

담배 Callus 및 삼수에 대한 세균성마름병균 (*Pseudomonas solanacearum*) 배양여액의 처리효과

이영근, 이재열*, 김정화

한국인삼연구소 · *경북대학교 미생물학과

EFFECTS OF THE CULTURE FILTRATE OF *PSEUDOMONAS SOLANACEARUM* ON THE CALLUS AND CUTTING OF TOBACCO PLANT

Yi, Y.K., J.Y. Lee*, and J.H. Kim

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute

*Dept. of Microbiology, Kyungpook National University

(Received for publication, March 25, 1985)

Abstract

The typical dark brown stripe symptom of bacterial wilt disease was observed in the cuttings of tobacco stem treated with the culture filtrate of virulent *Pseudomonas solanacearum*. And the tobacco callus treated with that culture filtrate showed deterioration of the callus 2 days after the treatment. On the contrary, the cuttings and the callus treated with the culture filtrate of the avirulent bacteria expressed no typical symptom and vigorous growth respectively. Therefore it was suggested that certain toxin which might be produced by the virulent bacteria could break down tobacco cells.

서 론

담배의 세균성마름병균(立枯病菌: *Pseudomonas solanacearum*)은 기주범위가 넓어 33속 197종의 식물을 침해하여 특히 고추, 감자, 가지, 참깨 등의 경제작물에 큰 피해를주고 있다.⁵⁾ 이 병원균의 지역적인 분포도 광범위하여 전세계의 담배경작지에서 그 피해가 보고되고

있으며 우리나라에서도 전국의 담배경작지에서 해마다 큰 피해를 나타내고 있다. 이 병원균의 발병기작에 관하여 Husain & Kelman¹⁾은 병원세균이 생성한 slime polysaccharide에 의해 기주식물의 도관이 막혀서 발병된다고 하였으며, Kelman & Cowling³⁾은 부차적으로 병원세균이 생성하는 각종 효소에 의해 도관조직이 파괴된다고 하였다. 본 병원세균이 생성한다

는 toxin에 대해서 Hutchinson²⁾과 Kunz⁴⁾가 언급한 바 있으나 Husain & Kelman³⁾은 그 역할을 무시하였다. 본 실험에서는 이제까지 여러가지로 설명되고 있는 담배세균성마름병균의 발병기작 가운데 병원세균이 생성하는 toxin의 역할을 규명코져 담배의 callus 및 挿穗를 이용한 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

1. 세균성마름병균

1981년 한국인삼연구소 경작시험장 시험포장 (경기도 화성군 반월면 당수리 소재)에서 채집한 병든 조직으로부터 분리된 균주를 병원균으로 공시하였고, 또 이 균주를 제대배양하는 과정에서 병원성을 상실한 변이균주⁵⁾를 비병원성균으로 사용하였다.

2. 세균배양액 조제

병원성 및 비병원성 *P. solanacearum* 균주를 nutrient 액체배지 (bacto peptone 5g, beef extract 3g, tryptone 10g, yeast extract 1g, glucose 5g, 증류수 1ℓ)에서 30℃로 7일간 진탕배양한 다음 10,000 rpm으로 20분간 원심분리시켜 상층액을 membrane filter (pore size 0.2 μm)로 여과하여 배양된 세균을 제거하였다.

3. 세균배양액의 병원성조사

과종후 3개월된 담배품종 BY4의 줄기 윗부분을 18cm되게 잘라 병원성 및 비병원성균주의 배양액에 침지시켜 30℃에 보존하면서 병징의 발현여부를 조사하였다. 배양액별로 5개씩 처리하였다.

또한 담배 callus에 대한 병원성조사는 Kinetin 2 ppm과 2.4-D 2 ppm을 첨가한 MS 기본배지⁶⁾를 사용하여 담배품종 BY4의 잎맥 조직으로부터 callus를 유지시킨 다음 Kinetin 0.5 ppm과 2.4-D 1 ppm을 첨가한 MS 배지에 0.8~0.9g의 callus를 이식하고 병원성 및 비병원성균주 배양액을 1ml씩 접종한

후 25℃에 보존하면서 callus의 생육상황을 조사하였다.

결 과

1. 세균배양액의 담배삽수에 대한 병원성

병원성 및 비병원성균주의 배양액에 담배삽수를 꽂아서 30℃에 보존한 결과, 병원균 배양액에 처리된 담배삽수는 24시간 뒤에 뚜렷한 시들음현상을 보였으며, 48시간 뒤에는 세균성마름병의 전형적인 병징인 흑갈색으로 부패된 줄무늬가 줄기를 따라 나타나기 시작하였다 (그림 1). 그러나 비병원성균 배양액에 처리된 담배삽수는 48시간 뒤에도 시들음현상이 경미하였으며 흑갈색의 줄무늬병징도 나타나지 않았다.



Fig. 1. Effect of the different liquid samples on tobacco cuttings. Abbreviations are the culture filtrates of *Pseudomonas solanacearum*, virulent isolate (V) and avirulent isolate (AV), and the sterilized water (W).

2. 세균배양액의 담배 callus에 대한 병원성

담배 callus에 병원성 및 비병원성균주의 배양액을 처리하여 25℃에서 계속 배양한 결과, 병원균 배양액을 처리한 callus는 48시간뒤

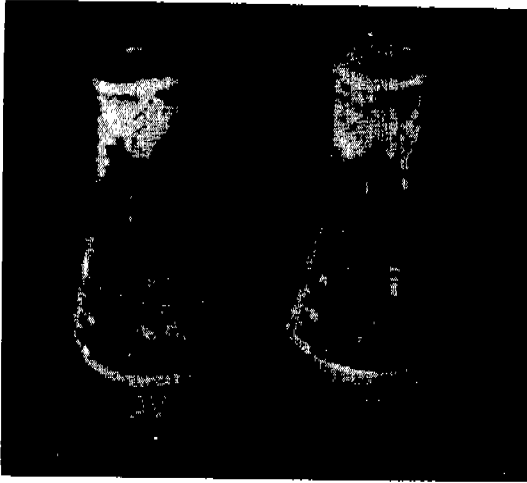


Fig. 2. Effect on tobacco callus of the culture filtrate of *Pseudomonas solanacearum*, avirulent isolate (AV) and virulent isolate (V).

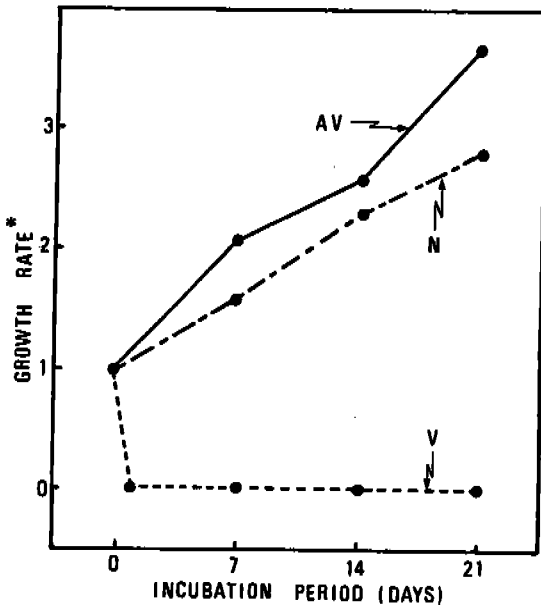


Fig. 3. Growth rate of the tobacco callus treated with culture filtrate of virulent isolate (V) and avirulent isolate (AV) of *Pseudomonas solanacearum* and the nontreated tobacco callus (N)
* relative weight increase.

에 유백색액체를 누출시키면서 모두 사멸되었다. 그러나 비병원성균 배양여액을 처리한 callus는 무처리대조구의 callus와 같은 수준의 정상적인 생육을 보여주었다. (그림 2, 3)

한편 죽은 callus에서 나타난 유백색액체가 실험도중에 오염된 미생물 때문인지를 규명하기 위하여 이 액체를 700배의 광학현미경으로 검경하고, nutrient 한천배지 및 MS배지에 이식하여 25°C에 7일간 배양하였으나 아무런 미생물의 증식도 인정되지 않았다.

고 찰

*P. solanacearum*의 병원성기작에 관한 설명으로 Kunz⁴⁾는 병원균 배양액에서 추출한 alcohol 침전물이 식물의 세포막을 파괴하여 시들음현상을 일으킨다고 toxin에 의한 발병가능성을 보고한 바 있다. 그러나 뒤에 Husain & Kelman⁵⁾은 담배세균성마름병의 시들음현상은 식물체의 도관내에서 급격히 증식된 병원세균의 slime polysaccharide에 의하여 도관이 막히기 때문이라고 toxin의 역할을 배제하였다. 물론 단순한 slime polysaccharide에 의한 도관의 폐쇄만으로도 식물체의 시들음현상은 설명될 수 있다. 그러나 세균성마름병에 걸린 담배줄기에 나타나는 흑갈색의 줄무늬형병징은 물리적인 도관폐쇄만으로는 설명이 불가능하다. 더구나 도관이 분화되지 않은 callus상태의 식물에서는 도관폐쇄설로 병원성기작을 설명하기는 더욱 어렵다.

본 실험에서는 병원균 배양여액처리로 사멸된 callus는 실험과정에 오염된 미생물에 의한 것이 아니었다. 따라서 배양여액에 함유된 병원균의 대사물질이 담배세포에 영향을 주어 병원성을 나타낸 것으로 보아야 할 것이다.

식물에 시들음병을 일으킬 수 있는 병원세균의 toxin으로는 *Corynebacterium michiganense*, *C. insidiosum* 및 *C. sepedonicum* 등이 생성하는 몇가지 glycopeptide가 보고되어 있으며, 이들 glycopeptide의 발병기작은 대부분 도관세포의 세포막을 파괴하는 것으로 알

려져 있다.^{7,8)} 본 실험에서 병원균의 배양여액처리에 의하여 죽은 callus는 세포의 전해물(電解物)로 생각되는 액체가 누출된 것으로 보아서 병원균 배양여액에 함유된 toxin이 plasmodesmata로 둘러싸인 담배세포를 파괴시킨 것으로 생각된다.

또한 병원세균이 제거된 배양여액에 의해서 병원성이 발휘되었으므로 이 toxin은 병원균이 생성한 exotoxin이었던 것으로 생각되지만 endotoxin에 의해서도 병원성이 나타나는지는 계속 조사되어야 할 것이다. 지금까지 알려진 식물병원세균이 생성하는 toxin은 대부분이 기주식물에 대하여 비특이적(非特異的)인 것으로 보고되고 있는데^{7,8)} *P. solanacearum*이 생성하는 toxin의 기주특이성 여부는 앞으로 더 검토되어야 할 것이다.

결 론

병원성 및 비병원성인 담배세균성 마름병균(*Pseudomonas solanacearum*)의 배양여액을 담배의 삽수 및 callus에 처리한 결과, 병원균 배양여액을 처리한 담배삽수에서는 세균성마름병 특유의 흑갈색으로 부패된 줄무늬형 병징을 볼 수 있었으며, callus는 배양여액을 처리한 2일 후에 유백색액체를 누출시키며 모두 죽었다. 그러나 비병원성균의 배양여액을 처리한 담배삽수에서는 흑갈색줄무늬형 병징을 볼 수 없었으

며, callus도 정상적으로 생육되었다. 따라서 배양여액에 함유된 병원균의 toxin에 의하여 담배세포가 죽은 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Husain, A. and A. Kelman, *Phytopathology* 48:155-165 (1958).
2. Huchinson, C.M., *Mem. Dept. Agr. India, Bacteriol. Ser. 1*; 67-83 (1913) (cited from reference No.1).
3. Kelman, A. and E.B. Cowling, *Phytopathology* 55:148-155 (1965).
4. Kunz, R., *Phytopathol. Z* 20:89-112 (1952).
5. Lucas, G.D. "Disease of tobacco", 3rd ed. P. 621. *Biological Consulting Associates. Raleigh, U.S.A.* 1975.
6. Murashige, T., and F. Skoog, *Physiol. Plant* 15:473-497 (1962).
7. Patil, S.S., *Ann. Rev. Phytopathol.* 12:259-279 (1974)
8. Strobel G.A., *Ann. Rev. Microbiol.* 31:205-224 (1977)
9. 李永根, 金政和, 朴元穆, 韓國植物病理學會誌 1(1): 17 ~ 21 (1985)