

Erwinia carotovora subsp. *carotovora*에 의한 콩나물 무름병 발생

박종철* · 송원엽¹ · 김형무¹
호남농업시험장, ¹전북대학교 농생물학과

Occurrence of Bacterial Soft Rot of Soybean Sprout Caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*

Jong Cheol Park*, Wan Yeop Song¹ and Hyung Moo Kim¹

National Honam Agricultural Experiment Station, Iksan 570-080, Korea

¹Department of Agricultural Biology, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea

ABSTRACT : A causal agent of bacterial soft rot occurring in soybean sprout cultivation in Korea was isolated and identified, and its incidence in several sprout-soybean cultivars was examined. Infected soybean seeds became light brown and whitish, and could not germinate until 3 days after seeding, accompanying rotting of soybean seeds and sprouts. The causal organism isolated from the rotten seeds and sprouts was identified as *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* on the basis of its pathogenicity, morphological and physiological characteristics, and the result of the Biolog GN microplate test program. The bacterial soft rot by *E. c.* subsp. *carotovora* was firstly described in soybean sprout in Korea, and we name it "the bacterial soft rot of soybean sprout". The disease occurred more frequently in Nam-hae and Fu-reun sprout-soybean cultivars than in Eun-ha, So-baek, and Ik-san cultivars.

Key words : soybean sprout, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, bacterial soft rot

콩나물은 고려시대 이전부터 전해 내려온 우리 나라 전통 식품이며(3), 비타민의 함유량이 많은 기호성 식품(5)으로 평가되어 최근 그 소비가 급증함에 따라 콩나물 재배도 기업화하는 경향을 보이고 있다. 그러나 이와 함께 콩나물 재배시 부패병의 발생도 심각한 문제로 대두되고 있다(11).

콩나물 부패병의 발생에는 이병된 종자의 사용, 나물콩 종자의 상처, 재배시 호흡열의 증가(7), 종자 발아시 분비되는 유기물, 수질 등이 중요한 요인으로 작용한다(10). 지금까지 콩나물 부패병에 대한 연구는 많이 이루어지지 않았다. 부패병의 원인 병원균으로 *Fusarium* spp.와 *Pseudomonas* spp.가 보고되었고(7), *Fusarium solani*, *F. oxysporum*의 병원성을 확인한 보고가 있다(10). 한편 일본에서는 시판되는 녹두나물 가공포장제품에서 부패균으로 *Bacillus coagulans*, *B. licheniformis* 등이 분리된 보고가 있으며(6), 또한 콩나물 재배 과정중에 진균으로 *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomia phaseoli*, *Colletotrichum* sp.

와 세균으로는 *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas fluorescens* Biotype II 등의 보고가 있다(1).

종자에는 많은 병원균이 다양한 방법으로 종자에 부착 또는 서식하고 있다(8). 콩나물재배에 이용되는 나물콩 종자에도 다양한 종류의 부패 관련 병원균이 오염되어 있을 것으로 생각되며 콩나물 재배특성상 항상 습한 조건이 주어지기 때문에 병원균의 증식과 콩나물의 부패가 쉽게 이루어질 것으로 생각된다. 본 실험은 콩나물 재배시에 발생하는 콩나물 무름병의 병원체를 분리 동정하고, 국내에서 육성 재배되고 있는 나물콩 품종별 무름병 발생율을 조사한 결과를 보고한다.

재료 및 방법

병원세균의 분리. 익산나물콩 종자 50 g을 지하수에 6시간 침종한 후 9×10 cm의 멸균된 플라스틱 용기에 넣고 25±1°C의 온도에서 암상태로 1일 500 ml 씩 4회 관수하면서 콩나물을 재배하였다. 종자나 콩나물의 자엽부위에 변색의 무름증상을 보이는 개체를 채집하여 그로부터 누출된 세균체를 King's B media

*Corresponding author.

에 희선 배양하여 단 콜로니를 분리 배양하였다.

병원성 검정. 분리된 세균 균주를 nutrient broth media에서 12시간 배양한 후 균의 농도를 10^5 - 10^7 cells/ml로 조절하여 접종원으로 이용하였다. 익산나물콩 종자 10 g을 접종원에 3시간 침종후 멸균증류수에 다시 3시간 침지시킨 후 재배하면서 무름병 발병율을 조사하였다.

병원세균의 특성 조사. 분리 균주의 형태 및 생리적 특성을 Bergey's manual에 기록된 세균의 특성과 비교하였다. 세균의 형태는 2% phosphotungstic acid로 염색하여 전자현미경(Carl Zeiss, EM10)으로 관찰하였다. 생리적 특성은 Dickey and Kelman(2), Lelliot and Dickey(4), Schaad(12) 등의 방법에 따라 실시하였으며, 속분류를 위해 Gram's staining, anaerobic growth, oxidase test, yeast dextrose calcium carbonate(YDC) 배지상에서의 황색색소 생성 유무 및 sucrose로부터의 산의 생성 여부를 조사하였다. 종 분류를 위한 생화학적 실험으로는 pectate 분해, gelatin 액화, acetoin 생성, indole 생성, 36°C에서의 생존, nitrate reduction, 산의 생성 유무 등을 조사하였고 GN microplate(Biolog Inc., U.S.A)를 이용하여 96종의 화학물질 반응성을 조사하였다. 분리 세균의 병원성 검정을 위해 10^7 - 10^8 cell/ml로 농도를 조절하여 감자, 가지, 배추, 무, 콩나물에 3번복으로 침접종한 후 샐레(직경 9 cm)에 정치하여 27°C 항온기내에서 2일 후 병징 발현여부를 관찰하였다.

나물콩 품종별 무름병 발생. 광안콩 등 국내에서 재배되고 있는 11개 나물콩 품종을 재배하면서 무름병의 발병 양상을 조사하였다.

결 과

무름병 병징. 분리된 세균을 나물콩 종자에 접종한 후 콩나물을 재배한 결과 재배 2~3일째부터 무름병이 발생하였으며, 종자에는 자엽부위에 변색의 무름증상을 보였고 발아가 저해되고 물러져 썩는 증상을 나타내었으며 심한 경우에는 재배 1일 후부터도 변색의 무름증상을 보였다. 또한 콩나물의 자엽부위에도 종자에서와 같은 변색의 무름증상을 나타내었으며 하배축의 신장이 억제되는 증상을 나타내었다(Fig. 1).

병원세균의 동정. 콩나물에 병원성이 있는 분리균주(SBSE-2)는 전자현미경 관찰 결과 형태적으로는 주생모를 가진 간균이었다(Fig. 2). 또한 분리균주는 Gram 음성 세균으로, oxidase를 생성하지 않았고 sucrose로부터 산을 생성하였으며, catalase와 운동성은

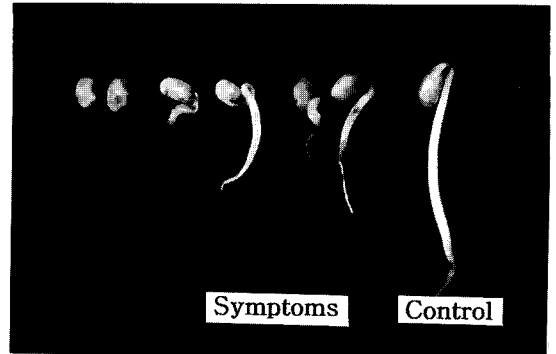


Fig. 1. Symptoms of the bacterial soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, showing inhibition of seed germination and sprouting. Diseased seeds became rotten. Control indicates a healthy soybean sprout.

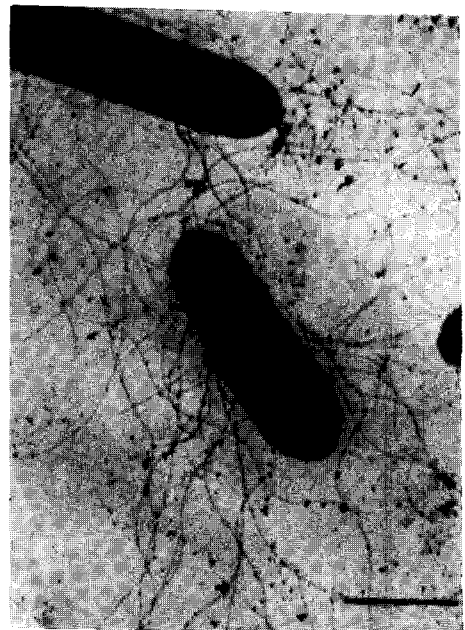


Fig. 2. Electron micrograph of the bacterial isolate SBSE-2, isolated from rotten soybean sprout, showing rod-shaped bacterial cells and peritrichous flagella. Bar represents 1 μ m.

양성, YDC 배지상에서 황색 색소를 형성하지 않아 *Erwinia*속 세균의 특성과 일치하였다(Table 1). *Erwinia*속에서 속하는 본 세균의 종을 구분하기 위하여 생화학적 특성을 비교한 결과 이 세균은 arginine dehydrolyase를 생성하지 않았고, pectate 분해, gelatin 액화, acetoin production과 nitrate reduction은 모두 양성을 나타냈고, 36°C에서 생존하였으며, indole 생성 및 phosphate 활성화는 음성을 나타내었다. D-lactose, mel-

ibiose, cellobiose, glucose에서 산을 생성하였고 maltose, α -methyl glycoside로부터는 산을 생성하지 못하였으며, malonate와 galacturonate를 이용하였다(Table 2). 이들 특성 특성들을 검토한 결과 Bergey's manual에 기록된 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*의 특성과 일치하였으므로 이 분리세균을 *E. c. subsp. carotovora*로 동정하였다(Table 2).

GN microplate를 이용한 96종의 탄수화물 및 아미노산의 이용성 검정에서 Table 3과 같은 결과를 얻었다. 본 실험 결과들을 Biolog program에서 비교한 결

과 *E. c. subsp. carotovora*와 82.2%의 유사도를 나타내었다.

분리세균의 병원성. 공시균주의 병원성 검정을 위해 감자, 가지, 배추, 무 등에 현탁액을 침적중한 결과 2일 이내에 모든 접종 처리에서 연부의 병징을 나타내었다(Table 4).

Table 1. Comparison of characteristics of the present isolate SBSE-2, isolated from rotten soybean sprout with those of genus *Erwinia*

Characteristic	SBSE-2	<i>Erwinia</i> sp. ^a
Gram's stain	- ^b	-
Anaerobic growth	+	+
Staight rod	+	+
Oxidase	-	-
Catalase	+	+
Motility	+	+
More than four peritrichous flagella	+	+
Yellow or orange pigment on YDC	-	V
Acid production from sucrose	+	+

^a Details of genus *Edwina* were described by Lelliot and Dickey (4) and Schaad (12).

^b Symbols; +: positive reaction, -: negative reaction, V: variable.

Table 2. Species identification of the present isolate SBSE-2, isolated from rotten soybean sprout

Characteristic	SBSE-2	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> ^a
Pectate degradation	+ ^b	+
Gelatin liquefaction	+	+
Acetoin production	+	+
Phosphatase	-	-
Indole test	-	-
Growth at 37°C	+	+
Nitrate reduction	+	+
Acid production from:		
Cellobiose	+	+
D-lactose	+	+
Maltose	-	-
Melibiose	+	+
α -Methyl glycoside	-	-
Glucose	+	+
Utilization of:		
Malonate	-	-
Galacturonate	+	+

^a Details of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* were described by Dickey and Kelman (2).

^b Symbols; +: positive reaction, -: negative reaction.

Table 3. The results of GN microplate test of the present isolate SBSE-2, isolated from rotten soybean sprout

Results	Characteristics
Positive response	Dextrin, glycogen, tween #40, tween #80, N-acetyl-D-glucosamine, L-arabinose, cellobiose, D-fruct-ose, D-galactose, gentibiose, α -D-glucose, m-inositol, α -lactose, D-manitol, D-mannose, D-melibiose, β -methyl-D-glucoside, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, sucrose, D-trehalose, methyl-pyruvate, monomethyl succinate, acetic acid, citric acid, formic acid, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D,L-lactic acid, D-saccharic acid, succinic acid, bromo succinic acid, L-asp-aragine, L-aspartic acid, L-glutamic acid, glycy-L-glutamic acid, L-serine, inosine, uridine, thymine, glycerol, D,L- α -glycerolphosphate, glucose-1-phosphate, glucose-6-phosphate
Negative response	α -Cyclodextrin, N-acetyl-D-galactosamine, adonitol, D-arabinose, i-erythritol, L-fucose, lact-ulose, maltose, turanose, xylitol, D-galactonic acid lactone, D-glucosaminic acid, D-gluconic acid, α -hydroxy butyric acid, β -hydroxy butyric acid, γ -hydroxy butyric acid, p-hydroxy phenyl acetic acid, i-taconic acid, α -keto-butyric acid, α -ketoglutaric acid, α -ketovaleric acid, malonic acid, propionic acid, quinic acid, sebacic acid, succin amic acid, glucuroamide, alaninamide, D-alanine, L-alanine, L-alanyl-glycine, glycy-L-aspartic acid, L-histidine, hydroxy-L-proline, L-leucine, L-ornithine, L-phenylalanine, L-proline, L-pyrroglutamic acid, D-serine, L-th-reonine, D,L-carnitine, γ -amino butyric acid, uroamic acid, phenylethylamine, putrescine, 2-amino-ethanol, 2,3-butanediol

Table 4. Pathogenicity of the present isolate, SBSE-2, isolated from rotten soybean sprout

Plant ^a	Pathogenicity
Potato	+ ^b
Eggplant	+
Chinese cabbage	+
Radish	+
Soybean sprout	+

^a Inoculated plant was placed in Petri dish (diameter of 9 cm) for 2 days at 27°C.

^b +: Soft rot symptom was observed 2 days after inoculation.

Table 5. Disease incidence of soybean sprout rot in 11 sprout-soybean cultivars

Sprout-soybean cultivar	No. of sprouts examined	Incidence of diseased sprouts (%)			
		1 day ^a	2 days	3 days	4 days
Bang-sa	897	1.6	3.8	6.6	7.9
Bu-kwang	915	2.1	3.9	6.9	8.1
Dan-yup	993	2.5	5.1	7.0	7.5
Eun-ha	1,110	0.9	1.3	3.8	5.2
Fu-reun	789	2.9	5.1	8.4	10.3
Han-nam	1,008	1.5	3.2	6.6	9.4
Ik-san	1,506	0.2	0.3	2.2	3.9
Kwang-an	1,107	2.0	3.1	5.2	5.7
Myung-ju	948	1.7	2.1	4.9	6.5
Nam-hae	738	1.8	6.6	0.8	14.9
So-baek	1,029	0.3	0.7	4.1	5.1
Mean	1,003	1.6	3.2	6.1	7.7

^a Days after seeding. Soybean seeds were soaked in sterilized distilled water for 6 hours and planted.

나물콩 품종별 무름병 발생. 광안콩 등 11개 품종을 재배하면서 품종별 무름율의 발생 양상을 조사한 결과, 평균 7.7%의 발병율을 나타내었으며 품종에 따라 3.9~14.9%로 큰 차이를 보였다. 이 중 익산 나물콩은 3.9%, 소백나물콩과 은하콩은 5.1%, 광안콩은 5.7%로 무름병 발생을 나타내 다른 품종에 비해 낮은 무름병 발생을 보였으나, 남해콩과 푸른콩은 각각 14.9%, 10.3% 등의 높은 발생을 보였다(Table 5). 한편 재배일 수별 콩나물의 무름병 발생은 남해콩과 단엽콩을 제외하고는 재배 3일째 가장 높았으며 4일째는 전체 품종에서 발병율이 감소하는 경향이였다.

고 찰

콩나물 무름병의 병징은 콩나물 종자의 변색과 함

께 발아가 저해되고 물러져 썩는 무름 증상을 나타내었다. 또한 콩나물의 자엽부위에도 종자에서와 같은 변색의 무름 증상을 나타내었으며 하배측의 신장이 억제되는 증상을 나타내었다.

무름병을 일으키는 세균의 특징은 형광색소를 생성하지 않았고 유백색 콜로니 색을 나타내었다. Schaad (12) 등의 방법에 따라 검정한 결과 *Erwinia*속 세균으로 확인되었고, 생리화학적 특성 검정 결과를 *Bergey's manual*(9)의 *Erwinia*속 세균과 비교한 결과 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*의 특성과 대부분 일치하였으며, Biolog GN microplate를 이용한 탄수화물 및 아미노산 이용성 검정 결과에 있어서도 82.2%의 유사도를 나타내어 본 세균을 *E. c.* subsp. *carotovora*로 동정하였다. 이 병원 세균은 주로 감자나 당근의 연부병을 일으키는 병원체로 알려져 있는데(13), 본 실험의 분리 균주도 감자를 포함하는 여러 식물에 병원성을 나타내어 *E. c.* subsp. *carotovora*의 특성과 일치하였다.

일본에서는 녹두나물 재배시 *E. carotovora*가 무름에 관여하는 것으로 보고되어 있다(1). 그러나 지금까지 국내에서 콩나물 부패병을 일으키는 세균으로는 *Pseudomonas* spp가 보고된(7) 바 있는데 이 연구에서 이용된 콩은 장류콩 품종인 광고로서 본 실험에 사용된 나물콩 품종과는 다르기 때문에 분리된 부패 병원균의 종류가 달라지지 않았나 생각된다. 따라서 본 세균에 의한 콩나물 무름병은 아직 국내에 보고된 바 없기에 본 세균에 의한 병을 콩나물 세균성 무름병(bacterial soft rot of soybean sprout)이라 명명할 것을 제안한다.

요 약

우리나라의 콩나물 재배에서 관찰되는 무름병의 병원균을 분리 동정하고 콩나물 품종별 무름병 발생율을 조사하였다. 무름병의 병징으로 콩나물 재배 2~3일 경부터 관찰되며 백색으로 종자가 변색되고 발아가 저해되며 물러져 썩는 증상을 나타냈다. 콩나물에 있어서도 자엽 부위에 변색과 함께 무름 증상을 나타내었다. 병반으로부터 분리된 병원균은 병원성, 형태적, 생리화학적 특성과 Biolog GN microplate로부터의 결과에 의해 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*로 동정되었다. *E. c.* subsp. *carotovora*에 의한 콩나물 무름병은 국내에서 처음 보고하기에 본 세균에 의한 병을 콩나물 세균성 무름병(bacterial soft rot of soybean sprout)이라 명명할 것을 제안한다. 국내에서 재배되고

있는 나물콩 품종에서의 무름병 발생은 은하, 소백, 익산 나물콩 등에서 낮았으며 남해, 푸른콩에서 높게 나타났다.

참고문헌

1. 青木陸夫, 沼田邦雄, 宮尾茂雄. 1986. もやし製造技術に關する研究. 東京農業試験場研究報告 19: 103-109.
2. Dickey, R. S. and Kelman, A. 1988. Carotovora or soft rot group. In: *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria* 2nd Edition, ed. by N. W. Schaad, pp. 45-59. Bacterial Commit. Am. Phytopath. Soc. Minnesota.
3. 장지현. 1992. 우리나라 콩나물 문화. 한국콩연구회 발표 논문 초록집: 50-54.
4. Lelliot, R. A. and Dickey, R. S. 1984. Genus VII. *Erwinia*. In: *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology* Volume 1, ed. by N. R. Krieg and J. G. Holt, pp. 466-469. Williams & Wilkins Co. Baltimore.
5. 이홍석 박사 회갑기념 책 발간 추진 위원회. 1992. 콩-유전 육종 및 재배 생리, pp. 21-26.
6. 宮尾茂雄, 沼田邦雄, 佐藤區. 1987. 調味大豆もやし加工品の變敗および防止對策について. 東京農業試験場研究報告 20: 45-46.
7. 명인식. 1987. 콩나물 무름의 원인과 방제. 고려대학교 석사 학위 논문. 37pp.
8. Paul, N. 1977. *Seed Pathology*. The Macmillan Press. London. 1187pp.
9. Krieg, N. R. and Holt, J. G. 1984. *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, Volume 1, pp. 471-476. Williams & Wilkins Co. Baltimore.
10. 오병준. 1989. 철분 및 엽분이 콩나물 생육과 무름에 미치는 영향 및 콩나물 무름병균. 고려대 석사학위 논문. 41pp.
11. 박원목, 명인식, 이용세. 1986. 콩나물 부패병의 생물학적 방제. 한국콩연구회지 3(2): 4-9.
12. Schaad, N. W. 1988. Initial identification of common genera. In: *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, ed. by N. W. Schaad, pp. 1-5. Bacteriol. Commit. Am. Phytopath., Minnesota. 164pp.
13. Paul, S. and Sainsbury, D. 1980. *Dictionary of Microbiology*. John Wiley & Sons Ltd. 481pp.

(Received 23 Dec. 1996)