

뽕나무에서 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*의 分離

金永澤 · 金昌旭 · 柳江善 · 金在桓*

農村振興廳 蠶業試驗場 · *安城郡 農村指導所

Pathogenicity and Bacteriological Characterization of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* isolated from Mulberry Trees

Young Taek Kim, Chang Uk Kim, Kang Sun Ryu and Jae Whan Kim*

Sericultural Experiment Station, Sunwon, Korea, *An seong Office of Rural Guidance

Summary

The bacteria isolated from mulberry trees which had shoot soft rot symptoms occurred after intermediate cuttings during autumn rearing season were indentified. External morphology of the bacteria showed rod shape with peritrichous flagella, and were facultative anaerobes in oxygen requirement test.

The bacteria easily putrefied the slices of potato and carrot when they were placed on to the center of sliced surfaces, and the bacteria, also, initiated rapid development of soft rot symptoms on mulberry leaves in pathogenesis test.

The results of morphological, physiological and pathological tests on the bacteria suggested that the isolate could be a strain of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*.

緒 論

최근에 省力多收穫을 위한 密植 多肥栽培, 年間 條桑收穫, 機械收穫 등의 普及에 隨伴하여 뽕나무에 葉 食증상을 나타내는 細菌病的 發生이 急增하여 왔다. 이와같은 細菌病的 種類, 發生生態를 研明하는 것은 그 防除對策 樹立上 重要な 課題이다. 필자 등은 1988年 既存에 알려진 *Pseudomonas syringae* pv. *mori*. 外에 *Xanthomonas campestris*가 뽕나무 가지썩음병을 일으키고 있음을 報告(Choi et al., 1988)하고 1990년에는 *Erwinia raphontici*에 依한 뽕나무 가지썩음병을 報告(Choi et al., 1990)한 바 있다.

Erwinia carotovora subsp. *carotovora*는 *Erwinia aroidae*, *pectobacterium carotovorum*, *E. phytophthora*, *E. carotovora*, *E. carotovora* var. *carotovora* 등의 學名으로 사용되어 왔다(Lelliott, 1974; Lucas, 1975). 그러나 1980년에 제정된 國際植物病原細菌 pathovar 命名規約(植物細菌分類小委員會, 1980)에 의

해 *E. carotovora* subsp. *carotovora*로 통합되었으며, 이 학명은 그후 발간된 Bergey's manual(1984) 및 한국식물병, 해충, 잡초명감 개정판(1987)에도 그대로 채택되었다. Stapp(1961)에 의하면, 이 병원 세균은 배추, 당근, 셀러리, 오이, 상추 감자 등을 포함하여 57속 120종 이상의 식물에 병을 일으키는 것으로 보고 되어 있으며, 우리나라에서는 담배, 토마토, 고추, 당근 등 11종의 경제작물을 침범하는 것으로 기록(韓植病. 害蟲. 雜草 名鑑, 1980)되어 있으나 最近 마늘, 붓꽃, 생강 軟腐症狀에서 國內 未記錄된 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*의 被害를 報告(崔·朴, 1989; 崔·朴, 1990; 崔등, 1990)한 바 있다.

高橋·佐藤(1978)는 뽕나무에서 最初로 *Erwinia carotovora* var. *carotovora*를 分離 同定하여 桑枝軟腐病이라고 命名하고 日本의 10個 縣 뽕밭에 發生하고 있음을 報告하였으나 國內에서는 研究報告된 바 없다. 本 研究에서는 1989年 9월 全南과 1990年 3월 水原에서 蒐集한 뽕나무 新소 및 가지에서 細菌을 分離하여 그 病原性 및 細菌學的 特性을 調査한 結果 *Erwinia*

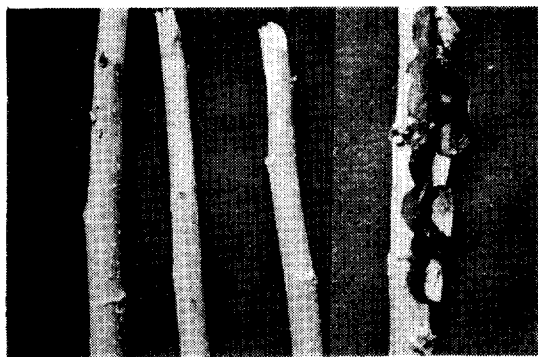


Fig. 1. Symptom of shoot soft rot disease of mulberry in early spring.

carotovora subsp. *carotovora*로 同定되었기 報告하는 바이다.

結果 및 考察

病原細菌의 分離는 全南 長城과 京畿 水原에서 蒐集한 뽕나무 가지와 잎 등의 病患部를 70% Ethanol과 $AgCl_2$ 로 表面殺菌하여 殺菌水로 씻은 후 King's B 培地에서 48時間 培養하여 백색의 Colony를 分離하였다.

病原性 檢定은 King's B 培地에 24時間 培養한 病原細菌을 殺菌水로 10濃度 懸濁液을 만들어 뽕잎 先端部에 付傷塗抹 接種하고 감자와 당근 切片도 같은 方法으로 接種한 後 濕室처리하여 28°C 定溫器에 24~48時間 定置後 腐敗 有無를 觀察하였다.

細菌學的 特性 및 電子顯微鏡 觀察은 Bergey's manual of systematic Bacteriology에 根據를 두었으며 Laboratory guide for identification of plantpathogenic bacteria를 參考하였다. 또한 API 20E Kit로 indole production, nitrate reduction, arginine dehydrolase and gelatine liquifaction과 같은 실험을 參考로 하였으며 細胞의 模樣과 크기, 鞭毛의 數 및 附着位置는 24時間 培養한 細菌을 2% Phosphotungstic acid 溶液

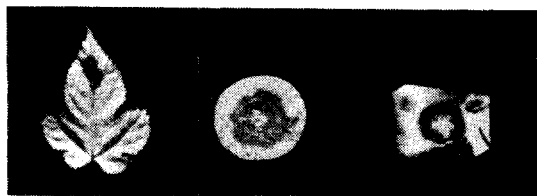


Fig. 2. Soft rot symptoms in mulberry, carrot and potato after inoculation with *E. carotovora* subsp. *carotovora*.

A : Mulberry; B : Carrot; C : Potato

에 10시간 染色하여 電子顯微鏡(HU-80)으로 觀察하였다.

結果 및 考察

1. 病原性

병든 가지에서 分離한 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (菌株番號 : M-5)를 뽕잎에 接種한 結果

Table 1. Taxonomic characteristics of *E. Carotovora* subsp. *carotovora* (M-5) isolated from mulberry trees.

Characters	M-5	J.C(1)	B.C(2)
Growth factor required	—		—
Pink diffusible pigment on YDC agar	—		—
Blue pigment on YDC agar	—		—
Yellow pigment on NA agar	—	—	—
Fluorescence on KB agar	—	—	—
Growth at 36°C	+	+	+
Reducing substance from sucrose	—	d	—
Acetoin	+	+	+
Urease	—	—	—
Pectate degradation	+	+	+
Gas form glucose		+	—
Case in hydrolysis			d
Gelatin liquefaction	+	+	+
Indole test	—	—	—
Nitrate reduction	d	+	—
Growth in 5% NaCl	+		+
Phosphatase	—		—
Sensitivity to erythromycin acid ofrm	—		—
melibiose	+		+
inositol			d
maltose	—	d	—
L-arabinose	+	+	
sorbitol	+	+	+
mannose	+	d	+
mannitol	+	+	+
cellobiose	+	d	+
lactose	+	d	+
rhamnose	+	+	+
salicin	+	+	+
trehalose	+		+

(1) 日蠶雜 47(2), 143-150(1978)

(2) Bergey's manual, of systematic bacteriology (1984)

d : difference

24~48時間後 褐色내지 黑褐色의 病斑을 形成하면서 軟化腐敗 하였다. 당근 切片의 接種에서는 黃赤色의 病斑, 감자切片 接種에서는 움푹패인 黑褐色의 病斑이 생기었고 病斑의 자라는 속도는 빨랐다.

2. 細菌學의 特性

分離된 細菌(M-5)은 奇主 강한 病原性을 나타내고 36°C에서 생육이 旺盛하였고 Fluorescense or KB agar에서 螢光色素를 形成하지 않았다. Hugh and Leifson 培地에서 Anaerobic growth가 확인되었으며 Gelatin를 液化하였다. Indole 生成과 Sucrose로 부터 環元物質이 生成되고, Phosphatase 活性은 陰性이었다. melibiose, L-arabinose, sorbitol, mannose, mannitol, cellobiose, lactose, rhamnose, salicin, trehalose에서는 酸을 生成하였으나 maltose로 부터는 酸이 生成되지 않았다(Table 1)..

이와같이 M-5의 分雜學의 特性은 Bergey's manual systematic bacteriology와 一致하였다. 薑나무 細菌病에서 軟腐를 일으키는 細菌은 *E. carotovora* subsp. *carotovora*가 代表的인 細菌으로 알려져 있으나 Choi (1990)는 *E. raphontici*가 薑나무에 같은 軟腐病을 일으키는 病原細菌임을 報告 하였다. 이들 두 病原細菌

들은 *Erwinia* group으로 病徵에 依한 식별은 어렵고 分類學的 特性으로만 可能하다.

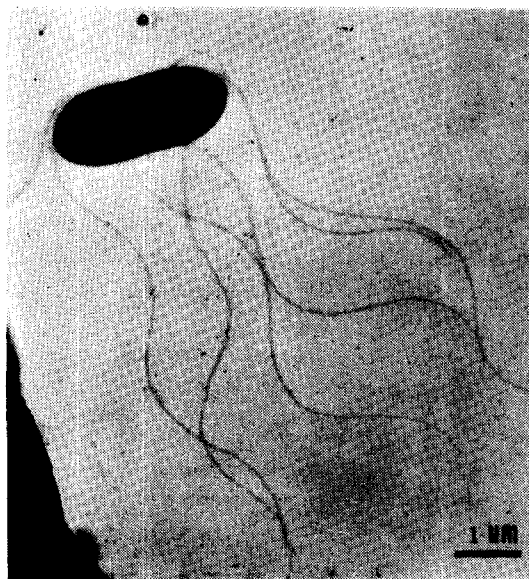


Fig .3. Electronmicrograph of the causal Bacterium M-5

Table 2. Comparative characters of *E. carotovora* group.

Characters	Erwinia	
	carotovora	rhapontici
Cell shape and flagella	Peritrichous, 4~8	Peritrichous, 4~8
Size of the bacteria	0.4~0.83×1.66~2.25μm	0.7~1.2×1.3~2.0μm
Gram stain	—	—
Motility	+	+
Of Test(anaerobic growth)	facultative anaerobic	facultative anaerobic
Fluorescent on KB	—	—
Catalase test	—	—
Phosphatase	—	—
Pectate degradation on CPV	+	—
Potato soft rot	+	W
Carrot soft rot	+	+
Gelatin liquefaction	+	—
Nitrate reduction	+	—
Sensitivity to erythromycin	—	+
Reducing substance form sucrose	—	—
Acid production form trehalose	+	+
Arabinose	+	+
Rhamnose	+	+
Gas from glucose	+	—
Acid from palatinose	—	+

W : Weakness

Colony의 자람이 *E. carotovora* subsp. *carotovora*는 *E. raphontici*보다 느리면서 더 흰색을 띠며 Colony의 모양도 *E. carotovora* subsp. *carotovora*는 무궁화模樣으로 약간 不規則하면서 끈적끈적한 粘着性이 있는 데 반하여 *E. raphontici*는 동그라면서 粘着性이 없는 圓形의 Colony이었다.

또 表 2에서와 같이 大部分 特徵이 같으나 *E. raphontici*는 감자 切片에서 病原性이 弱하였고 제라틴을 液化하지 않았으며 erythromycin에 陽性反應인데 *E. carotovora* subsp. *carotovora*는 감자에서 강한 病原性이고 제라틴을 液化시키고 erythromycin 음성반응을 나타내었다.

3. *E. carotovora* subsp. *carotovora*의 形態의 觀察

電子顯微鏡 觀察結果 病原菌은 0.4~0.83×1.66~2.25μm의 긴 圓形으로 4~8個의 단간상 周毛가 있었다.

E. carotovora subsp. *carotovora*는 배추, 무우 등에도 무름병을 일으키는 多犯性인 病害이며 상처를 통하여 病原菌이 寄主에 侵入(Takahashi & Sato, 1978)하기 때문에 봄누에 친 다음 6월경 까지 切斷, 가을누에 때 籐桑收穫에 依한 상처는 本病을 많이 發生 시킬 可能性이 클 것으로 생각된다. 따라서 우리나라의 地域別發生程度 등 發生實態 調査와 새로운 防除藥劑 開發이 계속되어야 할 것이다.

摘 要

가을철 가지뿥 收穫後 가지의 切斷部位 가운데 軟腐 症狀를 띤 病斑에서 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*가 分雜 同定 되었다.

1) 本 細菌은 桿狀으로 4~8個의 周性毛를 가진 0.4~0.8×1.66~2.25μm 크기의 任意嫌氣性 細菌으로 감자, 당근 切片을 腐敗시키고 뽕나무에 강한 病原性이 있었다.

2) King's B培地에서 乳白色 균총을 形成하고 Gram 및 Inositol test 결과 음성반응, Pectin을 分解, Gelatin을 液化 시켰다.

3) 本 細菌은 分類學的 特性이 *Erwinia carotovora* suasp. *carotovora*와 一致 하였으며 日本에서 1978년에 報告된 바 있으나 國內 未記錄 細菌이다.

引 用 文 獻

Choi, S.H., K.G. Lee, Y.S. Choi, Y.T. Kim(1988)

Pathogenicity and bacteriological characterization of *Xanthomonas campestris* from Mulberry. Korean J. plant pathol. 4(2):143-148.

崔在乙·韓光燮(1989) 百合科 菜蔬의 細菌性 腐敗病에 關한 研究. 2) *Erwinia* 屬細菌에 의한 마늘 무름病. 韓食병지 5(3):271-276.

崔在乙·韓光燮(1990) *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Pseudomonas marginalis*, *P. solanacearum*에 의한 생강 무름病 및 腐敗病. 韓食병지 6(3):363-368.

崔在乙·韓光燮·姜在哲(1990) *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*에 의한 붓꽃 무름病. 韓食병지 6(2):289-291.

Choi Seong Ho, Young Taek Kim, Keum Hee Lee and Chang Uk Kim(1990). The shoot and Stem Rot of Mulberry caused by *Erwinia raphontici*. Korean J. Plant Pathol. 6(1):106-112.

韓國植物保護學會(1987) 韓國植物病. 害蟲. 雜草名鑑. 改訂版. 623pp.

Lelliott, R.A. (1974) Genus XII. *Erwinia*, pages 332-340 in: Buchanan, R.E. Ed. Bergey's manual of debrminative bacteriology 8th Ed. Williams and wilkins, Baltimore. pp.1246.

Lelliott, R.A., and R.S. Dicky(1984) Fenus VII. *Erwinia*. in Bergey's Manual of systematic Bacteriology. Vol. I. Ed. by Kriet, N.R. and Holt, J.G. Williams and Wilkins CO., Baltimore, London. pp. 464-476.

Lucas, C.B. (1975) Disease of tobacco, 3rd ed., Biological consulting association, N.C., pp.621.

Stapp. C. (1961) Bacterial plant pathogens. Oxford Univ., Oxford. pp.290. (Cited from reference No.2).

植物細菌分類小委員會(1980) 植物病原細菌 新舊學名 對照表. 日植病報. 46:563-574.

高橋 幸吉·佐藤 守(1978) *Erwinia carotovora* var. *carotovora* (JONES) DYEによる クワ枝軟腐病. 日蠶雜 47(2):143-153.