

水稻 稻熱病에 抵抗性인 統一品種에 대한 侵入生理에 關한 研究

鄭鳳九·金光錫

農業技術研究所

An Histopathological Investigation on the Resistant Tong-II Cultivar by Inoculating Rice Blast Fungus, *Pyricularia oryzae* Cav.

Bong Koo Chung and Kwang Suk Kim

Institute of Agricultural Sciences

Abstract

In order to investigate histopathologically the nature of varietal resistance and infection process of the rice blast fungus, *Pyricularia oryzae*, this experiment was undertaken by using the resistant cultivar Tongil and susceptible cultivars Norin No.6 and Jinheung in 1973 to 1974.

1) It was found that appressorium of the fungus forms not only at 4 hours after incubation under the favorable conditions but also peak of appressorial formation is at 48 hours treatment. Physical stimulus known to be a definite factor for appressorial formation. The optimum temperature range for appressorial infection was at 24°C to 28°C, and pH was between 4.8 to 8.0 with 6.8 as the optimum.

2) Although percent of appressorial formation on the leaves of resistant Tongil and susceptible Norin No.6 were only slightly different, there was a remarkable difference between resistant and susceptible cultivars with regard to percent of hyphal infection and index for hyphal extension. Index of hyphal extension was 1.6—2.7 in Tongil, while in susceptible cultivar was 3.4—6.6. The rate of discoloration of infected cells, a indication of hypersensitivity, was greater in the resistant than in susceptible cultivar.

3) Therefore, it could be concluded that resistance of Tongil cultivar may be attributable to a higher degree of mechanical barriers as well as a higher level of antifungal substance accumulation.

1. 緒 論

最近 植物 病原菌의 感染經路에 關한 研究는 寄主와 寄主者間의 相互關係와 抵抗性을 理解하는데 基礎가 되므로 오래 前부터 많은 研究가 推進되어 왔다. 一般的으로 感染經路는 侵入前, 侵入 및 侵入後로 三分되며 다시 侵入前 構造는 胞子의 發芽, 發芽管의 伸張, 그리고 附着器形成의 順으로 細分할 수 있다. 그런데 附着器 形成機作에 있어서는 2가지 說로서 Brown d Dickison^{3,5)}은 콜로이드膜은 接觸刺激으로서 *Botrytis Cinerea*의 附着器 形成에 도움을 주었다고 하였으며

Sharp d Smith¹⁰⁾는 *Puccinia Cornata*로 같은 傾向의 報告를 하였다. 그러나 *Rhizoctomia solani*는 植物뿌리에서 分泌하는 物質이 附着器 形成에 影響을 주었다고 Kerr와 Flenje⁷⁾가 報告하였다. 한편 1967年 炭疽病菌을 供試하여 試驗한 結果 物理的 刺激만으로 充分히 附着器 形成이 된다는 것을 確認한바 있으나 벼 稻熱病菌의 경우는 Yoshii¹⁵⁾가 寄主와 非寄主上에서 本病菌의 侵入經路를 觀察 報告한 以來 附着器 形成機作에 對하여 報告한바 없으며 稻熱病에 高度抵抗性인 統一品種을 供試하여 그 抵抗性을 病態解剖學的인 面에서 究明코져 本試驗을 着手하였으며 이에 몇가지 結果를 얻었기에 報告하는 바이다. 本研究를 遂行하는데 積極 指導하여 주신 서울大 農科大學 鄭厚燮教授任과 農業技術研究所 鄭鳳朝 病理科長任에게 感謝를 드리는 바이다.

2. 材料 및 方法

附着器 形成에 關한 試驗

純粹分離한 供試菌 *Pyricularia oryzae*를 감자 果糖 寒天培地에 27°C에서 7日間 培養한 後 그 菌을 殺菌 蒸溜水로 稀釋하여 胞子懸濁液을 調製하였다. 그 懸濁液은 피펫으로 water agar위에 방울로 處理한 다음 25°C되는 定溫器에 4, 6, 14, 24, 48, 時間別로 處理한 다음 供試接觸劑를 덮어 處理別 500個 分生胞子를 觀察하여 附着器 形成率을 算出하였다. 供試한 接觸劑는 카마그라스 2호와 비닐 0.03mm를 使用하였다. 벼잎 위에서의 附着器 形成調査는 Shipton과 Brown⁴⁾이 考案한 Whole leaf clearing and staining을 使用하였다. 供試材料는 葉綠素를 除去한 다음 5%의 글리세린 液에 埋藏하여 處理當 100視野를 檢鏡하였다.

葉鞘檢定에 關한 試驗

供試 品種인 統一系統의 水原 215와 213-1과 罹病性 品種인 農林 6號와 振興을 와그나 pot에서 檢定 使用하였는데 병의 頂葉 展開度의 主稈을 選定하고 위에서 부터 第3葉菌에 稻熱病菌 胞子懸濁液을 接種하였다. 接種法은 Takahashi法(胞子濃度는 150× 1視野當 4~5個 程度)으로 接種後 定溫器에 넣고(26°C) 48時間 處理後 꺼내 葉菌裏面 細胞를 0.8M KNO₃에 넣은 다음 被侵入細胞의 變質程度, 侵入菌糸의 伸張度 및 侵入率 等を 調査하였으며 品種處理當 100視野를 랜덤으로 擇하여 檢鏡 調査하였다.

本 試驗을 2回 되풀이 하였다.

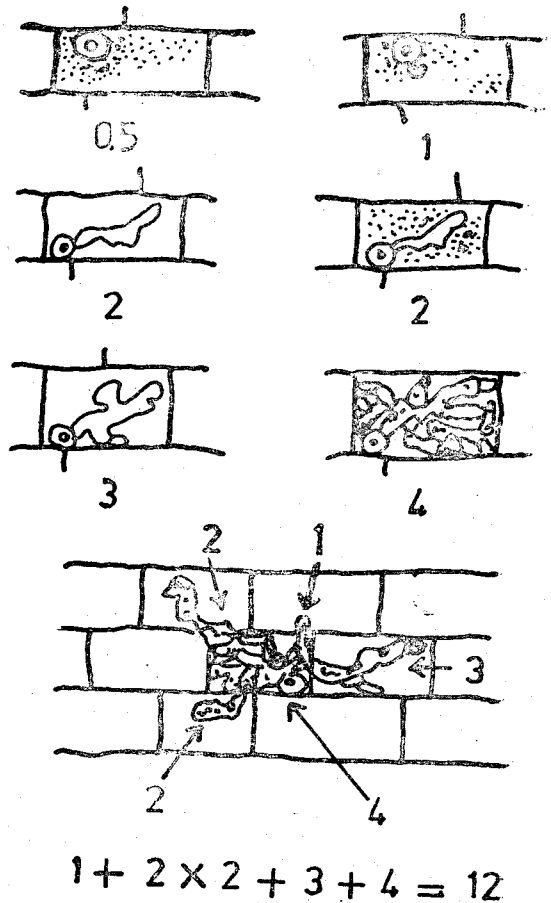


Fig. 1 Standard for calculating the index for hyphal extension infected.

稻熱病菌의 經時變化에 關한 試驗

供試品種은 抵抗性品種으로 試驗 1 및 2에서와 같이 統一(水原 213-1)과 罹病性品種으로 農林 6號를 使用하였다. 稻熱病菌의 孢子懸濁液은 前과 同一하게 調製하여 第三葉鞘에 接種한 다음 26°C되는 定溫器에 넣고 24時間 間隔으로 120時間까지 處理한 다음 꺼내 菌糸侵入率과 菌糸伸展度를 調査하였다. 外 溫度와 PH에 關한 試驗도 前記 方法에 準하였다.

3. 試驗結果

水稻 稻熱病과 寄主와의 相互作用 即 寄主의 病害抵抗性을 究明코져 統一品種과 罹病性인 一般品種을 供試하여 *P. oryzae*菌의 侵入前 附着器 構造, 形成條件 侵入菌糸의 伸張및 其의 經時變化 等에 對하여 試驗하였다.

벼 稻熱病菌은 飽和濕度와 溫度 25°C下에서 發芽後 그림 2에서와 같이 4時間이면 附着器가 形成되기 始作하며 24時間에는 그 形成에 있어서 最高에 達하였다. 附着器의 形態는 大體로 둥글거나 계란모양이고 크기는 9~108μ이었다.

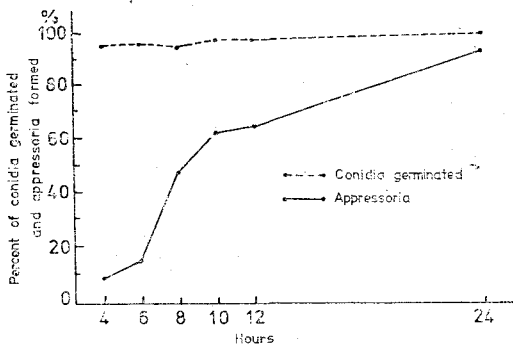


Fig. 2 Conidia germination and appressorial formation of *Pyricularia oryzae* on the leaves of Norin No. 6 by different incubating hours.

附着器 形成에 關與하는 要因은 그림 2에서 보는바와 같이 供試 接觸劑의 效果는 油紙, 세로판, 비닐및 카바그라스의 順으로 接觸效果가 對照區와 比較하여 劣해 뚜렷하였다.

好適溫度의 範圍를 알자하기 爲하여 15~40°C까지 9段階로 處理하였던바 35~40°C에서는 菌의 發育은 전혀 볼수없었고 15~20°C에서 侵入率 및 菌糸伸展度

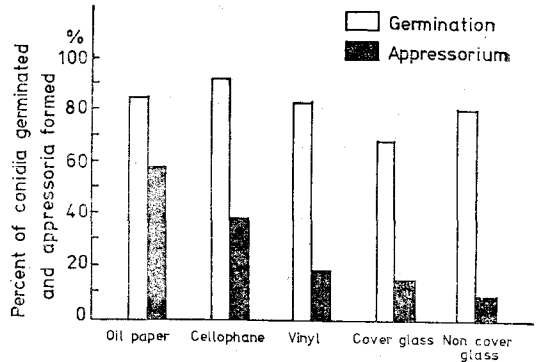


Fig. 3 Effects of contactors for the formation of appressoria of *Pyricularia oryzae*.

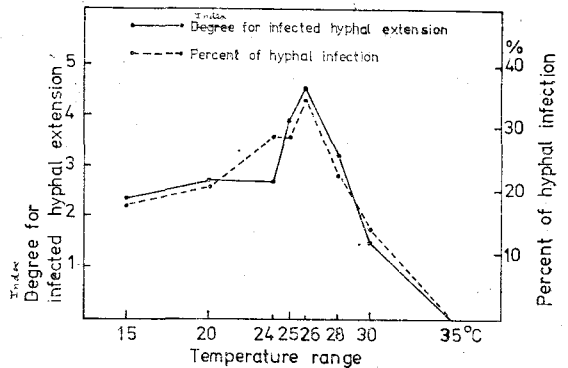


Fig. 4 The optimum temperature range for the hyphal infection and extension of infection hyphae.

가 좋았는데 好適溫度의 範圍는 24~28°C으로 侵入率이나 菌糸伸展度에 效果가 좋았고 最適溫度는 26°C이었다.

그림 3에서 보는바와 같이 水素이온의 濃度(PH)의 效果는 發芽에 미치는 PH의 範圍가 3.4~11.0이었으며 好適範圍는 4.8~8.0 最高는 中性인 6.8이었다.

附着器 形成에는 3.4~9.0이었으며 最高는 역시 6.8인 中性으로 發芽나 附着器 形成에 미치는 影響은 같은 傾向으로 나타났다.

抵抗性인 統一品種과 罹病性인 農林六號와 八達品種에 對한 侵入過程을 附着器形成面에서 보면 表 1에서와 같이 經時的으로 附着器 形成率이 높아지며 接種初期에 統一과 罹病性品種間에 差異가 있으나 即 72時間

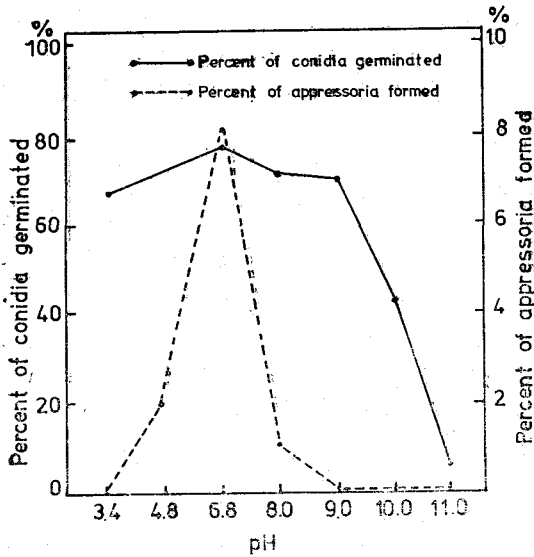


Fig.5 The optimum pH range for the appressoria formation of *Pyricularia oryzae* CAV.

處理區에 있어서 農林六號나 八達은 各各 81.4%와 88.9%이 있으나 統一系統인 水原 213-1와 水原 215는 73.9와 75.8이었다.

抵抗力 및罹病性品種에 對한 稻熱病菌의 葉鞘反應은 表 3에서 보는바와 같이 稻熱病菌의 孢子懸濁液을 接種한 後 抵抗力品種인 統一과 罹病性品種인 振興의 反應은 Race에 別 差異없이 統一系統은 9.0~14.2의 變質率을 나타내는 反面 罹病性品種인 農林六號와 振興은 1.8~11.3의 變質率을 보여주고 있어 超過敏性 反應을 뒷받침하여 주고 있으며 品種別 侵入率과 平均 菌糸伸展度는 表 2에서 보는바와 같이 品種間에 큰 차

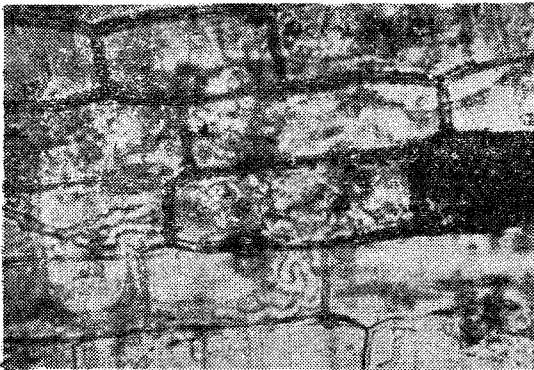


Plate 1. Appressorium formation and hyphal extension of rice blast fungus

Table 1. Comparisons of appressorial formation *P. oryzae* inoculated on excised on excised leaves of the resistant cultivar Tongil and the susceptible Japonica Norin No. 6 and Paldal cultivars.

Hours inoculated	Percentage of appressoria formed		
	NorinNo.6	Paldal	Tongil (suweon No. 213-1)
6	35.8	46.6	19.5
14	54.4	59.3	37.0
24	72.9	74.2	72.0
48	79.5	79.2	74.5
72	81.4	88.9	73.9

이를 보여주고 있다. 即 農林六號와 振興은 侵入率 36.3~16.5% 菌糸伸展度 6.6~3.4 最高值 12~21의 範圍에 있으나 統一은 侵入率 10.5~25.6 菌糸伸展度 1.6~27이었고 最大値 3~5의 낮은 伸展을 보여주고 있다.

品種別 珪化度에 있어서 그림 4에서 보는 바와 같이 統一系統과 農林 6號나 振興間에 큰 差異를 보여 주고 있다.

以上과 같은 結果를 要約하면 統一系統은 機械的인 抵抗力이 높은 細胞壁의 두터움 珪質化 및 抗菌性物質의 生成으로 抵抗力을 나타낸다고 分析된다.

또 前述한 傾向을 經時的인 面에서 보면 그림 5에서와 같은 侵入率이나 菌糸伸展度에 있어서 統一品種과 罹病性인 農林六號나 振興에서 뚜렷한 傾向을 보여 주고 있다.

考 察

水稻 稻熱病에 高度抵抗力인 統一品種의 抵抗力 機作을 病原菌의 寄主侵入 過程을 包含한 病態解剖學的

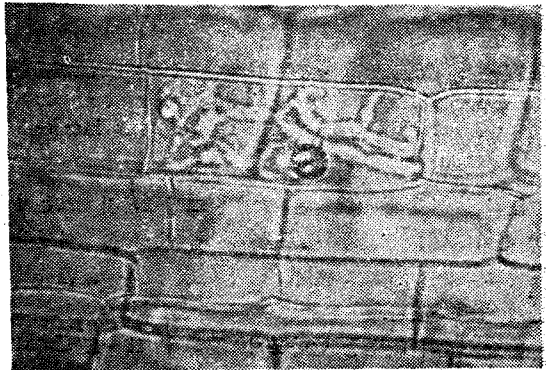


Plate 2. Changes of the host cell by infection of rice blast fungus

Table 2. Comparisons with hyphal extensions of T.C. and N races of *P. oryzae* inoculated on inner surfaces of detached leaf sheath of Tongil, Jinheung and Norin No. 6 cultivars

Variety	T			C			N		
	Percent of hyphal infection (%)	degree of infected hyphal extension		Percent of hyphal infection (%)	degree of infected hyphal extension		Percent of hyphal infection (%)	degree of infected hyphal extension	
		Mean	Maximum		Mean	Maximum		Mean	Maximum
Norin No. 6	36.3	6.6	21	22.9	4.4	19	17.8	4.3	19
Jinheung	33.2	4.0	17	18.1	3.6	15	16.5	3.4	12
Tongil(Suweon No. 213-1)	24.0	1.8	4	10.5	1.8	3	12.2	1.6	3

Table 3. Comparison on percentage of discolored cells infected between resistant Tongil cultivar and susceptible Norin No. 6 and Jinheung by inoculating the blast fungus, *Pyricularia oryzae*.

cultivar	percentage of discolored cells (%)		
	T	C	N
Norin No 6	7.6	1.8	6.2
Jinheung	11.3	3.9	9.9
Tongil(Suweon No 213-1)	13.0	10.3	13.9

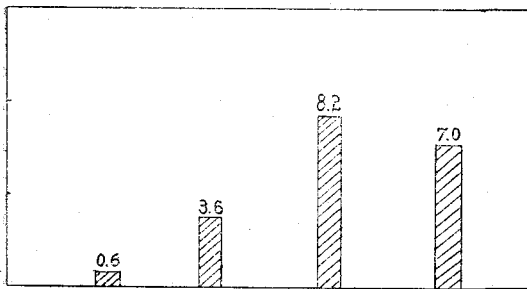


Fig. 6 Comparisons of degree for siliified cells between resistant Tongil and susceptible Paldal and Jinheung.

인 면에서 究明코저 本試驗을 遂行하였다.
 植物病原菌의 侵入前 構造인 附着器 形成에 關與하는 要因은 大體로 物理的 刺戟과 化學的 刺戟 即 寄主에 分泌하는 助長物質의 生成等 2가지로 알려져 왔다. Brown과 Dickinson³⁵⁾은 *Botrytis Cinerea*를 가지고 接觸刺戟의 效果를 報告하였으나 그 反面 Kerr와 Flenje⁶⁷⁾은 *Rhizoctonia solani*을 가지고 實驗한 結果 뿌리에서 分泌하는 分泌物이 效果가 있었다고 하였다.

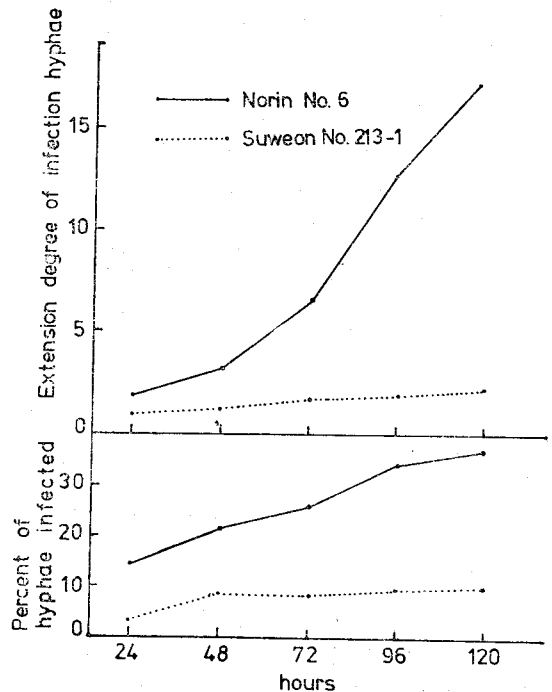


Fig. 7 Hourly fluctuation of hyphae infected and extension degree by *Pyricularia oryzae* inoculated on leaf sheathes of Tongil and Norin No. 6 cultivars

다음 이 Dodman et al¹⁾은 豫備試驗에서 接觸刺戟 하나 만이 附着器 形成에 關與된다고 하는것은 不充分하다고 指摘하였다.

Yoshii¹⁵⁾은 稻熱病菌을 供試하여 寄主인 벼와 非寄主인 도마도 葉上에서 病菌의 侵入過程을 觀察한 結果 非寄主에서는 侵入糸의 伸展이 없이 swelling만 됨을 報告한바 있다. 그러므로 本試驗은 몇가지 油紙를 包

Table 4. Hourly fluctuation of infected hyphal extension of *Pyricularia oryzae* inoculated on leaf sheath of Tongil and Norin No 6 cultivars

Hours inoculated	Norin No. 6			Tongil(Suweon 213-1)		
	Percent of hyphal infection	Index of infected hyphal extension	Maximum	Percent of hyphal infection	Index of infected hyphal extension	Maximum
24	14.3	1.9	4	3.7	0.9	2
48	21.1	3.1	7	8.1	1.3	3
72	26.1	6.6	30	8.0	1.8	5
99	33.5	12.9	40	9.1	2.1	5
120	36.7	17.1	64	9.4	2.4	10

습한 접촉劑를 供試하여 본 結果 接觸效果만으로 充分히 附着器가 形成됨을 確認할 수 있었다.

또 附着器 形成과 菌糸伸展에 미치는 溫度範圍는 15~30°C이였으며 最適溫度 26°C로 究明되였고 pH 範圍는 3.4~10.0와 最適 pH 6.8이였다.

抵抗性品種과 罹病性品種間의 附着器 形成, 侵入率 및 菌糸伸展狀況을 보면 Ohada⁹⁾와 AKai^{11,12)}가 報告한 바와같이 品種間에 侵入率과 菌糸伸展에 差異가 있다고 言及한바와 같이 本試驗에서도 抵抗性인 統一品種과 罹病性인 農林六號나 振興間에 先于 附着器 形成率에는 若干의 差異가 있으나 侵入率과 菌糸伸展度 面에서는 懸隔한 差異를 볼수있었다.

Horino et al¹⁾은 버 胡麻葉枯病菌의 侵入過程에 關한 研究에서 表皮上的 크치클 層이 抵抗性品種과 罹病性品種 間에 差異가 있음을 報告하면서 機械的 障礙로서 役割을 強調하였으며 Volk et al¹⁴⁾은 細胞壁의 organo silco成分은 稻熱病 侵入에 關與하는 酵素活動의 阻止에 關聯된다고 指摘하였다. 또 Yoshida¹⁶⁾도 珪酸效果에 關한 論文에서 珪酸과 機械的 抵抗性의 役割과 그 吸收된 珪酸은 主로 Silica gel狀態로 表皮와 維管束 및 厚膜組織에 蓄積되었다고 報告하였다.

侵入細胞의 變質率에서는 超過敏性 反應 現狀으로서 統一(水原 213-1號)는 變質率이 높으나 罹病性인 日本稻는 낮았다.

또 珪化도는 統一系統이 높고 日本稻는 낮았다. 이는 ohada⁹⁾가 말한바와 같이 品種間에 따른 抗菌性 物質이 polyphenol로서 螢光物質의 生成 더욱이 1974年 權臣漢 et al⁹⁾이 報告한바와 같이 抵抗性 品種은 細胞壁의 抵抗性이 높고 SiO₂ 蓄積이 對照區 보다 높으며 Polyphenol의 一種인 Flavonoid의 水準이 높다고 報告한 結果로서 思料되고 AKai et al^{11,12)}이 1973年 主張한 바와 같이 細胞壁의 두터움, Callus形成의 理論을 뒷받침하여 준다. Tomiyama와 Suzuhi^{6 11,12,13)} 報告

한 바와같이 포리페놀의 수준과 病害抵抗性과는 密接한 關係가 있는 것이다. 앞으로 統一品種의 病害抵抗性을 더욱 組織化學的 面이나 成分分析等의 方法을 通하여 仔細히 抵抗性이 究明되어야 할 것이며 同時에 Race를 結付한 遺傳的 및 生化學的 要因分析도 並行 研究하여야 할 것이다.

摘 要

水稻 稻熱病에 對한 寄主의 侵入過程과 그에따른 環境條件 및 品種抵抗性 機作을 病態解剖學的 面에서 究明코져 抵抗性品種 統一과 罹病性品種 日本稻 農林六號와 振興을 供試하여 本試驗을 1973년부터 1974년까지 2個年間に 遂行하였다.

1. 稻熱病菌의 侵入前 構造觀察를 爲하여 Whole leaf clearing法에 따랐으며 附着器形成에는 好條件下에서 4時間이면 그 形成이 始作되며 24時間에는 最高에 達하였다. 또 附着器 形成에 關與하는 接觸劑의 效果는 뚜렷하였고 供試 接觸劑中 油紙, 세로판, 비닐 및 카바그라스의 順으로 接觸效果가 좋았다.

2. 附着器 形成 最適溫度範圍는 24~28°C이였고 26°C에서 最適溫度로 보였으며 最適水素이온 濃度範圍는 4.8~8.0이고 最適水準은 6.8이였다.

3. 抵抗性인 統一系統과 罹病性品種인 農林六號와 振興의 上에서 附着器 形成에는 別差異없었으나 葉鞘檢定法에 依한 侵入率과 平均伸展度의 差異는 뚜렷하였다. 即 統一은 侵入率 10.5~25.5% 菌糸伸展度 1.6~2.7인데 反하여 農林六號나 振興은 侵入率 36.3~16.5% 菌糸伸展度 6.6~3.4의 範圍에 있었다.

이를 經時的인 面에서 보아도 같은 傾向이였다.

4. 被侵入 細胞의 變質率은 統一系統이 높고 罹病性 品種이 높았는데 이는 超過敏性 反應을 뒷받침하고 있다.

5. Akai 一派가 주장하는 바와같이 統一品種은 機械的 抵抗性이 높은데 即 細胞壁이 두터움, 높은 硅化度와 抗菌性 物質의 生成에 依한다고 分析되나 앞으로 生化學的인 面에서 研究를 繼續하여야 할것이다.

引用文獻

1. Akai S. 1959. Histology of defense in plants: In Plant Path., Vol. I, The diseased plant. ed. Horsfall J.G. & Dimond, A.E. Academic Press, New York and London
2. //, 1972. 感染と寄主, 反應: 植物防疫. 26(10) 386~388
3. Brown, W. 1936. The Physiology of host-parasite relations. Bot. Rev. 2: 276—281
4. Brown, J.F. & W.A. Shipton 1964. Some environmental factors influencing penetration from appressoria of *P. graminis tritici* on seedling wheat leaves. Phytopath. 54: 949
5. Dickinson, S. 1949. Studies in the Physiology of obligate parasitism: II. The behaviour of the germ tube of certain rusts in contact with various membranes. Ann. Botany N. S. 13: 219—236
6. Farkas, G. L., and Z. Kira'ly 1962 Role of Phenolic compounds in the physiology of plant disease and disease resistance. Phytopath. Z, 44: 105—150
7. Kerr, A. and N.T. Flentje 1957. Host infection in *pellicularia filamentosa* controlled by chemical stimuli. Nature. 179: 204—205
8. Kwon, S.H., J.H. Oh, and H.S. Song 1974. Studies on the relationship between chemical contents of rice plants and resistance to rice blast disease. Kor. J. Pl. Prot., 13(1): 33—39.
9. 大烟貫— 1672. 糸狀菌の 感染機作 植物防疫 26(10): 1~36
10. Sharp, E.L., and F.G. Smith 1952 Studies in the physiology of obligate parasitism: II. The behaviour of the germ tube of certain rusts in contact with various membranes. Ann. Botany N.S. 13: 219—236
11. Suzuki, N. 1965 Nature of resistance to blast in: Rice blast disease, 277—301 Juhn Hopkins-Press, Baltimore, Maryland.
12. Suzuhi, N., Y. Doi and S. Toyoda 1953. Histoc-chemical studies on the lesions of rice Blast caused by *Pyricularia oryzae* Cav. II. on the substance in the cell-membrane of rice reacting red in color with diazo reagent. Ann. phytopathol. Soc. Japan 17: 97—101
13. Tomiyama, K. 1963. Physiology and biochemistry of disease resistance in plants. Ann. Rev. Phytopath. 1, 295—324
14. Vok, R.J., R.P. Kahn and R.L. Weintraub, 1958. Silicon content of the rice plant as a factor influencing its resistance to infection by the blast fungus, *P. oryzae*. Phytopath. 48: 179—184
15. Yoshii, H.A 1948. Path-histological observation of tomato inoculated with *P.oryzae*. Ann. Phytopathology Soc. Japan 13: 14—18
16. Yoshida, S., 1961 Some aspects of the role of silicon in plants. J. Sci. Soil and Manure Jap 31: 42—48.