

## 水稻 흰잎마름病 抵抗性 遺傳子 發現에 關한 研究\*\*

### I. 흰잎마름病菌의 增殖 및 移動과 抵抗性과의 關係

金漢龍\* · 崔在乙\*

## Studies on Manifestation of Bacterial Leaf Blight Resistant Gene\*\*

### I. Relationship Between the Resistance of Rice to Bacterial Leaf Blight and the Multiplication and Spread of the *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*

Han Yong Kim\* and Jae Eul Choi\*

**ABSTRACT** : This experiment was conducted to study the multiplication and spread of bacterial population in water exuded through the hydathode of infected leaf of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in resistant and susceptible rice cultivars to bacterial leaf blight. The results obtained are summarized as follows.

The bacterial multiplication in resistant cultivars was almost constant from three days to twelve days after inoculation with population of  $10^3$ - $10^4$ cfu/cm<sup>2</sup>, but the multiplication was increased as days after inoculation extended in susceptible cultivars. The speed of bacterial multiplication and the number of bacteria spread above and below the inoculated position were closely related with the resistance of rice cultivars to bacterial leaf blight.

The bacterial multiplication and spread were observed throughout the all growing stages including seedling, maximum tillering and flag leaf stages. The bacterial populations in water exuded through the hydathode were dependent on the multiplication and spread, and the populations were also closely related with the resistance of rice cultivars.

水稻 흰잎마름病은 稻熱病과 더불어 重要한 水稻 病害로서 藥劑에 의한 防除의 效果가 낮기 때문에 주로 抵抗性 品種의 育成 栽培에 의존하고 있다.

그러나 現在까지의 抵抗性 品種育成을 위한 研究는 주로 抵抗性 母本의 探索과 導入 혹은 몇 가지 品種들에 대한 遺傳分析 등이 遂行되었을 뿐 抵抗性의 機作, 圃場抵抗性의 發現機構 또는 2次 傳染源으로서의 役割 등과 같은 抵抗性의 本質的인 問題에 관한 研究는 未洽한 實情이다.

水稻 흰잎마름病原細菌의 增殖과 移動에 對하여 Rohinson 等<sup>1)</sup>은 *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*의 增殖은 親和性(homologus, compatible)菌

의 增殖이 非親和性(heterologus, incompatible)菌 보다 높은 增殖率을 나타내고 非親和性病原菌의 移動은 제한되나 親和性病原細菌은 잎 전체에 걸쳐 分布한다고 하였다. Mohiuddin 等<sup>2)</sup>도 非親和性病原細菌은 잎에서 population이 낮고 移動이 적다고 한 반면 Parry 等<sup>3)</sup>은 親和성과 非親和性 菌株間에 增殖과 移動에 큰 差異가 없으며 다만 病徵에 差異가 있었다고 하였다. 또 Parry 等<sup>4)</sup>과 Reddy 等<sup>5)</sup>은 *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*의 親和성과 非親和性菌을 1:1로 混合接種 했을 때 病斑長은 親和性菌만을 接種했을 때와 같았으며 한 品種에서만 親和性菌과 非親和性菌의 중간程度의 病斑長이

\*忠南大學校 農科大學 (College of Agri., Chungnam Nat'l Univ., Taejon 305-764, Korea)

\*\*이 論文은 1989年度 文教部 支援 韓國學術振興財團의 自由公募課題 學術研究 助成費에 依하여 研究되었음. <'89. 12. 29. 接受>

었다고 하였다.

Barton-wills 등<sup>1)</sup>은 親和性和 非親和性 細菌의 population은  $10^7 \sim 10^8$  cfu 수준에 이를 때까지 동일하게 增殖하였으나 增殖速度에서는 非親和性 細菌이 늦다고 하였다. 또 移動速度는 親和性 細菌이 더 빨랐으며 病斑長은 대체로 細菌의 population과 正의 상관관계가 있었고 親和性和 非親和性 細菌을 混合(1:1) 接種했을 경우 非親和性 細菌의 增殖이 顯著히 抑制되었다고 報告하였다. 이와같이 水稻 흰잎마름病 病原細菌의 增殖 및 移動과의 關係가 여러 研究者에 의해 報告되었으나 一致된 結果가 없는 것으로 보인다. 따라서 본 研究는 本病에 感染된 잎의 組織內에서 病原細菌의 增殖 및 移動과 잎의 水孔을 통해 나오는 病原細菌의 2次傳染源으로서의 役割을 檢討하여 抵抗性的의 機作解析과 새로운 抵抗性的의 評價方法을 摸索코저 實施하였다.

### 材料 및 方法

本 實驗은 1989年 忠南大學校 農科大學 實習圃場에서 實施하였으며, 供試水稻品種은 우리나라에 分布하고 있는 水稻 흰잎마름病病原細菌의 5개 race 중 그 분포비율이 70~80%를 차지하고 있는 K1에 대하여 罹病性反應을 보이는 一般系의 東津벼와 統一系의 密陽23호, 抵抗性 反應을 보이는 일반계의 大晴벼, 統一系의 靑靑벼, 太白벼, 漢江찰벼를 供試하였으며, 幼苗期 檢定用 苗은  $40 \times 30 \times 25$  cm의 사각 pot에 4중하여 greenhouse內에서 栽培하였고, 最高分蘗期 및 止葉期 檢定用은 本답에 移秧하여 표준시비 및 栽培法에 準하여 栽培하였다. 接種菌株은 *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*의 K1 菌을 Wakimoto's 감자 반합성배지에 28°C에서 3일간 배양한 후 菌의 濃度를 약  $10^8$  cfu(colony forming unit)/ml로 희석하여 接種源으로 사용하였으며 幼苗期 檢定은 5~6葉期에, 최고분얼기 檢定은 移秧後 35일에 그리고 止葉期 檢定은 출수기경 지엽에 각각 잎 중앙부위에 多針接種하였다. 細菌數의 측정은 接種후 3, 6, 9, 12일에 接種部位와 接種部位로부터 3cm 上, 下를  $0.5 \times 0.5$  cm씩 취하여 殺菌 마쇄후 Suwa 배지(Na-glutamate 2g,  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  1g, Glucose 5g,  $K_2HPO_4$  0.1g, Fe-EDTA 1mg, Peptone 10g, Agar 10g, Distilled water 1000ml, pH 7.5)상에 塗抹 28°C에서 5일간 배양한 후 배지상에 나타난 colony 數를 측

정하였다. 또 感染된 잎의 水孔을 통해 나오는 細菌이 2次傳染源으로서의 可能性을 檢討하기 위하여 播種 2週後에 잎을 70% 알콜로 表面殺菌하고 殺菌된 비닐봉지를 씌워 水孔을 통해 나온 液을 채취하여 Suwa 배지상에 塗抹培養後 colony 數를 調査하였다.

## 結果 및 考察

### 1. 供試菌株의 病原性

水稻 흰잎마름病病原細菌(*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*)의 K1에 對한 供試品種들의 生育時期別 病斑長은 표 1과 같다. 接種後 3일에는 抵抗性品種인 靑靑벼와 大晴벼는 勿論 罹病性品種인 密陽23號와 東津벼에서도 아무런 病反應이 나타나지 않았으나 接種후 6일에 罹病性品種인 密陽23號와 東津벼에서 生育時期에 關係없이 각각 1.5cm와 0.5cm 內외의 病斑長이 나타났다. 그러나 抵抗性品種인 靑靑벼와 大晴벼의 경우에는 接種 12일후에도 肉眼로 확인할 수 있는 病反應은 나타나지 않았다. 罹病性品種의 경우에는 接種후 시간이 경과함에 따라 病斑長이 계속 增加되었으나 東津벼의 增加速度는 密陽23호 보다 늦은 傾向을 보였으며 두 品種의 生育時期別 病斑長에는 큰 差異가 없었는데 이러한 結果는 Rao 등<sup>5)</sup>의 報告와 잘 一致

Table 1. Reaction of resistant and susceptible rice cultivars to K1 of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* at different growth stage.

Cultivars	Growth stage <sup>a)</sup>	Days after inoculation			
		3	6	9	12
Milyang 23	A	0 <sup>b)</sup>	1.5	4.7	6.3
	B	0	1.4	4.5	6.0
	C	0	1.5	4.8	6.2
Dongjinbyeo	A	0	0.5	1.6	3.1
	B	0	0.5	1.3	2.8
	C	0	0.5	1.5	3.0
Cheongcheongbyeo	A	0	0	0	0
	B	0	0	0	0
	C	0	0	0	0
Daecheongbyeo	A	0	0	0	0
	B	0	0	0	0
	C	0	0	0	0

a) A : Seedling stage,

B : Maximum tillering stage,

C : Flag leaf stage,

b) Lesion length(cm), average of 20 leaves.

**Table 2.** Comparison of bacterial population in resistant and susceptible rice cultivars after inoculation at different growth stage.

Cultivars	Growth stage <sup>a)</sup>	Days after inoculation			
		3	6	9	12
Milyang 23	A	1.8 × 10 <sup>4</sup>	2.0 × 10 <sup>8</sup>	3.7 × 10 <sup>8</sup>	1.6 × 10 <sup>9b)</sup>
	B	6.5 × 10 <sup>4</sup>	1.2 × 10 <sup>8</sup>	3.4 × 10 <sup>8</sup>	1.5 × 10 <sup>9</sup>
	C	8.3 × 10 <sup>4</sup>	1.3 × 10 <sup>8</sup>	4.2 × 10 <sup>8</sup>	1.9 × 10 <sup>9</sup>
Dongjinbyeo	A	4.5 × 10 <sup>4</sup>	8.4 × 10 <sup>6</sup>	2.3 × 10 <sup>8</sup>	4.5 × 10 <sup>8</sup>
	B	4.2 × 10 <sup>4</sup>	8.0 × 10 <sup>6</sup>	1.0 × 10 <sup>8</sup>	4.6 × 10 <sup>8</sup>
	C	3.8 × 10 <sup>4</sup>	8.6 × 10 <sup>6</sup>	1.6 × 10 <sup>6</sup>	2.2 × 10 <sup>8</sup>
Cheongcheongbyeo	A	3.0 × 10 <sup>3</sup>	4.8 × 10 <sup>4</sup>	5.9 × 10 <sup>4</sup>	5.4 × 10 <sup>4</sup>
	B	2.2 × 10 <sup>3</sup>	8.2 × 10 <sup>4</sup>	3.3 × 10 <sup>4</sup>	3.5 × 10 <sup>4</sup>
	C	2.6 × 10 <sup>3</sup>	5.0 × 10 <sup>4</sup>	3.8 × 10 <sup>4</sup>	3.5 × 10 <sup>4</sup>
Daecheongbyeo	A	3.6 × 10 <sup>3</sup>	2.0 × 10 <sup>4</sup>	3.0 × 10 <sup>4</sup>	6.1 × 10 <sup>4</sup>
	B	1.4 × 10 <sup>3</sup>	2.6 × 10 <sup>4</sup>	3.0 × 10 <sup>4</sup>	1.4 × 10 <sup>4</sup>
	C	9.5 × 10 <sup>2</sup>	4.3 × 10 <sup>4</sup>	3.6 × 10 <sup>4</sup>	5.4 × 10 <sup>4</sup>

a) A : Seedling stage,

B : Maximum tillering stage,

C : Flag leaf stage,

b) Bacterial population per cm<sup>2</sup> of leaf(K1).

하고 있다.

## 2. 病原細菌의 增殖

抵抗性과 罹病性品種들의 生育時期別 接種部位에서의 病原細菌의 增殖速度는 表 2에 나타난 바와 같이 接種 3日後 罹病性品種인 東津벼는 勿論 靑靑벼 大晴벼와 같은 抵抗性品種의 接種部位 組織内에서는 10<sup>3</sup> - 10<sup>4</sup> cfu/cm<sup>2</sup> 增殖을 보였으며 密陽 23호의 경우에 接種 6日後까지 급속히 增殖하였으나 6日 이후에는 緩慢한 增殖速度를 보였다.

반면 東津벼의 경우에는 接種後 6日에 처음으로 0.5 cm 程度의 病斑이 나타났으며(表 1) 組織内의 病原細菌은 10<sup>6</sup> cfu 程度의 population이 보였다. 이는 본 病의 發生을 肉眼으로 확인할 수 있었을 때의 최소한의 增殖濃度로 생각되며 增殖速度에 있어서는 密陽 23호에서와 같은 급속한 增殖은 없었으나 시간의 경과에 따라 계속 增殖하였다. 그러나 止葉期에는 菌의 增殖이 肉眼으로 확인할 수 있는 病斑(macroscopic disease symptoms)이 전혀 나타나지 않았던 靑靑벼와 大晴벼의 接種部位에서도 10<sup>3</sup> ~ 10<sup>4</sup> cfu 程度의 增殖이 있었다. 이것은 어떤 race에 대하여 抵抗性品種이라 하더라도 눈에 보이는 病斑은 형성되지 않았으나 病原細菌은 어느 程度 增殖할 수 있는 것으로 생각된다.

供試品種들의 組織内의 增殖으로 보아 接種後 3日까지는 큰 差異가 없었으나 6日에는 抵抗性과 罹病性品種간에 顯著한 差異를 나타내어 抵抗性品種들의 抵抗性은 接種後 일정시간이 경과한 후에 發現되는 것으로 생각되며 病原細菌의 增殖과 發病은 抵抗性과 잘 一致하나 抵抗性發見物質에 대해서는 앞으로 많은 檢討가 요구된다.

또 抵抗性과 罹病性品種間 增殖差異의 結果는 Parry 等<sup>4)</sup>의 報告와는 相異하나 Robinson 等<sup>7)</sup>의 結果와 잘 一致되고 있다.

## 3. 病原細菌의 增殖 및 移動

최고 분얼기의 앞 組織内에서 病原細菌의 移動 및 增殖量은 表 3에 나타난 바와 같다.

罹病性 品種인 密陽 23호와 東津벼는 病斑이 나타난(表 1) 接種 6日後에 接種部位로부터 3cm 上, 下로 移動하였으며 密陽 23호의 경우에는 接種後 9日에 病斑을 나타낼 수 있는 최소한의 增殖濃度로 생각되는 10<sup>6</sup> cfu 以上 增殖 및 移動이 이루어졌으며 病原細菌 K1에 대하여 같은 罹病性品種인 東津벼 보다 顯著히 빠른 移動과 增殖速度를 보였다.

東津벼는 0.5 cm 程度의 病斑長을 나타내는 接種後 6日에 接種部位에서 8.0 × 10<sup>6</sup> cfu/cm<sup>2</sup>의 增殖을 나타냈으나, 上, 下 3cm에서는 전혀 檢출되지 않았으며 12日에는 9.5 × 10<sup>5</sup> ~ 2.3 × 10<sup>6</sup> cfu/cm<sup>2</sup>의 濃度

**Table 3.** The bacterial population at two different leaf positions in the same leaf of resistant and susceptible rice cultivars at the maximum tillering stage.

Cultivars	Position <sup>a)</sup>	Days after inoculation			
		3	6	9	12
Milyang 23	A	—	1.1 × 10 <sup>5b)</sup>	3.4 × 10 <sup>6</sup>	1.6 × 10 <sup>8</sup>
	B	—	5.6 × 10 <sup>4</sup>	8.5 × 10 <sup>5</sup>	7.3 × 10 <sup>6</sup>
Dongjinbyeo	A	—	—	7.9 × 10 <sup>5</sup>	2.3 × 10 <sup>6</sup>
	B	—	—	7.0 × 10 <sup>4</sup>	9.5 × 10 <sup>5</sup>
Cheongcheongbyeo	A	—	—	—	1.0 × 10 <sup>3</sup>
	B	—	—	—	4.0 × 10 <sup>3</sup>
Daecheongbyeo	A	—	—	—	2.8 × 10 <sup>2</sup>
	B	—	—	—	3.6 × 10 <sup>3</sup>

a) A : 3 cm above the inoculated position,

B : 3 cm below the inoculated position,

b) Bacterial population per cm<sup>2</sup> of leaf(K1),

— : Not detected.

로 검출되었다. 또 病原細菌의 移動 및 增殖은 下向移動보다 上向移動이 若干 빨랐는데 이는 水分의 上向移動과 관계있는 것으로 思料된다.

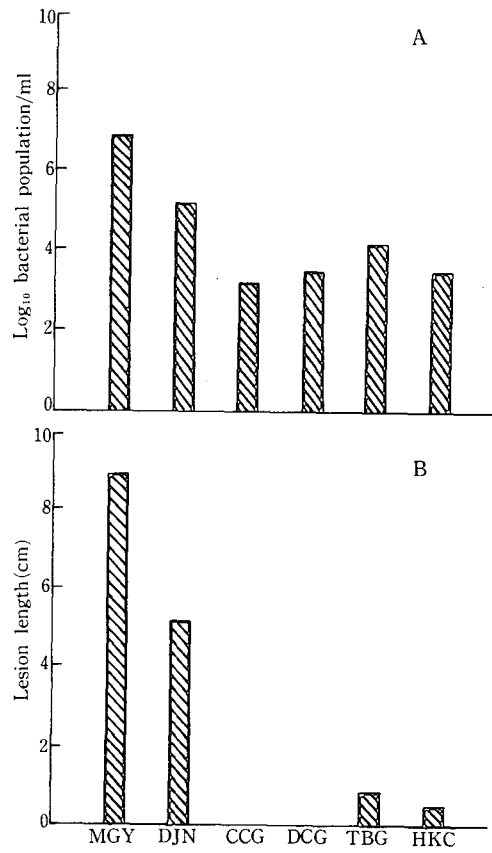
抵抗性品種인 靑靑벼와 大晴벼의 경우에도 接種後 12日에 若干의 上, 下向移動이 있었으나 接種部位로부터 3cm 移動하려면 12日 以上 소요되었으며 그 양도 매우 적어 10<sup>2</sup> - 10<sup>3</sup> cfu/cm<sup>2</sup> 程度였다.

이와 같이 抵抗性과 罹病性品種들간에는 接種部位에서의 增殖과 增殖速度는 勿論 上, 下向移動에 顯著한 差異를 보였고 대체로 組織內에서의 增殖程度와 抵抗性과는 密接한 관련이 있었으며 이러한 結果는 Robinson 等<sup>7)</sup>과 Barton-wills 等<sup>1)</sup>의 報告와 一致하였다.

#### 4. 溢液內의 細菌 population

*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* K1에 感染된 잎의 水孔(hydathode)을 통해 나오는 病原細菌數를 調査한 結果는 그림 1과 같다.

接種 2週後에 密陽 23號의 病斑長은 9cm程度였고 그 잎의 水孔을 통해 나온 細菌의 population은 그림에 나타낸 바와 같이 6.0 × 10<sup>6</sup> cfu/ml로 높은 水準의 濃度였으며 5cm 程度의 病斑長을 나타내고 있는 東津벼는 6.8 × 10<sup>4</sup> cfu/ml의 病原細菌이 검출되었다. 抵抗性品種인 靑靑벼와 大晴벼에서는 病斑長이 전혀 나타나지 않은 반면 10<sup>3</sup> cfu/ml 以上の 病原細菌이 水孔을 통해 밖으로 나왔으며 0.5cm 以下の 病斑長을 나타낸 太白벼와 漢江찰벼는 10<sup>3</sup> ~ 10<sup>4</sup> cfu/ml 水準의 病原細菌이 感染된 잎의 水孔을 통하여 추출되었으며 이러한 結果는 組



**Fig. 1.** Bacterial population in water exuded through the hydathode of infected leaf (A), and lesion length(B) in the maximum tillering stage of rice cultivars. MGY : Milyang 23, DJN : Dongjinbyeo, CCG : Cheongcheongbyeo, DCG : Daecheongbyeo, TBG : Taebaegbyeo, HKC : Hankangchalbyeo.

織內에서의 病原細菌의 增殖 및 移動量과 잘 一致하였다. 傷處部位를 통한 細菌의 最低感染濃度는  $10^2 \sim 10^3$  cfu/ml 이고, 自然開口部를 통한 最低感染濃度(minimal inoculum dose)는 약  $10^5$  cfu/ml 이므로<sup>2)</sup> 抵抗性品種에서 추출된 濃度は 增殖없이 水孔侵入을 통한 感染은 困難하나 傷處部位를 통한 感染은 可能하다고 思料될 뿐아니라 抵抗性品種內에서의 越冬도 可能할 것으로 思料된다.

以上과 같이 水稻 흰잎마름병 抵抗性과 菌의 增殖 및 移動과는 密接한 關係가 있었으며, 抵抗性品種에서 추출된 病原細菌도 2次 感染의 可能性이 示唆되므로 組織內에서 細菌增殖이 전혀 되지 않는 새로운 抵抗性 品種의 育成이 切實히 要求된다.

### 摘 要

水稻 흰잎마름병(*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) 病原細菌(K1)의 組織內에서의 增殖과 移動 그리고 水孔을 통해 추출되는 病原細菌의 濃度を 調査한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 抵抗性 品種에서는 接種 3日後에 약  $10^3$  cfu/cm<sup>2</sup>로 12일까지 큰 變化가 없었으나 罹病性 品種에서는 接種 6일에 약  $10^4$  cfu/cm<sup>2</sup>에서 接種 12일에는 약  $10^8 \sim 10^9$  cfu/cm<sup>2</sup>로 繼續 增殖하였다.

2. 病原細菌의 接種部位로부터 上, 下向 移動速度 및 增殖速度는 上向移動이 若干 빠른 傾向이 있었으며 罹病性 品種에서 빠른 增殖과 移動速度를 보여 抵抗性과 密接한 關係가 있었다.

3. 病原細菌의 增殖 및 移動은 生育時期에 따른 差異는 없었다.

4. 感染된 잎의 水孔을 통해 나오는 病原細菌의

濃度は 組織內에서 病原細菌의 增殖 및 移動과 一致하였으며 抵抗性과도 密接한 關係가 있었다.

### 引 用 文 獻

1. Barton-wills, P.A. P.D, Guo, and J.E. Leach. 1989. Growth dynamics of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in leaves of rice differential cultivars. *Phytopathology* 79 : 573-578.
2. 後藤正夫. 1981. 新植物細菌病學 “感染과 發病”, 靜岡大學 農學部. Soft Science. INC. Tokyo. 272p.
3. Mohiuddin, M.S. and H.E. Kauffman. 1975. Multiplication studies of *Xanthomonas oryzae* isolates on differential rice varieties. *Curr. Sci.* 44 : 637-738.
4. Parry, R.W.H. and J.A. Callow. 1986. The dynamics of homologous and heterologous interaction between rice and strains of *Xanthomonas oryzae*. *Plant Pathology* 35 : 380-389.
5. Rao, P.S. and A.P.K. Reddy. 1975. Seedling and adult plant reactions to bacterial leaf blight. *FAO. International Rice Commission Newsletter* 24(1) : 62-66.
6. Reddy, A.P.K. and H.E. Kauffman. 1974. Population studies of mixed inoculum of *Xanthomonas oryzae* in susceptible and resistant varieties of rice. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 40 : 93-97.
7. Robinson, J.N. and J.A. Callow. 1986. Multiplication and spread of *Xanthomonas campestris* in host and non-host plant. *Plantpathology* 35 : 167-177.