

稻熱病抵抗性 變異系統의 選拔을 爲한 人工接種法

權 臣 漢·吳 正 行·宋 禧 燮

韓國原子力研究所 應用遺傳學研究室

A simple screening technique for blast resistant mutants from the radiation irradiated rice populations.

Kwon, S.H. J. H, Oh and H. S. Song

Applied Genetics Lab., Korea Atomic Energy Research Institute

Abstract

An attempt was made to develop a simple testing method for blast resistance in the aged rice plant grown under the paddy field conditions. The blast resistance was tested with the detached 3rd leaves from the top of the plant, which were inoculated by dropping blast spore suspension mixed with 1% Tween 20 on the punched area and kept in 1% sucrose solution. The blast reaction was measured ten days after incubation at 26-28°C under highly humid conditions. With this method blast resistant lines were effectively identified and the cost of testing was cheap as compared with any other methods ever practiced.

緒 論

交雜後代集團 또는 放射線을 處理한 集團에서 耐病性變異團의 選拔을 正確하고 쉽게 할수 있는 技術의 確立은 耐病性 育種事業에 있어 基本課題中의 하나이다.

水稻에 있어서 稻熱病 抵抗性 變異個體의 選拔은 自然感染에 依存하는 upland short row method⁽⁶⁾에 依하여 幼苗期에서 效果의으로 行하여지고 있으나 充分한 種子量을 確保할 수 없는 交配初期世代의 檢定에는 不適當하며 특히 本畝에서 栽培増殖되고 있는 成熟水稻體의 稻熱病抵抗檢定을 爲해서는 아직適當한 方法이 確立되지 못하였다. 一般의으로 圃場에서의 抵抗性 檢定은 試驗區에 罹病性品種을 混植하여 自然感染을 期待하는 外에 “Punch pulp inoculation method”에 依한 人工接種法이 使用되기는 하나 그 方法의 非實効性 때문에 널리 應用되지는 못하고 있

는 實情이다.

Geis等⁽¹⁾은 밀에 對한 Rust race의 病原性 檢定을 爲하여 孢子懸濁液에 沈漬한 濾紙의 disc를 밀잎 위에 올려놓고 Cellophane tape로서 固着시키는 “Patch inoculation technique”를 利用 所定の 部位에 Rust의 病斑을 形成시킬 수가 있었으며 Jabbar Miah等⁽²⁾은 Rust의 孢子懸濁液을 吸收시킨 脫脂綿을 Sunflower의 잎에 올려놓으므로 人工接種에 成功하였다. 또한 三澤⁽³⁾은 接種시키고자 하는 벼잎에 Punch를 하여 傷處를 만든 다음 粉末濾紙와 孢子懸濁液을 混合한 pulp를 punch部位에 놓고 vinyl tape로서 固定시킨 2~3日 後에 病斑調査를 爲해 tape를 가위로 切開하고 1週日 後에 形成된 病斑의 크기를 測定하여 品種間에 發病差를 比較하였다. 그러나 이 方法은 複雜할뿐 아니라 아침이슬이 있을 때나 降雨時에는 使用할 수가 없으며 實質의으로 稻熱病의 人工接種에 있어 必要不可缺의 要因인 溫도와 濕度の 調節을 圃場

條件에서 한다는 것은 大端히 어려운 實情이다.

따라서 本 實驗에서는 本 畝에 栽培되고 있는 放射線突然變異系統들의 稻熱病抵抗성을 生育程度나 시기에 拘束받지 않고 圃場에서 잎을 切取하여 室內의 理想的인 條件下에서 檢定할 수 있는 方法의 究明을 試圖하였다

材料 및 方法

放射線照射된 豐光으로부터 Upland short row method에 依하여 選拔된 稻熱病 抵抗性系統들을 圃場에서 栽培增殖시키는 過程에서 成熟植物體의 잎을 切取하여 稻熱病菌을 人工接種시켜 그 抵抗性を 檢定하였다. 即 圃場에서 健全葉을 切取하여 잎의 主脈을 避한 양쪽의 葉身에 3~4cm간격으로 直徑 2.5mm의 Punch 로서 3個의 壓傷을 만들고 Sucrose 溶液에 담긴 다음 準備된 稻熱病의 孢子懸濁液을 壓傷部에 點滴하여 接種하였다. 이때의 孢子懸濁液은 倍率×150의 顯微鏡 한 視野에서 20~40個의 孢子密度를 갖게 하였으며 接種直前に 1% Tween 20을 混合하므로써 接種液의 附着度를 높였다. 이렇게 하여 接種된 잎은 恒溫恒濕室의 螢光照明下에서 26~28°C로 維持되게 하며(그림 1)Humidifier를 使用하여 接種된 벼잎에 水滴이 마르지 않도록 空中 濕度를 높여줌으로써 稻熱病菌의 侵入을 助長하고 切離된 잎의 黃變現象을 遲

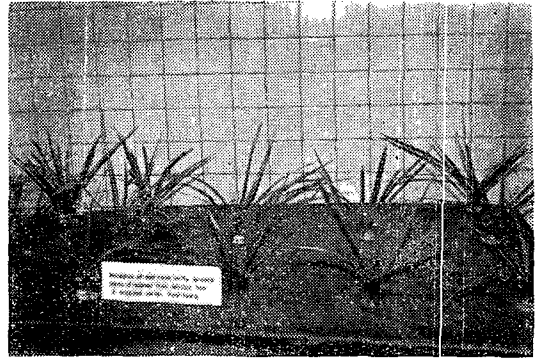


Fig. 1. Inoculation of blast races on the detached leaves of resistant lines selected from r-irradiated variety "Pung-kwang".

延시켰다. 그리고 接種 10日後에 形成된 病斑의 크기와 幅面積等을 測定하여 얻은 20個病斑의 平均値로서 系統間의 抵抗性 程度를 比較하였다.

結果 및 考察

圃場에서 栽培되고 있는 選拔系統들의 成熟植物體에서 水稻品種 統一과 豐光을 標準으로 하여 比較한 稻熱病抵抗성은 表 1과 같다. Upland short row method에 依하여 選拔된 稻熱病 抵抗性 系統들은 本方

Table. 1. Blast reactions of resistant lines selected from γ -irradiated variety "Pung-kwang" tested with the detached leaf inoculation technique.

Line Selected	P-343	P-769	P-1405	P-2000	Tong-il (cont.)	Pung-kwang (cont.)
Blast						
Race C-5	4.8*	5.0	5.3	4.2	5.6	5.8
Race T-1	4.7	3.7	4.7	4.3	10.6	5.5
Mixed rece**	4.8	5.5	5.2	5.3	3.4	6.0

* Blast reactions were indicated with average diameter (mm) of 20 blast lesions on the leaves.

** Denotes inoculum mixed with local races capable of infecting variety "Pung-kwang".

法에 依한 抵抗性 檢定에서도 母品種인 豐光에 比하여 抵抗性 反應을 보였으며 稻熱病 Race T-1에 對해서는 圃場條件에서 抵抗성을 나타내는 統一에서보다 높은 抵抗성을 보였다. 이와 같은 稻熱病 Race의 寄生體에 對한 特殊性 때문에 豐光의 罹病葉에서 分離한 菌株들은 統一에서는 發病이 어려운데 이러한 事實은 本 實驗에서도 同一하게 나타났다. 稻熱病菌의 Mutant race와 豐光에서 分離한 local race들을 葉鞘接種法⁽⁵⁾에 依하여 그들의 Host-pathogen interaction을 본 結果(表 2) Race C-5를 除外한 Mutant race의 菌絲는 統一의 細胞內에서도 잘 자랄수 있는 것으로 나타났으나 local rce들은 統一의 細胞內에서

거의 자라지 못했다. 이와같은 病原性의 差異는 切離葉片接種法에 依하여 統一의 잎에 形成된 病斑의 크기에서도 볼 수 있었는데(그림 2) 突然變異 race IE-67은 C-5에 比하여 顯著히 큰 病斑을 形成하였다.

이 實驗에서 個體間의 誤差를 줄이기 위하여 最少한 葉以上이 供試되었으며 切離된 잎의 生理的 差異에 따라 黃變現象이 빨리 일어나는 잎은 除外되었다. 이러한 黃變現象은 10 1% sucrose나 100ppm의 Benzimidazole 水溶液을 供給하므로써 切離된 잎의 代謝活動을 維持시키거나⁽⁴⁾ 充分한 空中濕度의 供給으로써 어느 程度의 遲延이 可能하였다. 一般的으로 接種된

Table. 2. Blast reaction of varieties "Tong-il" and "Pung-kwang" to races of *P. oryzae* tested by the sheath inoculation method.

variety	races					
	N-1	Local races			Mutant races	
		N-3	C-3	C-5	T-1	IE-67
Tong-il	0.1*	0.1	0.1	0.7	1.2	1.4
Pung-kwang	1.2	1.0	1.3	1.1	1.1	0.8

* Each grade was made with 50 appressoria observed.



Fig. 2. Blast lesions on the variety "Tong-il" infected with the mutant races IE-67 (upper) and C-5 (lower) by the detached leaf inoculation method.

稻熱病菌은 12~14時間後에 Appressorium을 形成하고 18~22時間이 지나면 侵入菌絲를 形成하여 約40時間 後에는 葉細胞內에서 자라는 稻熱病的 菌絲를 볼수가 있으므로 接種後 48~72時間 동안은 과도한 濕氣의 供給으로 因하여 壓傷部에 接種된 孢子懸濁液이 씻겨내리지 않도록 注意가 必要하며 接種後 4日이 되면 punch 壓傷部位에 連하여 線狀의 褐變部가 생기고 6日後에는 褐變部 外側에 灰綠色 中毒部가 形成되어 10日後에는 緩慢한 病斑을 볼 수 있다. 따라서 切離葉片接種法(Detached leaf inoculation technique)은 圃場에서 栽培되고 있는 成熟水稻體에서 稻熱病抵抗性檢定을 할 수 있는 簡便한 하나의 選拔方法이 될 수 있을 것으로 生覺된다.

摘 要

本畝에서 栽培되고 있는 放射線突然變異系統들의

稻熱病 抵抗性 檢定을 위하여 切離葉片接種法이 試圖되었다. 即 圃場에서 切取한 잎을 恒溫恒濕室內에서 punch壓傷을 만들고 그 위에 稻熱病菌의 孢子懸濁液을 接種한 後 形成된 病斑의 크기를 測定하여 系統間의 抵抗性程度를 比較한 結果 放射線照射된 豐光으로부터 Upland short row method에 依하여 選拔된 抵抗性系統들은 母品種 豐光에 比하여 抵抗性으로 나타났다.

따라서 이 方法은 圃場에서 栽培되는 成熟植物體의 稻熱病抵抗性 檢定을 위한 하나의 選拔方法으로서 效果的이라 生覺되었다.

Literature Cited

1. Geis, J.R., M.C. Futrell and W.N. Garrett, 1958. A method for inoculating single wheat leaves with more than one race of *Puccinia Graminis* f. sp. *tritici*. *Phytopath.* 48: 387-388.
2. Jabbar Miah, M.A. and W.E. Sackston, 1967. Simple method for inoculating individual leaves of sunflowers and wheat with several races of rust. *Phytopath.* 57:1396-1397.
3. 三澤正生, 1959. ひともち病接種法についての考察. *日植物防疫* 13:15-16
4. Samborski, D.J., F.R. Forsyth and C. Person, 1958. Metabolic changes in detached wheat leaves floated on benzimidazole and the effect of these changes on rust reaction. *Canad. J. Bot.* 36:591-599.
5. Takahashi, Y. 1958. A method for forecasting blast disease using the leaf sheath inoculation technique. *Plant Protect. Jap.* 12:339-345.
6. The International Rice Research Inst., 1963. *The Rice Blast Disease*, The Johns Hopkins Press, Baltimore Maryland.
7. 横尾正雄, 藤卷宏, 1973. ひともち病抵抗性のための多菌系 接種法. *日育雜* 23:109-111