

잣나무털녹병 防除에 關한 研究(第3報)*¹

——罹病 잣나무의 解剖學的 診斷法——

金鍾鎮*²

Studies on the Control of Korean White Pine (*Pinus koraiensis*) Blister Rusts(Ⅲ)*¹

—A Stain Technique for Diagnosing Blister Rust of Korean White Pine—

Chong Jin Kim*²

Both bark and wood sections obtained, by cutting with a razor blade, from living tissue of *Cronartium ribicola* cankers of Korean white pine (*Pinus koraiensis*) were transferred to a mixture of 2 parts of chloroform and 1 part of methanol, and the sections were stained using a modified lactophenol cotton blue. The formula for this staining is as follows: Lactic acid 20gm, phenol crystal 20gm, cotton blue 0.05gm, and 60% EtOH 100ml. The rust hyphae and haustoria were stained blue, and the wide hyphae with straight or curved haustoria could be distinguished from the pine tissue.

잣나무털녹병(Korean white pine blister rust) 罷病木의 解剖學的 診斷을 為하여, 罷病部 樹皮 或은 木質部의 段도날 切片을 Chloroform 1 : methanol 2의 混合液에 24時間 浸漬하고, lactophenol cotton blue를 modify한 液(lactic acid 20gm, phenol crystal 20gm, cotton blue 0.05gm, 60% EtOH 100ml)에 2~5分 染色하고 60~70% EtOH에 2~3分 셋은 다음 lactophenol로 mount하여 檢鏡하였다. 寄主組織中에 分枝蔓延한 本病原菌 *Cronartium ribicola*의 比較的 的은 菌絲와 棍棒狀 或은 弯曲한 吸器가 青染됨으로서, 잣나무의 細胞組織과 容易하게 識別할 수 있었다. 樹皮部에서는 菌絲 發達이 良好하나 木質部에서는 放射組織의 透心縱斷面에서의 觀察이 容易하였고 他 木質部 組織에서는 거의 觀察할 수 없었다.

緒論

잣나무털녹병 罷病 잣나무의 同定은 그 典型的인 標兆가 出現하는 3月 中旬부터 6月 初旬까지는 比較的 容易하나, 이 期間에 지나면 銹孢子의 飛散 消失로 罷病部位의 識別이 困難하며, 또한 本病의 罷病 初期에는 病徵診斷이 거의 不可能한 關係로, 本病의 研究 特히 罷病木 早期 除去를 主要 防除手段으로 하고 있는 現行 防除事業에 許多한 難點을 招來하고 있다.

寄主 細胞組織中の 菌絲識別을 為한 technique는 일찍 부터 試圖되어 왔으며, 特히 K. Gram & E. Jøgensen (4)은 13種 樹木의 木質部에 蔓延되어 있는 14種 fungi의 菌絲 染色 檢出에 있어서 良好한 結果를 얻었다.

*Cronartium ribicola*에 感染된 *Pinus strobus*와 *P. moniliformis* 組織中の 菌絲識別에 關한 報告는 數篇있으나 (R.H. Colly(2,3); A.M. Waterman(7); F.F. Jewell (5)), 그 寄主가 잣나무(*Pinus koraiensis*)인 경우는 아직 發表된 바 없다.

今般 잣나무털녹병의 正確한 同定 特히 診斷에 있어서 季節의 拘碍를 받지 않으며 또한 早期 診斷을 為하여, 寄主의 樹皮 或은 木質部의 薄片으로 組織內의 本病原菌의 菌絲와 吸器 染色 檢出에 Lactophenol cotton blue法(1)을 modify하여 適用한 바 良好한 結果를 얻었기에 이에 報告하는 바이다. 本 報告는 產學協同財團 學術研究費의 支援으로 이루어 졌으며 이에 謝意를 表하는 바이다.

*¹ Received for publication on March 10, 1978.

*² 江原大學校 農科大學 College of Agriculture, Kang Won University

材料 및 方法

*Cronartium ribicola*에 損病된 잣나무 病患部의 莖을 1977年 8月 27日 江原道 麟蹄郡 龍垈 3里에서 採取하여 手刀 날로 hand section을 하였으며, 樹皮部로 부터 木質部를 通하여 橫斷과 透心縱斷으로 薄片을 만들었다.

組織薄片의 preparation製作過程은 다음과 같다.

1. chloroform 2 : methanol 1의 混合液에 24時間 薄片을 浸漬한다. 이는 組織內의 樹脂除去를 為함이며, 이 液이 든 小瓶에 材料를 넣고 密閉한다. 이대로 長期間 保存이 可能하며 必要時에 使用할 수 있다.

2. modified lactophenol cotton blue의 少量을 另한 시제점시에 組織薄片을 뒤집어 옮기어 2~5分 染色한다.

modified lactophenol cotton blue

lactic acid 20g

phenol crystal 20g

cotton blue 0.05g

60% ethyl alcohol 100ml

3. 60~70% ethyl alcohol를 另한 시제점시에 青染된 薄片을 옮기어 훤히여 薄片表面의 餘分의 染色液을 削는다.

4. lactophenol液(1)을 1滴 滴下한 slide glass에 薄片을 放고 mount한다. 이같이 하여 製作된 preparation은 相當期間 觀察할 수 있지만, cover glass周緣部에 스며나온 lactophenol液의 乾燥를 기다려 매니큐어로 그 둘레를 封하면 長期間 檢鏡에 供할 수 있는 半永久 preparation을 만들 수 있다.

結果 및 考察

本 染色法으로 잣나무tail赤病菌絲은 青色으로 染色되어 잣나무 細胞組織과 病原菌의 菌絲을 容易하게 識別할 수 있었다. 잣나무 病患部의 透心縱斷或은 橫斷面 共히 良好한 結果를 보였으며, 菌絲는 樹皮部에 보다 旺盛하게 分枝蔓延되어 있었으며, 木質部에서는 放射組織의 透心縱斷面에서 觀察이 容易하였고, 重病인 경우에는 假導管細胞壁間에도 간혹 發達이 貧弱한 菌絲를 찾아 볼 수 있었다. 菌絲는 그 幅이 比較的 크며 細胞間隙에 蔓延되어 있었고(Fig. 1. A), 本 病原菌 特有의 形狀을 한 吸器는 寄主細胞壁 貫通部位가 細小하게 狹窄되어 있었으며 分枝함이 없이 棍棒狀或은 戀曲되어 있었다(Fig. 1. B; Fig. 3, 4. A). 吸器는

樹皮部 細胞에서 쉽게 觀察할 수 있었고, 木質部의 透心縱斷의 放射細胞에도 잘 보이며 또 두물계는 假導管에서도 작은 吸器를 찾아 볼 수 있었다.

외에 列舉한 菌絲의 잣나무 組織中의 蔓延狀態와 存在部位 그리고 吸器의 特異한 形態等은 R. H. Colley (2, 3)를 為始하여 A. M. Waterman(7), F. F. Jewell (5)等이 *Cronartium ribicola*에 感染된 *Pinus strobus*나 *P. monticola*에서 觀察한 것과 같으며, 따라서 本 染色法이 잣나무tail赤病의 解剖學的 診斷에 効果의으로 利用될 수 있는 것이라 하겠다. 한편 R. M. Rauter & L. Zufa(6)는 modified Gram-Jørgensen 染色法으로 本 病에 感染된 *Pinus strobus*組織中의 鮮明한 赤色으로 染色된 細은 菌絲細胞核으로써 菌絲의 存在를 알 수 있으며 本 病原菌을 固定할 수 있다고 結論했는대, 이번 實驗에 있어 시제는 菌絲細胞核이 菌絲보다 약간 길은 青色으로 染色되어 觀察할 수 있었지만, 元來 이 核은 細小不規則하게 分枝한 菌絲內에 두문 두문 存在하는 까닭에 이 核 観察만으로 菌絲의 蔓延狀態를 認定하기는 困難하였다.

Literature Cited

1. Beneke, E. S. and A. L. Rogers. 1970. Medical mycology manual. Burgess Publishing Company pp. 226.
2. Colley, R. H. 1917. Diagnosing white-pine blister-rust from its mycelium. J. Agric. Res. 11:281-286.
3. Colley, R. H. 1918. Parasitism, morphology, and cytology of *Cronartium ribicola*. J. Agric. Res. 15:619-660.
4. Gram, K. and Erik Jørgensen 1952. An easy, rapid, and efficient method of counterstaining plant tissues and hypha in wood sections by means of fast green or light green and safranin. Friesia 4:262-266.
5. Jewell, F. F. 1958. Stain technique for rapid diagnosis of rust in southern pines. Forest Sci. 4:42-44.
6. Rauter, R. M. and L. Zufa. 1972. A rapid technique for the determination of *Cronartium ribicola* mycelium in white pine back tissue, Biology rust resistance in forest trees (Proceedings of a NATO-IUFRO advanced study institute 1968). U. S. Dept. Agr. Forest Serv. miscellaneous publication

1221:387-390.

7. Waterman, A. M. 1955. A stain technique for

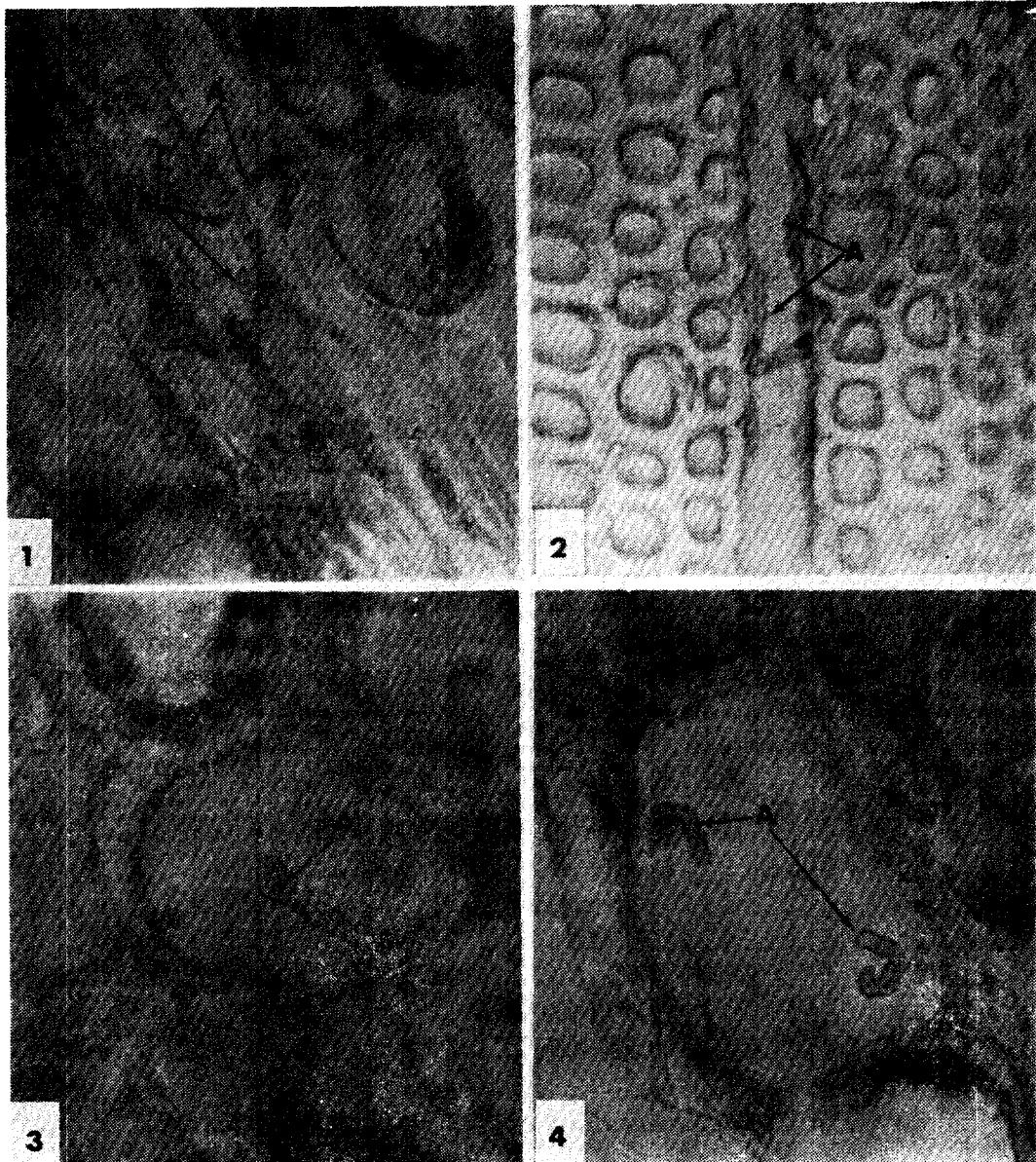
diagnosing blister rust in cankers on white pine.
For. Sci. 1:219-221.

Fig. 1~4. Photomicrograph (520X) of hand section of Korean white pine (*Pinus koraiensis*) infected by *Cronartium ribicola*. 1. Radial section of phloem; arrows (A) point to hyphal strands of mycelium; arrows (B) point to haustoria. 2. Transection of xylem; arrows (A) point to hyphal strands of mycelium in xylem ray. 3. 4. Radial section of bark tissue; arrows (A) point to haustoria in host cells.