

Erwinia herbicola 의한 *Kalanchoe blossfeldiana* 세균성 무름병

최재율* · 이은정
충남대학교 농학과

Bacterial Soft Rot of *Kalanchoe blossfeldiana* by *Erwinia herbicola* in Korea

Jae Eul Choi* and Eun Jeong Lee

College of Agriculture, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

A new bacterial disease was found on leaves of *Kalanchoe blossfeldiana* plant grown under vinyl-house condition in winter of 1998 in Taejeon. The first symptoms of the disease are the appearance of the water-soaked and light brown spots. Later they become soft rot with brown color. Causal bacteria were isolated from diseased tissues and the same symptoms as the natural infection were developed on *Kalanchoe blossfeldiana* leaves by needle-prick inoculation. The causal bacterium was identified *Erwinia herbicola* by its bacteriological characteristics. This is the first reported of this bacterium to occur on *Kalanchoe blossfeldiana* plant in Korea. Therefore, we proposed to name the diseases as "bacterial soft rot of *Kalanchoe blossfeldiana*" by *E. herbicola*.

Key words : bacterial soft rot, *Kalanchoe blossfeldiana*, *Erwinia herbicola*.

칼란코에속은 125종이 보고되어 있으며, 원산지는 마다가스카르로 60종이나 기록되어 있고, 나탈과 아프리카 동쪽에 24종, 남아프리카에 5종, 소코트라섬에 3종이 있다. 우리나라에도 1종이 있다 (尹平燮, 1989). 칼란코에 불러스펠디아나 (*Kalanchoe blossfeldiana*)는 다육식물로 오래동안 개화되는 온실 다년초이다. 고성종과 왜성종으로 나누며 줄기와 잎은 여리며 잘 부러진다. 잎은 연록색으로 넓은 타원형이고 안쪽으로 바가지가 쳐 있다. 꽃은 줄기 끝에서 꽃대가 길게 나와 산형으로 퍼져서 꽃이 핀다. 5°C 이상에서 월동이 가능하고 건조에 강하기 때문에 관리가 간편하여 국내에서 널리 재배되고 있다 (尹平燮, 1989).

칼란코에의 세균병원으로는 *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* (Engelhard 등, 1986)가 보고되었으나 국내에서는 아직까지 세균병이 보고되지 않았다. 따라서 본 연구는 국내에서 재배되고 있는 칼란코에 (*Kalanchoe blossfeldiana*)에 발생하는 병원세균을 분리 동정하였기에 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

병원균의 분리. 대전의 비닐하우스에서 재배중인 칼란코에의 잎에 무름증상을 나타내는 병반을 수집하여 70% 에칠알코올과 1%의 차아염소산나트륨 용액에 표면 소독한 후 1ml의 멸균수가 들어 있는 Effendorf tube에 넣고 마쇄한 후 King's B agar (KB)배지 상에 도말하여 28°C에서 24~48시간 배양하였다. 단 콜로니를 희석 배양하여 순수 분리하였다.

병원성 검정. 병원성 검정에 사용한 기주식물은 대전의 화원에서 구입하여 사용하였다. 70% 에칠알코올로 표면 소독한 건전한 기주식물의 잎에 세균농도를 10⁸ cells/ml로 희석하여 침적증하였다. 접종된 식물들은 실온에서 습실처리하여 발병 유무를 조사하였다.

병원세균의 특성 조사. 각 식물의 병반으로부터 순수 분리하여 병원성이 확인된 병원세균의 특성은 Schaad (1988)의 방법에 따라 gram 염색, colony 색깔, NGA (beef extract 3g, peptone 5g, glucose 2.5g, agar 15g, distilled water 1 l)배지에서의 노란 색소형성, 편모수, 혐기적 증식, D-1배지에서의 증식을 조사하였다 (Table 1). *Erwinia* 속으로 동정된 균주의 특성은 Lelliott과 Dickey (1984)의 방법에 따라 pectin 분해 유

* Corresponding author
Phone) +82-42-821-5729, Fax) +82-42-821-2631
E-mil) choije@hanhat.chungnam.ac.kr

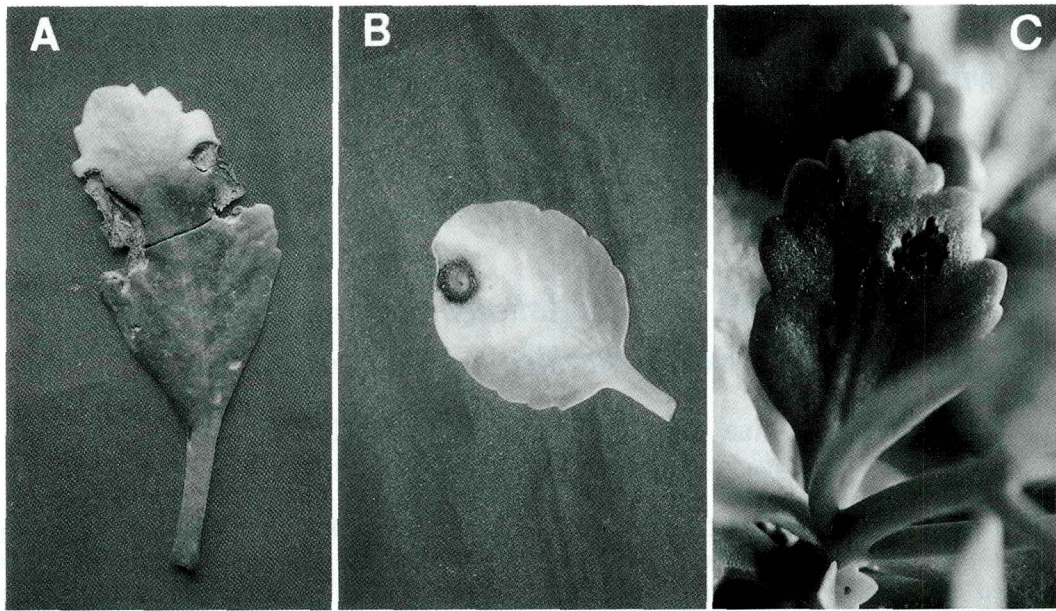


Fig. 1. Symptoms on leaves of *Kalanchoe blossfeldiana* caused by *Erwinia herbicola*.

A : Soft rot lesion on leaf of *Kalanchoe blossfeldiana* infected naturally. B and C : Symptoms by artificial inoculation with the causal bacterium.

Table 1. Genus identification of bacteria isolated from soft rotten *Kalanchoe blossfeldiana* leaves

Characteristics	Present isolates	<i>Er.</i>	<i>Ps.</i>	<i>Xa.</i>	<i>Ag.</i> ^a
Gram stain reaction	- ^b	-	-	-	-
Fluorescent pigment on KB	-	-	+	-	-
Anaerobic growth	+	+	-	-	-
Aerobic growth	+	+	+	+	+
Yellow or orange colonies on NGA	-	-	-	+	-
Growth on D-1 agar	-	-	-	-	+

^aData from Schaad (1988)

Er.: *Erwinia*, *Ps.*: *Pseudomonas*, *Ag.*: *Agrobacterium*, *Xa.*: *Xanthomonas*.

^b+: positive reaction, -: negative reaction.

무, gelatin 액화 유무, nitrate 환원반응, 감자의 부패유무, 36°C 에서 증식, acetoin 생산, H₂S from cysteine, urease 생산, indole 생산, sucrose로부터 환원물질생산 유무를 조사하였다. 또한 melibiose, D-lactose, trehalose, maltose, inositol, cellobiose, methyl α -d glucoside, salicin에서 산의 생성 유무를 조사하였다.

결과 및 고찰

병징. 자연발생한 칼란코에 잎의 초기 병징은 흑갈색의 작은 원형의 수침상 병반이 형성되었고 후에 무름증상을 보였다. 시간이 지남에 따라 조직이 얇아지고 붕괴되었으며, 심한 경우는 잎이 탈락하였다 (Fig. 1).

병원성. 자연발생한 칼란코의 병반으로부터 분리한 세균은 비수용성인 황색색소를 생산하였으며, 평평한 콜로니를 형성

하였다. 분리균을 칼란코 잎에 침적중한 결과 수침상의 원형 병반을 나타냈으며, 시간이 지남에 따라 병반이 커지면서 무름증상을 보이고, 결국에는 조직이 얇아지고 붕괴되어 잎이 탈락하기도 하였다. 오래된 잎에 접종시에는 무름증상을 나타 내지 않고 흑색의 수침상 병반만을 형성하는 것도 있었다 (Fig. 1). 이상과 같이 분리균주는 잎에 따라 병징의 차이가 있었으나 칼란코에 뚜렷한 무름증상을 형성하였다.

분리세균의 세균학적 특성. 무름증상을 나타내는 병징으로부터 분리한 병원세균은 모든 균주가 KB배지 상에서 담황색 또는 황색을 띠는 습광성 원형의 colony를 형성하고, gram 음성반응을 나타냈으며, 혐기적 증식을 하였다. 또한 세균의 형태는 막대모양이고 4개이상의 주모를 갖고 있었다. 이러한 특성을 Schaad의 방법 (1988)에 따라 구분한 결과 이들 균주 들은 *Erwinia* 속 세균으로 동정되었다 (Table 1). *Erwinia* 속

Table 2. Comparison of characteristics of soft rot pathogen of *Kalanchoe blossfeldiana* with those of *Erwinia herbicola*.

Characteristics	Present isolate	<i>E. herbicola</i> ^a
Yellow pigment	+ ^b	+
Potato soft rot	+	
Gelatin liquefaction	+	+
Indole test	-	-
Acetoin production	-	+
Pectate degradation	-	-
H ₂ S from cysteine	+	+
Urease	-	-
Reducing substance from sucrose	-	d
36°C Growth	+	+
Nitrate reduction	+	+
Acid production from :		
D-lactose	-	d
Trehalose	+	+
Maltose	+	+
Methyl α -d glucoside	-	
Melibiose	-	-
Cellobiose	-	-
Inositol	-	-
Salicin	+	d

^aData from Lelliott and Dickey (1984).

^b+: positive reaction, -: negative reaction, d; 21-79% of strains positive.

으로 동정된 균주의 종을 구분하기 위하여 Lelliott과 Dickey (1984)의 방법에 따라 특성을 조사한 결과 Table 2에서와 같이 칼란코에에서 분리된 균주는 gelatin 분해, H₂S from cysteine, nitrate 환원반응에서는 양성 반응을 보이고 36°C에서 증식하였으나, pectin 분해, indole test, sucrose로부터의 환원물질 생산, urease 생산, acetoin 생산에서는 음성반응을 보였다. trehalose, maltose, salicin에서 산을 생성하나 melibiose, inositol, D-lactose, methyl α -d glucoside, cellobiose에서는 산을 생성하지 못하였다.

병원세균의 동정. 칼란코에에서 분리된 균주를 Dickey와 Kelman (1988)이 보고한 *E. herbicola*의 세균학적 특성과 비교한 결과 acetoin 생산을 제외한 모든 특성이 *E. herbicola*와 잘 일치하므로 *E. herbicola*로 동정하였다. *E. herbicola*는 식물의 엽면 등에 서식하는 부생세균으로 강한 병해활성을 나타내고 (金 등, 1989), 발병조직에 2차 침입균으로 검출되어 식물병원세균으로 잘못 동정된 경우도 많았다. 또한, *E. herbicola*는 *E. amylovora* (Wodzinski, 1994), *Fusarium culmorum*, *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* (Kempf와 Wolf, 1989) 등의 생물학적 방제용으로도 이용되고 있다.

그럼에도 불구하고 *E. herbicola*에 의한 식물병은 시크라멘 엽부패병 (木島 등, 1981; 瀧川, 1981), 内頰 色의 변화 (吉田

와 安木, 1981), 벼 内頰褐變病 (Azekami 등, 1983; 金 등, 1989.) 등이 있으며, 최근에는 마늘 (Koch 등, 1996)에 발병하여 피해가 심하다는 보고도 있다. 또한 *Pantoea agglomeras*에 의한 pearl millet 괴저병 (Frederickson, 1997), *Pantoea citrea*에 의한 파인에플에 pink disease병 (Cha 등, 1997) 등도 보고되었다.

*E. herbicola*의 병원성 관련유전자인 IAA 합성 유전자는 plasmid pPATH에 위치하며 (Lichter, 1995), 이 플라스미드는 병원성균에만 존재한다고 하였다 (Nizan, 1997). 비병원성 들연변이균은 담배에 과민감반응을 일으키지 않으며, *hrp* 유전자는 *E. herbicola* pv. *gypsophylae*의 흑형성을 지배한다고 추정하였다 (Nizan, 1997). Manulis (1992)는 IAA를 probe로 하여 *Gypsophila paniculata*에 병원성이 있는 *E. herbicola* 균주를 부생성 균주로부터 구분이 가능하다고 하였다. 따라서 칼란코에에서 분리한 세균은 병원성이 뚜렷하고, 세균학적 특성도 *E. herbicola*와 일치하므로 병징에 따라 칼란코에 무름병으로 명명할 것을 제안한다.

Erwinia 속중에서 황색색소를 생산하는 *herbicola*군의 대부분은 *Pantoea*속으로 옮겨졌다 (Gavini, 1989; Mergaert, 1993). 그러나 *Pantoea*속은 황색색소를 생산하는 것 이외에는 유용한 판별특성이 없고 종의 판별에도 용이하지 않기 때문에 이 학명을 사용하는 연구자와 사용하지 않는 연구자가 반반인 상태라 하였다 (瀧川, 1997). 또한, *E. herbicola* pv. *gypsophylae*는 *Pantoea*속의 어느 종에도 속하지 않기 때문에 옛 학명을 그대로 사용하고 있으므로 금후의 검토가 필요하다고 하였다 (瀧川, 1997). 따라서 본 논문에서는 *E. herbicola*로 동정하며, 앞으로 분자생물학적인 실험을 통하여 학명에 대한 검토를 실시하고자 한다.

요 약

1998년 대전의 비닐하우스에서 재배중인 칼란코에의 잎에 세균병이 발생하였다. 이들 병반은 수침상 병반이 나타나고 병반진전과 함께 무름증상을 보였다. 이들로부터 분리한 병원세균을 침점증한 결과 자연병징과 같은 병반을 형성하였다. 병원세균의 세균학적 특성을 조사한 결과 *E. herbicola*로 동정되었다. 국내에서는 아직 칼란코에 (*Kalanchoe blossfeldiana*)의 병원세균으로 *E. herbicola*가 보고되지 않았다. 따라서 이를 *E. herbicola*에 의한 “칼란코에의 세균성 무름병”으로 명명할 것을 제안한다.

감사의 말씀

이 논문은 과학재단의 1998년도 핵심연구과제 (과제번호 981-

0603-011-1) 지원에 의하여 수행된 연구결과의 일부입니다.

참고문헌

- Angarita, A. 1999. Detection of plant pathogens in flowers by the PCR technique. *Acta-Horticulturae* 482:117-121.
- Azekami, K., Ozaki, K., Matsuda, A. and Ohata, K. 1983. Bacterial palea browning, a new disease of rice caused by *Erwinia herbicola*. *Bulletin National Institute Agric. Sci. C* 37:1-12.
- Cha, J. S., Pujol, C., Ducusin, A. R., Macion, E. A., Hubbard, C. H. and Kado, C. I. 1997. Studies on *Pantoea citrea*, the causal agent of pink disease of pineapple. *J. Phytopathology* 145:313-319.
- Engelhard, A. W., Mcguire, R. G., and Jones, J. B. 1986. *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, a pathogen of *Kalanchoe blossfeldiana*. *Plant Disease* 70: 575-577.
- Frederickson, D. E., Monyo, E. S., King, S. B. and Odvody, G. N. 1997. A disease of pearl millet in Zimbabwe caused by *Pantoea agglomerans*. *Plant Disease* 81: 959.
- Gavini, F., Mergaert, J., Beji, A., Mielcarek, C., Izard, D., Kersters, K. and DeLey, J. 1989. Transfer of *Entrobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing & Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and description of *Pantoea dispersa* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 39:337-345.
- Kempf, H. J. and Wolf, G. 1989. *Erwinia amylovora* as a biocontrol agent of *Fusarium culmorum* and *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* on wheat. *Phytopathology* 97: 990-994.
- 木島利男, 瀧川雄一, 峰岸長利, 紫田幸省. 1981. シクラメヌン葉腐細菌病(新)について. 日本植物病理學會誌 47: 307.
- 金永哲, 金基淸, 趙白皓. 1989. *Erwinia herbicola*에 의한 벼 內穎褐變病과 病原細菌의 水核活性. 한국식물병리학회지 5:72-79.
- Koch, M. F., Taanami, Z. and Levy, E. 1996. Damage to garlic crops caused by *Erwinia herbicola*. *Phytoparasitica* 24: 125-126
- Lelliott, R. A. and Dickey, R. S. 1984. Genus *Erwinia* In : *Bergey's Manual Systematic Bacteriology* Vol. 1. ed. by Krieg, N. R. and Holt, T. G. pp.469-476, Williams and Wilkins. Co., Baltimore, London.
- Lichter, A., Barash, I., Valinsky, L. and Manulis, S. 1995. The genes involved in cytokinin biosynthesis in *Erwinia herbicola* characterization and role in gall formation. *J. Bacteriology* 177: 4457-4465.
- Manulis, S. 1992. Evaluation of a DNA probe for the detection of *Erwinia herbicola* strains pathogenic on *Gypsophila paniculata*. *Plant Pathology* 41: 342-347.
- Mergaert, J., Verdonck, L. and Kersters, K. 1993. Transfer of *Erwinia ananas* (synonym. *Erwinia uredovora*) and *Erwinia stewartii* to the genus *Pantoea* emend. as *Pantoea ananas* (Serrano 1928) comb. nov. and *Pantoea stewartii* (Smith 1889) comb. nov., respectively, and description of *aagglomerans* comb. nov. and description of *Pantoea stewartii* subsp. *indologenes* subsp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43: 162-173.
- Nizan, R., Barash, I., Valinsky, L., Lichter, A. and Manulis, S. 1997. The presence of hrp genes on the pathogenicity-associated plasmid of the tumorigenic bacterium *Erwinia herbicola* pv. *gypsophilae*. *Molecular Plant Micro. Interaction* 10: 677-682.
- Schaad, N. W. 1988. Initial identification of common genera In : *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic bacteria*. Ed. N.W. Schaad, pp.1-15, Bacterial, Commit Amer. Phytopath. Soc., St. Paul, Minnesota.
- 瀧川雄一. 1997. 植物原細菌の分類 : 最近の變化とその経緯 .第19回植物細菌病談話會. pp9-23. 日本植物病理學會
- 瀧川雄一, 木利男, 土居養二, 與良淸. 1981. シクラメヌン葉腐細菌病(新)とその病原細菌について. 日本植物病理學會誌 47: 307.
- Wodzinski, R. S., Umholtz, T. E., Rundle, J. R. and Beer, S. V. 1994. Mechanism of inhibition of *Erwinia amylovora* by *Erwinia herbicola* in vitro and in vivo. *J. of Applied Bacteriology* 76: 22-29.
- 吉田浩之, 安木 夫. 1981. 內穎色に關する *Erwinia* 屬細菌. 日本植物病理學會誌 47: 398.
- 尹平變. 1989. 韓國園藝植物圖鑑. 지식산업사, pp. 1115.