

## 배나무赤星病 病斑組織의 몇가지 加水分解酵素의 活性

金基淸\*·趙白皓\*·鞠貞愛\*

Activities of Several Hydrolytic Enzymes in the Pear Leaves  
Affected by Rust Fungus, *Gymnosporangium haraeaeum* Sydow.

Kim\*, K.C., B. H. Cho\*, J.A. · Kook\*

### Abstract

Activities of several hydrolytic enzymes in the rusted pear leaves were estimated. Tested enzymes were cellulase (Cx), invertase,  $\beta$ -amylase, pectinase (pectinmethylesterase and polygalacturonase), and phosphatase. Enzyme activities were represented by pH value-enzyme activity-curve.

Activities of Cx, invertase, and  $\beta$ -amylase were higher in the healthy part than those in the near-lesion and lesion parts, and showed the maximal activities around pH 7.0. On the other hand, activities of pectinase and phosphatase were higher in the lesion and near-lesion parts than in the healthy part. Pectinmethylesterase activities in the healthy and diseased parts were drawn with different curve-pattern as the pH of treating solution changed.

### 緒 言

植物病原菌이 放出하는 여러가지 酵素가 病原菌의 植物體侵入 및 進展이나 病原菌의 養料獲得에 重要한 影響을 미칠 뿐 아니라 이로 말미암아 寄主의 正常的인 代謝가 擾亂된다는 事實은 일찍부터 알려져 왔으며 이러한 現象들이 病原菌의 病原性 發現機作的 하나로서 重要視되고 있다. 이러한 觀點에서 菌에 따라 많은 研究가 報告되었지만<sup>8,10)</sup> 배나무 赤星病菌(*Gymnosporangium haraeaeum* Sydow)에 對해서는 아직까지 報告된 바가 없는 것 같다. 本實驗에서는 배나무 赤星病 病斑의 몇가지 加水分解酵素의 活性를 健全部와 比較測定하여 病態生理를 解析하기 爲한 앞으로의 研究資料를 얻고자 하였다.

### 材料 및 方法

供給材料: 배나무赤星病 罹病葉(品種: 長十郎)을 採取하여 病斑直徑이 3mm쯤 되는 橙黃色斑點(銹子腔이 全혀 形成되지 않고 精子器만이 形成됨)을 골라 直徑 3mm Cork borer 로 病斑部位를, 8mm Cork borer 로 病斑部位가 除去된 病斑隣接部를 各各 切取했으며 健全部位는 그外側에서 直徑 12mm Cork borer 로 切取하였다(fig. 1 參照)

粗酵素液의 調製: 各部位別로 一定量(乾物重 1g)을 乳鉢內에 담아 少量의 蒸溜水를 加하여 얼음위에서 冷却시키면서 磨碎한 다음 2枚의 gauze 로 濾過한 뒤 蒸溜水를 다시 加하여 100ml 로 定容하여 遠沈(10,000g, 20分)했다. 上澄液을 세로판紙로 흐르는 水道水에서

\* 全南大學校農科大學(College of Agr. Chunnam Univ.)

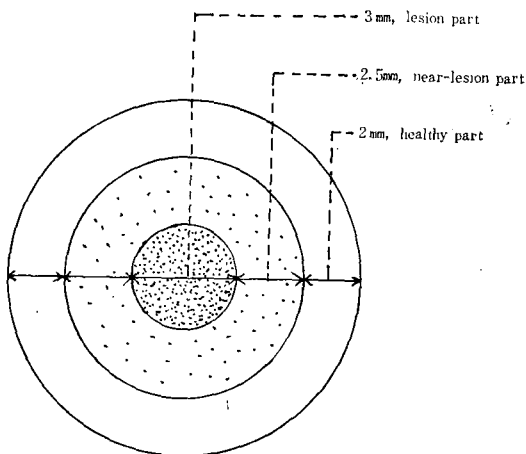


Fig. 1. Schematic representation of test-samples detached from diseased lesion area.

하룻밤 透析시켜 그內液을 粗酵素液으로 使用하였다.

酵素活性의 測定: 各酵素의 活性은 前報<sup>3)</sup>에 準해 測定하였다

### 結果 및 考察

Fig. 2에 表示한 바와 같이 Cellulase(Cx)活性은 pH 7.5에서 最高活性을 나타냈고 健全部位, 病斑隣接部位, 病斑部位의 順으로 活性이 떨어졌다.

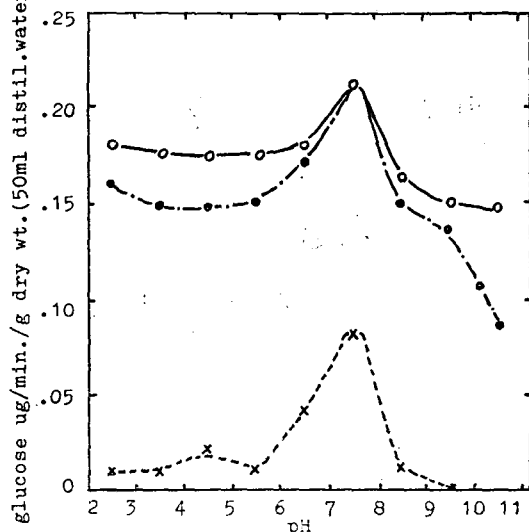


Fig. 2. Cellulase (Cx) activity in lesion area of pear leaf infected by *Gymnosporangium haraeaeum* Sydow. Legends are: healthy part ○—○ near-lesion part ●—● and lesion part ×...×

Cellulase와 病原菌의 病原性과를 聯關시켜 病原性이 강한 菌은 病原性이 弱한 것 보다 Cellulase의 活性

이 높았다는 報告<sup>2,5,6)</sup>가 있지만 배나무 赤星病病斑의 酵素에 關한 報告는 아직 없기 때문에 直接的인 比較 檢討는 어려우나 近緣의 *Puccinia graminis* var. *tritici* (van Sumere et al. 1957)의 夏孢子 磨碎液에 Carboxymethylcellulose를 分解할 수 있는 Cellulase가 少量 이기는 하지만 檢出되었다는 事實<sup>10)</sup>을 考慮할때 배나무 赤星病菌도 Cellulase를 生産할 것으로 생각되었으나 本實驗의 結果에서는 病斑隣接部位와 病斑部位의 Cellulase 活性이 健全部位의 그것보다 오히려 더 낮게 나타나는 것으로 보아 赤星病의 發生에 Cellulase가 關與한다는 疑問이 있다. 한편 植物體內에 Cellulase가 存在한다는 것은 많이 알려진 事實이지만 <sup>10)</sup> 病斑部位에서나 病斑周邊部位에서 한결같이 活性이 떨어졌다는 것을 감안할 때 이것은 病原菌의 侵入에 依한 植物의 代謝變化나 혹은 病原菌이 生産하는 어떤 不活性物質등에 起因한다고도 생각할 수 있다.

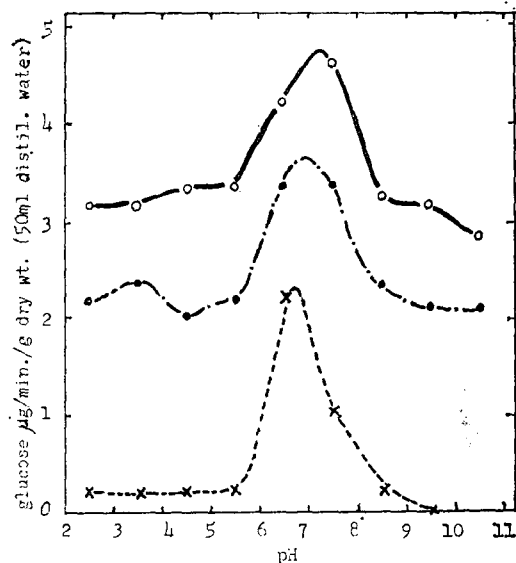


Fig. 3. Invertase activity in lesion area of pear leaf infected by *Gymnosporangium haraeaeum* Sydow. Legends are referred to Fig. 2.

病斑組織에서의 酵素活性低下는 Cellulase 뿐만 아니라 Invertase (fig. 3)나  $\beta$ -amylase (fig. 4)에서도 볼 수 있었다. 이들 酵素들의 最高活性 pH는 各各 pH 6.5~7.5와 pH 6.5 이었고  $\beta$ -amylase는 病斑部位와 健全 및 病斑周邊部位와는 pH에 따른 活性度 pattern에 相當한 差異를 나타냈다.

宮崎등<sup>7)</sup>은 버흰빛잎마름病의 罹病初期의 잎에 直接 還元糖量이 增加하는 것을 이 酵素와 關聯시켜 報告한 바 있는데 本實驗에 있어서는 反對로 罹病部位의 活性이 健全部位의 酵素活性보다 훨씬 떨어지고 있다. 아

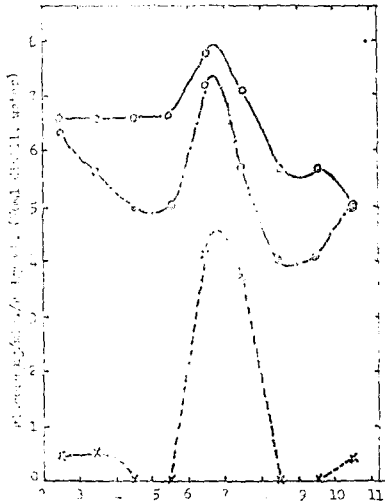


Fig. 4.  $\beta$ -amylase activity in lesion area on pear leaf infected by *Gymnosporangium haraeaeum* Sydow. Legends are referred to Fig. 2.

러한 Invertase와  $\beta$ -amylase의 활성低下가 病進展에 어떠한 關係를 가지고 있는지는 解析하기 어려우나 Cellulase와는 달리 이 두 酵素 모두 細胞內容物의 分解에 關與하고 있다는 點을 考慮하여 더욱 檢討를 要하는 것으로 생각된다.

Pectinmethylesterase의 활성(fig. 5)은 다른 酵素와는 달리 pH에 따라 各部位別로 매우 相異한 活性變化를 나타냈는데 病斑隣接部位의 活性은 pH 7.5~8.0에서 最高活性을 나타낸 反面에 健全部位에서는 pH 5.5

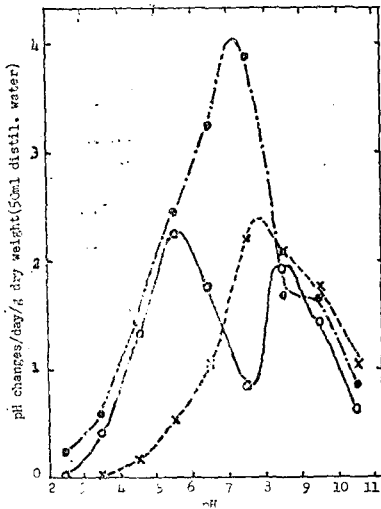


Fig. 5. Pectinmethylesterase activity in lesion area on pear leaf infected by *Gymnosporangium haraeaeum* Sydow. Legends are referred to Fig. 2.

와 pH 8.5에서 活性이 增加하는 2個의 peak가 認定되어 Pectinmethylesterase에 isozyme이 存在한 것으로 생각된다. 各部位別 活性差異는 病斑隣接部位가 健全部位나 病斑部位에 비해 훨씬 높았고 健全部位와 病斑部位는 거의 비슷한 活性이었다.

Polygalacturonase의 活性(fig. 6)도 역시 病斑隣接部位에서 가장 높았고 健全部位, 病斑部位의 順으로 떨어져 있으며 各部位 모두 pH 3.0~3.5에서 最高活性을 나타냈다.

배나무赤星病菌의 生産酵素에 關한 報告는 없지만 *Puccinia graminis* (van Sumere, 1957)가 *in vitro*에서 Polygalacturonase를 生産하는 것으로 보아<sup>10)</sup> 近緣의 絶對活物寄生菌인 배나무赤星病菌도(*Gymnosporangium haraeaeum*), 이 酵素를 生産할 것으로 생각되며 本實驗結果(fig. 5, 6)로 보아서도 이러한 假定이 正當한 것으로 보여진다. 그러나 病斑部位가 病斑隣接部位나 健全部位보다 活性이 떨어지는 것은 病斑部位에는 이미 生活力을 喪失한 細胞들이 存在하여 많은 酵素가 不活性化 되었기 때문이라 믿어진다.

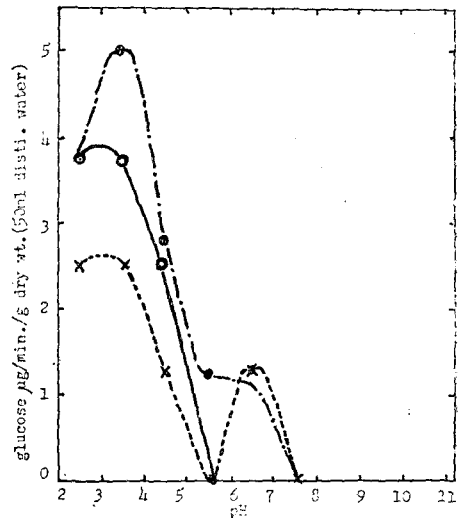


Fig. 6. Polygalacturonase activity in lesion area on pear leaf infected by *Gymnosporangium haraeaeum* Sydow. Legends are referred to Fig. 2.

植物病原菌이 生産하는 Pectinmethylesterase와 Polygalacturonase에 關한 研究報告<sup>1, 2, 3, 4, 9)</sup>는 많은데 寄主組織의 軟化作用 및 病原性에 關聯하여 考察하고 있다. 배나무赤星病菌에서도 Pectinase가 病의 進展에 重要な 役割을 하고 있는 것 같다.

Phosphatase의 活性(fig. 7)도 病斑隣接部位에서 가장 높았고 健全部位, 病斑部位의 順으로 떨어졌다. 最

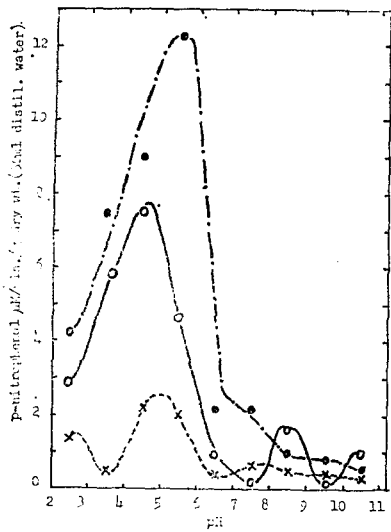


Fig. 7. Phosphatase activity in lesion area on pear leaf infected by *Gymnosporangium haraeanaum* Sydow. Legends are referred to Fig. 2.

高活性 pH가健全部位에서는 4.5인데 反하여 病斑隣接部位에서는 5.5로 약간의 差異가 認定되었다. 宮崎 등은 벼흰빛잎마름病 罹病葉의 病斑部에서 無機磷이 增加하는 것은 Phosphatase의 活性增加에 起因한다는 것을 밝힌 바 있다. 한편 그의 最適 pH가 5.0이었다고 함은 本實驗의 結果와도 거의 一致하고 있다. 그러나 phosphatase가 病發生에 어떻게 關與하고 있는지는 앞으로의 研究에 期待할 수 밖에 없다.

以上の 結果를 綜合해 보면 배나무赤星病 病斑에서는 Cellulase (Cx), Invertase,  $\beta$ -amylase의 活性은 健全部位에서 보다 낮았고 Pectinase (Pectinmethylesterase와 Polygalacturonase)와 phosphatase의 活性은 反對로 높았다.

### 摘 要

赤星病菌에 感染된 배나무 잎에서 健全部位, 病斑隣接部位 및 病斑部位別로 몇가지 加水分解酵素의 活性을 測定한 結果는 다음과 같다.

1. Cellulase (Cx), Invertase 및  $\beta$ -amylase의 活性은 感染部位에서 보다 健全部位에서 더 높았고 모두 pH 7.0附近인 中性側에서 最大活性이 나타났다.

2. Pectinmethylesterase, Polygalacturonase 및 phosphatase의 活性은 病斑隣接部位에서 높았다.

3. Pectinmethylesterase의 活性은 健全部位와 病斑 및 그隣接部位 間에 pH에 따라 甚한 活性差異가 認定되었다.

### 引 用 文 獻

- Bateman, D.F. and S.V. Beer, 1965, Simultaneous production and Synergistic action of oxalic acid and polygalacturonase during pathogenesis by *Sclerotium rolfsii*, *Phytopathology* 55 : 204~211.
- Chan, Yu-Ho & W.E. Sackston, 1972, Production of pectolytic and cellulolytic enzymes by virulent and avirulent isolates of *Sclerotium bataticola* during disease development in sunflowers, *Can. J. Bot.* 50 : 2449~2453.
- 趙白皓, 金基清, 1977, 數種의 植物病原菌(흰비단病菌, 菌核病菌 및 줄검은菌核病菌)이 生産하는 加水分解酵素의 活性, 韓國植物保護學會誌 16 : 199~208.
- Hancock, J.G., 1966, Degradation of pectic substances associated with pathogenesis by *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflowers and tomato stems, *Phytopathology* 56 : 975~979.
- 梶 明, 1973, 白絹病菌의 生産する 耐酸性酵素의 應用, 化學と生物 11 : 330~335.
- Kelman, A and E.B. Cowling, 1965, Cellulase of *Pseudomonas solanacearum* in relation to pathogenesis, *Phytopathology* 55 : 148~155
- 宮崎榮一郎, 山中 達, 三澤正生, 1976, イネ白葉枯病に關する研究Ⅱ. 病斑組織の加水分解酵素について, 日植病報 42 : 21~29.
- 谷 利一, 1970, 細胞壁と細胞膜, 平井, 鈴木共編 感染の生化學—植物—pp.24~60. 農業技術協會 東京.
- Trive, H.L., 1955, Studies in the physiology of parasitism, XIX. On the killing of plant cells by enzymes *Botrytis cinerea* and *Bacterium aroidea*. *Ann. Botany* 14 : 351~558.
- Wood, R.K.S., 1967, Cell-wall degrading enzymes in different plant diseases "In *Physiological Plant Pathology*" pp.154~187.