

Erwinia carotovora subsp. *atroseptica*에 의한 감자 흑각병

박덕환 · 김준섭 · 이흥구 · 함영일¹ · 임춘근*
강원대학교 자원생물환경학부, ¹고령지농업시험장 감자과

Black Leg of Potato Plants by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*

Duck Hwan Park, Jun Sub Kim, Heung Goo Lee, Young Il Hahm¹ and
Chun Keun Lim*

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

¹Potato Division, Alpine Agricultural Experiment Station,

Rural Development Administration, Pyungchang 232-950, Korea

Black leg occurred in potato (*Solanum tuberosum* L.) grown in Pyungchang, Kangwon-Do, Korea. The symptoms began as small water-soaked lesions on stem, and the affected stems discolored black to brown. It became yellow under dry condition. When lower parts of potato were affected in the field, wilting of leaves and desiccation of the stem were developed. The causal organism was isolated from lesions and identified as *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* based on the morphological, physiological and biochemical characteristics. *E. carotovora* subsp. *atroseptica* is the first described bacterium which causes black leg in potato in Korea.

Keywords : black leg, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, potato.

감자 흑각병은 25°C 이하의 비교적 저온에서 감자(*Solanum tuberosum* L.)의 지상부 및 괴경에 썩음증상을 나타내는 병이다(Perombelon 등, 1987). 병원세균은 *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*로서 *Erwinia*의 *carotovora* group에 속한다. *E. carotovora* subsp. *atroseptica*는 *carotovora* group내의 subsp. *betavasculorum*, subsp. *wasabiae*, subsp. *carotovora* 등의 다른 아종과는 유사한 특성을 가지고 있으나, 병징 및 생리학적 특징에 의해 구별된다(Darrasse 등, 1994; Fahy 등, 1983; Goto 등, 1987; Perombelon과 Kelman, 1987; Thomson 등, 1981).

본 연구에서는 강원도 일대의 감자 재배단지에서 관찰된 병든 식물체로부터 병원세균을 분리·동정한 결과 지금까지 보고되지 않은 *E. carotovora* subsp. *atroseptica*로 동정되어 이를 보고한다.

병징. 강원도 감자 재배지에서 관찰된 병든 식물체에서 초기병징으로 지상부의 수침상과 진전된 병징으로는 줄기조직이 썩고 겹겹이 변한 부위를 관찰할 수 있었다(Fig. 1A). 이로

인하여 감자의 지상부 줄기가 쓰러져 고사하였다. 또한 건조한 시기에는 병징부위의 색깔이 검게 진전되지 못하고 갈색 및 노란색을 띄었으며, 병반이 크게 확대되지 않았다.

병원세균의 분리 및 병원성 검정. 강원도의 감자 재배지에서 채집된 병든 식물체의 괴경 및 지상부의 진전부와 병반부의 경계부위를 0.2-0.4×0.2-0.5cm로 절단하여 70% 알콜용액으로 표면살균한 후 마쇄하여 희석평판법으로 mannitol-glutamate yeast extract(MGY: mannitol 10g; L-glutamic acid 2g; KH₂PO₄ 0.5g; NaCl 0.2g; MgSO₄ · 7H₂O 0.2g; yeast extract 0.25g; agar 15g per liter)배지에 도말, 배양하였다. 28°C 배양기에서 배양 2-3일후 얻어진 단일 균총으로부터 세균을 순수 분리하였다. 병원성 검정을 위해서 배양된 분리세균을 10⁸ cells/ml로 현탁하여 온실내에서 재배된 감자의 줄기에 침접증한 결과, 접종부위에서는 약 2-3일 후에 조직이 검은색으로 썩어 자연발생의 병징과 동일한 병징을 나타내었다(Fig. 1B).

세균학적 특성 및 병원세균의 동정. 병원성이 확인된 균주를 동정하기 위하여 분리균주(Po-Eca1)의 특성을 Schaad의 지침서(Schaad, 1988)와 Bergey's manual(Lelliott와 Dickey, 1984)에 준하여 조사하였다. 병원세균은 gram 음성으로 회백색의 균총을 형성하였으며, yeast extract dextrose calcium carbon-

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

Table 1. Characteristics used to identify genus of isolate Po-Eca1 from potato plants

Characteristics	Po-Eca1	<i>Erwinia</i> ^a
Gram stain	- ^b	-
Anaerobic growth	+	+
Yellow pigment on YDC ^c	-	-
Oxidase	-	-
Potato rot	+	+
Peritrichous flagella	+	+

^aDetails of *Erwinia* were as described in Lelliot and Dickey (1984), and Schaad (1998).

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

^cYDC: Yeast extract dextrose calcium carbonate agar



Fig. 1. Black leg symptoms on stems of potato plants. The symptoms on stem of potato plant in field (A) and produced by *E. carotovora* subsp. *atroseptica* Po-Eca1 in greenhouse (B).

ate(YDC) 배지상에서 색소를 형성하지 않았고, glucose를 혐기적으로 분해하였다. Oxidase에서는 음성반응을 나타내었고, 감자를 부패시켜 이 균을 *Erwinia*속으로 동정하였다(Table 1). 또한 병원세균의 형태를 조사하기 위하여 2% phosphotungstic acid(PTA, pH 7.0)로 염색하여 전자현미경으로 관찰한 결과

Table 2. Species identification of isolate, Po-Eca1, from potato plants

Tests	Po-Eca1	<i>E.</i>	<i>E.</i>
		<i>carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i> ^a	<i>carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>
Pectate degradation	+ ^b	+	+
Gelatin liquefaction	+	+	+
Acetoin production	+	+	+
Sensitivity to erythromycin	-	-	-
Phosphatase	-	-	-
Gas from glucose	-	-	-
Lecithinase	-	-	-
Indole	-	-	-
Reducing substances from sucrose	+	v	-
Growth at 36-37°C	-	-	+
Urease	-	-	-
Casein hydrolysis	+	+	v
Growth 5% NaCl	+	+	+
Acid production from			
D-lactose	+	+	+
trehalose	-	+	+
maltose	-	v	-
methyl α-d glucoside	+	+	-
melibiose	+	+	+
cellobiose	+	+	+
palatinose	+	+	-
Utilization of			
malonate	-	-	-
galacturonate	+	+	+

^aDetails of *E. carotovora* subsp. *atroseptica* were as described in Schaad(1988).

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

주생모을 가진 간균 형태로 *Erwinia*속 세균의 형태적 특성과 일치하였다(Fig. 2).

Po-Eca1의 종을 동정하기 위하여 실시한 pectate 분해, gelatin 액화, acetoin 생성, sucrose로부터 환원물질 생성, casein 분해, 그리고 5% NaCl에서 성장에 대한 조사에서는 양성반응을 나타내었다. 반면 erythromycin에 대한 감수성, glucose로부터 가스 생성, lecithinase 생성, indole 생성, 36-37°C에서 성장, urease 생성에서는 음성반응을 나타내었다. 당으로부터의 산 생성의 조사에서는 D-lactose, methyl α-d glucoside, melibiose, cellobiose 그리고 palatinose의 당으로 산을 생성하는 것으로 나타났으며, trehalose, maltose는 이용하지 못하는 것으로 나타났다. 유기화합물 이용도 실험에서는 malonate는 이용하지 못하였으나 galacturonate는 이용하는 것으로 나타났다(Table 2). 이러한 병원세균의 특징은 Schaad(Schaad, 1988)와 Bergey'

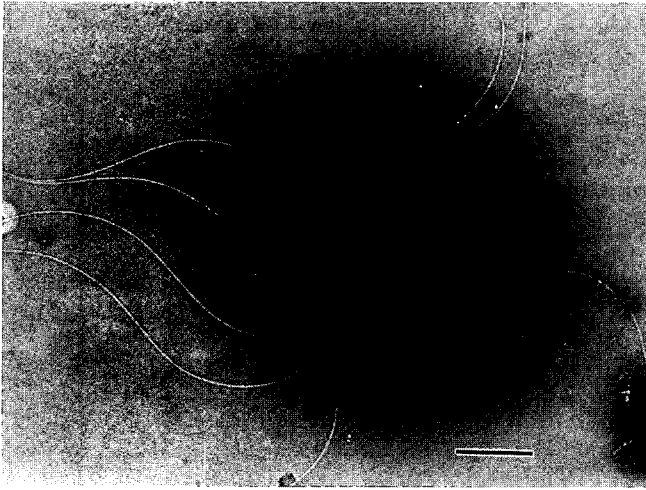


Fig. 2. Electron microscopic morphology of *E. carotovora* subsp. *atroseptica* Po-Ecal isolated from potato plants. Bar represents 1 μ m.

s manual(Lelliott와 Dickey, 1984)에 기록된 *E. carotovora* subsp. *atroseptica*와 대부분 일치하므로 병든 식물체에서 분리한 병원 세균 Po-Ecal을 *E. carotovora* subsp. *atroseptica*로 동정하였다.

요 약

강원도 평창일대에서 재배되는 감자 줄기에서 흑각병이 관찰되었다. 병징은 지상부 조직에서 처음 관찰되었으며, 줄기 조직에서 수침상이 생긴 후 병반이 진전되어 결국 썩어 고사하였다. 병든 줄기조직은 검은색으로 변색되었으며, 건조한 시

기에는 갈색 및 노란색을 나타내는 경우도 있었다. 병반으로부터 분리한 병원세균은 생리, 생화학적 특성 결과에 따라 *E. carotovora* subsp. *atroseptica*로 동정되었다. *E. carotovora* subsp. *atroseptica*에 의한 흑각병은 국내 미기록 병이며, 감자 흑각병(Black leg of potato)이라고 부를 것을 제안한다.

참고문헌

- Darrasse, A., Kotoujansky, A. and Bertheau, Y. 1994. Isolation by genomic subtraction of DNA probes specific for *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:298-306
- Fahy, P. C. and Persley, G. J. 1983. *Plant Bacterial Diseases: A Diagnostic Guide*. Academic Press, Australia. pp. 87-101.
- Goto, M. and Matsumoto, K. 1987. *Erwinia carotovora* subsp. *wasabi* subsp. nov. isolated from diseased rhizomes and fibrous roots of Japanese horseradish (*Eutrema wasabi* Maxim.). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 37:130-135
- Lelliott, R. A. and Dickey, R. S. 1984. Genus *Erwinia*. In: *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, Vol. 1, pp. 469-476. Williams and Wilkins Co., Baltimore/London.
- Perombelon, M. C. M. and Kelman, A. 1987. Blackleg and other potato diseases caused by soft rot erwinias : proposal for revision of terminology. *Plant Dis.* 71: 283-285
- Schaad, N. W. 1988. Initial identification of common genera. In: *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, ed. by N. W. Schaad. pp. 44-59. American Phytopathological Society, MN, USA.
- Thomson, S. V., Hildebrand, D. C. and Schroth, M. N. 1981. Identification and nutritional differentiation of the erwinia sugar beet pathogen from members of *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. *Phytopathology* 71:1037-1042