소질 비료를 적게 주는 재배 기술이 전국적으로 보급되었기 때문이다. 도열병 발생이 감소한 이유로는 질소질 비료를 줄이면서 벼가 강하게 자랐기 때문인 것도 있으나 이러한 결과는 단순히 한 가지 요인으로만 설명할 수는 없다. 그동안 도열병 발생 감소에 가장 크게 기여한 것은 병 저항성 품종 육성이다(Cho 등, 2009). 1960년대부터 국내 벼 육성이 시작된 이래 도열병 저항성을 중시하지 않은 적이 없다. 약 50여 년간 국내에서는 벼 도열병 저항성 연구를 지속적으로 수행하여 매년 3~8개의 도열병 저항성 품종을 육성 보급하고 있다.

그러나 벼 품종을 육성하고 있는 국가에서 저항성 품종이 수년 내에 병원균의 변이나 낮은 빈도로 분포하던 친화성 균주의 급격한 증가 등의 원인으로 인한 저항성 붕괴가 일어난 사례들이 많이 보고되어 왔다(Han, 1996). 따라서 이러한 사례를 반복하지 않기 위하여 전국에서 벼 도열병균의 모니터링이 지속적으로 이루어져야 한다. 그리고 국내 도열병 균주에 의해 구분된 품종의 유전자형은 좀 더 계획적이고 과학적인 국가 벼 신품종 육종프로그램뿐 아니라, gene rotation이나 multi-line breeding 등의 방제 프로그램에 중요한 기본 자료를 제시하여야 한다.

도열병처럼 병원균과 기주 식물체간의 친화성에 의하여 병원성이 결정되는 경우에는 단순히 병원균의 구분을 위한 것이 아닌 gene-for-gene 이론에 의하여 설명될 수 있는 과학적 지표가 필요하다. 이 조건을 충족시키기 위해 세계적으로 도열병균의 병원형을 레이스로 구분하여 사용하고 있다. 국내에서도 1980년도부터 현재까지 'Tetep' 등의 8개 한국형 판별품종으로 레이스를 결정하고 이를 바탕으로 육종사업을 진행해 왔다(Lee 등, 1987). 그러나 이때 만들어진 한국형 판별품종은 유전자형이 연구된 바 없어 새로운 레이스 출현이나 병 저항성 붕괴 등에 대하여 과학적으로 분석하고, 재빠르게 대처하기가 어려웠다. 우리나라에서 사용되고 있는 현재 판별품종을 통한 레이스 판별의 단점들이 발견됨에 따라 도열병균의 집단구조 분석 및 변화예측을 위하여 1990년대에 시작되어 최근까지 분자생물학적 표지(molecular marker)를 이용하거나 트랜스포존을 이용한 DNA finger printing으로 MGR586-RFLP, RAPD, Pot2 PCR 등이 시도되었다(George 등, 1998; Hamer 등, 1989; Hamer와 Givan, 1990; Park 등, 2008). 1989년도 Hamer 등은 repetitive sequence나 neutral marker와도 관련성이 있으며 벼 도열병균 간의 병원형까지도 구분 가능하다고 했지만, 국내 도열병균의 경우,

MGR586-RFLP 분류방법은 대부분 KJ-race, KI-race는 크게 분류가 되지만, 도열병균 병원형인 레이스와는 크게 상관관계가 없는 것으로 보고된 바 있다(Han, 1996). 이는 병원균이 기본적으로 가지고 있는 반복유전자나 생존에 필요한 유전자에 대한 분석이지 병원성을 결정하는 비병원성 유전자에 의한 분류가 아니기 때문으로 해석된 바 있다. 따라서 이 연구에서는 벼 포장에서 채집한 균주를 기존의 판별품종 시스템에 적용하여 레이스를 구분하고, 또다시 단일자 저항성 계통에 대한 병원성 반응으로 대표균주를 선정하였다. 이 과정 중에 벼의 단일자 저항성 계통 중 대표성이 있는 유전자형이 어떤 것인지를 분석하였다. 이는 향후에 새로운 판별품종 체계를 설계하는데 중요한 기초자료로 이용할 것이며, 나아가 실제로 육종가들이 매년 저항성 육성계통 조합을 구성하는 등 효과적인 저항성 품종 육종 프로그램에 중요한 기초 자료를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

사용균주. 도열병균은 1984년도부터 2002년까지 수집, 보관된 균주 중 레이스별로 병원성이 안정적이며, 균주 상태가 신선한 균주를 선발하여 총 200개 균주를 대상으로 병원성 검정을 실시하였다. 한국 판별품종 체계를 이용하여 판별된(Lee 등, 1987) 31개 레이스별 해당 균주를 선발하였는데, 이는 국립식량과학원 작물환경과에 장기 보존된 균주를 사용하였다(Table 1). 분류 동정된 레이스 중 분포 비율이 많은 레이스는 해당 균주를 지역별, 품종별로 안배하여 10개 이상씩을 선정 하였고, 분포 비율이 적은 레이스는 1~9개의 균주를 선정하여 실험에 이용하였다.

품종 및 계통. 본 시험에 이용된 단일자 계통은 국제미작연구소(IRRI)에서 중국 자포니카 이병성 품종 LTH(Lijianxintuanheigu) 유전자 배경에 단일 저항성 유전자를 도입하여 육성한 24계통을 이용하였다(Tsunematsu 등, 2000)(Table 2).

벼 육묘. 각각의 벼 종자는 미리 발아시켜 15×8×15 cm의 플라스틱 포트에 포트 당 5립씩 두 줄로 파종하였다. 파종 토양은 시중에서 판매하는 벼 못자리용 육묘상토(질소전량 800~2,500 mg/kg, 유효인산 150~650 mg/l, EC 2.0 dS/m 이하)를 이용하여 온실에서 약 20일간 3~4엽기까지 육묘하였다. 접종 7일전에 유안 0.5% 수용액을 추비로 주어 비절현상으로 도열병 발생이 저하되지 않도록 하였다.

분생포자 형성. 병원균 포자형성을 위하여 쌀겨배지(rice polish agar: 쌀겨 20 g, 설탕 20 g, 한천 20 g, 증류

Table 1. Two hundred rice blast isolates used for pathogenic test

Races ^a	KI-101	KI-1113	KI-1113a	KI-1117		KI-1117a	KI-1119	KI-197	KI-201	KI-203	KI-205
Rice blast isolates	00-190	02-108	00-004	01-070	99-146	00-028	00-361	00-038	02-105	99-150	02-093
	02-158	90-008	00-030	86-228	99-558	00-293	97-277	93-093			
	97-325	90-007	00-020	01-282	99-605	00-234	01-248	00-097			
		91-076	00-034	91-072	99-613	00-427		96-021			
		94-281	00-117	93-145	99-630	02-159		R93-093			
		99-106	00-212	94-297	99-659	02-212					
			00-228	97-291	99-693	03-123					
			00-230	99-031	99-113	99-140					
			01-262	99-035		99-228					
			01-274			99-608					
					99-723						
Races	KI-209	KI-215	KI-241	KI-305	KI-307	KI-309	KI-313	KI-315	KI-321	KI-401	KI-405
Rice blast isolates	97-268	90-002	97-260	86-311	87-108	02-182	90-079	85-242	97-247	00-005	00-109
				89-006		02-049	98-035	84-419	03-018	00-070	00-237
						97-254	96-006				00-183
							R88-002				00-311
											94-097
											99-365
											99-385
											02-129
											04-034
Races	KI-409	KI-413	KJ-101	KJ-103	KJ-105		KJ-107	KJ-201	KJ-203	KJ-301	KJ-401
Rice blast isolates	00-006	03-035	00-041	93-072	00-203	00-303	00-208	00-003	00-058	00-048	02-090
	04-254	98-031	02-061	93-270	02-060	02-001	02-103	02-039	93-064	02-013	03-083
	00-089	97-208	00-063	93-138	02-006	02-010	02-011	00-049	02-102	01-230	02-100
	90-052		02-070	99-149	02-089	02-019	02-203	02-120	02-101	02-195	88-004
	93-456		02-205	02-004	02-180	02-154	03-129	02-310		84-004	89-001
	98-028		04-208		03-177	04-252	96-208	87-134		90-054	89-002
	99-190		04-226		90-057	02-095	97-123	87-138		94-040	89-010
			88-073		90-076	02-321	97-134	88-135		97-057	94-233
			90-059		91-016	02-018	97-135	89-005		99-123	02-330
			91-019		91-033	02-133	02-183	90-014		99-634	
			93-013		94-254	02-322	02-313	90-032		R97-057	
			99-718		99-713		02-030	90-089		02-252	
			R90-059				02-059	91-079		02-211	
			02-121				02-015	94-351		02-213	
			02-265				02-311			89-228	
			03-075							92-278	
			02-002								
		02-023									

^aKorean differential race system was developed to distinguish pathotypes of Korean rice blast isolates in 1980, and has been used until now (2013). Rice cultivars in this system consist of 3 hybrid (indica × japonica) cultivars, 1 indica cultivar and 4 japonica cultivars. Designation of race name follows decimal numbering system categorized by KI-race and KJ-race (Lee *et al.*, 1987).

Table 2. LTH background 24 monogenic resistant lines introduced from IRRI to the rice blast

No.	Lines	Genes ^a	No.	Lines	Genes ^a
1	IRBL9-W	<i>Pi 9</i>	13	Tsuyuake	<i>Pi km</i>
2	IRBL5-M	<i>Pi 5(t)</i>	14	IRBL1-CL	<i>Pi l</i>
3	IRBLz-Fu	<i>Pi z</i>	15	Reiho	<i>Pi ta2</i>
4	IRBLta-K1	<i>Pi ta</i>	16	IRBLzt-T	<i>Pi zt</i>
5	IRBLi-F5	<i>Pi i</i>	17	IRBLa-A	<i>Pi a</i>
6	IRBLk-ka	<i>Pi k</i>	18	IRBLsh-B	<i>Pi sh</i>
7	IRBLb-B	<i>Pi b</i>	19	IRBLt-K59	<i>Pi t</i>
8	IRBLsh-S	<i>Pi sh</i>	20	IRBLta-CT2	<i>Pi ta</i>
9	IRBL7-M	<i>Pi 7(t)</i>	21	IRBLks-F5	<i>Pi ks</i>
10	IRBL3-CP4	<i>Pi 3</i>	22	IRBLkp-K60	<i>Pi kp</i>
11	IRBL12-M	<i>Pi 12(t)</i>	23	IRBLkh-K3	<i>Pi kh</i>
12	IRBLks-S	<i>Pi ks</i>	24	IRBLz5-CA	<i>Pi z5</i>

^aPredicted resistance genes.

수 1 l)를 약 40 ml씩 직경 9 cm 사례에 분주하여 굳힌 다음, 감자한천배지(potato dextrose agar)에서 10일 정도 자란 균총 절편을 2 ml의 살균 증류수에 떼어 넣었다. 살균된 봉을 이용하여 균사절편을 마쇄한 후 그 현탁액을 쌀겨배지에 부어 접종한 후 26°C 항온기내에서 7일간 배양하였다. 균사가 쌀겨배지 표면에 가득 자라게 한 후, 살균된 고무 브러시를 이용하여 기중 균사를 제거하고 사례 뚜껑을 열어 형광등 50 cm 하단에 치상, 3일간 지속적으로 빛을 조사하여 분생포자를 형성시켰다. 접종원 준비는 형성된 분생포자가 형성된 쌀겨배지에 Tween 20(5,000 배액)을 붓고 고무 브러시를 이용하여 긁어낸 후 거즈로 걸러, 포자 농도를 광학현미경 100배에서 시야 당 20-50 개로 조절하여 포자현탁액으로 만들었다.

병원균 접종 및 발병 조사 기준. 접종은 준비한 포자 현탁액을 50 ml 시험관에 넣어 특별 제작한 유리 스프레이를 이용하여 안개처럼 작은 물입자로 분사되도록 압력을 조절하여 포트 당 약 25 ml씩 앞에 골고루 분무 접종하였다. 접종된 벼는 26°C 포화습도 접종상에 넣어 24시간 습실처리하고 다음날 온실로 옮긴 후 습도를 보완시켜 7일간 정치하여 발병시켰다. 발병조사는 식물체 전체 앞에 형성된 병반형 및 병반수를 계수하여 IRRI의 조사 기준(Bandong과 Ou, 1966)에 따라 발병지수 0-5로 조사하였다. 0-2는 저항성, 3은 중도(저항성)이병성, 4-5는 이병성으로 구분하여 단계별로 조사하여 최종 0-3은 저항성(R)으로, 4-5는 이병성(S)으로 판정하였다.

국내 도열병균주의 병원성 유사도 분석. 200개 사용균주의 병원성을 24개 단인자 저항성 계통을 대상으로 검정한 후 얻은 data는 NTSYSp version 2.2 program을 이

용하여 similarity 분석과 SHAN clustering을 통해 병원성 유사도를 분석하고 grouping하였다. 대표 유전자형 group은 coefficient 0.78 수준에서 하나로 묶이는 group을 선정하여 각 group에서 병원성이 안정적인 대표 균주집단을 구분하였다.

단인자 저항성 계통의 대표유전자형 선발. 24개 단인자 저항성 계통에 대한 200개 벼 도열병균주의 병원성 검정결과를 이용하여 NTSYSp version 2.2 program으로 group을 분류하고, 각 group내에서는 저항성(0, 1, 2), 중도저항성(3), 이병성(4, 5)으로 나누어 중도 저항성 판정 비율이 낮고, R 또는 S 반응이 비교적 뚜렷하며, Cho 등(2005)이 보고한 우리나라 품종의 저항성 유전자를 고려하여 대표유전자형으로 선정하였다.

결과 및 고찰

한국 판별품종과 단인자 저항성 계통 간 병원성 비교. 도열병균의 레이스 구분은 1980년부터 지금까지 사용하고 있는 도열병균 판별품종은 4개의 japonica 품종과 1개의 indica 품종과 3개의 통일형(indica × japonica) 품종으로 이루어져 있고, 이에 따라 크게 KI-race와 KJ-race로 구분하고 있다(Lee 등, 1987). 실제로 한국 균주집단을 우점하고 있는 레이스는 KJ-race이지만(Lee 등, 2010) 대표균주를 선발하기 위하여 이 연구에서는 KI-race 92개, KJ-race 117개를 포함하였다. 3주까지 육묘한 벼 잎에 스프레이 접종하고 1주일 후에 나타난 병반의 모양과 개수를 기반으로 병반의 severity를 조사한 결과 단인자 저항성 계통들은 크게 9개의 그룹으로 나눌 수가 있었다(Fig. 1).

여기서 중요한 것은 단인자 저항성 유전자에 대한 반응으로 나뉜 그룹들은 이제까지 사용하던 한국형 관별품종에 의한 레이스 반응 그룹과는 일치하지 않는다는 것이다. 또한 레이스가 판별된 30개의 기존 대표균주를 대상으로 단인자 저항성 계통에 대한 병원성 검정을 한 결과 도열병 판별과 저항성 반응이 일치하지 않았다(Cho 등, 2005). 도열병균은 유전자 대 유전자설에 따른 병 반응이 확연하게 나타나는 병원균이다. 이에 반해 기존의 관별품종은 저항성 유전자원이 분명하게 밝혀지지 않아 병원균과 기주 간의 반응을 명확하게 이해하기 어려웠다. 그에 비해 단인자 저항성 계통을 이용한 병원성 검정은 도열병의 발병 메커니즘의 이해를 도우면서 우리나라 균주와 도열병 유전자형과의 친화성, 비친화성 등 상관관계를 뚜렷하게 알 수 있으며 새로운 품종의 저항성 검정 data를 얻었을 때에도 포장에서의 저항성 지속 여부를 예측할 수도 있다. 이에 기반하여 반대로 균주 측면에서 보면, 우리나라 균주의 병원성별 grouping 한 것으로부터 병원성이 안정적인 대표 균주를 선발하면 향후의 새로운 육성 라인들의 광범위하 저항성 품종 육성 등에 이용할 수 있으며 포장에서의 병 발생 기작의 규명 차원에서도 많

은 기여를 할 수 있을 것이다.

우리나라 균주집단에 대한 단인자 저항성 계통의 병원성 반응 분석. 균주집단에 대한 단인자 저항성 계통별 병원성 반응 정도는 매우 명료하게 그룹이 구분되었다(Fig. 1). 24개의 단인자 저항성 계통에 대한 병 반응은 NTSYS 분석으로 그 결과를 도식화 할 수 있었으며, 200개 균주에 대한 저항성 반응의 유사도에 따라 9개의 그룹으로 나눌 수 있다(coefficient = 0.83). 각각의 단인자 저항성 계통에 대한 200개 균주의 개별 저항성 검정 결과를 살펴보면, 우리나라 균주집단에 대해 저항성이 강한 것과 감수성인 것을 나누어 볼 수 있다(Table 3). 그룹 I의 경우 우리나라 균주 중 133-178개가 병을 내지 못하였다. 이와 대조적으로, 그룹 IX은 우리나라 균주의 161-189개가 병을 일으키는 것으로 나타났다. 이 경우의 저항성은 없다고 보는 게 좋을 것이다. 24개 단인자 저항성 계통 중에 가장 저항성이 강한 그룹 I에 속한 계통은 IRBL9-W(*Pi 9*), IRBLz-T(*Pi zt*), IRBLz5-CA(*Pi z5*), IRBLz-M(*Pi 5(t)*)로 이들은 63-83% 균주가 병을 내지 못하였다. 중도저항성 반응을 제외하면 5-25%의 균주만이 그룹 I에 대해 병원성을 보였다. 우리나라 균주에 대해서는 이

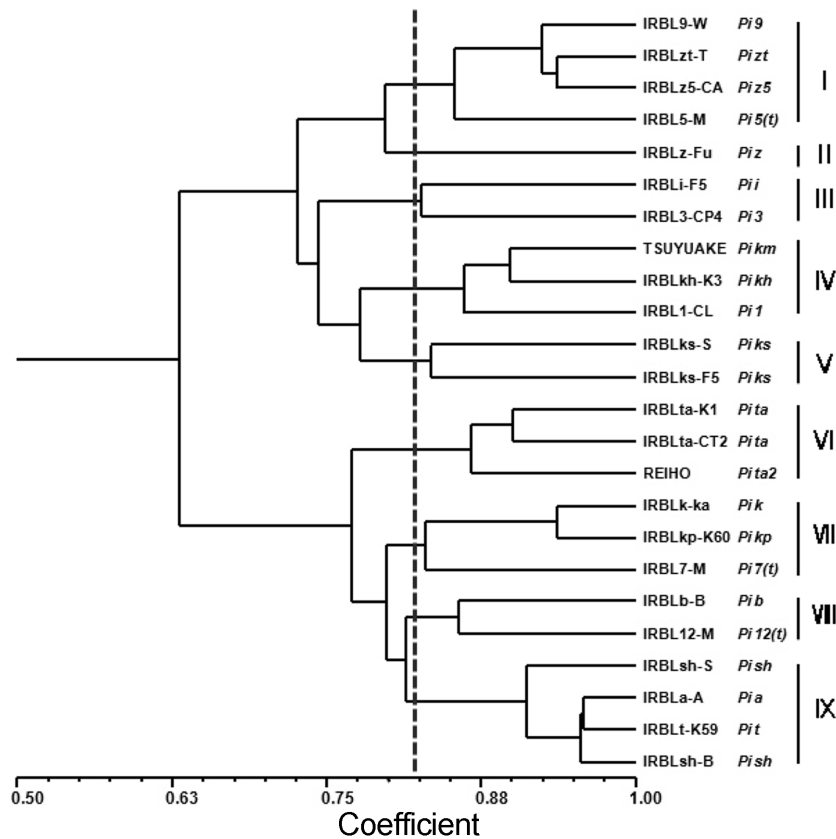


Fig. 1. Similarity of pathogenic reactions in 24 monogenic lines to 200 rice blast isolates. Nine groups of rice monogenic lines were determined at coefficient = 0.83 (broken line).

Table 3. Pathogenic reactions of Korean 200 isolates to 24 monogenic rice cultivars^a

Group		I				II		III		IV			V	
Name of rice cultivar		IRBL9 -W	IRBL5 -M	IRBLz5 -CA	IRBLzt -T	IRBLz -Fu	IRBL3 -CP4	IRBLi -F5	IRBL1 -CL	Tsuyuake	IRBLkh -K3	IRBLks -S	IRBLks -F5	
Resistance gene		<i>Pi 9</i>	<i>Pi 5(t)</i>	<i>Pi z5</i>	<i>Pi zt</i>	<i>Pi z</i>	<i>Pi 3</i>	<i>Pi i</i>	<i>Pi 1</i>	<i>Pi km</i>	<i>Pi kh</i>	<i>Pi ks</i>	<i>Pi ks</i>	
No. of rice blast isolates	R ^b	160	133	165	178	93	100	75	90	79	78	45	72	
	M	12	17	12	11	38	20	12	37	8	32	39	35	
	S	28	50	23	11	69	80	113	73	113	90	116	93	
Group		VI			VII			VIII		IX				
Name of rice cultivar		IRBLta -CT2	IRBLta -K1	Reiho	IRBL7 -M	IRBLk -ka	IRBLkp -K60	IRBLb -B	IRBL12 -M	IRBLa -A	IRBLsh -S	IRBLsh -B	IRBLt -K59	
Resistance gene		<i>Pi ta</i>	<i>Pi ta</i>	<i>Pi ta2</i>	<i>Pi 7(t)</i>	<i>Pi k</i>	<i>Pi kp</i>	<i>Pi b</i>	<i>Pi 12(t)</i>	<i>Pi a</i>	<i>Pi sh</i>	<i>Pi sh</i>	<i>Pi t</i>	
No. of rice blast isolates	R	44	36	91	76	49	41	42	58	10	10	33	11	
	M	30	26	12	8	6	6	3	17	1	2	6	2	
	S	126	138	97	116	145	153	155	125	189	188	161	187	

^aRice blast isolates were categorized by their pathogenic reactions to 24 monogenic rice cultivars. Nine groups were determined by similarity analysis of pathogenicity degree.

^bR: Resistant (0–2), M: Moderately resistant (3), S: Susceptible (4–5).

유전자군이 가장 강력한 저항성 유전자원이라고 할 수 있다. 특히 *Pi zt*는 우리나라 균주에 대해서 매우 강력한 저항성 유전자로 꼽을 수 있다. 그룹 II는 IRBLz-Fu(*Pi z*)만이 속하였고 이 그룹에 대해서는 균주의 47%가 저항성을 보이고 35%가 감수성을 보였다. 그룹 II는 중도저항성을 보이는 균주가 19%나 있었다. 그룹 III는 IRBL3-CP4(*Pi 3*), IRBLi-F5(*Pi i*)가 속하였으며, 이들은 38-50%의 균주에 대해 저항성을 보였다. 그룹 IV에는 IRBL1-CL(*Pi 1*), Tsuyuake(*Pi km*), IRBLkh-K3(*Pi kh*)가 속하였으며, 39-45% 균주에 저항성을 보이며, 37-57%에 감수성을 보였다. 그룹 V에는 IRBLks-S(*Pi ks*), IRBLks-F5(*Pi ks*)가 속하였고, 균주의 23-36%가 저항성을 보였으며, 20% 가량은 중도저항성을 보였는데, 9개 그룹 중 가장 중도저항성이 많이 나타난 그룹으로 *Pi ks* 유전자에 대한 반응이 뚜렷하지 않다고 할 수 있다. 그룹 VI에는 IRBLta-CT2(*Pi ta*), IRBLta-K1(*Pi ta*), Reiho(*Pi ta2*)가 속하는데, 우리나라 균주의 49-69%가 이들 계통에 병을 내는 것으로 나타났다. 이들 중에는 *Pi ta2*가 *Pi ta*보다 높은 저항성을 보였다. 그룹 VII에는 IRBL7-M(*Pi 7(t)*), IRBLk-ka(*Pi k*), IRBLkp-K60(*Pi kp*)가 속하는데, 이 그룹은 저항성과 감수성 반응이 뚜렷한 그룹 중의 하나로 중도저항성이 4% 미만이었으며, 감수성 반응이 58-77%로 우리나라 균주들은 절반 이상이 이 계통들에 병을 낼 수 있는 것으로 나타났다. 그룹 VIII에는 IRBLb-B(*Pi b*)와 IRBL12-M(*Pi 12(t)*)가 속하였는데 우리나라 균주의 63-78%가 이 계통에 병을 일으켰다. IRBLb-B(*Pi b*)는 중도저항성이 1.5%로 감수성과 저항성 반응이 매우 뚜렷하게 나타나는

반면, IRBL12-M(*Pi 12(t)*)의 경우는 저항성반응을 보이는 균주가 58개이고, 중도저항성인 경우도 17개가 되었다. 그룹 IX는 우리나라 균주의 대부분에 감수성을 보이는 계통으로 IRBLa-A(*Pi a*), IRBLsh-S(*Pi sh*), IRBLsh-B(*Pi sh*), IRBLt-K59(*Pi t*)가 여기에 속한다. 감수성 반응을 보이는 경우가 81-95%나 되었으며, 중도저항성도 거의 없었고(0.5-3%), 저항성을 보이는 경우가 5-17%로 매우 적었다. 이는 이러한 유전자는 우리나라 벼 품종 육성에 이용된 일본 품종 ‘신2호’(*Pi sh*), ‘추청벼’와 ‘Aichiasahi’(*Pi a*) 등으로부터 오래 전에 도입되었거나, 일본 도입품종 ‘추청벼’가 40여년 동안 광범위하게 재배되어 이에 맞추어 어서온 유전자로서 이에 맞추어서 도열병균의 비병원성 유전자가 이미 소실되어 비교적 넓은 면적으로 균의 밀도가 정착되어 있는 것으로 생각된다. 본 연구에서 한 가지 흥미로운 점은 *Pi ta*, *Pi ks* 및 *Pi sh* 등 3개 유전자는 서로 다른 donor로부터 육성된 동일 유전자의 단인자 저항성 계통이 두개씩 육성되었지만, 두 계통간 반응이 약간 다르게 나타났다. 이는 저항성 유전자와 비병원성 유전자간의 상호작용 외에도 유전자를 도입한 donor가 달라서 나타날 수 있는 경우로서, 저항성 유전자가 도입된 부분의 차이, 그에 따른 유전자 발현 활성의 차가 존재할 수 있음을 보여주는 예이다. 이상의 결과에서 후일 판별 품종을 선정할 때에 동일 유전자라 할지라도 효과가 다르게 발현될 수 있다는 사실을 충분히 고려해야 할 것이다. 이 연구에서 밝혀진 품종별 분류는 새로운 균주판별 시스템에 적용될 수 있다고 판단된다.

24개의 단인자 저항성 계통의 저항성 반응에 대한 유

Table 4. Similarity between monogenic lines based on pathogenicity test with 200 Korean rice blast isolates

Genes	<i>Pi 1</i>	<i>Pi 12(t)</i>	<i>Pi 3</i>	<i>Pi 5(t)</i>	<i>Pi 7(t)</i>	<i>Pi 9</i>	<i>Pi a</i>	<i>Pi b</i>	<i>Pi i</i>	<i>Pi k</i>	<i>Pi kh</i>	<i>Pi km</i>	<i>Pi kp</i>	<i>Pi ks^a</i>	<i>Pi ks^b</i>	<i>Pi sh^c</i>	<i>Pi sh^d</i>	<i>Pi t</i>	<i>Pi ta^e</i>	<i>Pi ta^f</i>	<i>Pi ta2</i>	<i>Pi z</i>	<i>Pi z5</i>	<i>Pi zt</i>
<i>Pi 1</i>	1.000																							
<i>Pi 12(t)</i>	0.610	1.000																						
<i>Pi 3</i>	0.605	0.625	1.000																					
<i>Pi 5(t)</i>	0.605	0.545	0.720	1.000																				
<i>Pi 7(t)</i>	0.655	0.625	0.500	0.470	1.000																			
<i>Pi 9</i>	0.695	0.475	0.650	0.750	0.500	1.000																		
<i>Pi a</i>	0.410	0.660	0.445	0.295	0.595	0.185	1.000																	
<i>Pi b</i>	0.450	0.750	0.545	0.445	0.635	0.335	0.780	1.000																
<i>Pi i</i>	0.570	0.670	0.705	0.595	0.565	0.475	0.600	0.660	1.000															
<i>Pi k</i>	0.550	0.610	0.385	0.285	0.705	0.355	0.720	0.700	0.530	1.000														
<i>Pi kh</i>	0.795	0.585	0.580	0.510	0.640	0.630	0.465	0.525	0.585	0.655	1.000													
<i>Pi km</i>	0.720	0.640	0.525	0.445	0.685	0.505	0.570	0.600	0.620	0.800	0.815	1.000												
<i>Pi kp</i>	0.530	0.620	0.385	0.295	0.715	0.315	0.750	0.700	0.550	0.880	0.615	0.760	1.000											
<i>Pi ks^a</i>	0.680	0.660	0.625	0.555	0.575	0.645	0.510	0.530	0.620	0.560	0.685	0.660	0.560	1.000										
<i>Pi ks^b</i>	0.585	0.575	0.570	0.500	0.550	0.550	0.575	0.555	0.625	0.555	0.610	0.595	0.555	0.715	1.000									
<i>Pi sh^c</i>	0.470	0.620	0.505	0.395	0.635	0.315	0.840	0.700	0.600	0.650	0.515	0.580	0.660	0.500	0.575	1.000								
<i>Pi sh^d</i>	0.405	0.625	0.410	0.270	0.590	0.190	0.915	0.745	0.555	0.725	0.490	0.595	0.745	0.455	0.570	0.855	1.000							
<i>Pi t</i>	0.410	0.630	0.445	0.305	0.615	0.195	0.920	0.750	0.590	0.690	0.455	0.570	0.730	0.470	0.585	0.820	0.915	1.000						
<i>Pi ta^e</i>	0.455	0.575	0.420	0.420	0.640	0.440	0.675	0.645	0.545	0.675	0.510	0.605	0.695	0.525	0.600	0.715	0.690	0.675	1.000					
<i>Pi ta^f</i>	0.495	0.585	0.500	0.500	0.670	0.490	0.645	0.655	0.595	0.625	0.560	0.625	0.625	0.535	0.580	0.715	0.660	0.655	0.820	1.000				
<i>Pi ta2</i>	0.560	0.590	0.475	0.485	0.595	0.595	0.540	0.570	0.520	0.650	0.605	0.640	0.630	0.580	0.575	0.580	0.515	0.490	0.785	0.745	1.000			
<i>Pi z</i>	0.620	0.510	0.635	0.615	0.535	0.675	0.370	0.430	0.530	0.450	0.585	0.580	0.430	0.620	0.575	0.440	0.385	0.380	0.395	0.405	0.440	1.000		
<i>Pi z5</i>	0.690	0.470	0.645	0.735	0.455	0.865	0.170	0.320	0.490	0.350	0.605	0.510	0.310	0.630	0.525	0.290	0.165	0.170	0.415	0.445	0.570	0.700	1.000	
<i>Pi zt</i>	0.630	0.420	0.635	0.745	0.445	0.855	0.110	0.270	0.470	0.300	0.565	0.450	0.280	0.570	0.455	0.230	0.095	0.110	0.365	0.425	0.560	0.660	0.880	1.000

^aThis gene indicates *Pi ks* in monogenic line IRBLks-S.

^bThis gene indicates *Pi ks* in monogenic line IRBLks-F5.

^cThis gene indicates *Pi sh* in monogenic line IRBLsh-S.

^dThis gene indicates *Pi sh* in monogenic line IRBLsh-B.

^eThis gene indicates *Pi ta* in monogenic line IRBLt-K59.

^fThis gene indicates *Pi ta* in monogenic line IRBLta-CT2.

사도는 Table 4와 같다. 이 표는 개개의 계통이 가지는 반응의 특이성 및 유사도가 기본적으로는 분류된 바와 유사하지만 그 외의 같은 그룹으로 묶이지 않은 다른 계통과 비교했을 때 유의성이 나타날 수도 있음을 보여준다. 예를 들어, *Pi a*는 그룹 XI 안에서 유사도도 높지만, *Pi b* (그룹 VIII), *Pi k*(그룹 VII)와도 높은 유사도를 보여 대표적인 저항성 유전자를 선발하면서 이러한 요인들을 고려하였다. 우리나라 품종에 대부분 *Pi a*와 *Pi b*가 많은 분포를 보이고 있어 이와도 상관관계가 있음을 인식할 수 있었다(Cho 등, 2007).

단일자 저항성 계통에 대한 우리나라 균주의 병원성 반응 분석.

병원성을 기준으로 200개 균주를 분류하면 coefficient 0.78 수준에서 총 39개의 그룹으로 분류할 수 있었다(Fig. 2). 우선, 병원성에 따른 분류와 판별품종을 이용한 레이스 구분의 연관관계를 살펴보았다. 39개 그룹 중 가장 큰 비중을 차지하고 있는 그룹 29에서 그 구성을 살펴보면, KI-101 1개, KI-1113 1개, KI-1117a 1개, KI-201 1개, KI-205 1개, KI-405 1개, KJ-101 3개, KJ-103 1개, KJ-105 6개, KJ-107 8개, KJ-201 1개, KJ-203 2개, KJ-301 1개, KJ-301 2개였다. KJ-105, KJ-107이 다른 레이스보다 많지만 전체적으로는 다양한 레이스가 고르게 선발되었음을 알 수 있었다. 즉, 기존의 판별품종

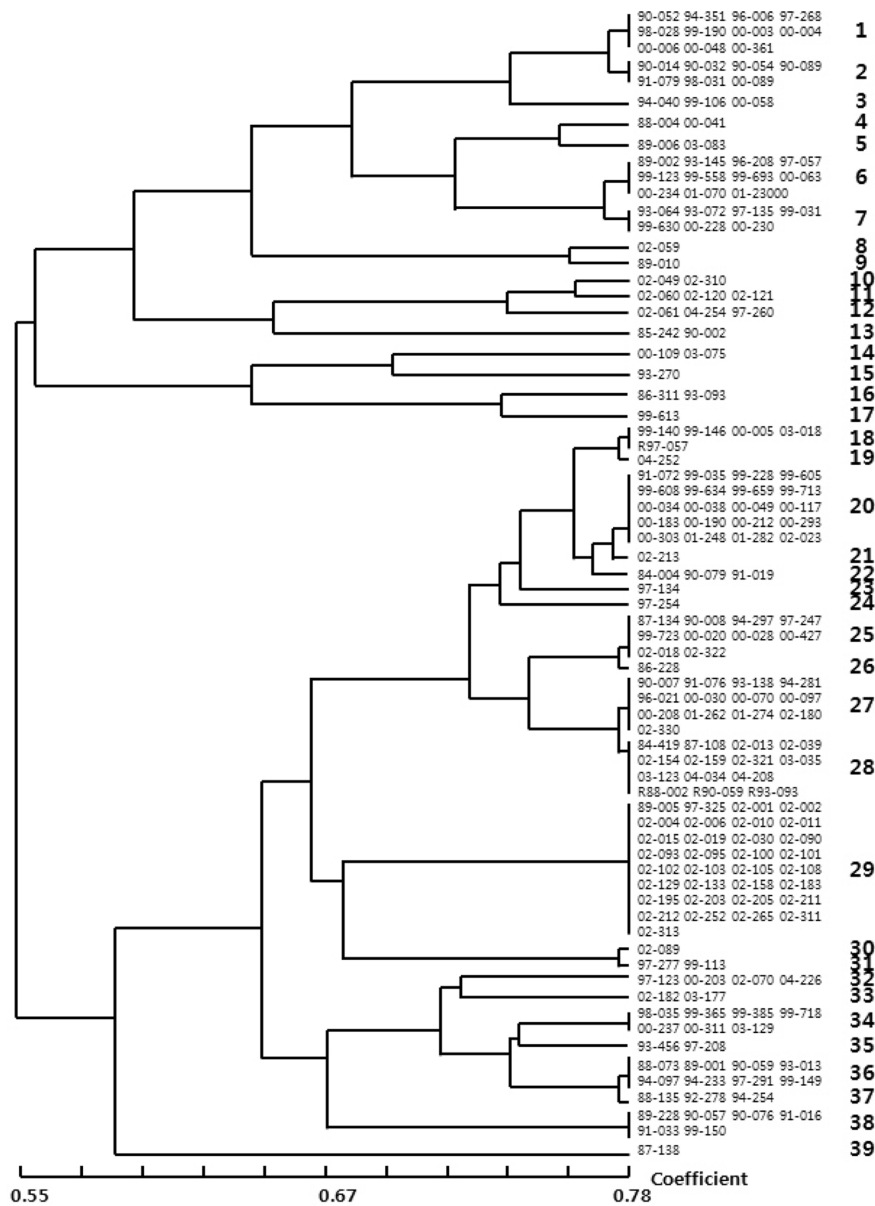


Fig. 2. Similarity of 200 rice blast isolates by pathogenic reactions on 24 rice monogenic lines. 39 groups were determined at coefficient = 0.78.

시스템을 이용한 레이스 구분이 단인자 저항성 유전자에 대한 반응과는 일치하지 않음을 보여주었다. 이로서 저항성 유전자원을 고려한 새로운 판별품종을 개발하는 것이 필요하다고 할 수 있다. 39개 병원균 그룹은 크게 그룹 1-17 그리고 그룹 18-39의 2개의 대그룹으로 나눌 수 있다. 그룹 1-17은 서로 유사도가 매우 떨어지는 균 그룹이 모인 것으로 3개 이하의 소수 균의 그룹이 많으며 coefficient가 높아지면 많은 균 그룹이 따로 떨어져나간다. 그에 비해 그룹 18-39가 속하는 대그룹은 상대적으로 그룹 내 구성원들의 유사도가 높았다. 그룹의 구성도 3개 이하의 소수 균 그룹은 이들 중 절반을 차지하고, coefficient 0.7에서 4개의 소그룹으로 재구성될 수 있었다. 우리나라 균주 전체적으로 보면 2/3가 그룹 18-39에 속하며, 서로 유사도가 높은 균주가 다수 존재하지만, 1/3은 상이한 균주들이 공존하고 있음을 알 수 있었다. 이런 사실들로 미루어보아, 우리나라 균주집단은 환경에 빠르

게 적응하면서도 다양성을 일정 수준 유지하여 발병 환경이 변화하였을 때에도 대처가 가능한 것으로 생각되었다.

200개 균주의 24개 단인자 저항성 계통에 대한 저항성 여부를 분석해보면 흥미로운 결과들이 있다. 우리나라 균주들은 평균적으로 24개 계통 중 13.2 ± 4.6 계통에 병을 낸다. 표준편차가 높은 것은 그만큼 광범위하게 병원형이 존재하고 있기 때문인 것으로 보인다. 전체 균주 중 24개 단인자 저항성 계통에 병을 하나도 내지 못한 균주가 1개 존재하지만, 모든 계통에 병을 낸 균주는 하나도 없었다. 그리고 23개 계통에 병원성을 나타낸 균주 3개에 대해 저항성을 보인 계통은 각각 달랐다. 02-105는 *Pi z*에, 02-133은 *Pi zt*에, 02-188은 *Pi 5(t)*에 저항성을 보였으며, 그 외의 계통에 대해서는 모두 감수성 반응을 보였다. 흥미로운 것은 세 균주의 판별품종에 의한 레이스가 다 다르다는 것이다. 위의 결과로 미루어보아, 품종의 저항성과 균주의 병원성은 현재 진행형으로 진화 중인 것으로 보인다.

Table 5. Grouping of rice blast isolates with by reactions on the 9 monogenic lines except the isolates showing the moderate reactions

Genes	Group									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	93-072*	01-070*	93-145*	00-005*	99-228	89-002	97-254*	90-059*	02-010*	02-004*
	97-135		00-004	99-140	99-605	91-072*	99-723*	04-208	02-070*	02-006*
	99-031			00-234	99-634*	00-034	00-028*		02-205*	02-013*
	00-228				00-049	00-117*	00-427		02-212*	02-102*
					00-212*	00-190	02-018*		02-252	02-108*
					00-293		02-019		03-035*	02-129*
							02-039*			02-133*
							02-095			02-203*
							02-182			02-211*
							02-311*			
							02-313			
							02-321			
							04-034*			
							R88-002			
<i>Pi 9</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
<i>Pi z</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
<i>Pi 3</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
<i>Pi km</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
<i>Pi ks</i>	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
<i>Pi ta</i>	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
<i>Pi k</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
<i>Pi b</i>	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Pi sh</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
LTH	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Star mark (*) indicates Korean representative *Magnaporthe* isolates showing clear pathogenic reactions on nine rice monogenic lines.

우리나라 대표균주 및 대표 저항성 유전자형 선발. 대표 균주는 실험의 편의성과, 결과의 신뢰성, 안정적인 병원성을 고려하여 우리나라에서 대표적으로 저항성 검정에 쓰일 균을 선발한 것이다. 이 연구에서는 앞서 24개의 단인자 저항성 계통을 대표하는 9개 그룹의 대표 유전자를 그룹별로 하나씩 선별하였다. 대표 유전자는 각 그룹 내에서는 중도 저항성 판정 비율이 낮고 R 또는 S 반응이 비교적 뚜렷하며 Cho 등(2005)이 보고한 우리나라 품종의 저항성 유전자를 고려하여 선정하였다. 이를 토대로 9개 그룹 대표 저항성 유전자를 가진 계통에 대해 병원성 반응이 규칙적인 10개 그룹의 52개 균주를 대표 균주 후보균주로 선별하였다(Table 5). 10개 그룹에서 하나 이상, 중도저항성 반응이 없거나 최소한으로 나타나는 균주들을 우선적으로 고려하여 30개의 우리나라 대표균주를 선별하였다. 이들 대표 균주의 저항성 반응을 기준으로 작성된 인덱스(Table 5)는 신품종의 저항성을 판별할 수 있는 기준이 될 수 있다. 이 연구에서 선별된 10개 그룹과 대표균주는 병원성 반응을 균주와 기주의 병원성 요인에 초점을 맞춰 이해하기 수월하도록 구성하였다. 향후 저항성 검정에 사용하면 병이 일어나는 요인을 양쪽의 병원성 요인에 기반하여 연구할 수 있을 것이다.

이 연구에서 선별된 9개의 저항성 유전자의 유효성을 예측하기 위해 다른 나라의 균주판별 시스템과 비교해 보았다(Hayashi와 Fukuta, 2009). 이 연구와 유사한 테마로 단인자 저항성을 이용한 일본 균주의 판별 시스템이 일본의 JIRCAS에서 만들어진 바 있어 우리 연구 결과를 비교, 분석해 보았다. JIRCAS는 단인자 저항성 계통을 5개 그룹으로 나누고 있다. 그룹별로 소그룹이 있는데 그 면면을 보면, 이 연구와 유사한 카테고리로 분류되고 있음이 보인다. 물론 차이점도 일부 존재하는데, 이 연구에서 같은 그룹(그룹 VIII)로 묶인 $Pi b$ 와 $Pi 12(t)$ 가 서로 다른 대그룹으로 존재한다. 또 앞서 예를 들었던 높은 유사도를 가진 다른 그룹이 여기서는 같은 유전자형에 속하기도 한다. $Pi a$ 와 $Pi b$ 가 그런 경우라고 할 수 있다. 이런 차이들은 아마도 이 연구가 대량의 우리나라 균주를 이용한 병원성 반응을 이용하여 분류하였기 때문에 나타나는 현상으로 우리나라 균주의 특성과 일본 균주와는 다름을 보이는 것이라고 추정된다. 이러한 상이점은 지역별 균주집단의 분석과 그 균집을 이용한 새로운 판별시스템이 필요함을 보여주고 있다. 그리고 이 연구에서 선별된 대표저항성 유전자는 금후 병저항성 육종 방향 설정과 유용유전자형 해석 및 도입에 중요하게 쓰일 것이며, 대표균주는 신품종 육성 시 저항성 검정용 대표균주로 유용하게 쓰일 수 있음을 보여주고 있다. 금후에 이 연구결과

는 우리나라 판별품종을 재선정하고 시스템을 다시 만들어 나가는데 중요한 기본 자료가 될 것으로 확신한다.

요 약

벼 도열병은 안정적인 쌀 생산을 위협하는 대표적인 병으로, 도열병 방제에는 저항성 품종의 육종이 가장 효과적으로 이용되었다. 병원균의 꾸준한 수집과 이들을 이용한 저항성 검정 테스트는 신품종 육성 프로그램에서 중요한 과정이다. 1985년 이래 우리나라의 도열병균은 8개의 판별품종을 이용한 레이스 판별시스템을 구축하여 분류하였다. 그러나 기존의 판별품종은 유전자형이 연구된 바 없어 새로운 레이스 출현이나 병 저항성 붕괴 등에 대하여 과학적으로 분석하여 신속하게 대처하기가 어려웠다. 따라서 이 연구에서는 유전자형이 밝혀진 단인자 저항성 계통과 우리나라에서 수집된 200개 균주의 병원성 반응을 분석하여, 새로운 판별 품종 시스템의 필요성을 제시하였다. 또한, 24개의 단인자 저항성 계통의 병원성 반응을 통해 9개의 대표 저항성 유전자를 선별하였으며, 이에 따른 10개의 대표균주 그룹과 그 저항성 반응을 인덱스화 하고 30개의 한국형 대표균주를 선별하였다. 이 연구는 향후 도열병 저항성 검정 및 벼 신품종 육종에 기초자료로서 활용될 수 있을 것이다.

Acknowledgement

This study was supported by National Institute Crop Science (PJ00925) of Rural Development Administration in Korea.

References

- Bandong, J. M. and Ou, S. H. 1966. The physiologic races of *Pyricularia oryzae* Cav. in the Philippines. *Philipp. Agric.* 49: 655-667.
- Cho, Y. C., Roh, J. H., Kim, B. R., Choi, I. S., Kim, M. K., Han, S. S., Fukuta, Y., Hwang, H. G. and Kim, Y. G. 2005. Reaction of resistance genes of monogenic lines to rice blast (*Magnaporthe grisea*). *Korean J. Breed.* 37: 155-161.
- Cho, Y. C., Kwon, S. W., Choi, I. S., Lee, S. K., Jeon, J. S., Oh, M. G., Roh, J. H., Hwang, H. G. and Kim, Y. G. 2007. Identification of major blast resistance genes in Korean rice varieties (*Oryza sativa* L.) using molecular markers. *J. Crop Sci. Biotech.* 10: 265-276.
- George, M. L., Nelson, R. J., Zeigler, R. S. and Leung, H. 1998. Rapid population analysis of *Magnaporthe grisea* by using

- rep-PCR and endogenous repetitive DNA sequences. *Phytopathology* 88: 223–229.
- Hamer, J. E., Farrall, L., Orbach, M. J., Valent, B. and Chumley, F. G. 1989. Host species-specific conservation of a family of repeated DNA sequences in the genome of a fungal plant pathogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86: 9981–9985.
- Hamer, J. E. and Givan, S. 1990. Genetic mapping with dispersed repeated sequences in the rice blast fungus: mapping the *SMO* locus. *Mol. Gen. Genet.* 223: 487–495.
- Han, S. S. 1996. Genetic variability and population structure of Korean isolates of *Pyricularia grisea*. Ph.D. thesis. Tokyo University of Agriculture, Tokyo, Japan.
- Hayashi, N. and Fukuta, Y. 2009. Proposal for a new international system of differentiating races of blast (*Pyricularia oryzae* Cavara) by using LTH monogenic lines in rice (*Oryza sativa* L.). *JIRCAS Working Report* 63: 11–15.
- Lee, E. J., Ryu, J. K., Yeh, W. H., Han, S. S. and Lee, Y. H. 1987. Proposal of a new method for differentiating pathogenic races of *Pyricularia oryzae* cavara in Korea. *RDA J. Agri. Sci. (PM & U).* 29: 206–213. (In Korean)
- Lee, S. W., Cho, Y. C., Roh, J. H., Shim, H. S., Ra, D. S. and Han, S. S. 2010. Recent changes of pathotype distribution in rice blast fungus and analysis of resistance genes for breeding program. *Proc. 2010 KSCS Fall Meeting.* 129 pp. (In Korean)
- Lee, Y. H., Ra, D. S., Yeh, W. H., Choi, H. W., Myung, I. S., Lee, S. W., Lee, Y. H., Han, S. S. and Shim, H. S. 2009. Survey of major disease incidence of rice in Korea during 1999–2008. *Res. Plant Dis.* 16: 183–190. (In Korean)
- Park, S. Y., Milgroom, M. G., Han, S. S., Kang, S. and Lee, Y. H. 2008. Genetic differentiation of *Magnaporthe oryzae* populations from scouting plots and commercial rice fields in Korea. *Phytopathology* 98: 436–442.
- Tsunematsu, H., Yanoria, M. J. T., Ebron, L. A., Hayashi, N., Ando, I., Kato, H., Imbe, T. and Khush, G. G. 2000. Development of monogenic lines of rices for blast resistance. *Breeding Sci.* 50: 229–234.