

벼 담수직파재배에서 벼모썩음병에 관련된 *Pythium* 속 균의 병원성

문병주* · R. W. Schneider¹

동아대학교 생명자원과학대학 농생물학과

¹미국 루이지아나 주립대학교 식물병리 및 작물생리학과

Pathogenicity of *Pythium* Species Associated with Seed and Seedling Rot in Water-Seeded Rice

Byung Ju Moon* and R. W. Schneider¹

Department of Agricultural Biology, College of Natural Resources and Life Science,
Dong-A University, Pusan 604-714, Korea

¹Department of Plant Pathology & Crop Physiology, Louisiana State University,
Baton Rouge, LA 70803, USA

ABSTRACT : Corn meal agar (CMA) assay and growth chamber assay were conducted to test the pathogenicity of 16 isolates, 5 species of *Pythium* causing seed and seedling rot in water-seeded rice. According to the results, *Pythium arrhenomanes* isolate 1398 showed the strongest pathogenicity among the isolates, and *P. irregulare* and *P. spinosum* also were strongly pathogenic, while the pathogenicities of *P. dissotocum* and *P. catenulatum* were weak, or had even no pathogenicity depending on the isolates. In CMA assay, the pathogenicity of *P. arrhenomanes* appeared significantly stronger when the seeds were incubated with the pathogen at 30°C day / 20°C night than when incubated at the constant temperature of 20°C or 30°C day and night. For the growth chamber assay, rice seed-inoculum was more effective than mycelial disk inoculum.

Key words : seed and seedling rot in water-seeded rice, *Pythium arrhenomanes*, *P. irregulare*, *P. spinosum*, rice seed-inoculum.

벼 담수직파재배는 건담직파에 비하여 잡초 및 해충의 방제와 시용한 질소질 비료의 유지 및 토양 침식의 방지 등 많은 장점 때문에 담수직파재배를 선호하고 있으나(1), 벼모썩음병 발생이 조기 담수직파재배를 위축시키는 가장 큰 요인이 되고 있다(1, 2, 7, 8, 12, 13, 14, 17~21).

벼모썩음병은 미국 Louisiana 및 기타 남부 미작 지대(2, 8, 12, 14)와 세계 각처의 벼 재배 지역(3, 4, 5, 11, 16)의 담수직파하는 벼에 계속 발생되어 심한 문제를 야기시키는 병으로서 벼씨가 발아할 때 흐린 날씨가 며칠 동안 계속되고 기온이 낮아지면 대량 발생하는 것으로 보고되고 있다(2~5, 8, 11, 12, 14, 16). 이 병은 주로 *Pythium*과 *Achlya*의 몇몇 species에 의해 일어나는 복합병으로서(7, 10, 13, 14, 15, 17~20) *Pyth-*

*ium*에 의한 벼모썩음병은 많은 점이 있어서 타작물의 모잘록병과 유사하나 벼에 독특한 몇 개의 특성이 있다. 벼씨는 담수 상태의 토양 표면에서 썩을 뿐만 아니라, 감염되어 뿌리 발달이 빈약한 모는 뜰모가 되며, 일정한 양질의 입모 확보가 어렵게 된다. 이 병에 의한 피해를 최소화하기 위하여 한번 또는 그 이상 재파종 해야 한다(1, 9, 12, 14).

벼모썩음병은 복합병이지만 *Pythium*의 어느 species가 관련되어 있고 또 어느 species가 병원성에 중요한 역할을 하는 것인가에 대해서는 연구자간에 일치되지 않고 있으나 Ito(5)는 *P. aphanidermatum*과 *P. helicum*이 병원성이 강하다고 하였으며, Rush와 Schneider(14)는 담수직파재배하여 썩은 벼씨로부터 분리한 species 중 *P. dissotocum*이 가장 강한 병원성을 보였으며 *P. spinosum*도 병원성이 강하다고 하였다. 그러나 벼모썩음병에 관여하고 있는 *Pythium* 집중원의 형태와 방법

*Corresponding author.

등에 관한 연구는 미진한 실정에 있다.

본 연구에서는 *Pythium* 속에 의한 모썩음병의 병원성 검정법을 확립하여 병원성이 강한 *Pythium* spp.와 균주를 선발하고, 이들 접종원의 형태와 양을 규명하여 모썩음병 방제의 기초 자료로서 활용하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시 병원균. 미국 Louisiana Crowley의 담수작과한 포장에서 모썩음병에 감염되어 썩은 종자에서 순수 분리 배양하여 보관중인 *Pythium* 5종, 16균주를 병원성 검정에 사용하였다.

병원성 검정-배지 검정법(Agar plate assay). 배지에서 병원성 검정은 *Pythium* 16 균주의 균사절편을 각각 cholesterol 10 ppm 함유된 corn meal agar (CMA) 또는 potato dextrose agar(PDA) 배지 중앙에 놓고 4일간 28°C에서 배양한 다음 살균수 3 ml를 붓고 고루 폈다. 여기에 볏씨를 Petri dish당 20립씩 파종하여 낮(광처리)에는 30°C, 밤(암흑 처리)에는 20°C에서 배양하였으며 파종 1주일 후에 발병율을 조사하였다. 이때 30°C와 20°C의 변온 처리는 예비 실험에서 발병율이 가장 높았기 때문이었다.

병원성 검정-Growth chamber 검정법(Growth chamber assay). Growth chamber에서의 병원성 검정 및 *Pythium* 접종원 선발 실험에서는 배지 검정에서 병원성이 강한 *P. arrhenomanes* 1398, *P. spinosum* 877 및 *P. irregulare* 1371 등 3균주를 공시하였다(Table 1 참조). 접종원에 관한 실험에서 벼알접종원(rice seed-inoculum)의 조제는 볏씨 100 g과 물 20 ml를 삼각 flask에 넣고 2회 고압살균한 후 공시 *Pythium*의 균사절편을 flask당 5개씩 접종하고 28°C에서 10일간 배양한 것을 접종원으로 사용하였다. 균사절편 접종원(mycelial disk-inoculum)은 cholesterol이 10 ppm 함유된 CMA배지에 *Pythium* 균총을 이식하고 28°C에서 6일간 배양한 다음 직경 5 mm의 균사절편을 절취하여 접종원으로 사용하였다. 이외도 vermiculite-V₈ juice inoculum, vermiculite-inoculum, oat bran inoculum, minced agar culture-inoculum 등 여러 종류의 접종원에 관하여 실험하였으나 일정한 수준의 발병율을 유지하지 않았기 때문에 *Pythium* 접종원으로서 효과가 없다고 생각되어 이 시험에서는 생략하였다.

접종 방법은 균사절편은 5개, 벼알접종원은 4.0 g을 각각 멸균 토양 200 ml와 탈이온수 300 ml가 들어 있는 1 L plastic hamburger bowl에 접종하였다. 여기에

볍씨를 용기당 50립씩 파종하여 낮에는 30°C, 밤에는 20°C growth chamber에 보관하면서 2주 후에 모출아율을 조사하였다.

Pythium 접종원의 농도와 병원성과의 관계에서는 공시한 *Pythium* 3 균주의 벼알접종원을 용기당 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 g씩 농도별로 첨가한 것 외에는 앞서의 growth chamber 검정의 접종원 실험과 동일한 방법으로 하였다.

이상의 병원성 검정에서 사용된 볏씨는 미국 남부의 미작 지대에서 가장 많이 재배하고 있는 Lemont 품종을 사용하였으며 50% household bleach(pH 7.0)에 2시간 침지한 다음 증류수로 3번 씻고 3번째 씻은 물에 24 시간 침지한 다음 4번째 다시 씻고 부어내어 막 싹트기 시작한 볏씨를 사용하였다.

결 과

Pythium 5종, 16 균주를 공시하여 CMA 배지에서 벼모썩음병에 대한 병원성을 검정한 결과 (Table 1) 볏씨와 묘에 100% 썩음병을 일으킨 균주는 *P. arrhenomanes* 1398 isolate이었으며, *P. irregulare* 1403,

Table 1. Pathogenicity of *Pythium* isolates for seed and seedling rot of rice on corn meal agar medium

Species	Isolate	% Seed and seedling rot ^a
<i>P. catenulatum</i>	873	10.0
	889	0.0
	877	53.0
<i>P. spinosum</i>	1396	56.8
	1361	0.1
	1364	0.0
<i>P. dissotocum</i>	1369	0.0
	1370	5.0
	1374	0.0
	1375	10.0
	1371	53.3
<i>P. irregulare</i>	1380	20.9
	1391	56.1
	1402	81.8
	1403	83.0
	1398	100.0
<i>P. arrhenomanes</i>	1398	100.0
Control ^b		0.0

^a Percentages of seed and seedling rot were determined 7 days after seed planting. Each value represents the mean of 15 replicates/20 seeds/replicate (five replicates by three experiments).

^b Without any *Pythium* isolate treatment.

1402, 1371 및 1391 isolate도 53.3~83.0%의 모썩음병을 일으켰으며, *P. spinosum* 877과 1396 isolate는 53.0~56.8% 발병되었으나 *P. dissotocum*과 *P. catenulatum*의 isolates는 병원성이 약하거나 없었다. PDA를 사용하여 병원성을 검정하였으나 *Pythium* 균주를 접종하지 않은 무처리에서도 50% 이상의 모썩음병을 일으켜서 PDA는 벼모썩음병에 대한 검정용 배지로는 적당치 않았다.

Table 2. Effects of incubating temperature on the incidence of seed and seedling rot caused by *Pythium arrhenomanes* 1398 (Pa 1398) on corn meal agar medium

Incubating temp. (°C)	% Seed and seedling rot ^a	
	Day~Night	Pa 1398 treated Control
20~20		43 0
30~20		100 0
30~30		70 0

^a Percentages of seed and seedling rot were determined 7 days after seed planting. Each value represents the mean of 15 replicates/20 seeds/replicate (five replicates by three experiments).

예비 실험에서 변온 처리가 모썩음병의 발병율에 큰 영향을 미쳤는데 이것을 확인하기 위하여 CMA 배지 검정에서 병원성이 가장 강한 *P. arrhenomanes* 1398 균주를 공시하여 온도에 따른 발병율을 CMA 배지 검정법으로 검토한 결과, 주간(광처리)과 야간(암흑 처리)의 온도를 20°C 또는 30°C로 항온으로 처리한 것보다는 주간 30°C, 야간 20°C의 변온 처리한 것이 발병율이 높아서 100% 발병되었다(Table 2).

CMA배지 검정에서 병원성이 강한 것으로 확인된 것 중에서 *P. arrhenomanes* 1398 균주 등 3종을 공시하고 2종류의 접종원을 이용하여 growth chamber 검정법에 의하여 병원성을 검정한 결과, 벼알접종원을 이용할 경우에는 *Pythium*을 접종하지 않은 무처리에서 66.0 모출아율을 보인데 반하여 *Pythium* 3균주를 접종 하였을 때 모두 8.0~18.7%의 모출아율을 보여 병원성이 강하였다(Fig. 1). 그러나 군사절편 접종원에서는 3종 모두 무처리와 유사한 높은 출아율을 보임으로써 *Pythium*의 접종원으로서 적당치 않았다. *Pythium*의 효과적인 접종원으로 확인된 벼알접종원의 접종 농도와 병원성과의 관계를 검토하기 위하여 접종 농도를 달리하여 growth chamber 검정법에 의하여 모

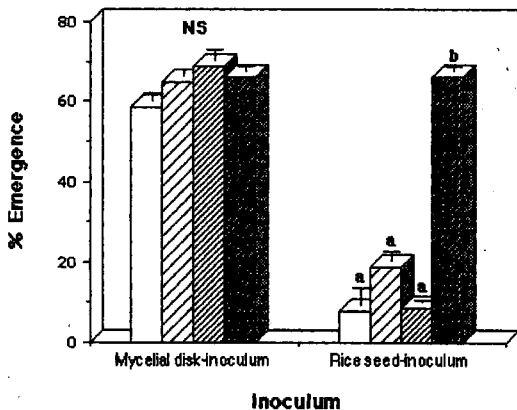


Fig. 1. Pathogenicity of *Pythium* isolates for seed and seedling rot in water-seeded rice which was treated with *Pythium* mycelial disk-inoculum or rice seed-inoculum in a growth chamber. Each *Pythium* isolate treated was represented 1398 (□) as *P. arrhenomanes*, 877 (▨) as *P. spinosum*, 1371 (▩) as *P. irregulare*, and control (▧) as no treatments with *Pythium* isolate. Significant differences were tested by the Duncan's multiple range test. Each value represents the mean and the standard error of 15 replicates/50 seeds/replicate (five replicates by three experiments). Within each group, means with the same letter do not differ significantly, and NS is not significantly different ($p < 0.05$).

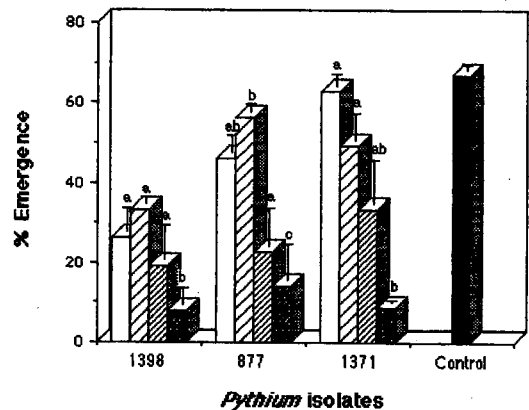


Fig. 2. Pathogenicity of *Pythium* isolates for seed and seedling rot in water seeded-rice which was treated with various concentrations (0.5 g (□), 1.0 g (▨), 2.0 g (▩), and 4.0 g (▧) per container) of rice seed-inoculum in a growth chamber. Each *Pythium* isolate treated was represented 1398 as *P. arrhenomanes*, 877 as *P. spinosum*, 1371 as *P. irregulare*, and control as no treatments with *Pythium* isolate. Significant differences were tested by the Duncan's multiple range test. Each value represents the mean and the standard error of 15 replicates/50 seeds/replicate (five replicates by three experiments). Within each group, means with the same letter do not differ significantly ($p < 0.05$).

출아율을 조사한 결과, *Pythium* 3종 모두 접종원 농도가 증가할수록 이에 대응하여 발병도 대체로 증가되어 모출아율이 낮아지는 경향이었다(Fig. 2). *P. arrhenomanes* 1398 균주는 용기당 0.5~1.0 g의 비교적 낮은 접종 농도에서도 다른 *Pythium* 2종에 비하여 낮은 모출아율을 보임으로서 CMA 배지 검정법에서와 마찬가지로 growth chamber 검정법에서도 역시 가장 강한 병원성을 보였다.

고 찰

담수직파한 벼모색음병에 관련하고 있는 *Pythium* 속 균으로서 *P. dissotocum*, *P. spinosum* 등이 보고되었다(5, 7, 13, 14, 21). 본 연구에서는 공시한 *Pythium* 5종 중 *P. arrhenomanes*가 가장 강한 병원성을 보였으며, 다음은 균주간에 차이가 있으나 *P. irregulare*와 *P. spinosum*이었는데 *P. arrhenomanes*와 *P. irregulare*는 담수직파 벼의 병원성과 관련하여 처음으로 보고되는 것이며, 다만 *P. irregulare*는 기계 이앙모에서 출아 전 후에 벼모마름병을 일으키는 병원균 중 하나로 이미 보고된바 있다(6). *P. dissotocum*의 병원성에 관해서는 타 연구자들과 상반된 결과를 보였는데 추후 많은 균주를 이용하여 병원성이 해명되어야 할 것으로 생각되었다.

주·야간의 온도가 20°C나 30°C의 항온보다는 주간 30°C, 야간 20°C의 변온에서 *P. arrhenomanes*에 의한 모색음병의 발병율이 높았는데 미국 Louisiana주에서 조기 담수직파하면 이 병의 발생이 격심하고 주로 파종 시기는 3월말 내지 4월초인데 이때의 주, 야간의 온도는 30°C와 20°C 부근으로서 본 결과와 일치되며 이 병은 저온에서 대량 발생된다는 보고로 보아(9, 13, 14, 15, 18, 19, 20) 야간의 저온이 *Pythium*의 병원성에 중요한 영향을 미치는 것으로 생각된다. 이것은 Webster 등(18)에 의해서 *Pythium*은 30°C에서 균사 생육이 가장 왕성하나 병원성은 오히려 25°C와 20°C에서보다 약하다는 보고로 보아 주간의 30°C에서는 *Pythium*의 생육이 촉진되고 야간의 저온에서는 범씨의 발아와 모의 생육이 지연됨으로써 발병율이 높은 것이 아닌가 추측된다.

벼모색음병에 관여하고 있는 *Pythium* 접종원의 형태와 방법에 관해서는 유주자를 이용하는 방법 외에는 상세한 연구가 없었는데(18) 본 연구에서 병원성의 growth chamber 검정법 벼알접종원을 이용하는 것이 접종원의 조제가 편리할 뿐만 아니라 적은 양의 접종원으로도 충분히 일정한 병원성을 나타내기 때문에

유망한 접종원이라 생각되며 온실 검정에서도 이용될 수 있다. 또한 CMA 배지 검정법과 벼알접종원을 이용한 growth chamber 검정법의 결과와 일치하기 때문에 실험 장소, 시간 및 노력의 절감을 고려할 때 *Pythium*에 의한 담수직파한 벼모색음병에 대한 병원성의 검정에는 CMA 배지 검정법이 효과적일 것으로 생각되며 또한 생물학적 방제의 길항균의 선발법으로도 이용될 수 있을 것으로 예상된다.

요 약

Pythium 5종, 16 균주를 공시하여 담수직파한 벼에 대한 병원성을 CMA 배지와 growth chamber 검정법에 의하여 검정한 결과 *P. arrhenomanes* 1398 균주가 가장 강한 병원성을 보였으며, 다음은 균주에 따라 차이가 있었으나 *P. irregulare*와 *P. spinosum*도 병원성이 강하였으며, *P. dissotocum*과 *P. catenulatum*의 균주는 병원성이 약하거나 없었다. CMA 배지 검정법 *P. arrhenomanes* 1398 균주의 병원성은 주·야간 20°C 또는 30°C의 항온처리보다 주간 30°C, 야간 20°C의 변온 처리에서 높았다. Growth chamber 검정법으로 병원성을 검정할 때에는 벼알접종원을 이용하는 것이 효과적이었다.

감사의 말씀

이 논문은 1991년도 연암문화재단에서 지원하는 해외 연구 대상 교수로 선정되어 1992년 7월 10일부터 1년간 미국 Louisiana 대학에서 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Bagent, J. L. et al. 1987. Rice Production Handbook. LSU Agricultural Center Pub. No. 2321. 63pp.
2. Groth, D. E., Rush, M. C. and Hollier, C. A. 1991. Rice diseases and disorders in Louisiana. Louisiana Agric. Exp. Stn. Bull. No. 828. 37pp.
3. Hemmi, T. and Abe, T. 1928. An outline of the investigations on the seed and seedling-rot of rice caused by a water mould, *Achlya proliferata* Nees. Japanese J. Bot. 4 : 13-124.
4. Ito, S. and Nagai, M. 1931. On the rot disease of the seeds and seedlings of rice-plant caused by some aquatic fungi. Jour. Facul. Agr. Hokkaido Imp. Univ. 32 : 45-67.
5. Ito, T. 1943. A comparative study on the patho-

- genicity of some species of saprolegniaceae and *Pythium* on rice seedlings (Abstr.). *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 12 : 24.
6. Kato, S., Nakanish, T., Takahi, Y. and Nakagami, K. 1985. Studies on *Pythium* damping-off of rice seedling (1) *Pythium* species associated with damping-off in the early growth stage of rice seedlings in nursery flats. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 51 : 159-167.
 7. Krishna, P. G. and Rush, M. C. 1983. The role of *Pythium spinosum* in the fungal complex causing the water-mold disease of water-seeded rice. *Phytopathology* 73 : 502-503.
 8. Lamey, H. A. 1965. A technique for laboratory evaluation of seed treatments to control rice seed rot. *Plant Disease Reporter* 49: 736-738.
 9. Ou, S. H. 1985. *Rice Disease*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey. 380pp.
 10. Pillay, M., Schneider, R. W. and Rush, M. C. 1986. Association of *Pythium* species with seedling diseases and feeder root decline in rice (Abstr.). *Phytopathology* 76 : 1094.
 11. 류재당. 1996. 벼 답수직파재배에서 모썩음병 방제. *농약 정보* 3-4 : 24-27.
 12. Rush, M. C., Marchetti, M. A. and Adair, C. R. 1972. Stand establishment in early seeded rice in the South. *The Rice Journal* 75 : 32-34.
 13. Rush, M. C. 1985. Controlling seed-rot and seedling diseases in rice (Abstr.). *Phytopathology* 75 : 1329.
 14. Rush, M. C. and Schneider, R. W. 1990. Chemical control of seedling diseases of rice in Louisiana. In : *Pest Management in Rice*, ed by. B. T. Grayson, M. B. Green and L. G. Copping, pp. 53-70. Elsevier Applied Science, New York.
 15. Schneider, R. W., Moon, B. J. and Giles, C. G. 1994. A screening procedure for biological control of seedling disease of water-seeded rice (Abstr.). *Phytopathology* 84 : 1092.
 16. Shajahan, A. K. M., Hossain, M. A. and Rahman, Mr. 1978. Occurrence of water mold disease of rice seed and seedling in Bangladesh. *IRRN* 3 : 9.
 17. Webster, R. K. and Hall, D. H. 1969. Seed rot and seedling disease of rice in California (Abstr.) *Phytopathology* 59 : 16.
 18. Webster, R. K., Hall, D. H., Heeres, J., Wick, C. M. and Brandon, D. M. 1970. *Achlya klebsiana* and *Pythium* species as primary causes of seed rot and seedling disease of rice in California. *Phytopathology* 60 : 964-968.
 19. Webster, R. K., Hall, D. H., Wick, C. M. and Brandon, D. M. 1970. Seedling disease and its control in California rice fields. *The Rice Journal* 73 : 14-17.
 20. Webster, R. K., Hall, D. H., Bostad, J., Wick, C. M., Brandon, D. M., Baskett, R. and Williams, J. M. 1973. Chemical seed treatment for the control of seedling disease of water-sown rice. *Hilgardia* 41 : 689-698.
 21. Webster, R. K. and Gunnell, P. S. 1992. *Compendium of Rice Disease*. APS Press, St. Paul, Mi. 62pp.