

담배줄기속썩음병균 *Erwinia carotovora* subsp.
carotovora 의 토양중에서의 월동

강여규 · 박은경 · 추홍구

한국인삼연초연구소

Overwintering of tobacco hollow stalk disease pathogen

***Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* in field soils.**

Y. G. Kang, E. K. Park, H. G. Chu

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

(Received Apr. 3, 1989)

ABSTRACT

The significance of soil and/or rhizosphere populations of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc) as a source of primary inoculum for tobacco hollow stalk disease has been demonstrated conclusively. The survival of Ecc in field soils after overwintering was estimated by using the enrichment technique. The population number of pectolytic erwinia (PE) in field soils relatively decreased at the rate of $10^2 \sim 10^4$ colony forming unit (CFU) per g of soil after overwintering. Higher level of PE population overwintered in the rhizosphere soils of tobacco stubbles and detected more frequently in rhizosphere soils of weed plants than in those of bare fields. All of the tobacco stubbles collected from fields where tobacco had been grown the previous year contained Ecc. The more survived population number of PE at the 30cm depth of artificially infested soils than at the upper of those by introducing with diseased tobacco plant tissue after overwintering. Ecc overwintered effectively in rhizosphere soils of tobacco stubbles, overwintered weeds and tobacco debris in field soils.

서 론

담배줄기속썩음병은 전국적으로 발생되고 있으며 특히 버어리종담배 재배지에서는 피해가 가장 큰 병해의 하나로 조사된 바 있다¹⁾.

이 병원균은 57속 120여종의 식물에 감염을 일으킬 수 있는 다범성(多犯性) 식물병원세균으로 토양전염성 여부에 관해서는 학자들 사이에 많은 논란이 있었다^{17,18)}. 그런데 Meneley와 Stanghellini¹⁴⁾는 농화배양법(濃化培養法)을 도입하여 직접 검출이 거의 불가능했던 10^3 cfu/g 이하의 낮은 밀도로 존재하는 토양중의 병원균(Ecc)을 검출함으로써 그 이후 Ecc균이 토양전염성임이 여러 연구자들에 의해 확인되었다^{17,19)}.

토양중 병원균(Ecc)의 밀도변화에 관해서는 병원균의 밀도가 10^3 cfu/g 이상 존재할 때에만 검출이 가능한 선별배지(選別培地)들을 이용한 직접 검출정량(檢出定量)을 시도함으로써 기주작물(寄主作物) 재배기간에도 포장 토양에서의 계속적인 병원균의 검출정량이 어려웠으며^{7, 10, 13, 21)} 특히 월동 이후에는 직접검출정량이 되지 않아서 토양중 병원균의 밀도가 10^3 cfu/g 이하의 낮은 밀도로 생존하는 것으로 추정되어 왔다^{13, 15)}.

따라서 지금까지 국내외적으로 월동후 토양중 병원균(Ecc)의 밀도를 직접 검출정량한 보고가 거의 없을 뿐만 아니라 국내에서는 월동처에 관한 보고도 없으므로 본 연구에서는 직접 검출정량법에 비해 정확한 토양중 병원균의 밀도파악이 어려우나 월동기의 낮은 밀도로 존재하는 토양중 병원균을 검출정량하기 위하여 Meneley와 Stanghellini¹⁴⁾가 사용한 농화배양법을 이용하여 간접적인 정량을 함으로써 월동전후 토양중 병원균의 상대적인 밀도변화 및 담배가 재배되었던 포장에서의 병원균의 월동처를 밝히고자 수행하였다.

재료 및 방법

월동전후 토양중 병원균 밀도변화는 전주시험장

(전북 완주군 이서면)에 인접한 5개의 포장에서 월동전(11월 하순) 및 월동후(3월 중순)에 조사 포장의 표토 1~2 cm를 걷어내고 3~15 cm 깊이의 토양을 포장당 5 개지점에서 1 kg씩 채취하여 혼합하고 그 중 1 kg 정도를 비닐주머니에 담아 실험실로 옮겨 1일간 음건(陰乾)시켰다. 음건된 공시토양(供試土壤)을 시료당 20 g씩 2 개를 칭량하여 1개는 105 °C의 건조기에서 24 시간 건조후 무게를 측정하고 다른 1개는 Meneley와 Stanghellini¹⁴⁾의 농화배지(Enrichment medium)가 200 ml씩 들어 있는 삼각후라스크에 넣고 30분간 진탕(180 회/분)한 다음 28 °C에서 24 시간 배양하였다. 이 배양액을 10 배율로 10^6 까지 희석하고 희석평판법(稀釋平板法)에 의해 희석농도별 3 반복으로 CVP 평판배지에 0.2 ml씩 도말접종(塗抹接種)하여 28 °C에서 48 시간 배양후 나타나는 움푹 패인 집락(colony)의 수를 계수하고 다음 식에 의하여 토양 g 당 병원균의 수를 산출하였다.

토양 g 당 병원균 수 = 병원균 집락형성 최고 희석액의 평판당 병원균 집락수 $\times \frac{200}{20} \times \frac{2}{10} \times$ 병원균 집락형성 최고 희석액의 희석배율 $\times \frac{\text{건토중(g)}}{\text{시료토양중(g)}}$.

잡초의 근권토양(根圈土壤)에서의 병원균(PE) 검출은 4월 초순경에 전년도에 담배가 재배되었던 3개의 포장에 자생하는 월년생 잡초의 근권토양을 뿌리와 함께 채취하여 뿌리에 붙어있는 토양을 털어내어 상기와 같은 방법으로 병원균을 검출하였다.

담배 이병조직 및 잔간주(殘幹株)가 있는 토양에서의 병원균 월동 상태는 3개의 포장에 선라이트로 1 m² (1 m \times 1 m)의 시험구를 만들고 담배 이병조직을 표토방치, 지하 15 cm 및 30 cm 에 각각 매몰하고 세균현탁액을 접종한 시험구를 대조로 하여 월동전후의 병원균 밀도를 조사하였다. 또한 pot에 재배된 담배의 잔간근을 포장이 이식하고 병원균현탁액($10^7 \sim 10^8$ cells/ml)을 주당 500 ml씩 근권토양에 접종하여 월동전후

Table 1. Chemical and physical properties of the field soils used for tests.

Properties (Unit)	Field soils sampled		
	I ^a	II ^b	III ^c
K (me/100 g)	0.81	0.58	0.77
Ca (me/100 g)	5.64	4.12	1.90
Mg (me/100 g)	2.39	1.70	0.66
Total	0.10	0.10	0.11
P ₂ O ₅ (ppm)	272.1	146.9	735.6
OM (%)	1.73	1.46	2.19
pH	6.3	6.6	5.4
Soil texture	Loam	Sandy loam	Loam

- a) Cropping system : Tobacco-fallow-tobacco.
- b) " " : Chinese cabbage-fallow-fallow.
- c) " " : Red pepper-radish-tobacco.

의 병원균 밀도를 조사하였다. 공시포장의 토양 이화학성은 표 1 과 같다.

담배 잔간주에서의 병원균 검출은 전년도에 담배가 재배되었던 포장에 남아 있는 잔간주를 이듬해 3월에 채집하여 분쇄기로 분쇄한 다음 1 g을 농화배양 배지에 접종하여 상기와 같은 방법으로 병원균을 검출분리하고 병원성이 있는 균주를 조사하였다.

결과 및 고찰

1. 월동전후 토양중 병원균의 밀도변화

전주시험장에 인접한 5개의 농기포장을 선정하여 월동전후 토양중 병원균(*Pectolytic arwinia*)의 밀도를 조사한 결과 표 2에서와 같이 기주식물(寄主植物)인 담배와 감자가 재배되었던 토양에서의 병원균 검출율이 높았으나 발병이 없었던 개간지(開墾地) 토양에서는 담배재배후에도 병원균이 검출되지 않았다. 이러한 사실은

deMendonca와 Stanghellini⁵⁾도 보고한 바 있으며 대체로 월동전에 비해 월동후에는 $10^2 \sim 10^4$ cfu/g soil 정도로 상대적인 병원균의 밀도감소가 있었다. 또한 조사된 모든 포장에서 농화배양후에도 10^3 cfu/g soil 이하로 병원균의 밀도가 낮았다.

지금까지 월동후 토양중에서 병원균(*Ecc*)이 검출되지 않았다는 보고들^{4,7,13,19)}은 월동후 병원균의 밀도가 10^3 cfu/g soil 이하로 존재하는 토양에서 10^3 cfu/g soil 이상의 병원균이 존재할 때에만 검출이 가능한 선별배지에서 병원균 검출을 시도하였기 때문에 조사되지 못한 것으로 추정된다. deMendonca와 Stanghellini⁵⁾는 토양습도보다 온도가 병원균의 밀도변화에 영향이 크고 0℃~10℃에서는 135일 동안이나 생존하였으며 25℃이상에서는 생존기간이 30일로 짧았다고 하였다. 따라서 여름철에 비해 기온이 낮은 겨울철은 병원균의 증식이 활발하지 못하나 생존기간이 길기 때문에 토양중 병원균의 밀도변화가 심하지 않은 것으로 생각된다.

Table 2. Estimated population levels of pectolytic erwinia in field soils examined before and after overwintering.

Cropping history		Population levels ^a	
Summer crop	Winter crop	Before winter ^b	After winter ^c
Tobacco	Fallow	+++	++
Tobacco ^d	Rye	-	-
Soybean	Rye	++	-
Potato	Chinese cabbage & leaf mustard	+++	+
Sweet potato	Rye	-	+

- a) Estimated CFU/g soil on CVP medium after enrichment of soil samples in Meneley's medium at 28°C for 24 hr. Symbols: -, not detected; +, $1.0 \sim 9.9 \times 10^2$; ++, $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^4$; +++, 1.0×10^5 or more.
- b) Estimated in November, 1985.
- c) Estimated in March, 1986.
- d) Reclaimed previous year.

2. 잡초 및 담배잔간근의 근권토양에서 병원균의 검출 및 정량

병원균의 월동과 잡초와의 관계를 조사하기 위하여 이른 봄에 포장에 자생하는 월년생 잡초의 근권토양을 채취하여 병원균을 검출한 결과 숙근성(宿根性) 잡초인 메꽃, 지칭개, 썸바귀, 벼룩나물 등의 다년생 숙근초의 근권토양에서 병원균 검출율이 높아 이들이 중요한 병원균 월동처의 하나로 생각된다(표 3).

Kikumoto와 Sakamoto^{8,9)}는 십자화과 식물의 근권에서 Ecc균의 선택적 증식효과를 보고한 바 있으며 Ecc균은 십자화과 식물체의 뿌리에서 삼출(滲出)되는 물질을 이용하여 생존하는 근권미생물의 일종이며 배추의 무름병의 일차 전염원으로 추정된 바 있다^{2,5,17,18)}. 또한 Allan과 Kelman¹⁾도 잡초의 근권에서 세균의 수명이 연장되며 오이, 토마토, 배추 등의 근권토양에서 자연오염된 Ecc가 검출됨을 보고한 바 있다. 따라서 겨울철 포장관리의 하나로 월동잡초의 제거는 병원균의 월동처를 없애는 효과가 있

을 것으로 추정된다.

담배포장에 남아있는 담배잔간근이 병원균 월동에 미치는 영향을 조사하기 위하여 표토에 재배된 담배의 잔간근에 병원균(Ecc)을 접종하고 각기 다른 3개의 포장(표 1)에 심고 월동전후의 잔간근의 근권토양중 병원균의 밀도변화를 조사하였다. 비근권토양에서는 월동후 병원균의 밀도가 크게 감소하였으나 잔간근의 근권토양에서는 월동후 병원균의 밀도가 거의 감소되지 않았다(표 4).

Leben¹²⁾은 토양중 병원균의 생존은 분해되기 어려운 식물체조직 속에 들어있는 병원균이 정지세포(靜止細胞) 상태로 존재하며 식물체의 잔해(殘骸)가 서서히 분해됨으로서 그 밀도가 감소되는 것으로 밝힌 바 있다.

또한 전년도에 담배가 재배되었던 포장에 방치된 담배 잔간주를 봄에 수집하여 병원균을 검출한 결과 수집조사한 모든 잔간주에서 병원균이 검출되어 McIntyre 등¹³⁾의 보고와 일치하였다(표

Table 3. Detection of pectolytic *Erwinia* spp. from rhizosphere soils of various weed plants at the tobacco planting time^a.

Samples tested	No. of plants sampled	No. of plants harboring <i>Erwinia</i> spp. ^b
<i>Capsella bursapastoris</i> (shepherd's-purse)	16	7
<i>Alopecurus aequalig</i> var. <i>amurensis</i> (foxtail)	18	7
<i>Erigeron annuus</i> (daisy-fleabane)	12	3
<i>Stellaria media</i> (cheekweed)	6	3
<i>Stellaria alsine</i> var. <i>undulata</i>	7	6
<i>Stellaria aquatica</i>	11	6
<i>Cerium holosteoides</i> var. <i>hallaisanens</i> (cerast)	5	1
<i>Hemistepta lyrata</i>	9	6
<i>Lxeris dentata</i>	6	4
<i>Artemisia princeps</i> var. <i>orientalis</i> (wormwood)	7	6
<i>Galium spurium</i> (bedstraw)	3	0
<i>Calystegia japonica</i> (bindweed)	3	3
Non-rhizosphere soil	19	5

a) Assayed in April, 1985.

b) Ten grams of rhizosphere soils on root surface were added to 100 ml of Meneley & Stanghellini's medium and incubated for 24hr. at 28°C prior to plating on the modified CVP medium.

Table 4. Estimated population levels of pectolytic erwinia in the rhizosphere and non-rhizosphere soils collected from the fields where the tobacco cut-up stem and roots were planted before and after overwintering^a.

Fields tested	Before winter ^b		After winter ^c	
	Rhizosphere	Non-rhizosphere	Rhizosphere	Non-rhizosphere
Field I	+++	+	+++	-
Field II	++	++	+++	+
Field III	+++	+++	+++	++

a) Inoculated with Ecc bacterial suspension in October, 1986 and estimated CFU/g of soil on CVP medium after enrichment of soil samples in Meneley & Stanghellini's medium at 28°C for 24hr. Symbols: -, not detected; +, $1.0 \sim 9.9 \times 10^2$; ++, $1.0 \times 10^3 \sim 9.9 \times 10^4$; +++, 1.0×10^5 or more CFU/g soil.

b) 6 soil samples were collected from each field and assayed in November, 1986.

c) Collected as above and assayed in March, 1987.

Table 5. Detection frequency of pectolytic erwinia from decaying tobacco root crowns which had been in the soil since previous year as compared to non-tobacco rhizosphere soil.

Samples*	No. of sample	No. of pectolytic erwinia infested samples.
Tobacco root crowns	25	25
Non-tobacco rhizosphere soils	25	11

* Collected from tobacco cultivated fields and assayed in March, 1986.

5). 따라서 담배의 잔간주는 조직이 딱딱하여 분해가 더디고 오랫동안 토양 속에 남아 있게 됨으로서 부생성이 강한 Ecc균^{20, 21)}의 월동에 좋은 환경을 제공하는 것으로 생각된다.

3. 이병조직이 매몰된 토양중 병원균의 밀도변화

이병조직으로 오염된 토양에서의 병원균 월동상태를 토양 깊이별로 조사한 결과 표 6에서와 같이 표토(表土)에 이병조직을 방치한 토양에서는 병

원균 현탁액을 접종처리한 구와 유사하게 월동후 현저한 병원균의 밀도 감소가 있었다. 그러나 이 병조직이 깊이 매몰된 토양일수록 월동후 병원균 생존율이 높았다.

Kikumoto¹⁰⁾는 10 cm~15 cm깊이로 과물은 인공오염토양에서 4개월 후에도 병원균이 검출됨을 보고한 바 있으며 deMendonca와 Stanghellini⁵⁾는 휴한지 및 농경지가 아닌 토양에서도 15 cm~30 cm깊이의 토양에서 Ecc균을 계속적으로 분리검출할 수 있었다고 하였다. 이러한 보

Table 6. Estimated population levels of pectolytic erwinia before and after overwintering in the field soils in which infected tobacco stem and leaves were embedded at different depth^a.

Fields sampled	Before winter ^b				After winter ^c			
	Surface soil	15 cm	30 cm	Control ^d	Surface soil	15 cm	30 cm	Control
Field I	+++	+++	+++	+++	-	++	++	+
Field II	++	+++	+++	+++	+	+	++	++

a) Buried in October, 1986. Estimated CFU/g soil on CVP medium after enrichment of soil in Meneley's medium at 28°C for 24 hrs. Symbols: -, not detected; $1.0 \sim 9.9 \times 10^2$; ++, $1.0 \times 10^3 \sim 9.9 \times 10^4$; +++, 1.0×10^5 or more.

b) Estimated in November, 1987.

c) Estimated in March, 1987.

d) Inoculated with bacterial suspension into the soil and sampled at the depth of 15 cm.

고는 작물재배기간에 조사된 것인데 필자가 조사한 월동후에도 표토보다 30 cm 깊이의 토양에서 병원균의 생존율이 높게 나타났다. 표토에서 병원균의 생존율이 낮은 것은 겨울철의 극심한 온도도 변화의 영향으로 생각되며 세균현탁액을 접종한 토양에서 보다 이병조직이 매몰된 곳에서 병원균의 생존율이 높은 것은 토양층에서 담배조직이 병원균에 의해서 서서히 분해됨으로서 병원균의 생존에 필요한 영양분이 선택적으로 장기간 공급되어 다른 미생물보다 양분경합에서 유리하기 때문이며 병원균 현탁액 접종시에는 토양중 다른 미생물과의 양분경합으로 빠른 시일내에 토양미생물상(土壤微生物相)이 평형을 이루게 되어 병원균의 생존율이 낮아지는 것으로 생각된다. 또한 기주식물체(감자)의 잔해는 토양층에서 완전히 분해되지 않는 한 병원균이 생존하는 것으로 알려지고 있으며^{4,12)} 기주작물이 연작되는 토양에서는 토양층에 병원균이 낮은 밀도로 상존(常存)하여 발병에 좋은 환경이 주어지면 언제든지 발병될 수 있는 잠재력을 갖고 있는 것으로 추정된다. 결과적으로 담배가 연작되어 담배줄기속썩음병이 빈번히 발생하는 포장에서는 병원균의 월동처인 식물체(담배)의 잔해나 잔간근을 수확과 동시에

제거하고 경운등에 의하여 토양층에 남아 있는 담배조직의 분해를 촉진시켜 토양중 병원균의 밀도를 낮추고 월동잡초의 제거 및 월동기를 이용한 토양중 병원균의 밀도감소 방안이 더욱 자세히 검토되어야 할 것이다.

결 론

담배 줄기속썩음병균인 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*는 토양 전염성 세균으로 발병에 일차 전염원이 될 수 있는 월동전후의 토양중 병원균의 동태 및 월동처를 파악하기 위하여 농화배양법을 이용하여 수행하였다.

농가포장의 토양에서는 일반적으로 월동전에 비해 월동후에는 $10^2 \sim 10^4$ cfu/g soil 정도의 상대적인 병원균 밀도감소가 있었으며 담배의 잔간근 및 잡초의 근권 토양에서 병원균의 검출을 및 밀도가 나지토양(裸地土壤)에 비해 높았다. 담배 잔간근의 근권토양에서는 월동후에도 병원균의 밀도감소율이 적었으며 봄에 수집 조사한 모든 담배 잔간주에서 병원균이 검출되었다. 이병담배조직의 매몰에 의해 병원균이 오염된 토양에서는 표

토에서보다 15 cm~30 cm깊이의 토양에서 병원균의 생존율이 높았다. 따라서 담배 잔간근 및 월동잡초의 근권토양, 토양중에 매몰된 담배 이병 조직 및 잔간주는 병원균의 주요 월동처로 조사되었다.

참 고 문 헌

1. Allan, E. and A. Kelman. *Phytopathology* 67:1305-1312 (1977).
2. Burr, T. J. and M. N. Schroth. *Phytopathology* 67:1382-1387 (1977).
3. Cuppels, D. and A. Kelman. *Phytopathology* 64:468-475 (1974).
4. DeBoer, S. H. In *Phytopathogenic Prokaryotes Vol. 1* pp. 285-306, M. S. Mount and G. H. Lacy eds. Academic Press: London (1982).
5. deMendonca, M. and M. E. Stanghellini. *Phytopathology* 69:1096-1099 (1979).
6. Hayward, A. C. *Ann. Rev. Phytopathol.* 12:87-97 (1974).
7. Katahira, K. and K. Nakazawa. *Okayama Jpn. Tob. Exp. stn. Bull.* 14:51-60 (1980).
8. Kikumoto, T. and M. Sakamoto. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 35:29-35 (1969).
9. Kikumoto, T. and M. Sakamoto. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 35:36-40 (1969).
10. Kikumoto, T. *Rep. Inst. Agri. Res. Tohoku Univ. Japan* 31:19-41 (1980).
11. 김정화, 이영근, 박은경. *담배연구보고서 (경작시험장 환경편)* 40-48 (1981).
12. Leben, C. *Plant Disease* 65:633-639 (1981).
13. McIntyre, T. L., D. C. Sands and G. S. Taylor. *Phytopathology* 68:435-440 (1978).
14. Meneley, J. C. and M. E. Stanghellini. *Phytopathology* 66:367-370 (1976).
15. Mew, T. W., W. E. Ho and L. Chu. *Phytopathology* 66:1325-1327 (1976).
16. Perombelon, M. C. M. *Ann. Appl. Biol.* 74:59-65 (1973).
17. Perombelon, M. C. M. *Ann. Rev. Phytopathol.* 18:361-387 (1980).
18. Schroth, M. N., S. V. Thomson and A. R. Weinhold. In *Ecology of root pathogens*, pp. 124-129. S. V. Krupa and Y. R. Dommergues eds. Elsevier Scientific publishing co.: Amsterdam (1979).
19. Stanghellini, M. E. In *Phytopathogenic Prokaryotes. Vol. 1*, pp. 249-261. M. S. Mount and G. H. Lacy eds. Academic Press: London (1982).
20. Tsuyama, H. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 48:249-251 (1982).
21. Tsuyama, H. *Bull. Inst. Agr. Res. Tohoku Univ. Japan* 13:221-345 (1962).