

*Streptomyces acidiscabies*에 의한 감자 더뎡이병

김집순¹ · 박덕환 · 최용철² · 임춘근* · 홍순영³ · 이승돈² · 함영일¹ · 조원대²
강원대학교 농업생명과학대학 자원생물환경학부, ¹고령지농업시험장 감자과
²농업과학기술원 작물보호부 병리과, ³제주도농업기술원 식물환경과

Potato Scab Caused by *Streptomyces acidiscabies*

Jeom Soon Kim¹, Duck Hwan Park, Yong Chul Choi², Chun Keun Lim*,
Soon Young Hong³, Seung Don Lee², Young Il Hahm¹ and Weon Dae Cho²

Division of Biological Environment, College of Agriculture and Life Science,
Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

¹Potato Division, Alpine Agricultural Experiment Station, RDA, Pyongchang 232-950, Korea

²Plant Pathology Division, Department of Crop Protection, National Agricultural Science
and Technology Institute, Suwon 441-707, Korea

³Department of Plant Environment, Cheju-do Agricultural Research and
Extension Services, Cheju 690-170, Korea

ABSTRACT: Bacterial species isolated from common scab lesion on potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Dejima) was identified as *Streptomyces acidiscabies*. This organism had flexuous spore chains and white spore mass color, produced melanin pigment on tyrosine agar medium but did not produce on peptone agar medium. *S. acidiscabies* grew on agar medium at pH 4.0, used L-arabinose, D-fructose, D-glucose, D-mannitol, rhamnose, sucrose, D-xylose and meso-inositol except raffinose as carbon sources. It was also susceptible to thallium acetate (10 µg/ml, 100 µg/ml), phenol (0.1%, wt/vol), streptomycin (20 µg/ml), and was resistant to 7% NaCl, crystal violet (0.5 µg/ml), penicillin (10 IU/ml) and oleandomycin (25 µg/ml, 100 µg/ml).

Key words: potato scab, *Streptomyces acidiscabies*.

감자 더뎡이병은 세계적으로 발생하며 괴경표면에 평평하거나 움기 또는 함몰하는 코르크형의 병반을 형성한다. 이러한 더뎡이병은 *Streptomyces*속의 여러균에 의하여 발생하는 것으로 보고되어 있으며 그 중 *S. scabies*가 가장 우점하는 균으로 알려져 있다(10, 12). 더뎡이병은 토양산도 5.2 이상의 중·알카리성 토양에서 많이 발생하므로 토양산도를 낮추어 주는 것이 중요한 방제법으로 생각되어 왔다. 그러나 1968년 Bond와 McIntyre(1)에 의하여 *S. scabies*와 다른 특성을 나타내는 균들이 분리되었다.

1977년 Manzer 등(14)은 산성에 내성을 나타내는 균들이 색소생산성, raffinose의 이용, 포자쇄의 형태 등에서 차이를 나타내는 것으로 보고하였다. 또한 1971년 Hughes 등(4)도 단백질 pattern분석을 통해 *S. scabies*와 산성에 내성을 갖는 *Streptomyces*속간에 차이가 있음을 보고하였다. 1989년 Lambert 등(10)은 산도 5.2 이하에서 발생하는 균들을 *S. acidiscabies*로 명명하였다.

*S. acidiscabies*는 파상형 포자쇄를 가지고 흰색에서 붉은색을 띠는 배지 의존적 포자덩이색을 나타내며, 멜라닌 색소보다는 산도에 민감한 색소를 형성하고, 산도 4.0에서 자라며 탄소원으로서는 raffinose를 이용하지 않는 균으로 알려져 있다.

한편, 국내의 감자 생산지대에서도 수년전부터 더뎡이병의 발생이 주목되어 왔으나 방제가 시급하여 생체 및 약제선발을 위한 연구가 일부 이루어졌고(3, 6, 11), 병원균에 대해서는 *S. scabies*(9)와 *S. turgidiscabies*(7)가 보고되어 있다. 본 논문에서는 우리나라에서 점차 문제가 되고 있는 감자 더뎡이병의 우점균과 그에 따른 적절한 방제법을 수립하기 위한 기초자료로 더뎡이병 발생이 많은 재배지역을 중심으로 병원균을 분리·동정하였으며, 그중 *S. acidiscabies*로 동정된 균이 있어 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

병원균의 분리. 병원균은 제주도의 주요 감자 생산지

*Corresponding author.

대인 대정지역의 농가포장에서 수집된 이병괴경으로부터 분리하였다(15). 이병괴경을 1.5% NaOCl에 1분간 표면 살균한 다음 멸균수로 수세하고 병반조직을 5 ml 멸균수와 함께 마쇄한 후 정치하였다. 정치액을 nystatin, polymixin, penicillin, cycloheximide water agar(NPPC: nystatin 50 mg, polymixin B sulfate 5 mg, sodium penicillin-G 1 mg, cycloheximide 50 mg, agar 20 g, 증류수 1,000 ml) 배지에 도달하여 28°C에서 10~14일간 배양하였다. 분리한 균은 yeast-malt-extract agar(YME: yeast extract 4 g, malt extract 10 g, dextrose 4 g, agar 20 g, 증류수 1,000 ml) 배지를 이용하여 4°C에 냉장 보관하였다. 균주의 여러 가지 특성을 조사하기 위해서 YME 배지에 일정기간 생육시킨 뒤 멸균수를 붓고 포자를 긁어내어 포자현탁액을 만든 다음 이를 적정 배지 위에 접종하였다.

병원성 검정. Loria와 Kempfer(13)에 의한 방법으로 실시하였다. 균주를 YME 사면배지에 일정기간 배양한 후 5 ml의 멸균수를 첨가하여 현탁액을 제조하였다. 이 중 2 ml를 털어내어 50 ml의 Potato-dextrose broth (PDB, Difco Laboratories, Detroit, MI)가 들어 있는 삼각 플라스크에 접종하고 28°C에서 2주간 배양한 후 250 ml의 멸균수를 첨가하여 포자현탁액을 만들었다. 접종식물은 더듬이병에 대해 이병품종인 대지를 peat/ver-

miculiter가 채워진 직경 19 cm 화분에 심어 잎이 3개인 삽수를 취하였다. 이때 제일 아래 잎은 제거하여 살균된 모래가 든 13 cm의 화분에 액아가 묻히도록 꽂았다. 한 화분에 2개의 삽수를 꽂고 3개의 화분에 포자현탁액 40 ml씩을 삽수기부에 접종하여 3주 후에 수확하였다.

병원균의 형태적·배양적 특성. 포자사슬의 형태는 ISP 2배지(16)를 이용하여 28°C에서 2주 동안 배양시킨 후 형성된 균총(colony)을 광학현미경을 이용하여 관찰하였으며 포자덩이색과 영양균사의 색도 관찰하였다.

병원균의 생리적 특성. 멜라닌 색소형성은 포자현탁액을 만들어 tyrosine 한천배지(ISP7)와 peptone 한천배지(ISP6)에 접종하고 7일 후에 갈색-흑색의 색소가 형성되면 양성(+)으로, 색소가 형성되지 않으면 음성(-)으로 하였다(15). 산도(pH)에 대한 반응을 알아보기 위해 기본배지(dextrose 10 g, L-asparagine 0.5 g, agar 15 g, 증류수 1,000 ml)에 인산완충액으로 산도를 3.5~7.0 까지 8단계로 조절한 후 균을 접종하여 생육여부를 조사하였다.

탄소원 이용성을 알아보기 위해 ISP 9배지(16)에 각각의 탄소원을 1%(wt/vol) 농도로 첨가한 후 균을 접종하였으며, 28°C에서 2주일간 배양하여 D-glucose를 첨가한 배지와 생육이 비슷하면 양성(+)으로, 탄소원을 첨가하지 않은 배지와 생육이 비슷하면 음성(-)으로 하였다.

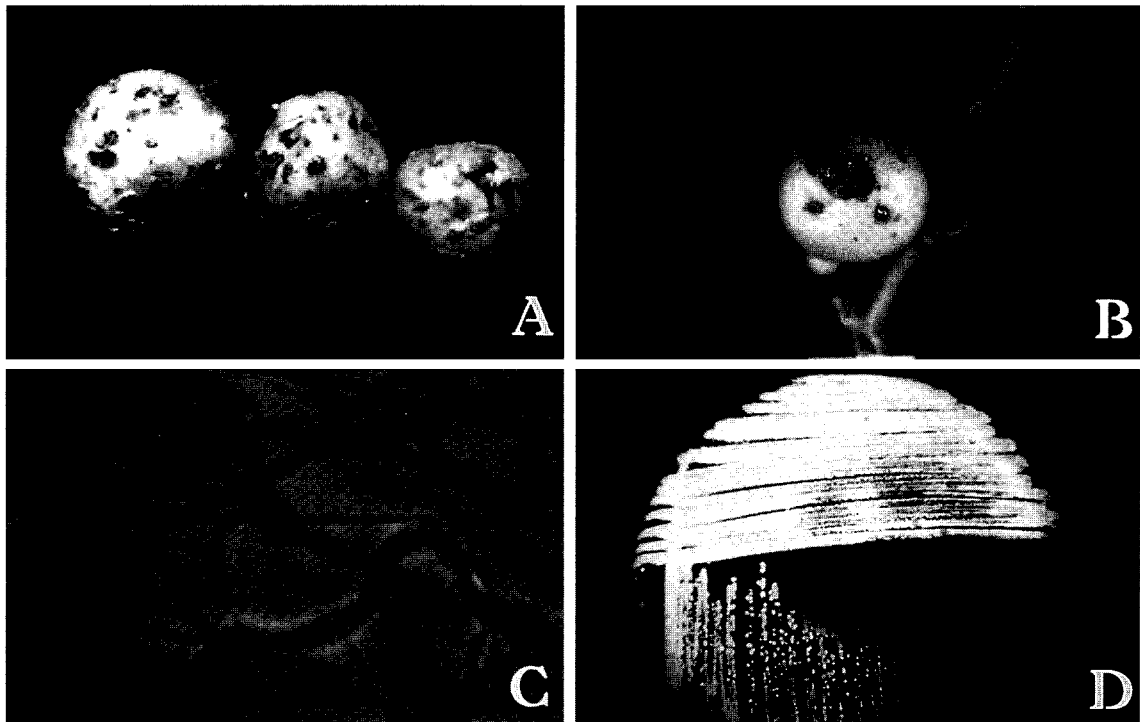


Fig. 1. A: Raised scab symptom produced on potato tuber under natural condition. B: Scab symptom of potato tuber produced by isolate CJ71 of *S. acidiscabies* 21 days after inoculation in the pot. C: Flexuous spore chains of isolate CJ71 grown on yeast malt extract agar at 28°C for 14 days. D: Spore mass color of isolate CJ71 grown on yeast malt extract agar.

내성 및 억제효과를 조사하기 위해서는 Modified Bennett agar (beef extract 1 g, yeast extract 1 g, tryptone 2 g, glycerol 10 g, agar 15 g, 증류수 1,000 ml) 배지에 NaCl(7%), Thallium acetate(10, 100 µg/ml), Crystal violet(0.5 µg/ml), Phenol(0.1%), Penicillin G(10 IU/ml), Oleandomycin(25, 100 µg/ml) 그리고 Streptomycin(20 µg/ml)을 첨가하여 28°C에서 14일간 배양한 후 생육여부를 조사하였다.

결 과

병원균의 분리. 더덩이병에 이병성 품종으로 알려진 대지의 괴경으로부터 병원균을 채집하였다. 병징은 괴경 전체에 코르크층이 분포하였으며, 대부분 융기된 코르크였으나 함몰형 병반도 관찰하였다(Fig. 1-A). 이러한 함몰형 병반아래를 절개하였을 때 내부조직이 검게 부패한 것을 확인하였다. 또한 이러한 병징은 상품성을 저하시켰다.

병원성 검정. 병원성 검정에 의한 병징은 괴경표면에 코르크층이 형성되었으며, 코르크층이 융기된 것과 파인 함몰형이 분포하여 분리괴경에 나타난 증상과 동일하였다(Fig. 1-B). 또한 병반 주위는 갈변되는 것을 관찰하였다.

병원균의 형태적·배양적 특성. 광학현미경 250배로 조사한 포자사슬의 형태는 직파상형으로 길게 뻗고 끝이 약간 휘어 있었으며(Fig. 1-C) 포자덩이의 색은 흰색(Fig. 1-D), 배지 이면의 영양균사의 색은 갈색이었다.

병원균의 생리적 특성. 멜라닌 색소는 tyrosine 한천 배지(ISP7)에서 생산하였으나 peptone 한천배지(ISP6)에서는 생산하지 않았다. 최저 생육가능 산도는 4.0이었으며 ISP에 기록된 탄소원 중 raffinose를 제외한 8개의 탄소원을 모두 이용하였다. 또한 thallium acetate(10 µg/ml, 100 µg/ml), phenol(0.1%, wt/vol), streptomycin(20 µg/ml) 등에서 감수성을 보였으나 7% NaCl, crystal violet(0.5 µg/ml), penicillin(10 IU/ml)과 oleandomycin(25 µg/ml, 100 µg/ml)에는 내성을 나타내었다(Table 1).

고 찰

최근들어 제주도 및 국내 보급종 생산지대에서는 더덩이병 발생이 급속히 증가하여 문제가 되고 있다. 이러한 지역 중에서는 알카리성 토양에서 많이 발생하는 것으로 알려진 감자 더덩이병을 방제하기 위하여 유향이나 산성 비료를 사용해 감자를 재배하는 경우가 많다. 그 영향으로 토양은 점차 산성화되어 최근 국내 주요 감자 재배지의 토양산도는 5.6~6.5로 조사되었다(8, 17). 특히 제주

Table 1. Characteristics of pathogenic *Streptomyces acidiscabies* CJ71 isolated from potato

Characteristics	CJ71	<i>S. acidiscabies</i> ^a	<i>S. scabies</i> ^a
Spore chain morphology ^b	F	F	S
Spore mass color ^c	W	W	Gy
Substrate mycelium ^c	Br	Br	Br
Melanin on tyrosine agar	+ ^d	-	+
Pigment on peptone iron medium	-	-	+
Carbon source usage			
L-Arabinose(1%, wt/vol)	+	+	+
D-Fructose(1%, wt/vol)	+	+	+
D-Glucose(1%, wt/vol)	+	+	+
D-Mannitol(1%, wt/vol)	+	+	+
Raffinose(1%, wt/vol)	-	-	+
Rhamnose(1%, wt/vol)	+	+	+
Sucrose(1%, wt/vol)	+	+	+
D-Xylose(1%, wt/vol)	+	+	+
meso-Inositol(1%, wt/vol)	+	+	+
Minimum pH for growth	4.0	4.0	5.0
Sodium chloride(7%, wt/vol)	+	-	-
Thallium acetate(100 µg/ml)	-	-	-
Thallium acetate(10 µg/ml)	-	+	-
Crystal violet(0.5 µg/ml)	+	+	-
Phenol(0.1%, wt/vol)	-	+	-
Penicillin G(10 IU/ml)	+	+	-
Oleandomycin(100 µg/ml)	+	-	-
Oleandomycin(25 µg/ml)	+	+	-

^aDetails of *S. scabies* and *S. acidiscabies* were as described in Loria *et al.* (9). ^bS, spiral; F, flexuous. ^cBr, brown; Gy, grey; W, white. ^d+, positive reaction; -, negative reaction.

도의 경우에는 토양산도 4.5~5.5가 대부분이며 4.5 미만의 경우도 상당히 많았다(5). 최근 Bukhalid(2)는 우점균인 *S. scabies*가 낮은 산도조건에 내성을 나타내는 균으로 쉽게 변형될 수 있음을 시사하였다. 본 실험실에서 분리한 *S. acidiscabies* 균주역시 낮은 산도조건에서 자랄 수 있는 것이 확인되어, 변형이 일어남을 알 수 있었다. 본 연구에서 분리한 병원균 CJ71의 경우 멜라닌 색소생성 및 항생제 내성 등에서 전형적인 *S. acidiscabies*와 약간의 차이를 나타내었다. 그러나 병원세균의 종동정 실험중 가장 중요하다고 생각되는 포자모양과 포자색, 그리고 최소성장산도에서 각각 파상형의 포자색과 흰색의 포자덩이색, 그리고 생육최저 산도가 4.0으로 *S. acidiscabies*와 일치하였다. 즉 더덩이병원균을 동정하는데 있어서, 포자색, 균사색, 포자모양, 그리고 최소성장산도가 가장 중요한 동정실험으로 생각할 수 있다.

요 약

이병된 감자로부터 분리한 더덩이병원균의 병원성 검정 및 형태적, 배양적 특징을 조사한 결과 *Streptomyces*

*acidiscabies*로 동정되었다. 균주는 파상형 포자쇄와 흰색의 포자덩이를 형성하였으며, tyrosine 한천배지에서는 멜라닌 색소를 생산하나 peptone 한천배지에서는 생산하지 않았다. 최저생육 pH는 4.0이었으며 raffinose를 제외한 L-arabinose, D-fructose, D-glucose, D-mannitol, rhamnose, sucrose, D-xylose, meso-inositol 등의 당을 모두 이용하였다. 또한 thallium acetate(10 µg/ml, 100 mg/ml), phenol(0.1%, wt/vol), streptomycin(20 µg/ml) 등의 항생물질에 감수성을 보였으며 7% NaCl, crystal violet(0.5 µg/ml), penicillin(10 IU/ml), oleanomycin(25 µg/ml, 100 µg/ml)에 내성을 나타내었다.

감사의 말씀

이 연구는 1997년 농림기술개발사업의 연구비로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Bonde, M. R. and McIntyre, G. A. 1968. Isolation and biology of a *Streptomyces* sp. causing potato scab in soils below pH 5.0. *Am. Potato J.* 45: 273-278.
2. Bukhalid, R. A., Chung, S. Y. and Loria, R. 1998. nec1, a gene conferring a necrogenic phenotype, is conserved in plant-pathogenic *Streptomyces* spp. and linked to a transposase pseudogene. *Mol. Plant-Microbe Interaction.* 11: 960-967.
3. 차광홍, 김영옥, 조백호. 1993. 감자 더듬이병의 생애 및 방제에 관한 연구. 전남도원 시험연구보고서. 453-457 pp.
4. Hughes, C., McCrum, R. C. and Manzer, F. E. 1971. Protein and Esterase electrophoretic patterns of *Streptomyces* spp. isolated from Maine potatoes. *Am. Potato J.* 48: 206-213.
5. 허태현, 이신찬, 황재중, 강호준, 양상호. 1996. 발토양 정밀 검정. 제주도농업시험연구보고서. 452-458 pp.
6. 김점순, 최용철, 함영일. 1997. 감자 더듬이병의 발생생태에 관한 연구. 고려지농업시험장 시험연구보고서. 245-254 pp.
7. 김점순, 박덕환, 임춘근, 최용철, 함영일, 조원대. 1998. *Streptomyces turgidiscabies*에 의한 감자 더듬이병. 한국식물병리학회지 14: 551-554.
8. 김종균, 이한생, 이영한, 손일수. 1997. 경남지역 발토양 정밀 검정. 경상남도농촌진흥원 시험연구보고서. 275-277 pp.
9. 김주희, 이왕휴. 1996. 국내 감자 연작지대에서 분리한 더듬이병원균의 특성. 한국식물병리학회지 12(1): 109-115.
10. Lambert, D. H. and Loria R. 1989. *Streptomyces acidiscabies* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 39: 393-396.
11. 임명순, 김승열, 류연하, 최영하. 1989. 감자 더듬이병 생애 및 방제에 관한 연구. 원예시험장시험연구보고서. 319-335 pp.
12. Loria, R., Bukhalid, R. A., Fry, B. A. and King, R. R. 1997. Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. *Plant Disease* 81: 836-846.
13. Loria, R. and Kempter, B. A. 1986. Relative resistance of potato tubers produced from stem cuttings and seed-piece-propagated plants to *Streptomyces scabies*. *Plant Disease* 70: 1146-1148.
14. Manzer, F. E., McIntyre, G. A. and Merriam, D. C. 1977. A new potato scab problem in Maine. *Life Sci. Agric. Exp. Stn. Bull.* 85: 1-24.
15. Schaad, N. W. 1988. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. APS Press. St. Paul, Minnesota. 114-119 pp.
16. Shirling, E. B. and Gottlieb, D. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 16: 313-340.
17. 윤봉기, 김희권, 박인진, 김상철, 박상우. 1997. 발토양 세부정밀 토양검정. 전라남도농촌진흥원 시험연구보고서. 385-395 pp.

(Received December 2, 1998)