

*Serratia liquefaciens*에 의한 인삼뿌리썩음병

김동기* · 이순구 · 이영근 · 이종팔¹ · 정기채¹

안동대학교 농생물학과, ¹경상북도 농업기술원 풍기인삼시험장

Root Rot of Panax Ginseng Caused by *Serratia liquefaciens*

Dong Gi Kim*, Soon Gu Lee, Young Keun Lee, Jong Pal Lee¹ and Ki Chai Jung¹

Department of Agricultural Biology, Andong National University, Andong 760-749, Korea

¹Kyongsangbuk-do Agricultural Research and Ginseng Experiment station, Punggi 750-871, Korea

(Received on January 16, 2004)

The diseased ginseng plants, their trunks fall down and roots rot, were observed in ginseng cultivation field at Bongwha, Kyungbuk. Inoculation of the bacterium isolated from root rot lesion induced a range of symptoms on leaves, trunks and roots; The bacterium caused wilting with chlorosis and black discoloration on leaves, empty of inside trunks and rot on roots. The bacterium was identified as *Serratia liquefaciens* based on the morphological and physiological characteristics. This is the first report in Korea on roots rot of ginseng occurred by *S. liquefaciens*.

Keywords : Ginseng Plant, Root rot, *Serratia liquefaciens*

인삼(*Panax ginseng*, C. A. Meyer)은 한국과 중국을 비롯한 동양에서 수천년 동안 보혈강장제로 이용해 온 신약영초로서 생약중에 왕좌를 차지하여 왔다. 인삼은 다년생의 반음지성 숙근초로 오가과, 혹은 두릅나무과에 속하는 초본식물로서 생육적온은 20°C 전후이며 30°C 이상에서는 생육장애를 받기 때문에 주로 북반구의 극동지방에 자생하거나 재배되며, 우리나라의 원산지는 경기북부지역과 경북풍기, 충남금산지방이다. 그러나 최근에는 제주도를 제외한 전국 각지에서 고소득 작물로 재배되어지고 있다(Kim 등, 1997; 박, 1996).

인삼은 같은 장소에서 3~6년을 재배하므로 생육기간중에 여러 가지 병에 의하여 인삼이 죽게 되는데 특히 연작장애의 발생가능성이 매우 높고 인삼재배자들의 50%는 병과 해충방제가 가장 큰 문제점이라 생각하고 있다(정, 1972).

곰팡이에 의한 인삼병으로는 입고병, 균핵병, 회색곰팡이병, 줄기썩음병, 점무늬병, 줄기마름병, 탄저병, 뿌리썩음병등 10여종이 관여하고 있으며(정, 1972; 오 등, 1984),

세균병으로 일본에서 붉은빛썩음병(上田, 1909)이 최초로 록이며 우리나라에 보고된 인삼병원세균은 붉은빛썩음병, 엷빛무름병(中田 등, 1922), 줄기속무름병(Yu 등, 1991), 뿌리썩음병(Lee, 1975; Jeon 등, 2002)이 보고되어 있다. 그러나 아직까지 *Serratia liquefaciens*에 의한 인삼뿌리썩음병은 보고된 바 없으며 또한 식물병원세균으로 보고된 바가 없다.

지금까지 인삼에서 병원세균은 그리 많이 보고되어 있지 않으며 곰팡이 병원균이나 선충의 침입 후 2차침입을 통해 병을 더 진전시키는 일종의 복합원인에 의한 병으로 여겨지고 있다(정, 1979).

2003년 경상북도 봉화지역에서 인삼줄기가 쓰러지고 뿌리는 암갈색의 썩음증상을 나타내며 윗부분부터 썩는 병든 인삼을 채취하였다. 분리된 병원균의 병원성과 균학적 특성을 조사한 결과, *Serratia liquefaciens*에 의한 인삼뿌리썩음병으로 동정하였기에 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

병원세균의 분리. 봉화지역의 인삼포에서 뿌리썩음증상을 나타내는 인삼을 채취하여 병반부와 건전부 경계부위의 조직을 5×5 mm 크기로 잘라 75% 에틸알콜에 1분,

*Corresponding author
Phone)+82-54-632-1250, Fax)+82-54-632-6196
E-mail)maruco@andong.ac.kr

차아염소산 나트륨에서 1분간 살균한 후, 멸균수로 씻어 물기를 완전히 제거하여, 물한천배지(WA)에 올려놓고 48 시간 배양하였다. 시료주위에 자란 세균을 TSA(tryptic soy broth 30 g, agar 15 g) 배지에 획선 접종하여 배양된 세균의 신선한 단 콜로니를 순수분리하였다. 분리균은 -20°C에 보관하면서 병원성 검정 및 동정시험에 사용하였다.

병원성 검정. 순수분리한 세균을 약 10⁹cfu/ml 농도로 희석하여 1년근인삼과 3년근인삼에 상처접종 하였고, 풍기인삼시험장에서 재배중인 3년근인삼을 뿌리가 끊어지지 않게 주위의 흙과 같이 채취하여 높이 30 cm, 폭 20 cm의 포트에 이식하여, 7일동안 생육적 안정성을 살펴본 후 잎, 줄기, 뿌리에 바늘로 상처를 낸 후, 모세관(직경 1.1~1.2 mm)으로 접종하였다.

인삼뿌리썩음병원과 복합감염에 따른 병징조사. 인삼 뿌리썩음병을 일으키는 *Cylindrocarpon destructans*를 감자한천배지(Potato dextrose agar, PDA)에 50일동안 배양시킨 후 분리된 병원세균과 복합적으로 접종하였다. 1년근인삼을 표면살균후, 접종부위에 바늘로 상처를 내고 병원세균만 접종한 것, *C. destructans*만 접종한 것, *C. destructans*을 먼저 접종한 후 세균을 접종하는 방법으로 병징을 조사하였다. 세균은 현탁액 10⁹cfu/ml 농도로 10 μl

씩 접종하였고, *C. destructans*는 메스로 2×2 mm 정도로 잘라 접종하였고 복합접종은 *C. destructans*를 먼저 접종한 후 병징이 육안으로 어느정도 발현될 때 병원세균을 접종하였다.

분리균의 세균학적 특성조사. 인삼뿌리썩음병만에서 분리한 세균의 세균학적 특성검정은 Schaad(1988), Bensen(1990) 및 진(1997) 방법에 의하여 실시하였다.

발병상황. 줄기가 쓰러진 인삼의 뿌리를 한 칸에 15 주를 임의로 선정하여 뿌리썩음증상을 보인 인삼의 병반으로부터 세균을 분리한 후, 표면살균한 1년근인삼에 접종하여 병원성을 나타내는 병원세균을 분리비율로 조사하였다.

결과 및 고찰

발생 및 병징. 이 병은 2003년 6월에 봉화군 봉성면 인삼재배포장에서 발견되었다. 병든 인삼의 뿌리는 위에서 아래로 썩어들어가는 증상을 보였으며, 병반부위가 암갈색으로 변하였고 끈적끈적했으며, 냄새가 났다(Fig. 1-A). 1년근, 3년근인삼에 접종한 결과, 접종한 지 3일 후 각각 병증상이 나타났으며 5일 후에는 부위가 움푹파이고 차츰 암갈색, 검은색으로 변색되면서 세균이 고이기

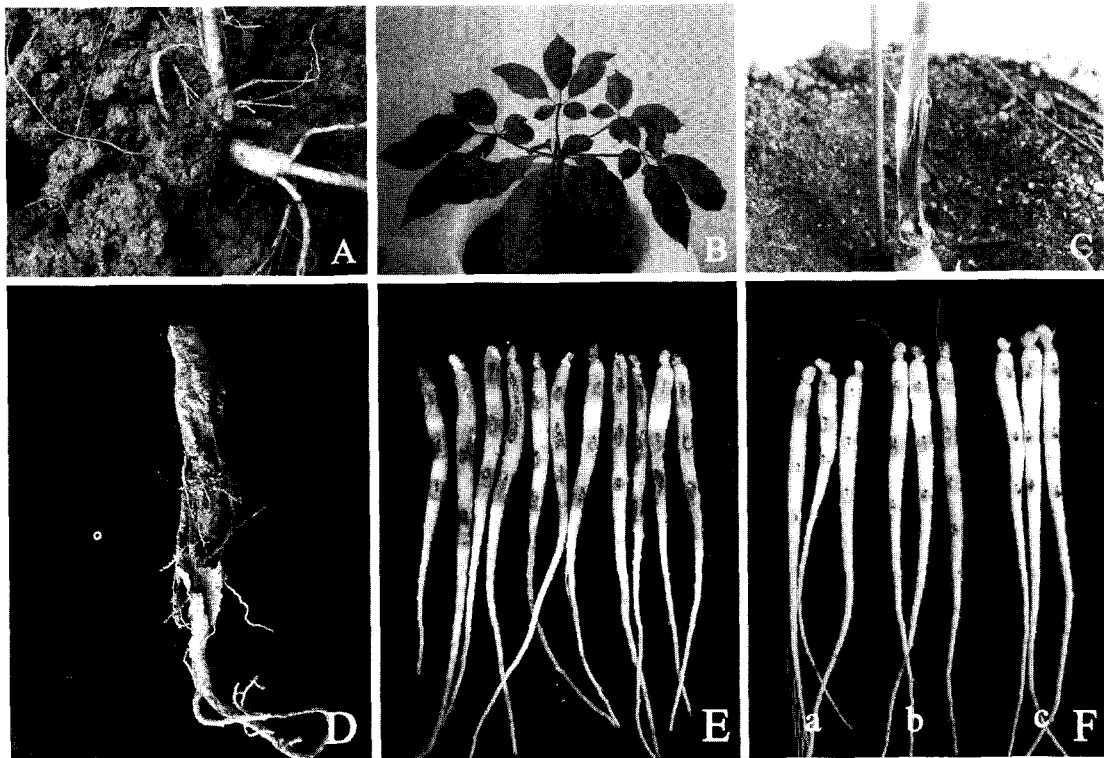


Fig. 1. Symptoms of root rot ginseng plant caused by *Serratia liquefaciens*. (A) Naturally infected; (B, C, D, E) Artificially inoculated leaves, stem, root and root of one year ginseng plants; (F) Lesions on roots artificially inoculated with the isolated bacterium(a), the bacterium + *C. destructans*(b) and *C. destructans*(c).

Table 1. Pathogenicity of the bacterial isolates to different parts of ginseng plants

Plant part ^a	Leaf	Stem	Root
Pathogenicity	soft rot	soft rot	root rot

^aGinseng roots were wound-inoculated with bacterial suspension (10⁹ cfu/ml) and kept 25~30°C for 5~60 days.

시작했다(Fig. 1-E). 포장에서 옮겨 심은 3년근 인삼의 경우 잎은 5일만에 접종부위에서 병반이 나타나 시간이 경과함에 따라 잎은 마르는 증상을 보였고 줄기는 접종한 지 20일 후, 줄기가 마르고 속이 비어있었다. 뿌리는 60일만에 뿌리속의 조직이 부패하여 없어지고 표피만 남아 있었다(Table 1, Fig. 1-B, C, D).

인삼뿌리썩음병원균과 복합감염에 따른 병징. 분리된 병원세균과 인삼의 뿌리썩음병원균인 *C. destructans*를 단독 또는 복합적으로 접종한 결과, 단독으로 접종한 인삼보다 복합접종한 인삼의 병 진전이 더 빨랐다(Fig. 1-F).

분리세균의 형태 및 특성. TSA배지에서 배양한 병원세균의 콜로니는 우유색이었고 균체를 관찰한 결과, 1~3개의 주생모를 가진 간균이었으며, 크기는 0.7~1.0×

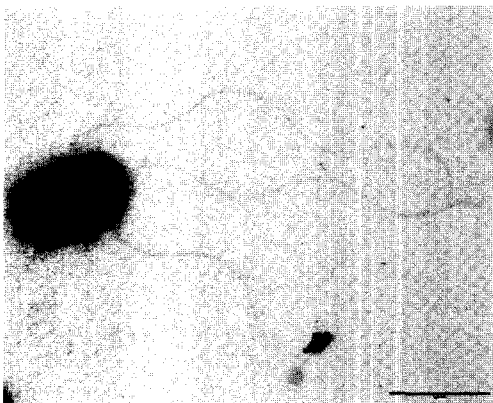


Fig. 2. Electron micrograph of the bacterium isolated from ginseng plants. Bar represents 2 μm.

Table 2. Characteristic difference between present isolate and other ginseng pathogenic bacteria

Pathogenic bacteria	Characteristics ^a		
	Pectolytic enzyme	Fluorescens pigment	Endospore
Present isolate	-	-	-
<i>Pseudomonas carotovorum</i>	+	-	-
<i>Pectobacterium fluorescens</i>	-	+	-
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	-	-	+

^aData from Yu *et al.* (1991), Lee (1975), Bergey's manual (Holt *et al.*; 1994).

1.3~2.0 μm였다(Fig. 2). 이 세균은 pectin을 분해하지 않았으며 형광색소와 내생포자를 형성하지 않아 인삼에 병을 일으키는 다른 세균의 특성과는 달랐다(Table 2).

병원세균의 동정. 이 세균은 그람음성이며, 통성 혐기성이었고(Table 3), 운동성을 가졌으며, oxidase test에서 음성반응을 나타내었고 catalase test에서는 양성반응을 나타내었다(Table 4). 이것은 Bergey's manual(Holt 등; 1994)에 기록된 GROUP 5의 특성과 일치하였고 GROUP 5에

Table 3. Characteristics used to identify the section of the bacterium isolated from rotten lesion of the ginseng root

Characteristics	Present isolates	GROUP 5 ^a
Gram stain	-	- ^b
Facultatively anaerobic growth	+	+
Cell morphology	rod	rod

^aData from Bergey's manual (Holt *et al.*; 1994). ^b+ : positive reaction, - : negative reaction.

Table 4. Characteristics used to identify the family of the bacterium isolated from rotten lesion of the ginseng root

Characteristics	Present isolates	E ^a	V	P
Cell diameter				
2.0 μm or greater	-	- ^b	-	-
Motility	+	D	+	-
Flageller arrangement				
Polar	-	-	+	
Lateral	+	+	-	
Straight rod	+	+	D	+
Curved rod	-	-	D	-
Oxidase	-	-	+	+
Catalase	+	+	D	D

^aData from Bergey's manual (Holt *et al.*; 1994, Krieg *et al.*; 1984). Family of Bacteria : Enterobacteriaceae (E), Vibrionaceae (V), Pasteurellaceae (P).

^b+ : positive reaction, - : negative reaction. D : Difference reactions in different genus.

Table 5. Characteristics used to identify the genus of the bacterium isolated from rotten lesion of the ginseng root

Characteristics	Present isolates	Enterobacteriaceae ^a	
		<i>Serratia</i>	other genera
Citrate	+	+ ^b	- ^c
Gelatin hydrolysis	+	+	- ^d
Phenylalanine deaminase	-	-	+ ^e

^aData from Bergey's manual (Holt *et al.*; 1994).

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

^c*Arsenophonus et al.* (15 genera), ^d*Buttiauxella et al.* (10 genera), ^e*Proteus*.

Table 6. Characteristics used to identify the species of the bacterium isolated from infected ginseng root

Characteristics	Present isolates	Species of the genus <i>Serratia</i> ^a									
		S.l ^b	S.e	S.f	S.fo	S.g	S.m	S.o	S.p	S.pr	S.r
Cell diameter	0.7~0.9 μm	0.5~0.8									
Cell length	1.3~2.0 μm	0.9~2.0									
Indole production	-	- ^c	-	-	-	-	-	d ^d	-	-	-
Voges-Proskauer	+	+	+	d	-	d	+	d	[+] ^e	[+]	+
Urease hydrolysis	-	-	[-]	-	-	-	[-]	-	-	-	-
Arginine dihydrolase	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth in NaCl 7%	+	+	+	+	+	+	+	d	[-]	[-]	+
Growth in KCN	+	+	+	d	d	+	+	-	d	-	-
Acid from :											
Cellobiose acid	-	-	-	+	-	-	-	+	[+]	-	+
L-Arabinose	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+
Glycerol	+	+	-	-	[+]	+	+				

^aData from Bergey's manual (Holt et al.; 1994).

^bS.l : *S. liquefaciens*, S.e : *S. entomophila*, S.f : *S. ficaria*, S.fo : *S. fonticola*, S.g : *S. grimesii*, S.m : *S. marcescens*, S.o : *S. odorifera*, S.p : *S. plymuthica*, S.pr : *S. proteamaculans*, S.r : *S. rubidaea*.

^c : 90% or more of strains positive. ^d : 90% or more of strains negative.

^e 26~75 positive. ^f[+] : 76~89% positive, [-] : 11~25% positive.

속한 과중 Enterobacteriaceae과와 일치하였다. 이 세균은 citrate반응에 양성을 띠었으며 gelatin 가수분해효소를 생성하여 gelatin을 액화하였으며 phenylalanine deaminase를 생성하였고(Table 5), indole를 생성하지 않았으며 nitrate를 환원시켰고 7% KCN과 NaCl이 첨가된 배지에서 생육하였으며, 습실온도 41°C에서 생육하지 않았다. 또 voges-proskauer반응은 양성이었고 urease반응과 arginine dihydrolase반응은 음성이었다. 또한 이 세균은 cellobiose를 비롯한 15가지 탄소원을 이용하지 않았으며, L-arabinose와 glycerol를 비롯한 30가지의 탄소원을 이용하였다(Table 6). 따라서 인삼뿌리썩음 조직에서 분리한 세균의 특성은 Bergey's manual에 기록된 *Serratia*속에 속한 세균들의 특성을 비교한 결과, *Serratia liquefaciens*의 특성과 일치하여 이 병원세균은 *Serratia liquefaciens*로 동정되었다. 이 세균을 Sherlock system을 이용한 지방산 조성을 분석한 결과, 유사도는 70.4%였으며, Biolog system에 의한 탄소원 이용성의 유사도는 62.8%였다(Table 7).

Table 7. Identification of the bacterial isolate from infected ginseng root by analysis on fatty acid component and carbohydrate utilization

Testa	Similarity to <i>Serratia liquefaciens</i> (%)	
	Fatty acid component	Carbohydrate utilization
Similarity	70.4	62.8

^aThe fatty acid component was analysed by Sherlock system and the carbohydrate utilization was analysed by Microlog system.

Serratia sp.는 분류학적으로 장내세균과(Enterobacteriaceae)에 속하며 그람음성인 간균으로 알려져 있고 주 서식지는 종에 따라 다양하며, 대부분은 자연환경내의 토양이나 물 그리고 식물의 표면에 부생하고 있으며, 콜로니색은 붉은색, 보라색, 핑크색, 흰색등 다양하게 나타난다(김, 1996; Krieg, 1984) 인삼에서 분리한 *Serratia liquefaciens*의 콜로니는 우유색을 나타내었다. 지금까지 *Serratia* sp.중 병원성을 가지는 것으로 *S. proteamaculans*에 의한 *Proteacynalooides*(프로테아)의 점무늬병(Paine 등, 1919)과 알팔파의 병든 뿌리에서 *S. marcescens*가 분리된 보고(Shinde 등, 1974)가 있으나 아직 인삼에 병원세균으로 보고되어 있지않다. 이 병원세균에 의한 인삼뿌리썩음 증상은 아직 구내외에서 보고되지 않았기에 인삼뿌리썩음병과의 병원세균으로 *Pectobacterium carotovorum*, *Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum*, *Pseudomonas panacis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Paenibacillus polymyxa* 외에 *Serratia liquefaciens*도 추가할 것을 제안한다.

Table 8. Disease occurrences of root rot of ginseng plants surveyed in Pongwha, Kyungbuk

Ginseng plants surveyed	Root rotted plants (%) ^a	Bacterial root rot (%) ^b
	40.0	66.7

^aNumber of the diseased plants were counted on 10. June. 2003.

^bThe pathogenicity of bacteria isolated from the diseased ginseng root were confirmed.

발병상황. 경북 봉화군 봉성면 지역의 4년근 포장에 서 조사한 인삼뿌리썩음병 발생주율은 40%였다. 그 중 인삼의 썩은 뿌리에서 분리한 세균을 건전한 1년근 묘삼 뿌리에 접종한 결과, 이 가운데 66.7%의 썩은 뿌리에서 분리한 세균의 병원성이 인정되었다(Table 8).

요 약

2003년 7월, 경상북도 봉화지역의 인삼포장에서 인삼의 줄기가 쓰러지고 뿌리썩음증상을 보이는 인삼을 관찰하였다. 병든 뿌리로부터 분리된 병원세균을 접종한 결과, 인삼의 잎은 황화되거나 검은색으로 변하여 시들었고, 줄기는 속이 텅비어 있었다. 뿌리는 접종부위가 썩으면서 주름이 생기고 차츰 검은색으로 변화하였다. 이 병원세균은 인삼의 모든 부위에 대해 병원성이 인정되었고 이 병원세균의 형태 및 생리적 특성을 Bergey' manual에 기록된 세균의 특성과 비교한 결과, *Serratia liquefaciens*로 동정되었다. 이 세균은 아직 인삼의 병원세균으로 기록되어 있지 않기에 인삼뿌리썩음병으로 이 병원세균도 추가할 것을 제안한다.

감사의 글

이 논문을 위해 지원해주신 풍기인삼시험장에 감사드립니다.

참고문헌

- 정후섭. 1972. 인삼병 연구의 과거, 현재 및 문제점. 금산삼업조합관. 55-67 pp.
- 정후섭. 1979. 인삼의 병. 한국식물보호연구론저. 한국식물보호학회지 107-114 pp.
- 진경식. 1997. 식물병원세균의 분리동정. 한국식물병리학회 work shop-3. 73-84 pp.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. A., Staley, J. T. and Williams, S. T. 1994. Bergey's manual of Determinative Bacteriology. Williams & Wilkins. 17 5-201 pp.
- Jeon, Y. H., Hwang, I. G. and Kim, Y. H. 2002. Genetic and phenotypic diversity of *Paenibacillus polymyxa* isolated from Korea ginseng. (abstract)
- Kim, S. I., Yoo, S. J. and Kim, H. G. 1997. Selection of Antagonistic Bacteria for Biological Control of Ginseng Disease. *Korean J. Plant Pathol.* 13(5): 342-348.
- 김용환. 1996. *Serratia marcescens* W1으로부터 도열병균사 생육억제 관여 유전자 탐색 및 특성검정. 전남대학교 박사학위 논문. 10-12 pp.
- Krieg, N. R. 1984. Bergey's manual of Systematic Bacteriology. 1: 409-598.
- Lee, M. W. 1975. Studied on the *Pseudomonas fluorescens* causing Root Rot of Ginseng. *Kor. Jour. Microbiol.* 13: 143-156 pp.
- 中田覺五郎, 攏元清透. 1922. 人蔘의 病害에 關한 研究(日文). 農試報告 5: 1-76.
- 오승환 등. 1984. 인삼병해충 원색도감. 한국 인삼연초연구소, 전매청.
- Paine, S. G. and Stanfield. 1919. Studies in bacteriosis. III. A bacterial leaf spot disease of *Protea cynaroides* exhibiting a host reation of possibly bacteriolytic nature. *Ann. Appl. Biol.* 6: 27-39.
- 박명규. 1996. 최신 고려인삼 (재배편). 한국 인삼연초 연구원.
- Shinde, P. A. and Lukezic, F. L. 1974. Isolation pathogenicity and charat- terization of fluorescent pseudomonads associated with discolored alfalfa roots. *Phytopathology.* 64: 865-871.
- 上田次郎. 1909. 本邦 및 韓國의 人蔘赤腐病研究(日文). 農試報告 35: 35.
- Yu, Y. H., Lee, Y. K. and Ohh, S. H. 1991. Stem Rot of Ginseng Caused by *Erwinia carotovorum* subsp. *carotovorum*. *Korean J. Plant Pathol.* 7(3): 183-187.