

*Pseudomonas syringae*에 의한 사과나무 가지마름병의 발생

서상태 · 원선영 · 박덕환 · 김영숙 · 허장현 · 임춘근*
강원대학교 자원생물환경학부

Bacterial Shoot Blight of Apple Caused by *Pseudomonas syringae*

Sang Tae Seo, Sun Young Won, Duck Hwan Park, Young Sook Kim,
Jang Hyun Hur and Chun Keun Lim*

Division of Biological Environment, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

Bacterial blight occurred on the flowers, leaves, twigs and branches of apple trees (*Malus domestica* Borkh) in Chunchon, Kangwon-Do. Infected flowers and leaves turned brownish black, and they were fallen down or remained hanging in the trees. Under humid conditions during postblossom period, the casual bacterium spreaded along twigs and killed them. However, killing of branches was very rare. The symptoms on apple trees were very similar to symptoms of fire blight. But the causal organism isolated from the lesions was identified as *Pseudomonas syringae* based on physiological and chemical characteristics. This is the first described bacterium that causes apple shoot blight in Korea.

Keywords : apple tree, bacterial shoot blight, *Pseudomonas syringae*.

우리 나라 주요 과수별 총 생산량을 비교해보면 사과가 전체의 29%로 1위를 차지하고 있으며, 한국은 세계 16위의 사과 생산국으로 연간 약 8,000톤의 사과를 23개국으로 수출하고 있다. 사과는 한국의 기후, 풍토에 적합하여 재배면적이 급속히 확대되고 있으며, 현재 낙엽과수 중 가장 널리 재배되고 있다(김 등, 1995).

사과나무에 병을 일으키는 세균으로는 국외의 경우 *Pseudomonas syringae*(Hopkins, 1927; Roos와 Hattingh, 1987; Smith, 1944; Whitlock 등, 1986)에 의한 열매점무늬병, 줄기 궤양병, 과실마름병 등과 *Erwinia amylovora*(Jones와 Aldwinkle, 1990; Keil과 Van der zwet, 1972; Van der zwet와 Van buskiga, 1984)에 의한 불마름병(fire blight), *Agrobacterium tumefaciens*에 의한 근두암종병과 *A. rhizogenes*에 의한 털뿌리병이 보고되었다(Jones와 Aldwinkle, 1990).

최근 2-3년간 춘천근교의 사과 재배단지에서 4-5월에 사과의 꽃, 잎, 가지가 검게 변하고 고사하며, 때때로 bacterial ooze가 동반되는 화상병과 유사한 병징이 관찰되었다. *Erwinia amylovora*에 의한 화상병은 사과 및 배에 전 세계적으로 많

은 피해를 주는 중요한 병으로 우리나라에서 검역대상의 금지병이며, 한국은 화상병 미발생지역으로 지정되어있다.

본 연구에서는 강원도 춘천근교의 사과 재배단지에서 화상병과 유사한 병징이 나타난 사과의 병든 조직으로부터 병원세균을 분리, 동정한 결과를 보고한다.

재료 및 방법

병원세균의 분리. 강원도 춘천근교의 사과 재배단지에서 세균성 병징을 나타내는 사과의 병든 조직(Fig. 1)을 채집하였다. 병든 식물체의 병반부를 멸균된 칼로 0.2~0.5cm 정도로 절단하여 70% 알코올로 살균한 다음 멸균수로 세척하였다. 표면살균된 조직절편을 멸균수가 들어있는 microtube에 넣고 마쇄한 다음 일정한 농도로 희석하여 mannitol glutamate yeast (MGY) 배지에 도말, 배양하였다. 28°C 항온기에 48시간 배양하여 나타나는 단일 균총으로부터 병원세균을 순수 분리하였다.

병원성 검증. 앞에서의 병원성 검증의 경우, 건전한 사과의 나뭇가지를 채집하여 표면 살균 한 후 멸균수가 담긴 병(bottle)에 꽂아두고, 10⁷-10⁸ cells/ml 농도의 순수 분리한 세균의 현탁액을 상처를 낸 잎에 접종하였다. 병원균을 접종한 나뭇가지는 28°C의 습실에 유지하면서 5-10일간 관찰하여 병반형

* Corresponding author
Phone, Fax) +82-361-250-6437
E-mail) chunkeun@cc.kangwon.ac.kr

Table 1. Characteristics used to identify genus of the bacterial isolates from apple trees

Tests	P1	P2	P3	P4	<i>Pseudomonas</i> ^a
Gram stain	- ^b	-	-	-	-
Anaerobic growth	-	-	-	-	-
Pigment on YDC	-	-	-	-	-
Potato soft rot	-	-	-	-	v
Fluorescent on KB	+	+	+	+	v

^aDetails of *Pseudomonas* were as described in Schaad (1988) and Hildebrand (1988)

^bSymbols; +: positive reaction, -: negative reaction, v: variable

Table 2. Species identification of the bacterial isolates from apple trees

Tests	P1	P2	P3	P4	<i>P. syringae</i> ^a
Levan	w ^b	w	+	w	v
Oxidase	-	w	-	+	-
Arginine dihydrolase	-	-	-	-	-
Nitrate to N ₂	-	-	-	-	-
Growth at 41°C	-	-	-	-	-
Potato rot	-	-	-	-	-
Used for growth					
Mannitol	+	-	-	-	v
Geraniol	-	w	-	-	-
Benzoate	-	+	+	+	-
Cellobiose	-	w	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	v
Trehalose	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	v
m-Tartrate	-	w	w	w	v
D-Tartrate	-	w	w	w	v
D-Arabinose	-	-	-	-	-
L-Rhamnose	w	-	-	-	-
D-Aspartate	-	-	-	-	-

^aDetails of *Pseudomonas syringae* were as described in Schaad (1988) and Hildebrand (1988)

^bSymbols; +: positive reaction, -: negative reaction, v: variable, w: weak reaction

성 유무를 조사하였다. 대조구로는 멸균수를 사용하였으며, 접종한 식물체와 동일한 조건에 유지하면서 접종한 식물체의 병징과 비교하였다. 열매에서의 병원성 검정의 경우는 건전한 배나무의 어린 열매에 10⁷-10⁸ cells/ml 농도의 순수 분리한 균을 상처 접종한 후 28°C 항온기에 두면서 3-4일간 병징형성 유무를 관찰하였다.

세균학적 특성. 병든 조직으로부터 분리한 세균중 병원성이 확인된 세균(분리군주 P1, P2, P3, P4)의 세균학적 특성은 Schaad(1988), Hildebrand(1988) 등이 보고한 방법에 준하여 조사하였다. 속분류를 위해 그람염색, 혐기적 생장, yeast dextrose calcium carbonate(YDC)배지에서의 노란색 색소 생성유무, 감자에서의 무름증상 형성유무, King's B(KB)배지에서의 형광발현 유무를 조사하였으며, 종분류를 위한 생화학적 특성 조사는 levan 생성유무, oxidase 및 arginine dehydrolase 생성유무, Nitrate로부터 질소가스 생성유무, 41°C에서의 생장, 감

자 썩힘, 12종류의 탄수화물 및 아미노산 이용도를 조사하였다. 세균의 형태는 2% phosphotungstic acid(PTA, pH 7.0)로 염색하여 전자현미경(Zeiss E. M. 109, Germany)으로 관찰하였다.

결 과

분리세균의 병원성. 상처접종한 사과나무 가지의 앞에는 5일내에 암갈색의 수침상이 형성되었고 차츰 검게 변하며 시간이 지남에 따라 병징부위가 확대되었다(Fig. 2). 분리세균의 현탁액을 상처접종한 배의 어린열매에서는 3-4일 내에 암갈색의 수침상이 형성되었고 차츰 검게 변하였으며, bacterial ooze가 관찰되었다(Fig. 2). 이러한 병징은 포장에서의 증상과 유사하였다.

병원세균의 동정. 배의 어린 열매와 사과의 앞에서 병원성



Fig. 1. The blight symptoms on apple leaves(A) and blossoms(B) in the apple orchard.

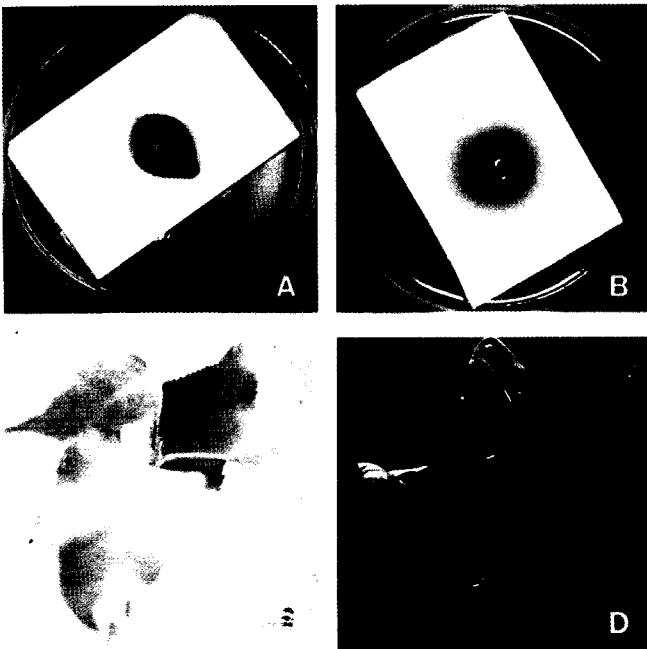


Fig. 2. The symptoms produced on immature pear fruits and apple leaves by *P. syringae* isolates from apple trees. Immature pear fruits (A) and apple leaves (C) without inoculation and Immature pear fruits (B) and apple leaves (D) inoculated with the present isolates. Bacterial ooze was appeared on immature pear fruits at 3 days after inoculation (B) and Brownish black symptoms was shown on apple leaves at 5 days after inoculation (D).

이 확인된 4개 병원세균은 극성편모를 가진 간균(Fig. 3)으로 나타났으며, 그람염색반응, 혐기적 성장, YDC배지에서의 노란색 색소 생성, 감자에서의 무름증상 형성실험에서는 음성반응을 나타내었다. 한편, King's B(KB)배지에서는 형광을 나타내어 분리된 4균주가 모두 *Pseudomonas*속 세균의 특성과 일치하였다(Table 1). 분리세균의 종을 구별하기 위하여 생화학적 특성을 비교한 결과(Table 2), P1은 L-rhamnose의 이용도에서, P2는 oxidase 생성과 geraniol, benzoate, cellobiose의 이용도에서, P3은 benzoate의 이용도에서, P4는 oxidase 생성과 benzoate의 이용도에서 Schaad(1988)와 Hildebrand(1988)가

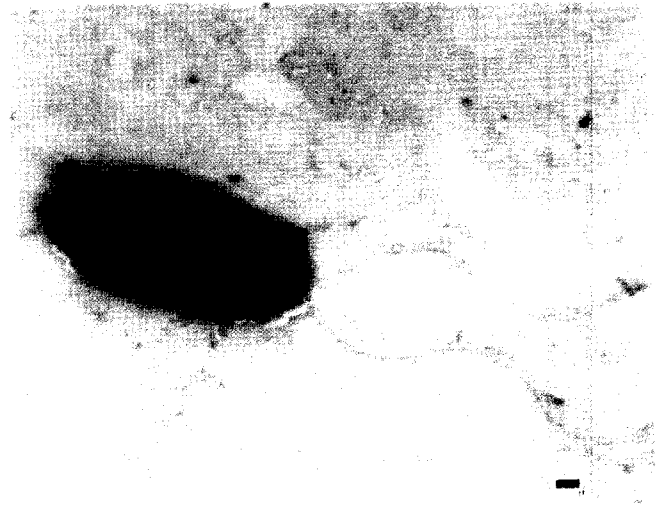


Fig. 3. Electron microscopic morphology of *P. syringae* isolated from apple trees. Bar represents 0.1 μ m.

보고한 *P. syringae*와 약간의 차이를 나타내었지만, 얻어진 결과를 종합하여 볼 때 분리된 4개의균 모두 *P. syringae*로 동정 할 수 있었다.

고 찰

춘천근교 사과 재배단지를 조사하던 중 화상병과 매우 유사한 병징이 관찰 되었는데, 병든조직으로부터 분리한 세균을 동정한 결과, Schaad(1988), Hildebrand(1988)가 기록한 형광색소를 생성하는 전형적인 *P. syringae* 그룹의 특성과 대부분 일치하였다. 또한, 전자현미경 관찰 결과 극성편모를 가지는 간균으로 주생모를 지니는 화상병원균과는 구별되었다.

인공접종에 의한 병원성 확인실험에서 배의 어린 열매에서도 병원선이 확인된 점은 *P. syringae*에 의한 마름병이 배나무에서도 발생 할 수 있음을 시사하고 있다.

외국의 경우, *P. syringae*에 의한 사과나무병을 병징에 따라 열매점무늬병, 줄기케양병, 과실마름병등으로 명명하였다. 그러나 국내에서 관찰된 병징의 경우 꽃, 잎, 가지에 병징이 나타났으며, 마름증상을 나타내는 공통점이 있었다. 따라서, 국내에서 관찰된 *P. syringae*에 의한 사과나무병을 "사과나무 가지마름병"이라 명명하기를 제안한다.

요 약

춘천근교의 사과 재배단지에서 4~5월에 사과의 꽃, 잎, 가지가 차츰 검게 변하고 고사하는 화상병과 유사한 병징이 관찰되었다. 이 병징으로부터 분리된 세균은 배 어린 열매와 사

과 앞에서의 병원성을 확인한 결과 포장에서의 병징과 유사한 병징을 유도하였다. 분리균주 P1, P2, P3, P4는 여러 가지 형태적, 생리적, 생화학적 특성의 비교를 통해 *P. syringae*로 동정되었다. 지금까지 국내에서 *P. syringae*에 의한 사과의 병이 보고된 바 없는데, 본 병을 *P. syringae*에 의한 “사과나무 가지마름병”이라 명명하기를 제안한다.

참고문헌

- Fahy, P. C. and Persley, G. J. 1983. *Plant Bacterial Disease*. Academic Press. pp 39-41.
- Hildebrand, D. C., Schroth, M. N. and Sands, D. C. 1988. *Pseudomonas*. In: *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. ed. by N. W. Schaad, pp. 60-80, APS Press, St. Paul, MN, USA.
- Hopkins, C. J. 1927. An apple disease occurring in the Elgin district. *Union S. Afr. Dep. Agric. Dci. Bull.* 61:17.
- Jones, A. L. and Aldwinkle, H. S. 1990. *Compendium of Apple and Pear Diseases*. pp 61-68. APS Press, St. Paul, MN, USA.
- Keil, H. L., and Van der zwet, T. 1972. Recovery of *Erwinia amylovora* from symptomless stems and shoots of Jonathan Apple and Bartlett pear. *Phytopathology* 62:39-42.
- Roos, I. M. M. and Hattingh, M. J. 1987. Pathogenicity and numerical analysis of phenotypic features of *Pseudomonas syringae* isolated from deciduous fruit trees. *Phytopathology* 77:900-908.
- Schaad, N. W. 1988. *Initial Identification of Common Genera*. APS Press, St. Paul, MN, USA.
- Smith, M. A. 1944. Blister spot, a bacterial disease of apple. *J. Agric. Res.* 68:269-298.
- Van der zwet, T. and Van buskirk, P. D. 1984. Detection of endophytic and epiphytic *Erwinia amylovora* in various pear and apples tissues. *Acta Hort.* 151:69-77.
- Whitlock, V. H., Hill, R. R., and Cowley, H. M. 1986. New bacterial pathogen causing blight of cassava in southern Africa. *Plant Dis.* 70:167-169.
- 김정호, 김종천, 고광출외 공저 1995. 과수원에명론. pp123-125