

# 우리나라 담배 세균성마름병균(立枯病菌 : *Pseudomonas solanacearum*)의 Race 와 Biochemical Type

李永根 · 金政和 · 姜瑞奎

## Classification of *Pseudomonas solanacearum* isolates from tobacco plants in Korea

Young Keun Yi, Jeong Hwa Kim, and Seo Kyu Kang

### ABSTRACT

Fourteen isolates of *Pseudomonas solanacearum* virulent to tobacco cultivars were selected among isolates obtained from tobacco plants showing wilt symptoms throughout the country during 1980~1981. The fourteen isolates were classified into two races based on reactions in eggplant, tomato, red pepper, potato and tobacco, and also classified into biochemical type 1 and type 4 according to physiological characteristics.

### 緒 論

담배의 세균성마름병(立枯病)은 우리나라에서 이미 1910년 이전부터 담배의 主要病으로 기록되었으며<sup>10)</sup>, 중남부지방을 중심으로 점차 만연되어 최근에는 전국의 담배재배지역에 고루 발생하여 해마다 막대한 피해를 주고 있다. 본 병은 대체로 6월 하순 이후 高温期에 病原細菌(*Pseudomonas solanacearum*)이 주로 뿌리와 땅가부위 등의 상처를 통하여 침입하며 처음에는 칩해 받은 쪽의 잎부터 시들기 시작하지만 병이 진전되면 병균 침입부위 쪽의 줄기에 흑갈색의 줄무늬가 확대되면서 마침내 식물 전체가 말라 죽는다.

본 병원세균은 대부분의 가지科植物을 포함하여 33科 97種 이상의 광범위한 寄主範圍를 가지는 것으로 알려져 있으며<sup>8)</sup>, 美國과 中南美地域에서는 各種 作物로부터 分離, 同定된 본 菌株들을 담배, 가지, 감자, 바

나나, 후추 등에 人工接種하여 나타난 病原性反應 결과에 따라 3개의 race<sup>1,2,4)</sup>와 菌株別 生化學的 特性調査에 따라 4가지의 biochemical type<sup>1,6)</sup>이 보고되어 있다. 그러나 國內에서는 본 병에 관한 被害調査, 寄主 作物品種別 抵抗性檢定 및 몇가지 藥劑防除試驗 등이 단편적으로 실시 되었을 뿐 본 병원균의 生理的 또는 生化學的 分化에 관해서는 거의 보고된 바 없다. 따라서 본 시험은 國內 주요담배지역별로 채집, 분리된 병원균주의 生理적, 생화학적 分化여부조사와 美國과 中南美에서 보고된 race 및 biochemical type과 비교할 목적으로 수행되었다.

### 材料 및 方法

#### 病原細菌의 分離, 同定

1980~1981년에 걸쳐 본 병의 발생 최성기에 전국의 주요담배재배지를 순회하면서罹病組織으로부터 分離

韓國人蔘煙草研究所 病害虫研究室(Lab. of Phytopathology and Entomology, Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Suweon, Korea)

**Table 1.** Isolate number of *Pseudomonas solanacearum*, location, tobacco cultivar, and time of collection for each isolate tested

Isolate Number	Locality	Tobacco Variety	Collection date
1	Geochang, Kyeongnam	Va 115	June 1980
2	Andong, Kyeongbug	DG 72	June 1980
3	Yeongil, Kyeongbug	Hicks	June 1980
4	Mungyeong, Kyeongbug	Va 115	June 1980
5	Yeongdeog, Kyeongbug	Va 115	June 1980
6	Cheongweon, Chungbug	Va 115	July 1980
7	Eumseong, Chungbug	Hicks	July 1980
8	Weonseong, Kangweon	Hicks	July 1980
9	Anseong, Kyeonggi	Hicks	July 1980
10	Hwaseong, Kyeonggi	NC 95	July 1981
11	Buyeo, Chungnam	Br 21	August 1981
12	Asan, Chungnam	Br 21	August 1981
13	Hongseong, Chungnam	Br 21	August 1981
14	Eumseong, Chungbug	Va 115	August 1981

한菌株別로懸濁液( $10^8$ cells/ml)을 만들어 본 병에感受性으로 알려진黃色種 Hicks幼苗 5~6葉期에土壤接種을實施하여病原力이 강한菌株을 지역별로1군주씩 선발,供試하였다(표 1).

병원세균은Tetrazolium寒天平板培地(Bactopepton 10g, Casein Hydrolysate 1g, Glucose 0.5g, Bactoagar 10g, 0.5%Tetrazolium sol. 10ml, 증류수 1l)를 사용하여罹病組織의즙액으로streak method에 의하여 분리하였으며,病原性檢定에서선발된균주는Bergey's manual<sup>3)</sup>에 기록된細菌의特性和 비교,同定하였다.세균의형태와鞭毛數 및附着位置 등의 조사는공시균주를nutrient 한천배지에서30°C로24시간 배양하여살균증류수에 현탁한 다음 2% phosphotungstic acid로 염색하여電子顯微鏡(Hitach Hu 11-E)으로 관찰하였으며,생리적 특성조사는Harrigan and McCane<sup>5)</sup> 및 Skerman<sup>6)</sup>의 방법에 준하였다.

#### 寄主植物에 대한病原性調査

지역별로선발된 14개供試菌株을담배, 가지, 고추, 토마토, 감자에 각각인공접종하여27~30°C의 항온실에 2주간 보존후發病株率을 조사하였다.기주식물별공시품종으로담배는Hicks, 가지와 감자는국내에市販中인「흑강군」 및 「남작」을, 토마토 및 고추는園藝試驗場으로부터 분양 받은「내병장수」 및 「새고추」를 사용하였다.病原菌의接種은살균된 토양을 채운 프라스틱·바트(35×27×8cm)에 과중후 50日頃된공시작물의幼苗를 20株씩移植한後 nutrient agar(bacto

peptone 5g, beef extract 3g, bacto tryptone 10g, yeast extract 1g, glucose 5g, bacto agar 20g, 증류수 1l)에서 24시간 배양된 공시균주의 현탁액( $10^8$ cells/ml)을 vat당 60ml씩土壤灌注 하였으며 3반복으로 실시하였다.

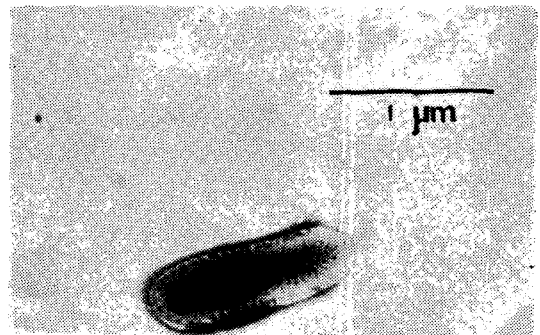
#### 生化學的 特性調査

공시균주들의炭水化物 利用性 등 생화학적 특성 15가지를 조사하였으며 조사방법은Harris<sup>4)</sup>, French and Sequeira<sup>4)</sup>, Harrigan and McCane<sup>5)</sup>, Skerman<sup>6)</sup> 등의 방법에 준하였다.

#### 結果 및 考察

##### 病原細菌의 同定

전자현미경으로 관찰 결과, 공시균주들은 1~3개의



**Fig. 1.** Electronmicrograph of *Pseudomonas solanacearum* grown on nutrient agar medium for 24 hours at 30°C.

**Table 2.** Characteristics for identification of 14 *Pseudomonas solanacearum* isolates tested

Characteristics	Isolates tested	<i>P. solanacearum</i> <sup>b)</sup>
Shape	short rod	short rod
Flagellum(No.)	a polar (1~3)	a polar (1~4)
Gram stain	- <sup>a)</sup>	-
Pigment fluorescence	-	-
Indol production	-	-
Starch hydrolysis	-	-
H <sub>2</sub> S production	-	-
Cytochrome oxydase	+	+
Nitrate reduction	+	+
Pathogenicity to tobacco	+	+

<sup>a)</sup> + indicates positive and - indicates negative reactions.

<sup>b)</sup> Data from the Bergey's manual of determinative bacteriology<sup>2)</sup>.

單極毛를 가진 짧은桿菌으로(그림 1) Gram 음성균이었으며 Indol test을 비롯한 6가지 생리적 반응이 Bergey's manual<sup>2)</sup>에 기록된 *Pseudomonas solanacearum*

의 특성과 일치하였고 담배에 대한 병원성이 인정되었다(표 2).

### 寄主植物에 대한 病原性

가지 등 5종의 判別寄主植物에 대한 供試菌株別 病原性反應 結果(표 3), 14개 공시균주 가운데 1번부터 9번까지의 9개 균주는 가지와 감자에 弱한 병원성을 나타내었으며 토마토 및 고추에는 中~弱한 병원성반응을 보인 반면 기타 5개 균주는 가지, 고추 및 감자에 대하여 强한 병원성을 보였고 토마토에서는 균주에 따라 병원성반응이 다양하였다.

Buddenhagen & Kelman<sup>2)</sup>과 French & Sequeira<sup>4)</sup>에 의하면 *Pseudomonas solanacearum* race 1은 가지, 감자, 토마토 등 대부분의 가지科作物에 대하여 병원성이 강한 반면 race 2는 3배체 바나나와 Heliconia에, race 3은 감자와 토마토에 대하여 각각 강한 병원성을 나타낸다고 하였다. 본 실험에서 10~14번 균주는 모든 관별식물에 대하여 강한 병원성 반응을 나타내었으므로 race 1에 해당되는 것으로 생각되어지며, 1~9번 균주는 3배체 바나나와 Heliconia에 대한 병원성 반응이 조사되지 않았으나 담배를 제외한 모든 관별식물에 대하여 中~弱한 병원성 반응을 나타내어 race 2에 해

**Table 3.** Degree of infection rate in five host plants inoculated with each of 14 isolates of *Pseudomonas solanacearum*

Isolate Number	Degree of infection rate in host plants <sup>a)</sup>				
	Eggplant	Tomato	Redpepper	Potato	Tobacco
1	L <sup>b)</sup>	M	L	L	H
2	L	L	L	L	H
3	L	L	L	L	H
4	L	L	L	L	H
5	L	M	L	L	L
6	L	M	M	L	L
7	L	M	L	L	L
8	L	L	L	L	L
9	L	L	L	L	L
10	H	M	H	H	H
11	H	H	H	H	M
12	H	H	H	H	M
13	H	H	H	H	M
14	H	L	H	H	H

<sup>a)</sup> The cultivar Heugganggun was for eggplant(*Solanum melongena* L.), Naebyeogjangsu for tomato, Saegochu for redpepper(*Capsium annuum* L.), Namjag for potato and Hicks for tobacco.

<sup>b)</sup> The letter signifies percentage of infected plants over total plants tested; L=0~20%, M=21~40%, and H=41~100%.

**Table 4.** Results of physiological tests with 14 isolates of *Pseudomonas solanacearum* and comparison with biochemical type 1 (B<sub>1</sub>) and type 4 (B<sub>4</sub>)<sup>a)</sup>

Test	Isolate of <i>P. solanacearum</i>															
	1	2	3	5	8	9	10	B <sub>1</sub>	4	6	7	11	12	13	14	B <sub>4</sub>
Oxidation of cellobiose	- <sup>b)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gas from nitrate	-	-	-	-	-	-	-	+or-	+	+	+	+	+	+	+	+
Hydrolysis of tween 80	-	-	-	-	-	-	-	+cr-	+	±	±	+	+	±	+	+
Utilization of dulcitol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
mannitol	-	±	-	±	±	±	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
sorbitol	-	-	-	±	±	±	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
potassium glycollate	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
potassium lactate	+	+	-	+	+	+	+	+or-	+	+	+	+	+	+	+	+
potassium malonate	+	+	-	+	+	+	-	+or-	±	-	-	-	-	-	-	-
fructose	-	-	-	+	+	+	-	+or-	+	+	+	+	+	+	+	+
inocitol	-	-	-	+	+	+	-	+or-	+	+	±	+	+	+	+	+
tyrosine	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	±	+
Melanin formation																
on tyrosine medium	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>a)</sup> The data were from Harris<sup>6)</sup> and, French and Sequeira<sup>4)</sup>.

<sup>b)</sup> + indicates positive and - indicates negative reaction.

당되는 것으로 생각된다.

### 生理的 特性

Harris<sup>6)</sup> 및 French & Sequeira<sup>4)</sup>의 방법에 따라 공시균주들에 대하여 15가지 생리적 특성을 조사한 결과, Cellobiose, Maltose, Lactose의 산화반응에서 공시된 14개 균주 모두가 음성반응을 나타내었으며 기타 12가지 특성조사에서는 균주에 따라 다양한 반응을 보였다

Hayward<sup>7)</sup>는 mannitol 등 탄수화물 6종의 이용성을 조사하여 *Pseudomonas solanacearum*을 4종의 biochemical type으로 구분한 바 있는데 Harris<sup>6)</sup>는 美國 및 中南美地域으로부터 115개 균주를 수집, 공시하여 117종의 생화학적 특성을 조사한 결과, Hayward가 분류한 4가지 biochemical type은 19가지 생화학적 특성에서 차이가 있음을 보고 하였다. 또한 French & Sequeira<sup>4)</sup>는 0.1%의 tyrosine을 함유한 인공배양기상에서 biochemical type 1에 속하는 균주만이 melanin을 생성한다고 하였다. 본 시험의 결과는 공시된 14개 균주 가운데 7개는 biochemical type 1과, 나머지 7개 균주는 biochemical type 2와 대체로 일치하였다. Buddenhagen & Kelman<sup>1)</sup>은 *Pseudomonas solanacearum*의 race와 biochemical type과의 관계를 조사하여 race 3는 bioc-

hemical type 2와 일치하며, biochemical type 1, 3, 4는 race 1과 race 2 모두에 해당될 수 있다고 하였다. 본 시험결과 공시균주들의 기주식물에 대한 병원성반응은 race 1과 2에 해당 되었으므로 biochemical type 이 1 또는 4로 나타난 것은 Buddenhagen & Kelman의 보고와 같은 경향이였다.

Harris<sup>6)</sup>는 본 병원세균의 寄主範圍를 biochemical type별로 조사한 바 있는 데 type 1과 3의 기주범위에는 담배가 포함되어 있으나 type 2와 4의 기주범위에서는 담배가 제외되었다. 그러나 본 시험결과 담배에서 분리된 7개지역 공시균주가 biochemical type 4에 속하였으므로 담배도 토마토, 고추, 가지, 생강과 함께 biochemical type 4의 기주범위에 추가시켜야 할 것이다. 본 시험결과 race 1은 대부분 忠南의 burley種 담배 재배지역과 京畿, 忠北의 일부 黃色種 담배 재배지역에서 채집되었으며, race 2는 모두 黃色種 담배 재배지역인 慶南北, 江原 및 忠北에서 채집되었다. 그러나 본 병원세균의 地域別 race分佈를 명확하게 구명하기 위하여는 보다 광범위한 지역으로부터 더 많은 菌株가 채집, 供試하여야 될 것이며, 감자와 토마토만을 주로 침범하는 것으로 보고된 race 3의 國內分佈與否도 계속 조사되어야 할 것으로 생각된다.

## 摘 要

1980~1981년 사이에 全國의 14個 主要 담배 栽培地 域으로 부터 採集, 分離한 담배 세균성마름병균(*Pseudomonas solanacearum*)의 가지, 토마토, 고추, 감자 및 담배에 대한 病原性反應을 調査한 결과, race 1 및 race 2에 속하였으며 또한 이 菌株들의 生理的 特性 15種을 조사한 결과 biochemical type 1과 4로 判明되었다.

## 引用文獻

1. Buddenhagen, I. and A. Kelman. 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Ann. Rev. Phytopathol. 2 : 203-230.
2. Buddenhagen, I., L. Sequeira, and A. Kelman. 1962. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*(Abstr.) Phytopathology. 52 : 726.
3. Doudoroff, M. and N.J. Palleroni. 1974. Genus I. *Pseudomonas*. pages 217~243 in; R.E. Buchanan, and N.E. Gibbons, ed. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. William & Wilkins, Baltimore. 1246pp.
4. French, E.R. and L. Sequeira. 1970. Strains of *Pseudomonas solanacearum* from Central and South America; A comparative study. Phytopathology. 60 : 506-512.
5. Harrigan, W.F. and M.E. McCane. 1966. Laboratory methods in microbiology. Academic Press, New York.
6. Harris, D.C. 1971. Intra-specific variation in *Pseudomonas solanacearum*. pages 289~292 in; H.P. Mass Geesteranus, ed. Proc. 3rd. Int. Conf. Plant pathogenic Bact. Wageningen, The Netherlands. 365pp.
7. Hayward, A.C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. J. appl. Bact. 27 : 265-277.
8. Lucas, G.B. 1975. Diseases of tobacco. 3rd ed. 365~382. Biological Consulting Associates, Raleigh. 621pp.
9. Skerman, V.B.D. 1967. Guide to the identification of the genera of Bacteria. 2nd ed. William & Wilkins, Baltimore. 303pp.
10. 韓國煙草調査書. 1910. 第1章 耕作. 度支部 臨時財源調査局 p.11-29.