

콩씨스트선충 기생세균 *Pasteuria nishizawae*의 토양내 분포

김동근* · 이영기¹ · 이재국¹
성주과채류시험장, ¹농업과학기술원

Spatial Distribution of *Pasteuria nishizawae* Attacking *Heterodera glycines*

Dong-Geun Kim*, Young-Kee Lee¹ and Jae-Kook Lee¹

Songju Fruit Vegetable Experiment Station, Songju, Kyongbuk, 719-860, Korea

¹National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea

ABSTRACT: Spatial distribution in soil and seasonal population changes of *Pasteuria nishizawae* first found in Korea from soybean cyst nematode were studied. *P. nishizawae* infested in 61% of areas in a soybean field; in an average, about 0.3% of 46 cysts and 17.6% of 9 juveniles per 100 g soil were infested with the bacterium. The highest percentages of spore-attached nematodes were found in July (75%) and between soil depth of 11~20 cm. The number of spores per juvenile was positively correlated with the percentage of juveniles with spores ($r=0.4203$; $P<0.0133$), but negatively correlated with the number of juveniles in soil ($r=-0.3499$; $P<0.042$). *P. nishizawae* completed its life cycle in cyst and produced 1.7×10^5 spores per cyst.

Key words: biological control, ecology, obligate bacterial parasite, *Pasteuria nishizawae*, population density, soybean cyst nematode.

선충 순활물기생세균인 *Pasteuria* spp.는 전세계 68개국의 102속, 236종의 선충으로부터 보고되었는데(1), 국내에서는 1995년 콩씨스트선충에서 처음으로 발견되었다(7). 세계적으로는 선충에 기생하는 종은 3종인데, 콩씨스트선충(*Heterodera glycines*)에 기생하는 *P. nishizawae* Sayre, Wergin, & Schmidt(15), 뿌리혹선충(*Meloidogyne incognita*)에 기생하는 *P. penetrans* Sayre & Starr(14), 뿌리썩이선충(*Pratylenchus brachyurus*)에 기생하는 *P. thornei* Starr & Sayre이다(19).

*Pasteuria*는 기주 선택성이 높고, 열 및 건조에 강하며, 농약에 대한 저항성이 높아 생물적 방제용 천적으로서 여러 가지 장점을 가지고 있으나(6, 17), 순활물기생균이기 때문에 인공배양이 불가능하고, 토양내의 분포 등에 대한 연구가 부족한 것이 단점이다. *P. nishizawae*는 1984년 일본의 벼 씨스트선충, *H. elachista*에서 처음 발견되었고(9, 10), Sayre 등이 인공 접종을 통하여 콩씨스트선충에 기생함을 확인한 바 있는데(15), 특히 국내에서 발견된 *P. nishizawae*는 3종 중에서 가장 최근 발견되었고(15), 자연상태의 콩씨스트선충에서 발견되기는 이번이 처음으로, 그 토양 내 분포 및 밀도 변화에 대한 연구는 없다. 가장 최근의 연구로는, 1994년 미국에서 콩씨스트선충의 유충에 기생하는 1종의 *Pasteuria*가 발견되어 보고되었다(11). 그러나 이 세균은 단지 유충에만 기

생이 되고 씨스트에는 번식할 수 없어 Noel 등은 *P. nishizawae*가 아닌 다른 종이라고 추측하였다(11). 본 연구는 2년에 걸쳐 콩씨스트선충과 그에 기생하는 *P. nishizawae*의 계절적 밀도변화, 토양내의 분포에 관하여 조사하였다.

재료 및 방법

선충의 분리 및 race 판별. 이 조사는 1996년 5월에서 1997년 4월 사이에, *P. nishizawae*가 발견된 충청북도 충주시 앙성면 지당리(이하 '충주') 콩밭에서 실시하였다. 선충 분리는 채집된 토양을 충분히 혼합한 후, 1 kg을 취하고 씨스트는 850 μm와 250 μm체를, 유충은 26 μm체를 이용하여 분리하였고, 다시 설탕부유 원심분리법(18)으로 씨스트와 유충을 각각 순수분리 하였으며, 분리된 씨스트 및 유충은 광학현미경하에서 각각 세균의 기생여부를 확인하였다. 조사지역 콩씨스트선충의 race는 5종의 콩 판별품종, Lee 74, PI90763, PI88788, Pickett, Peking을 이용한 Riggs의 표준화된 방법(12)을 따랐는데, 각 5반복으로 온실에서 40일간 재배하였으며, 판별품종은 미국 University of Arkansas로부터 분양 받았다.

광학현미경 검정. 분리된 유충은 광학현미경(Olympus BH-2) 200~400배 하에서 *Pasteuria* 포자의 부착유무, 기생부위, 크기 및 포자의 형태적 특징을 조사하였고, 선충은 글리세린방법(18)으로 슬라이드 표본을 만들어 보관하

*Corresponding author.

였다. 씨스트는 시계접시에 넣고 터트려 씨스트 내부에 생성된 포자를 조사하였으며, 씨스트 안에 있는 세균 포자의 수는 물로 희석하여 혈구계수기로 조사하였다(5반복). 또한 이 포장에 서식하는 모든 선충에 대하여 *Pasteuria* 기생 여부를 조사하였으며 속까지 동정하였다.

선충과 세균의 계절적 밀도 변화. 선충 및 세균의 계절적 변이를 보기 위해 1996년 6월에서 10월 사이, 선충이 증식하는 시기에 30~40일 간격으로 토양을 채집하였다. 토양 채집지역은 예비조사에서 *Pasteuria*의 감염이 확인된 6개 지점에서 하였으며, 약 3 kg의 토양을 채집하여 충분히 섞고, 그중 500 g을 취하여 위에서와 같은 방법으로 선충을 분리하고 조사하였다.

선충과 세균의 토양 내 수직 및 수평분포. 1997년 4월 5일, '충주' 콩밭을 28구로 나누고(1구의 크기=10 m×5 m), 각 구 당 6개 지점에서 골고루 약 3 Kg의 토양을 채집하여 섞었으며, 그중 500 g을 취하여 위에서와 같은 방법으로 선충을 분리하고 조사하였다. 수직분포는 *Pasteuria*의 감염이 확인된 2개 지역에서, 토양 채집기(Stainless 원통형; D-10 cm×L-70 cm)로, 깊이 50 cm까지 흙을 채취하였으며, 채집된 흙은 깊이별로 10 cm씩 나누어 담았다. 토양은 각 깊이별로(0~10 cm, 11~20 cm, 21~30 cm, 31~40 cm, 41~50 cm) 500 g이 될 때까지 채집하여 잘 섞었으며, 그중 100 g의 토양을 취하여 위에서와 같은 방법으로 선충을 분리하고 조사하였다.

결과 및 고찰

***Pasteuria* 세균의 분포.** '충주' 콩밭은 최근 3년간은 콩을 재배하였으며, 38번 국도와 인접하고 있고, 토성은 굵은 자갈이 섞인 양토였다. 각 race 판별품종 당 씨스트의 증식은 감수성 판별품종인 Lee 74에서 1,631개(100.0%), Pickett에서 633개(38.8%), PI88788에서 351개(21.5%), PI90763에서 6개(0.4%), Peking에서 23개(1.4%)로 아주 뚜렷한 race 5였다. 이 포장에 서식하는 선충 중에서는 콩씨스트선충 외, *Aphelenchus* sp., *Criconema* sp., *Rhabditis* sp. 등의 선충에도 세균의 포자가 붙어있는 것이 발견되었다. 그러나 감염비율이 낮고(<5%), 세균이 표피에 붙어있으나 선충 내에 발육된 포자는 없어 *Pasteuria* 세균이 이를 선충 내에서 자라지 못하는 것으로 생각되었다. 이들 세균이 콩씨스트선충에서 발견된 *P. nishizawae*와 같은 종인지, 아니면 다른 종인지는 확인되지 않았다.

충주포장에는 토양 100 g당 평균 46개의 씨스트가 있었는데(범위=12-107개), 세균에 기생된 씨스트는 크기가 약간 작고, 색깔은 흰색 또는 불투명한 옅은 갈색이었으며(건전한 씨스트는 반짝이는 진한 갈색), 씨스트 기생율은 0.3%(0~2.8%)였다. 씨스트를 깨트렸을 때, 건전한

씨스트 안에는 알과 유충이 들어있었으나, 기생된 씨스트 안에는 선충의 알이나 유충은 전혀 없고 세균의 포자만이 가득 들어있었는데, 씨스트 1개당 약 $1.7 \pm 1.1 \times 10^5$ 개의 포자가 들어 있었다(5반복). 이 숫자는 Sayre 등이 콩씨스트선충에서 조사한 4×10^5 개/씨스트(15)나 Mankau(8)나 Davies(2) 등이 뿌리혹선충의 암컷에서 조사한 2×10^6 과 비슷하였다. 씨스트 내 세균 포자의 수는 기주선충의 종류나 선충의 발육 환경조건 등에 따라 다를 수 있을 것이다. 예를 들어, 온도는 *Pasteuria penetrans*의 발육기간과 암컷 한 마리 당 만들어지는 세균 포자의 수에 큰 영향을 미치는데, 세균이 한 세대를 완성하는데는 20°C에서는 85~100일이 소요되고 뿌리혹선충 1마리 당 2.4×10^6 개의 포자가 만들어지며, 25°C에서는 38일 걸리고 2.2×10^6 개의 포자가 만들어지며, 30°C에서는 기간이 더 짧아지고 1.4×10^6 개의 포자가 만들어진다고 한다(20).

충주포장에는 토양 100 g당 평균 9마리의 유충이 있었는데(범위=1~36마리), 기생율은 17.6%(범위=0~100%) 이었으며 유충 1마리당 평균 약 3개의 포자가 붙어있었고, 유충 한 마리에 최대 58개의 포자가 붙어있었다. Sayre(13)에 의하면 세균이 선충의 표피에 붙는 수는 1마리 당 수개-수백개였다. 세균에 기생된 유충은 광학 현미경 100배 이상 배율에서 선충의 표피에 컵 모양의 포자가 붙은 것으로 쉽게 확인이 가능한데, 세균의 자세한 형태에 관한 광학 및 전자현미경적 관찰 결과는 논문으로 투고 중이다(7). 이번 조사에서 콩씨스트선충의 수컷에서는 포자가 발견되지 않았다. *P. nishizawae*는 수컷의 표피에 붙는 것으로 알려져 있고(15), 뿌리혹선충의 수컷 체내에 *P. penetrans*의 포자가 발육한 예도 드물지만 보고되어 있다(5).

선충과 세균의 계절적 밀도변화. 토양 내 콩씨스트선충의 유충 수는 6월에 가장 많았고, 7월에 가장 적었으며 그후 약간 증가하는 경향이었다(Fig. 1). 반면, 세균 기생율은 유충의 밀도가 가장 낮은 7월에 가장 높았고(75%), 그 외의 달은 비슷하였다(34~50%). 토양 내 씨스트의 밀도는 7월이 가장 적었고(4개/100 g 토양), 그후 점차 증가하여 10월에 가장 많았다(65개/100 g 토양). 6월에 유충의 밀도가 가장 높았던 이유는, 5~6월이 콩을 심는 시기로 발아하는 콩의 뿌리에서 분비되는 물질에 반응하여(16) 유충들이 많이 부화한 것으로 생각되며, 7월에 밀도가 낮았던 것은 부화된 유충들이 대부분 뿌리 속으로 침입했기 때문으로 해석된다. 그후 뿌리에 침입한 선충이 번식함에 따라 토양 내 유충의 숫자가 점점 증가하였으며, 8월에 유충의 밀도가 증가한 것으로 보아, 이때 1세대가 완료되었을 것이며, 10월에 씨스트의 밀도가 가장 높았던 것은 이때 2번째 세대가 완료되었기 때문으로 생각된다. 씨스트의 숫자가 10월에 가장 높았던 반면, 유충의

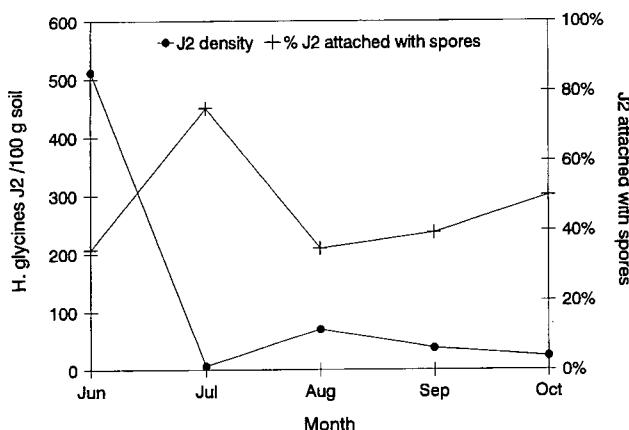


Fig. 1. Population density of *Heterodera glycines* juveniles (J2) and percentages of juveniles attached with spores of *Pasteuria nishizawae* in naturally infested soil.

밀도는 10월에 높지 않았는데, 이것은 휴면기(diapause)의 영향으로 생각된다. 콩씨스트선충은 가을에 기온이 낮아지고, 일장이 짧아져, 콩이 수확기에 가까워지면, 이러한 환경의 영향으로 인해 휴면기(diapause)에 들어가게 되고 더 이상 유충들이 씨스트로부터 부화하지 않는다(16).

선충과 세균의 토양 내 수직 및 수평분포. 토양 깊이 별로는, 깊이 11~20 cm에 가장 많은 선충이 분포하고 있었고, 또 세균 기생율도 가장 높았으며, 토심이 깊어질수록 선충의 숫자도 적었고, 세균의 기생율도 낮았다(Fig. 2). 그러나 세균에 기생된 씨스트는 이번 조사에서 가장 깊은 깊이인 50 cm에서도 발견되었다. *Pasteuria* 세균의 포자가 토양 수분의 삼투작용에 의하여 움직일 가능성은 실험으로 관찰된 바 있고, 토양 깊이 120 cm에서 발견된

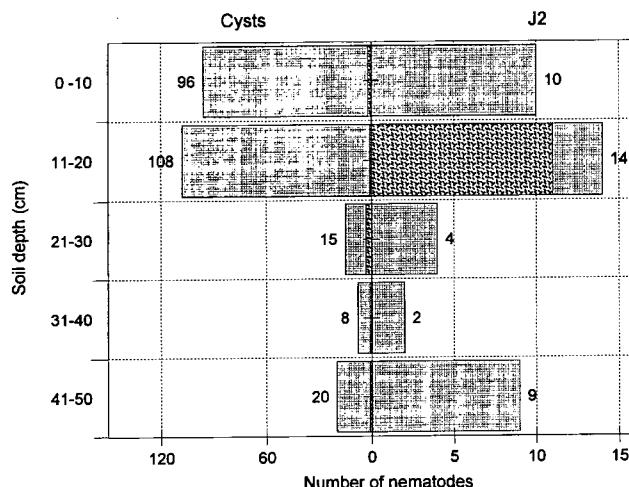


Fig. 2. Vertical distribution of *Heterodera glycines* cysts and juveniles (J2) with (checked) or without spores of *Pasteuria nishizawae* in naturally infested soil. Number on each bar indicates total number of cysts or juveniles in 100 g of soil in that depth.

뿌리혹선충의 유충에 *Pasteuria*의 포자가 발견된 바도 있다(13).

토양 내 수평 분포는, 조사된 28개 구(1구의 크기=10 m×5 m) 모두에서 선충이 발견되어, 이 포장에는 콩씨스트선충이 고르게 분포하고 있었는데, 토양 100 g당 씨스트의 수가 80개 이상인 구는 전체의 50%였고, 최고는 100 g당 157개(유충은 72마리), 최저는 23개(유충은 1마리)였다(Fig. 3). 유충의 수는 토양 100 g당 최고는 72마리, 최저는 1마리였다. 조사 포장에서 세균이 감염되어 있는 구는 전체의 62%이었는데, 세균이 많을수록 선충의 밀도가 낮았다. 조사구내에서 세균 기생율과 선충 밀도간 상관관계를 조사한 결과, 유충 한 마리 당 붙은 포자의 수는 세균에 기생된 유충의 숫자가 많을수록(씨스트: $r=0.5423, P<0.0009$; 유충: $r=0.4203, P<0.0133$), 또 토양 내 유충의 숫자가 적을수록($r=-0.3499, P<0.042$) 많았다. *Pasteuria* 세균의 포자는 토양 속에 존재하다가 선충이 지나갈 때 수동적으로 표피에 붙게 되는데, 토양 내 포자의 밀도가 높을수록 기생율도 높을 것이다. 만약 어떤 지역에 높은 비율의 씨스트선충이 세균에 기생을 당하였다면, 다음 해 씨스트선충으로부터 부화되는 유충의 숫자는 상대적으로 적고, 반대로 토양 내 세균 포자 수는 상대적으로 많아 유충 한 마리 당 붙는 세균 포자의 숫자는 당연히 많아질 것이다.

콩씨스트선충의 씨스트가 토양 100 g당 13개 정도 있으면 약 20%의 콩 수량 감수를 가져온다고 하는 Franci (3)의 보고나, 100 g당 50개 정도 있으면 40% 정도의 수량 감수를 가져온다는 한(4) 등의 보고를 미루어 볼 때, 충주의 콩밭에는 토양 100 g당 평균 84개(범위=23~157개)의 씨스트가 있어 콩에 상당한 피해가 있었을 것

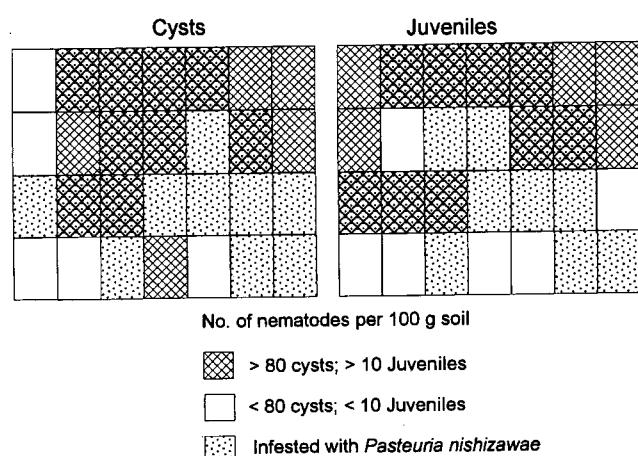


Fig. 3. Horizontal distribution of *Pasteuria nishizawae* and *Heterodera glycines* in naturally infested soil. The size of each block is 10 m×5 m and number of nematodes are from 100 g soil. Numbers 80 for cysts and 10 for juveniles are taken from median.

으로 보인다. '충주' 포장이 언제부터 *Pasteuria*에 감염되었는지, 또 현재 어느 정도의 피해를 입고 있는지 알 수 없으나, 토양에 *Pasteuria*가 존재하고 있으면 씨스트선충의 밀도가 자연 억제된다는 보고가 많이 있으므로(10), '충주' 포장의 *Pasteuria*가 콩씨스트선충의 밀도를 언제부터, 얼마나, 어떻게 억제하는지는 앞으로의 연구 대상이다. '충주' *P. nishizawae*는 유충의 표피에 부착되어 성숙된 씨스트에서 생활사가 완성되었으며, *P. nishizawae*가 자연포장의 콩씨스트선충으로부터 발견되기는 이번이 처음이다.

요 약

순활물기생세균, *Pasteuria nishizawae*의 계절적 밀도 변화 및 토양 내 분포에 관하여 조사한바, 포장 내 약 61%의 면적에 세균 감염되어 있었고, 세균의 밀도는 토양 100 g당 46개의 씨스트 중에서 0.3%, 유충 9마리 중에서 17.6% 였다. 세균의 기생율은 7월이 가장 높았고 (75%) 토양 깊이 11~20 cm에서 가장 높았다. 씨스트선충 유충 한 마리에 붙어있는 포자의 수는 감염된 유충이 많을수록 ($r=0.4203$; $P<0.0133$), 토양 내 유충의 숫자가 적을수록 ($r=-0.3499$; $P<0.042$) 많았다. 세균은 유충의 표피에 부착되어 성숙된 씨스트에서 생활사가 완성되었는데, 씨스트 1개에 약 $1.7 \pm 1.1 \times 10^5$ 개의 포자가 들어 있었다.

참고문헌

- Ciancio, A., Bonsignore, R., Vovlas, N. and Lamberti, F. 1994. Host records and spore morphometrics of *Pasteuria penetrans* group parasites of nematodes. *J. Invertebr. Pathol.* 63: 260-267.
- Davies, K.G., Kerry, B.R. and Flynn, C.A. 1988. Observations on the pathogenicity of *Pasteuria penetrans*, a parasite of root-knot nematodes. *Ann. Appl. Biol.* 112: 491-501.
- Franci, L.J. and Dropkin, V.H. 1986. *Heterodera glycines* population dynamics and relation of initial population to soybean yield. *Plant Disease* 70: 791-795.
- Han, S.C. and Cho, H.J. 1980. Influence of soybean cyst nematode on growth and yield of soybean. *Korean J. Plant Prot.* 19: 31-34.
- Hatz, B. and Dickson, D.W. 1992. Effect of temperature on attachment, development, and interactions of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne arenaria*. *J. Nematol.* 24: 512-521.
- Jatala, P. 1986. Biological control of plant-parasitic nematodes. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24: 453-489.
- Lee, Y.K., Kim, D.G., Choi, Y.C. and Lee, S.H. 1996. First report of *Pasteuria nishizawae* attacking *Heterodera glycines* in Korea. *Ann. Meeting of Korean Soc. of Plant Pathol.* (Jeju Univ. 1996. 10. 19). 64p. Abstr.
- Mankau, R. 1975. *Bacillus penetrans* n. comb. causing a virulent disease of plant-parasitic nematodes. *J. Invertebr. Pathol.* 26: 333-339.
- Nishizawa, T. 1984. Effects of two isolates of *Bacillus penetrans* for control of root-knot nematodes and cyst nematodes. *Proc. First Inter. Cong. Nematol.* 60-61.
- Nishizawa, T. 1987. A decline phenomenon in a population of the upland cyst nematode, *Heterodera elachista*, caused by a bacterial parasite, *Pasteuria penetrans*. *J. Nematol.* 19: 546.
- Noel, G.R. and Stanger, B.A. 1994. First report of *Pasteuria* sp. attacking *Heterodera glycines* in North America. *J. Nematol.* 26(S): 612-615.
- Riggs, R.D. and Schmitt, D.P. 1991. Optimization of the *Heterodera glycines* race test procedure. *J. Nematol.* 23: 149-154.
- Sayre, 1980. Biocontrol: *Bacillus penetrans* and related parasites of nematodes. *J. Nematol.* 12: 260-270.
- Sayre, R.M. and Starr, M.P. 1985. *Pasteuria penetrans* (ex Thorne, 1940) nom. rev., comb. n., sp. n., a mycelial and endospore-forming bacterium parasitic in plant-parasitic nematodes. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 52: 149-165.
- Sayre, R.M., Wergin, W.P., Nishizawa, T. and Starr, P. 1991. Light and electron microscopical study of a bacterial parasite from the cyst nematode, *Heterodera glycines*. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 58: 69-81.
- Schmitt, D.P. 1992. Population dynamics. In: Biology and management of the soybean cyst nematode. ed. by R.D. Riggs and J.A. Wrather. pp.51-59. APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Singh, B. and Dhawan, S.C. 1994. Effect of *Pasteuria penetrans* on the penetration and multiplication of *Heterodera cajani* in *Vigna unguiculata* roots. *Nematol. Mediterranea* 22: 159-161.
- Southey, J.F. 1986. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Her Majesty's Stationery Office, London. 202pp.
- Starr, M.P. and Sayre, R.M. 1988. *Pasteuria thornei* sp. nov. and *Pasteuria penetrans* sensu stricto emend., mycelial and endospore-forming bacteria parasitic, respectively, on plant-parasitic nematodes of the genera *Pratylenchus* and *Meloidogyne*. *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol.* 139: 11-31.
- Stirling, G.R. 1981. Effect of temperature on infection of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. *Nematologica* 27: 458-462.

(Received December 5, 1998)