

*Pantoea agglomerans* pv. *milletiae*에 의한 등나무 흑병

김종완\* · 임진우

대구대학교 자연자원대학

The Bacterial Gall of *Wistaria floribunda* Caused by *Pantoea agglomerans* pv. *milletiae*

Jong Wan Kim\* and Jin Woo Lim

College of Natural Resources, Taegu University, Kyungsan 712-714, Korea

(Received on October 16, 2001)

A pathogenic bacterium was isolated from galls on *Wistaria floribunda* at Jinryang of Kyungsan, Kyungbuk, Korea in May, 2000. This bacterium was cultured and tested for pathogenicity on the host. Also its morphological and physiological characteristics were examined. Inoculation with the bacterium isolated from the gall caused the same symptoms as those under natural conditions. On the basis of bacteriological characteristics and pathogenecity on the host plant of the organism, the causal bacterium was identified as *Pantoea agglomerans* pv. *milletiae*. This is the first report of this bacterium to occur on *W. floribunda* plant in Korea. Therefore, we proposed to name the disease as "bacterial gall of *Wistaria floribunda*" by *P. agglomerans* pv. *milletiae*.

**Keywords :** bacterial gall, *Pantoea agglomerans* pv. *milletiae*, *Wistaria floribunda*

등나무(*Wistaria* 속)는 콩과식물에 속하는 만성낙엽활엽 목본식물로서, 일본 원산인 등나무(*W. floribunda* D.C)와 산등나무(*W. brachybotrys* Sieb. et Zucc.)를 포함하여 9종이 북미로부터 동북아시아에 걸쳐 자생하고 있다. 이들 식물은 양봉의 밀원식물로서 사료 및 식용으로 널리 쓰여지고 있으며 특히 조경과 공예식물로서 그 가치가 점점 증대되어 가고 있다. 등나무에 피해를 주고 있는 주요 병해중 세균에 의한 병해로서는 암종병과 근두암종병으로 2가지가 알려져 있다(Okajima 등, 1972). 등나무 암종병은 1920년 Kawakami와 Yoshida에 의하여 알려진 병해로서 발병초기에는 등나무 줄기에 작은 융기점을 만들며, 이것이 점차 커져서 구형 또는 반구형으로 되어 오래 되면 암종에 주름이 생기게 된다. 근두암종과는 달리 이 병해는 병원세균의 연속적 자극에 의하여 증생조직을 형성하는 병으로, 병원세균은 상처를 통하여 침입하고 절부 유조직의 세포간극에서 증식할 때 그 자극에 의하여 피해 부위 세포가 이상증식하는 것으로 알려져 있다(Braun, 1969).

2000년 5월 경상북도 경산시 진량읍 대구대학교에 소재하는 등나무에 암종이 심하게 형성되어 있음을 발견하고 실태 조사를 행한 결과 대구, 경북을 위시하여 십수년 전부터 전국적으로 그 증상이 나타나고 있음을 확인하였다. 이 연구는 등나무흑병을 일으키는 병원균을 동정하여 등나무흑병에 대한 방제체계를 확립하기 위한 기초자료를 얻기 위하여 수행하였다.

## 재료 및 방법

**병원세균의 분리.** 2000년 5월 경산시 진량읍에 소재하는 대구대학교 경산 campus에서 채집된 등나무의 이병 부위로부터 신선한 흑부위의 절편을 70% 알콜에서 1~2초간 침지한 후 다시 0.1% AgCl<sub>2</sub>에 30초간 침지하여 표면살균을 행하고 살균수로 2~3회 충분히 세척한다음 그대로 분리하거나 또는 멸균수가 들어있는 시험관에 넣고 마쇄한 다음 Bouillion agar배지(beef ex 10 g, peptone 5 g, NaCl 5 g, agar 15 g, D.W 1 l, pH 6.8~7.0)상에서 희선배양하였다. 그후 28°C 항온 배양기에서 48시간 배양하여 배지상에 나타난 colony들의 형태나 색깔이 다른 것을 각각 순수 분리하였다.

\*Corresponding author

Phone) +82-53-850-6711, Fax) +82-53-850-6719

E-mail)jwkim1@taegu.ac.kr

**병원성 검정.** 6월 하순 순수분리한 각 균주를 Bouillion agar배지에 48시간 배양한 후  $10^7$ ~ $10^8$  cells/ml의 세균현탁액으로 건전한 어린 가지에 멸균된 칼로 상처를 내고 균을 접종하였다. 접종후 접목용 비닐로 감싸고 1주일간 처리한 후 비닐을 제거하고 자연상태에서 발병상황을 조사하였다. 대조구는 멸균수로 상처접종하여 동일한 조건에 유지하면서 접종한 식물체의 병징과 비교조사 하였다.

**세균학적 특성.** 공시세균의 모양, 크기, 편모, 피막의 유무등의 형태적 특성은 Bouillion agar배지에서 28°C로 1일간 사면배양후 2%의 PTA(phospho tungstic acid, pH 7.2)에 염색한 후 전자현미경으로 관찰하였다. 운동성은 반유동 한천배지에서 혼탁의 유무에 의하여 판별하였으며 Gram 염색은 Skerman의 방법에 따랐다. Colony의 색은 Japan Color Standards를 사용하였으며, 생리 및 생화학적인 성질은 Cowan(1974), Gerhardt(1981), Harrigan(1966), Kim(1971) 및 Skerman 등(1967)의 방법에 준하였다.

### 결과 및 고찰

**분리세균의 병원성.** 세균현탁액으로 건전한 어린가지에 상처 접종을 행한 결과 접종 30~40일 후에 직경 0.3~0.5 mm의 작은 암종을 형성하였다(Fig. 1). 이러한 병

징은 자연상태에서의 병징과 유사하였다.

**병원세균의 동정.** 병원성이 검정된 병원세균은 그람 음성의 7~8개의 주모를 가진 운동성 간균으로 Methylene blue와 같은 일반세균 염색색소에 쉽게 염색이 되며, 피막은 형성하나 아포는 발견되지 않았다.

28°C의 한천배지상에서 2일간 배양한 세균의 크기는  $0.7$ ~ $1.0 \times 1.2$ ~ $2.3 \mu\text{m}$ 이었다. 보통한천배지상에서 40~48시간 후에 직경 1~1.5 mm의 작은 노란색(yellowish white)의 평활(smooth)하고 습광을 띤 반투명한 colony를 형성하였다. 사면배양에서의 colony는 사상으로 구상(raised), 습광이 있는 반투명한 우락질(butterious)로 되어있다. 보통한천배지상에서의 발육은 중(moderate)정도로 배양 1일 후에는 배지를 혼탁시키며 회색의 균막이 나타나서 3일 후에는 균막이 파괴되어 침전을 형성하였다. Table 1, 2에서 보는 바와 같이 호기성 세균으로서 유화수소를 생성하나 indol을 생성하지 않았으며, gluconate를 산화하였으나 질산은 환원시켰으며 litmus우유를 응고시키지 않고 소화하였다. 그 밖의 성장에서 O.F test에서는 발효적으로 당을 산화하였으며, M.R. test에서는 양성반응을 나타내었다. 또한 전분을 가수분해하지 못하였으며 Levan은 형성하나 Dextran은 형성하지 못하였다.

sodium citrate와 sodium acetate, sodium gluconate를 탄

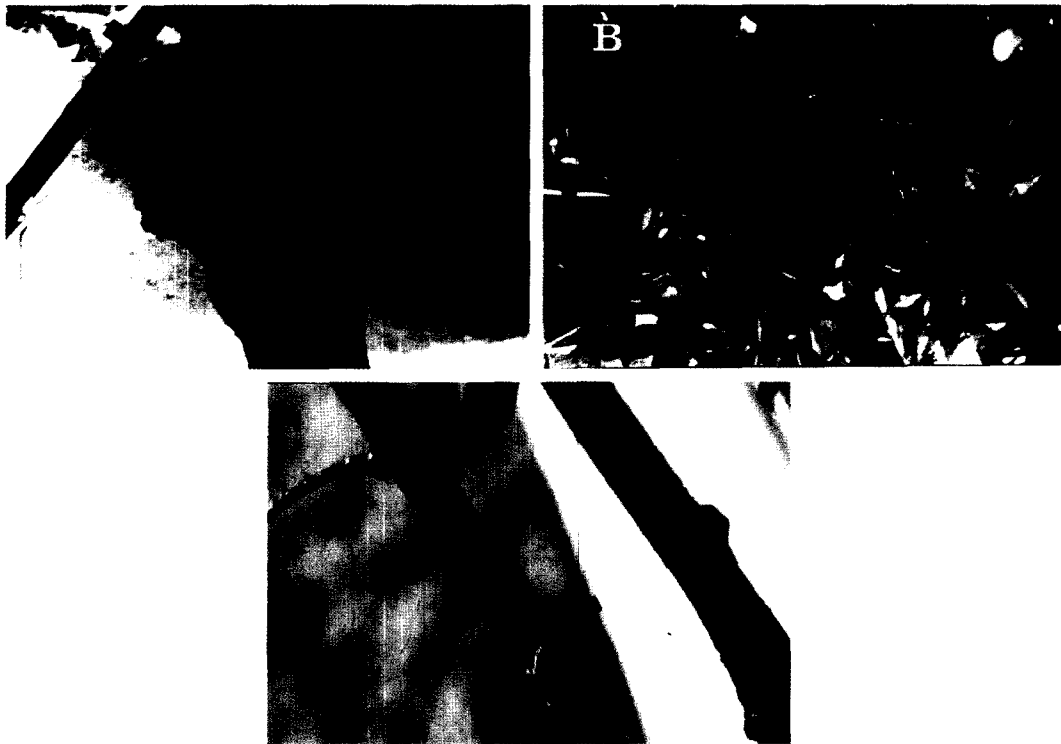


Fig. 1. The galls on stems of Wistaria caused by the causal organism in nature (A, B) and observed 30 days after artificial inoculation (C).

**Table 1.** Morphological and physiological characteristics of the present isolate and *Pantoea agglomerans*

Characteristics	Present isolate	<i>P. agglomerans</i>		
		Krieg <sup>a</sup>	Characteristics of <i>P. agglomerans</i> pv. <i>milletiae</i> by	
			Kawakami <sup>b</sup>	Goto <sup>c</sup>
Flagella	Peritrichous	Peritrichous	Peritrichous	Peritrichous
Capsule	+ <sup>d</sup>	+	+	+
Shape	rod	rod	rod	rod
Gram stain	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S production	+	-	-	+
Gluconate oxidation	+	-	-	+
Nitrate reduction	+	+	+	+
Phenylalanin deamination	-	+	-	+
Yellow pigment	+	+	+	+
NH <sub>3</sub> production	+	-	-	+
Catalase test	+	+	+	+
O.F. test	F	F	-	F
M.R. test	+	d	-	+
Levan formation	+	-	-	+
Dextran formation	+	-	-	+
NaCl tolerance	7-8%	-	-	7-10%
Indol production	-	-	-	-
Starch hydrolysis	-	-	-	-
Egg digestion	+	-	-	-
Milk coagulate	-	-	-	-
Milk digestion	+	-	-	-
Milk reaction	alkaline~acid	-	alkaline	acid
Dihydroxyacetone from glycerol	+	-	-	+
Sodium citrate	+	-	-	+
Sodium acetate	±	-	-	-
Sodium benzoate	-	-	-	-
Sodium gluconate	+	-	-	-

<sup>a</sup>Cited from Bergey's manual of determinative bacteriology Krieg, N.R. *et al.* (1994).

<sup>b</sup>Cited from Kawakami, K. *et al.* (1920).

<sup>c</sup>Cited from Goto, M. *et al.* (1980).

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

**Table 2.** Acid production from carbohydrates by the present isolate and *Pantoea agglomerans*

Characteristics	Present isolate	<i>P. agglomerans</i>		
		Krieg <sup>a</sup>	Characteristics of <i>P. agglomerans</i> pv. <i>milletiae</i> by	
			Kawakami <sup>b</sup>	Goto <sup>c</sup>
Cellobiose	+ <sup>d</sup>	d	-	-
Dextrose	+	+	-	+
Dextrine	-	-	-	-
Galactose	+	+	+	+
Glycerol	+	-	-	-
Inositol	+	-	-	-
Inulin	-	-	-	-
Lactose	-	-	+	-
Maltose	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+
Raffinose	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-
Starch	-	-	-	-
Sucrose	+	+	+	+
Xylose	+	+	-	+

<sup>a</sup>Cited from Bergey's manual of determinative bacteriology Krieg, N.R. *et al.* (1994).

<sup>b</sup>Cited from Kawakami, K. *et al.* (1920).

<sup>c</sup>Cited from Goto, M. *et al.* (1980).

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

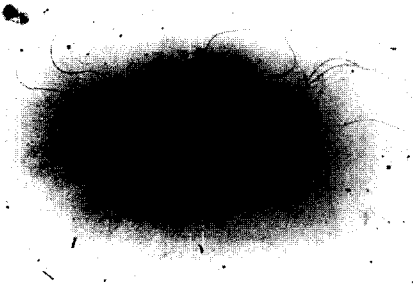


Fig. 2. Electron microscopic morphology of *Pantoea agglomerans* pv. *milletiae* isolated from Wistaria.

소원으로 이용하나 sodium benzoate는 이용하지 못하였으며, 탄수화물인 mannitol, xylose, galactose, sucrose, cellobiose를 분해하여 산을 형성하였으나 raffinose, lactose, dextrin, sorbitol, starch, inulin은 이용하지 못하였다. 내염성은 7~8%로 강한 편이었고 37°C에서는 발육하였으나 40°C에서는 발육하지 못하였다. 이러한 사실은 Kawakami와 Yoshida(1920) 및 Goto 등(1980)의 기재에 있어서 inositol과 glycerol로 부터의 산의 생성능력과 phenylalanin deamination에서 차이를 나타내고 있을뿐 그 밖의 성상이 일치하여 분리된 균은 *Pantoea agglomerans* pv. *milletiae*로 동정되었다. 이 병은 우리나라에서 아직 보고된 바 없는 병으로서 이에 대한 연구는 거의 행하여진 바 없다. 원래 등나무암종병의 병원세균은 최초의 발견자 Kawakami와 Yoshida가 1920년 *Bacillus milletiae*로 명명한 바 있었다. 그러나 아포를 형성하지 않는다는 이유로 1937년 Magrou(Lelliott, 1974)에 의해서 *Erwinia milletiae*로 재명명 되었으며, Bergey's manual 8판(Lelliott, 1974)에서는 *E. herbicola* group에 속하는 *E. herbicola* var. *herbicola*에 소속시키고 있다. 즉 *E. herbicola*를 *E. herbicola* var. *herbicola*와 *E. herbicola* var. *ananas*의 2개의 Variety로 나누고, *E. milletiae*를 *E. herbicola* var. *herbicola*의 하나의 strain으로서 취급하였다. Gavini 등(1989)은 *Erwinia herbicola*-*Enterobacter agglomerans* complex에 속하는 10 종류의 strain의 GC함량, 단백질 전기영동 및 DNA hybridization을 조사하여 새로운 속으로서 *Pantoea*를 제안하였으며, 2개의 종으로서 *P. agglomerans*와 *P. dispersa*를 채택하고 종전의 *Enterobacter agglomerans* 및 *Erwinia herbicola*, *E. milletiae*를 묶어 *Pantoea agglomerans*로 명명할 것을 제안하였다. Bergey's manual 9판(Krieg 등,

1994)에서는 이를 채택하였고, 등나무(*milletiae japonica*)에 병원성을 가지는 이유로 1996년 Young 등은 그 병원성을 인정하여 pathovar로서 *Pantoea agglomerans* pv. *milletiae*를 인정하고 있다.

## 요 약

2000년 5월 경북 경산시 진량읍 대구대학교에 소재하는 등나무에 암종이 심하게 형성되어 있음을 발견하였다. 병원체를 분리하고 얻어진 병원세균으로 병원성을 확인한 후 동정을 행하였다. 그 결과 병원세균은 일반 세균학적 성상 및 병원성에 의하여 *Pantoea agglomerans* pv. *milletiae*로 동정이 되었으며 이 병은 우리나라에서 처음 보고되는 것으로서, 이들 병원세균에 의한 그 병명을 “등나무혹병”이라 명명하기를 제안한다.

## 참고문헌

- Braun, A. C. 1969. The Cancer Problem. A Critical Analysis and Modern Synthesis. Columbia Univ. Press. New York.
- Cowan, S. T. 1974. Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. 2nd ed. Cambridge University Press. London. 335pp.
- Gavini, F., Mergaert, J., Mielcarek, C., Izard, D., Kersters, K. and De Ley, J. 1989. Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nob. and description of *Pantoea dispersa* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 39: 337-345.
- Gerhardt, P., Murray, R. E., Costilow, R. N., Nester, E. W., Wood, W. A., Krieg, N. R. and Phillips, G. B. 1981. Manual for Methods of General Bacteriology. American Society for Microbiology. Washington. 524pp.
- Goto, M., Takahashi, T. and Okajima, T. 1980. A comparative study of *Erwinia milletiae* and *Erwinia herbicola*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* 46: 185-192.
- Harrigan, W. F. and McCane, M. E. 1966. Laboratory Methods in Microbiology. Academic Press. N.Y. 362pp.
- Japan Subcommittee on Taxonomy of Phytopathogenic Bacteria. 1980. A guide to the new scientific names of phytopathogenic bacteria. *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* 46: 185-192.
- Kawakami, K. and Yoshida, S. 1920. Bacterial gall on Milletiae plant (*Bacillus milletiae* sp.). *Bot. Mag. Tokyo.* 34: 110-115.
- Kim, J. W. 1971. Studies on the plant Pathogenic *Corynebacterium*. M.S. thesis. Tokyo University of Agriculture.
- Krieg, N. R., Holt, J. G., Sneath, P. T. H., Staley, S. T. and Williams, S. T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed., The Williams and Willkins Co. Baltimore. 787 pp.
- Lelliott, R. A. 1974. Genus XII. *Erwinia*. In: *Bergey's Manual of*

- Determinative Bacteriology*. 8th ed. The Williams and Willkins Co. Baltimore. 1246 pp.
- Okajima, T., Goto, M. and Okabe, N. 1972. Histopathology of bacterial gall of Japanese wistaria (*Wistaria floribunda*). *Bot. Mag. Tokyo*. 85: 177-185.
- Skerman, V. B. D. 1967. A Guide to the Identification of the Genera of Bacteria. 2nd ed. The Williams and Willkins Co. Baltimore USA. 303pp.
- Young, J. M., Saddler, G. S., Takikawa, Y., De Boer, S. H., Vauterin, L., Gardan, L., Gvozdyak, R. I. and Stead, D. E. 1996. Names of plant pathogenic bacteria 1864-1995. *Rev. Plant Pathol.* 75: 722-762.