

사과뿌리썩이선충의 침입과 기주의 해부학적 및 생화학적 변화에 관한 연구

Anatomical and Biochemical Changes of Corn Roots Infected with *Pratylenchus vulnus*

한혜림 · 한상찬 · 김용균

Hyerim Han, Sangchan Han and Yonggyun Kim

ABSTRACT Anatomical and biochemical changes of the corn root injured by the root lesion nematode, *Pratylenchus vulnus*, were examined to understand the interactions between the nematode and the crop which can be applied to a breeding program for nematode-resistant crop. The nematode entered the cortex of corn root through its epidermis. They moved to other cortical cells by breaking their cell walls. They, finally, gathered around the endodermis of the roots and the bases of the root hairs. Parasitism of the nematode formed cavities within the root tissues where the females laid eggs. Major root damage by the nematode occurred in the cortical cells where most cell walls were broken and crushed to form empty spaces. These empty spaces in the base of the root resulted in its breakdown. Damage-induced biochemical changes of the corn roots were analysed by their total protein patterns and esterase activities in both control and nematode-infected roots. Denaturing gel did not show any significant difference in the banding patterns between them. Esterase patterns and activities, also, were not significantly different between the infected and the control roots.

KEY WORDS *Pratylenchus vulnus*, host penetration, anatomical structure, corn root, esterase activity, total proteins

초 록 본 연구는 뿌리썩이선충(*Pratylenchus vulnus*)이 옥수수뿌리조직을 침입했을 때, 조직의 해부학적·생화학적 변화를 밝힘으로써 식물과 선충의 상호관계를 이해하고, 이들 정보를 바탕으로 선충저항성 작물의 육종 및 선별에 활용하기 위함이다. 옥수수뿌리 표피를 뚫고 들어온 선충은 뿌리 피층에 자리를 잡고, 세포벽을 파괴하면서 다른 세포로 이동한다. 마침내 선충들은 피층의 내피와 세근의 기부에 밀집했다. *P. vulnus*의 알컷들은 세포내에 공간(cavity)을 형성하여 그 속에 알을 낳는 습성을 지니고 있다. 선충에 의한 주된 피해양상은 세포벽이 파괴되고 부서져서 공간을 형성하는 것으로 나타난다. 이러한 현상은 세근의 기부에서도 관찰된다. 선충의 피해로 야기된 옥수수 뿌리의 생화학적 변화는 선충접종구와 무접종구간 총단백질양과 esterase 활성조사를 통해 비교·분석되었다. Denaturing gel 상에서의 총단백질양의 비교는 유의한 차이를 나타내지 않았고 esterase의 pattern 및 활성에서도 유의할 만한 차이는 발견되지 않았다.

검색어 뿌리썩이선충, 기주침입, 뿌리구조, 옥수수뿌리, 에스테라제활력, 총단백질

뿌리썩이선충(*Pratylenchus* spp.: root lesion nematode)은 현재 전 세계적으로 61종이 알려져 있고 국내에서도 8종(*P. minyus*, *P. penetrans*, *P. pratensis*, *P. pseudopratensis*, *P. scribneri*, *P. thornei*, *P. vulnus*)이 조사된 바 있으며(최 등 1991) 기주범

위가 넓은 것이 특징이다. *P. vulnus*의 경우, 배, 사과, 복숭아 등의 과수류 작물의 뿌리에 많이 분포하고 있으나 그 외에도 감자, 콩, 벼, 포도, 귤, 호두, 상치, 양배추, 옥수수 및 장미 등의 작물 뿌리에서도 피해를 주고 있다(최와 나 1982, Decker 1989). 피해 양상은

¹안동대학교 자연과학대학 농생물학과 (Department of Agricultural Biology, College of Natural Sciences, Andong National University, Andong 760-749)

주로 뿌리의 괴저(necrosis)로 인한 식물의 생리장애로 지상부의 황화, 위축 등을 나타내는데 토양, 온도, 수분 등의 주위환경이 열악하거나 다병원체와 복합 감염이 심하게 되면 그 피해는 작물 수량에도 영향을 미친다(최등 1992, Elliot & Bird 1985, Olthof & Potter 1977, Dropkin 1980). 선충이 감염된 식물체는 선충의 식도선에서 분리되는 pectinase와 cellulase로 인해 세포벽이 분해되어진다(Decker 1989). 이러한 세포 외부물질로 인해 세포내의 이온 균형은 깨어지고 pH변화를 초래하는데, 이것은 lysosome내의 여러 가수분해효소를 활성화시켜 세포내 모든 유기물을 분해시키는 기작을 초래하게 된다.

본 실험은 선충의 접종과 증식이 용이한 옥수수를 공시작물로 하여, 뿌리썩이선충의 피해기작을 해부학적 및 생화학적으로 규명하고자 실시되었다. 일차적으로 뿌리염색을 통해 선충의 침입, 이동, 산란, 피해를 관찰하고 이를 기초로 조직절단을 통한 뿌리구조 관찰로 보다 정확한 선충의 서식위치 및 피해양상을 조사하였다. 또, 접종구와 무접종구간의 단백질 pattern 및 esterase activity를 비교함으로써 선충의 기생이 기주에 미치는 영향을 구명코자 하였다.

재료 및 방법

공시선충

공시동물인 사과뿌리썩이선충(*P. vulnus*)은 안동시 일원의 사과원에서 사과뿌리 주변의 토양을 대상으로 그 발생정도를 조사하여 밀도가 높은 곳(84마리/토양 100g)을 선정하였다. 따라서 공시충은 별도로 증식시키지 않고 사과원의 토양을 원예용토와 2:1로 섞은 것을 사용하였다.

옥수수 파종

선충이 서식하고 있는 토양(상기 사과원 토양과 원예용토를 2:1로 섞어 만든 것)과 건전토양(상기와 같은 비율로 섞은 흙을 121°C 1기압에서 60분간 살균한 것)을 직경 7cm pot에 채운 다음 25°C 항온기에서 최아시킨 옥수수를 pot당 한 알씩 파종하였다. 파종은 8월 12일, 8월 29일, 8월 31일, 9월 6일, 9월 10일 다섯 차례에 걸쳐 실시되었다.

뿌리 해부학적 관찰

침입과 서식 부위조사: 선충의 침입시기, 위치, 이동방향, 산란을 조사하기 위해서 파종일로부터 각각 18시간, 24시간, 또 파종일로부터 3일 간격으로 뿌리염색을 하였다. 뿌리염색 순서는 깨끗하게 씻은 뿌리를 2% NaOCl에 4분간 침지하여 표백한 후, 15분간 물에 담구어 잔여한 NaOCl을 제거해 주었다. 그런 다음, 뿌리를 물 30 ml당 1 ml의 염색액(acid fuchsin 3.5g, acetic acid 250 ml, 증류수 750 ml)을 넣고 30초 동안 끓인 뒤 실온에서 냉각시켜 다시 글리세린 20~30 ml 용액속에 염색된 뿌리를 넣어 비등점까지 가열하였다.

가해부위의 미세구조: 뿌리를 흐르는 물에 깨끗이 씻은 다음 4~5 mm 크기로 잘라준 후 접종된 것과 접종되지 않은 것으로 구분하여 Navashin's Fluid(증류수 75 ml, chromic acid 0.8g, glacial acetic acid 20 ml, 40% formaldehyde 5 ml)에 담구어 24시간 고정시켰다. 24시간 고정시킨 시료들은 증류수로 헹구어 낸 다음 Zirkle technique(Gray 1964, Suarez 1988)으로 alcohol series와 tertiary butyl alcohol series를 연결하여 각 단계별 시간은 1시간 30분씩 한꺼번에 탈수 및 clearing을 시켰다. 과정을 끝낸 시료는 Frozen-microtome(Cryocut 1800, Cambridge Instrument)을 사용하여 10~15 µm 두께로 뿌리절단을 하였다. 절단한 뿌리의 염색은 Johansen's safranin(Gray 1964), Fast-green FCF, acid fuchsin 용액을 사용했다.

생화학적 관찰

전기영동(Polyacrylamide gel electrophoresis: PAGE): 총 단백질의 분석은 3.75% stacking gel과 7.5% resolving gel의 discontinuous gel(Laemmli 1970)을 사용한 denaturing PAGE로, 효소분석은 6% continuous gel(Davis 1964)에서 각각 조사하였다. Tracking dye가 바닥까지 움직였을 때 전원을 끄고 coomassie blue로 약 2시간 동안, 2차 탈색은 methanol 5%와 acetic acid 7%의 용액에서 48시간 이상 시켰다. Esterase 분석을 위한 염색은 fast blue RR salt 용액(1% α,β-naphthyl acetate 각각 1 ml씩, acetone 4 ml, 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 9.2) 50 ml, 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 4.3) 10

ml, fast blue RR salt 80 mg)을 사용하였다.

옥수수 뿌리 시료 : 일정 무게의 옥수수 뿌리는 면도칼로 잘게 썰어 1.5 ml eppendorf tube에 담아 두었다. 모든 작업은 ice pack 위에서 이루어졌으며 단백질 변성을 막기 위해 모든 시료는 -20°C 냉동실에서 보관되었다.

Denaturing PAGE 시료를 위해 옥수수 시료 100 mg당 1 ml의 TCA acetone(10% trichloric acid, 0.07% β -mercaptoethanol in acetone)을 넣고 막자와 막자사발을 이용하여 뿌리를 갈아 주었다. TCA와 함께 갈아준 시료는 -20°C 냉동실에서 약 15분간 보관하였다. 이후 15,000 rpm 상태에서 5분간 원심분리시킨 시료의 상층액은 pipette으로 뽑아 제거하고 나머지는 0.07% β -mercaptoethanol을 함유한 100 ml cold acetone(5°C)에 녹였다. 이를 15,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 다시 cold acetone을 섞고 마찬가지로 방법으로 원심분리상층액을 가능한 한 완전히 제거한 뒤 남은 침전물은 진공건조기에 넣어 약 1시간 정도 진공탈수시켰다. 탈수가 끝나면 시료 1 mg당 30 μg 의 2X SDS grinding buffer(4% sodium dodecyl sulfate, 20% glycerol, 10% β -mercaptoethanol in 0.125 M Tris-Cl, pH 6.8)에 넣어 섞어 주었다. SDS grinding buffer를 섞어준 시료에서 각각 30 μg 씩 피펫으로 뽑아 tube에 옮긴 다음 100°C 물에 담구어 5분간 끓였다. 이 시료는 마지막으로 원심분리한 후 상층액을 micropipette으로 30 μg 씩 뽑아 gel의 각 well에 분주하였다.

Nondenaturing PAGE 시료는 nondenaturing grinding buffer(40% sucrose, 0.01% bromophenol blue, 0.004% basic fuchsin, 0.154% dithiothreitol, 0.0372% EDTA in electrode buffer) 300 μl 를 시료에 넣고 갈아주었다. 15,000 rpm에서 5분간 원심분리시켜준 다음 상층액 30 μl 를 gel의 각 well에 분주하여 주었다.

단백질 정량분석 : 단백질 정량분석을 하기 위해 사용된 방법은 Bradford 방법(Bradford 1976)이다. 시료는 pH 6.5의 PBS-TX(10% NaCl, 0.25% KCl, 1.8% Na_2HPO_4 , 0.3% KH_2PO_4 , 0.05% Triton-X100)를 넣어 갈아 주었고, 갈아준 시료는 15,000 rpm에서 3분간 원심분리시켰다. 원심분리한 시료의 상층액은 Bradford 용액을 1 ml씩 분주한 spectrophotometer용 tube에 넣어 혼합하였다. 시료의 준비가 모두 끝나면,

double beam spectrophotometer(Uvicon 930, Konton Instrument)의 광파장을 595 nm에 고정시켜 각 sample의 단백질량을 측정하였다. 이때 표준용액으로는 농도별로 bovine serum albumin을 사용하였다.

Esterase 활력 측정법 : 시료는 단백질 분석시와 마찬가지로 PBS-TX 용액을 넣은 후 갈아주었다. 원심분리한 시료의 상층액은 200 μl 씩 tube에 넣은 다음, 25°C 에서 10분간 두었다. 그런 다음, substrate로 α -naphthyl acetate가 첨가된 용액을 400 μl 씩 다시 tube에 넣어주고, 25°C 에서 30분간 보존시켰다. Spectrophotometer의 광파장은 550 nm에 고정시켜 두었으며, 측정 직전에 0.8 mg/ml Fast Gannet GBC 400 μl 로 반응시켰다. 이때 표준시료는 α -naphthol을 사용하였다.

결과 및 고찰

선충의 침입과 이동

선충접종후 18시간, 24시간 두 차례에 걸친 뿌리 염색 결과 선충의 최초 침입은 24시간 경과 후 주근 전체에 평균 4~6마리가 침입하였다. 일단, 선충의 침입이 이루어지면 그 수는 기하급수적으로 증가하여 접종후 9일이 되면 최대를 이루는데 1뿌리당(뿌리길이 12 cm, 뿌리무게 0.3g) 최고 330마리까지 분포하였다. 침입한 선충들은 옥수수 뿌리 하단부보다는 초기 침입부위인 상단부에 전체적인 분포도가 높았고, 그 분포 형태는 작은 무리를 이룬 듯한 양상을 나타내었다.

옥수수 경우 *Pratylenchus vulnus*는 주근, 측근, 세근을 가리지 않고 뿌리의 표피를 뚫고 침입하는 것으로 관찰되었다. 이때 선충은 뿌리표피에 hole을 형성하는데(Fig. 1), 이에 관한 기작은 Kurpp & Vrain (1985) 이 기계적인 힘과 효소분비가 함께 관여한 것임을 처음 제시하였다. 실제로 Decker(1989)는 *P. penetrans*의 경우 식도선에서 분비되는 pectinase와 cellulase가 *heterodera trifolii*와 비교했을 때 각각 2배, 7배가 많은 것을 밝힘으로써 뿌리척이선충의 침입기작이 효소분비와 관계가 있음을 뒷받침해 주었다. 일단 표피세포를 뚫고 들어간 선충은 Fig. 2에서 볼 수 있듯이 피층에 자리를 잡고 뿌리의 축과 목체를 평행으로 한 상태에서 바로 세포를 가해와 흡즙하기 시작했다. *P. penetrans*의 경우 구침은 1분에

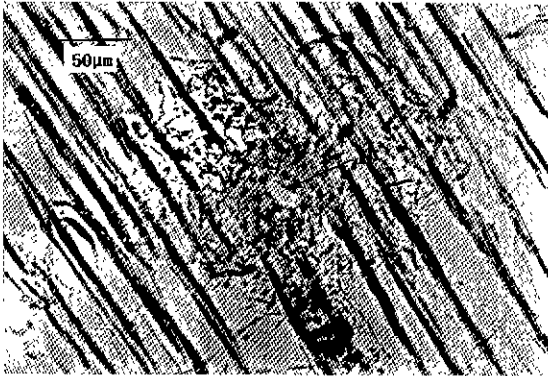


Fig. 1. Penetration of *P. vulnus* into the root to form a hole (H) in the epidermis. One day after the nematode inoculation.

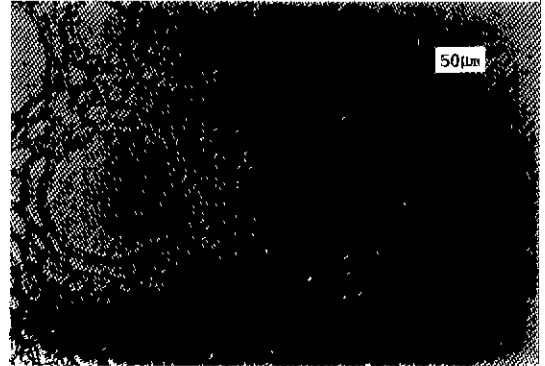


Fig. 3. *P. vulnus* in the endodermis at 9 days after the nematode inoculation.

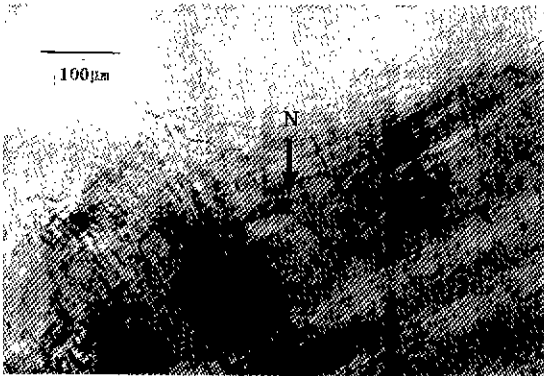


Fig. 2. *P. vulnus* in the base of the root hair at 9 days after the nematode inoculation.

평균 60~70회씩 움직이며 세포를 파괴하는 것으로 알려져 있으며(Decker 1989), *P. agilis*의 경우 세포 내용물을 흡즙하는 pumping 작업은 1분에 350±50회였다(Rebois & Huettle 1986).

염색을 통해 확인한 결과 선충의 밀집부위는 주로 세근의 기부로 나타났는데 선충은 이 부위에서 세포를 흡즙하다가 세근이 성장함에 따라 이와 함께 이동해 나가는 것으로 추정된다(Fig. 2). 이때 선충은 세근의 cortex 세포를 가해함으로써 토양으로부터 뿌리 양분흡수를 저해하게 된다. 그러나, 세근에 존재하는 모든 선충이 주근의 cortex에서 이동한 선충으로 보기는 어려우며, 토양 속에 존재한 선충이 세근의 cortex로 침입했을 가능성도 있다. Fig. 4에서 볼 수 있듯이 세근의 분지점은 분열조직이 형성됨

으로써 많은 수의 핵이 관찰되었다 즉, 선충은 신선한 세포가 계속적으로 생성되는 먹이가 풍부한 곳으로 모였다.

뿌리피층은 세포간극이 풍부한 것이 특징으로, 옥수수는 타작물에 비해 피층이 차지하는 비율이 높다. 대부분의 *Pratylenchus*속 선충들의 피해부위가 표피 세포와 cortex층으로 한정되어 있다는 사실은 이미 보고된 바가 있다(Insera & Vovals 1977, De Waele et al. 1988, Vovals & Troccoli 1990, Orion & Lapid 1993). 침입부위는 선충에 따라 달라 *Meloidogyne* spp.의 유충들은 뿌리의 갈라진 틈이나 손상받은 부위 또는 뿌리가 새로 자라나오는 부위를 가해하고 (Lewis 1987), *P. mediterraneus*(Corbett 1993)의 경우는 세근의 성장점 부근을 침입했다(Orion & Lapid 1993).

포도(*Vitis vinifera*)에서 *P. vulnus*는 알, 유충, 성충단계를 cortex내에서 거치지만 endodermis를 가해하는 양상은 관찰되지 않았다고 보고되어 있다(Pinochet & Raski 1977). 반면에 *P. penetrans*가 양배추 뿌리를 가해할 때 endodermis까지 침입해 들어갔다는 보고도 있다(Lee & Lona 1987). 본 실험에서 *P. vulnus*는 옥수수의 endodermis까지 침입해 들어가는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). Endodermis가 양분의 이동과 관계한다는 점(Esau 1990)에서 보았을 때 endodermis로의 침입 유무는 기주에 대한 선충의 피해정도를 추측할 수 있는 기준이 될 수 있다. 따라서 cortex내 선충의 이동양상은 일관성 있는 것이 아니라 기주와 선충종에 따라 다르다는 것을 알 수

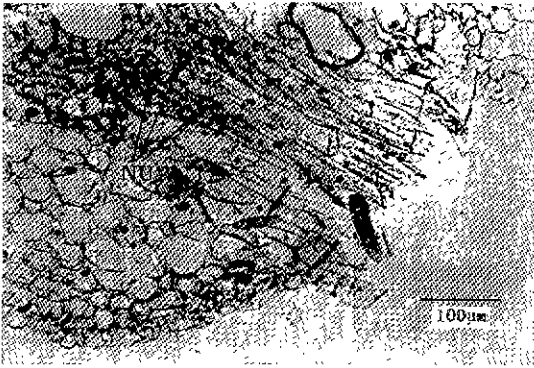


Fig. 4. *P. vulnus* in the root at 9 days after the nematode inoculation. NU: Nucleus.

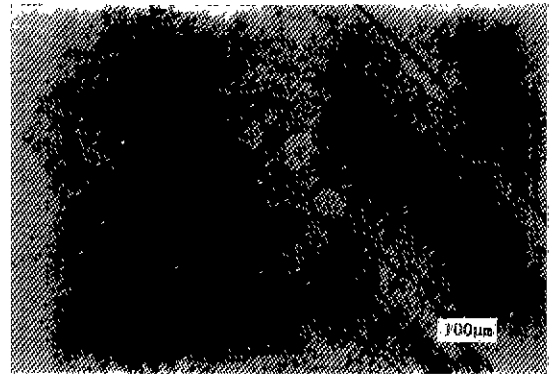


Fig. 6. Root cortex injured (I) by *P. vulnus* at 9 days after the nematode inoculation.

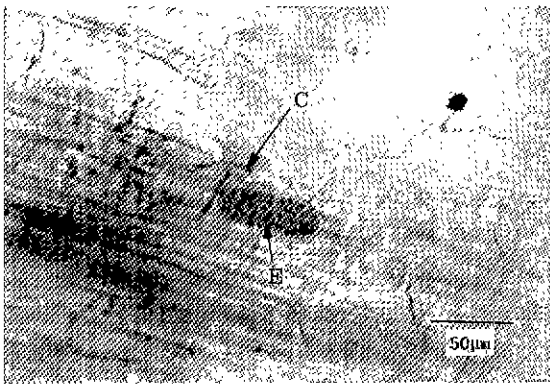


Fig. 5. Eggs (E) of *P. vulnus* in the cell cavity (C) at 12 days after the nematode inoculation.

있다.

*Pratylenchus*속 선충들은 세포를 가해하면서 세포 내에 공간(cavity)을 형성하는 특징이 있는데(Insera & Voals 1977, Pinochet & Raski 1977, Orion & Lapid 1993), 성숙한 암컷들은 이 공간속(Fig. 5)에 산란을 하는 습성이 있다.

뿌리조직의 해부학적인 변화

뿌리썩이선충이 빠른 속도로 세포를 파괴시켜 괴저(necrosis)를 형성할 수 있는 이유는 구침의 물리적인 힘과 식도에서 분비되는 효소의 작용에 있다고 할 수 있다(Decker 1989). Frozen-microtome을 이용한 조직의 해부학적 변화의 관찰은 앞서 뿌리염색을 통해본 선충의 침입과 이동에서 조사된 사실을 바탕으로 하여 보다 구체적인 피해양상을 밝히고자

함이다.

Frozen-microtome을 이용한 뿌리의 절단은 종전의 paraffine을 이용한 방법보다 사용이 간편하고, 뿌리 염색만으로는 알 수 없는 보다 구체적인 조직 변화를 관찰할 수 있다는 점에서 잇점이 있다. 일반적인 Frozen-microtome 사용에 있어서는 생체의 시료를 바로 사용하지만, 선충이 식물체내에 기생하고 있는 상태의 식물체를 시료로 쓸 경우엔, 고정액을 선별하여 선충과 식물조직을 고정시킴으로써 조직이 파괴되거나 선충이 심하게 분리되는 현상을 막고자 하였다. 또, 성충단계의 뿌리혹선충이나 씨스트선충의 암컷처럼 정주성을 나타내는 선충의 경우는, 그 위치가 육안으로도 파악될 수 있어 조직변화의 관찰이 용이하나, 뿌리썩이선충과 같이 이동성인 내부 기생선충은 선충의 서식처를 쉽게 파악할 수 없는 애로점이 있다 특히, 옥수수의 경우 necrosis 잘 형성되지 않는 특성이 있기 때문에(Dropkin 1980), 선충의 침입위치는 지속적인 뿌리염색을 통해 선충의 밀집부위를 확인한 다음, 그 부위를 집중적으로 잘라 여러번 절단하는 과정을 거쳤다.

Fig. 6은 선충의 피해를 받은 조직과 건전한 조직 간의 차이를 보여 주고 있다. 집중한 지 9일된 뿌리의 횡단면에는 cortex의 조직이 엉성하게 일그러져 마치 여러 개의 세포가 융합해서 커진듯한 빈공간이 많이 보였다. 반면, 건전한 조직의 cortex 세포들은 세포 구조가 조밀하고 그 크기도 비교적 균일한 상태로 배열되어 있었다(Fig. 7). *P. mediterraneus*에 의해 피해를 받은 *Vicia sativa*의 절단면에서도 세포조직이

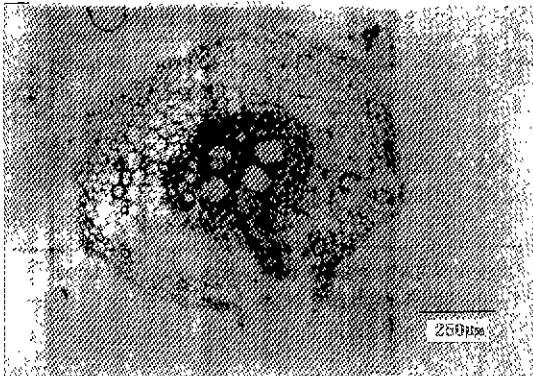


Fig. 7. Nematode-free healthy root (6 days old)

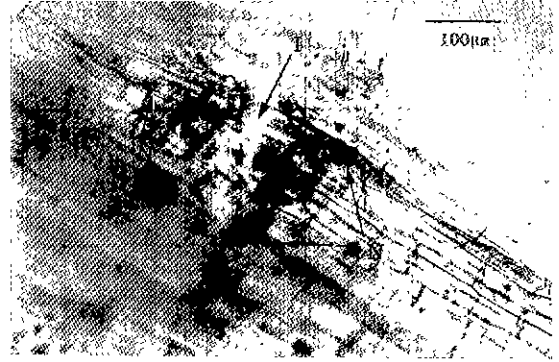


Fig. 9. Damage (I) by *P. vulnus* in the cortical cells at 15 days after the nematode inoculation.

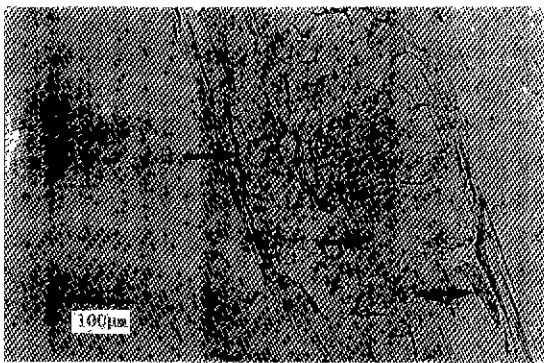


Fig. 8. Damage (I) by *P. vulnus* in the base of root hair at 12 days after the nematode (N) inoculation.

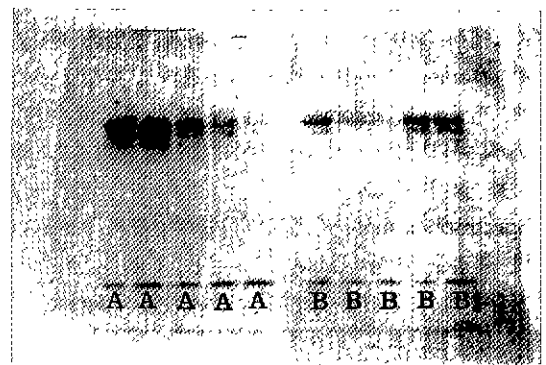


Fig. 10. General esterase patterns of nematode-infected (A) or control (B) corn roots.

완전히 파괴된 양상을 보였는데, 이것은 핵과 세포질이 상실되어 비어 있는 형태이며, 세포내용물은 선충에 의해 흡수된 것으로 간주된 바 있다(Orion & Lapid 1993). 대체로 선충은 cortex 내에서 측과 나란히 한 형태를 취하면서 두부근처의 세포를 파괴·흡수한다. 선충이 밀집한 부위로 관찰된 바 있던 세근의 기부에서는 뿌리 주변세포가 심하게 가해되어 파괴된 것이 많이 보였다(Fig. 8).

이상과 같은 조직의 횡·종단에서 관찰된 세포조직학적 피해양상 외에도 선충이 가해한 세포부위에 다른 병원균이 복합적으로 침입하여 병리적 현상을 보였다. Fig. 9는 선충으로 인해 파괴된 세포의 상처 가장자리가 죽어들어 가고 있으며 선충이 집중적으로 가해한 부위에 타병원체로 추정되는 2차적 침입으로 조직이 갈라진 현상이었다.

뿌리조직의 생화학적 변화

기주 기생체간 상호작용은 그 초기단계에서 기주의 유전자 전사와 해독에 있어서 변화를 유도한다(Misaghi 1982). 특히, 해독과정에서는 이와 관계된 단백질 및 효소의 변화를 수반한다고 보고되어 있다. 일단, 단백질 합성이 증가되면, 이는 효소합성을 촉진시킬 수 있게 되고 또 기주에 있어 방어역할을 하는 다른 단백질의 합성 가능성도 높인다고 할 수 있다. 기생체로부터 침입을 받은 조직에서는 phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase, peroxidase 등 aromatic biosynthesis와 관련된 효소들과 phenolics, phenolic derivates 등이 합성되는 것으로 알려져 있다(Misaghi 1982).

옥수수뿌리 조직의 총단백질 분석결과는 접종과 무접종구간의 일관성 있는 단백질 pattern 차이는 발견하지 못하였다. 선충에서 유래되는 단백질은 특이한 pattern을 나타내었지만, 접종구와 무접종구간

Table 1. Esterase activities in control and nematode (*P. vulnus*)-infected corn roots

Treatment	Host age (days)	No. of treated samples	Total proteins ($\mu\text{g/ml}$) (mean \pm SD)	Esterase activity* ($\text{pM/min}/\mu\text{g}$) (mean \pm SD)
Nematode -treated	4	10	364.6 \pm 63.3	86.1 \pm 67.4 ^a
	16	12	244.4 \pm 320.7	1401.4 \pm 3447.3 ^a
Control	4	10	227.0 \pm 102.3	282.1 \pm 241.4 ^a
	27	1	79.7	455.4 ^a

*Esterase activity was estimated by measured free α -naphthol amount per minute per μg of total proteins.

^aMeans followed by different letters were significantly different (Duncan's multiple range test, $\alpha=0.05$)

에는 그 차이를 나타낼 수 있을 만큼 충분한 단백질량이 추출되지 않아 단백질 차이는 찾기 힘들었다.

Fig. 10은 점종구와 무점종구간의 nondenaturing PAGE에서 350 V의 전압을 일정하게 주었을 때 분리된 esterase 차이를 검정한 실험결과로 무점종구에 비해 점종구의 esterase band가 상대적으로 약간 진하게 나타났으나 점종구에서 특이적 단백질 동위 효소를 찾지 못했다.

Spectrophotometer에서 얻은 단백질량과 esterase 활력 측정을 통해 Table 1과 같은 결과를 얻었다. 전기영동에서 얻어낸 단백질 pattern 및 esterase 활력은 평균치만으로 보았을 때 점종구에서 그 수치가 높다는 것을 알 수 있다. 하지만 esterase 활력 측정치를 평균간의 다중검정으로 유의성검사를 하였을 때 처리간 차이는 5% 유의수준에서 선충 점종구와 무점종구간의 esterase activity는 차이가 없다는 결과를 얻게 되었다.

선충이 분비하는 세포 외부물질로 인해 식물 세포내의 이온 균형은 깨어지고 pH변화를 초래하는데, 이것이 lysosome을 활성화시켜 세포내 모든유기물을 분해시키는 기작을 초래하게 된다. 이와 같은 일반적인 피해 기작에서 식물은 선충이 분비하는 효소를 분해하기 위한 자체적인 효소 분비가 있을 것이라는 가설하에 가수분해 효소인 esterase의 활력을 우선적으로 조사하였다. 물론 이와 같은 기작을 유도하는 것은 esterase에 한정된 것이 아니며, 기생체에 대한 기주의 생화학적 변화로 알려진 바 있는 phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase, peroxidase 등 aromatic biosynthesis에 관련된 효소와 phenol 화합물(Misaghi 1982) 등을 분석하는 실험이 추가되어야 할 것으로 본다. 실제로 *P. penetrans*가 양배추 뿌리를 가해했을 때 뿌리표피에 phenol이 축

적되었다는 연구보고가 있으며(Lee & Loria 1987), 선충에 저항성인 토마토에 *Pratylenchus* spp.가 침입하였을 때 토마토 뿌리에 phenol 화합물인 chlorogenic acid가 다량 검출되었다는 실험결과도 제시된 바 있다(Hung & Rohde 1973).

이상에서 생화학적 및 해부학적 결과들은 옥수수 뿌리가 선충에 대해 두드러지는 저항성 기작을 가지지 않는 것으로 나타나 결과적으로 옥수수가 선충의 기주로서 침입이 용이한 작물임을 부분적으로 입증해 준다.

인용문헌

- Benson, D.M. & K.R. Barker 1976. Effect of density of *Helicotylenchus dihystera* and *Pratylenchus vulnus* in American boxwood growing in microplots. *J. Nematol.* 8: 315-317.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- 최동로, 최용문, 한상찬. 1992. 커피뿌리썩이선충이 거베라 생육에 미치는 영향. *농사논본집(작물보호편)* 34: 85-90.
- 최귀문, 최용문, 김지인, 최동로, 한상찬. 1991. 한국의 식물기생 선충총설. *농업기술연구소*.
- 최영연, 나용준. 1982. 식물선충학. 향문사, pp103-116.
- Cuarezma-Teran, J.A & L.E. Trevathan. 1985. Effects of *Pratylenchus zeae* and *Quinisulcius acutus* alone and in combination on sorghum. *J. Nematol.* 17: 169-174.
- Davis, B.J. 1964. Dis. electrophoresis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 121: 404-427.
- Decker, H. 1989. Plant nematode and their control. Paul Press. India. pp.284.

- Dropkin, V.H. 1980. Introduction to plant nematology. A Wiley-Interscience Publication. pp.185-190.
- Elliott, A.P. & G.W. Bird. 1985. Pathogenicity of *Pratylenchus penetrans* to navy bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Nematol.* **17**: 81-85.
- Esau, K. 1990. 식물해부 및 형태학. 일신사. pp.187-190.
- Filipjev, I.N. 1936. On the classification of the free-living nematode and their relation to the parasitic nematodes, *Smithson. Misc. Coll.*, no.89, pp.1-63.
- Florini, D.A. & R. Loria 1990. Reproduction of *Pratylenchus penetrans* on potato and crop grown in rotation with potato. *J. Nematol.* **22**: 106-112.
- Gray, P. 1964. Handbook of basic microtechnique. MacGraw-Hill publications.
- Griffin, G.D. & F.A. Gray. 1990. Biology and pathogenicity of *Pratylenchus neglectus* on alfalfa. *J. Nematol.* **22**: 546-551.
- Hung, C. & R.A. Rohde. 1973. Phenol accumulation related to resistance in tomato to infection by root-knot and lesion nematodes. *J. Nematol.* **5**: 253-258.
- Lee, D.W. & R. Loria. 1987. Effect of nematode parasitism on plant-water relation *VISTAS on Nematology.* **35**: 260-266.
- Lewis, S.A. 1987. Nematode-plant compatibility. *VISTAS on Nematology.* **33**: 246-252.
- Suarez, Z., C.S. Moss & R.N. Inerra. 1985. Anatomical changes induced by *Punctodera chalconensis* in corn roots. *J. Nematol.* **17**: 242-244.
- Inerra, R.N. & N. Vovlas. 1977. Effect of *Pratylenchus vulnus* on the growth of sour orange. *J. Nematol.* **9**: 154-157.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* **227**: 680-685
- Macsorly & D.W. Dickson 1989. Effect and dynamics of a nematode community on maize. *J. Nematol.* **21**: 462-471.
- Misaghi, I.J. 1982. Physiology and biochemistry of plant-pathogen interactions. Plenum Press, New York. pp. 99-101.
- Olthof, H.A. & J.W. Potter. 1977. Analysis of crop losses in tomato due to *Pratylenchus penetrance*. *J. Nematol.* **9**: 290-295.
- Orion, D. & D. Lapid. 1993. Scanning electron microscope study on the interaction of *Pratylenchus mediterraneus* and *Vicia sativa* roots *Nematologica.* **39**: 322-327
- Pinochet, J. & D.J. Raski. 1977. Observation on the host-parasite relationship of *Pratylenchus vulnus* on Grapevine, *Vitis vinifera*. *J. Nematol.* **9**: 87-90.
- Pinochet, J., D.J. Raski & A.C. Goheen. 1976. Effect of *Pratylenchus vulnus* and *Xiphinema index* singly and combined on vine growth of *Vitis vinifera*. *J. Nematol.* **8**: 330-335.
- Pinochet, J., S. Verdijejo-Lucas & J. Marull. 1991. Host suitability of *Prunus* spp. and *Pyrus communis* rootstocks to *Pratylenchus vulnus*, *P. neglectus*, and *P. thornei*. Supplement to *J. Nematol.* **23**: 570-575.
- Rebois, R.V. & R.N. Huettel. 1986. Population dynamics, root penetration and feeding behavior of *Pratylenchus agilis* in monoxenic root culture of corn, tomato and soybean. *J. Nematol.* **18**: 329-397.
- Rich, J.R., I.J. Thomason & F.C. Omelia. 1977. Host-parasite interaction of *Pratylenchus scribneri* on selected crop plants. *J. Nematol.* **9**: 131-135.
- Roman, J. & H. Hirschmann. 1969. Morphology and morphometrics of six species of *Pratylenchus*. *J. Nematol.* **1**: 363-384.
- Smolik, J.D. & P.d. Evenson. 1987. Relationship of yield and *Pratylenchus* spp. population densities in dryland and irrigated corn. *Annals of Applied Nematology* **1**: 71-73.
- Smolik, J.D. & Z.W. Wicks. 1987. Reproduction of *Pratylenchus hexincisus* and *P. scribneri* in corn inbreds. *Annals of Applied Nematology* **1**: 29-31
- Suarez, Z., C.S. Moss & R.N. Inerra 1985. Anatomical change induced by *Punctodera chalconensis* in corn roots. *J. Nematol.* **17**: 242-244.
- Todd, T.C. 1991. Effect of cropping regime on populations of *Belonolaimus* sp. and *Pratylenchus scribneri* in sandy soil. *J. Nematol.* **23**: 646-651.

(1995년 1월 23일 접수)