

*Ralstonia pseudosolanacearum*에 의한 땅콩 풋마름병 발생 보고

First Report of Bacterial Wilt by *Ralstonia pseudosolanacearum* on Peanut in Korea

***Corresponding author**

Tel: +82-63-238-5345

Fax: +82-63-238-5305

E-mail: choisy99@korea.kr

최수연* · 김남구 · 김상민 · 이봉춘

농촌진흥청 국립식량과학원 작물기초기반과

Soo Yeon Choi*, Nam Goo Kim, Sang-Min Kim, and Bong Choon Lee

Crop Foundation Research Division, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

A peanut plant showing wilt and browned symptom was found in the field of Gochang, Korea, in July 2021. The symptomatic peanut plant was collected from the field and isolation of the pathogen caused the wilt symptom was performed using the collected sample on TZC media. The dominated colony on media was isolated colony on media was isolated and subcultured of purification. The pure cultured bacteria was identified as *Ralstonia solanacearum* by sequencing of 16S rRNA gene. Multiplex polymerase chain reaction using phylotype-specific primer set identified isolate as phylotype I (*R. pseudosolanacearum*). Phylogenetic tree was constructed based on 16S rRNA sequence and it was closed with *R. pseudosolanacearum*. Pathogenicity of the isolates was assessed by soil drenching inoculation on 4-week-old peanut plant. The wilt symptom was successfully reproduced by inoculation of the isolates after 14 days. This is first report of bacterial wilt caused by *R. pseudosolanacearum* on peanut in Korea.

Keywords: Bacterial wilt, Peanut, *Ralstonia pseudosolanacearum*

Received December 14, 2021

Revised February 11, 2022

Accepted February 11, 2022

땅콩(*Arachis hypogaea* L.)은 콩과에 속하는 1년생 작물로 남 아메리카 열대지역에서 오래전부터 재배되어 왔다고 알려져 있다(Stalker, 1997). 땅콩의 지방은 불포화지방산이 80% 이상 차지하고 있으며, 단백질은 16.2–36% 분포하고 있어 필수아미노산이 풍부한 고지방, 고단백 식품이다(Pattee와 Stalker, 1995). 땅콩은 꼬투리가 땅속에서 자라기 때문에 재배 시 토양병원균에 감염되면 땅콩 수량 감소 및 품질 저하에 영향을 미친다(Porter 등, 1982; Thiessen과 Woodward, 2012). 현재까지 국내 땅콩에 발생하는 병은 진균에 의한 병 13종과 바이러스에 의한 5종의 병이 보고되어 있다(Korean Society of Plant Pathol-

ogy, 2009). 최근 국내 땅콩 재배포장에서 원인을 알 수 없는 시들음 증상이 문제가 되고 있는데, 국외의 경우 땅콩에 시들음을 유발하는 병원균으로는 풋마름병(*Ralstonia solanacearum*)과 진균에 의한 시들음병(*Fusarium* 속, *Phythium* 속) 등이 보고되어 있다(Rajeswari, 2015; Wilson, 1953). 그 중 풋마름병은 아열대, 온대 기후조건에서 주로 발생하며 가지과 작물을 비롯하여 여러 작물에 감염하여 심각한 피해를 준다고 알려져 있다(Hayward, 1991; Swanepoel, 1992). 현재 국내에서는 토마토, 감자, 고추 등에 풋마름병이 보고되어 있으나, 땅콩에서는 아직까지 발생이 보고되지 않았다. 풋마름병은 병원균이 식물의 물관에서 외피다당류를 생산하여 물관을 막아 급속히 시들다가 식물체 전체가 말라서 고사되기 때문에 수량에도 영향을 미친다고 보고되어 있다(Saile 등, 1997). 본 연구에서는 국내 땅콩 재배포장에서 발생한 시들음 증상의 원인균을 확인하고자 시

Research in Plant Disease

eISSN 2233-9191

www.online-rpd.org

© The Korean Society of Plant Pathology

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

들음 병징을 보이는 시료를 채집하여 풋마름병의 원인균인 *R. pseudosolanacearum*을 분리·동정하였다.

병원균 분리·동정. 2021년 7월 고창 땅콩 재배 포장에서 잎과 줄기가 갈색으로 시들어 말라죽은 땅콩 지상부를 발견하였다. 채집한 땅콩에서 시들음 병징의 원인균을 분리하기 위해 땅콩 지제부(지상부와 지하부의 경계)를 잘라 70% 에탄올에 45초 동안 담근 후, 멸균수로 행균 다음 멸균된 여과지로 물기를 제거하였다. 표면 소독된 지제부는 멸균수가 담긴 50 ml Conical tube에 넣은 다음 세균 누출(Ooze)을 확인하였다. 누출된 병원균은 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TZC)가 첨가된 casamino acid-peptone-glucose 고체배지에 배양 후 2회 계대한 뒤, 순수 분리하여 GC6으로 명명하고 동정한 결과 *R. solanacearum*로 확인되었다. 분리한 GC6의 정확한 종을 확인하기 위해 phylotype 분류에 사용되는 특이 프라이머를 사용하여 multiplex polymerase chain reaction을 진행하였고(Cho 등, 2018; Lee 등, 2020), 그 결과 땅콩에서 분리된 GC6 균주는 *R. solanacearum* phylotype I (*R. pseudosolanacearum*)으로 확인되었다.

병원성 검정. 분리된 *R. pseudosolanacearum* GC6 균주의 병원성을 검정하기 위해, TZC 고체배지에서 30°C, 2일 배양하였다. 자란 균주는 멸균수에 현탁하여 토양 1 g당 10⁷ colony forming unit으로 밀도를 맞춘 다음 4주간 생육한 땅콩 포트에 접종 전 포트별로 핀셋으로 2회 찌른 다음 관주방법으로 접종하였다(Park 등, 2007). 대조구는 멸균수를 처리하였다. 접종한 땅콩 식물체는 30°C 광주기 12시간, 암주기 12시간으로 유지하며 생육상에서 병징을 관찰하였다. 접종 후 7일째 잎이 시들기

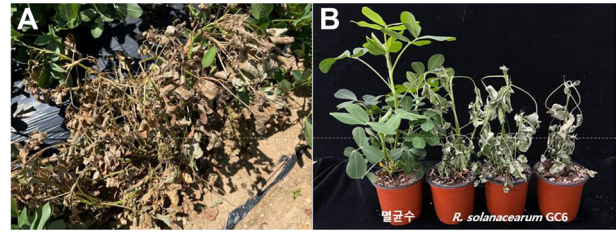


Fig. 1. Bacterial wilt symptom of peanut caused by *Ralstonia pseudosolanacearum* on natural field (A). Artificial symptoms by soil drenching inoculation. Sterilized water was used as a control (B).

시작하면서 접종 후 14일째, 식물체 전체가 풋마름병 병징으로 고사되는 것을 확인하였다(Fig. 1). 고사한 식물체의 줄기에서 병원균을 재분리하여 동정한 결과 접종 균주와 같은 균주임을 확인하였다.

염기서열 유연관계 분석. 분리된 GC6 균주는 DNA를 추출하여 16S rRNA sequence 영역의 염기서열 프라이머를 사용하여 유전자를 증폭하였고, 증폭된 산물은 Macrogen (Seoul, Korea)을 통해 염기서열을 분석하였다. 분석된 염기서열은 NCBI (미국국립생물정보센터) BLASTN을 이용하여 비교한 결과 GenBank에 등록되어 있는 *R. pseudosolanacearum* 균주와 99% 이상 일치하는 것을 확인하였고, 염기서열은 NCBI의 GenBank database에 등록하였다(accession number no. OL589649). 또한, GC6 균주의 16S rRNA sequence 염기서열은 NCBI의 GenBank database에서 수집한 *Ralstonia* 속의 다른 종들의 시퀀스를 바탕으로 MEGA 6.0 프로그램을 사용하여 다른 종들과 계통학적 유연관계를 비교하였다(Fig. 2).

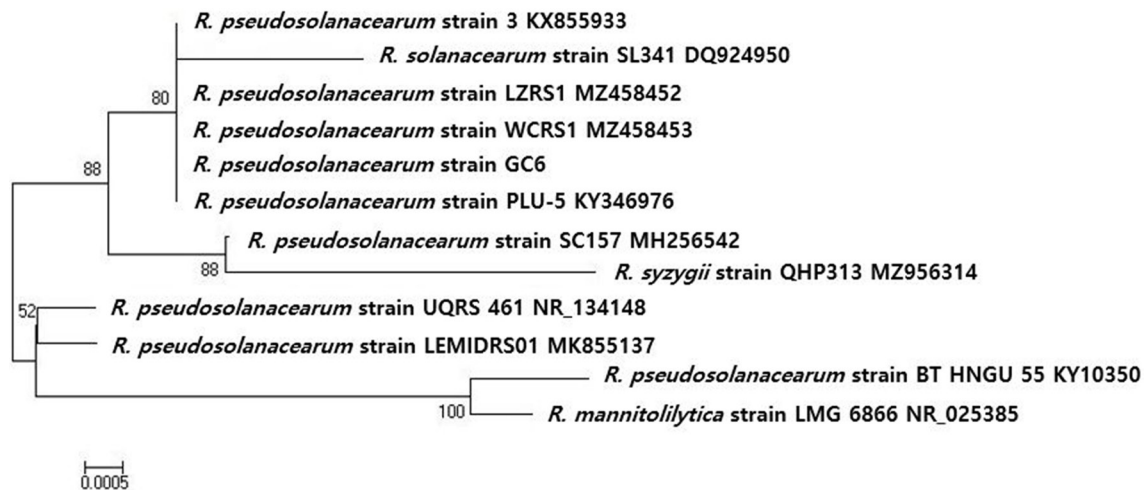


Fig. 2. Phylogenetic tree of *Ralstonia* species based on 16S rRNA sequences. Phylogenetic tree was constructed using neighbor-joining method and it was closed with *R. pseudosolanacearum*.

요 약

2021년 7월, 고창 땅콩 재배포장에서 시들음 증상을 보이는 땅콩 지상부를 발견하였다. 병징은 잎이 갈색으로 시들어 말라 죽은 것처럼 보였으며, 채집한 식물체의 지제부를 잘라 표면소독 후 멸균수에 넣었을 때 ooze 현상을 관찰하였다. 땅콩에서 순수분리된 병원균은 16s rRNA 유전자 염기서열과 phylotype 분류, 유연관계 분석을 통해 분리된 균주가 *Ralstonia pseudosolanacearum*이라는 것을 확인하였다. 현재까지 국내에 보고된 풋마름병은 고추, 토마토, 감자 등을 기주로 발생한다고 알려져 있다. 본 연구는 국내 처음으로 *R. pseudosolanacearum*에 의해 발생한 땅콩 풋마름병을 보고하고자 한다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgments

This research was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (project No. PJ016095022021)" from Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Cho, H., Song, E.-S., Lee, Y. K., Lee, S., Lee, S.-W., Jo, A. et al. 2018. Analysis of genetic and pathogenic diversity of *Ralstonia solanacearum* causing potato bacterial wilt in Korea. *Plant Pathol. J.* 34: 23-34.
- Hayward, A. C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29: 65-87.
- Korean Society of Plant Pathology. 2009. List of Plant Disease in Korea. 5th ed. Korean Society of Plant Pathology, Seoul, Korea. 853 pp.
- Lee, I., Kim, Y. S., Kim, J.-W. and Park, D. H. 2020. Genetic and pathogenic characterization of bacterial wilt pathogen, *Ralstonia pseudosolanacearum* (*Ralstonia solanacearum* Phylotype I), on roses in Korea. *Plant Pathol. J.* 36: 440-449.
- Park, E. J., Lee, S. D., Chung, E. J., Lee, M. H., Um, H. Y., Murugaiyan, S. et al. 2007. MicroTom: a model plant system to study bacterial wilt by *Ralstonia solanacearum*. *Plant Pathol. J.* 23: 239-244.
- Pattee, H. E. and Stalker, H. T. 1995. Advances in Peanut Science. American Peanut Research and Education Society, Stillwater, OK, USA. 619 pp.
- Porter, D. M., Smith, D. H. and Rodriguez Kabana, R. 1982. Peanut plant diseases. In: Peanut Science and Technology, eds. by H. E. Pattee and C. T. Young, pp. 326-410. American Peanut Research and Education Society, Yoakum, TX, USA.
- Rajeswari, P. 2015. Control of *Fusarium oxysporum* causing Fusarium wilt by *Trichoderma* spp. and *Pseudomonas fluorescens* on *Arachis hypogaea* L. *Int. J. Adv. Biotechnol. Res.* 6: 57-65.
- Saile, E., McGarvey, J. A., Schell, M. A. and Denny, T. P. 1997. Role of extracellular polysaccharide and endoglucanase in root invasion and colonization of tomato plants by *Ralstonia solanacearum*. *Phytopathology* 87: 1264-1271.
- Stalker, H. T. 1997. Peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Field Crops Res.* 53: 205-217.
- Swanepoel, A. E. 1992. Survival of South African strains of biovar 2 and biovar 3 of *Pseudomonas solanacearum* in the roots and stems of weeds. *Potato Res.* 35: 329-332.
- Thiessen, L. D. and Woodward, J. E. 2012. Diseases of peanut caused by soilborne pathogens in the Southwestern United States. *Int. Sch. Res. Notices* 2012: 517905.
- Wilson, C. 1953. Preventing the Diseases of Peanut. United State Department of Agriculture Year Book. United State Department of Agriculture, Washington, DC, USA, pp. 448-454.