## Korean Journal of Environmental Biology

#### Note

Korean J. Environ. Biol.

42(3) : 232-240 (2024) ISSN 1226-9999 (print) ISSN 2287-7851 (online)

https://doi.org/10.11626/KJEB.2024.42.3.232

### 엽록소 형광 기술을 활용한 배나무 화상병 방제 약제 효과 분석

엄태선<sup>1,+</sup>, 심지영<sup>1,+</sup>, 장승연<sup>1</sup>, 황예빈<sup>1</sup>, 유성영<sup>2</sup>, 최종윤<sup>3</sup>, 김태완<sup>1,2,\*</sup> <sup>1</sup>한경국립대학교 식물자원조경학부, <sup>2</sup>한경국립대학교 식물생태화학연구소, <sup>3</sup>경기도농업기술원 환경농업연구과

# Effectiveness of bactericide for controlling fireblight of pear tree using chlorophyll fluorescence technology

Tae seon Eom<sup>1,†</sup>, Ji Young Shim<sup>1,†</sup>, Seung Yeon Jang<sup>1</sup>, Ye Bin Hwang<sup>1</sup>, Sung Yung Yoo<sup>2</sup>, Jong Yoon Choi<sup>3</sup> and Tae Wan Kim<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant Resources and Landscape Architecture, Hankyong National University, Anseong 17579, Republic of Korea

<sup>2</sup>Institute of Ecological Phytochemistry, Hankyong National University, Anseong 17579, Republic of Korea
<sup>3</sup>Department of Environmental and Agricultural Research, Gyeonggi-do Agricultural Research and Extension Services, Hwaseong 18388, Republic of Korea

#### **Contribution to Environmental Biology**

- Chlorophyll fluorescence analysis was used to measure pear trees treated with bactericide for fireblight control.

- Results of this study can contribute to bactericide treatment of pear tree fireblight.

#### \*Corresponding author

Tae Wan Kim Tel. 031-670-5080 E-mail. taewkim@hknu.ac.kr

<sup>†</sup>These authors contributed equally to this work.

Received: 30 January 2024 First revised: 28 March 2024 Second revised: 15 April 2024 Final revised: 29 July 2024 Revision accepted: 2 September 2024 Abstract: Due to rapid spread of fireblight, the Rural Development Administration is supplying bactericides to farmers. However, research on inhibitory effects of main active ingredients in these bactericides on fireblight is lacking. Chlorophyll fluorescence analysis is a non-destructive method for analyzing the photosynthetic efficiency of plants, enabling time-series data analysis of pathogen progression and allowing for large-scale studies. Therefore, this study analyzed inhibitory effects of main active ingredients in bactericides on fireblight using chlorophyll fluorescence response analysis. Flowering pear trees (three-year-old 'Shingo' variety) were sprayed with control agents and fire blight pathogens on flowers. Chlorophyll fluorescence responses were then measured at seven-day intervals. Twenty-eight days after bactericide treatment, the fluorescence of the O-J transition stage in the untreated group was twice as high as in the average bactericide-treated group presumably due to inhibition of electron transport in the PSII donor side caused by pathogen infection, leading to leaf necrosis. Additionally, the electron transport efficiency (ET2o, RE1o) decreased, reducing the driving force of photosynthesis (DF total ABS) to 20% of the average bactericidetreated group, indicating chlorophyll damage and reduced photosynthetic capacity. In conclusion, chlorophyll fluorescence technology can be used to quantitatively evaluate the efficacy of fire blight control agents during the flowering period of pear trees.

Keywords: fire blight, *Erwinia amylovora*, pear tree, bactericide, chlorophyll fluorescence (OJIP)

#### 1. 서 론

과수 화상병은 그람 음성균인 Erwinia amylovora에 의 해 사과, 배, 자두 등 장미과에 속하는 과수를 기주로 발병 하는 식물세균병이다. 화상병원균은 기공이나 상처를 통 해 식물에 침투하고 관다발 조직을 통해 식물 전체에 빠른 증식과 확산을 특징으로 식물 조직의 괴사를 일으켜 신초, 잎, 꽃 등 지상부의 모든 부위가 검게 변하거나 갈변된다 (Billing 2011; EPPO 2013). 화상병은 1780년 미국 뉴욕주 에서 최초로 보고되었으며, 1957년 영국을 시작으로 아프 리카 그리고 오세아니아 지역까지 발생하여 피해를 주고 있다(Bonn and Van der Zwet 2000).

국내에서는 2015년 5월에 경기도 안성의 배나무에서 처 음으로 화상병이 보고되었고, 정부는 화상병 발생이 보고 된 후 *E. amylovora*를 식물방역법에서 금지 병원균으로 지 정하여 국내 정착을 막기 위해 예찰과 방제를 시행하고 있 다(Park *et al.* 2016; Ham *et al.* 2020). 화상병은 세균성 병 해라는 특성상 방제가 어려우며, 현재까지 알려진 효과적 인 방제 방법은 개화기에 농용 항생제인 스트렙토마이신 (Streptomycin)을 살포하는 것이다(Kim *et al.* 2023). 농 촌진흥청은 미국 등 외국의 사례를 바탕으로 항생제와 구 리합성 화합물의 단제 또는 혼합제를 대상으로 총 16개의 약제를 직권등록시켜 농가에 보급하고 있으나(Lee *et al.* 2018), 단제 및 혼합제의 주성분 약제에 대한 화상병 방제 효과에 대한 연구는 부족한 실정이다.

기존의 주성분 약제의 방제 효율을 진단하는 방법인 PCR (Polymerase Chain Reaction)은 병 진단의 정확성은 높지만 시간이 많이 소요되며 시료를 파괴하는 단점이 있 다. 반면, 엽록소 형광 분석은 식물의 광합성 효율을 비파괴 적인 방법으로 시계열 분석할 수 있으며, 대량 분석이 가능 하다는 장점이 있어, 토마토의 시들음병과 포도의 esca병 등의 감염 여부를 평가하기 위한 기법으로 활용되었다(Oh and Koh 2005; Christen et al. 2007; Yoo et al. 2012; Wang et al. 2022). 엽록소 형광 분석법 중 하나인 OIIP (Origin Jump Intermediate Peak)는 2 ms 이내의 엽록소 형광 현상인 빛 의존적 전이(PSII)와 열 의존적인 전이(PSI)를 수치로 계 량화하여 각각의 phase를 정량화한 것이다(Papageorgiou and Govindjee 2004). OJIP 전이과정은 광계 II의 광화학 적 양자 수득률과 전자전달 능력을 좌우하며, 각 전이 단 계의 엽록소 형광 반응에 근거하여 광화학기구 간 전자 전 달 효율 및 식물의 건전성 예측이 가능하다(Strasser et al.

2004; Stirbet and Govindjee 2011). OJIP 분석을 활용하여 *E. amylovora*를 접종한 사과 잎을 분석한 결과, 엽록소 형 광반응에서 2 ms까지의 상대가변형광(V<sub>J</sub>), 30 ms까지의 상대가변형광(V<sub>I</sub>)이 증가한 것이 보고되었다. 또한 화상 병원균을 접종한 화상병 감수성인 배 잎에서 Fv/Fm과 Fm 감소가 확인되어, OJIP 분석법을 통해 배나무의 화상병으 로 인한 스트레스 및 약제 효과를 분석할 수 있을 것으로 판단된다(Hevens and Valcke 2006; Salehi *et al.* 2018).

본 연구는 엽록소 형광 분석을 활용하여 배나무 개화기 동안 화상병 방제 약제의 효과를 분석하는 것을 목적으로 수행되었다. 이를 위해 개화기 배나무 꽃에 화상병원균을 분무 접종하고 방제 약제를 처리하였다. 약제 처리 완료 후 엽록소 형광 분석을 통해 방제 약제의 효과를 분석하였다.

#### 2. 재료 및 방법

#### 2.1. 화상병 접종 및 약제 처리

본 연구는 경기도 안성시에 위치한 한경국립대학교 배나 무 화상병 간이격리시설(37°00'46.32"N, 127°19'20.55"E) 에서 2023년 4월부터 5월까지 배나무(신고 3년생)를 대 상으로 실시하였다. 병원균은 TSB (Tryptone Soy Broth, DIFCO, Thermo Fisher Scientific, MA, USA) 배지에서 109 CFU mL<sup>-1</sup> 농도로 배양된 배양액을 정해진 농도로 멸균수 로 희석하여 만들어 꽃에 분무 접종하였다. 분무 접종 시 기는 개화 수준을 기준으로 하여 1차 접종은 개화가 30~ 40% 진행되었을 때인 4월 11일에 기존 격리시설에 남아있 을 병원균의 영향을 고려하여 10<sup>4</sup> CFU mL<sup>-1</sup> 농도로 처리하 였으나, 감염이 미비하여 개화가 90~100% 수준으로 진행 되었을 때인 4월 14일에 10° CFU mL<sup>-1</sup> 농도로 현탁하여 2차 접종하였다. 화상병 방제 약제는 적정 희석 배수(Supplementary Table A1)에 맞게 수돗물로 희석하여, 스트렙 토마이신 수화제, 옥시테트라사이클린 (Oxytetracycline) 입상 수화제, 옥솔린산(Oxolinic acid) 수화제를 처리하였 다. 체계 처리에 따른 화상병 방제 효과를 검증하기 위해, 스트렙토마이신 단일처리구(A)와 스트렙토마이신과 옥시 테트라사이클린수화제 체계 처리구(B), 스트렙토마이신, 옥시테트라사이클린, 옥솔린산수화제 체계 처리구(C)로 구분하였으며, 약해를 방지하기 위해 Table 1과 같이 경엽 처리하였다. 이때 약제 처리 시기 및 횟수는 농촌진흥청 과 수화상병 예측서비스 V1.0 (RDA 2022)에서 개화 기간과

|                        | reatment <sup>a</sup> –1 d | 10 <sup>4</sup> CFU mL⁻¹ | Days after 1st inoculation |     |                                 |     |     |     |
|------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|-----|---------------------------------|-----|-----|-----|
| Treatment <sup>a</sup> |                            |                          | 1 d                        | 2 d | 3 d<br>10 <sup>6</sup> CFU mL⁻¹ | 4 d | 5 d | 6 d |
| А                      |                            |                          | •                          |     |                                 |     |     | •   |
| В                      | <b></b>                    | 1st inoculation          | •                          |     | and incordation                 | •   |     |     |
| С                      |                            |                          |                            |     | -                               | •   |     |     |
| None                   |                            |                          |                            |     |                                 |     |     |     |

Table 1. Systematic treatment with each bactericide according to flowering season prediction warnings

\*Oxytetracycline 34% (▲); Streptomycin 20% (●); Oxolinic acid 20% (■)

<sup>a</sup>A: Streptomycin single treatment; B: Oxytetracycline + Streptomycin system treatment; C: Oxolinic acid + Oxytetracycline + Streptomycin system treatment; The inoculation method is spray inoculation.

화상병 기존발생지역 등의 조건을 기준으로 설정된 꽃 감 염 위험도 1~4단계를 참고하여 화기 감염 위험이 증가하 는 시기를 맞춰 설정하였다.

#### 2.2. 엽록소 형광 분석

엽록소 형광 분석(OJIP)은 A처리구 약제 처리 완료 후, Chlorophyll fluorescence meter (FP-100; Photon System Instruments, Drásov, Czech Republic)을 이용하여 14일, 21일, 28일 총 3회 측정하였다. 각 처리당 3개체를 임의로 선정하여 개체당 꽃 주변 잎 2장을 대상으로 leaf clip을 활 용해 30분 동안 암처리 후 엽당 1회 측정하였으며, 측정한 엽록소 형광 분석 데이터는 JIP-Test (Supplementary Table A2)를 통해 엽록소 형광 매개변수를 산정하였다. Vi는 2 ms의 상대 가변 형광을 의미하고 식물이 스트레스를 받으 면 O<sub>A</sub>에서 O<sub>B</sub>로의 전자 전달이 저해되어 지수가 증가하 게 된다(Guissé et al. 1995). ABS/RC는 활성화된 반응중심 당 광에너지 흡수율을, TRo/RC는 광에너지 수득률을 나타 내는 지수로, 스트레스를 받으면 활성화된 반응중심의 수 가 감소하여 지수들이 증가한다. ET2o/RC는 QA에서 QB로 의 전자 전달 효율을, RE1o/RC는 PSI 전자수용체까지 전 자 전달 효율을 의미하며, 스트레스 상황에서 감소한다. PI total ABS와 DF total ABS는 광화학 성능 지수로, 광합성 활성 정도를 평가하는 지수로 사용된다. DIo/RC는 흡수 된 빛에너지가 광합성에 사용되지 못하고 열로 소실됨을 나타내는 지수로, 스트레스 상황에서 증가하게 된다(Yoo et al. 2012). 각 약제 처리구의 데이터는 약제 무처리구 측 정치로 나누어 정규화하여 비교하였다(Parameter (Other treatments)/Parameter (None treatment)).

#### 2.3. 화상병 PCR 진단

PCR 검정은 국립농업과학원 화상병 진단 방법을 준용하 여 RNA 추출 없이 각 시험구의 화상병 증상을 보이는 가지 를 채집하여 감염조직 표피를 제거한 후 가로 2 mm, 세로 2 mm로 자른 도관부 조직을 멸균수 100 µL에 넣어 30분간 병원균을 용출시켰다. 용출된 용액을 TSB 배지에서 24시 간 배양 후 Real-time PCR 반응에 기반한 HelixDtec<sup>TM</sup> 과 수화상병/가지검은마름병 검출 키트(NanoHelix, Korea)를 이용하여 화상병 여부를 진단하였다. PCR (Biorad CFX96; Bio-Rad, CA, USA) 조건은 95°C에서 5분간 항온처리를 하 여 효소활성화단계를 거친 후 95°C에서 10초, 60°C에서 30 초, 총 40회 증폭하여 반응을 종료시켰다.

#### 2.4. 통계분석

통계분석은 R (v 4.2.1; R Core Team 2022)을 이용하여 약제 무처리구와 약제 처리구의 비교를 *p*<0.05 수준에서 의 분산분석(ANOVA)으로 수행하였으며, 처리 간 평균비 교는 Duncan's multiple range test (DMRT) 검정을 통해 95% 신뢰수준에서 유의성을 검정하였다.

#### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 개화기 배나무의 엽록소 형광반응(OJIP) 비교

약제 무처리구는 접종 11일 후 꽃에서 병징이 확인되었 고, 20일 이후에는 잎이 고사하기 시작하였다(Fig. 1). 샘플 을 채취하여 HelixDtec 과수화상병 검출 키트(Ct value ≤ 35이면 Positive (+))로 PCR 진단을 진행한 결과, 모든 처



Fig. 1. Photographs of pear tree treated with bactericide after inoculation with fireblight pathogen. Flowers were inoculated and treated with *Erwinia amylovora* and bactericide. None treatment sections showing disease symptoms from day 21 are marked with a red box. None: Non-treatment; A: Streptomycin single treatment; B: Oxytetracycline + Streptomycin system treatment; C: Oxolinic acid + Oxytetracycline + Streptomycin system treatment.



**Fig. 2.** Bar graph showing Ct values of none, A Treatment, B Treatment, and C Treatment. Data of each column are presented as mean and standard error. Different letters within a column indicate a significant difference at p < 0.05 according to Duncan's multiple range test. A: Streptomycin single treatment; B: Oxytetracycline + Streptomycin system treatment; C: Oxolinic acid + Oxytetracycline + Streptomycin system treatment.

#### 리구에서 E. amylovora가 검출되었다(Fig. 2).

육안으로 잎의 고사가 확인되기 전인 접종 14일 후, 약제 처리에 따른 개화기 배나무의 엽록소 형광 분석을 통해 J 전이단계의 변동형광량(V<sub>J</sub>)를 비교하였다(Fig. 3). 약제 무 처리구 V<sub>J</sub>는 0.486으로 가장 높았고, C처리구는 0.442, A Table 2. Relative variable fluorescence at the J-step ( $V_{\rm J}$ ) measured at 14, 21 and 28 days after bactericide treatment

|                          | Relative variable fluorescence at the J-step (V <sub>J</sub> )<br>Days after bactericide treatment |         |         |  |  |  |  |
|--------------------------|--|---------|---------|--|--|--|--|
| Bactericide<br>treatment |  |         |         |  |  |  |  |
|                          | 14   | 21      | 28      |  |  |  |  |
| None                     | 0.486 a  | 0.475 a | 0.851 a |  |  |  |  |
| ATreatment               | 0.442 b  | 0.413 b | 0.399 b |  |  |  |  |
| B Treatment              | 0.396 c  | 0.387 b | 0.441 b |  |  |  |  |
| CTreatment               | 0.434 b  | 0.420 b | 0.432 b |  |  |  |  |
|                          |  |         |         |  |  |  |  |

\*Different letters within a column indicate a significant difference at p < 0.05 according to Duncan's multiple range test.

처리구는 0.434, B처리구는 0.396으로 가장 낮아, 화상병으 로 인한 잎의 고사가 확인되기 전인 접종 14일 후에도 약 제 무처리구의 광화학기구의 활성 저하를 확인할 수 있었 다. 접종 28일 후에는 약제 무처리구의 잎이 완전히 고사 하여 V<sub>1</sub>가 0.851로 가장 높았고, B처리구 0.441, A처리구 0.432, C처리구 0.399로 약제 처리구 간에는 유의미한 차 이가 확인되지 않았다(Table 2). 이는 *E. amylovora*에 감염 된 사과에서 광계 I, II의 활동이 억제되어 광합성량이 감소 하고, O-J 전이 단계에서 형광량이 증가한 연구 결과와 일 치하였다(Heyens and Valcke 2006; Vrancken *et al.* 2013).





**Fig. 3.** Comparison of Vop (relative variable fluorescence, Other Treatment - A Treatment) of fireblight pear trees treated with bactericide. \*A:  $\Delta V_{OP}$  at 14 days after bactericide treatment; B:  $\Delta V_{OP}$  at 21 days after bactericide treatment; C:  $\Delta V_{OP}$  at 28 days after bactericide treatment.

따라서 약제 무처리구의 O-J 전이단계에서의 엽록소 형 광량 증가는 화상병으로 인해 식물체 내 산소발생복합체 (Oxygen Evolving Complex)와 광합성계 II (PSII) 공여체 의 전자전달 저해가 발생하여 나타난 것으로 추정된다.

#### 3.2. 개화기 배나무의 광화학적 생리지표 분석

광화학적 생리 지표는 엽록소 형광 반응을 기준으로 약 제 무처리와 약제 처리를 비교하여 엽록소 형광 매개변수 를 분석하였다. 잎의 고사가 완전히 진행된 약제 처리 28일 후의 형광 매개변수 분석 결과, 약제 무처리구는 약제 처리 구 대비 ABS/RC와 TRo/RC가 증가한 것으로 확인되었다 (Fig. 4). 이는 녹화병에 감염된 감귤과 줄기녹병에 감염된 귀리에서 ABS/RC 및 TRo/RC가 증가한 연구 결과와 일치 하였다(Weng et al. 2021; Li et al. 2022). ABS/RC 및 TRo/ RC의 증가는 약제 무처리구에서 발생한 화상병으로 인해 잎이 고사함에 따라 광에너지를 흡수할 수 있는 활성화된 반응중심(RC)의 수가 감소한 결과로 추정된다.

약제 무처리구는 약제 처리구에 비해 ET2o/RC와 RE1o/ RC가 감소하여 DIo/RC의 증가와 DF total ABS의 감소가 확인되었다(Table 3). 선행 연구에 따르면 Esca병에 걸린 포도에서도 DIo/RC의 증가와 DF total ABS의 감소가 보 고되었는데, 약제 무처리구는 약제 처리구 대비 전자전달 능력의 저하로 인해 광화학기구의 에너지 연계성이 감소하 여 광화학 성능지수인 PI total ABS와 DF total ABS가 크게 감소한 것으로 판단된다(Christen *et al.* 2007). 일반적으로 식물이 병원균에 감염되면 엽록소 함량이 감소함에 따라 잎에서의 광에너지 흡수율(ABS) 감소, 광화학기구의 활성 저해 및 광에너지 손실이 발생하는 것으로 보고되었는데, 약제 무처리구는 화상병 감염으로 광화학기구가 손상되어 광합성 능력이 저해된 것으로 추정된다(Kang *et al.* 2016; Ham *et al.* 2018).

약제 처리한 모든 처리구에서 화상병원균이 검출되었으 나, 약제 무처리구의 광합성 성능지수가 크게 감소한 것에 비해 약제 처리구의 광합성 성능지수가 유지된 것은 방제 약제 처리의 효과로 추정된다. 또한 2종 체계 처리한 B처리 구에서 광화학 성능지수인 PI와 DF가 단일(C처리구) 및 3 종(A처리구) 체계 처리에 비해 더 높은 것으로 확인되어 2 종 체계 처리한 B처리구가 화상병 방제 효과가 높은 것으 로 판단된다(Fig. 4).

결론적으로, 본 연구는 엽록소 형광 분석을 활용하여 배 나무 개화기 화상병 방제 약제 효과를 정량적으로 평가하 였으며, 이를 통해 개화기 화상병 방제 약제 체계 처리에 대한 기초자료를 제공할 수 있을 것으로 판단된다. 다만, 화상병에 감염되지 않은 배나무와의 비교가 약제 무처리 구와의 비교보다 화상병 방제 약제의 효과를 명확하게 평 가할 수 있을 것이다. 또한 일반적인 방제 효과 지표(방제 가, PCR 등)와 엽록소 형광 분석 간의 상관관계 분석 등 추 가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.



Fig. 4. Comparison of energy fluxes in nursery seedlings by biological stress of fireblight pear trees treated with bactericide. A: Energy flux at 14 days after bactericide treatment; B: Energy flux at 21 days after bactericide treatment; C: Energy flux at 28 days after bactericide treatment, Other Treatment/None Treatment.

| Days after<br>bactericide<br>treatment | Bactericide<br>treatment | ABS/RC   | TRo/RC   | DIo/RC   | ET2o/RC  | RE10/RC  | PI total ABS | DF total ABS |
|--|--------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|--------------|--------------|
|  | None                     | 2.169 a  | 1.635 a  | 0.533 a  | 0.846 c  | 0.508 b  | 2.006 c      | 0.363 b      |
|  | ATreatment               | 1.908 b  | 1.468 b  | 0.440 b  | 0.853 bc | 0.576 ab | 5.449 ab     | 0.709 a      |
| 14                                     | <b>B</b> Treatment       | 1.899 b  | 1.489 b  | 0.410 b  | 0.900 ab | 0.640 a  | 7.351 a      | 0.865 a      |
|  | C Treatment              | 2.140 a  | 1.704 a  | 0.436 b  | 0.951 a  | 0.566 b  | 3.490 bc     | 0.535 b      |
|  | None                     | 2.134 a  | 1.668 a  | 0.466 a  | 0.874 b  | 0.467 b  | 2.251 c      | 0.333 c      |
|  | ATreatment               | 2.028 ab | 1.612 ab | 0.416 ab | 0.934 ab | 0.586 a  | 5.013 b      | 0.656 b      |
| 21                                     | <b>B</b> Treatment       | 1.896 b  | 1.512 b  | 0.384 b  | 0.926 ab | 0.656 a  | 8.193 a      | 0.910 a      |
|  | CTreatment               | 2.081 a  | 1.679 a  | 0.402 ab | 0.986 a  | 0.602 a  | 4.622 b      | 0.656 b      |
|  | None                     | 3.382 a  | 2.060 a  | 1.323 a  | 0.302 b  | 0.257 b  | 2.799 a      | 0.139 a      |
|  | ATreatment               | 2.168 b  | 1.715 b  | 0.453 b  | 0.972 a  | 0.617 a  | 4.222 a      | 0.609 a      |
| 28                                     | <b>B</b> Treatment       | 2.140 b  | 1.690 b  | 0.450 b  | 0.941 a  | 0.617 a  | 4.705 a      | 0.643 a      |
|  | C Treatment              | 2.007 b  | 1.634 b  | 0.373 b  | 0.980 a  | 0.532 a  | 4.222 a      | 1.156 a      |

Table 3. Changes in chlorophyll fluorescence parameters in response to fireblight infection after bactericide treatment

\*Different letters within a column indicate a significant difference at *p*<0.05 according to Duncan's multiple range test.

\*\*ABS: Absorption of light energy; RC: Reaction Center; TR: Trapping of excitation energy; DI: Photon flow dissipated as heat and fluorescence; ET: Conversion of excitation energy to electron transport; RE: Reduction of end acceptors; PI: Performance index; DF: Driving forces.

적 요

화상병의 빠른 확산으로 농촌진흥청은 약제를 농가에

보급하고 있으나, 주성분 약제에 대한 화상병 억제 효과에 대한 연구는 부족한 상황이다. 엽록소 형광 분석은 식물의 광합성 효율을 비파괴적으로 분석하여 병원균 진전에 따 른 시계열 데이터 분석이 가능하고 대량 분석할 수 있다는 장점이 있다. 본 연구는 엽록소 형광 분석을 통해 주성분 약제에 대한 화상병 억제 효과를 분석하였다. 개화 상태의 배나무(신고 3년생)를 대상으로 방제 약제와 화상병원균 을 꽃에 분무 처리 및 접종하고, 7일 간격으로 엽록소 형광 반응을 측정했다. 약제 처리 28일 후 약제 무처리구는 약제 처리구 평균 대비 O-J 전이단계의 형광량이 2배 높게 나타 났는데, 이는 병원균 감염으로 잎이 고사하여 광합성계 II (PSII) 공여체의 전자전달 저해가 발생했기 때문인 것으로 추정된다. 또한, 전자전달효율(ET20, RE10)이 감소하고 광화학적 구동력(DF total ABS)이 약제 처리구 평균 대비 20% 수준으로 감소한 것으로 나타났는데, 이는 엽록소의 손상과 광합성 능력의 감소를 의미한다. 결론적으로, 엽록 소 형광 기술을 활용하여 배나무 개화기 화상병 방제 효과 를 정량적으로 평가할 수 있을 것으로 사료된다.

#### **CRediT** authorship contribution statement

TS Eom: Methodology, Validation, Investigation, Resources, Writing-Original draft preparation. JY Shim: Methodology, Validation, Investigation, Resources, Writing-Original draft preparation. SY Jang: Methodology, Investigation, Resources. YB Hwang: Methodology, Investigation, Resources. SY Yoo: Conceptualization, Validation, Writing-Review and editing. JY Choi: Methodology, Investigation, Resources. TW Kim: Conceptualization, Validation, Writing-Review and editing.

#### **Declaration of Competing Interest**

The authors declare no conflicts of interest.

#### 사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: RS-2021-RD012471) "배나무 화상병 발생지 격리시설에서의 화상 병 수체내 전이경로와 방제 효과 구명"의 지원에 의해 이 루어진 것임.

#### REFERENCES

- Billing E. 2011. Fire blight. Why do views on host invasion by *Erwinia amylovora* differ? Plant Pathol. 60:178–189. https://doi.org/ 10.1111/j.1365-3059.2010.02382.x
- Bonn WG and T van der Zwet. 2000. Distribution and economic importance of fire blight. pp. 37–53. In: Fire Blight: The Disease and its Causative Agent, *Erwinia amylovora* (Vanneste J, ed.). CAB International. Wallingford, UK. https://doi.org/10. 1079/9780851992945.0037
- Christen D, S Schönmann, M Jermini, RJ Strasser and G Défago. 2007. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. Environ. Expt. Bot. 60:504–514. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot. 2007.02.003
- Guissé B, A Srivastava and R Strasser. 1995. The polyphasic rise of the chlorophyll *a* fluorescence (OKJIP) in heat stressed leaves. Arch. Sci. 48:147–160. https://doi.org/10.5169/SEALS-740252
- Ham H, YK Lee, HG Kong, SJ Hong, KJ Lee, GR Oh, MH Lee and Yh Lee. 2020. Outbreak of fire blight of apple and Asian pear in 2015–2019 in Korea. Res. Plant Dis. 26:222–228. https:// doi.org/10.5423/RPD.2020.26.4.222
- Ham HD, TS Kim, MH Lee, KB Park, JH An, DH Kang and TW Kim. 2018. The assessment of photochemical index of nursery seedlings of cucumber and tomato under drought stress. Korean J. Environ. Biol. 36:479–487. https://doi.org/10.11626/ KJEB.2018.36.4.479
- Heyens K and R Valcke. 2006. Fluorescence imaging of the infection pattern of apple leaves with *Erwinia amylovora*. Acta Horticult. 704:69–74. https://doi.org/10.17660/ActaHortic. 2006.704.7
- Kang HG, TS Kim, SH Park, TW Kim and SY Yoo. 2016. Photochemical index analysis on different shading level of garden plants. Korean J. Environ. Biol. 34:264–271. https://doi.org/10. 11626/KJEB.2016.34.4.264
- Kim SH, SH Ryu, B Yun, KH Cho, SY Cho and JG Park. 2023. Pytotoxicity by continuous spraying of fruit fire blight disinfectant during growing season of apple and pear. Korean J. Plant Res. 36.1. 100–106. https://doi.org/10.7732/KJPR.2023.36.1.100
- Lee MS, I Lee, SK Kim, CS Oh and DH Park. 2018. *In vitro* screening of antibacterial agents for suppression of fire blight disease in Korea. Res. Plant Dis. 24:41–51. https://doi.org/10. 5423/RPD.2018.24.1.41
- LiY, J Liu, P Lv, J Mi and B Zhao. 2022. Silicon improves the photosynthetic performance of oat leaves infected with *Puccinia graminis* f. sp. *avenae*. Front. Plant Sci. 13:1037136. https:// doi.org/10.3389/fpls.2022.1037136

- EPPO. 2013. PM 7/20 (2)\* *Erwinia amylovora*. EPPO Bulletin. 43:21-45. https://doi.org/10.1111/epp.12019
- Oh SJ and SC Koh. 2005. Analysis of O-J-I-P transients from four subtropical plant species for screening of stress indicators under low temperature. J. Environ. Sci. 14:389–395. https:// doi.org/10.5322/JES.2005.14.4.389
- Papageorgiou GC and Govindjee. 2004. Chlorophyll *a* Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration. Vol. 19. Springer. Dordrecht, Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9
- Park DH, JG Yu, EJ Oh, KS Han, MC Yea, SJ Lee, IS Myung, HS Shim and CS Oh. 2016. First report of fire blight disease on Asian pear caused by *Erwinia amylovora* in Korea. Plant Dis. 100:1946. https://doi.org/10.1094/PDIS-11-15-1364-PDN
- R Core Team. 2022. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. https://www.R-project.org/. Accessed May 21, 2024.
- RDA. 2022. Fruit Tree Fire Blight Prediction Information System. Rural Development Administration. Jeonju, Korea. https:// www.fireblight.org/mobile/index. Accessed April 3, 2023.
- Salehi Z, H Abdollahi and SM Miri. 2018. Chlorophyll fluorescence response in susceptible and tolerant pear cultivars to fire blight in active and inactive chloroplast conditions. Seed Plant Prod. J. 34:73–87. https://doi.org/10.22092/sppj.2018.118102
- Stirbet A and Govindjee. 2011. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll *a* fluorescence induction) and photosystem

II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. J. Photochem. Photobiol. B-Biol. 104:236–257. https:// doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.12.010

- Strasser RJ, M Tsimilli-Michael and A Srivastava. 2004. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. pp. 321–362. In: Chlorophyll *a* Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. Springer. Dordrecht, Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9\_12
- Vrancken K, M Holtappels, H Schoofs, T Deckers and R Valcke. 2013. Pathogenicity and infection strategies of the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* in Rosaceae: State of the art. Microbiol. 159:823–832. https://doi.org/10.1099/mic.0.064 881-0
- Wang X, W Yang, Y Yang, M Huang, Y Guo and Q Zhu. 2022. Application of chalorophyll *a* fluorescence in analysis and detection of bacterial wilt in tomato plants. J. ASABE 65:347– 356. https://doi.org/10.13031/ja.14696
- Weng H, Y Liu, I Captoline, X Li, D Ye and R Wu. 2021. Citrus Huanglongbing detection based on polyphasic chlorophyll *a* fluorescence coupled with machine learning and model transfer in two citrus cultivars. Comput. Electron. Agric. 187:106289. https://doi.org/10.1016/j.compag.2021.106289
- Yoo SY, KC Eom, SH Park and TWV Kim. 2012. Possibility of drought stress indexing by chlorophyll fluorescence imaging technique in red pepper (*Capsicum annuum* L.). Korean J. Soil Sci. Fert. 45:676–682. https://doi.org/10.7745/KJSSF2012.45.5.676

| Bactericide                 | Active ingredient (%) | Recommended dilution |
|-----------------------------|-----------------------|----------------------|
| Streptomycin WP             | 20                    | 2,000                |
| Oxytetracyclinedihydrate WP | 34                    | 4,000                |
| Oxolinic acid               | 20                    | 2,000                |
|                             |                       |                      |

Supplementary Table A1. Information of the tested bactericide for fireblight

\*WP: Wettable powder

Supplementary Table A2. Formulas and glossary of terms used by the JIP-test for analyzing fluorescence transient OJIP (Stirbet and Govindjee 2011)

| Data extracted from the recorded fluorescence transient O-J-I-P   |  |  |  |  |  |
|---|--|--|--|--|--|
| Fo  | Fluorescence at the O-step (50 µs ) of O-J-I-P   |  |  |  |  |
| $F_J \equiv F_{2m}$   | Fluorescence at the J-step (2 ms) of O-J-I-P   |  |  |  |  |
| $F_1 \equiv F_{30ms}$   | Fluorescence at the I-step (30 ms) of O-J-I-P  |  |  |  |  |
| $F_{\rho} \equiv (F_{\mathcal{M}})$   | Maximal recorded (=maximal possible) fluorescence, at the peak P of O-J-I-P  |  |  |  |  |
| $F_V \equiv F_M - F_o$  | Maximal variable fluorescence  |  |  |  |  |
| $V_J = (F_J - F_o) / (F_M - F_o)$   | Relative variable fluorescence at the J-step   |  |  |  |  |
| $V_l = (F_l - F_o) / (F_M - F_o)$   | Relative variable fluorescence at the I-step   |  |  |  |  |
| $F_V/F_M = 1 - F_o/F_M$   | Maximum quantum yield of primary PSII photochemistry   |  |  |  |  |
| Specific energy fluxes (per Q <sub>A</sub> -reducing PS II reaction center, RC)                         |  |  |  |  |  |
| $ABS/RC = M_o(1/V_J)(1/\varphi_{Po})$   | Absorption flux per RC   |  |  |  |  |
| $TR_O/RC = M_o(1/V_J)$  | Trapped energy flux per RC (at $t=0$ )   |  |  |  |  |
| $ET2_o/RC = (M_o/V_J)(1 - V_J)$   | Electron transport flux from $Q_A$ to $Q_B$ per RC (at $t=0$ )   |  |  |  |  |
| $RE1_o/RC = (M_o/V_J)(1 - V_I)$   | Electron transport flux until PSI acceptors per RC (at $t=0$ )   |  |  |  |  |
| $DI_o/RC = (ABS/RC) - (TR_o/RC)$  | Disipated energy flux per RC (at $t=0$ )   |  |  |  |  |
| Phenomenological energy fluxes/activities (per  | r excited cross section, CS)   |  |  |  |  |
| ABS/CS <sub>x</sub>   | Absorption flux per CS; ' $x'$ = 'Chl', 0, or 'M'  |  |  |  |  |
| $TR_{o}/CS_{x} = \varphi_{Po}(ABS/CS_{x})$  | Trapped energy flux per CS (at $t=0$ )   |  |  |  |  |
| $ET2_o/CS_x = \varphi_{Eo}(ABS/CS_x)$   | Electron transport flux per CS (at $t=0$ )   |  |  |  |  |
| $RE1_o/CS_x = \varphi_{RE1o}(ABS/CS_x)$   | Electron transport flux until PSI acceptor per CS (at $t=0$ )  |  |  |  |  |
| $DI_o/CS_x = (ABS/CS_x) - (TR_o/CS_x)$  | Dissipated energy flux per CS (at $t=0$ )  |  |  |  |  |
| Performance index   |  |  |  |  |  |
| $PI_{ABS} = \frac{RC}{ABS} \cdot \frac{\varphi_{Po}}{1 - \varphi_{Po}} \cdot \frac{\psi_o}{1 - \psi_o}$ | Performance index for energy conservation from photons absorbed by PSII antenna, to the reduction of $\ensuremath{Q}_{\ensuremath{B}}$ |  |  |  |  |
| $PI_{Total ABS} = PI_{ABS} \cdot [\delta_{RE1o} / (1 - \delta_{RE1o})]$                                 | Performance index for energy conservation from photons absorbed by PSII antenna, until the reduction of PSI acceptors                  |  |  |  |  |
| Driving forces (total driving forces for photochemical activity)  |  |  |  |  |  |
| $DF = \log(PI)$   | Driving force on absorption basis  |  |  |  |  |
| Technical fluorescence parameters   |  |  |  |  |  |
| Vt = (Ft - Fo)/(FM - Fo)  | Relative variable Chl fluorescence   |  |  |  |  |

\**F*: Fluorescence; *V*: Variable fluorescence; ABS: Absorption of light energy; TR: Trapping of excitation energy; φPSII: actual PSII efficiency; ET: Conversion of excitation energy to electron transport; DI: Photon flow dissipated as heat and fluorescence; RE: Reduction of end acceptors; PI: Performance index; DF: Driving forces; Vt: Variable technical fluorescence parameters.