

# 稻健全葉과 稻熱病罹病葉에 있어서의 Free Amino Acid 含量 比較研究

白壽鳳·李培咸

(建國大學校 應用微生物 研究所)

## Comparative studies on free amino acid content between healthy leaves and blasted leaves of rice plants.

Baek, Soo Bong and Lee, Bae Ham.

(Institute of Applied Microbiology, Kon Kuk Univ.)

### Abstract

This experiment was undertaken the purpose of investigating the difference of the content of free amino acids in the diseased and healthy leaves of the resistance and susceptible rice varieties to blast by means of paper chromatography.

The results obtained are summarized as follows.

(1) In the healthy and diseased leaves, the former was founded nine to ten sorts of free amino acids and later was observed eleven. In the both of leaves, alanine and valine were contained in larger amount, and aspartic acid, glycine and arginine were found relatively less in general.

(2) In the diseased leaves, the amino acids were increased in quantity, especially glutamine and aspartic acid were remarkable, and cystine were found only in the diseased ones.

(3) It seems to that the healthy leaves in all varieties were observed the amino acid contents in notably increase and decrease, but in the diseased ones were not changed in amount. Tatacho, susceptible variety, was more contained the amount of glutamine and aspartic acid than Zenith, resistance one.

### 緒 論

各種 栽培環境下에 있어서 稻熱病 罹病度와 稻體 諸成分과의 관계는 많이 研究되었는데 罹病하기 쉬운 品種에서는 amino acid, amide 또는 可溶性 窒素 含量이 많다는 것이 報告되고 있다.

Moriwaki·Tanaka 1956는 稻熱病 感受性 強弱의 原因은 寄主의 代謝生理와 稻熱病菌의 *Piricularia oryzae*의 營養代謝와의 관련에 주목하여 寄主內 酸性 amino acid의 存在가 susceptibility의 하나의 原因이라고 하였다. 赤井, 獅山, 江川 1956 등은 水稻葉에서 檢出되는 free amino acid가 抵抗性 혹은 感受性 品種에 따라 量的으로 또는 質的으로 多少의 相違가 있다고 報告하였다. 即 寄主體 內의 N代謝에 있어서 特히 free amino acid의 量的 增

減에 따른 影響이 病害와 相關이 있다는 것이다.

本 實驗은 稻熱病 罹病葉과 健全葉, 그리고 抵抗性 品種과 感受性 品種 間에 있어서 free amino acid의 量的 差異를 比較하여 그들 間의 amino acid 代謝를 알고자 하였으며, 그 結果를 發表하는 바이다.

### 材料 및 方法

水稻 品種은 抵抗性이 弱한 多多粗, 普通인 白金, 그리고 強한 Zenith의 3 品種을 供試하고 肥料은 硫安, 過石, 鹽加의 三要素를 標準肥로 한 普肥區(健全區)와 普肥區에서 硫安만 3 倍한 것을 多肥區(罹病區)로 하여 全量 基肥로 施肥하였다. 그 後 硫安만 多肥區에 追肥로 2 回 주었는데 1 回는 基肥의 1/3, 2 回는 1/4 量을 더 첨가하여 施用하였다. 이

것을 多肥로 말미암아 稻熱病에 걸리기 쉬운 環境을 助成하여 주기 위한 方法으로 실시한 것이다.

6月 16日 모래를 넣은 播種箱에 위와 같은 處理로 施肥하고 各 品種을 播種하여 발 狀態로 生育시켰다.

稻熱病菌 *Piricularia oryzae* 接種은 建大 微生物 研究室에 保管 중인 菌株을 test tube에서 20日간 培養한 것을 물에 희석시켜 7月 7日 多肥區 苗床에 濕氣를 충분히 준 後 곧 葉面 撒布로 接種시켰다. 이때 희석농도는 顯微鏡 視野( $\times 150$ )에서 胞子가 10개 이상으로 하였다. 接種 후 濕氣를 보존하기 위하여 vinyl로 1晝夜 稻苗를 被覆하였다.

實驗材料은 7月 28日 稻熱病에 걸린 罹病葉(多肥區)와 健全葉(普肥區)을 使用하였다. 이것에서 free amino acid의 paper chromatography用 試料 抽出方法은 다음과 같이 하였다. 新鮮材料 5g을 秤量하여 80% ethanol 100cc를 조금씩 넣으면서 motor로 완전히 분쇄한 것을 3,000 r.p.m.로 遠心分離한 上澄液을 filter paper로 여과시켰다.

이 液에다 chloroform을 넣어 可溶性 蛋白質을 沈澱시켜 除去한 上澄液을 다시 filter paper로 여과시켰다. 여과한 液을 water bath 위에서  $60\pm 2^\circ\text{C}$ 로 加熱 濃縮하여 試料로 하였다.

Paper chromatography 展開는 micropipette로 10  $\mu$ 의 試料를 직경 5mm로 spotting하여  $26\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 展開하였다. 濾紙는 whatman No.1을 크기  $25 \times 25\text{cm}$ 로 切斷하여 使用하였고 展開溶媒는 一次元에서 phenol : dist. water(4:1)를, 二次元에서 n-

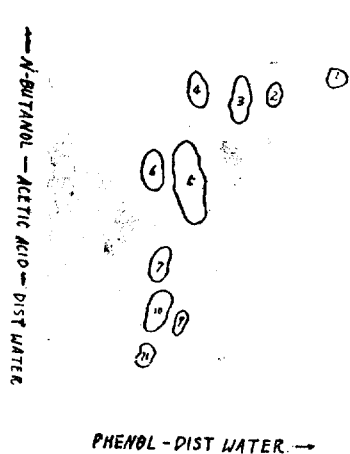
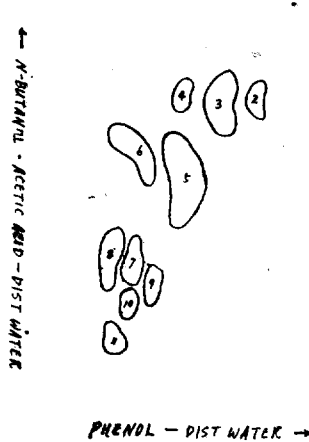
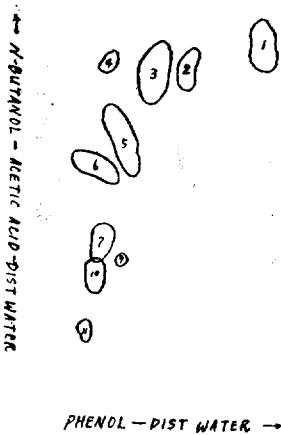
butanol : acetic acid : dist. water(4:1:5)의 上澄液을 利用하였다. chromatogram의 乾燥는  $26\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 行하였으며, 0.2% ninhydrin 液을 噴霧하여  $60\sim 70^\circ\text{C}$ 의 dry oven에서 約 10分 간 두어 發色시켰다. paper에 나타난 色과 크기와 位置를 가지고 standard amino acid로 上昇展開한 control과 Rf 值를 比較하여 amino acid를 同定하였으며 2 反覆으로 하였다.

### 實驗結果

Free amino acid를 種類別로 보면 모든 品種이 健全葉에서는 9~10種, 罹病葉에서는 11種이 나타났으며, unknown이 罹病葉에서 1種이 檢出되었다. alanine, valine이 모든 區에서 현저하게 많이 나타남에 비하여 aspartic acid와 arginine이 가장 적게 나타났다.

健全葉과 罹病葉에 있어서는 一般的으로 各品種 모두 amino acid들이 罹病葉에서 量的 增加를 보이고 있으며, 特히 稻熱病의 感受性과 密接한 關係가 있는 amide인 glutamine은 窒素供給의 過多로 인하여 罹病된 葉에서 현저히 增加되었으며, 또한 aspartic acid도 增加되었다. 그리고 cystine은 罹病葉에서만 檢出되었다.

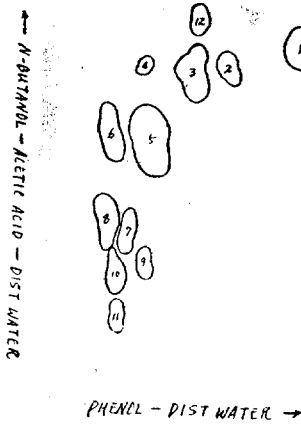
品種間의 差異로서는 罹病葉에 量的, 質的 差異는 별로 認定할 수 없는것 같으나 健全葉에서는 感受性 品種이라고 알려져 있는 多多租에서 抵抗性 品種이라고 알려져 있는 Zenith보다 多少 量的 增加를 보이고 있다.



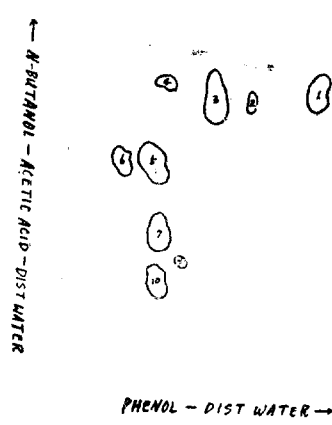
<Fig. 1> Paper chromatogram of free amino acids in healthy Tatacho leaves

<Fig. 2> Paper chromatogram of free amino acids in diseased Tatacho leaves.

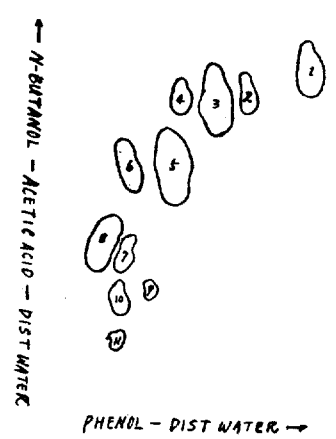
<Fig. 3> Paper chromatogram of free amino acids in healthy Shirogane leaves.



〈Fig. 4〉 Paper chromatogram of free amino acids in diseased Shirogane leaves



〈Fig. 5〉 Paper chromatogram of free amino acids in healthy Zenith leaves.



〈Fig. 6〉 Paper chromatogram of free amino acids in diseased Zenith leaves.

Kind of free amino acid	Variety		Shirogane		Zenith	
	Tatacho		Healthy L.	Blast affected L.	Healthy L.	Blast affected L.
① Leucine & Iso-Leucine	++	++	+	++	+	++
② Tryptophane	+	++	+	++	+	++
③ Valine	##	##	##	##	##	##
④ Arginine	±	+	±	±	±	+
⑤ Alanine	##	##	##	##	##	##
⑥ Glutamine	++	##	+	++	+	++
⑦ Serine	+	+	+	+	+	+
⑧ Cystine	-	++	-	##	-	++
⑨ Glycine	±	+	±	+	±	+
⑩ Glutamic acid	+	+	+	+	+	+
⑪ Aspartic acid	±	+	±	+	-	±
⑫ Unknown	-	-	-	+	-	-

Table[1] The comparing of the free amino acid content between the healthy leaves and blasted leaves of rice plant.

### 考 察

上記 結果는 健全葉과 稻熱病 罹病葉에 대한 paper chromatography 에 의한 free amino acid 의 半定量的 比較인 것이다.

比較的 感受性 品種에 있어서 環境의 變化에 따른 稻熱病 罹病度 變動이 植物體內的 可溶性 N. 特別히 glutamic acid, aspartic acid 및 이것의 amide 등의 含量變化와 密接하게 相關되고 있다는 것은 많은 研究者들에 의하여 밝혀졌는데 可溶性 N含量이 높은 種이 罹病度가 增大되는 原因은 大谷, 田中에 의하면 蓄積한 amino acid 가 侵入한 病原菌

의 好適한 營養源이 되어 그 發育을 促進하는 것으로 推論하였으며, 玉利는 稻에 多量의 amino acid 가 蓄積될 때에는 이것의 amide 化에 多量의 energy 가 消費되기 때문에 抵抗反應에 必要할 energy 가 制約되는 것이 罹病度를 높이는 것으로 推論하고 있다. amino acid 中에서 稻熱病과의 關係가 밝혀진 것은 aspartic acid, glutamic acid, asparagine, glutamine 및 serin 등으로 이것들 含量 增加와 罹病度의 增大와는 平行的 關係가 있다고 報告되었다.

本 實驗에서는 free amino acid 中에서도 특히 valine, alanine, glutamine 이 많이 나타났는데 Bollard 1956 에 의하면 이들은 全部流動性 amino acid

라는 것이며 N代謝가 活潑한 곳에서 많이 함유되어 있다고 하며 大谷, 1959는 稻熱病에 걸리기 쉬운 狀態의 稻葉에는  $\alpha$ -amino acid, amide 態, 鹽基性 amino acid 등의 有機態 N化合物의 含量이 많다고 하였다. 특히 glutamine 이 健全葉에 比하여 罹病葉에서 많이 檢出되었다. 그런데 많은 研究에서 報告된 바에 의하면 稻熱病 感受性的의 增加와 植物에 供給되는 N量 增加가 相關이 있다는 것인데, 이것은 또 苗葉에서의 glutamine의 增加와 一致된다는 것이다. 즉 橋岡 1963 등은 生育環境에 의한 稻熱病感受性素因과 體內 amino acid 와의 關係에서 N過多일 때에는 glutamine의 蓄積이 현저하고 感受性이 增加한다고 하였으며 大畑, 高坂 1962은 稻熱病抵抗性에 대한 amide의 影響에서 glutamine, aspartic acid 등을 吸收시킨 것에는 侵入菌絲의 伸展度가 增大한다고 하였다. 그리고 罹病葉에서만 cystine 이 檢出되었는데 cystine은 pectinase의 蛋白合成에 관련한다고 본다.

品種 간에 있어서 赤井, 獅山, 江川 1956 등은

水稻葉에서 檢出되는 free amino acid는 抵抗性 혹은 感受性 品種에 의하여서 量的으로 또한 質적으로 多少의 相違가 있다고 하였다. 稻熱病 感受性 品種에서는 amitic nitrogen과 amino nitrogen은 感受性品種의 葉에서 濃縮된다고 하였고, Abumiya 1954는 感受性 品種에 있어서 病勢가 進展할 때에는 그 前 amide가 出現, 이것이 消失할 때에는 病勢의 停止가 보이고 病助長의 操作으로 追肥, 遮光으로 因하여서도 현저한 amide의 急増이 보인다고 하였다. 高度의 抵抗性 品種에서도 glutamine은 日本型品種과 거의 마찬가지로 N供給의 增加로써 增大되는 것이다.

印度型品種 Zenith의 遺傳的 抵抗性은 N供給에 의한 罹病葉에서 amide 合成의 그들의 方式이 感受性 品種 多多租와는 別差異가 없는 것으로 推測된다.

따라서 體內 N代謝에 있어서 品種 간에도 특히 free amino acid의 量的 增減에 따른 影響은 稻熱病抵抗性과 密接한 關係가 있다고 認感된다.

## 摘 要

本 實驗은 稻健全葉과 稻熱病 罹病葉 그리고 抵抗性品種과 感受性品種間에 있어서 free amino acid의 量的 差異를 paper chromatography로 檢討한 것인데 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. Free amino acid는 健全葉에서는 9~10種, 罹病葉에서는 11種이 檢出되었으며 一般的으로 alanine, valine이 많이 나타난 데 比하여 aspartic acid, glycine 그리고 arginine이 적게 나타났다.
2. 健全葉과 罹病葉에 있어서는 罹病葉이 free amino acid의 量的 增加를 나타내고 있으며 특히 glutamine, aspartic acid는 健全葉에 比해 현저히 增加되었다. 그리고 cystine은 罹病葉에서만 檢出되었다.
3. 品種間에 있어서 free amino acid의 量的 差異를 보면 健全葉間에는 量的 差異가 있는 것 같으나 罹病葉間에는 없는 것 같다. 그러나 健全葉이나 罹病葉이나 다같이 感受性品種인 多多租가 抵抗性品種인 Zenith에 比해 glutamine, aspartic acid가 많이 나타났다.

## References

- 1) Abumiya H. 1953, 稻葉内の amino acid及amide의 消長と葉稻熱病との關係. 日植病報. 18: p. 75.
- 2) Akai s., Shishiyama, J. and Egawa, H. 1956, 植物病害研. Forsch. Geb. Pflanzen. (kyoto). 6: pp. 7~10.
- 3) 高坂淳爾, 孫士彌壽雄. 1953, 環境의 變化による 稻體內遊離アミノ酸含量と稻熱病發生との關係. 日植病報. 18: p. 90.
- 4) 橋岡良夫, 池上八部. 1961, イネの生育溫度およびN榮養による 이もち病感受性とイネ葉中のアミノ酸との關係. 日植病報. 26(2): p. 50.
- 5) Hasioka, Y. and Ikekami, H. 1963, Environmental susceptibility of rice seedlings to blast and glutamine in leaf-sap. Res. Bul. Fac. Agr. Gifu. Univ. pp. 36~46.
- 6) Moriwaki, S. and Tanaka, S. 1956, 稻熱病菌의 Glutamic acid의 metabolismについて. 日植病報. 20(4): p. 190.
- 7) 大谷吉雄. 1952, 水稻の稻熱病に對する罹病性と重要化學成分との關係(第報). 日植病報. 16: pp. 67~102.

- 8) Otani, Y. 1959, Studies on the relation between the principal components of rice plant and its susceptibility to the blast disease and on the physiological characters of the blast fungus. J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. 51 : pp. 1~179.
- 9) 大畑貫一, 高坂淳爾. 1962, イネのいもち病抵抗性におよばすアミノ酸およびアミドの影響. 日植病報. 27 : p. 73.
- 10) 玉利勤治郎. 1960, 稻熱病の生化学. 蛋.核.酵 5(12) : pp. 664~676.
- 11) 田中正三. 1951, 生化学からみた稻熱病. 農業技術. 6 : pp. 24~26.
- 12) Tanaka, S. and Katuki, H. 1952, 罹病性稻葉中の二鹽基アミノ酸について. 日.化.誌74 : pp. 85~88.