Kor. J. Pl. Prot. Vol. 11, No.1. 1972 한국식물보호학회지 제 11권 제 1호

풋마름병균의 생리적 성상에 관한 시험

최 용 철* · 조 의 규*

Studies on the Physiological Characteristics of Bacterial Wilt Pathogen, *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith.

Yong Chul Choi*, Eui Kyoo Cho*

Abstract

The experiment was conducted to investigate the physiological characteristics on 16 Isolates of bacterial wilt pathogen, *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith, those obtained from infected stems of tomatoes, hot-peppers and eggplants.

PSA and Sucrose medium favoured by the most of the isolates, and various degree of gelatin liquefaction occurred by each of nine isolates those able to liquefy gelatin among 16 isolates tested. The most of the isolates except one, did not reduce methylen blue.

All isolates did not utilize lactose, saccharose, and starch, although all isolates utilize the galactose. The utilization of dextrin, esculin, glucose, mannitol, raffinose and salicin was depended on each isolate.

서 론

가지과작물의 풋마름병은 난지에 피해가 많으며 뿌리줄기 잎 과실에까지 피해를 주어 급격히 위조 고사하게 되며 줄기의 도관은 흑변하게 된다. 병원균은 토양내에서 생존하는 기간이 길어 무병지에의 전파가 왕성한 균으로 작물에 피해를 크게 주며, 27과 100종 이상의 기주식물이 알려져 있고[3] 발생환경 및 요인으로는 기온이 대체로 20°C 이상일 때 즉 7~8월경에 많이 발생하며 온난한 지방일수록 피해가 큰 것으로 세계각지에 분포되고 있고 우리나라에서도 이병의 피해가 격심한 데 이병이 언제부터 발병되었다는 보고는 찾아볼 수 없었으며 외국에서는 이병에 대해 1900년대부터 조사연구되어왔다.[4,12] 일본에서는 1908년 上田에 의해 담배입고병에 대한 연구가 시작되고, 堀, 十藏(1912)에 의해 달리아의 청고병의 연구보고가 있었으며 石山(1922)에 의한 균생리에 대한 첫보고가 있었으며, 中田(1926)은 세균학적성상, 생활력, 방제방침에 대한 기초적연구가 진행되었고, 최근에는 岡部, 後藤[6-11]에 의한 보고가 1950년부터 최근까지 생리 생태 및 Bacteriophage에 의한 계통분류와 생화학형에 따른 기주식물과의 관계 등에 대해 자세한 보고가 되어 있으며, 일본이외의 나라에서 연구보고로는[12] Hutchinson(1913)에 의해 처음으로 병해기작에 대한 연구가 진행되었고, Van der Meer(1929), Grieve(1941), Kunz (1952), Husain & Kelman (1958)의 연구가 진행된 바 있으나, 우리나라에서는 아직 이 병에 대한 병원균의 생리, 생태, 방제에 관해 시험보고된바 없었으며, 특히 이 병원균의 특이한성질로는 배양기상에서 배양하게 되면 병원균이 병원성을 상실하게 되기 때문에 병원균 균주보관이 어렵고[2,11] 따라서 저항성검정을 위한 균주선택이 힘들게 되므로,

*농촌진흥청, 식환, 병리연구 담당관실
*Institute of Plant environment Office, of Rural Development

병원균의 생리적성질을 알아 균주간의 차이를 찾아내고 나아가서 저항성품종 육성에 필요한 검정균선택의 기초자료를 얻고자 본 시험을 실시하였다. 이 시험을 위하여 지도하여 주신 정봉조 병리연구담당관 및 이경휘 연구관과 서울농대 조용섭 박사님께 감사를 드립니다.

재료 및 방법

가) 병원균분리

가지과작물인 도마도 가지 고추의 기주 식물에서 이병주를 채집하여 70% alcohol에 30초, 승홍수 1000배액에 1분간 침지소독하여 살균수로 수회 세척한 다음 살균여지로 물을 뺀후 살균한 해부칼로 Sample을 오려내어 감자반합성배지 (PSA)[14]의 평판상에 꽂아 28°C 정온기내에서 1일간 두었다가 사면배지에 옮기고 이를 다시 단집락 배양을하여 본시험의 공시균으로 사용하였다.

나) 공시균주

본 시험에 사용된 공시균주는 16균주로서 1970년 7월 10일부터 8월 25일까지 이병식물에서 분리한 균주로서 생리적 성질을 비교 검토하였다. [1,5,13,15]

공시균주는 다음 Table I과 같다.

Table I. Origin of isolates used in the study.

isolate	origin		
	Area	Host plant	Year
1	Kyunggido Suwon	Tomato	1970.7.10
2	Kyunggido Suwon	Tomato	1970.7.10
3	Kyunggido Suwon	Tomato	1970.7.18
4	Kyunggido Suwon	Pepper	1970.7.18
5	Kyunggido Suwon	Pepper	1970.7.22
6	Kyunggido Suwon	Tomato	1970.7.25
7	Kyunggido Suwon	Tomato	1970.7.25
8	Kyunggido Suwon	Egg plant	1970.7.27
9	Kyunggido Suwon	Tomato	1970.8.14
10	Junnam, Sunchon	Pepper	1970.8.14
11	Junnam, Sunchon	Pepper	1970.8.14
12	Junnam, Sunchon	Egg plant	1970.8.14
13	Junnam, Yusu	Pepper	1970.8.14
14	Kyungnam, Kimhae	Tomato	1970.8.20
15	Kyungnam, Kimhae	Egg plant	1970.8.25
16	Kyungnam, Kimhae	Pepper	1970.8.25

다) 공시배지의 조성과 발육

본 병원균에 대한 배지내에서의 발육관계를 조사하기 위하여 다음[Table II] 와 같은 배지를 선정하였다. [1,6,9,14]

Table II. Various media and growth on the media.

No	Medium	Constituent in %		Growth
1	Sucrose B.T.B. Agar	K_2HPO_4	0.1	++
		NH_4NO_3	0.1	
		Sucrose	1.0	
		Bromthymol blue(0.4)	4ml	
		Agar	1.5	
2	Sucrose Agar	K_2HPO_4	0.1	+++
		NH_4NO_3	0.1	
		Sucrose	0.5	
		Agar	1.8	
3	Beef Extract Agar	Beef extract	0.5	±
		Peptone	1.0	
		NaCl	0.5	
		Agar	1.8	
4	Mannitol Agar	K_2HPO_4	0.1	±
		NH_4NO_3	0.1	
		Mannitol	1.0	

		Agar	1.8	
5	Potato			+++
	Semisynthetic Agar	Potato	300g	
		$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	0.05	
		$Na_2HPO_412H_2O$	0.2	
		Peptone	0.5	
		Sugar	1.5	
		Agar	1.8	

※ ±; slight growth +; good growth ++; better growth, opalescent +++; opulent, and opalescent becoming b:own

라) 생리적 성질에 관한 조사[6,13,15]

탄소원의 종류와 Gas 및 산의 생성은 단당류(Glucose, Galactose) 이당류(Saccharose,lactose) 삼당류(Raffinose) 다당류(Dextrion, Starch) 다가알콜(Mannitol) 배당체(Esculin, Salicin) 등의 당류를 peptone 배지에 Bromthymol blue 0.2%와 1%의 당류 및 알콜류를 사용하여 고층배지 및 Durham tube에 의한 Gas 발생과 액체배지에서의 산의 변화를 관찰하였다. 균은 상기의 배지에서 10일간 배양한 후 결과를 조사하였다. 그 이외에 Voges-proskaur 반응을 위시하여 Methyl-red 반응, Methylene blue 환원반응, 전분당화작용의 검사, 초산염의 환원, gelatin 액화, Indole 생성, Ammonia 생성, 유화수소의 생성, 우유의 응고, Litmus milk의 변화 및 과산화수소의 생성 여부등을 조사하였다.

결과 및 고찰

배지에 의한 풋마름 병원균의 발육관계를 〔Table II〕에서 살펴보면 병원균의 색은 균의 발육이 많아지고 시간이 경과될수록 갈색을 나타내었으며, 취락(colony)의 모양도 배지에서 비슷한 경향을 나타내고 있었으나 발육은 큰차이가 나타났다. 즉 Beef extract, mannitol agar에서는 발육이 좋지 못하였고 sucrose와 PSA(potato semisynthetic agar) 에서는 발육이 좋았다. Sucrose medium에서의 발육이 좋았음은 1955년 岡部後藤[8,9]에

Table III. Utilization of Carbon sources and pH changes by 16 isolates of *Pseudomonas solanacearum*.

isolates	Glucose	Galactose	Saccharose	Mannitol	Raffinose	Salicin	Esculin	Lactose	Starch	Dextrin
1	6.6	7.6	6.4	7.0	5.4	7.4	7.0	7.8	6.6	7.4
2	7.4	7.4	6.4	7.2	5.0	7.6	7.0	7.8	6.4	7.8
3	6.4	7.2	6.4	7.4	5.6	7.6	6.8	7.8	6.6	7.6
4	6.2	6.6	6.0	7.0	5.4	7.4	7.2	7.6	6.8	7.4
5	6.8	7.6	6.2	7.2	5.4	7.0	7.2	7.4	6.4	7.4
6	6.2	7.0	6.4	7.6	6.0	7.4	7.0	7.8	6.4	7.6
7	6.6	7.4	6.4	7.2	5.4	7.2	7.0	7.6	6.8	7.8
8	6.4	7.4	6.6	7.0	5.0	7.6	7.0	7.4	6.6	7.8
9	7.2	7.4	6.4	7.4	5.0	7.0	7.4	7.4	6.0	7.4
10	6.4	7.6	6.4	7.0	5.4	7.2	7.0	7.8	7.0	7.4
11	6.0	7.0	5.8	7.2	5.2	7.0	7.2	7.6	6.6	7.6
12	6.8	7.2	6.4	7.0	5.4	7.4	6.8	7.4	6.4	7.6
13	6.4	7.4	6.8	7.4	5.6	7.0	6.8	7.6	6.4	7.8
14	6.8	7.6	6.4	7.2	5.2	7.2	7.0	7.4	6.4	7.2
15	6.8	7.6	6.6	7.0	5.6	7.2	6.8	7.8	6.6	7.0
16	6.0	6.8	6.2	7.4	5.6	7.2	7.2	7.6	6.4	7.6
Average	6.6	7.3	6.3	7.2	5.4	7.3	7.2	7.6	6.5	7.5

Table IV. Utilization of Carbon Sources by *Pseudomonas solanacearum*

Carbon sources	isolates															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	+	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−
Dextrin	+	−	−	+	+	+	−	+	+	+	−	+	+	+	−	+
Mannitol	+	−	+	+	+	−	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−
Esculin	+	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	+	+	−	−	+
Salicin	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	−	−	−	+	+	−
Glucose	−	−	−	+	−	+	−	+	+	+	−	+	−	−	+	−
Saccharose lactose starch	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

+ : positive − : negative

의한 실험과도 일치되어 앞으로의 병원균배양으로는 Sucrose 나 PSA 배지가 적합할 것이며 또한 병원균과 탄소원과의 당분해능 및 산도변화에서는〔Table III〕〔Table IV〕에서 보는 바와같이 16 균주 모두가 galactose 를 분해하고 있으며, raffinose, dextrin, mannitol, esculin, salicin, glucose,에서는 분해균주와 비분해균주로 분리되었으며, Saccharose, lactose, starch 에서는 모든 균주가 분해하지 못하였다. 1953 년 岡部, 後藤[6]의 시험에 의하면 일본균주에서는 lactose 분해성에 따라 분해균주와 비분해 균주로 나누고 있고, 또한 1955 년[7,8]에 이를 phage 계통에 의한 변이형의 균주와 비교하여 시험된 바로는 galactose 의 분해에 있어 분해균과 비분해균의 2 종으로 세분화시키고 있으나, 1965 년 岡部, 後藤[11]에 의한 계통간의 성질을 비교하여 본바로는 lactose 비분해등을 인정하였으며 다른 탄소원에서도 분해의 상이함을 알 수 있었으며, 균주에 따라 탄소원의 분해정도에 차이가 있음을 알게 되었다. 본시험에 있어 우리나라에 있는 균주로는 galactose 분해능의 균주와 lactose 비분해능의 균주가 존재하고 있음을 알게 되었으며, 탄소원 분해등에 따른 균주계통의 시험으로는 앞으로 더 많은 균주에 대해 이관계를 구명하여야 되지 않을까 생각되며, 탄소원의 산생성에 있어서는 1965 년 岡部[11]에서 glucose 와 lactose 에서의 산성을 나타낸바와 비교하여 볼 때 본시험에서는 glucose 에서 산생성 및 gas 생성이 균주에 따라 상이함을 나타냈는데, 균주 4, 6, 8, 9, 10, 12, 15 에서는 gas 를 생성한 균주였으나 다른 균주에서는 생성하지 않았으며, lactose 는 모든 균주가 비생성균주였고, 산도변화에서도 glucose 에서는 몇개의 균주를 제외하고는 전부 산생성균주였으며, lactose 에서는 전균주가 산을 생성하지 않았다. 이러한 결과는 岡部의 시험결과와 일치되고 있으나 mannitol 에서의 岡部는 산생성 균주와 알카리성균주로 나누고 있었으나 본 시험결과에서는 상이함을 나타내고 있으며 gas 생성에서는 생성균주와 비생성균주로 나타내어 같은 결과를 보이고 있다. 이외의 탄소원에서 보면 비교적 같은 결과를 보이고 있는 것이었으며, 본 시험 결과로는 glucose, saccharose, raffinose, starch 등이 산성경향을 보였으며 이외의 탄소원에서는 알카리성 반응을 나타냈음을 알게 되었고, galactose 에서의 분해능과 sacaharose, starch, lactose 의 비분해능과 이외의 탄소원에 대하여 각균주에서 각기 다른 분해결과를 나타내고 있다.

생리적성질에 관해서는〔Table V〕에서 보는바와 같이 Bergey[1] 분류에 따른 생리적 성상과 같은 반응을 보이고 있으나 이중 특히 gelatin 용해에 있어 각 균주에 따라, 용해가 많은 균주와 적은 균주 또는 비용해균주로 나타내고 있으며, methylene blue 환원에서는 1 균주만이 다른 반응을 나타냈음을 알게 되었고, 다른 성질에 대해서는 모든균주의 반응이 같은 결과를 나타냈다.

적 요

가지과작물의 풋마름병의 병원균(*Pseudomonas solanacearum*)의 생리적 성질을 구명하고자 시험한 결과는 다음과 같았다.

1. 공시균주로는 가지과작물인 도마도(7), 가지(3), 고추(6), 에서 분리한 16 균주를 공시하였다.

2. 탄소원에 따른 분해에서는 Galactose 는 16 균주가 전부 이용하였으나 Saccharose, Lactose, Starch 는 이용하지 못하였으며 이외의 탄소원에서는 균주에 따라 이용 반응이 각기 틀렸다.

3. 균주에 의한 탄소원의 산도변화에서는 Glucose, Saccharose, Raffinose, Starch 는 산성을 나타냈으나 Galactose, Salicin, Lactose, Dextrin, Mannitol, Esculin

Table V. Physiological characteristics of *Pseudomonas solanacearum*.

Characteristics	isolates															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Gelatin liquefaction	++	−	−	−	−	−	+	++	+	−	−	++	++	++	±	++
H_2S production	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
NO_3 production	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indole production	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Ammonia production	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Diastase	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
V.P. reaction	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Methyl red test	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Methylene blue test	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−
Millk test	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Litmus milk	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
H_2O_2 decomposition	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

은 알카리성 반응을 나타내었다.

4. 생리적성질에서는 Gelatin 반응에서 균주에 따라 용해정도의 차가 나타났으며, methylene blue에서는환원균주도 있었음을 알게 되었고, 이외의 반응에서는 같은 성질을 보여주었다.

인 용 문 헌

1. Breed, R.S., E. G. D. Murray and N. R. Smith. 1957. Bergey's manual of determinative bacteriology(Seven edition) The Williams Wilkins Co.
2. Buddenhagen, I. & Kelman. 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by Pseudomonas solanacearum. Ann. Rev. Phytopathology 2;203-230
3. 向秀夫. 1951. トマト 青枯病とその防除. 農及園 26(1); 95-98.
4. _____. 1968. 植物細菌病研究の進步. 日植病報 34 (4); 213-215.
5. Manual of method for pure culture study of bactaria. 1947. Edited by the Committee on bacteriological technique of the Society for American bacteriologist.
6. 岡部德夫, 後藤正夫. 1953. Pseudomonas solanacearumの研究 I. 細菌 Virusによる 系統の 分類と系統の 毒性に ついて. 靜岡大學農研報 3; 52-80.
7. _____, _____. 1955. Pseudomonas solanacearumの 研究Ⅷ. B—I 及び B—Ib 系統に 見出された 糖分解變異菌に ついて. 靜岡大學農研報 5; 40-47.
8. _____, _____. 1955. Pseudomonas solanacearumの 研究 Ⅸ. OP型菌より生じた 型集落について. 靜岡大學農研報 5;48-56.
9. 岡部德夫. 1961. Pseudomonas solanacearumの 研究 XI. 病原型に ついて. 靜岡大學農研報 11; 25-42.
10. _____. 1965. Pseudomonas solanacearumに 關する 研究. 日植病報 30(3); 119-121.
11. _____. 1965. ナス科 植物 青枯病菌の 系統. 日植病報 31(記念號); 152-158.
12. Wood, R.K. S. Physiological Plant Pathology. Blackwell Scientific publications LTD;312-316
13. 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.
14. 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
15. 傳研學友會編. 1956. 細菌學實習提要. 丸善 東京,; 138-146.