

十字花科 菜蔬種子の 검은빛썩음病 感染檢定 및 種子消毒

金炳洙

慶北大學校 農科大學 園藝學科

Testing for Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in Crucifer Seeds and Seed Disinfection

Byung Soo Kim

Department of Horticulture, College of Agriculture Kyungpook
National University, Taegu 635, Korea

要 約

總 29 點의 國內市販 十字花科 菜蔬種子에 대하여 검은빛썩음병(黑腐病) 感染與否를 種子洗滌液의 濃縮· 選擇培地에 塗抹方法에 依해 調査한 結果 1 點의 輸入 양배추種子에서 검은빛썩음병균이 檢出되었다. 몇가지 種子消毒方法을 檢討한 結果 옥시폴(3% 過酸化水素水)에 30 分間 浸漬함으로써 自然感染種子の 검은 빛썩음病菌을 消毒할 수 있었다. 十字花科 菜蔬栽培圃場에서 發病調査 結果 검은빛썩음병이 양배추에서는 매우 重要한 病害인 것으로 나타났다.

ABSTRACT

Total 29 commercial crucifer seed lots were tested for seed transmission of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* by seed washing liquid plating assay. One imported cabbage seed lot was found to carry *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Several methods and chemicals for eradication of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in and on the cabbage seed were tested for effectiveness. Soaking cabbage seed in 3% hydrogen peroxide solution for 30 minutes effectively eradicated *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in a naturally infested seed lot. In a field survey, black rot turned out to be an important disease in cabbage in Korea.

Key words: *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, seed disinfection.

緒 論

十字花科 菜蔬에 있어서 검은빛썩음병(黑腐病)(1)은 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*라는 細

菌의 侵入으로 일어나는 世界的으로 重要한 病害이다. 病原菌은 주로 感染된 種子和 함께 遠距離로 轉搬되고(4, 11, 14) 또 병든 植物의 遺體와 함께 土壤에 남아 있다가 다음 作物에의 傳染源이 되는 것으로 알려져 있다(9).

1970年代初에 검은빛썩음병에 感染된 日本의 一代雜種 양배추 種子가 美國에 輸入되어 美國全域에 검은빛썩음병이 大發生하였다는 報告가 있는데(14) 우리나라에서 栽培되고 있는 양배추 種子의 大部分은 日本에서 輸入된 것이므로 本研究에서는 輸入 양배추 種子를 포함하여 國內에 市販되고 있는 양배추, 무우, 배추 등 十字花科 菜蔬 種子의 검은빛썩음병 保菌 與否를 調査하고 種子消毒方法을 檢討하였으며 菜蔬栽培地와 農産物集荷場에 出荷되는 十字花科 菜蔬에서 검은빛썩음병 發生을 調査하였다.

材料 및 方法

十字花科 菜蔬 種子의 검은빛썩음병 感染與否.

檢査用 種子는 大邱市內의 各種苗商으로부터 구입하였고 코리프라워 種子는 興農種苗(株)로부터 寄贈받아 使用하였다. 種子의 검은빛썩음병 保菌與否는 Schaad와 Donaldson(8)의 方法에 따라 10,000粒의 試料 種子를 250 ml 짜리 플라스크에 넣고 7 mg의 멘레이트水和劑(40% active)와 0.02%의 Tween 20을 含有한 生理的 食鹽水(0.85% NaCl) 75 ml을 加하여 25°C에서 10分間 振盪하여 網紗로 거른 다음 25 ml의 生理的 食鹽水로 まで 씻어낸다. 이렇게 하여 얻은 種子洗滌液을 2°C, 400g에서 5分間 遠心分離하여 沈澱物을 버리고 上騰液을 취하여 다시 2°C, 12,000 g에서 10分間 遠心分離한 다음 上騰液을 버리고 遠心管의 밑바닥에 가라앉은 沈澱物을 2 ml의 生理的 食鹽水에 稀釋하였다. 이 濃縮된 種子洗滌液의 原液 및 1:10, 1:100 稀釋液을 0.1 ml씩 取하여 SM培地(3)가 든 페트리접시에 各 各 3 반복으로 塗抹하여 28°C에서 4~6日間 培養하였다. *Xanthomonas* 菌 特有的의 澱粉分解帶를 形成하면서 자라는 細菌群落이 나타나면 Yeast extract Dextrose Calcium carbonate Agar (YDC) 培地에 옮겼다. YDC에서 *Xanthomonas* 特有的의 윤기있는 黃色群落을 形成하면 양배추에 注射接種하여 病原性有無를 調査하였다.

種子消毒試驗. 消毒效果 檢定에 使用하고자 양배추 種子에 對하여 人工接種을 實施하였는데 人工接種은 양배추(宇治一號) 種子를 검은빛썩음병 細菌懸濁液에 담가 진공데시케이트에 넣고 15分間 진공 펌프를 돌려 病原細菌을 種子內로 浸透시킨 다음 꺼내서 마당에 말려 使用하였다. 이때 검은빛썩음병 菌

은 YDC培地에서 48時間 培養한 다음 綿棒으로 細菌을 收去하여 殺菌水에 타서 McFarland 濁度試驗管(turbidity tube)(6)과 比較하여 細菌密度가 10^9 cells/ml 程度되도록 하여 接種源으로 使用하였다. 이와같이 接種한 種子에 對하여 各種 浸漬消毒處理를 한 다음 말려 SM培地(3)에 置床하여 4-6日 後 種子 주위의 검은빛썩음병 菌 生長과 그에 따른 澱粉分解帶의 有無를 보고 消毒效果를 調査하였다. 自然感染 種子에 對한 消毒은 검은빛썩음병 保菌이 確認된 宇治一號 양배추 種子 5,000粒씩을 取하여 各 各 1% 次亞鹽素酸나트륨溶液과 옥시플(3% 過酸化水素水)에 30分間 浸漬한 후 말려서 種子 檢査에서와 같이 種子洗滌液을 濃縮·選擇培地에 塗抹하는 方法으로 病原菌을 檢出하였다.

栽培圃場에서의 검은빛썩음병 發生調査. 菜蔬栽培 農家圃場과 菜蔬集荷場에서 검은빛썩음병 發病株率과 發病 程度를 小, 中, 深으로 區分하여 調査하였다. 여기서 小는 外葉의 先端에 直徑 1 cm 內외의 病斑이 形成된 個體가 主流를 이루고 있는 圃場이고 深은 外葉의 先端으로부터 시작한 V字 모양의 病斑이 葉脈을 따라 葉長의 1/2까지 혹은 그以上 伸展된 個體가 主流를 이루고 있는 圃場으로 나였으며 中은 小와 深의 中間 程度로 하였다.

結果 및 考察

十字花科 菜蔬 種子의 검은빛썩음병 感染實態. 양배추 種子 8點, 배추 種子 4點, 무우 種子 16點, 코리프라워 種子 1點에 對하여 種子洗滌液의 濃縮·選擇培地에의 塗抹方法에 의해 검은빛썩음병 保菌與否를 調査한 結果는 表 1과 같다.

總 29點의 十字花科 菜蔬 種子 中에서 검은빛썩음병 菌(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)이 檢出된 것은 宇治一號 양배추 種子 하나 뿐이었다. 檢出된 菌을 양배추에 接種하였을 때 검은빛썩음병의 典型的인 病斑을 形成하였다. 10,000粒 種子의 洗滌液 中 病原細菌數는 8.4×10^3 程度로 檢出되었다. 다른 種子에서도 *Xanthomonas*와 類似하게 SM培地에서 澱粉分解帶를 보이고 YDC에 培養했을 때 *Xanthomonas* 菌 特有的의 黃色 群落을 形成하는 細菌이 간혹 있었으나 양배추에 接種하였을 때 病原性이 認定되지 않았다. 검은빛썩음병 菌이 檢出된 宇治一號 양배추는 大邱 近郊에서 많이 栽培되고 또 검은

Table 1. Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) in crucifer seeds sold in Korea by seed washing liquid plating assay^a

Crop	Cultivar	Producer and year of production	Presence (+) or absence (-) of Xcc (cfu) ^b	Pathogenicity of Xcc on cabbage
Cabbage	C. M.	Takii 19	-	
	Garak	Choongang (1982)	-	
	Haruhikari	Takii (1984)	-	
	Oosora	Sakata (1984)	-	
	Ruby Ball	Takii (1981, 84)	-	
	Seongha	Seoul (1984)	-	
	Shikidori	Takii (1981, 84)	-	
	Uji No. 1	Marutane (1983, 84)	+ (8.4 × 10 ³)	+
Chinese cabbage	Cheongbang	Hung-Nong (1983)	-	
	Seoul	Han-Nong (1984)	-	
	Seoul	Hung-Nong (1984)	-	
	Seoul	Choongang (1984)	-	
Cauliflower	Snow Ace	Hung-Nong (1984)	-	
Radish	Altari	Go-Nong (1984)	-	
	Altari	Choongang (1984)	-	
	Baeksoo Gungjung	Choongang (1984)	-	
	Cheongsoo Gungjung	Go-Nong (1984)	-	
	Cheongsoo Gungjung	Nong-Woo (1984)	-	
	Geseong Altari	Han-Nong (1984)	-	
	Gungjung Chongtae	Hung-Nong (1984)	-	
	Jinju Daepyong	Go-Nong (1984)	-	
	Jinju Daepyong	Han-Nong (1984)	-	
	Jinju Daepyong	Hung-Nong (1984)	-	
	Jinju Daepyong	Choongang (1984)	-	
	Jinju Daepyong	Seoul (1984)	-	
	Jungguk Cheongpi	Choongang (1984)	-	
	Minong Joseng	Hung-Nong (1984)	-	
	Minong Joseng	Choongang (1984)	-	
Ueseong Banchong	Seoul (1984)	-		

^a Washings of 10000 seeds were collected, concentrated by centrifugation, and assayed by liquid plating on a selective medium (3, 8).

^b Colony forming unit.

은빛썩음병 발생도 많이 관찰되어 검은빛썩음병균을 제거하기 위한 종자소독이 반드시 필요한 것으로 나타났다.

宇治一號는 日本에서 輸入하여 販賣되고 있는 양배추종자로서 봉지에는 지람(Thiram)으로 종자소독하였다고 쓰여 있지만 본 실험 결과와 같이 검은빛썩음병균이 완전히 除去되지 않은 것으로 나타났다. 宇治一號 양배추종자를 洗滌하여 洗滌液을 取하고 남은 종자를 1% NaOCl(次亞鹽素酸나트륨)에 담가 3分間 表面殺菌한 後 SM 培地上에 직접 置床하였을 때는 검은빛썩음병균이 全然 檢出되지

않았다. 따라서 病菌은 주로 종자表面에 붙어 있었던 것으로 推定된다.

종자檢査方法으로서 종자洗滌液의 濃縮選擇培地에서의 塗抹方法은 한송의 종자의 검은빛썩음병 保菌率을 檢定하는데 便利하였으므로 그 精密度는 選擇培地の 選擇培養能에 따라 影響을 받을 수 있으므로 SM 培地(3)以後에 報告된 NSCAA 및 BSCAA(1, 2) 등을 比較 檢討에 불 必要도 있을 것이다. 本 報告의 抗體(13)를 利用하는 方法도 檢討에 불만하다.

종자소독. 人工接種한 양배추종자에 消毒試驗結果는 表 2와 같다. Baker(2)의 推薦에 따라 52%

Table 2. Effectiveness of various treatments for eradication of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) in inoculated seeds of cabbage, cv. Uji No. 1

Treatment	No. of seeds plated ^a	No. of seeds with Xcc	Percentage of germination ^b
Hot water (52°C), 30 min	400	0	-
Hot water (50°C), 30 min	800	1	66 a
Cupric acetate (0.5%, 41°C), 20 min	400	0	-
NaOCl (1%), 30 min	800	3	87 bc
NaOCl (2%), 30 min	800	4	85 b
Streptomycin (500mg/1), 2hr & NaOCl (0.5%), 30min	400	5	-
Streptomycin (500mg/1), 2hr & NaOCl (1%), 30min	800	5	90 bcd
H ₂ O ₂ (3%)	800	3	91 cd
Homai (Thiram, 4g/1), 4hr	400	5	-
Benlate (4g/1), 4hr	400	4	-
Control	800	794	94 d

^a Seeds inoculated by soaking in a bacterial suspension of 10⁹ cells/ml with a vacuum suction for infiltration into seed were plated on SM medium (3) after treatment.

^b Mean separation within column by Duncan's multiple range test, at 5% level.

의 溫湯에 30 分間 浸漬한 種子와 Schaad 等(10)의 方法에 따라 41°C의 0.5% 醋酸銅溶液에 20 分間 浸漬한 種子에서는 검은빛썩음病菌이 完全히 除去되었다. 그러나 溫湯의 溫度를 50°C로 낮추었더니 800 粒中의 1 粒에서 검은빛썩음病菌이 檢出되어 30 分間 處理한 境遇의 決定的 溫湯溫度는 50~52°C 사이에 있는 것으로 思料된다. Strider (12)의 方法에 따라 1% 혹은 2%의 次亞鹽素酸나트륨溶液에 浸漬한 것이나 Humaydan 等(5)의 推薦에 따라 스트렙토마이신溶液 (500 mg/1)에 2時間 浸漬한 後 다시 0.5% 혹은 1% 次亞鹽素酸 나트륨溶液에 浸漬한 種子에서도 검은빛썩음病菌이 檢出되어 이들 方法의 消毒效果가 完全하지 않은 것으로 나타났다. 種子消毒劑로 市販되고 있는 호마이水和劑(지람, Thiram)와 벤레이트水和劑의 消毒效果도 不完全하였는데 이것은 앞의 種子檢査試驗에서 宇治一號 양배추 種子の 봉지에 지람으로 種子消毒하였다고 쓰여 있지만 검은빛썩음病菌이 多量檢出된 結果를 說明하는 것이라고 할 수 있겠다. 옥시폴(3% 過酸化水素水)에 浸漬한 種子에서도 病菌이 檢出되었으나 1% 次亞鹽素酸나트륨溶液에 浸漬處理와 함께 藥劑浸漬方法中에서는 病菌檢出種子數가 가장 적었으며 種子の 發芽率에 전혀 影響이 없었다.

溫湯浸法이나 40°C의 0.5% 醋酸銅溶液 浸漬處理는 溫度調節을 爲한 機器를 必要로 하고 種子の 發芽率은 低下시키므로 育種種子の 消毒에 利用될 수 있을 것이다(10).

一般 農民들에게는 藥劑에 依한 消毒方法이 便利한 것으로 思料되어 自然感染이 알려진 宇治一號 양배추種子を 次亞鹽素酸나트륨 1% 溶液과 옥시폴에 各各 30 分間 浸漬한 後 種子洗滌液의 濃縮·選擇培地에 塗抹하는 方法으로 검은빛썩음病菌의 檢出을 調査한 結果는 表 3과 같다.

Table 3. Effectiveness of sodium hypochlorite and hydrogen peroxide for eradication of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in naturally infested seed of cabbage (Uji No.1) as determined by the seed washing liquid plating assay

Treatment	No. of colony forming units in washings of 5,000 seeds
NaOCl (1%), 30min	50
H ₂ O ₂ (3%), 30min	0
Control	4.3 × 10 ³

次亞鹽素酸나트륨 1% 溶液에 30 分間 浸漬處理에서는 小數의 검은빛썩음病 細菌이 檢出되었으나 옥시폴에 處理한 種子에서는 檢出되지 않았다. 自然感染種子是 人工接種 種子보다는 感染率이 낮고 또한 種皮内部까지 浸透되어 있는 경우는 더욱 적은 것으로 생각되므로 十字花科 菜蔬種子是 播種前 옥시폴에 30 分間 浸漬處理 하면 種子の 發芽率에 전혀 損失없이 검은빛썩음병의 種子傳染의 위험을 크게 줄

일 수 있을 것이다. 검은빛썩음病菌은 種子傳染 뿐만 아니라 병든 植物의 遺體와 함께 土壤에 남아 있다가 다음 作物에의 傳染源이 되기도 하므로(9) 十字花科 菜蔬 이외의 作物과 輪作하는 동시에 消毒 種子를 使用하면 效果的으로 검은빛썩음病을 防除

할 수 있을 것으로 思料된다.

栽培圃場에서의 검은빛썩음病 發生實態. 農家圃場과 菜蔬集荷場에서 調査한 검은빛썩음病 發生實態는 表 5와 같다.

1984年 6月 中旬 金海地方에서 5個 圃場의 3

Table 4. Occurrence of black rot of crucifers in several regions, Korea, 1984

Region (crop)	Month	Field	Area (a)	Percentage of infected plants	Diseased severity ^a
Daegu, Dongchon (cabbage)	Oct.	1	10	53	Severe
		2	1	57	Severe
		3	1	22	Mild
		4	60	26	Mild
		5	20	10	Mild
Kyungpook, Waegwan (cabbage)	Oct.	1	20	20	Mild
		2	30	79	Severe
		3	30	98	Severe
		4	30	21	Medium
		5	10	94	Severe
Kyungki, Seongnam (cabbage & cauliflower)	Oct.	1	10	5	Mild
Daegu, Gobang Market (cabbage)					
Kyungnam, Kimhae (cabbage)	June		30	0	

^a Mild=Most of the infected plants have lesions on leaf tips only.

Severe=Most of the infected plants have V-shaped lesions extended down to 1/2 of the outer leaves or further down, and Medium=In between Mild and Severe.

ha 程度の 양배추圃場을 調査하였으나 검은빛썩음病은 觀察되지 않았다. 그리다가 8~9월이 되면서 市場에 出荷되는 양배추에서 검은빛썩음병이 많이 보이기 시작하였다. 그 以後 大邱近郊와 慶北倭官, 경기도 성남 등지의 양배추圃場에서는 어디지나 검은빛썩음병을 觀察할 수 있었다. 發生程度는 1984年 10月의 調査에서 圃場에 따라 發病株率이 2~98%로 극심한 被害를 받은 곳도 있었다. 그러나 무우와 배추에서는 어느 곳에서도 검은빛썩음病이 觀察되지 않았다. 아직까지 우리나라에서는 十字花科 菜蔬의 검은빛썩음병에 대한 研究가 없었는데 本 調査結果 우리나라에서도 검은빛썩음병은 양배추에서만은 매우 重要的 病害임을 알 수 있었다.

參 考 文 獻

1. ANONYMOUS. (1972). *A list of plant diseases, insect pests, and weeds in Korea*. The Korean Society of Plant Protection.
2. BAKER, K. F. (1947). Seed transmission of *Rhizoctonia solani* in relation to control of seedling damping-off. *Phytopathology* 37:912-924.
3. CHUN, W. W. C. & ALVAREZ, A. M. (1983). A starch-methionine medium for isolation of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* from plant debris in soil. *Plant Disease* 67(6): 632-635.
4. COOK, A. A., LARSON, R. H. & WALKER, J. C. (1952). Relation of the black rot pathogen to cabbage seed. *Phytopathology* 42:316-320.
5. HUMAYDAN, H. S., HARMAN, G. E., NEDROW, B. L. & DINITTO, L. V. (1980). Eradication of *Xanthomonas campestris*, the causal

謝 辭

本 研究는 韓國科學財團의 研究費 支援으로 이루어졌으며 이에 韓國科學財團에 深甚한 謝意를 表한다.

- agent of black rot from brassica seeds with antibiotics and sodium hypochlorite. *Phytopathology* 70:127-131.
6. KERR, T. J. (1979). *Applications in general microbiology, A laboratory manual*. Hunter Publishing Co.
 7. RANDHAWA, P. S. & SCHAAD, N. W. (1984). Selective isolation of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* from crucifer seeds. *Phytopathology* 74:268-272.
 8. SCHAAD, N. W. & DONALDSON, R. C. (1980). Comparison of two methods for detection of *Xanthomonas campestris* in infected crucifer seeds. *Seed Science & Technology* 8:383-391.
 9. SCHAAD, N. W. & WHITE, W. C. (1974). Survival of *Xanthomonas campestris* in soil. *Phytopathology* 64:1518-1520.
 10. SCHAAD, N. W., GABRIELSON, R. L. & MULANAX, M. W. (1980). Hot acidified cupric acetate soaks for eradication of *Xanthomonas campestris* from crucifer seeds. *Applied and Environmental Microbiology* 39:803-807.
 11. SCHAAD, N. W., SITTERLY, W. R. & HUMAYDAN, H. (1980). Relationship of incidence of seedborne *Xanthomonas campestris* to black rot of crucifers. *Plant Disease* 64:91-92.
 12. STRIDER, D. L. (1979). Eradication of *Xanthomonas nigromaculans* f. sp. *zinnae* in zinnia seed with sodium hypochlorite. *Plant Dis. Repr.* 63:873-876.
 13. THAVEECHAI, N. & SCHAAD, N. W. (1984). Comparison of different immunogen preparation for serological identification of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Phytopathology* 74:1065-1070.
 14. WILLIAMS, P. H. (1980). Black rot: a continuing threat to world crucifers. *Plant Disease* 64(8):736-742.
 15. WILSON, E. E., ZEITOUN, F. M. & FREDRICKSON, D. L. (1967). Bacterial phloem canker, a new disease of Persian walnut trees. *Phytopathology* 57:618-621.