

감자세균성줄기시듦병원균의 분리동정과 생물학적특성

김정림, 리원진

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《감자농사에서 혁명을 일으키기 위하여서는 감자농사에 대한 연구사업을 강화하여야 합니다.》(《김정일선집》 증보판 제19권 418페이지)

감자에서 세균성줄기시듦병[1]은 병원균인 *E. chrysanthemi*에 의하여 발생하는데 이 세균은 감자에서 단독으로 독특한 증상을 나타내고 경제적피해가 커지고있는것으로 하여 최근에 매우 심각한 10가지 감자병들중의 하나[2]로 새롭게 인식되고있는 세균병이다.

우리는 우리 나라에서 처음으로 감자세균성줄기시듦병원균을 분리동정하고 그 생물학적특성을 밝히기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

병원성검토를 위한 식물체는 전문감자원종장에서 재배하는 감자식물체를 리용하였다.

실험균주로는 전문연구소에 보관되어있는 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*를 리용하였다.

균배양배지로는 CPG배지, 켈만배지, 고기우림물-펩톤배지, TTC배지, SMSA배지를 리용하였다.

실험에는 광학현미경(《10R.BUCRESTI》), 전자현미경(《JEM-7》), 분광광도계(《ultrospec1000》), 정온기(《THERMOSTAT TV51》), 전자천평(《Vibva HG》), 원심분리기(《varifuge3.0R》), 탑크로마토그래프(《Pharmacia Biotech》), 랭동기(《MITSUBISHI》), 고압멸균기(《Tomita》), 진탕기(《Edmund Buhler》), pH미터(《TOLEDO320》), 러파멸균기, 주사기, 유리판, 유리봉과 같은 기구들을 리용하였다.

병원성세균의 분리동정과 형태학적특징 및 배양학적특징, 생리생화학적특성조사는 선행연구자료[3]에 준하여 진행하였다.

결과 및 논의

1) 감자세균성줄기시듦병원균의 분리

병원균의 분리를 위하여 병증상이 나타난 감자알과 줄기의 병반으로부터 분리한 세균들을 평판배지에서의 균무지성상으로부터 류형별로 구분하였다.(표 1)

표 1. 분리한 세균류형들의 평판배지에서의 균무지성상

시료종류	류형별로 분리된 균주	균무지성상			
		크기/mm	자라는 모양	균무지색갈	윤기
감자줄기	ㅈ-1	2.0~2.5	등근 볼록형	흰색	+
	ㅈ-2	1.5~2.0	"	노란흰색	+
	ㅈ-3	2.0~3.0	"	젖빛색	+
감자알	ㅇ-1	1.0~1.5	"	연한 노란색	-
	ㅇ-2	2.0~2.5	"	흰색	+
	ㅇ-3	2.0~2.5	"	젖빛색	+
	ㅇ-4	0.5~1.0	"	연한 흰색	-

표 1에서 보는바와 같이 감자줄기의 병반으로부터는 3개, 감자알로부터는 4개 류형의 각 이한 세균들이 분리되었다.

병반으로부터 분리한 세균들이 감자식물체에 대하여 병원성을 나타내는가를 보기 위하여 분리세균들의 부유액을 감자식물체의 잎줄에 30mL씩 접종하였을 때 나타난 증상을 조사하였다.(표 2)

표 2에서 보는바와 같이 균주 ㅈ-1, ㅇ-2를 접종한 식물체에서는 잎 색이 변하지 않고 시들었는데 낮에는 시 들고 밤에는 회복되는 증상이 반복되었다. ㅇ-3을 접종한 식물체에서는 잎 색이 누렇게 되면서 시들고 접종부위가 검은밤색으로 변하면서 썩었는데 이것은 세균성줄기시듦병의 고유한 증상이 아니었다. 균주 ㅈ-2, ㅈ-3, ㅇ-1, ㅇ-4는 감자식물체에서 병원성을 나타내지 않는 비병원성세균들이었다.

표 2. 분리세균들의 병원성검토

균주번호	발병유무	감자식물체에서 나타난 증상
ㅈ-1	+	잎색이 변하지 않으면서 시들
ㅈ-2	-	정상으로 자람
ㅈ-3	-	정상으로 자람
ㅇ-1	-	정상으로 자람
ㅇ-2	+	잎색이 변하지 않으면서 시들
ㅇ-3	+	잎색이 누렇게 변하고 접종부위가 검은밤색을 띠면서 썩음
ㅇ-4	-	정상으로 자람

이로부터 우리는 병원성검토에서 선발한 균주 ㅈ-1, ㅇ-2에 대한 재현성을 검토하였다.(표 3)

표 3. 병원성세균들의 재현성검토

균주번호	발병유무	감자식물체에 나타난 증상
ㅈ-1	+	잎색이 변하지 않으면서 시들
ㅇ-2	+	"

표 3에서 보는바와 같이 선발한 ㅈ-1, ㅇ-2균을 감자식물체에 처리한 결과 나타난 증상은 병원성검토때와 같았다.

이상의 결과들은 균주 ㅈ-1, ㅇ-2가 감자식물체에서 세균성줄기시듦병을 일으키는 병원성세균이라는것을 보여주고있다.

2) 감자세균성줄기시듦병세균의 동정

우리는 분리한 병원성세균 ㅈ-1, ㅇ-2를 동정하기 위하여 그 생물학적특성을 조사하였다.

분리한 병원성세균의 동정은 우리 나라에 표준균주가 없으므로 세균동정의 일반원칙과 방법대로 진행하였다.

감자세균성줄기시듦병세균은 다른 *Erwinia*속의 감자병원성세균들과 생리생화학적특성이 거의나 비슷하므로 오직 세가지 지표 즉 포스파타제활성, 에리트로미친감수성, 인돌형성능을 가지고 CPG배지에서 갈라내야 한다.[2]

분리한 병원성세균들의 형태학적특징을 조사한 결과는 표 4와 같다.

표 4. 분리한 병원성세균의 형태학적특징

조사지표	$\alpha-1, \alpha-2$	<i>E. chrysanthemi</i> [3]
모양	간상모양	간상모양
크기/ μm	$(0.4\sim0.5)\times(1.5\sim1.6)$	$(0.5\sim1.0)\times(1.1\sim3.8)$
그람물들이기	음성	음성
운동성	있음	있음
아포형성	형성하지 않음	형성하지 않음
초리털	여러개의 극성초리털	여러개의 극성초리털

표 4에서 보는바와 같이 분리한 병원성세균은 크기가 $(0.4\sim0.5)\mu\text{m}\times(1.5\sim1.6)\mu\text{m}$ 이고 아포를 형성하지 않는 그람음성균이었다.

분리한 병원성세균의 배양학적특징은 표 5와 같다.

표 5. 분리한 병원성세균의 배양학적특징

배지종류	배양조건	조사지표	조사내용	
			$\alpha-1, \alpha-2$	<i>E. chrysanthemi</i> [3]
고기우림물- 펩톤우무배지	30°C, 24h	균무지색갈	흰색	흰색
		균무지표면	약간 볼록함	약간 볼록함
		균무지변두리	매끈함	매끈함
		균무지모양	둥근 모양	둥근 모양
		윤기	있음	있음
		물현탁성	잘 현탁됨	잘 현탁됨
		색소형성	형성하지 않음	형성하지 않음
고기우림물- 펩톤배지	30°C, 48h	배지탈색	탈색되지 않음	탈색되지 않음
			배지웃면이 흰색을 띠고 계속 유지됨	배지웃면이 흰색을 띠고 계속 유지됨
		배지색갈과 균체형성특성	표면에 얇은 균막을 형성, 시험관밑면에 균체의 일부가 앙금형태로 가라앉음, 균막은 흔들면 쉽게 흩어짐	표면에 얇은 균막을 형성, 시험관밑면에 균체의 일부가 앙금형태로 가라앉음, 균막은 흔들면 쉽게 흩어짐
TTC우무배지	30°C, 24h	단독균무지색갈	연한 자주분홍색	연한 자주분홍색

표 5에서 보는바와 같이 고기우림물-펩톤우무배지, 고기우림물-펩톤배지, TTC우무배지에서 $\alpha-1, \alpha-2$ 균의 배양학적특성을 조사한 결과 *E. chrysanthemi*와 같았다.

분리한 병원성세균의 몇가지 생리생화학적특성을 조사한 결과는 표 6과 같다.

표 6. 분리한 병원성세균의 몇가지 생리생화학적특성

지표	<i>Erwinia carotovora</i> subsp.		$\alpha-1, \alpha-2$	<i>E. chrysanthemi</i> [3]
	<i>carotovora</i>	<i>atroseptica</i>		
37°C에서 생장	+	-	+	+
CVP배지에서 동공형성	-	+	-	-
사탕에서 환원물질의 생성	-	+	-	-
5% NaCl에서의 생장	+	+	-	-
에리트로미친감수성	-	-	+	+
인돌형성능	-	-	+	+

지 표	<i>Erwinia carotovora</i> subsp.		$\pi-1$, $\circ-2$	<i>E. chrysanthemi</i> [3]
	<i>carotovora</i>	<i>atroseptica</i>		
포스파타제 형성능	—	—	+	+
팔라티노즈	—	+	Nd	Nd
α -메틸글루코시드	—	+	—	—
당으로부터의 산형성능	락토즈	+	—	—
	말토즈	—	+	—
	라피노즈	+	+	+
	소르비톨	—	—	—
	트레할로즈	+	+	—
유기산의 리용	레몬산	+	+	+
	말론산염	—	—	+

표 6에서 보는바와 같이 분리한 병원성세균은 *E. carotovora* subsp. *carotovora*, *E. carotovora* subsp. *atroseptica*에는 없는 에리트로미친감수성과 인돌형성능, 포스파타제형성능을 가지고 있으며 이밖에도 일련의 특성지표들에서 약간씩 차이났다. 이러한 특성들은 선행연구자료[3]에 있는 *E. chrysanthemi*의 특성과 일치하였다. 이로부터 우리가 감자식물체로부터 분리한 $\pi-1$, $\circ-2$ 균이 *E. chrysanthemi*이라는것을 확인할수 있었다.

맺 는 말

1) 감자의 소출과 질에 큰 피해를 주는 세균성줄기시듦병원균을 감자알과 줄기의 병반으로부터 분리하였다.

2) 병원성세균의 형태 및 배양학적특징과 몇가지 생리생화학적특성으로부터 분리한 균은 *E. chrysanthemi*였다.

참 고 문 헌

- [1] Paul Vincelli et al.; Plant Disease, 92, 5, 660, 2008.
- [2] Phillp Case; Ten Emerging Potato Pest and Disease Threats. <http://www.fwi.co.UK>, 2011.
- [3] M. Olanya et al.; Amer. J. Potato Res., 83, 397, 2006.

주체105(2016)년 7월 5일 원고접수

The Isolation, Identification and Biological Character of Potato Stem Wilt Bacteria

Kim Jong Rim, Ri Won Jin

We clarified some of the physiological and biochemical properties as well as the morphological character and a culturing method of potato stem wilt bacteria causing a severe damage to the yield and quality of potato.

We found that the isolated bacterium is *Erwinia chrysanthemi*.

Key words: *Erwinia chrysanthemi*, potato bacterial disease, isolation, identification