

## 참다래 꽃썩음병균의 동정 및 발생생태

신종섭<sup>1</sup> · 박종규 · 김경희 · 박재영 · 한효심<sup>2</sup> · 정재성<sup>2</sup> · 허재선<sup>3</sup> · 고영진\*순천대학교 응용생물학과, <sup>1</sup>순천시농업기술센터, <sup>2</sup>순천대학교 생물학과, <sup>3</sup>순천대학교 환경교육과

## Identification and Ecological Characteristics of Bacterial Blossom Blight Pathogen of Kiwifruit

Jong Sup Shin<sup>1</sup>, Jong Kyu Park, Gyoung Hee Kim, Jae Young Park, Hyo Shim Han<sup>2</sup>,  
Jae Sung Jung<sup>2</sup>, Jae-Seoun Hur<sup>3</sup> and Young Jin Koh\*Department of Applied Biology, <sup>2</sup>Department of Biology and <sup>3</sup>Department of Environmental Education,  
Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea<sup>2</sup>Suncheon-si Agricultural Technology and Extension Center, Suncheon 540-804, Korea

(Received on November 2, 2004)

Bacterial blossom blight is one of the most important diseases of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). The disease occurs during flowering in the late May and disease outbreaks associated with rainfall during the flowering season have resulted in a severe reduction in kiwifruit production. The causal organism isolated from diseased blossoms of kiwifruits was identified as *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* based on the physiological and biochemical characteristics and pathogenicity test. Dead fruit stalks, dead pruned twigs, fallen leaves and soils mainly provided *P. syringae* pv. *syringae* with overwintering places in the kiwifruit orchards, and the inocula also overwintered on buds, trunks, branches, and twigs on the kiwifruit trees. Among the overwintering places, the inocula were detected in the highest frequencies from dead fruit stalks. The population density of *P. syringae* pv. *syringae* was speculated to be over  $1 \times 10^4$  cfu/ml for the bacterial infection, and the optimum temperature for the bacterial growth ranged 20 to 25°C. The highest population density of *P. syringae* pv. *syringae* on the overwintering places was detected in May and June when the daily average temperature coincided with the optimum temperature for bacterial growth of *P. syringae* pv. *syringae*.

**Keywords :** Blossom blight, Kiwifruit, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

우리나라에 재배되고 있는 참다래(Kiwifruit, Chinese gooseberry, *Actinidia deliciosa* (A. Chev.) C. F. Liang et A. R. Ferguson)에는 11가지 병이 발생하는 것으로 보고되었다(한국식물병리학회, 2004). 그 중에서 꽃썩음병은 궤양병과 더불어 참다래 재배중에 가장 커다란 피해를 주는 병해로 알려졌다(고, 1995).

참다래 꽃썩음병을 일으키는 병원균은 Wilkie 등(1973)에 의하여 *Pseudomonas viridiflava*로 처음 보고된 이래 *Pseudomonas* 속에 속하는 여러 종이 참다래 꽃썩음병에 관여하는 것으로 보고되었다(Balestra와 Varvaro, 1997; Conn

등, 1993; Everett와 Henshall, 1994; Miyoshi와 Tachibana, 1994; Morita, 1995; Tachibana 1988; Young 등, 1988). 우리나라에서는 고 등(1993)이 *P. syringae*가 참다래 꽃썩음병을 일으키는 병원세균임을 처음 보고하였다.

그러나, *P. syringae*에는 57개의 병원형(pathovars)이 있는데(Gardan 등, 1997), 참다래에 궤양병을 일으키는 병원세균으로 *P. syringae* pv. *actinidiae* 외에도 *P. syringae* pv. *morsprunorum*이 보고되었지만(고와 이, 1992; Takikawa 등, 1989), 국내에서 꽃썩음병을 일으키는 병원세균의 pathovar는 아직까지 동정되지 않았다. 또한 Koh 등(2001)은 참다래 개화기에 강우가 꽃썩음병의 발병율과 밀접한 상관성이 있음을 확인하였고, 약제살포와 몇가지 경종적 방법에 의한 방제방안을 보고하였다. 그러나, 참다래 꽃썩음병에 대한 효율적인 방제를 위해서 선행되어야 할 발

\*Corresponding author

Phone)+82-61-750-3865, Fax)+82-61-750-3208

E-mail)youngjin@sunchon.ac.kr

생생태에 대한 구체적인 연구보고는 없는 실정이다.

이 연구는 참다래 꽃썩음병균을 동정하고, 참다래 재배 포장에서 꽃썩음병균 전염원의 월동 부위와 시기별 전염원의 밀도 변화를 조사하고, 꽃썩음병균의 발병 최소농도 및 생육적온을 조사함으로써 참다래 꽃썩음병의 효율적인 방제에 필수적인 발생생태를 이해하기 위하여 수행하였다.

## 재료 및 방법

**참다래 꽃썩음병균 분리 및 동정.** 전남 순천시 해룡면 소재 참다래 포장에서 재배중인 Hayward 품종의 개화기에 꽃썩음병에 자연감염된 꽃봉오리의 내부조직 절편을 채취하여 마쇄한 후 peptone sucrose agar(PSA, peptone 20 g, sucrose 20 g, agar 20 g, 증류수 1,000 ml)에 도말한 후 20°C 항온기에서 48시간 배양하여 형성된 single colony를 분리하였다.

분리된 균주들은 Schaad 등(2001)의 생리·생화학적 동정방법에 따라 동정하였다. PSA 배지에서 colony 색깔과 모양을 관찰하고, Gram 염색 반응을 조사하였으며, 형광색소 생성은 King's B agar(proteose peptone 20 g,  $K_2HPO_4$  1.5 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  1.5 g, glycerol 15 ml, agar 15 g, 증류수 1,000 ml)에 분리된 균주들을 도말하여 26°C에서 24~48시간 배양한 후 자외선 아래에서 형광 발현 유무로 확인하였다.

LOPAT test에서 Levan 형성은 5%(w/v)의 sucrose가 첨가된 nutrient agar에 균주들을 접종하여 27°C에서 3~5일간 배양한 후, white mucoid colony가 생성되는지 여부로 확인하였다. Oxidase activity는 1%(w/v)의 glucose가 첨가된 nutrient agar에 접종한 균주들을 27°C에서 24시간 배양한 후, 1% tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride 용액으로 적신 여과지에 배양된 균주를 문질러서 1분 이내에 보라색을 나타내는지 유무로 확인하였다. Potato soft rot는 감자를 7~8 mm 두께로 잘라 5.25% sodium hypochlorite 용액에 10분간 침지한 후, 30분간 실온에서 건조시켰다. Petridish에 filter paper를 놓아 살균수로 적셔 감자를 놓고 중심부에 3~4 mm 정도의 홈을 만들었다. 24시간동안 nutrient glucose agar에 배양한  $10^8$  CFU/ml의 세균배양액을 접종한 후, 20°C에서 48시간동안 배양하여 접종한 가장자리가 무르게 되는지 여부로 확인하였다. Arginine dehydrolase activity는 시험관에 담긴 Thornley's 2A agar(peptone 1 g, NaCl 5 g,  $K_2HPO_4$  0.3 g, agar 3 g, phenol red 0.01 g, arginine HCl 10 g, 증류수 1,000 ml, pH 7.2)에 접종하여 vaseline을 녹여 부은 후, 27°C에서 4일간 배양

하여 붉은색으로 변색이 되는지 여부로 확인하였다.

GATTA test에서 Gelatine liquefaction은 gelatin(12%, w/v)이 첨가된 PS media에 균주를 접종한 후 20°C에서 7일간 배양한 후 4°C에 30분간 두어 배지가 굳는지 여부로 확인하였다. Aesculin hydrolysis는 aesculin(0.1%, w/v)이 첨가된 PSA plate에 균주를 접종한 후 25°C에서 3일간 배양하여 흑갈색으로 변색되는지 여부로 확인하였다. Tyrosinase activity는 tyrosine(0.1%, w/v)이 첨가된 PSA plate에 single colony를 접종한 후 25°C에서 3일간 배양하여 clear zone이 생기는지 여부로 확인하였다. Tartrate utilization은 0.2%의 tartrate가 첨가된 Simmon's basic agar(NaCl 5 g,  $K_2HPO_4$  1 g,  $(NH_4)_2HPO_4$  1 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2 g, bromthymol blue 0.08 g, 증류수 1,000 ml, pH 6.9±0.2)에 접종한 후 25°C에서 배양하여 배지가 푸른색으로 변색되는지 여부로 확인하였다.

분리된 균주들은 병원성을 확인하기 위하여  $OD_{600}$ 으로 집중농도  $1 \times 10^6$  cfu/ml로 조정된 세균현탁액을 집중원으로 사용하여 참다래 과수원의 Hayward 품종의 건전한 꽃봉오리가 충분히 젖을 만큼 분무접종하였다. 접종한 꽃봉오리는 polyethylene bag으로 밀봉하고 마르지 않게 살균수를 분무해주면서 습실상태를 유지해 주고 10일이 지난 후 발병 유무를 관찰하였다. 한편 대조균주는 *P. syringae* pv. *syringae* PSJA1은 일본 Kyushu대학 Matsuyama 교수로부터 분양받아 사용하였으며, 무처리구에는 살균수를 분무하여 비교하였다.

**참다래 꽃썩음병균 월동 부위 및 시기별 전염원의 밀도 변화 조사.** 전남 순천시 해룡면 소재 참다래 포장에서 2002년 1월 중순부터 개화하기 직전인 5월 중순까지 약 1개월 간격으로 총 5회(1월 19일, 2월 15일, 3월 16일, 4월 17일과 5월 10일)에 걸쳐 꽃썩음병균이 참다래 과수원의 어느 부위에서 월동하는지를 조사하였다. 또한 월동 전염원의 시기별 변화 추이를 보다 정밀하게 추적하기 위하여 2004년 1월부터 2004년 6월까지 약 15일 간격으로 매월 2회씩 총 12회(1월 12일과 30일, 2월 13일과 27일, 3월 12일과 26일, 4월 14일과 30일, 5월 13일과 28일, 6월 14일과 25일) 동안 전염원의 월동밀도를 조사하였다.

전체 참다래 포장에서 무작위로 선정된 장소에서 참다래 나무의 주간, 주지, 가지, 신초눈, 과경지, 전정가지, 낙엽, 토양 등에서 전염원 월동 여부를 조사하였다. 식물체에서는  $1 \times 1$  cm의 크기로 10반복으로 채취하였고, 토양은 1g씩 채취하였다. 기 위하여 각 부위별로 1g씩 10반복으로 채취한 후 9 ml의 멸균수가 들어있는 무균병에 넣어 현탁액을 만들었다.

소독된 메스를 이용하여 포장에서 채취한 시료들은 멸균증류수로  $10^{-2}$ ~ $10^{-4}$ 으로 희석한 후 *P. syringae* pv. *syringae* 만을 선택적으로 배양할 수 있는 SPS 배지( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  1.0 g, KCl 0.2 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2 g, adonitol 2.0 g, phenol red 20 mg, methyl violet 1 mg, pheneticillin potassium 50 mg, cetrimide 10 mg, agar 15 g, pH 6.8 per 1,000 ml of distilled water)(Miyoshi와 Tachibana, 1994) plate 위에  $100 \mu\text{l}$ 씩 도말한 후  $20^\circ\text{C}$  항온기에서 배양한 후 SPS 배지 plate 상에 형성되는 유백색 가장자리를 가진 보라색의 특이적인 균총수를 세어서 채집 부위별 전염원의 밀도를 비교하였다.

**참다래 꽃썩음병 발병조건 조사.** 전남 순천시 해룡면 소재 참다래 포장에서 2002년 5월 11일 개화 직전의 꽃봉오리와 5월 23일 개화한 꽃에 다양한 농도의 *P. syringae* pv. *syringae*를 접종하여 참다래 꽃썩음병을 일으킬 수 있는 최소발병 병원세균의 농도를 조사하였다.

Petri-dish에 살균수를 적신 여과지를 깔고 그 위에 slide glass를 올려 놓은 뒤 참다래 Hayward 품종의 건전한 꽃봉오리를 놓고 접종원을 분무접종하였다. 분리된 균주들 중에서 병원성 검정 실험에서 병원성이 강한 것으로 확인된 SS1과 대조균주 PSJA1을  $\text{OD}_{600}$ 으로 접종농도  $1 \times 10^9$  cfu/ml로 조정된 후  $10^1$ 부터  $10^6$ 까지 희석된 병원세균 현탁액을  $0.1 \text{ ml}$ 씩 분무접종하였으며, 접종한 Petri-dish는 밀봉하여 습실처리한 후  $25^\circ\text{C}$ 에서 항온처리하면서 발병유무를 관찰하였다.

또한 *P. syringae* pv. *syringae*의 최적 성장 온도 조건을 규명하기 위해  $5^\circ\text{C}$ 부터  $40^\circ\text{C}$ 까지  $5^\circ\text{C}$  간격으로 배양온도를 설정하여 LB broth에 *P. syringae* pv. *syringae*를 접종시켜 12시간동안 진탕배양시킨 후 각 온도별 성장량을  $\text{OD}_{600}$ 에서 흡광도를 조사하여 비교하였다.

## 결 과

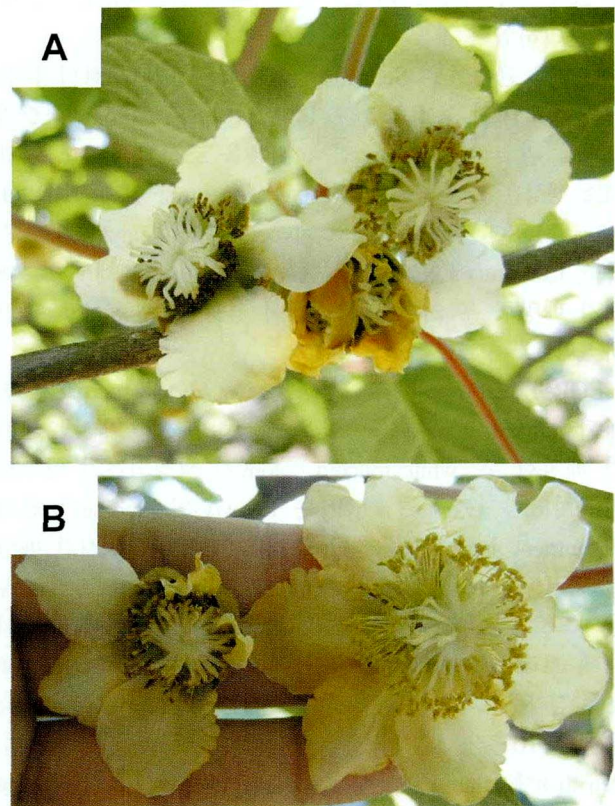
**참다래 꽃썩음병균 동정.** 참다래 Hayward 품종의 꽃봉오리로부터 분리한 균주들은 PSA배지에서 크림색 둥근 colony를 형성하였으며, Gram 음성 반응을 나타내었으며, King's B agar에서 강한 형광을 나타내어 *Pseudomonas* 속으로 동정되었다. 이어서 pathovar를 동정하기 위하여 LOPAT test와 GATTa test를 수행한 결과는 Table 1과 같다. 분리된 균주들은 LOPAT test에서 levan을 형성을 제외하고 음성반응을 나타내었지만, GATTa test에서는 모두 양성반응을 나타내어 *P. syringae* pv. *syringae*로 동정되었다. 또한 이 균주들은 모두 SPS 배지에 도말한 후  $20^\circ\text{C}$  항온기에서 배양하면 유백색 가장자리를 가진 보라색의

**Table 1.** Comparison of characteristics of the present isolates and *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* PSJA1 collected in Japan

Characteristics	Present isolates	PSJA1 <sup>a</sup>	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> <sup>b</sup>
Gram stain	-	-	-
Fluorescence on KB	+	+	+
Levan formation	+	+	+
Oxidase activity	-	-	-
Potato soft rot	-	-	-
Arginine dehydrolase activity	-	-	-
Gelatin liquefaction	+	+	+
Aesculin hydrolysis	+	+	+
Tyrosinase activity	+	+	+
Tartrate utilization	+	+	+

<sup>a</sup>Obtained from Dr. Matsuyama, Kyushu University, Japan.

<sup>b</sup>Data from Schaad (2001).



**Fig. 1.** (A) Typical symptom of bacterial blossom blight on a naturally infected flower among healthy flowers of kiwifruit. (B) Symptom of bacterial blossom blight on an artificially infected flower of kiwifruit (left) and healthy flower (right). Infected styles and stamens were discolored and severely infected petals were stunted and dropped early on an artificially infected flower.

특이적인 균총을 형성하였다. *P. syringae* pv. *syringae*로 동정된 균주들은 모두 병원성 검정 실험 결과 자연감염

**Table 2.** Detection rates of *Pseudomonas. syringae. pv. syringae* recovered from various overwintered parts in kiwifruit orchards at different collection dates in 2002

Collection dates	Inoculum densities of <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> (cfu/g) <sup>a</sup>							
	Kiwifruit trees					Dead pruned twigs	Fallen leaves	Soils
	Trunks	Branches	Twigs	Buds	Dead fruit stalks			
19 Jan.	5.0 × 10 <sup>4</sup>	1.8 × 10 <sup>4</sup>	6.3 × 10 <sup>4</sup>	2.5 × 10 <sup>5</sup>	3.2 × 10 <sup>5</sup>	1.8 × 10 <sup>5</sup>	4.0 × 10 <sup>5</sup>	5.0 × 10 <sup>4</sup>
15 Feb.	8.5 × 10 <sup>4</sup>	1.9 × 10 <sup>5</sup>	9.3 × 10 <sup>4</sup>	2.4 × 10 <sup>5</sup>	4.5 × 10 <sup>5</sup>	5.3 × 10 <sup>5</sup>	3.4 × 10 <sup>5</sup>	3.6 × 10 <sup>4</sup>
16 Mar.	2.4 × 10 <sup>5</sup>	2.1 × 10 <sup>5</sup>	1.4 × 10 <sup>5</sup>	2.6 × 10 <sup>5</sup>	7.2 × 10 <sup>5</sup>	6.5 × 10 <sup>5</sup>	2.7 × 10 <sup>5</sup>	1.4 × 10 <sup>5</sup>
17 Apr.	3.1 × 10 <sup>5</sup>	4.6 × 10 <sup>5</sup>	1.8 × 10 <sup>5</sup>	2.9 × 10 <sup>5</sup>	2.2 × 10 <sup>6</sup>	7.8 × 10 <sup>5</sup>	4.4 × 10 <sup>5</sup>	2.1 × 10 <sup>5</sup>
10 May	9.4 × 10 <sup>5</sup>	4.3 × 10 <sup>5</sup>	7.5 × 10 <sup>5</sup>	7.4 × 10 <sup>5</sup>	4.6 × 10 <sup>6</sup>	-	-	-
Mean	3.3 × 10 <sup>5</sup> (8.5%)	2.6 × 10 <sup>5</sup> (6.7%)	2.5 × 10 <sup>5</sup> (6.4%)	3.5 × 10 <sup>5</sup> (9.0%)	1.7 × 10 <sup>6</sup> (43.7%)	5.3 × 10 <sup>5</sup> (13.6%)	3.6 × 10 <sup>5</sup> (9.3%)	1.1 × 10 <sup>5</sup> (2.8%)

<sup>a</sup>Inoculum densities of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* were recovered from various overwintered parts in kiwifruit orchards in 2002.

에서 관찰되는 전형적인 꽃썩음병 증상과 유사하게 참다래 꽃잎 가장자리와 암술머리 및 수술들을 갈변시킴으로써 병원성을 확인할 수 있었다(Fig. 1).

**참다래 꽃썩음병균 월동 부위.** 2002년도에 참다래 포장에 있는 참다래 나무의 주간, 주지, 가지, 신초눈, 과경지, 전정가지, 낙엽, 토양 등에서 채집한 시료로부터 분리·배양하여 SPS 배지 plate 위에 형성된 균총으로 참다래 포장에 존재하는 각 월동 부위별 *P. syringae* pv. *syringae*의 검출 빈도를 조사한 결과는 Table 2와 같다.

전체 참다래 포장에서 *P. syringae* pv. *syringae*가 월동할 수 있다고 추정되는 부위 중에서 가장 높게 병원세균이 검출된 부위는 죽은 전년도 과경지였다. 1월부터 5월까지 총 5회에 걸쳐 채집된 과경지로부터 검출된 병원세균 평균 균총수는 1.7 × 10<sup>6</sup> cfu/g로 조사되었는데, 이러한 균총수는 본 시험에서 조사한 모든 월동 부위에서 검출된 전체 병원세균 균총수의 43.7%를 차지하였다. 그 다음으로 검출빈도가 높은 부위는 전정가지로 전체 검출된 병원세균 균총수 중에서 13.6%를 차지하였으며, 낙엽에서도 전체 검출된 병원세균 균총수의 9.3%가 검출되어 세 번째로 검출빈도가 높게 나타났다. 또한 참다래 나무의 주간, 주지, 가지, 신초눈 부위에서도 각각 *P. syringae* pv. *syringae* 점염원은 비교적 높은 빈도로 검출되었다. 신초눈 부위에서 1월부터 5월까지 총 5회에 걸쳐 검출된 병원세균 평균 균총수는 3.5 × 10<sup>5</sup> cfu/g로 조사되었는데, 이는 전체 검출된 병원세균 균총수의 9.0% 수준이며 주간, 주지, 가지에서도 전체 검출된 병원세균 균총수의 8.5~6.4% 정도의 균총들이 검출되었다. 그러나 과수원 토양에서는 전체 검출된 병원세균 균총수의 2.8%에 불과한 평균 1.1 × 10<sup>5</sup> cfu/g의 균총만이 검출되어 조사 대상인 월동부위 중에서 가장 낮은 검출빈도를 나타

내었다.

**참다래 꽃썩음병균 전염원의 시기별 밀도 변화.** 2003년 참다래 나무에 존재하는 꽃썩음병균의 부위별 분포 및 밀도를 조사한 결과 2002년도와 마찬가지로 열매를 수확한 후 제거되지 않은 과경지에서 가장 높은 밀도로 존재하는 것으로 나타났다(Table 3). 과경지에서 1월부터 6월까지 매월 2회씩 총 12회에 걸쳐 조사한 병원세균의 평균 균총수는 4.0 × 10<sup>5</sup> cfu/g으로서 전체 검출된 병원세균 균총수의 63.6%에 해당되었다. 그 다음으로 밀도가 높은 것은 전정가지, 낙엽 등의 순으로 전년도 결과 비슷하였다. 한편 월별 꽃썩음병균의 밀도변화는 1월부터 6월까지 꾸준히 증가하는 추세였는데, 검출된 병원세균의 평균 밀도는 1월에 1.3 × 10<sup>5</sup> cfu/g이었으나 6월에는 1.9 × 10<sup>6</sup> cfu/g으로 증가하였다. 특히 3월에 비해 5월에는 5배의 급속한 전염원 밀도의 증가가 관찰되었다.

**참다래 꽃썩음병균의 발병 최소농도.** 개화 직전 꽃봉오리에 1 × 10<sup>9</sup> cfu/ml로 조정된 꽃썩음병균 균주 SS1과 대조균주 PSJA1 접종원을 10<sup>-6</sup>까지 희석시켜 각각 접종한 결과 고농도에서는 물론이고 10<sup>4</sup> cfu/ml에서도 꽃봉오리와 개화한 꽃 모두에서 꽃썩음병이 발생하였으나 10<sup>3</sup> cfu/ml에서는 발생하지 않았다(Table 4).

**참다래 꽃썩음병균의 생육적온.** *P. syringae* pv. *syringae*의 최적 생장 온도 조건을 조사하기 위하여 LB broth에서 5°C부터 40°C의 온도범위에서 SS1 균주를 배양시켰을 때 5°C에서는 거의 생장하지 않았고 10~15°C 사이의 저온에서도 아주 느린 생장율을 나타내었으나 20~25°C 사이에서 가장 높은 생장율을 나타내었다. 그러나 30°C 이상의 고온에서는 생장율이 상대적으로 급속하게 감소하였으며 40°C에서는 거의 생장하지 않는 것으로 나타났다(Fig. 2).

**Table 3.** Monthly fluctuation of detection rates of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* recovered from various overwintered parts in kiwifruit orchards in 2003

Months	Inoculum densities of <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> (cfu/g) <sup>a</sup>								Mean (cfu/g)
	Kiwifruit trees					Dead pruned twigs	Fallen leaves	Soils	
	Trunks	Branches	Twigs	Buds	Dead fruit stalks				
January	$5.3 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$	$5.5 \times 10^4$	$2.1 \times 10^4$	$3.9 \times 10^5$	$9.0 \times 10^4$	$3.8 \times 10^5$	$4.0 \times 10^4$	$1.3 \times 10^5$
February	$8.1 \times 10^4$	$2.0 \times 10^4$	$9.9 \times 10^4$	$3.3 \times 10^4$	$4.2 \times 10^5$	$4.8 \times 10^5$	$3.7 \times 10^5$	$3.9 \times 10^4$	$1.9 \times 10^5$
March	$8.0 \times 10^4$	$2.4 \times 10^4$	$1.9 \times 10^5$	$4.9 \times 10^4$	$6.1 \times 10^5$	$7.5 \times 10^5$	$3.8 \times 10^5$	$4.4 \times 10^5$	$3.2 \times 10^5$
April	$3.1 \times 10^5$	$4.0 \times 10^5$	$2.1 \times 10^5$	$1.3 \times 10^5$	$4.3 \times 10^6$	$8.6 \times 10^5$	$5.1 \times 10^5$	$4.1 \times 10^5$	$8.9 \times 10^5$
May	$5.8 \times 10^5$	$5.5 \times 10^5$	$5.4 \times 10^5$	-	$7.8 \times 10^6$	$8.9 \times 10^5$	$5.5 \times 10^5$	$4.8 \times 10^5$	$1.6 \times 10^6$
June	$7.5 \times 10^5$	$5.7 \times 10^5$	$5.8 \times 10^5$	-	$9.1 \times 10^6$	$9.0 \times 10^5$	$7.1 \times 10^5$	$4.9 \times 10^5$	$1.9 \times 10^6$
Mean	$3.2 \times 10^5$ (5.0%)	$2.6 \times 10^5$ (4.2%)	$2.9 \times 10^5$ (4.6%)	$3.1 \times 10^4$ (0.5%)	$4.0 \times 10^6$ (63.6%)	$5.9 \times 10^5$ (9.4%)	$4.9 \times 10^5$ (7.8%)	$3.1 \times 10^5$ (4.9%)	

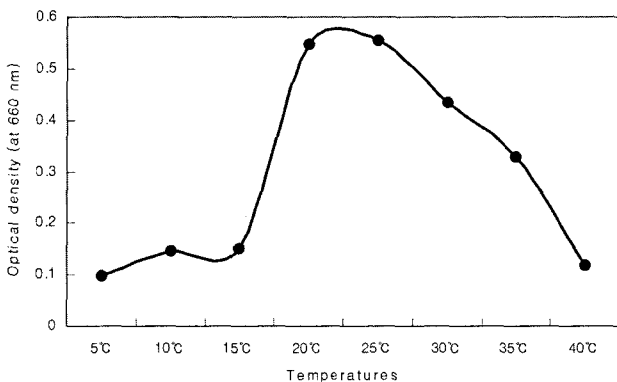
<sup>a</sup>Inoculum densities of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* were recovered twice per month at 15-day intervals from various overwintered parts in kiwifruit orchards in 2003.

**Table 4.** Minimum concentrations of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on leaves of kiwifruit by artificial inoculation

Isolates	Concentrations of <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> (cfu/ml)					
	$10^8$	$10^7$	$10^6$	$10^5$	$10^4$	$10^3$
SS1	+ <sup>b</sup>	+	+	+	+	-
PSJA1	+	+	+	+	+	-
Untreated <sup>a</sup>	-	-	-	-	-	-

<sup>a</sup>Sterile distilled water was sprayed.

<sup>b</sup>+ : symptom, - : no symptom.

**Fig. 2.** Growth curve of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* measured on LB broth 12 hours after incubation at different temperatures.

## 고 찰

참다래에 꽃썩음병을 일으키는 병원세균으로 *Pseudomonas* 속에 속하는 몇가지 종이 보고되었다(Balestra와 Varvaro, 1997; Conn 등, 1993; Everett와 Henshall, 1994; Miyoshi

와 Tachibana, 1994; Wilkie 등, 1973; Young 등, 1988). 이 연구에서 참다래 꽃봉오리로부터 분리된 병원세균의 생리·생화학적 특성 및 병원성 검정 결과 *P. syringae* pv. *syringae*로 동정되었다. 또한 이 균주들은 모두 Miyoshi와 Tachibana(1994)가 개발한 *P. syringae* pv. *syringae* 동정용 선택배지인 SPS 배지에서 유백색 가장자리를 가진 보라색의 특이적인 균총을 형성하여 *P. syringae* pv. *syringae*임을 재확인할 수 있었다. 그러나 우리나라와 비슷한 기후조건을 가진 일본에서는 *P. syringae* pv. *syringae*뿐만 아니라 *P. viridiflava*와 *P. maginalis*도 꽃썩음병을 일으킨다는 보고가 있다(丹原, 1988). 따라서 채집 장소를 달리 하고 보다 많은 시료를 채취하여 이러한 세균들도 국내에서 참다래 꽃썩음병에 관여하는지를 검토할 필요가 있다.

참다래 과수원에 존재하는 각종 부위를 대상으로 참다래 꽃썩음병균으로 동정된 *P. syringae* pv. *syringae*의 월동부위를 추적한 결과 죽은 과경지에서 가장 높은 밀도의 전염원이 검출되었고, 이어서 전정된 가지나 낙엽에서 높은 밀도의 전염원이 검출되었다. 또한 과수원 토양과 참다래 나무의 주간, 주지, 가지, 신초눈 부위에서도 각각 *P. syringae* pv. *syringae* 전염원은 비교적 높은 빈도로 검출되었다.

이러한 결과는 참다래에 꽃썩음병을 일으키는 *P. syringae* pv. *syringae* 전염원의 가장 주요한 월동 장소는 참다래 나무나 과수원에 존재하는 잔존물이라는 것을 추정케 해 준다. 그 중에서도 전년도에 수확한 참다래 과실이 달려 있었던 죽은 과경지에서 가장 높은 밀도의 전염원이 검출된 사실이나 참다래 과수원에 방치되어 있는 전정된 가지나 낙엽에서도 높은 밀도의 전염원이 검출된 사실은 참다래 꽃썩음병의 발생을 예방하기 위하여 참다래 과수원

의 포장위생이 대단히 중요함을 시사해 준다.

따라서 *P. syringae* pv. *syringae* 전염원은 참다래 과실을 수확하고 남은 과경지나 참다래 포장내에 방치해 있는 전정된 가지나 낙엽 등 식물체 잔존물에서 높은 밀도로 월동하는 것으로 밝혀졌으므로 참다래 꽃썩음병을 방제하기 위한 1차적인 방법은 참다래 포장에 존재하는 불필요한 식물체 잔존물들을 수거하여 소각함으로써 포장을 청결하게 유지하는 방법이다. 더불어 참다래 신초눈을 비롯하여 주간, 주지, 가지 등 식물체 상에서도 *P. syringae* pv. *syringae*는 골고루 월동하는 것으로 추정되기 때문에 포장위생 외에도 참다래 나무에 약제를 살포하여 전염원을 제거하는 것이 추가적인 예방법으로 판단된다.

한편 *P. syringae* pv. *syringae*가 참다래에 꽃썩음병을 일으킬 수 있는 최소농도가  $10^4$  cfu/ml로 밝혀졌으며, 병원세균의 농도에 비례하여 꽃썩음병의 발병량이 증대되는 것으로 보고되었다(Conn 등, 1993). 참다래 개화기에는  $10^5$ ~ $10^6$  cfu/g의 전염원이 각종 부위에서 상존하고 있기 때문에 비가 오면 빗물속에 발병 최소농도 수준 이상의 전염원이 상시 존재하리라 추정할 수 있다. 따라서 참다래 꽃썩음병을 예방하기 위해서는 전염원 제거와 더불어 비가림 시설이 효율적이라고 판단된다(Kajitani, 1993; Koh 등, 2001; Tachibana, 1988).

이 실험에서 *P. syringae* pv. *syringae*의 최적 성장 온도 범위는 20~25°C 사이로 확인되었다. 더불어 1월부터 6월까지 6개월동안 *P. syringae* pv. *syringae*의 채집 밀도 변화를 조사한 결과 기온이 상승할수록 점차 채집 밀도가 모든 월동 부위에서 높아졌으며, 특히 3월과 5월 사이에는 5배의 급속한 전염원 밀도의 증가가 관찰되었다. 이러한 결과는 *P. syringae* pv. *syringae*의 최적 성장 온도범위에 해당하는 20~25°C 정도로 기온이 상승하는 4~5월에 참다래 포장에 분포하는 전염원의 검출밀도가 급속하게 증가한다는 사실을 추정케 한다. 따라서 우리나라에서 참다래가 재배되고 있는 남부지방에서 기온이 20~25°C가 유지되는 4, 5월에 *P. syringae* pv. *syringae*의 최적 생장이 이루어지고 활발한 감염 및 발병이 일어난다는 사실을 유추할 수 있었다. 결국 각 월동 부위에서 월동에 성공한 *P. syringae* pv. *syringae*의 전염원은 참다래 나무에 겨울철 전정이 끝나는 1월에 가장 낮은 밀도로 존재하다가 기온이 상승함에 따라 급격하게 밀도가 증가하기 때문에 가능하면 1월 중순 겨울철 전정 직후에 약제방제를 수행하는 것이 전염원 밀도를 최소화시키기에는 효과적이라고 할 수 있다.

한편 참다래에는 꽃썩음병과 더불어 궤양병이 포장에서 발생하여 참다래에 치명적인 피해를 주는 세균병으로 보

고 되었다(고, 1995; 고 등, 1994). 참다래에 궤양병을 일으키는 병원세균인 *P. syringae* pv. *actinidiae*도 *P. syringae* pv. *syringae*와 비슷한 특성을 지닌 세균이기 때문에 겨울철 전정 직후에 전정된 가지나 낙엽을 비롯하여 식물체 잔존물들을 제거하는 포장위생 관리는 참다래 꽃썩음병과 궤양병을 동시에 예방하는 효과를 거둘 수 있을 것이다. 또한 월동기에 참다래 나무에 약제를 살포하는 것도 꽃썩음병과 궤양병균을 일으키는 병원세균의 전염원을 동시에 제거하는 효과를 거둘 수 있을 것으로 추정된다.

따라서 참다래를 재배하는 과수원에서 참다래에 꽃썩음병을 일으키는 병원세균인 *P. syringae* pv. *syringae* 전염원의 완벽한 제거가 이루어지지 않는다면 생존한 *P. syringae* pv. *syringae*는 참다래 나무 위나 참다래 과수원 포장에 존재하는 식물체 잔존물이나 토양 등에서 월동한 후 참다래 꽃봉오리가 형성되는 4월 중순 무렵부터 개화가 이루어지는 5월 하순 사이에 병원세균의 성장에 적합한 온도 조건이 갖추어지면 각종 월동 부위에서 참다래 꽃썩음병을 일으킬 수 있는 병원세균의 발병 최소농도 이상으로 급속한 증식이 이루어지고 증식된 병원세균은 개화 전에 참다래 꽃봉오리나 개화중인 꽃으로 전반되어 감염을 일으키고 꽃썩음병을 일으키는 병환을 되풀이 하는 것으로 추정할 수 있다.

## 요 약

꽃썩음병은 참다래에 가장 중요한 병해 중 하나이다. 꽃썩음병은 5월말 개화기에 발생하는데, 개화기에 강우가 겹칠 경우 꽃썩음병이 대발생하여 참다래 수량에 심각한 감수를 초래한다. 병든 꽃봉오리로부터 분리된 꽃썩음병 병원세균은 생리·생화학적 특성과 병원성 검정 실험 결과 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*로 동정되었다. 참다래 과수원에서 죽은 과경지, 전정 가지, 낙엽과 토양 등이 참다래 꽃썩음병균의 중요한 월동 부위이고, 참다래 나무에 있는 신초눈, 주간, 주지, 가지 등도 전염원의 월동처를 제공해준다. 월동부위 중에서 죽은 과경지에 가장 높은 밀도의 전염원이 검출되었다. 참다래에 꽃썩음병을 일으킬 수 있는 발병 최소농도는  $10^4$  cfu/ml로 추정되었으며, 꽃썩음병균의 최적 성장 온도는 20~25°C였다. 평균 기온이 참다래 꽃썩음병 생육적온과 일치하는 5~6월에 월동 부위에서 가장 높은 밀도의 전염원이 검출되었다.

## 감사의 글

이 논문은 농림부 농림기술관리센터의 농림기술개발과

제(2001-2004)의 연구비에 의해 수행한 것으로 감사를 표합니다.

## 참고문헌

- Balestra, G. M. and Varvaro, L. 1997. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* causal agent of disease on floral buds of *Actinidia deliciosa* (A. Chev) Liang et Ferguson in Italy. *J. Phytopathol.* 145: 375-378.
- Conn, K. E., Gubler, W. D. and Hasey, J. K. 1993. Bacterial blight of kiwifruit in California. *Plant Dis.* 77: 228-230.
- Everett, K. R. and Henshall, W. R. 1994. Epidemiology and population ecology of kiwifruit blossom blight. *Pl. Pathol.* 43: 824-830.
- Gardan, L., Shaff, H. and Grimont, P. A. 1997. DNA relatedness among pathovars of *P. syringae* and related bacteria, pp. 445-448. In K. Rudolph, T. J. Burr, J. W. Mansfield, D. Stead, A. Vivian, and J. Von Kietzell (eds.), *Pseudomonas syringae Pathovars and Related Pathogens*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- 한국식물병리학회. 2004. 한국식물병명목록. 제4판. 한국식물병리학회. 779p.
- Kajitani, Y. 1993. Cultural methods for control of kiwifruit bacterial blossom rot. *Plant Quarantine* 47: 177-179.
- 고영진. 1995. 참다래의 주요 병. *식물병과 농업* 1(1): 3-13.
- 고영진, 이동현. 1992. *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* 에 의한 키위 껌양병. *한국식물병리학회지* 8: 119-122.
- 고영진, 정희정, 김정화. 1993. *Pseudomonas syringae*에 의한 참다래 꽃썩음병. *한국식물병리학회지* 9: 300-303.
- Koh, Y. J., Lee, D. H., Shin, J. S. and Hur, J.-S. 2001. Chemical and cultural control of bacterial blossom blight of kiwifruit caused by *Pseudomonas syringae* in Korea. *New Zealand J. Agric. Res.* 29: 29-34.
- Latorre, B. A. and Jones, A. L. 1979. *Pseudomonas syringae*, the cause of bacterial canker of sour cherry in Michigan, and its epiphytic association with *P. syringae*. *Phytopathology* 69: 335-339.
- Miyoshi, T. and Tachibana, Y. 1994. A selective medium for isolation of *Pseudomonas syringae*, the pathogen of bacterial blossom blight of kiwifruit. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 61: 489-492.
- Morita, A. 1995. Occurrence of bacterial blossom blight of kiwifruit and its influence on fruit production in Nagasaki Prefecture. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 61: 57-62.
- Pennycook, S. R. and Triggs, C. M. 1991. Bacterial blossom blight of kiwifruit - a 5-year survey. *Acta Horticulturae* 297: 559-565.
- Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. 2001. *Plant Pathogenic Bacteria*. APS Press, Minnesota, USA.
- Tachibana, Y. 1988. occurrence of kiwifruit bacterial blossom rot and its control. *Plant Quarantine* 42: 182-186.
- Takikawa, Y. Serizawa, S. Ichikawa, T., Tsuyumu, S. and Goto, M. 1989. *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* pv. nou.: the causal bacterium of canker of kiwifruit in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 55: 37-444.
- 丹原克則. 1988. キウイフル-ツ百科. 愛媛青果連. 374p.
- Wilkie, J. P., Dye, D. W. and Watson, D. R. W. 1973. Further hosts of *Pseudomonas viridiflava*. *New Zealand J. Agric. Res.* 16: 315-323.
- Young, J. M., Cheesmur, G. J., Welham, F. V. and Henshall, W. R. 1988. bacterial blight of kiwifruit. *Ann. Appl. Biol.* 112: 91-105.