

세균성 점무늬병에 감염된 콩의 광합성 관련 특성 변화

류경열* · 허 훈
충북대학교 농과대학 농생물학과

Changes of Characteristics Related to Photosynthesis in Soybean Leaves Infected with *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*

Kyung Yul Ryu* and Hoon Heu
Department of Agricultural Biology, College of Agriculture,
Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Korea

ABSTRACT : Photosynthetic characteristics of soybean leaves infected with *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* were investigated for 8 days. The difference in photosynthesis rate between healthy and diseased soybean leaves decreased for 2 to 4 days after inoculation and then increased. In respiration rate, healthy and diseased leaves showed the same tendency as photosynthetic rate. The stomatal resistance increased following *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* infection. The total chlorophyll content of the infected leaf was less than that of the uninfected. *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* infection induced the malformation of stacked grana in chloroplast. Dry matter production declined after infection.

Key words : photosynthetic characteristics, respiration, stomatal resistance, *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*, chlorophyll content.

세균성 점무늬병은 콩의 병중 피해가 심한 것중의 하나로서 주로 잎에 발생하지만 엽병 줄기 꼬투리 등 지상부의 전부분에서 발병하고 특히 유포기에 많이 발생하는 것으로 알려져 있다. 이 병은 *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*에 의하여 발병되는데 잎에서 처음에 황색의 작은 모무늬가 생기고 차차 암갈색으로 되었다가 병무늬를 둘러싸고 누런색의 무늬가 생긴다. 잎의 병무늬는 서로 합쳐져서 커지고 전체가 황변하여 낙엽이 되기도 한다.

병원균에 침입을 받으면 식물체는 직접 또는 간접으로 생리적인 영향을 받는데 병든 식물은 엽록체나 엽록소의 함량이 병원체에 의하여 줄어들어 황화현상을 유발하게 된다(6). 세균병에 감염된 식물의 물관부는 세균이나 고분자 물질에 의해서 막히는데 이때 식물체 안에는 수분 함량이 줄어들어 시들음이 유발되므로 기공을 통한 가스의 교환이 억제되어 광합성에 영향을 미치게 된다(1,9). 어떤 병원성 세균이 과민성 반응을 보이는 저항성 식물에

유입되면 몇 시간안에 잎은 팽압의 손실을 가져오고 괴사되거나 조직의 붕괴가 이루어진다. 그러나 비병원성 세균이나 살균수 등의 침투는 식물의 생육이나 외형에 있어서 영향이 거의 없게 된다. 과민성 반응에 관한 생리학적 연구에서 세포막이 파괴된 과민성 조직은 전해질의 급속한 손실로 유발된다고 설명하였다(2,3,4). 그러나 엽육조직의 미세구조에 관한 연구에서는 병원균이 잎에 침투한 몇 시간 이내에 조직의 변화를 유도하며 엽록체의 세포막과 다른 세포기관이 파괴된다고 보고하였다(10).

따라서 식물체에 생물적 요인이나 비생물적 요인에 의한 손상이 이루어지면 다양한 생리학적, 해부학적인 변화가 손상이 이루어진 세포에서부터 일어난다(5). 병원균이 기주에 침입했을 때 일반적으로 기주의 물질대사를 촉진하는 것으로 알려져 있고 또 식물체는 어느 정도까지 병원균의 감염으로부터 큐틴, 슈베린과 리그닌 등과 같은 물질로 보호되지만 환경에 노출된 세포는 건조되어 투과성이 영향을 받아 병이 진전하게 된다(8).

본 연구는 콩잎에서 *Pseudomonas syringae* pv. *gly-*

*Corresponding author.

*cinea*의 감염으로 인하여 광합성과 관련한 생리학적 인 변화의 특성을 조사하여 저항성 품종의 육종에 기초자료를 얻고자 실시하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용한 콩 품종은 팔달, 황금, 장경, 만리 등 4품종으로 충청북도 농촌진흥원에서 분양받아 균일하게 혼합된 사양토를 1/5000 a 풋트에 콩 복비 ($N-P_2O_5-K_2O=8-14-12$)를 풋트당 1.0g씩 시비한 후 10립씩 파종하여 제1엽기에 생육이 균일한 3주 1본씩만 남겨서 재배하였다. 영양생장기에 있는 콩은 온도 25°C(주간 29°C, 야간 21°C), 습도 60±20%, 광도 30,000 lux 그리고 일장(주간 14시간)이 조절되는 환경조절장치에서 재배하면서 실험에 사용하였다.

저장중인 콩에서 *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*를 분리하여 M-71 선택배지에서 계대배양하며 실험에 사용하였다. 병원균은 NA broth에서 10^{7-8} cells/ml의 수준으로 배양하여 파종 후 30일 경과한 묘에 온도 29°C, 습도 80%를 유지하며 콩의 지상부에 골고루 분무 접종하고 2일 간격으로 8일 동안 광합성, 호흡, 기공저항, 엽면적, 엽록소 함량 및 건물중 생산량을 조사하였다.

광합성 측정은 생육이 비슷한 개체를 선별하여 풋트 전체를 측정하는 방법으로 수행하였고 광합성 측정에 이용한 환경조절장치의 조절환경은 온도 $30 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $70 \pm 20\%$, 그리고 광원은 형광램프, metal램프, 백열램프를 조합하여 50,000 lux로 조절하였다. 광합성 측정에 사용한 chamber는 직경이 30 cm, 높이 50 cm인 원통형의 아크릴로 입구와 출구의 CO_2 농도 차를 구하는 개방형 chamber를 사용하였고, 출구를 통해서 나오는 sample 공기의 CO_2 농도 변화는 Plant Assimilation Analyzer(Horiba Model ASSA-1100)로 측정하였다. 이때 풋트의 토양에서 발생하는 이산화탄소를 차단하기 위해서 풋트를 완전히 물로 채우고 광합성을 측정하였고 단위면적당 평균 광합성은 주당 광합성 능력을 총엽면적으로 나누어서 계산하였다. 호흡은 광합성을 측정하고 난 후 암조건으로 만들고 동화상으로부터 나오는 CO_2 발생량을 측정하였고 단위면적당 평균 호흡량으로 계산하였다. 엽록소의 함량은 상위 2째 마디에 있는 완전히 전개한 잎중 엽맥을 제거하고 중앙부위를 2~3 mm로 세절하여 잘 섞은 다음 80% ethanol 20 ml에 생중 100 mg을 혼합하여 80°C 항온수조에서 가온추출하였고 분광광도계로 665 nm, 645 nm의 흡광도를 측정하여 총엽록소 함량으로 표시하였다. 기공저항은

AP4 Porometer(DELTA-T DEVICES Ltd.)로 상위 2째 마디의 엽중 완전히 전개한 잎에서 엽맥을 피하여 측정하였고, calibration plate로 작성한 검량선으로 저항치를 환산 하였다. 콩의 엽면적을 엽면적 측정기(Hayashi Denko제)로 측정하였고, 수집된 잎은 80°C 항온기에서 8시간 건조하여 건물중의 생산을 비교하였다. 엽록체의 검경은 시료를 2.5% glutaraldehyde와 1% OsO_4 에서 고정된 후 alcohol series로 탈수하고 Spurr's resin으로 포매하여 초박편 절단기로 절단하고 전자현미경 Zeiss EM 109로 검경하였다.

결과 및 고찰

광합성의 변화. 세균성 점무늬병균에 감염된 콩 잎의 광합성 변화는 Fig. 1에서와 같다. 병원균을 접종하고 2일이 경과 하였을 때 일시적으로 광합성량이 건전한 콩에 비하여 병원균에 감염된 콩에서 감소되었고 2~4일 사이에는 공시 콩 모두 급속한 증가를 보였으며, 6일 이후에는 황금콩을 제외하고 현저하게 감소 하였다. 그러나 장경콩은 병원균을 접종한 2일 후 증가하였으나 그후는 다른 품종과 같은 경향을 보였다. 병원균이 감염된 콩에서 광합성량이 일시적으로 증가하는 현상은 병원균에 감염된 식물의 물질 요구량이 급격히 증가한 것으로 생각된다. 병원균에 감염된 콩은 병원균에 대응하여 생리적으로 정상 기능을 유지하려면 단위시간당 물질생산이 증가하여야 하며 생산된 물질은 생리 기능에 그리고 나머지 일부는 침입 병원균과의 상호관계에서 발생하는 소모 에너지를 충당해야 하므로 일시적인 증가를 하

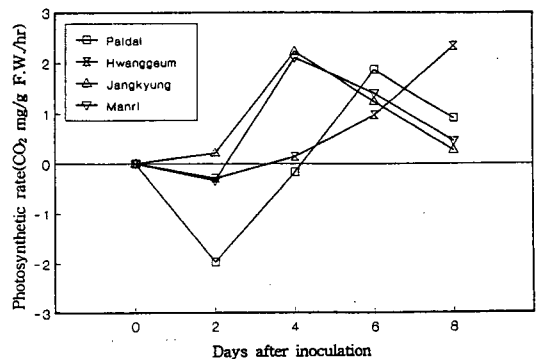


Fig. 1. Changes in the rate of photosynthetic CO_2 assimilation in soybean leaves infected with *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* at different time intervals after inoculation as expressed as the difference in the photosynthetic CO_2 assimilation between healthy and diseased leaves.

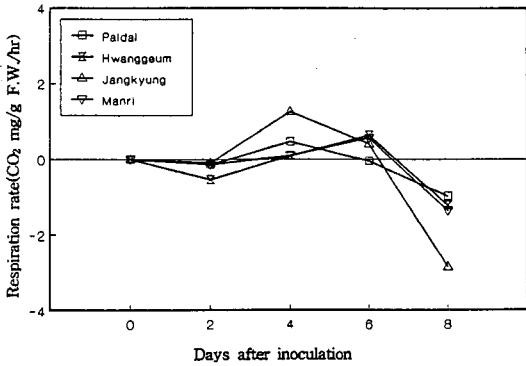


Fig. 2. Changes in the respiration rates in soybean leaves infected with *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* at different time intervals after inoculation, as expressed as the difference in the respiration rates between healthy and diseased soybean.

였을 것으로 생각되며 병이 진전되면 식물체내에서 팽압의 소실이 빠르게 일어나고 결국에는 괴사가 일어나 광합성 과정이 원활하지 못하여 건전한 콩보다 감소되는 것으로 생각된다(6).

호흡의 변화. 세균성 점무늬병균에 감염된 콩의 호흡은 Fig. 2에서와 같이 병원균을 접종한 2일 후까지는 건전한 콩보다 호흡이 떨어지고 2~6일 사이에 증가하였다가 6일 이후에는 급격히 감소하여 건전한 콩의 호흡량과는 커다란 차이를 보였다. 건전한 식물은 광합성을 통해 고정된 이산화탄소로 유기 탄소화합물을 생합성하고 이를 이용하여 체내의 에너지 대사 및 물질생산에 이용하게 되는데 병원균에 감염이 엽록체 Hill reaction을 저하시키고 인공적인 전자 공여체와 반응이 약해졌다고 하였는데(10) 세균성 점무늬병균에 감염된 콩에서는 이런 생리적인 변화로 인하여 호흡율에 차이가 생겨난 것으로 생각된다.

기공저항의 측정. 세균성 점무늬병균에 감염된 콩의 기공 저항을 측정한 결과 Fig. 3에서와 같이 건전한 콩에 비하여 병원균에 감염된 콩에서 높은 경향을 보였다. 병원균을 접종한 후 8일 동안 품종간 차이는 있었지만 4일까지 급속한 증가를 보이고 6일 경과시에는 감소한 다음 다시 증가함을 알 수 있었다. 기공 저항의 증가는 *Fusarium oxysporium* f. sp. *lycopersici*에 감염된 토마토에서 가스 확산을 위하여 기공 저항이 증가하고, 또 CO₂를 흡수하기 위한 세포간극 저항이 증가하였다는 보고(1)와 일치하는 결과를 얻었다. 병원균이 감염된 콩잎에서 기공 저항이 증가하는 현상은 기공들의 형태적인 변화가 일어나고, 기공 주변에 병원균과 분비물 집적이 이루어지는데

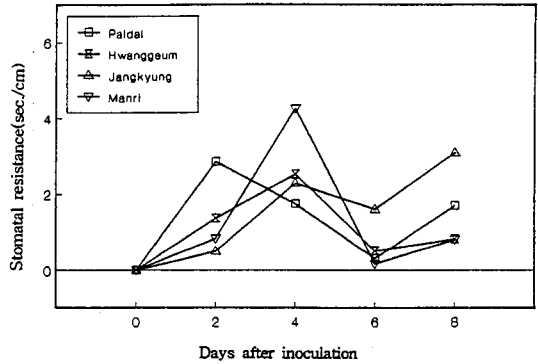


Fig. 3. Changes in the stomatal resistance of soybean leaves infected with *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* at different time intervals after inoculation, as expressed as the difference in the stomatal resistance between healthy and diseased leaves.

Table 1. Chlorophyll content in the healthy and diseased leaves of different soybean cultivars at different time intervals after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*

| Cultivar | Difference of chlorophyll content ^a at different days after inoculation | | | | |
|-----------|--|------|------|------|------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
| Paldal | 0 | 0.16 | 0.24 | 0.07 | 0.01 |
| Hwanggeum | 0 | 0.12 | 0.62 | 0.19 | 0.18 |
| Jangkyung | 0 | 0.08 | 0.44 | 0.35 | 0.18 |
| Manri | 0 | 0.31 | 0.70 | 0.16 | 0.46 |

^a mg/g F.W. (healthy-diseased).

(9), 이와 같은 결과로 기공저항이 증가함을 알 수 있었다. 기공저항은 식물의 환경 중에서 온도, 습도, 광도 및 환경오염원등에 의하여 변화가 나타나는데 기공을 통한 수증기의 손실을 저항으로 측정하므로 이것이 식물체의 생리적인 상태를 진단하는 지표로 이용될 수 있다고 생각된다.

엽록소의 함량. 세균성 점무늬병균에 감염된 콩의 엽록소는 Table 1에서와 같이 건전한 콩에 비하여 적은 함량으로 있었다. 건전한 콩의 엽록소 함량은 증가하였지만 병원균에 감염된 콩의 엽록소 함량은 건전한 콩에 비하여 2~6일 사이에 가장 큰 차이를 나타내었다. 엽록소 함량의 변화는 다양한 생리적 변화에 기인한 차이지만 Fig. 4와 같이 병원균 감염은 기주의 엽록체중 광합성에 관계하는 grana lamella 구조에 영향을 주어 grana 층이 얇아지고 stroma량이 감소되어 있음을 알 수가 있었다. 병원균 감염은 엽록체 파괴하고 엽록소 생합성이 저하된다는(10)

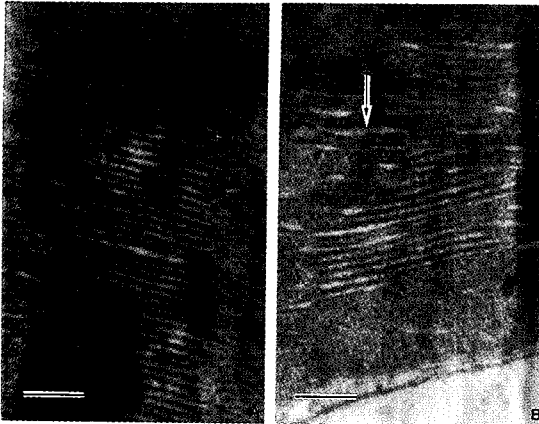


Fig. 4. Chloroplast grana in soybean leaf mesophyll cell: (A) healthy and (B) infected with *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*, showing margin and swelling (arrows) of grana caused by the infection (Bar=2.5 μm).

Table 2. Changes of leaf area in soybean leaves after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*

| Cultivar | Leaf status ^a | Leaf area ^b at different days after inoculation | | | | |
|-----------|--------------------------|--|-----|-----|-----|-----|
| | | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
| Paldal | H | 270 | 270 | 350 | 469 | 592 |
| | D | 270 | 274 | 281 | 306 | 311 |
| Hwanggeum | H | 371 | 371 | 537 | 693 | 944 |
| | D | 371 | 429 | 502 | 424 | 509 |
| Jangkyung | H | 391 | 391 | 488 | 533 | 901 |
| | D | 391 | 372 | 267 | 317 | 570 |
| Manri | H | 409 | 409 | 588 | 536 | 673 |
| | D | 409 | 322 | 406 | 413 | 595 |

^a H: healthy, D: diseased.

^b cm²/pot.

보고와 같이 세균성 점무늬병이 감염된 콩은 노화가 촉진되는 것으로 생각된다.

엽면적 및 건물 생산량의 변화. 세균성 점무늬병균에 감염된 콩의 엽면적은 Table 2와 같이 건전한 콩에 비하여 대체로 감소하였고 병원균이 감염된 2일 후에 더욱 현저한 감소를 보였다. 병원균이 감염된 8일 후에는 잎의 대부분이 황변하거나, 병징이 심하게 진전되었고, 조기 낙엽이 되었으며, 개체당 엽면적도 감소하고 있었다. 또한 건물 생산량은 Fig. 5와 같이 건전한 콩잎과 병원균에 감염된 콩잎 사이에는 커다란 차이를 보였는데 병원균이 감염된 콩에서 건물 중 감소는 접종 후 2일까지는 변화를 보이지 않았으나 병원균이 기주에서 정착한 2일 이후에는

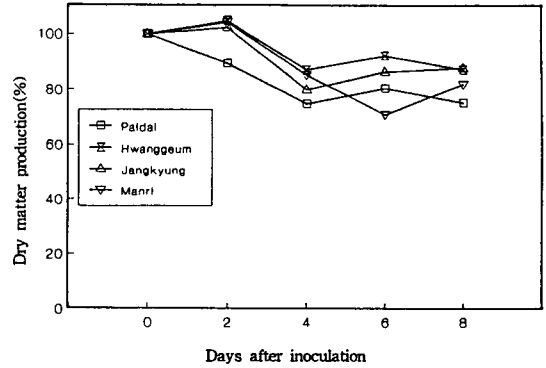


Fig. 5. Variation in the dry matter production rates between healthy and bacterial leaf blighted soybean leaves over time.

급격하게 감소함을 알 수 있었다. 이는 조사된 다른 특성들과 관련지어 볼 때 병원균의 감염으로 생리기능이 저하되어 세포의 분열, 세포 크기의 증대 및 세포의 분화현상이 수반하지 않은 결과로 생각된다.

요 약

콩에서 세균성 점무늬병을 일으키는 병원균인 *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*를 영양생장기에 10⁷⁻⁸ cells/ml 수준으로 분무 접종하였다. 접종 후 8일 동안 *P. s. pv. glycinea*에 감염된 콩의 광합성, 호흡, 기공저항, 엽록소 함량, 엽면적 및 건물중의 생산량을 조사하였다. 광합성량은 *P. s. pv. glycinea*을 접종한 2~4일 후에 건전한 콩에 비하여 감염된 콩에서 증가하였고 6일 이후에는 감소하였다. 호흡량에서도 광합성과 같은 경향이었으나 6일 이후에 감소폭이 현저하였다. 기공저항은 *P. s. pv. glycinea*에 감염된 콩에서 높은 저항을 나타냈고 반면에 엽록소 함량은 건전한 콩에서 높은 함량을 보였다. 또한 감염된 콩의 엽육조직에 함유한 엽록체에는 형태적인 변형과 그러나 층상구조의 밀도에 변화를 가져왔다. 식물 생산량으로 설명하는 단위시간당 건물중 생산량은 *P. s. pv. glycinea*에 감염된 콩에서 현저히 감소한 결과를 얻었다.

참고문헌

1. Duniway, J. M. and Slytyer, R. O. 1971. Gas exchange studies on the transpiration and photosynthesis of tomato leaves affected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology* 61: 1377-1381.

2. Eskins, K., Duysan, M., Dybas, L. and McCarthy, S. 1985. Light quality effect on corn chloroplast development. *Plant Physiol.* 77:29-34.
3. Goodman, R. N., Kiraly, Z. and Wood, K. R. 1986. *The Biochemistry and Physiology of Plant Disease.* University of Missouri Press. pp. 46-104.
4. Keppler, L. and Novacky, A. 1986. Involvement of membrane lipid peroxidation in the development of a bacterially induced hypersensitive reaction. *Phytopathology* 76:104-108.
5. 이영호, 문윤호, 황영현, 홍은희. 1988. 일장 및 온도가 콩 품종의 개화에 미치는 영향. 농시논문집(전, 특작편) 30(3):14-18.
6. Magyarosy, A. C. and Buchanan, B. B. 1975. Effect of bacterial infiltration on photosynthesis of bean leaves. *Phytopathology* 65:777-780.
7. Osborne, D. J. and McCella, D. R. 1961. Rapid bioassay for kinetin and kinins using senescing leaf tissue. *Plant Physiol.* 36:219-221.
8. Rittinger, P. A., Biggs, A. R. and Peirson, D. R. 1987. Histochemistry of lignin and suberin deposition in boundary layers formed after wounding in various plant species and organs. *Can. J. Bot.* 65:1886-1892.
9. 류경열, 허 훈. 1994. 세균성 점무늬병에 감염된 콩의 생리화학적 변화. 충북대학교 농업과학연구 11(2):21-30.
10. Szirak, I., Mustardy, L., Faludi-Daniel, A. and Kiraly, Z. 1984. Alteration in chloroplast ultrastructure and chlorophyll content in rust infected Pinto beans at different stage of disease development. *Phytopathology* 74:77-84.