

## 벼 흰빛잎마름병균의 생리적 성상에 관한 시험

최 용철\* · 이 경휘\* · 조 의규\*

Studies on the Physiological Characteristics of Bacterial Leaf Blight  
Pathogen of rice, *Xanthomonas oryzae* Dowson.

Yong Chul Choi\*. Kyung Whee Lee.\* Eui Kyoo Cho\*

### Abstract

1. The experiment was conducted to investigate the physiological characteristics on ten isolates of bacterial leaf blight pathogen of rice, *Xanthomonas oryzae* Dowson.  
Seven out of ten isolates were isolated from infected leaves of various rice varieties including IR strains in Korea. Isolates S-20 and S-103 were originated from IRRI in Philippines, and isolate H-5809 was allocated by National Institute of Agricultural Science in Japan.
2. All isolates produced hydrogen sulfide and ammonia gas from peptone sol. media, and reduced methylen blue. Gelatin liquefaction occurred by all isolates tested, although each isolate showed different degree of liquefaction. No coagulation of the casein in milk by the isolates was observed, though some amount of acid production occurred in litmus milk by all isolates tested.
3. All isolates utilized glucose and galactose, and slight utilization of esculin, mannitol, raffinose, salicin and saccharose was observed. Lactose, starch and dextrin, however, were not utilized at all by all isolates tested in the study.

### 서 론

우리나라에서의 벼흰빛잎마름병은 1930년 일본의 武内<sup>2)</sup>가 전라남도 해남군에서 처음으로 발견하여 보고하였는데 이병은 벼를 재배하고 있는 거의 모든 국가에서 발생하고 있는 중요한 세균병이다.<sup>10)</sup> 흰빛잎마름병원세균(*Xanthomonas oryzae* Dowson)의 생리적 성질에 대해서는 石山<sup>7)</sup>의 상세한 연구가 있으며 또 鐵塚<sup>8,9)</sup> 및 Fang<sup>4)</sup>도 같은 연구를 행하였지만 우유에 대한 반응 색소의 환원등의 생리적 성질에 있어서는 일치된 결

과를 얻지 못하였다. 근년에 이르러 품종 및 재배법의 변천에 따라서 발생분포가 넓어졌으며 또 발생지역에 따라서 병원성이 다른 다수의 계통이 존재하는 것으로 알려져 있다.<sup>12,13,14)</sup> 그러나 본병원세균의 균주간에 보이는 병원성의 강약 및 Bacteriophage에 대한 반응과 생리적 성질에 대해서는 알려져 있지 않다. 우선 병원세균의 생리적 성질을 비교 검토하기 위하여 비올빈 및 일본에서 분양된 병원균과 우리나라의 보존병원세균 및 IR667 계통의 품종에서 분리배양한 병원균주를 사용하여 이러한 생리적 성질을 밝혀냄으로써 균주간의 차이를 찾아내고 나아가서 저항성 품종 육성에 필

\*농촌진흥청 식환 병리연구담당관실  
Institute of Plant Environment, Office of Rural Development

요한 기초자료를 얻고자 본시험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 가) 병원균 분리

벼 품종에서 이병엽을 채취하여 70% alcohol 에 30초 승홍수 1000 배액에 1분간 침지소독하여 살균수로 수회 세척한 다음 살균여지로 물을 뺀후 이병엽에서 살균한 해부칼날로 Sample 을 올려내어 감자반합성배지(PSA)<sup>13)</sup>의 평판상에 꽂아 28°C 정온기내에서 2일간 두었다가 세균집락을 사면배지에 옮기고 다시 회색배양에 의해 단집락배양을 하여 본시험의 공시균으로 사용하였다.

보존배지의 조성<sup>13)</sup>은 물 1000ml 당 다음과 같다.

P.S.A.(potato semisynthetic Agar)	
Potato	300g
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.5g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12H <sub>2</sub> O	2.0g
Peptone(Bacto)	5.0g
Sugar	15.0g
Agar	20.0g

pH6.8-7.0

### 나) 공시균주

본시험에 사용된 공시균주는 10개의 균주를 사용하여 생리적 성질을 비교 검토하였다.<sup>1,3,11,15)</sup>

공시균주는 다음 Table I 과 같다.

Table I. Origin of isolates used in the study

Isolates	Origin			
	Country	Area	Host var.	Year
S-103	Philippine	IRRI	—	68
S-20	Philippine	IRRI	—	68
H-5809	Japan	Hokuriku	—	68
K-68	Korea	Suwon	kum nam pung	68
K-69	Korea	Suwon	Shin pung	69
K-70-1	Korea	Suwon	Jin heung	70
K-70-2	Korea	Suwon	Suwon 216	70
K-70-3	Korea	Suwon	Chianung 242	70
K-70-4	Korea	Suwon	Coloro	70
K-70-5	Korea	Suwon	IR 8	70

### 다) 생리적 성질에 관한 조사<sup>3,5,8,15)</sup>

#### 1) 탄소원의 종류와 Gas 및 산의 생성

기초배지 : peptone media

탄소원의 종류

단당류(Glucose, Galactose) 이당류(Saccharose, Lactose) 삼당류(Raffinose) 다당류(Dextrin, Starch) 다가알콜(Mannitol) 배당체(Esculin, Salicin) 등의 당류를 Peptone 배지를 기초배지로 Bromthymol blue 0.2%와 1%의 당류 및 Alcohol 류를 사용하여 고층배지 및 Durham tube 에 의한 GAS 발생과 peptone 액체 배지에서 산의 변화를 관찰하였다.

균은 상기의 peptone 배지에 이식하여 10일간 배양한 것으로 시험결과는 [Table II] [Table III] 및 [Fig. 1]과 같다.

#### 2) Voges-proskaur 반응

기초배지 : peptone 액체배지

병원균을 이식하여 3일간 배양한 후 10% KOH 액을 등량가하여 24시간 방치후 반응을 관찰하였다.

#### 3) Methyl red 반응

기초배지 : peptone 액체배지

병원균을 이식 3일간 배양한후 methyl-red 액을 떨어뜨려서 반응을 관찰하였다.

#### 4) Methylene blue 환원반응

기초배지 : Bouillon 액체배지

병원균을 배양후 1일째와 4일째에 2회, methylene blue 포화액 1방울을 가하여 흔들어놓은후 탈색에 의한 환원상태를 관찰하였다.

#### 5) 전분당화작용의 검사

기초배지 : Bouillon 액체배지 + 0.2% soluble starch.

균배양 10일후 Fehling 씨 액에 의한 검출.

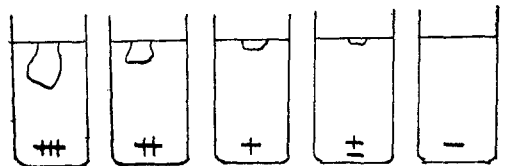
#### 6) 초산염의 환원

0.1% KNO<sub>3</sub> 를 가한 peptone 액체 배지에 각균주를 27°C 에서 배양하여 3일, 5일, 7일 후의 3회 Gries 씨 시약에 의한 발색반응에 의해서 환원의 유무를 관찰하였다.

#### 7) gelatin 액화

Bouillon 에 gelatin 20%를 가한 gelatin 배지를 고층배지로하여 간헐살균하고 각 균주를 이식 12~18°C 에서 7일간 배양후 액화정도를 관찰하였다.

#### gelatin 액화기준



8) Indole 생성

peptone 액체 배지에 각 균주를 배양하여 2일, 4일 7일후의 3회에 걸쳐 Kovac 색 시약에 의한 적변반응에 의해서 생성을 관찰하였다.

9) 암모니아 생성

Peptone 액체배지에 배양된 각 균주에 대해서 3일, 5일, 7일후의 3회에 걸쳐 Nessler 색 시약을 써서 암모니아 생성의 유무를 관찰하였다.

10) 유화수소의 생성

감자반합성 한천배지에 각 균주를 이식하여 연당지 (Lead paper)를 시험관과 면전과의 사이에 끼여 27°C에서 배양 1~7일간 4회에 걸쳐 연당지의 흑변도를 관찰하였다.

11) 우유의 응결

신선한 탈지유를 일정량(10ml)씩 시험관에 분주하여 간헐멸균을 행한 후 각 균주를 이식하여 27°C에서 배양하여 14일간 응고정도, 소화, 변색에 대해 관찰하였다.

12) litmus milk 의 변화

탈지유에 Litmus를 적량 가한 배지에 각 균주를 이식하여 27°C에서 배양중 변색유무를 관찰하였다.

13) 과산화수소

감자반합성 한천 배지에서 배양된 각 균주를 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 백금이로 한번 접종하여 백포의 발생에 의하여 관찰 하였다.

결과 및 고찰

탄소원에 따른 당분해 및 산도(pH) 변화는 [Table II] [Tabl III] [Fig. I]에서 보는바와 같이 10개 균주가 모두 glucose, galactose를 당분해 하였고 lactose, dextrin 및 starch 등은 분해하지 못하였으며 saccharose, raffinose, mannitol, esculin, salicin 등의 탄소원에서는 균주간의 차이는 있었으나 당분해를 한다고 할수 없었다.

이는 1960년 向秀夫<sup>5)</sup>가 30 균주를 가지고 시험한 결과와 거의 일치된 결과였으며 1964년 向秀夫, 伊阪實人

(Table II) Utilization of Carbon sources and pH changes by 10 isolates of *X. oryzae*

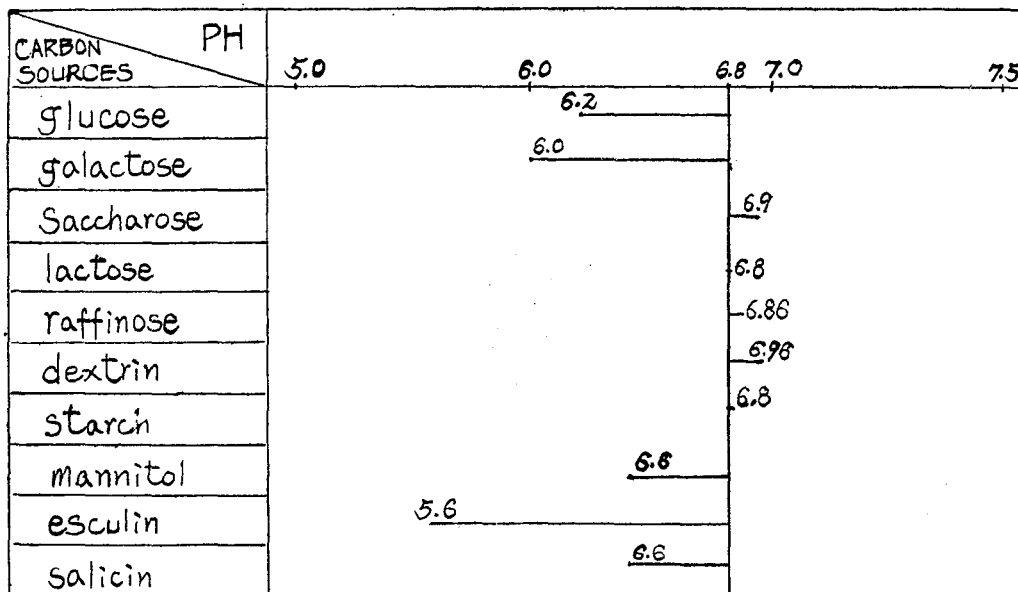
Isolates	Carbon source									
	Glucose	Galactose	Esculin	Mannitol	Raffinose	Salicin	Saccharose	Lactose	Starch	Dextrin
S-103	6.4	6.4	5.6	6.6	6.8	6.6	6.8	6.2	6.8	6.8
S-20	6.0	5.8	5.6	6.6	6.8	6.2	7.4	7.6	6.6	6.6
H-5809	6.4	6.2	5.8	6.6	6.8	6.6	6.8	6.4	6.6	6.6
K-68	6.2	6.0	5.6	6.4	6.6	8.4	7.0	6.6	6.6	6.8
K-69	6.2	6.0	5.6	6.8	6.6	6.6	6.8	6.6	6.6	6.6
K-70-1	6.2	6.2	5.6	6.6	6.8	6.8	7.0	6.6	6.8	6.8
K-70-2	6.2	6.0	5.6	6.6	6.8	6.6	6.6	6.4	6.8	6.6
K-70-3	6.2	6.0	5.5	6.6	7.8	7.6	7.6	7.6	7.6	7.6
K-70-4	6.2	6.0	5.8	6.6	6.8	6.4	6.8	6.8	6.8	6.6
K-70-5	6.2	6.0	5.8	6.6	6.6	6.4	6.8	6.8	6.8	6.6
average	6.2	6.0	5.6	6.6	6.86	6.6	6.9	6.9	6.8	6.96

Table III. Utilization of Carbon sources by *Xanthomonas oryzae*.

Carbon sources	Isolates									
	S-103	S-20	H-5809	K-68	K-69	K-70-1	K-70-2	K-70-3	K-70-4	K-70-5
Glucose, galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Esculin	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+
Mannitol	-	+	-	+	-	±	-	-	+	+
Raffinose	-	-	±	+	-	+	-	+	-	-
Salicin	-	+	-	-	+	+	-	-	-	±
Saccharose	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Lactose, starch, dextrin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ : Positive    - : Negative    ± : Variable

[Fig. 1] pH Change in media containing various Carbon Sources by 10 isolates of *Xanthomonas oryzae*



이)가 시험한 결과와도 일치된 결과를 나타냈다.

산도변화에 있어서는 [Fig. 1]에서 보는 바와 같이 esculin 을 탄소원으로 배양하였을 경우에 pH가 5.6으로 떨어져 산성을 나타냈으며 이외에 glucose는 6.2 galactose는 6.0으로 약산성을 나타냈고 그외의 탄소원에서는 산도의 변화가 심하게 나타나지 않았다.

[Table IV]와 같이 본 병원세균의 생리적 성질을 고찰하여 보면 초산염의 환원은 10개 균주가 전부 환원하지 않았고 methylene blue 환원시험에서는 각 균주

다같이 환원시켰으며 균주간의 환원능력의 차이는 약간 인정할 수 있었다.

젤라틴 액화 상태도 각 균주에 따라 액화 정도의 차이가 생겼으며 K-70-3 균주는 다른 균주보다 많은 액화 상태를 나타내었는데 向秀夫<sup>6)</sup>가 병원성이 강한 균주 및 약한 균주에 대한 젤라틴액화와의 관계를 보았을 때 병원성이 강한 균주일수록 젤라틴 용해 정도가 크다는 보고를 하였으므로 앞으로 본 병원균에 의한 젤라틴 액화와 병원성의 강약과의 관계를 구명하고자 한다.

Table IV. Physiological Characteristics of *Xanthomonas oryzae*

Characteristics	Isolate									
	S-103	S-20	H-5809	K-68	K-69	K70-1	K70-2	K-70-3	K70-4	K70-5
Gelatin liquefaction	-	±	+	±	±	+	±	±	±	+
H <sub>2</sub> S production	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NO <sub>3</sub> reduction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indole production	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ammonia production	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diastase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V.P. reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methyl red test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Milk test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Litmus milk	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methylene blue test	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> decomposition	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : Positive    - : Negative    ± : Variable

유화수소의 발생은 배양 2일후부터 발생하여 5일후에는 연당지(lead paper)를 전부 흑변시켰으며 균주간의 차이는 인정할 수 없었다. 인돌(indole)은 모든 균주가 생성하지 않았으며 암모니아는 생성하였다. Diastase 분해작용 및 Voges-proskauer 반응 및 methyl red 환원반응에서도 모든 균주가 다같이 어떤 반응도 나타내지 않았다. 우유의 응고 및 리트머스(litmus) 우유에 있어서는 소화 및 응결을 인정할 수 없었으며 리트머스 우유는 전균주가 모두 청변시켰다. 흰빛일마름병균의 생리적 성질에 대하여 石山<sup>7)</sup> 鍛塚<sup>8),9)</sup>의 시험과는 상이한 결과를 나타냈는데 石山<sup>7)</sup>은 methylene blue 환원, gelatin 용해 및 ammonia 발생을 볼 수 없었다고 하였으며 유화수소의 발생은 적게 나타났으며 우유의 소화도 볼 수 있었다고 하였다. 본시험 결과로는 向秀夫, 伊阪實人<sup>10)</sup>의 시험결과와 일치된 결과를 나타내고 있지만 특히 gelatin 용해에 대해서는 액화시키는 균주와 액화시키지 못하는 균주를 볼 수 있었으며 다른 시험에 대해서는 일치된 결과를 얻을 수 있었다 그리고 상술한 바와 같이 젤라틴 액화 정도와 병원성의 강약 관계를 연구하기 위해서는 더 많은 균주를 공시하여 시험하고자 한다.

## 적 요

비 흰빛일마름병의 병원균의 생리적 성질을 구명하고자 시험한 결과는 다음과 같았다.

1. 공시균주로는 본 병리 연구 담당관실 보존균주 및 일본, 비올빈에서 분양받은 균주와 최근 IR 계통품종과 이병성 품종에서 채집 분리된 10 균주를 공시하였다.

2. 탄소원의 분해 및 산도변화에서는 Glucose, Galactose는 모든 균주가 이용하였고 Esculin, Mannitol, Raffinose Salicin, Saccharose는 몇몇균주가 이용했으며 lactose, Starch, Dextrin은 이용하지 못하였다.

3. 시험에 사용된 공시균주는 유화수소 및 암모니아를 생성하였으며 methylene blue 환원시험에서는 환원이 일어났으며 인돌생성은 하지 않았고 젤라틴은 서서히 액화시켰지만 균중간에는 액화정도가 서로 차이가 났으며 우유의 소화 및 응결은 없었으며 리트머스 우유를 청변시켰다.

## 인 용 문 헌

1. Breed, R.S., E.G.D. Murray and N.R. Smith,

1957. Bergeys manual of determinative bacteriology (seven edition) The Williams Wilkins co.; 154, 157
2. 武内晴好, 1930. 稻白葉枯病 遂ニ發生ス. 勸模彙 (5); 62-64
3. 瀧元清透, 1952, 微生物學及び 植物病理學 實驗法. 養賢堂, 東京; 123-128
4. Fang, C.T., Ren, H.C., Chen, T.Y., Chu, Y.K., Faan, H.C., S.C.A. Wu, 1957. A comparison of the rice bacterial leaf blight organism of rice and *Leersia hexandra* swartz. Acta Phytopathol sinica, 3; 99-124
5. 向秀夫, 伊阪實人, 1960, 稻白葉枯病菌のゼラチン溶解と病原性との關係. 日植病報 25(5); 229
6. 向秀夫, 伊阪實人, 1964, イネ白葉枯病病原細菌の生理的性質の再檢討. 日植病報 29(1); 13-19
7. 石山信一, 1922, 稻白葉枯病の 研究. 農事試驗場報告 45(3); 233-261
8. 鍛塚喜久治, 1928, 稻白葉枯病菌の病原性並凝集反應に就て(講要) 日植病報 2(2); 169
9. " 1933, 稻の白葉枯病に就て. 農業 634; 14-27
10. 金命午, 朴鍾聲, 鄭厚燮, 1962, 植物病理學(郷文社); 178-179
11. Manual of method for pure culture study of bacteria. 1947. Edited by the committee on bacteriological technique of the society for american bacteriologist.
12. 伊阪實人, 野崎俊一, 1961, 福井縣内各地より採集分離したイネシラハガレ病病原細菌の菌型. 北陸病蟲研究會報. 9; 30-32
13. Wakimoto, S. 1960. Classification of strains of *Xanthomonas oryzae* on the basis of their susceptibility to bacteriophages. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 25(4); 193-198
14. 吉村彰治, 森橋侯春, 1959, バクテリオファージによるイネシラハガレ病系統菌の分類と北陸における分布. 北陸病蟲研會報(7); 43-52
15. 傳研學友會編, 1956, 細菌學實習提要, 丸善, 原京; 138-146