

박과류(Cucurbitaceae)에서 탄저병균(*Colletotrichum*)의 부착기침입물림새에 대하여

김철우, 김철훈

식물병원성균류의 세포가 식물체세포로의 감염을 일으키자면 형태적으로나 기능적으로 분화되어야 한다. 대부분의 병원성균류들은 무성생식기관인 포자를 감염원으로 하여 숙주식물표면에 정착한 다음 침입기관과 영양균실을 형성하는데 탄저병균(*Colletotrichum*)이나 벼열병균(*Piricularia oryzae*)은 멜라닌화된 부착기가 형성되어야 감염을 일으킨다. 이 두 균에서 멜라닌합성은 침입능력을 발휘하는데서 기능적으로 반드시 필요한 것이며 넓은 의미에서 병원성인자라고 볼수 있다.

본문에서는 박과류탄저병균을 연구재료로 한 부착기침입에서 멜라닌합성의 역할과 작용물림새, 새로운 병원성관련대사계에 관한 연구결과를 종합하였다.

1. 박과류탄저병균에서 멜라닌합성에 대한 생리생화학적연구

부착기침입을 하는 병원성균류중에서 탄저병균과 벼열병균은 암갈색으로 착색된 부착기를 형성하는데 침입할 때의 부착기착색화에 대해서는 아직까지 논의되지 않고있다가 최근에 와서야 여러 연구들에서 박과류탄저병균을 리용하여 병원성균류들에서 부착균의 착색화와 그 의의에 대하여 논의되고있다.

1) 멜라닌합성결손균그루와 부착기침입능력

박과류탄저병균의 아르비노변이균그루를 분리하였는데 이 균그루의 포자는 무색의 부착기를 형성하고 식물체우에서 측면썩트기를 함으로써 식물체세포로의 침입능력을 잃었다. 이것은 부착기의 착색화가 침입에서 중요한 역할을 한다는것을 보여주었다.[1, 2]

또한 아르비노변이균그루와는 결손점이 다른 멜라닌합성결손균그루를 분리하고 멜라닌합성계중간대사산물 시탈론(Scytalone)을 분리동정하였다. 시탈론은 펜타케티드(Pentaketide) 유래의 2차대사산물이며 이 균의 부착기색소가 1,8-디히드록시나프탈렌을 아단위로 하는 멜라닌인것으로 추정되었다.[8, 11] 시탈론이 있는 조건에서 아르비노변이균그루는 멜라닌화된 부착기를 가지게 되었고 동시에 침입능력도 회복되었다. 이 결과는 부착기의 멜라닌화가 침입에 반드시 필수적이라는것을 보여준다. 전자현미경적관찰로부터 멜라닌형성부위는 세포벽의 제일 안쪽 층이며 관통균실을 형성하는 관통균실돌출구멍은 멜라닌화되지 않았다는것이 밝혀졌다. 이로부터 부착기의 멜라닌화는 부착기의 측면썩트기를 막고 관통균실의 형성(침입)을 유도한다고 본다.

2) 멜라닌합성저해제의 작용물림새

멜라닌합성을 저해하는 항벼열병균제인 트리시클라졸(Tricyclazole)의 작용점과 침입저지물림새가 연구되었다. 트리시클라졸을 처리하여 3,4-디히드로-4,8-디히드록시나프탈렌

논을 분리, 동정하고 트리시클라졸이 멜라닌합성계에서 1,3,8-트리히드록시나프탈렌으로부터 베르멜론(Vermelone)으로 전환되는 과정을 저해한다는것을 밝혔다. 트리시클라졸이 있으면 부착기가 착색되지 않는데 그것의 저해작용점 다음단계의 멜라닌중간대사산물인 베르멜론을 처리하면 부착기가 착색되는것과 동시에 침입능력도 뚜렷하게 회복되었다.[5, 6] 이 결과로부터 트리시클라졸의 작용효과는 1,3,8-트리히드록시나프탈렌으로부터 베르멜론으로의 전환을 차단하여 부착기의 멜라닌화를 저해하는데 기초하고있다는것이 밝혀졌다.

폴리케티드(Polyketide)의 합성저해제인 세룰레닌(Cerulenin)이 멜라닌합성에 미치는 효과를 연구한 결과도 발표되었다. 결과에 의하면 세룰레닌은 부착기의 멜라닌화와 침입을 뚜렷하게 저해하였다. 그리고 세룰레닌이 있는 조건에서 시탈론의 처리에 의하여 멜라닌화와 침입능력은 회복되었다.[7, 9, 10] 이 결과로부터 세룰레닌은 부착기의 멜라닌합성초기과정에서 폴리케티드합성을 특이적으로 저해한다는것, 또 그 결과로써 침입저해효과를 가진다는것이 밝혀졌다. 더우기 새로운 항벼열병균제인 카프로마피드(Carpromapid)가 *in vitro*에서 시탈론데히드라타제의 효소반응을 저해한다는데로부터 이 저해반응이 병원균의 감염을 저지시킨다는것이 밝혀졌다.[3, 4]

3) 멜라닌합성대사계의 억제

멜라닌합성대사계 단백질들의 발현억제가 부착기형성과정에 미치는 영향이 연구되었다. 부착기형성과정에 ^{14}C -시탈론의 멜라닌으로의 전환은 부착기의 부풀기가 끝난 직후(싹트기시작 6h후)부터 나타났다. 또한 단백질합성저해제에 의한 저해실험에서는 싹트기시작 40min이후의 단백질합성은 저해되어도 멜라닌합성은 정상으로 진행되었다.[12, 13] 이 결과로부터 멜라닌합성계는 이미 포자안에 불활성화상태로 존재하고있든가 또는 싹트기초기 40min이내에 합성된 효소계가 부착기의 부풀기가 끝나는 시기인 싹트기시작 6h이후에 활성화된다고 볼수 있다.

4) 참깨(*Sesamum indicum*)엽고병균멜라닌합성에 대한 유전학적연구

부착기의 멜라닌합성연구에 리용되어온 박과류탄저병균은 유성생식세대가 없는 균류에 속하며 교잡에 기초한 유전학적연구에는 적합치 않다. 그리하여 유전학적해석이 가능한 참깨엽고병균을 리용하여 멜라닌합성계유전자에 대한 유전학적연구[12, 13]가 진행되었다.

참깨엽고병균의 멜라닌합성결손변이균그룹을 여러종 분리하고 축적되는 멜라닌합성계대사산물을 분석한 결과 참깨엽고병균이 박과류탄저병균에서와 유사한 폴리케티드유래의 디히드로나프탈렌계의 멜라닌합성계경로를 가지고있다는것이 밝혀졌다. 멜라닌합성변이균그룹사이의 교잡실험으로부터 동정된 멜라닌합성유전자 3개(*Alm*, *Scy*, *Brm*)중 *Alm*, *Brm*이 밀접히 련쇄되어있고 *Scy*는 련쇄되어있지 않다는것이 밝혀졌다. 또한 분자유전학적해석의 기초연구로서 시탈론을 1,3,8-트리히드록시나프탈렌으로 전환시키는 시탈론데히드라타제를 분리정제하고 23kD의 단일폴리펩티드를 얻었다.[1, 2, 5, 6]

2. 박과류탄저병균의 형태분화물림새에 대한 분자유전학적연구

감염기관의 형태분화물림새를 해명할 목적으로 감염기관형성때의 유전정보발현 및 환경응답물림새를 분자유전학적으로 해석하였다.

1) 멜라닌합성계유전자

숙주침입에 필수적인 대사계의 멜라닌합성유전자를 클론화하고 3종의 멜라닌합성효소유전자(Polyketide합성효소: *PKS1*, 시탈론데히드라타제: *SCD1*, 1,3,8-트리히드록시나프탈렌합성효소: *THR1*)의 구조와 기능을 해석하였다.[7, 8] 이 유전자과괴균그루는 어느것이든 부착기의 멜라닌합성이 결손되었으며 결과 감염능력을 잃었다. 따라서 이러한 유전자에 대한 연구는 넓은 의미에서 병원성유전자의 위치를 확정할수 있게 해준다. 더우기 이러한 멜라닌합성계 유전자의 발현이 포자썩트기와 부착기의 분화와 관련된 전사억제물질에 기초하고있다는것을 해명한것과 함께 멜라닌합성계 유전자의 발현을 억제하는 전사억제인자 *CMR1*의 구조와 기능해석에 성공하였다. *CMR1*은 Cys6아연2핵클라스터와 Cys2His2아연손가락의 2개의 DNA결합모티프를 가지는 지금까지 알려지지 않은 매우 독특한 구조적특징을 나타내는 전사인자이며 *SCD1*, *THR1*의 발현을 억제한다는것이 밝혀졌다.[12, 13]

또한 대장균에서 재조합멜라닌합성효소를 리용하여 *in vitro*효소반응실험계의 확립에 성공함으로써 지금까지 미해명이었던 폴리케티드합성효소의 반응산물이 1,3,6,8-테트라히드록시나프탈렌이라는것이 밝혀지게 되었다.[5, 6]

2) 형태분화관련유전자

침입기관의 형태분화물질들을 해명할 목적으로 침입능력결손갑작변이그루의 변이상보실험으로 포자썩트기와 부착기형성때 특이적으로 발현되는 유전자를 동정하고 구조를 해석하였다.[3, 4] 한편 병원균의 형태형성을 환경응답으로 포착하고 부착기의 분화를 유도하는 신호전달계를 해명하여 호모의 퀘로몬응답성에 관여하는 MAP키나제신호전달경로의 MAP키나제유전자를클론화에 성공하였다. 유전자과괴실험에 의하여 이 MAP키나제경로가 포자썩트기, 부착기형성, 식물조직안에서의 전개 등에 다면적으로 관여한다는것이 밝혀졌다.[9, 10, 12, 13]

또한 *CMK1*의 하류에서 억제되어있다고 추정되는 전사인자유전자 *CST1*을 클론화하고 이 유전자가 부착기의 성숙, 관통균실형성에 관여하고있다는것도 밝혀졌다.

맺 는 말

식물병원균의 감염과정을 포자의 형태적, 기능적분화로 나누어 고찰하고 그것을 유전학적으로 설명하는것은 식물병리학적인 문제로서 매우 중요한 의의를 가진다.

무색의 부착기를 형성하고 식물체예로의 침입능력을 잃은 박과류탄저병원균의 아르비노 변이균그루가 멜라닌합성계 중간산물이 있는 조건에서 부착기의 멜라닌화가 회복되며 침입능력을 회복한다는 연구자료로부터 멜라닌합성계를 표적으로 하는 새로운 약제를 개발하여 식물병을 방지할수 있다고 본다.

멜라닌합성은 병원성인자의 대표적인 한가지 지표이며 앞으로 이러한 병원성을 특징짓는 대사계의 물질들이 완전히 해명되면 보다 우월한 살균제가 개발되리라고 보고있다.

참 고 문 헌

- [1] K. Yano et al.; Phytopathology, **106**, 1458, 2016.
- [2] H. Ishii et al.; Phytopathology, **105**, 1166, 2015.
- [3] T. Boekhoat et al.; J. Syst. Evol. Microbiol., **63**, 1655, 2013.
- [4] D. Begerow et al.; Mycol. Res., **114**, 53, 2014.
- [5] T. Kobayashi et al.; J. Gen. Plant Pathol., **79**, 17, 2013.
- [6] T. Kobayashi et al.; Jpn. J. Phytopathol., **76**, 326, 2010.
- [7] F. L. Yen et al.; J. Agric. Food Chem., **58**, 7376, 2010.
- [8] M. Nolan et al.; J. Phys.Chem., **B 110**, 2256, 2006.
- [9] E. G.Heckert et al.; Environ. Sci. Technol., **42**, 5014, 2008.
- [10] J. Kim et al.; Biomaterials, **31**, 5849, 2010.
- [11] R. Injac et al.; Biomaterials, **29**, 3451, 2008.
- [12] R. Injac et al.; Biomateridls, **28**, 1184, 2007.
- [13] M. Das et al.; Biomaterials, **28**, 1918, 2007.

주체108(2019)년 4월 5일 원고접수

On Adhesive Organ's Invasion Mechanism of *Colletotrichum* to Cucurbitaceae

Kim Chol U, Kim Chol Hun

Making adhesive organs following melanogenesis, *Colletotrichum* invade the plants including Cucurbitaceae. Melanogenesis is functionally necessary process in the invasion to the plants, thus can be considered as the pathogenic factor.

Key words: *Colletotrichum*, melanogenesis, adhesive organ, pathogenic factor