

## *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*에 의한 치커리 세균성무름병

임 춘 근\*

강원대학교 농과대학 농생물학과

### Bacterial Soft Rot of Chicory by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*

Chun Keun Lim\*

Department of Agricultural Biology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

**ABSTRACT :** Occurrence of soft rots was observed on chicory that was massively grown in In-jae, Kangwon-Do, Korea. At first, a creamy lesion was appeared on the chicory root, which was enlarged slowly in diameter and in depth. The affected root area became soft and mushy. This eventually resulted in wilting and death of the aboveground parts of the chicory. The causal organism isolated from the lesions was identified as *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* based on the physiological and chemical characteristics, and on the results of the Biolog Program (Biolog Inc., U.S.A.). Since *E. carotovora* subsp. *carotovora* is the first described bacterium that causes soft rot on chicory in Korea, we propose to name the chicory disease caused by *E. carotovora* subsp. *carotovora* as "bacterial soft rot of chicory".

**Key words :** chicory, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, bacterial soft rot.

치커리(*Cichorium intybus* L. var. *foliosum*)는 국화과에 속하며 잎은 샐러드용, 뿌리는 커피 대용품으로 이용되는 다년생 숙근초로서 유럽 여러나라에서 약용, 약차로 널리 애용되고 있다(6). 치커리 성분중 이눌린은 소화기관 내에서 과당으로 소화흡수되어 영양분으로 이용되는 등 맛 뿐만 아니라 인체에 유익한 약용으로 쓰이는데(4), 이러한 치커리의 특성 및 상품가치로 인하여 우리나라에서는 강원도 인제군을 중심으로 집단재배되어 재배면적이 현재 240 ha(약 70만평, 강원도 농촌 진흥원 조사)에 이르고 있다. 외국에서와는 달리 우리나라에서는 주로 뿌리를 이용하여 차의 재료로 사용하고 있는데, 소비량의 증가에 따라 진부, 양구 등으로 재배지역이 확산되고 있다. 이와 같은 재배지역의 확산에 따라 치커리에 해를 주는 토양병해도 증가되고 있는 추세에 있는데, 그 중에서도 무름병에 의한 피해가 가장 치명적인 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 강원도 인제군의 치커리 재배지에서 채집된 무름증상이 나타난 치커리 뿌리로부터 병원세균을 분리, 동정한 결과를 보고한다.

#### 재료 및 방법

병원세균의 분리. 강원도 인제의 치커리 재배지에서 무름증상을 나타내는 치커리 뿌리를 채집하였다. 건전부와 병반부의 경계부위를 0.2~0.4×0.2~0.5 cm 정도로 절단하여 70% 알콜용액에 표면살균한 후 마쇄하였고, 평판희석법으로 mannitol-glutamate yeast (MGY)배지에 도말배양(smear culture)하여 28°C의 항온기에서 배양하였다. 배양 48시간 후 배지상에 나타난 단일 colony로부터 세균을 순수분리하였다.

병원성 검정. 분리세균을 48시간 배양한 후 세균 농도를 약 10<sup>6</sup>~10<sup>8</sup> cells/ml로 희석하여 멸균토양을 넣은 Wagner's pot (1/5000 a)에 이식된 치커리의 뿌리에 침적중하여 28°C 습실상(습도 >90%)에서 2~3일간 정지 후 발병 유무를 관찰하였다.

대조구로는 접종원으로서 멸균수를 사용하였으며, 접종식물체와 동일한 조건에서 보존한 후 접종식물체의 병징과 비교 관찰하였다.

세균학적 특성. 분리세균(EC46으로 명명함)의 세균학적 성질은 Dickey and Kelman(2), Lelliott and Dickey(5), Schaad(8) 등이 보고한 방법에 준하였으며, 속분류를 위해 Gram staining, anaerobic growth, oxidase test, yeast dextrose calcium carbonate(YDC)배지에서의 yellow pigment 생성유무, King's B(KB) 배지에서의 형광발현 유무를 조사하였으며, 종분류를 위한

\*Corresponding author.

생화학 실험으로 pectate 분해, gelatin 액화, acetoin 생성, indole 생성, 37°C에서의 생존, 질산염 환원, 산의 생성 유무, 탄수화물 및 아미노산 이용도를 조사하였다. 또한 Biolog program(Biolog Inc., U.S.A.)을 이용한 분리균의 동정을 위해 95개의 탄수화물과 아미노산이 들어 있는 Microplate(Biolog Inc., U.S.A.)에 0.85% saline solution을 만들어 분리균을 optical density가 0.08~0.17이 되도록 현탁한 후 치상하였다. 그 결과를 4시간과 24시간 후에 각각 관찰하였다. 반응결과는 Biolog program에 입력하여 분리세균의 동정자료로 사용하였다. 세균의 형태는 2% phosphotungstic acid(PTA, pH 7.0)로 염색하여 전자현미경(Zeiss E.M. 109, Germany)으로 관찰하였다.

기주범위. 분리세균의 기주범위를 조사하기 위하여 무, 배추, 감자, 당근 등의 절편에 세균을  $10^6$ ~ $10^8$



Fig. 1. The soft rot symptoms produced on chicory roots. a) Bacterial soft rot of chicory root produced by isolate EC46 of *E. carotovora* subsp. *carotovora* two days after inoculation in the pot. b) The soft rot symptoms produced on chicory roots in the field. Arrows indicate soft rots on chicory roots.

cells/ml이 되도록 희석한 후 침점증하여 샤레(직경 10 cm) 내의 여지(濾紙)위에 놓고 멸균수를 가하여 28°C 항온기에서 2~3일간 정치 후 발병유무를 관찰하였다. 이는 3반복 실시하였다.

## 결 과

공시세균의 병원성. 분리세균의 균체 현탁액을 침점증한 치커리 뿌리는 2~3일 내에 암갈색의 수침상이 형성되었고 내부조직까지 부패하였다(Fig. 1a). 이러한 병징은 재배지의 피해증상과 동일하였다(Fig. 1b). 치커리 재배지에서의 병징 초기증상은 치커리 뿌리에서 무름증상을 나타내는 것을 시작으로 시간이 지남에 따라 병징부위가 점차적으로 확대되어 뿌리가 완전히 부패하였다. 뿌리의 연부증상은 치커리 지상부위를 마르게하여 결국은 고사시켰다.

병원세균의 동정. 식물병원세균의 일반적 분류법(2, 5)에 의해 검토한 결과 치커리 뿌리에서 병원성이 확인된 병원세균은 주생모를 가진 간균(Fig. 2)으로 그 램염색과 oxidase test는 음성반응을 나타냈고, potato rot과 anaerobic growth에서 양성반응을 나타내어 Bergey's manual(5)에 기록된 *Erwinia*속 세균의 특성과 일치하였다(Table 1). *Erwinia*속에 속하는 세균의 종을 구별하기 위하여 생화학적 특성을 비교한 결과(Table 2), pectate를 분해시켰고, gelatin을 액화시켰으며, acetoin production과 nitrate reduction은 모두 양성을 나타냈다. 또한 37°C에서 생존하였고, indole 생성, phosphatase 활성은 음성을 나타냈다. D-lactose, mel-

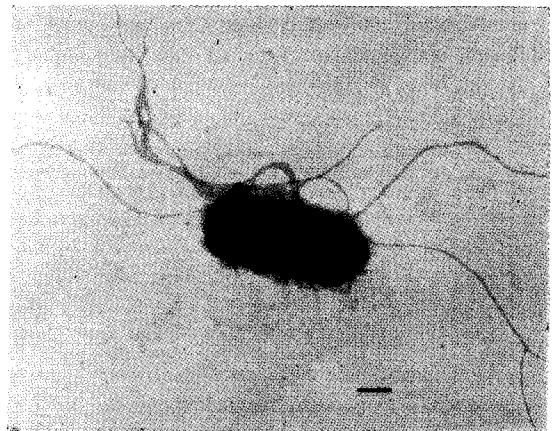


Fig. 2. Electron microscopic morphology of *E. carotovora* subsp. *carotovora* EC46 isolated from chicory. Bar represents 0.1  $\mu$ m.

**Table 1.** Characteristics used to identify genus of the present isolate, EC46, from chicory

Characteristic	EC46	<i>Erwinia</i> <sup>a</sup>
Gram stain	- <sup>b</sup>	-
Anaerobic growth	+	+
Yellow or orange pigment on YDC	-	V
Oxidase	-	-
Peritrichous flagella	+	+

<sup>a</sup> Details of *Erwinia* were as described in Lelliot & Dickey (5), and Schaad (8).

<sup>b</sup> Symbols; + : Positive reaction, - : Negative reaction, V : Variable.

**Table 2.** Species identification of the present isolate, EC 46, from chicory

Characteristic	EC46	<i>E. carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> <sup>a</sup>
Pectate degradation	+ <sup>b</sup>	+
Gelatin liquefaction	+	+
Acetoin production	+	+
Phosphatase	-	-
Indole	-	-
Growth at 37°C	+	+
Nitrate reduction	+	+
Acid production from :		
D-lactose	+	+
maltose	-	-
methyl $\alpha$ -d glycoside	-	-
melibiose	+	+
cellobiose	+	+
palatinose	+	-
Utilization of :		
malonate	-	-
galacturonate	+	+

<sup>a</sup> Details of *E. carotovora* subsp. *carotovora* were as described in Dickey & Kelman (2).

<sup>b</sup> Symbols; + : positive reaction, - : negative reaction.

ibiose, cellobiose, palatinose에서 산을 생성하였고, maltose, methyl  $\alpha$ -glycoside에서는 산을 생성하지 못하였다. 또한 malonate, galacturonate를 이용하였다. 그리고 분리세균의 보다 정확한 동정을 위하여, 접종균과 탄수화물 및 아미노산이 각각 들어있는 microplate를 4시간, 24시간 후에 관찰했을 때 다음과 같은 결과를 얻었다.

즉, tween 40, tween 80, N-acetyl-D-glucosamine, L-arabinose, D-arabitol, cellobiose, D-fructose, D-galactose, gentiobiose,  $\alpha$ -D-glucose, m-inositol,  $\alpha$ -lactose,

**Table 3.** Pathogenicity of the present isolate, EC46, on several crops

Hosts	Chinese cabbage	Potato	Radish	Carrot	Chicory
Soft rot	+ <sup>a</sup>	+	+	+	+

<sup>a</sup> + : Soft rot was observed.

lactulose, D-mannitol, D-mannose, D-melibiose,  $\beta$ -methyl-D-glucose, psicose, D-raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, sucrose, D-trehalose, methyl pyruvate, monomethyl succinate, citric acid, formic acid, D-galacturonic acid, D-gluconic acid, D-saccharic acid, succinic acid, bromo succinic acid, succinamic acid, L-asparagine, L-aspartic acid, L-glutamic acid, L-serine, inosine, uridine, thymidine, glycerol, D,L- $\alpha$ -glycerol phosphate, glucose-1-phosphate, glucose-6-phosphate에서 양성반응을 나타냈다.

반면,  $\alpha$ -cyclodextrin, dextrin, glycogen, N-acetyl-D-galactosamine, adonitol, i-erythritol, L-fucose, maltose, turanose, xylitol, acetic acid, cis-acetic acid, D-galactonic acid, D-glucosaminic acid, D-glucuronic acid,  $\alpha$ -hydroxy butyric acid,  $\beta$ -hydroxy butyric acid,  $\gamma$ -hydroxy butyric acid, p-hydroxy phenylacetic acid, itaconic acid,  $\alpha$ -keto butyric acid,  $\alpha$ -keto glutaric acid,  $\alpha$ -keto valeric acid, D,L-lactic acid, malonic acid, propionic acid, quinic acid, sebacic acid, glucuronamide, alaninamide, D-alanine, L-alanine, L-alanyl-glycine, glycy-L-aspartic acid, glycy-L-glutamic acid, L-histidine, hydroxy L-proline, L-leucine, L-ornithine, L-phenyl alanine, L-proline, L-pyro glutamic acid, D-serine, L-threonine, D,L-carnitine,  $\gamma$ -amino butyric acid, urocanid acid, phenyl ethylamine, putrescine, 2-amino ethanol, 2,3-butanediol에서 음성반응을 나타냈다. 이 모든 결과를 Biolog program이 입력되어 있는 컴퓨터로 분석한 결과, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*와 95.9%의 높은 유사도를 나타내었다.

기주범위. 분리세균의 현탁액을 침(needle)으로 배추, 감자, 무, 당근 등의 절편에 접종하였을 때 12시간 이내에 모두 연부하는 강한 병원성이 관찰되었다 (Table 3).

## 고 찰

치커리 재배지에서 무름증상을 나타내는 치커리로부터 분리한 세균을 동정한 결과, Schaad의 실험지침

서(2)와 Bergey's manual(5)에 기록된 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*의 특성과 대부분 일치하였으며(Table 1, 2), Biolog program을 이용한 탄수화물 및 아미노산 이용도 조사 결과에서도 95.9%의 유사도를 나타냈기 때문에 본 세균을 *E. carotovora* subsp. *carotovora*로 동정하였다. 본 연구에서 사용한 Biolog program은 미국 등에서 세균의 분류 및 동정에 사용되고 있는 프로그램으로 미동정 세균의 탄수화물 및 아미노산 이용도를 조사하여 이미 컴퓨터에 입력되어 있는 세균과 비교함으로써 빠른 시간 내에 분류와 동정을 할 수 있도록 고안된 프로그램이다. 그러므로 본 실험의 결과를 볼 때, *Erwinia* 뿐만 아니라 다른 세균의 조기 동정에도 활용될 수 있는 프로그램이라 사료된다. 또한 *E. carotovora* subsp. *carotovora*에 의한 치커리무름병은 국내에서 보고된 바가 없기에, 본 세균에 의한 병을 "치커리 세균성무름병(bacterial soft rot of chicory)"이라 명명할 것을 제안한다.

지금까지 치커리에 병을 일으키는 세균으로는 *Pseudomonas cichorii*(10), *Erwinia chrysanthemi*(7)와 *Erwinia carotovora*(3)가 보고되어 있다. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*의 경우 1901년 L. R. Jones에 의해 당근에서 무름병을 일으키는 것으로 처음 보고된 이후, 감자, 양파, 무, 오이, 토마토, 배추, 마늘 등 다양한 작물에서 병을 일으키는 것으로 알려져 왔다(1, 9). 이에 치커리 부패병반에서 분리한 세균을 강원도의 고령지에서 집단적으로 재배되고 있는 배추, 감자, 무, 당근 등에 접종하여 본 결과(Table 3), 모든 공시작물에 무름증상이 나타났다. 따라서 치커리 재배 지역과 근접하여 재배되고 있는 배추, 감자, 무, 당근 재배포장에서의 무름병 피해가 증가할 것으로 예상되므로, 이들 작물들에 대한 종합적인 방제대책이 간구되어야 할 것이다.

## 요 약

강원도 인제지역에서 집단재배되고 있는 치커리에 무름병이 관찰되었다. 병징 초기증상은 치커리 뿌리에서 무름증상을 나타내는 것을 시작으로 시간이 지남에 따라 병징부위가 점차적으로 확대되어 뿌리가 완전히 부패되었다. 뿌리의 연부증상은 치커리 지상부위를 마르게하여 결국은 고사시켰다. 병반부로부터 분리한 병원균은 생리, 화학적특성과 Biolog program

의 결과에 따라 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*로 동정되었다. *E. carotovora* subsp. *carotovora*에 의한 치커리의 무름병은 국내에서 보고된 바가 없기에, 본 세균에 의한 병을 "치커리 세균성무름병(bacterial soft rot of chicory)"이라 명명할 것을 제안한다.

## 감사의 말씀

본 연구는 1994년도 대산농촌문화재단 지정연구비 지원에 의한 결과이며, 실험수행에 도움을 주신 충남대학교 최재을 교수님, 농업과학기술원의 최성호 박사님께 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Agrios, G. N. 1988. *Plant Pathology*, 3rd ed., pp. 552-558. Academic Press, Inc., San Diego, 803 pp.
2. Dickey, R. S. and Kelman, A. 1988. Soft rot of "carotovora" group. In: *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, ed. by N. W. Schaad, pp. 44-59. Bacteriol. Commit. Am. Pathopath. Soc., Minnesota. 164 pp.
3. Foletto, B. 1993. The case of the chicory. *Terra e Vita*(Italy) 34(22): 47-49.
4. 김영택, 유영진, 이경웅. 1978. 치커리뿌리 성분에 관한 연구. *한국식품과학회지* 10: 258-262.
5. Lelliott, R. A. and Dickey, R. S. 1984. Genus *Erwinia*. In: *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, Vol. 1, pp. 469-476. Williams and Wilkins Co., Baltimore. 964 pp.
6. 朴權瑀. 1986. 西洋 菜蔬論. pp. 271-281. 고려대학교 출판부. 394 pp.
7. Sakai, K. 1994. Occurrence of bacterial wilt of chicory, *Cichorium intybus*, caused by *Erwinia chrysanthemi* in Saitama prefecture. *Japanese J. Plant Pathol.* 59(6): 72.
8. Schaad, N. W. 1988. Initial identification of common genera. In: *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, ed. by N. W. Schaad, pp. 1-5. Bacteriol. Commit. Amer. Phytopath. Soc., Minnesota.
9. Starr, M. P. and Chatterjee, A. K. 1972. The genus *Erwinia*: Enterobacteria pathogenic to plants and animals. *Ann. Rev. Microbiol.* 25: 389-426.
10. Wilkie, J. P. and Dye, D. W. 1973. *Pseudomonas cichorii* causing tomato and celery disease in New Zealand. *New Zealand J. Agric. Res.* 17: 123-130.