

규소 처리에 의한 오이잎의 규소분포 및 흰가루병균 생장억제

이 중 섭*

원예연구소 원예환경과

요약 : 본 시험은 오이 양액재배시 배양액내 규산칼륨(K_2SiO_3) 처리에 의한 생육단계별 규소의 흡수특성, 체내분포, 병원균의 침입억제 효과를 검토하기 위하여 수행하였다. 잎에서의 규소 분포는 TEM, SEM 및 EDX-ray를 사용하여 4개 (SEM, Ca, Si, K)의 구성원소를 각각 측정하였다. 흡수된 규소는 잎으로 이동하여 모용(毛茸, trichome, hair)을 둘러싸고 있는 기부 세포에 축적되었다. 모용에서의 규소는 고농도의 칼슘 및 칼륨과 혼재하여 분포하였고, 저농도 처리시에는 모용기부를 제외한 표피세포에서는 감지 할 수 없는 수준으로 분포하였다. 잎에서의 규소 축적은 처리후 24시간에서 48시간 사이에 세포벽 주위에 가장 많이 축적되었고, 그 이후에도 다소 증가하는 경향이였다. 처리된 규소는 발아하고 있는 흰가루병 분생포자의 인접 조직의 세포벽과 병원균 흡기 주변에 다량 축적되어 물리적인 장벽으로 작용하였다. 고농도의 규산 처리된 잎 병반상의 발아관 길이는 낮은 농도의 처리구와 비교하여 현저히 짧았으며, 규산 처리농도와 부의 상관관계를 나타내었다. 배양액내 처리된 규산 농도는 오이가 생장함에 따라 감소하여 뿌리를 통하여 작물체내로 흡수되었으며, 저농도 처리구(0.85 mM이하)에서는 흡수되는 양이 현저히 적었다.(2000년 4월 27일 접수, 2000년 6월 23일 수리)

Key words : 흰가루병, 방제, 규산칼륨, 모용, 양액재배.

서 론

오이 흰가루병(병원균:*Sphaerotheca fuliginea* Poll.)은 년중 수시로 발생하여 재배중 6~7회의 약제 방제를 하고 있다. 특히 시설재배지의 고온 다습 후 건조한 환경이 병원균의 생육에 적합하여 방제를 철저히 하지 않으면 안된다. 규소($SiO_2 \cdot nH_2O$)는 단자엽식물의 세포벽에 집적되어 층을 형성하는 중요한 원소이다. 단자엽식물에서 규소(Si)의 부족은 증산작용의 증가와 관련을 가지고 있어 병원균에 대한 저항성이 저하된다고 보고되어 있다(Volk 등, 1958; Yoshida 등, 1962; Lewin과 Reimann 1969; Hodson과 Sangster 1989a). 반대로 쌍자엽 식물에서 Si의 물리적인 역할에 대해서는 알려진 것이 거의 없다. 대마나 췌기풀 같은 쌍자엽 식물의 모용(毛茸, trichome, hair) 주변세포에서 Si가 집적된다는 것이 보고되고 있다(Dayanandan과 Kaufman 1976). 양액재배의 형태로 재배하는 오이에서는 수용성 silicate를 가지고 배양액에 첨가하여 식물체에 공급하였을 때 Si가 집적되는 것이 밝혀졌다(Miyake와 Takahashi 1983). 한편 양액재배에서 규산칼륨을 배양액에 첨가, 식물체에 공급하는 것은 일부 병 발생을 억제 할 수 있다고 보고(Carver 등, 1987) 되었으나 아직까지 양액재배용으로 실용화된 바는 없다.

따라서 기주와 병원균과의 관계에서 Si의 역할을 구명하기 위하여 감염이 진행되는 동안 scanning electron microscope 와 energy dispersive X-ray analysis (SEM-

EDX)로 오이잎에 존재하는 Si의 분포를 조사하였다.

재료 및 방법

육묘 및 재배 : 발아 종자를 72공 육묘상자에 파종하여 26일 동안 육묘 후 묘를 암면 큐브(10×10 cm)에 정식하고 암면 슬라브 위에 올려 정기적으로 배양액을 공급하면서 재배하였다. 사용한 양액은 원예연구소에서 1995년에 조성한 다량원소 N, P, K, Ca 및 Mg 조성이 각각 12.7, 2.0, 7.0, 5.0 및 $2 \text{ me} \cdot \text{L}^{-1}$ 인 양액을 사용하였다. 미량원소는 B, Mn, Zn, Cu, Mo 및 Fe를 각각 0.5, 0.5, 0.05, 0.02, 0.01 및 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 로 하여 공급하였다. 사용한 지하수의 전기전도도(EC)는 $0.1 \sim 0.2 \text{ ds} \cdot \text{m}^{-1}$, pH는 6.8~7.0, 규소농도는 $0.17 \sim 0.25 \text{ mM}$ 이었다.

접종 : 흰가루병균 분생포자는 접종 24시간 전에 병든 잎에서 오래된 분생포자를 털어 제거한 후 24시간 경과 후에 채집하였다. 접종원 농도는 $25,000 \text{ 개} \cdot \text{mL}^{-1}$ 로 하였으며, 포자 현탁액을 잎당 20~25방울 떨어뜨려 접종하였다. 또 다른 접종방법으로 병든 잎을 2 cm의 크기로 잘라 7~8개의 균총을 잎 위에 부드럽게 눌러 접종하였다.

시료조제 : 관찰시료는 처리구별 잎을 채집하여 생체시료를 직접 관찰하거나 물로 세척한 후 1% Karnovsky의 고정액이 함유된 0.1 M cacodylate(pH 7.2) 완충액에 넣어 overnight 하고 0.05 M cacodylate 완충액으로 3회 세척하여 조제하였다. 이어 Osmic acid에 2시간 고정하였다.

*연락처

고정된 시료는 cacodylate 완충액으로 세척한 다음, ethanol 50, 75, 90, 95, 100% 용액에서 차례로 탈수하였다. 이와같이 처리된 시료를 100% isoamylacetate로 치환하고 임계건조기(Blazer's, CPD 020)에서 건조하였다.

시료관찰 : 건조 후 제작된 시료를 금으로 피복한 후 SEM(STEREO 440, Carl Zeiss, Germany)과 EDX-ray(Link ISIS system, Oxford, UK)를 사용하여 관찰하였다. EDX-ray 관찰시 시료의 분광도를 측정된 후 분석하고자 하는 원소(Ca, K, Si)의 X-선 에너지 수준 특성을 위하여 0.02KeV의 7개 channel의 넓이를 가진 창을 선택하였다. X-선상의 map은 이들 각각의 분포를 나타내 주는 것으로 4개 창(SEM, Ca, Si, K)의 channel map을 위한 20 ms/pixel 또는 10 dwell time을 사용하여 분포를 나타내었다. 규소 처리는 1.7 mM의 농도로 규산칼륨(K_2SiO_3 , 25~27%, Kanto)을 포함한 배양액을 공급하였다.

발병조사 : 흰가루병균 접종 24, 48, 96시간 후에 잎의 접종 부분을 잘라 stub에 각각의 잎 조각을 고정한 후 전자현미경으로 검경하였다. 균사 길이와 균사부위 규소 sites/ μm 와의 관계를 분석하기 위하여 SEM과 EDX-ray를 활용하여 측정하고 대수적으로 변형한 후 직선 회귀분석을 하였다.

결과 및 고찰

*Sphaerotheca fuliginea*를 접종한 오이 잎에서 규소의 분포형태를 관찰하기 위해 표피를 EDX-ray로 관찰하였다. 1.7 mM 규산 처리구의 잎에서는 각각 무기원소들의 분포가 4개 channel의 X-ray map 위에 분리되어 나타났다(그림 1, 화살표). 이같은 잎에서의 규소 분포는 수용성 규산염[$Si(OH)_4$]이 일련의 증산작용으로 도관부를 통하여 배양액으로부터 식물체내로 흡수된 것으로 판단되는데, 흡수된 규소는 무정형의 silica gel($SiO_2 \cdot nH_2O$)로 중합되어 나타난다고 보고되어 있다(Lewin과 Reimann, 1969).

한편 Hodson과 Sangster(1988)는 축적된 규소가 고정되고 탈수되어 결정체 건조를 통한 불용성화된 중합체의 형태라고 보고하였다. 또한 벼에서는 세포벽의 pH, 유기물함량, phenol 성분의 축적량 또는 이온환경 변화에 따라 규소 축적이 달라진다고 보고되었다(Hodson과 Sangster, 1989a,b;Kaufman 등, 1981;Perry 등, 1987;). 뿌리를 통하여 흡수된 규소가 잎에서 분포하고 있는 부위는 주로 모용을 둘러싸고 있는 기부 세포로 규소와 칼슘이 높은 농도로 함께 존재하고 있었다(그림 1, 화살표). 모용 그 자체는 칼슘이 포화되는 동안 그들 본래 기질을 가지고 있는 것으로 보아 비교적 규소 농도가 낮았으며, 규소를 처리하지 않은 증류수를 가지고 처리한 배양액(-Si)에서 생장한 잎에서는 규소가 관찰되지 않았다. 규산을 처리한 배양액과 규산을 처리하지 않은 배양액에서 재배한 잎의 모용 형태는 형태

학적으로 동일하였다. EDX-ray 관찰결과 규산을 처리한 잎의 표피세포는 규소의 농도가 비교적 낮았다.

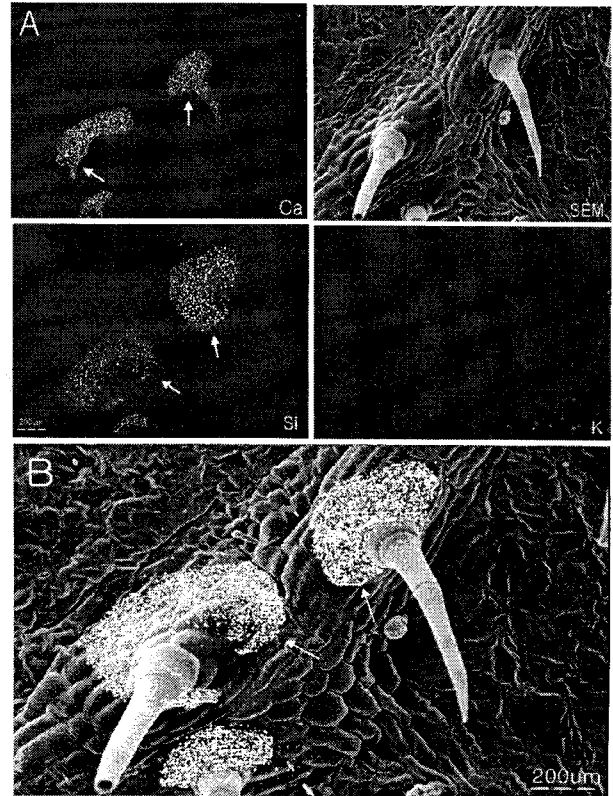


Fig. 1. A: Energy dispersive X-ray analysis map of elemental distribution in cucumber leaf trichomes grown with supplemental silicate. Clockwise from upper left quadrant: Ca, SEM, K, and Si(arrows). B: Secondary electron image of cucumber trichomes from A, silicate distribution shown with white dots(X-ray dot map overlay). Silicate is localized in the bases of the trichomes, with relatively low silicate levels in the trichome hairs and background epidermal cells(arrow).

그러나 주위를 둘러싸고 있는 세포보다 규소농도가 높은 표피세포도 다수 존재하였다(그림 2B,3B). 병원균이 침입하지 않은 건전한 세포는 규소 대부분이 모용 기부에 집적되어 있었으나 축적된 양은 비교적 적었다. 공변세포에서는 규소가 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 Dayanandan과 Kaufman(1976)이 *Humulus lupulus*와 *Lantana camera*에서 보고한 규소의 집적양상과 유사하였다. 오이 잎 표면에 존재하는 병원균의 형태를 조사한 결과 접종 24시간 후 *S. fuliginea*의 특징인 측면에 둥근 흡기를 형성하는 분생자 발아관이 확인되었다(그림 2). 분생자의 발아와 생장은 규소가 없는 세포에서도 형태적으로 다양하게 나타났다. 이러한 다양성에 대하여 Corner(1935)와 Braun(1987)은 분생자를

생산하는 분생자병 및 환경조건에 따라 다르게 나타난다고 보고하고 있다. 병원균의 성장을 하나의 분생자로부터 시작되는 모든 균사를 더하여 총 균사 길이로 나타내었을 때 (표 1) 1.7 mM 규산 배양액으로 공급된 처리구에서 *S. fuliginea*의 균사생장은 병원균 접종 24시간 후에 규산을 첨가하지 않은 배양액에서 성장한 균사와 비교할 때 현저하게 감소하였다. 한편, 병원균 접종 후 접종시간이 경과할수록 도관부를 통하여 흡수된 규산이 모용의 기저부위부터 관찰되어 규소를 포함하는 세포의 수가 증가하였다. 규소를 함유한 세포수가 증가할수록 균사의 길이는 감소하였으며, 이러한 경향은 병원균 접종 72시간 후에 가장 뚜렷하게 나타났다. 이때 균사 길이가 짧은 조직에서는 규질화 세포수가 증가된 결과로 나타났다(표 1).

이 결과에 대하여 변이의 이질성이 비정규분포를 나타내었기 때문에 비매개변수 검정을 사용(U-test)하여 유의성을 확인하였다. X-ray mapping 결과 배양액에 규산을 처리하였을 때 세포벽에 규소가 충분히 존재하는 것으로 나타났으며(그림 2B) 발아하지 못한 분생자는 이러한 반응을 유발하지 못하였다. 규산이 없는 처리구에서는 포자를 둘러싸고 있는 부분에서 모용 기부세포가 변형되어 나타났고 이 조직에서는 EDX-ray map상에서 규소가 관찰되지 않았다. 규산을 처리한 구에서는 규산 함량이 높은 세포들이 포자 발아와 함께 구별되어 나타났다(그림 2A, 화살표). 이 조직에서 접종 후 24시간에 규소를 포함하는 세포수는 발아하는 분생자당 0에서부터 3개의 세포 무리들까지 다양하게 나타났다. 감염 초기단계에서 EDX-ray의 mapping으로 나타난 분생자 주변에 규소가 무리지어 축적되어 있는 것이 접종 24시간 후 관찰되었다(그림 2B, 화살표). 감염이 진행되는 동안 규소는 균사를 둘러싸고 있는 기주세포의 세포벽에 존재하는 것으로 관찰되었다. 균사를 둘러싸고 있는 변형된 세포벽은 시료 고정 후 결정화한 상태에서만 관찰할 수 있었다. 고정된 잎의 초기 발아관 주변 부위의 세포벽 크기는 표피세포를 둘러싸고 있는 세포벽과는 분명한 차이가 있었다(그림 2A, 화살표). 관찰시료를 먼저 고정, 건조처리하면 분생포자 및 균사 표본을 건조시키는 동안

변형되는 것을 방지하는데 효과적이었다.

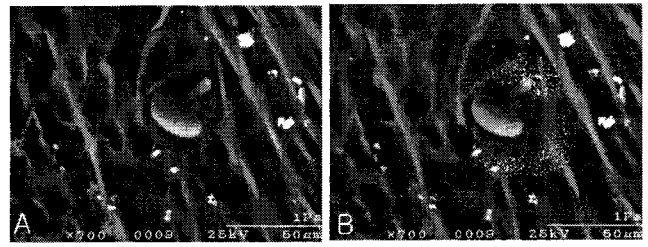


Fig. 2. A:Electron micrograph of germinating conidia on silicate-treated cucumber leaf, 24h after inoculation. Host wall modifications associated with primary germ tubes have smoother texture than surrounding host cell walls (arrow). B: EDX-ray image of germinating conidia, as A with silicate distribution shown with white dots(X-ray dot map overlay, arrow). Regions of wall modification, as well as the conidia themselves, contain high levels of silicate.

시료의 고정과 건조 처리방법간에는 규소의 분포에 있어서 차이를 나타내지 않았다. 접종 후 48시간 안에 균사는 더욱 신장되었고(표 1), 또한 규질화한 세포가 다량 존재하였다(그림 3). 한편 규산을 공급한 처리구에서 병원균의 균총들은 규산을 첨가하지 않은 처리구의 균총들보다 현저하게 작았다(U-test). 규소를 가진 세포들은 신장중의 균사와 함께 발아 분생자당 0에서 9개의 규질화 세포가 나타났다. 변형된 세포벽은 SEM의 이미지상에 확실하게 나타났으며 규소 분포와 일치하였다(그림 4A,B). 병원균 접종 72~96 시간 후에는 성장하고 있는 균사에서 분지가 형성되었다(그림 4C). 규소 함량이 높은 부분에서 균사량이 적은 현상이 관찰되었다. 즉, 성장하고 있는 분생자당 0~16개의 규질화 세포들이 관찰되었다(그림 4B,D). 병원균 접종 72시간 후에 규소 처리구에서 *S. fuliginea*의 균총 생장은 무처리구보다 현저히 감소되었다(U-test).

Table 1. Fungal growth and presence of silicate during development of *S. fuliginea* on leaves of cucumber plants grown in hydroponics with or without Si

Time after inoculation(h)	Si	No. of cell with Si	Hyphal length(μm) ^{a)}	Si sites $\cdot \mu\text{m}^{-1}$ of hyphal length
24	+	12	102 \pm 57	0.1177
	-	0	141 \pm 77	0
48	+	24	407 \pm 211	0.0590
	-	0	681 \pm 216	0
72	+	32	1,776 \pm 894	0.0180
	-	0	3,820 \pm 2,208	0

^{a)} Sum of hyphal lengths for one colony, defined as all hyphae arising from one conidia($x \pm \text{SE}$). Hyphal lengths for +Si and -Si treatments were significantly different, $p=0.01$ (U-test).

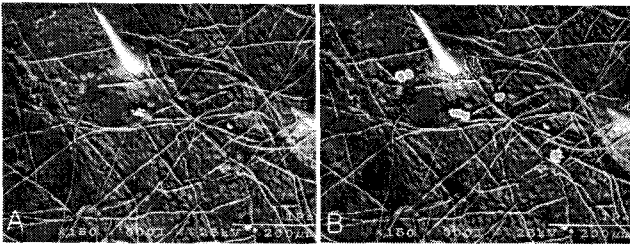


Fig. 3. A:Fixed, critical-point dried, growing mycelium of *S. fuliginea* on silicate-treated cucumber leaf, 48h after inoculation. Areas of cell wall modification can be seen along hyphae. B:Secondary electron image of growing mycelium, 48h after inoculation, as in A. Silicate distribution shown with white dots (X-ray dot map overlay, arrow). Regions of high silicate levels, where dots would form solid block of white, are delineated by line surrounding block.

분생자병에서 분지한 포자가 발아하는 구조는 병원균 접종 72시간 후에 관찰할 수 있었다(그림 4C). 이때 처리된 규소는 표피의 큐티클층에 존재하면서 병원균의 조직 침입 시 물리적인 장벽으로 작용하였다(그림 4D).

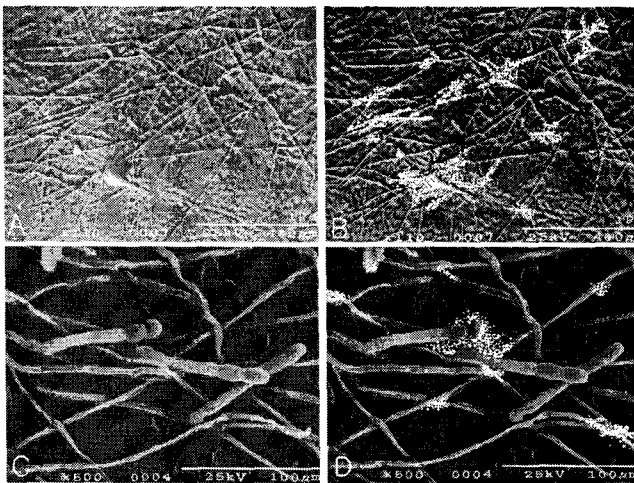


Fig. 4. A:*S. fuliginea* mycelium on surface of silicate-treated cucumber, air-dried, 72h after inoculation. Cells have collapsed as a result of air drying but regions of wall modifications can still be seen. B: Secondary electron image of growing mycelium, as in A, with silicate distribution shown with as dot map overlay(arrow). C: Conidiophores maturing on the silicate-treated cucumber, air-dried, 72h after inoculation. D:Secondary electron image of maturing conidiophores, as in C, with silicate distribution shown as dot map overlay(arrow).

병원균 접종 72시간 후에 분생자병은 규산을 처리하지 않은 처리구에 항상 존재하였으나 규산이 공급된 처리구에서는 거의 관찰되지 않았다. 발아하는 분생자를 둘러싸고 있는 규질화 세포들의 수적 증가는 그 분생자에 의해 만들어지는 균사 길이의 감소와 관련이 있었다. 결과는 그 균총을 둘러싸고 있는 규소를 가진 세포들의 수와 균총당 균사의 길이를 비교함으로써 얻어졌다(표 1). 한편 규소를 가진 세포들은 EDX-ray를 이용하여 확인하였다. 규소가 균사의 크기를 좌우하는 것인지를 비교하기 위해 micro 단위를 사용하여 규소를 가진 세포들을 나타내었다(표 1). 직선 회귀 분석에서 대수적으로 자료를 변형한 균사길이는 접종 후 24시간과 48시간 사이에 세포내 규소의 분포 정도에 따라 짧아지는 상관관계를 나타내었다. 그러나 접종 후 72시간 처리구에서는 차이가 유의성이 없었다(그림 5).

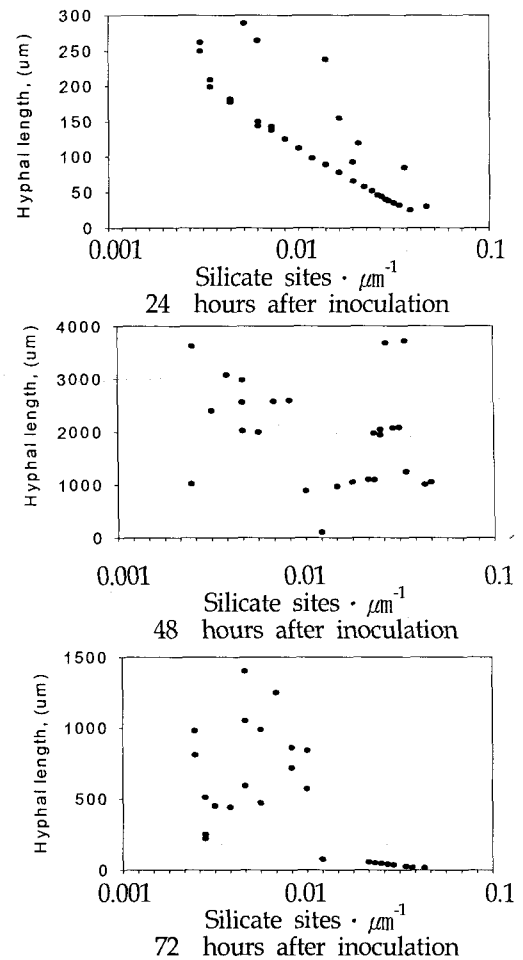


Fig. 5. Scatter plots of data points for fungal growth (expressed as total hyphal length per colony) vs. presence of silicate(Si sites $\cdot \mu\text{m}^{-1}$) for *S. fuliginea* on cucumber grown in hydroponics supplemented with silicate. In the early stages of infection, a general decrease in size of the fungal mycelium arising from one conidia is correlated with the presence of high silicate.

병원균 접종 후 감염의 초기단계 즉, 접종 후 24시간에 규소를 함유한 세포들의 수와 균사의 길이 사이에는 높은 부의 상관관계를 나타내었다(그림 5). 결과는 Kunoh(1978) 등이 *Erysiphe graminis* 분생자에 대해 규소 처리에 의하여 균사의 생장이 억제되었다는 보고와 일치되는 경향을 나타내었다. 이러한 규소의 큐티클층 존재는 감염의 초기단계에서 균사의 길이를 억제시키는 현상과 상관관계를 나타내는데는 것을 뒷받침하는 결과로 판단되었다. 규소의 처리구에서 병원균 접종 48시간 후 관찰한 결과, 일부 발아하지 못한 분생자와 생장이 억제된 균사들이 관찰되었다. Carver (1987) 등은 세포벽내 규소가 다량 존재하는 상태에서 병원균의 기주세포벽 침입실패 같은 복합요인이 발생한다고 보고하였다. 따라서 분생자의 발아시 세포벽내 높은 규소 농도와 기주의 방어조직 변화는 병원균의 흡기 형성을 억제시키는 데에 원인이 있는 것으로 생각되었으며, 규소 함량이 낮은 세포들에서는 균사들의 길이가 증가하였고 또한 병반크기도 다양하게 나타났다.

인용문헌

- Braun, U. (1987) A monograph on the Erysiphales. Cramer Publishers, Berlin. pp.247~249.
- Carver, T. L. W., R. J. Zeyen and G. G. Ahlstrand. (1987) The relation between insoluble silicon and success or failure of attempted penetration by powdery mildew (*Erysiphe graminis*) germlings on barley. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 31:133~148.
- Corner, E. J. G. (1935) Observations on resistance to powdery mildews. *New Phytol.* 34:181~200.
- Dayanandan, P. and P. B. Kaufman (1976) Trichomes of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). *Amer. J. Bot.* 63:578~591.
- Hodson, M. J. and A. G. Sangster (1988) Observations on the distribution of mineral elements in the leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.) with particular reference to silicon. *Ann. Bot.* 62:463~471.
- Hodson, M. J. and A. G. Sangster (1989a) X-ray microanalysis of the seminal root of *Sorghum bicolor* with particular reference to silicon. *Ann. Bot.* 64:659~667.
- Kaufman, P. B., P. Dayanandan, Y. Takeoka, W. C. Bigelow, J. D. Jones and R. K. Iler (1981) Silica in shoots of higher plants. In *Silicon and siliceous structures in biological systems*. Eds. T. L. Simpson and B. E. Volcani. Springer Verlag, New York. pp.409~446.
- Kunoh, H., S. Takamatsu and H. Ishizaki. 1978. Cytological studies of early stages of powdery mildew in barley and wheat(III) Distributions of residual calcium and silicon in germinated conidia of *Erysiphe graminis hordei*. *Physiol. Plant Pathol.* 13:319~325.
- Lewin, J. and B. E. F. Reimann (1969) Silicon and Plant Growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 20:289~304.
- Miyake, Y. and E. Takahashi (1983) Effect of silicon on the growth of solution cultured cucumber plants. *Soil Sci. Plant Nutr.* 29:71~83.
- Perry, C. C., R. J. P. Williams and S. C. Fry (1987) Cell wall biosynthesis during silicification of grass hairs. *J. Plant Physiol.* 126:437~448.
- Volk, R. J., R. P. Kahn and R. L. Weintraub (1958) Silicon content of the rice plant as a factor influencing its resistance to infection by the blast fungus, *Piriculatia oryzae*. *Phytopathology.* 48:179~184.
- Yoshida, S., Y. Ohnishi and K. Kitagishi. (1962) Chemical forms, mobility and deposition of silicon in rice plant. *Soil Sci. Plant Nut.* 8:107~113.

Distribution of silicon and growth inhibition of powdery mildew fungus in cucumber leaves in silicon-present hydroponic culture

Jung Sup Lee*(*Nat'l Horticultural Research Institute, Suwon 440-310, Korea*)

Abstract : Objective of this study was to determine the Si distribution and extent of control of powdery mildew diseases of cucumber(*Cucumis sativus* L.). The distribution of silicon in the leaf epidermis of cucumber plants grown in hydroponic nutrient solutions supplemented with soluble silicates was examined using scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray analysis. The silicate absorbed from nutrient solution was translocated into cucumber leaves, and accumulated mainly in the cells surrounding the base of trichome hairs. Base cells surrounding the trichomes also had high levels of Si, Ca, and K. Si levels in the epidermal cells for low Si treatment were not detectable except in the trichome bases. Hyphal lengths of powdery mildew occurring on cucumber leaves cultivated in medium with high concentration of silicate were remarkably shorter than those of cucumber leaves cultivated with low concentration of silicate. There was a negative correlation between hyphal length of *S. fuliginea* and silicate concentrations.

*Corresponding author(Fax : +82-31-295-9548, E-mail : Jslee@nhri.go.kr)