

인공재배 버섯에 병을 일으키는 *Pseudomonas*속 병원세균에 관한 연구

2. 버섯 세균성 갈색점무늬병의 병원세균 *Pseudomonas tolaasii*와 White Line 형성균의 세균학적 특성

김종완 · 권순익* · 강희진
대구대학교 농과대학

Studies on the Pathogenic *Pseudomonas* Causing Bacterial Diseases of Cultivated Mushrooms in Korea

2. Bacteriological Characteristics of *P. tolaasii* Causing Mushroom Brown Blotch and White Line Reacting Organisms

Jong Wan Kim, Soon Ik Kwon* and Hee Jin Kang
College of Agriculture, Taegu University, Kyungbuk 713-714, Korea

ABSTRACT : Tests were performed on 232 bacterial strains (71 strains of *Pseudomonas tolaasii* and 161 white line reacting organisms, WLRO) isolated from cultivated mushrooms. As results, *P. tolaasii* was divided into 5 groups on the basis of the phenotypical characteristics of the strains, and group 3 was the major one including 48 (62%) out of the total 71 strains. WLRO were classified into 23 groups, and group 10 was the major group (65 strains, 30% of the total WLRO tested). A white line was well formed at 22°C and at 4 mm distance between *P. tolaasii* and WLRO colonies in their dual culture on *Pseudomonas* agar F medium within 36-hr incubation, but not formed at 25°C even for 72-hr incubation. The morphological, cultural and biological properties of *P. tolaasii* group 3, and the main group of WLRO, group 10, were different only in the light of pathogenicity. Also group 2 of *P. tolaasii* had the characteristics similar to group 24 of WLRO which was pathogenic to cultivated mushrooms, suggesting that the *P. tolaasii* and WLRO strains may be the same species although their white line forming ability and pathogenicity were more or less different from one another. Subculture of the strains in *P. tolaasii* group 1 induced the variation of their pathogenicity, white line forming ability and utilization of sodium benzoate and sodium tartrate, and thus it can be inferred that they were converted to strains having the characteristics of group 3 or WLRO groups.

Key words : *Pseudomonas tolaasii*, brown blotch, white line.

인공재배 버섯에 발생하는 세균성 갈색점무늬병 (brown blotch)은 주로 버섯의 갓부분에 갈색무늬를 형성하는 병으로서, 버섯의 양적, 질적인 저하를 초래하여 시장에서의 상품가치를 떨어뜨리는 하나의 큰 원인이 되고 있다. 세균성 갈색점무늬병은 1915년 Tolaas(14)에 의하여 처음으로 보고된 것으로서, 이 병의 병원세균은 1919년 Paine(8)에 의하여 *Pseudomonas tolaasii*로 명명되었다.

*P. tolaasii*는 버섯에서 분리된 비병원성 균주인

*Pseudomonas*속 세균과 *Pseudomonas* agar F(PAF)배지에서 대치배양에 의해서, 그 중앙부에 백색의 침강선 (white line)이 형성된다. 이러한 현상은 1979년 Wong 등(15)에 의하여 최초로 보고된 것으로서, white line 반응은 선명하고 단기간에 관찰되며 그 특이성도 높으므로 *P. tolaasii*의 동정이나 검출에 있어서 중요한 감별 성상으로 이용되고 있다.

*P. tolaasii*와 white line을 형성하는 비병원성 *Pseudomonas* spp.에 대하여 Wong 등(15), Goor 등(3)과 陶山(13)는 white line reacting organisms(WLRO)라 호칭하였고, Preece 등(13)은 *P. reactans*로, Zarkower 등

*Corresponding author.

(16)은 indicators라고 하였다. 그러나 *P. reactans*는 국제 명명규약에서 정식 학명으로 인정되지 않고 있으며, Zarkower 등(16)은 indicators 세균을 *P. fluorescens* biovar V로 동정하였으나 biovar V에는 일반 세균학적 성상이 서로 다른 세균이 다수 포함되어 있다.

또한, *P. tolaasii*와 WLRO는 그 일반 세균학적 성상이 아주 비슷하고 이들 중에는 병원성만이 다른 것도 있다는 보고(3, 15, 16)도 있다. 이와 같이 WLRO에 대한 확실한 동정이 되어 있지 않으며, *P. tolaasii*와 WLRO 사이에도 분류학적 차이점이 확실히 밝혀져 있지 않다.

본 실험은 *P. tolaasii*와 WLRO에 속하는 세균의 일반 세균학적 성상을 비교하여 이들 세균의 특성을 밝히고 분류학적 위치를 확실히 함과 동시에, 병원균의 검출법에 대한 연구를 수행함으로써 이 병의 방제에 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

공시균주 및 병원성. 공시된 *P. tolaasii*와 WLRO 균주들은 1991년 7월부터 93년 2월에 걸쳐 서울, 수원, 대구, 포항, 부산 등에서 수집된 이병버섯(양송이, 느타리버섯, 표고버섯)에서 분리 배양되었다. *P. tolaasii*는 전보(6)의 방법에 의하여 분리배양하였으며, WLRO는 *P. tolaasii*로 확인된 group 1~5와 PAF배지에서 22°C 3일간 확산 대치 배양을 행하여 선발하였다. 또한 WLRO에 대한 white line 형성능의 비교를 위하여, American Type Culture Collection에서 구입한 *P. marginalis* pv. *marginalis*(ATCC 10844), *P. marginalis* pv. *pastinaceae*(ATCC 13889)를 사용하였다.

균주의 병원성 유무의 확인은 48시간 Bouillion agar 배지에서 배양한 공시균주를 10⁷ cells/ml의 농도로 현탁하여 NaOCl로 표면 살균된 양송이와 양배추, 양파 등의 식물에 다침법에 의하여 접종을 행하고, 22°C의 습실 상태에서 발병을 시킨 후 접종 2~3일 후에 병발생 유무를 육안으로 조사하였다.

공시균주의 일반 세균학적 특성. 공시세균의 형태적 특징은 PAF와 Bouillion agar 배지에서 24시간 사면배양 후, 평균 증류수에 현탁하여 dip method(2% phosphotungstic acid, pH 7.0으로 염색)에 의해 전자현미경(Hitachi H-600)으로 관찰하였다. 배양적 특성은 25°C에서 조사되었고, 일반 세균학적 성상은 Cowan (2), Harrigan(4), Murray 등(7), Schaad(10), Skerman (11)의 방법에 준하였다.

White line의 형성 온도 및 형성 거리. White line 형성을 위한 최저온도와 대치배양의 최적 거리를 조사하기 위하여, *P. tolaasii* group 3과 WLRO group 10을 PAF 배지에서 온도범위 18°C에서 25°C, 대치배양거리 4 mm에서 12 mm까지 배양하였다.

결과 및 고찰

일반 세균학적 특성. Table 1에서 보는 바와 같이 재배버섯에서 분리된 71개 *P. tolaasii* 균주에 대하여 병원성 등 36가지 세균학적 특성을 조사한 결과, sodium benzoate의 이용 등 7가지 생리적 특성에서 균주 사이에 차이를 보였으며, 이러한 생리적 차이에 의하여 5개의 group으로 나눌 수 있었다. 이 5개의 group 가운데 group 3이 47균주(62%)로서 가장 많이 분리되었으며 이는 전보(6)의 결과와 일치한다. *P. tolaasii* group 1만이 sodium benzoate와 sodium tartrate를 이용하고, group 2와 3은 trehalose의 이용에 차이를 보이며, group 4와 5는 maltose, dextrin, raffinose의 분해에 있어서 차이를 보였다. 그러나 세균의 형태적 특성과 버섯에 대한 병원성 및 다른 일반 생리적 특성은 동일하였다.

버섯에서 분리한 161개 WLRO 균주들은 병원성을 비롯한 세균학적 특성에 의하여 23개의 group으로 나눌 수 있었다(Table 1). 이들 중 group 10~15의 세균이 주종을 이루고 있으며, group 10이 전체의 40%인 65균주로 가장 많이 분리되었다. WLRO의 우점균주인 group 10의 세균은 *P. tolaasii*의 우점균주인 group 3의 세균과 병원성을 제외한 전자현미경 관찰에 의한 형태적 특성(Fig. 1) 및 일반 세균학적 성상이 일치하였다. 陶山(13)가 실험에 공시한 바 있는 WLRO는 group 14와 유사한 것으로서 maltose의 이용성만을 달리하고 있다. WLRO group 14는 일반 세균학적 특성이 *P. tolaasii* group 1과 동일한 것으로 나타났다.

병원성 및 white line의 형성. Table 2에서와 같이 *P. tolaasii*로 동정된 균주(group 1은 제외)들은 배추와 양파에서 병원성이 인정되고 있다. *P. tolaasii*인 group 2~5 세균은 양파에 대한 병원성에 다소의 차이가 인정되기는 하나, 배추와 양파에서 병원성을 나타내고 있는 반면, WLRO에 있어서는 버섯에서 병원성이 없는 세균들은 배추와 양파(group 17은 제외)에 있어서도 병원성을 인정할 수 없었다. 버섯에 병원성이 있는 균주에 있어서도 WLRO group 24의 균주만이 배추에 병원성을 나타내고 있었다. 즉 WLRO는 배추와 양파에 대하여 병원성이 없거나 있다고 하여도 어

Table 1. Characteristics^a of *Pseudomonas* isolates derived from diseased mushrooms with bacterial brown blotch

Characteristic	White line reacting organism (WLRO)																																							
	Our study										Our study										Previous reports																			
	1	2	3	4	5	Paine	Sui- yama	Young	Zar- kow-	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	28	31	33	Sui- yama	Zar- kower						
Pathogenicity	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Flagella	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
Gram stain	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
Green fluorescent pigment	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
Catalase test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
NH ₃ production	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Reduction of nitrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
M. R test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
V. P. test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Oxidase test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Indole production	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Reaction in litmus milk ^b	2p	2p	2p	2p	2p	1p	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1p			
Alkali from Sodium benzoate	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Sodium tartrate	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Hydrolysis of gelatin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Hydrolysis of esculin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Acid from Dextrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Levulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Glycerin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Dextrin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Saccharose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Soluble starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Inulin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
No. of isolates	2	10	47	8	4					4	2	3	65	18	13	1	8	22	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3	6	1	2	1

^a For symbols: +; positive (present) or weak (relative to ++; strong), -; negative (absent), ±; not determinate.
^b 1; neutral, 2; alkaline, 3; acid, c; coagulated, p; peptonized.

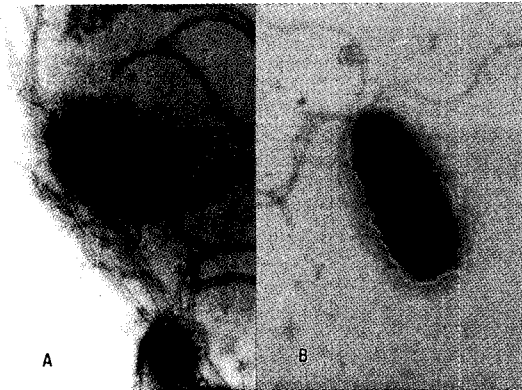


Fig. 1. Electron micrographs of *P. tolaasii* group 3 (A) and WLRO group 10 (B) grown on *Pseudomonas* agar F media at 25°C for 24 hours.

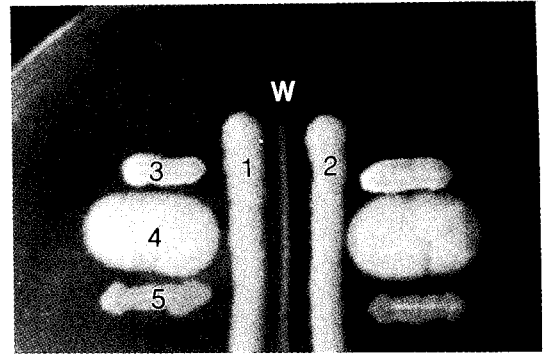


Fig. 2. Screening of *Pseudomonas* spp. for the white line test. 1; *P. tolaasii* group 3, 2; WLRO group 10, 3; *P. marginalis* pv. *pastinaceae* (ATCC 13889), 4; *P. fluorescens* (ATCC 11250), 5; *P. marginalis* pv. *marginalis* (ATCC 10844), W; white line.

Table 2. Pathogenicity of *Pseudomonas tolaasii* and white line reacting organisms isolated from diseased mushrooms by artificial inoculation on mushroom and plants

Bacteria	Group	Pathogenicity ^a		
		Mushroom	Cabbage	Onion
<i>P. tolaasii</i>	1	+	+	+(-)
	2	+	+	+
	3	+	+	+(-)
	4	+	+	+(-)
	5	+	+	+
WLRO	7	-	-	-
	8	-	-	-
	9	±	±	-
	10	-	±	-
	11	-	-	-
	12	-	-	-
	13	-	-	-
	14	-	-	-
	15	-	-	-
	16	-	-	-
	17	-	-	+
	18	-	-	-
	19	-	-	-
	20	-	-	-
	21	-	-	-
	22	-	-	-
	23	+	-	-
	24	+	+	-
	25	+	-	-
	26	+	-	-
	28	+	-	-
	31	+	-	-
	33	-	-	-

^aExamined 3 days after inoculation by the pin method: +; pathogenic, -; not pathogenic, ±; not determinate.

느 한 쪽에만 한정되어 있었다. 그러나 *P. tolaasii* group 1의 세균은 group 23, 25~28, 31에서와 마찬가지로 버섯에서만 그 병원성이 인정되었다.

*P. tolaasii*와 WLRO의 대치 배양에 의한 PAF에서의 white line형성에 관한 연구는 Wong 등(15)에 의한 것으로서, 그들은 총 267균주(*P. tolaasii* 113균주, 기타 *Pseudomonas*속 균주 20종 154균주)에 대한 대치 배양을 행하고 *P. tolaasii*에 대한 그 특이성을 인정하고 있다. 陶山(13)도 white line형성에 관한 그의 연구에서, *P. marginalis*의 일부의 계통에서 WLRO와 반응하는 세균이 있기는 하나 현재로서는 가장 탁월한 *P. tolaasii*의 검정법으로 보고하고 있다.

陶山(13)은 일부 *P. marginalis*(양파 썩음병, Primula 썩음병) 균주가 WLRO와 대치배양에 의하여 white line을 형성하고 있음을 인정하고 있으나, 본 연구에서는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 *P. marginalis* pv. *marginalis*(ATCC 10844)와 *P. marginalis* pv. *pastinaceae*(ATCC 13889)는 모두 WLRO와 대치배양에서 white line을 형성하지 않았다. 陶山(13)가 공시한 균주들은 *P. tolaasii*나 WLRO와 주요성상이 같으며 느타리버섯에서 *P. tolaasii*와 유사한 병반을 형성하며, 또 위의 병원성 시험에서 볼 수 있듯이 *P. tolaasii*도 양파에 병원성이 있는 만큼 陶山(13)의 연구에서 *P. marginalis*로 공시된 균주들이 *P. tolaasii*가 잘못 동정된 것일 가능성이 있다.

*P. tolaasii*를 WLRO와 대치배양을 함에 있어서 온도와 대치거리가 white line형성에 관여하는 주요 인이라 하겠다. 陶山(13)에 의하면 20~25°C에서 white line의 형성이 가장 좋으며 대치배양 거리가 10

mm 이하일 경우에는 2일 이내에, 15 mm에서는 4일 후에, 20 mm에서는 7일 후에 white line이 형성된다고 하였다. 본 실험에서 사용되고 있는 WLRO는 저자들이 공시한 group 1-5의 *P. tolaasii*와의 대치배양에 의하여 white line을 형성하는 23개의 group에 대한 총칭으로서, 이들 세균과 *P. tolaasii*와의 대치배양에 있어서 white line 형성에 적합한 대치거리와 온도를 조사한 결과는 Table 3에서와 같다. 대치배양 온도는

22°C가 가장 좋아서 대치거리 4 mm 정도에서 36시간에 확실한 반응을 얻을 수 있었다. 25°C에 있어서는 72시간 후에도 white line의 형성이 없었다.

*P. tolaasii*와 WLRO의 상동성. 버섯에 병원성을 가지고 있는 WLRO group 24의 세균은 *P. tolaasii* group 2와 일반 세균학적 성상이 유사하였다. 이와 같이 *P. tolaasii*와 WLRO 사이의 유사성 또는 상동성은 *P. tolaasii* group 1(strain 210-2, 506-5)를 이용한 실험에서 증명되고 있다. 즉 *P. tolaasii* group 1의 세균은 Table 4에서 보는 바와 같이 계대배양 중에 변이가 쉽게 일어나고 있음을 알 수 있는데, 특히 병원성과 white line 형성 특성에 변이가 심하여, strain 210-2는 양송이의 전형적인 갈색점무늬병의 병반을 형성하고 WLRO에 의하여 white line이 형성되는 *P. tolaasii* 세균이었으나, 약 6개월 후인 93년 4월 3일에는 다른 *P. tolaasii*와의 대치배양에 의하여 white line을 형성하는 세균으로 전환되었다. 이들 중 210-2-1은 white line의 형성능만이 전환되고 병원성은 그대로 유지하고 있었으나, 210-2-A는 병원성 또한 상실되어 있었다. Strain 506-5는 병원성과 white line의 형성능에 있어서 뿐만 아니라 sodium benzoate와 sodium tartrate의 이용능에 있어서도 변이가 일어나서 원래의 균주인 506-5는 4개의 type으로 나누어졌다. 즉 원래의 균주 type과, sodium benzoate와 sodium tartrate의 이용능력을

Table 3. The effect of various incubation temperatures and distances between *P. tolaasii* and WLRO on the production of the white line in Pseudomonas agar F medium^a

Temperature (°C)	Distance (mm)				
	4	6	8	10	12
18	++(++ ^b)	±(++)	-(+)	-(+)	-(±)
20	++(+++)	+(++)	±(++)	-(+)	-(±)
22	++(+++)	+(+++)	+(+++)	-(+)	-(±)
24	+(++)	±(+)	-(+)	-(+)	-(±)
25	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)	-(-)

^aCultured for 36 or 72 hours.

^bDegree of white line reaction after 36-hour incubation (after 72-hour incubation). -, no white line reaction, +; weak white line reaction, ++; medium white line reaction, +++; strong white line reaction.

Table 4. Changes of the pathogenicity, white line reaction, and some bacteriological characteristics of *P. tolaasii* group 1 (strains 210-2 and 506-5) by subculturing^a

Characteristic	Strain 210-2			Strain 506-5			
	Original	210-2-I	210-2-A	Original	506-5A	506-5B	506-5C
Pathogenicity	+ ^b	+	-	+	+	-	-
White line reaction	+(R)	+(I)	+(I)	+(R)	+(R)	+(I)	-(NR)
Alkali from							
Sodium benzoate	+	+	+	+	-	+	+
Sodium tartrate	+	+	+	+	-	+	+
Reduction of nitrate	-	-	-	-	-	-	-
Acid from							
Inositol	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	+	-	+	-
Lactose	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-	-
Starch	-	-	-	-	-	-	-
Dextrin	-	-	-	-	-	-	-

^aThe bacterial strains were subcultured for 6 months.

^b+, positive, -; negative. R; reactor (*P. tolaasii*). I; indicator (WLRO), NR; nonreactor.

상실한 506-5A (group 1에서 group 3의 세균으로 전환), 병원성만을 잃어버린 506-5-B, 병원성의 상실과 함께 white line 생성능이 변한 506-5-C이 그것이다. 이러한 사실은 Wong 등(15)과 Zarkower 등(16)의 보고에서도 찾아볼 수 있다. 이들은 국제 보존기관에 예탁되어 있는 *P. tolaasii* (ATCC 14340, ICPB PT 109 등) 중에는 병원성이 없고 WLRO와 동일한 반응

(white line)을 나타내고 있는 균주들이 있음을 보고하고 있다. 또한 Goor 등(3)도 *P. tolaasii*를 계대 배양을 하면 집락변이주가 출현되는데, 이 변이주는 병원성을 상실하고 white line test에서 WLRO와 같은 반응을 나타내고 있다. 이러한 점에서 생각하여 볼 때 white line 형성능 혹은 병원성에 다소 차이가 있다고 하더라도, 다른 세균학적 특성이 같으면 이들 세균은 동일한

Table 5. Characteristics of *P. tolaasii* and white line reacting organisms (WLRO) from diseased *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes*

Characteristic	<i>P. tolaasii</i>	Characteristics of <i>Pseudomonas fluorescens</i> previously reported in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology					WLRO	
		<i>P. fluorescens</i>					A group	B group
		biovar I	biovar II	biovar III	biovar IV	biovar V		
Flagella	+	+	+	+	+	+	+	+
Gram stain	-	-	-	-	-	-	-	-
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+
Green fluorescent pigment	++	+	d	+	+	d	++	++
Catalase test	+						+	+
NH ₃ production	+						+	+
Reduction of nitrate	-	-	+	+	+	-	-	+
M.R test	-						-	-
V.P test	-						-(±)	-(+)
Oxidase test	+	+	+	+	+	+	+	+
Alkali from								
Sodium benzoate	-(+) ^b						-(+)	+(-)
Sodium tartrate	-(+)						-(+)	-(+)
Hydrolysis of gelatin	+	+	+	+	+	+	+	+
Hydrolysis of esculin	-						-(+)	-(+)
Acid from Dextrose	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	d	+	d	+	+
Levulose	+	+	d	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	d	d	d	d	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	d	+	+
Galactose	+	+	+	d	+	d	+	+
Glycerin	+	+	+	d	+	d	+	+
Mannitol	+	+	+	d	+	d	+	+
Inositol	+	d	+	d	+	d	+	+
Rhamnose	+	-	d	d	-	d	+	+
Sorbitol	+	+	+	d	+	d	+	+
Trehalose	+(-)	+	+	d	+	d	+	+
Maltose	-(+)	-	-	-	-	-	-(+)	-(+)
Saccharose	-	+	+	-	+	d	-(+)	-
Lactose	-	-	-	-	-	-	-(+)	-(+)
Soluble starch	-	-	-	-	-	-	-(+)	-(+)
Inulin	-	-	-	-	-	-	-(+)	-
Phytopathogen	+	-	-	-	-	-	-(+)	-(+)

^a The signs indicate: +; positive, -; negative, d; different among organisms.

^b Variations within a species or a group.

세균임을 인정하지 않을 수 없다. 저자들은 이미 전보 (6)에서 *P. tolaasii*에서도 WLRO에 의하여 white line 이 형성되는 세균과 형성되지 않는 세균이 존재하고 있음을 밝힌 바 있다.

분류학적 고찰. Table 5에서 보는 바와 같이 본 연구의 공시균주들은 일반 세균학적 특성에 의하여 *P. fluorescens*에 소속되고 있음을 알 수 있다. Bergey의 분류서 8판(1)에 의하면 식물병원세균인 *P. tolaasii*와 *P. marginalis*는 *P. fluorescens* biovar II에 소속되어 있다. 그러나 *P. tolaasii*는 질산염을 환원하지 못하는 세균으로서 biovar II와는 다른 biovar V에 소속됨을 알 수 있다. 이러한 사실은 Stanier 등(12)에 의하여서도 논의된 바 있는 것으로서, 그들도 *P. tolaasii*를 *P. fluorescens* biovar V에 소속시키고 있다.

WLRO는 복합적인 세균들의 집단으로서 2개의 group으로 나눌 수 있는데, A group은 질산염을 환원하지 않는 세균으로서 *P. tolaasii*와 동일한 특성을 가진 균주들이 이에 포함된다. 이들은 일반 세균학적 성상에서 볼 때 *P. fluorescens* biovar V의 세균으로 동정된다. 또한 질산염을 환원하는 B group은 biovar III에 해당이 된다. WLRO는 Wong 등(15), Goor 등(3), 陶山(13)이 *P. tolaasii*와 white line을 형성하는 비병원성인 *Pseudomonas* sp.에 대하여 사용한 것으로서, Preece 등은 *P. reactans*로, Zarkower 등(16)은 Indicators라고 한 바 있다. Zarkower 등(16)은 Indicators를 *P. fluorescens*의 biotype G(biovar V)로 동정한 바 있다. 그러나 Zarkower 등의 이러한 결과는 A group에 속한 WLRO 세균들에 한정된 연구 결과라 생각된다.

Bergey's 분류서 9판(5)에서는 *P. fluorescens*에 식물 병원세균을 소속시키고 있지 않다. Krieg 등(7)은 Paleroni 등(9)의 rRNA/DNA의 상동성과 phenotype을 바탕으로 하여 *Pseudomonas*속을 5개의 group 또는 section으로 나누고 있다. Phenotype에 의한 분류인 section과 rRNA group은 1에서 3까지는 잘 일치하고 있으나, section 5에는 특히 많은 문제점이 내포되어 있다. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology(7)에서는 rRNA group 5에서 2개의 종만을 인정하고 있으며, 그밖에 64개의 종은 section 5로서 다루고 있는데, 그 중의 하나로 *P. tolaasii*가 분류되어 있다. 또한 *P. agarici*와 *P. asplenii*는 rRNA group 1(section 1)에 소속되어야 할 것임에도 임시로 section 5에 넣고 있다. Bergey's 분류서 9판(5)에서도 rRNA group 1~4 군과는 별도로 64종의 세균이 additional *Pseudomonas* species로 다루어지고 있는데, 이곳에 *P. agarici*, *P. tolaasii* 등을 위시한 식물과 버섯에 병원성인 세균들이

분류되어 있다. *Pseudomonas* section 5에 소속되어 있는 이들 세균은 연구가 진전됨에 따라 재분류되어야만 하는 것이다. Phenotype의 특성에 의하여 section 1에 해당이 되고 있는 *P. tolaasii*나 WLRO, 특히 이들 세균에 병원성이나 white line 형성능의 변화가 생긴 세균이 자연계에서 검출되어 동정될 경우에는 phenotype에 의하여 *P. fluorescens*로 동정될 것이다. 따라서 *P. tolaasii*와 WLRO는 앞으로의 연구, 즉 *P. fluorescens*를 포함한 *Pseudomonas*속의 각 section 및 rRNA group의 대표적 종들의 type strain들과의 좀 더 상세한 phenotypical한 특성의 비교 연구는 물론 rRNA/DNA의 상동성에 관한 연구에 의하여 그 분류학적인 위치의 재정립 및 위치 설정기준이 필요하다 하겠다.

요 약

버섯에서 분리한 232균주(*Pseudomonas tolaasii* 71균주, white line 형성균(WLRO) 161균주)에 대한 연구결과, 일반 세균학적 특성에 의하여 *P. tolaasii*는 5개의 group으로 나눌 수 있는데, group 3이 48균주로서 62%를 차지하고 있었다. WLRO는 23개의 group으로 나눌 수 있으며, group 10이 65균주로서 30%를 차지하고 있어서 WLRO의 주종을 이루고 있었다. *P. tolaasii*와 WLRO의 대치배양은 22°C가 가장 좋아서 대치거리 4 mm에서 36시간에 확실한 반응을 얻을 수 있었고, 25°C에서는 72시간 후에도 white line의 형성이 없었다. *P. tolaasii*와 WLRO 사이에는 일반 세균학적 성상이 동일한 세균이 존재하고 있었다. 특히 *P. tolaasii*의 대표세균인 group 3과 WLRO의 대표세균인 group 10은 병원성만을 달리하고 있었으며, group 2의 세균은 병원성을 가지고 있는 WLRO의 group 24와 유사한 일반 세균학적 성상을 나타내었다. 이들은 white line 형성능 혹은 병원성에 있어서 다소의 차이는 있으나 동일한 세균으로서 생각된다. *P. tolaasii* group 1의 세균은 계대배양에 의하여 쉽게 변이를 일으켜서 병원성, white line 형성능 및 sodium benzoate와 sodium tartrate의 이용능을 달리하는 group 3이나 WLRO group으로 전환되었다.

참고문헌

1. Buchanan, R. E. and N. E. Gibbons. 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. William and Wilkins Co. Baltimore, U.S.A. pp. 222-223.
2. Cowan, S. T. 1974. *Manual for the Identification of*

- Medical Bacteria*. 2nd ed. Cambridge University Press, London, England.
3. Goor, M., Vantomme, R., Swings, J., Gillis, M., Kersters K. and de Ley, J. 1986. Phenotypic and genotypic diversity of *Pseudomonas tolaasii* and white line reacting organisms isolated from cultivated mushrooms. *J. Gen. Microbiol.* 132 : 2249-2264.
 4. Harrigan, W. F. and McCane, M. E. 1966. *Laboratory Method in Microbiology*. Academic Press, N.Y., U.S.A.
 5. Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. William and Wilkins Co., Baltimore, U.S.A.
 6. Kim, J. W., Kim, K. H. and Kang, H. J. 1994. Studies on the pathogenic *Pseudomonas* causing bacterial diseases of the cultivated mushroom in Korea 1. On the causal organisms of the rots of *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes*. *Korean J. Plant Pathol.* 10 : 197-210.
 7. Krieg, N. R. and J. G. Holt. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. William and Wilkins Co. Baltimore, U.S.A. 188pp.
 8. Paine, S. G. 1919. Studies in bacteriosis II. A brown blotch disease of cultivated mushrooms. *Ann. Appl. Biol.* 5 : 206-219.
 9. Palleroni, N. J., Kunisawa, R., Contopoulou, R. and Doudoroff, M. 1973. Nucleic acid homologies in the genus *Pseudomonas*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 23 : 333-339.
 10. Schaad, N. W. 1980. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. American Phytopathological Society, Minnesota, U.S.A.
 11. Skerman, V. B. O. 1967. *Guide to the Identification of the Genera of Bacteria*. 2nd ed.
 12. Stanier, R. Y., Palleroni, N. J. and Doudoroff, M. 1966. The aerobic pseudomonads; a taxonomic study. *J. Gen. Microbiol.* 43 : 159-271.
 13. 陶山一雄, 1987. 人工栽培キノコの細菌病. 文部省科學研究費補助金一般研究成果報告書.
 14. Tolaas, A. G. 1915. A Bacterial disease of cultivated mushrooms. *Phytopathology* 5 : 51-54.
 15. Wong, W. C. and Preece, T. F. 1979. Identification of *Pseudomonas tolaasii*: the white line in agar and mushroom tissue block rapid pitting tests. *J. Appl. Bacteriol.* 47 : 401-407.
 16. Zarkower, P. A., Wuest, P. J., Royse, D. J. and Myers, B. 1984. Phenotypic traits of fluorescent pseudomonads causing bacterial blotch of *Agaricus bisporus* mushrooms and other mushroom-derived fluorescent pseudomonads. *Can. J. Microbiol.* 830 : 360-367.