

Pseudomonas fluorescens biovar II 에 의한 고추의 무름병

이영근* · 서혁수
안동대학교 생명자원과학부

Soft Rot of Red-pepper Fruit Caused by *Pseudomonas fluorescens* Biovar II

Young Keun Yi* and Hyeok Soo Seo

School of Bioresource Science, Andong National University, Andong 760-749, Korea

Soft-rot was occurred in red-pepper fruits cultivated at the northern Kyeongbuk in Korea. The symptom was characterized as the diseased fruit with soft-rotted sarcocarp and decolorized pericarps. Inoculation with the bacterium isolated from the diseased fruit caused the same symptom on the fruits as found in the field and hypersensitive lesions on the leaves of the red-pepper plants in the pot. This bacterium was pathogenic to twenty different cultivars of red-pepper plants and to eight kinds of vegetables except garlic. The bacterium was identified as *Pseudomonas fluorescens* biovar II (*P. marginalis*) based on the morphological and physiological characteristics.

Key words : bacterial soft rot, *Pseudomonas fluorescens* biovar II, *Pseudomonas marginalis*, red-pepper plant.

서 론

우리나라에서 고추에 발생하는 병은 모두 28종이 기록되어 있으며(한국식물병리학회, 1998), 이 가운데 세균에 의해 발생하는 병은 무름병을 포함하여 5종이다. 고추 무름병은 주로 담배나방 등 곤충이 가해한 과일에서 발생되며, 그 병원세균으로는 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*)만 알려져 있다. 1999년 여름에 안동지방에서 채집한 고추열매의 무름병반으로부터 *Pseudomonas fluorescens* biovar II를 분리하였고, 그 병원성을 확인하였기에 보고한다.

재료 및 방법

병원세균 분리 및 병원성 검정. 1999년 여름 경상북도 안동의 고추밭에서 무름증상을 나타내는 열매를 채집하였다. 병든 과육으로부터 King B 한천평판배지 (proteose peptone 20 g, K₂HPO₄ 1.5 g, MgSO₄ · 7H₂O 1.5 g, bacto agar 15 g, glycerin

15 ml)를 사용하여 세균을 분리하였다. 분리된 세균은 nutrient 한천배지 (beef extract 3 g, bacto peptone 5 g, bacto agar 15 g)에서 27°C에 1일간 배양하여, 병원성검정 및 동정에 사용하였다.

세균현탁액 (10⁹ cfu/ml)을 모세관 (직경 1.1~1.2 mm)에 넣어 포트에 심겨진 고추의 열매와 잎에 상처점종하였다. 고추 줄기에는 메스로 깊이 1 mm의 상처를 주고, 같은 세균현탁액으로 적신 탈지면을 덮은 후 parafilm으로 감아주었다. 또한 고추뿌리를 칼로 자른 후, 포기당 같은 세균현탁액 30 ml를 뿌리 주변 토양에 관주하였다. 처리별 3포기 씩 점종하고, 온실에 보관하면서 일주일간 병징 발현 양상을 관찰하였다.

병원세균 동정. 병원세균의 형태 및 주요 생리적 특성을 Bergey's manual (Palleroni, 1984) · 土屋 등 (1979) · Misaghi와 Grogan (1969)이 기록한 *Pseudomonas fluorescens* biovar II (*P. marginalis*)의 특성 및 강원대학교 임춘근 교수로부터 분양 받은 *P. marginalis* PM97-1의 특성과 비교하였다. 세균의 형태는 2% uranyl acetate로 염색하여 전자현미경으로 관찰하였으며, 주요 생리적 특성은 Schaad (1988), Bensen (1990), Skelman (1967)의 방법에 따라 조사하였다. 또한 MicroLog system (Biolog, 4.0) 및 MIDI Sherlog system (HP5890)을 이용하여 세균의 영양 이용성 및 세포벽 지방산 조성을 조사하였다.

기주범위 조사. 감자 · 당근 · 양파 · 가지 · 마늘 · 무우 · 양

* Corresponding author
Phone) +82-54-850-5506, Fax) +82-54-841-1628
E-mail) youngkyi@andong.ac.kr

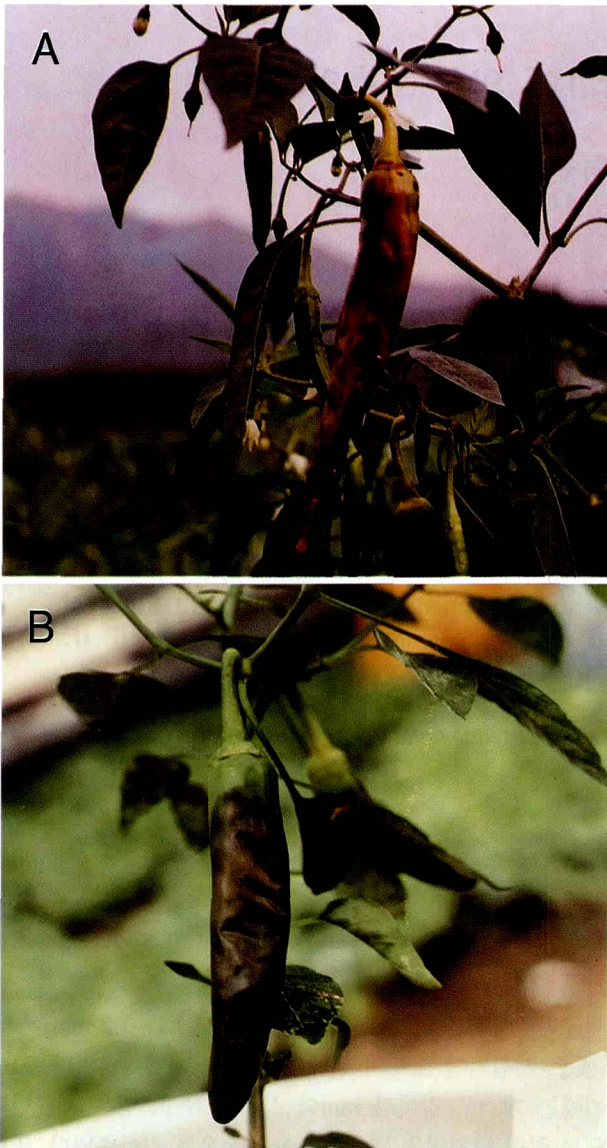


Fig. 1. Soft rot symptoms produced on red-pepper fruits in the field (A) and by inoculation of the present isolate (B).

배추·오이·배추의 괴경이나 뿌리 또는 잎에 병원세균을 접종하고 습실처리된 샐러에 넣어 27°C에 보관하였다. 공시식물별 3개체씩 위 모세관 접종법에 의해 접종하였으며, 4일간 발병 여부를 관찰하였다.

발병상황 조사. 경상북도 안동·청송·영양지역의 고추밭에서 무름병 발생 과일을 조사하였다. 지역별 3포장·포장별 600주씩 임의로 선정하여 발병주율을 조사하였다. 지역별로 무름병든 고추열매를 10개씩 채집하여 병원세균을 분리하였다. 병원세균은 CVP한천평판배지 (0.075 % crystal violet sol. 1 ml, 1N-NaOH 4.5 ml, 10% CaCl₂·2H₂O 6 ml, bacto agar 4 g, NaNO₃ 1 g, trisodium citrate dihydrate 2.5 g, sodium polypectate

9g, 10% sodium lauryl sulfate 0.5 ml)상에서 옴폭한 콜로니를 형성하는 균주와 King B한천평판배지상에서 형광색소를 생성하는 균주로 나누어 분리하였다. 분리된 세균은 고추열매에 모세관으로 접종하여 병원성을 확인하였다.

결과 및 고찰

병원세균의 분리. 고추 열매의 무름병반으로부터 분리된 세균을 고추열매에 접종한 결과, 하루 후에 열매조직이 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*)에 의한 무름병반과 유사하게 물러지면서 과피가 적갈색으로 변색되기 시작하였다. 이 병반은 일주일 이내에 과피 전체로 확대되었다. 그러나 병든 조직으로부터 채소썩는 냄새는 나지 않았다 (Fig. 1). 병원세균을 접종한 잎에서는 접종 하루 후에 접종한 부위의 주변이 하얗게 마르고, 그후 병반이 더 이상 커지지 않았다. 줄기와 뿌리에 접종한 고추에서는 어떤 병징도 관찰할 수 없었다. 따라서 이 세균은 고추의 열매에 무름증상을 나타내는 병원세균으로 판단되었으며, 고추 잎에는 초과민반응을, 고추의 줄기와 뿌리에는 병원성을 나타내지 않는 것으로 생각되었다.

병원세균의 동정. 병원세균을 전자현미경으로 검정한 결과 1~5개의 속생모를 가진 간균이었으며, 균체의 크기는 0.7~0.8 μm×2.0~2.8 μm였다 (Fig. 2). 이 세균은 그람염색 결과 음성이었으며 호기성 간균이었기 때문에, Bergey's manual (Krieg와 Holt, 1984)에 기록된 Section 4에 속하는 세균의 특성과 일치하였다 (Table 1). 이 세균의 형광색소 생성능력 및 형태 등을 Section 4에 속한 8개 과(科)의 특성과 비교한 결과, *Pseudomonadaceae*의 특성과 잘 일치하였다 (Table 2). 이 세균은

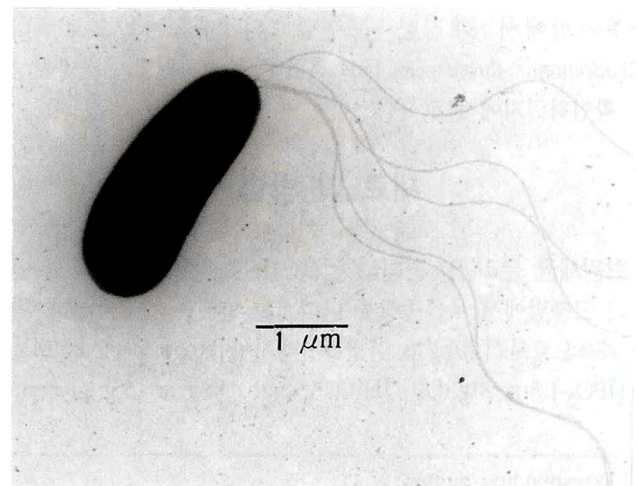


Fig. 2. Morphology of the present isolate obtained from soft rotted red-pepper fruits.

pH 3.6에서 생육하지 못하였고 Xanthomonadin을 생성하지 못하였으며, 식물에 병원성이 있었기 때문에 Pseudomonadaceae에 속하는 4개 속 세균 중에서 *Pseudomonas*속 세균의 특성과 일치하였다 (Table 3). 또한 이 세균의 형태 및 18가지 생리적 특성을 조사한 결과, Bergey's manual (Palleroni, 1984) · 土屋 등 (1979) · Misaghi와 Grogan (1969)이 기록한 *P. fluorescens* biovar II (*P. marginalis*)의 특성 및 *P. marginalis* PM97-1의 특성과 잘 일치하였다 (Table 4). 또한 이 세균은 MicroLog system으로 동정한 결과 *P. marginalis*와 67.5%의

유사도를 나타내었으며, MIDI Sherlog system으로 지방산을 분석한 결과 *P. marginalis*와 94.2%의 유사도를 나타내었다. *P. marginalis*는 1918년에 Brown에 의해 *Bacterium marginale*로 처음 보고되었으며, 그 후 1925년에 Stevens에 의해 *P. marginalis* pv. *marginalis*로 재명명되었다 (Doudoroff와 Palleroni, 1974; Misaghi와 Grogan, 1969; 西山, 1997). 그러나 1984년 이후에 발간된 Bergey's manual (Palleroni, 1984; Holt 등, 1994)에서는 이 세균을 *P. fluorescens*의 biovar II로 분류하고 있다. 따라서 이 세균은 *P. fluorescens* biovar II로 동정하였다.

기주범위. 이 세균을 *P. marginalis*의 기주식물로 알려진 가지 등 9개 식물 (한국식물병리학회, 1998)에 접종한 결과, 마늘을 제외한 8종의 식물에서 1~2일 후에 무름 증상이 나타났다 (Table 5). 마늘은 *P. marginalis*에 의해서 무름병 (최와한, 1990)과 잎집썩음병 (조 등, 1997)이 발생하는 것으로 알려져 있다. 따라서 이 세균은 마늘에 무름병이나 잎집썩음병을 일으키는 세균과는 다른 strain일 것으로 생각되었다. 또한 금담 등 20품종의 고추열매에 이 세균을 접종한 결과, 모두 과육이 부패되었다 (Table 6). 따라서 이 20개 품종은 모두 이

Table 1. Characteristics used to identify the Section of the present isolate obtained from soft rotted red-pepper fruits

Characteristics ^a	Present isolate	Section 4 ^b
Gram stain reaction	-	- ^c
Anaerobic growth	-	-
Cell morphology	rod	rod or cocci

^aTested by the methods of Bensen (1990) and Schaad (1988).

^bData from Bergey's manual of systemetic bacteriology (Palleroni, 1984).

^c- : 90% or more strains were negative.

Table 2. Characteristics used to identify the family of the present isolate obtained from soft rotted red-pepper fruits

Characteristics ^a	Present isolate	P ^b	Az	R	M	H	Ac	L	N
Cell diameter, 2.0µm or greater	-	- ^c	+	-	-	D	-	-	-
Motility	+	+	D	D	D	D	D	+	-
Flagellar arrangement									
Polar	+	+	D	D	+	+	D	D	
Lateral	-	-	D	D	-	-	D	D	
Oxidase production	+	D	D						
Catalase production	+	+				+	-	D	D
Water-soluble									
Fluorescent pigment	+	D	D	-	-	-	-	-	-

^aTested by the methods of Bensen (1990) and Schaad (1988).

^bData from Bergey's manual of systemetic bacteriology (Palleroni, 1984).

P : Pseudomonadaceae, Az : Azotobacteriaceae, R : Rhizobiaceae, M : Methylococcaceae, H : Halobacteriaceae, Ac : Acetobacteriaceae, L : Legionellaceae, N : Neisseriaceae

^c+ : 90% or more strains positive, - : 90% or more strains negative, D : different reactions in different genera of a family.

Table 3. Characteristics used to identify the genus of the present isolate obtained from soft rotted red-pepper fruits

Characteristics ^a	Present isolate	<i>Pseudomonas</i> ^b	<i>Xanthomonas</i>	<i>Frateuria</i>	<i>Zoogloea</i>
Growth at pH 3.6	-	- ^c	-	+	-
Production of Xanthomonadins	-	-	+	-	-
Plant Pathogenicity	+	D	+	-	-

^aTested by the methods of Bensen (1990) and Schaad (1988).

^bData from Bergey's manual of systemetic bacteriology (Palleroni, 1984).

^c+ : 90% or more strains positive, - : 90% or more strains negative, D : different reactions in different species of a genus.

Table 4. Characteristics used to identify the species of the present isolate obtained from soft rotted red-pepper fruits

Characteristics ^a	Present isolate	PM97-1 ^b	<i>Pseudomonas marginalis</i> ^c		
			B	T	M
Cell diameter, μm	0.7~0.8	0.7~0.8	0.7~0.8		
Cell length, μm	2.0~2.8	2.0~2.8	2.0~2.8		
Fluorescent pigment	+	+	+ ^d	+	+
No. of flagella	>1	>1	>1	>1	V
Levan formation	+	+	+	+	V
Oxidase activity	+	+	+	+	+
Arginine dihydrolase	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	+	+		+	
Gelatin liquifaction	+	+	+		
Growth at 41°C	-	+(W)	-	-	
Indole production	-	-		-	
Tartrate utilization	-	-		-	
Acid from					
Glucose	+	+	+	+	
Sucrose	+	+	+	+	
Maltose	-	-	-	-	
Lactose	-	-	-	-	
Mannitol	+	+		+	
Inositol	+	+		+	
Carbon source of growth					
Mannitol	+	+		+	
Sorbitol	+	+	+		V
Trehalose	+	+			+
Sucrose	+	+			-

^aTested by the methods of Bensen (1990) and Schaad (1988).

^bThe isolate obtained from Kangwon National University.

^cData from Bergey's manual of systematic bacteriology (Palleroni, 1984): B, Tsuchiya et al. (1979): T and Misaghi & Grogan (1969): M.

^d+ : 90% or more strains positive, - : 90% or more strains negative, V : variable reaction in species, W : weak reaction.

Table 5. Pathogenicity of the present isolate obtained from diseased red-pepper fruits to crop plants

Crop plants	Disease severity ^a
Potato(<i>Solanum tuberosum</i>)	+++ ^b
Carrot(<i>Daucus carota</i> var. <i>sativa</i>)	++
Onion(<i>Allium cepa</i>)	+
Egg plant(<i>Solanum melongena</i>)	+
Garlic(<i>Allium sativum</i>)	-
Radish(<i>Raphanus sativus</i>)	+++
Cabbage(<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	+
Cucumber(<i>Cucumis sativus</i>)	++
Chines cabbage(<i>Brassica campestris</i> subsp. <i>pekinensis</i>)	++

^aCrop plants were wound-inoculated with bacterial suspension(10⁹ cfu/ml) and kept at 28°C for 4 days.

^b+++ : severe, ++ : moderate, + : mild, - : no symptom.

병원세균에 대해 감수성인 것으로 생각되었다.

발병상황. 경상북도 북부지역의 3개 시·군에서 조사한 고추 무름병 발생주율은 지역에 따라 12~25%였다. 안동과 영

양지방에서 채집한 고추열매 중 10~30%의 무름병반에서 형광성 *Pseudomonas*가 검출되었으며, 이 균주들을 고추열매에 접종한 결과 모두 무름병이 발생되었다 (Table 7). 나머지 무름병 고추열매에서는 pectin질 분해세균이 검출되었으나, 형광성 *Pseudomonas*가 검출된 병반에서는 pectin질 분해세균이 검출되지 않았다. 따라서 대부분의 고추열매에서 발생하는 무름병은 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*)에 의해서 발생되지만, 일부 무름병은 *P. fluorescens* biovar II에 의해서 발생하는 것으로 판단되었다. 그리고 형광성 *Pseudomonas*가 검출된 고추에서도 인시목 곤충의 유충에 의한 피해로 추정되는 구멍을 볼 수 있었기 때문에, 병원세균이 이러한 상처를 통하여 고추 열매에 침입하는 것으로 생각되었다.

이상의 결과를 종합한 결과, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) 외에 *P. fluorescens* biovar II도 고추의 무름병균으로 추가할 것을 제안한다.

Table 6. Pathogenicity of the present isolate obtained from diseased red-pepper fruits to cultivars of red-pepper

Cultivar	Disease severity ^a	Cultivar	Disease severity
Kumtab	+++	Isypilsegi	++
Gonggongchil	++	Hyangchon	+++
Keumgangsang	+++	Manitta	+++
Kwangbok	+++	Yeomyeong	+++
Kangse	+++	Daemyeong	+++
Kukbo	++	Jaesang	+++
keongsang	+++	Keumsang	+++
Dongbang	+++	Taeyang	++
Dabotab	+++	Pocheongcheon	+++

^aThe fruit of red-pepper plants were inoculated with the bacterial suspension (10⁹ cfu/ml) and kept at 28°C. The length of soft rotted lesions was measured 4 days after inoculation. +++ : more than 30 mm, ++ : 15~29 mm.

Table 7. Disease occurrences of soft rot of red-pepper fruits by the fluorescent bacteria

Locality	Diseased plants (%) ^a	Diseased fruit by fluorescent bacteria (%) ^b
Andong city	11.8	30.0
Cheongsong-gun	24.7	00.0
Youngyang-gun	20.5	10.0

^aThree red-pepper fields per a city or gun and six hundred plants per a field were selected randomly for the survey.

^bTen fruits per each locality were randomly selected for the survey.

요 약

경상북도 북부지역의 고추밭에서 고추열매의 과육이 물러 썩고 과피가 변색되는 무름병이 발생하였다. 이 병든 조직으로부터 분리된 세균을 고추에 접종한 결과, 열매에서는 같은 무름병징이 재현되었으며, 잎에서는 초과민반응이 나타났다. 이 세균은 시판되고 있는 20개 고추품종과 *Pseudomonas*

*marginalis*에 대한 감수성 식물 8종(種)에 대해 병원성을 나타내었다. 그러나 마늘 종구(種球)에 대해서는 병원성이 인정되지 않았다. 이 세균의 형태 및 생리적 특성을 조사한 결과 *P. fluorescens* biovar II (*P. marginalis*)로 동정되었다.

참고문헌

- Bensen, J. B. 1990. *Microbiological application*. 5th ed. Wm. C. Brown Publishers. 367pp.
- 조원대, 김원규, 지형진, 최홍수, 이승돈, 최용철. 1997. 채소병해원색도감. 농업과학기술원. 447pp.
- 최재을, 한광섭. 1990. 백합과 채소의 세균성부패병에 관한 연구 4. *Pseudomonas*속 세균에 의한 양파 구석음병. 한국식물병리학회지 6: 358-362.
- Doudoroff, M. and Palleroni, N. J. 1974. Genus 1. *Pseudomonas*. In : *Bergey's manual of determinateve bacteriology*. 8th ed. ed. by R. E. Buchanan & N. E. Gibbons. pp. 217-243. Williams & Wilkins, Baltimore. 1246pp.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T. 1994. *Bergey's manual of determinateve bacteriology*. 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore. 787pp.
- Krieg, N. R. and Holt, J. G. 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore. 964pp.
- Misaghi, I. and Grogan, R. G. 1969. Nutritional and biochemical comparisions of plant-pathogenic and saprophytic fluorescent pseudomonads. *Phytopathology* 59: 1436-145.
- 西山幸司. 1997. 日本産植物細菌病の病名と病原細菌の學名. 日本植物防疫協會. 227pp.
- Palleroni, N. J. 1984. Family 1. Pseudomonadaceae. In : *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Vol. 1. ed. by N. R. Krieg and J. G. Holt, pp. 41-219. Williams & Wilkins, Baltimore. 964pp.
- Schaad, N. W. 1988. *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. 2nd ed. Bacteriological Committee of American Phytopathological Society, St. Paul. Minn. 164pp.
- Skelman, V. B. D. 1967. *Guide to the identification of the genera of bacteria*. Williams & Wilkins. Baltimore. 303pp.
- 土屋行夫, 大柚實一, 家村活海, 實松孝明, 自田 昭, 藤井 傳. 1979. レタスの腐敗をおこす病原細菌の同定. 農技研報C 33: 77-99(recited from reference Choi & Han, 1990).
- 한국식물병리학회. 1998. 한국식물병명목록. 436pp.