

Fusarium oxysporum f.sp. *fragariae*에 感染된 딸기의 病態組織에 관한 研究

文炳周·鄭厚燮*

東亞大學校 農科大學 農生物學科
* 서울大學校 農科大學 農生物學科

Histopathology of Strawberry Plant Infected with *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*

Byung Ju Moon and Hoo Sup Chung*

Department of Agricultural Biology, College of Agriculture,
Dong-A University, Pusan 600-02, Korea

*Department of Agricultural Biology, College of Agriculture,
Seoul National University, Suwon 170, Korea

要 約

Fusarium oxysporum f. sp. *fragariae*에 의한 딸기 시들음병에 感染된 딸기 植物의 病態組織學的 特徵을 光學顯微鏡으로 調査한 結果 自然 또는 人工 感染된 딸기의 뿌리, 冠部, 잎자루 및 匍匐枝의 導管內에는 本 病菌의 菌絲와 大型, 小型 分生胞子가 관찰되었으며, 이들 菌體에 의한 導管의 閉鎖와 維管束內에 形成된 腔(Cavity)이 관찰되었으나 다른 分化型에서 분수 있는 導管柔組織의 肥大現象, 填充體 및 pectin 物質에 의한 導管閉鎖는 관찰할 수 없었다. 따라서 딸기 시들음병의 萎凋發生은 菌體에 의한 導管의 閉鎖가 重要한 要因으로 생각되었다.

ABSTRACT

Histopathological changes of strawberry plants infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* Winks & Williams were examined. In all sections of the plant parts including roots, crowns, petioles and runners naturally and artificially infected with the fungus, fungal hyphae and conidia, and their plugging were found in xylem vessels, and formation of cavities was noted in the vascular cylinders. The xylem vessels were not localized with pectic materials, tyloses were not formed, and xylem parenchyma cells were not hypertrophied. The results suggest that plugging or disconnection of xylem elements by the fungus may be an important factor in inducing characteristic symptoms associated with *Fusarium* wilt of strawberry.

Key words: histopathology, *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*, strawberry.

緒 論

딸기 시들음병은 1965년 瀛洲에서 Winks 와 Williams(19)에 의하여 처음으로 *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* 로 同定되었으며, 그 후 日本에서

加藤과 廣田(8), 吉野와 橋本(20), 우리나라에서는 1982년 金 등(9)이 *F. oxysporum*, 1984년 曹卜文(5)은 그 分化型이 Winks와 Williams의 菌卜同一한 것으로 同定한 바 있다.

本病에 대하여는 현재까지 주로 發生, 分布 및 生態學的인 面에서의 研究와 品種抵抗性 및 化學的 防除 등에 관한 報告만 있을 뿐 病態組織學的 研究을 통한 病原菌의 感染過程과 寄主組織 内部에서의 菌의 行動과 寄主組織의 變化에 대한 研究는 없다. 딸기 시들음병의 病徵은 萎凋를 일으키는 急性型과 잎의 畸形, 黃變 및 萎縮을 일으키는 慢性型으로 區別한 수가 있으나(5, 20), 内部病徵으로서 罹病株의 冠部와 잎자루의 導管部가 褐變된다는 報告(5, 3, 11, 20)만 있을 뿐이다.

*F. oxysporum*에 의한 각종 作物의 萎凋機作은 毒藥에 의한 導管機能의 장애 때문이라는 假說(4)과 菌이나 그 産物에 의한 導管閉鎖說이 있다. 導管을 堵塞하는 pectin 物質(6, 7, 12, 14), 그 밖에 肥大現象과 填充體(2, 6, 12)도 導管閉鎖에 관련된 것으로 알려져 있으며, 또한 導管의 閉鎖는 菌絲나 孢子卜役割이 큰 것으로 考察되어 왔으나, 一般적으로 機作을 複合的으로 해석하고 있다(6, 7, 14). 한편 Saaltink 등(15), Dimond(6)는 각각 토마토 시들음병과 수박 덩굴쪼김병에서 菌絲에 의한 導管閉鎖를 확인하였다.

*F. oxysporum*의 感染에 대한 寄主의 病態組織學的 變化로써 이 밖에도 導管變色(2, 4, 6, 7, 10, 13), 導管系組織 細胞의 崩괴(4, 12), 維管束內 腔形成(12)을 들 수 있다.

本 研究는 딸기 시들음病菌의 感染過程, 寄主組織 内部에서의 菌의 行動樣相과 外部病徵 發展과의 관련 및 寄主組織의 變化를 病態組織學的으로 究明하고자 한다.

材料 및 方法

本病에 대하여 感受性 品種인 實交早生種에서 自然感染되어 急性型和 慢性型 病徵을 띠고 있는 딸기 冠部를 1 cm 크기로 切取하여 供試하였다. 그 밖에 病原性이 강한 *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* 1 菌株의 分生孢子 浮遊液(10^8 개/ml) 20 ml로 接種된 段菌上에 實交早生 苗를 栽植하고 1週日 間 4회로 7週까지 週別로 딸기 冠部, 葉, 葉자루, 匍匐枝를 1 cm 크기로 切取하여 Berlyn과 Mi-

ksche(3)의 方法으로 組織을 檢鏡하였다. 즉 FAA 溶液에 試料를 20時間 固定하였고, 알콜속에서 段階的으로 脫水處理하였으며 paraplast 로 浸透와 包埋한 후에 15μ 두께로 切片을 만든 후 methyl green 과 safranin 을 同量으로 섞어서 染色하여 檢鏡하였다.

結 果

F. oxysporum f. sp. *fragariae*에 의한 딸기 시들음병에 感染된 딸기 植物의 病態組織學的 特徵을 光學顯微鏡으로 調査하였다. 自然과 人工感染에 의한 寄主反應의 差異는 觀察되지 않았으며, 自然感染되어 심하게 萎凋가 發生된 冠部의 導管에서는 黃綠色 내지 畸形葉이 發生된 植物의 것에 비하여 本病菌의 菌絲 또는 分生孢子로 閉鎖된 導管이 많이 觀察되었고 感染된 導管數도 현저히 많았다(Fig. 1).

病原性이 강한 S1 菌株를 接種하여 1週 間隔으로 7週까지 뿌리, 冠部, 葉자루 및 匍匐枝의 切片을 만들어 調査한 結果 接種 1週째의 뿌리 導管內에서 本病菌의 菌絲가 관찰되었으며 가끔 皮層細胞內에서도 菌絲가 보였으나 分生孢子나 기타 異物質은 分 수가 없었다.

冠部에서는 3週째 切片의 導管內에 菌絲와 分生孢子가 觀察되었으나, 感染된 導管數가 적었고 感染 導管에서도 菌의 密度가 적었다. 그러나 接種後 經時的으로 外部病徵이 뚜렷이 나타남에 따라서 感染 導管數가 增加하였고, 菌絲나 分生孢子의 密度가 높은 導管이 많이 관찰되었다(Fig. 2a). 어떤 導管에서는 菌絲 또는 分生孢子가 密集되어 菌絲塊가 形成되기도 하였는데, 특히 萎凋가 심한 植物의 導管에서는 菌絲塊로 閉鎖된 경우가 현저하게 많았다(Fig. 2b). 甚하게 感染된 試料는 節部뿐만 아니라 그 주위의 皮層細胞內에서도 가끔 菌絲가 觀察되어 導管에서 주위의 皮層部位로 나오는 것이 確認되었다(Fig. 2c). 가끔 木部와 髓, 木部와 節部 또는 節部와 皮層組織 사이에 腔(cavity)이 觀察되었으며, 初期에는 크기가 적었으나(Fig. 2d) 後에는 크기가 增加되어 維管束이 髓와 皮層組織 사이에 分離된 것도 觀察되었다(Fig. 2e).

葉자루에서도 接種 6週 내지 7週째의 切片의 導管에서는 菌絲나 分生孢子가 많이 觀察되었다(Fig. 3a, b). 또 이 때의 匍匐枝의 導管에서도 菌絲나 分生孢子가 보였으며(Fig. 4a, b, c, d), 導管의 閉鎖

도 觀察되었다(Fig. 4e, f).

한편 導管内 菌絲는 導管을 따라 縱으로 자라면서 (Fig. 4d) 分枝하여 導管壁에 附着, 密生하여(Fig. 2f) 菌絲와 分生胞子의 塊를 形成, 導管을 閉鎖하며, 또 導管壁의 壁孔을 侵入하여 한 導管에서 다른 導管으로 橫的 伸長하는 것도 관찰되었다.

健全株에서는 볼 수 없었던 球形物質이 分生胞子와 함께 冠部의 導管内에서 가끔 관찰되었으나, 이 物質에 의한 導管의 閉鎖는 볼 수 없었다(Fig. 5). 本 病菌이 관찰된 切片에서는 菌絲 또는 分生胞子가 單獨으로 觀察되기도 하나 대부분은 두 가지가 同時에 보였으며, 接種 7週째까지 어느 切片에서도 導管内에서 菌絲生長에 앞서 分生胞子만 單獨으로 先行移動하는 것은 觀察되지 않았다.

考 察

딸기 시들음病菌의 寄主 侵入部位를 究明하려고 시도하였으나 딸기植物의 維管束 部分이 皮層이나 髓組織에 비하여 단단하기 때문에 切片을 만들기가 어려워져서 상세한 調査를 할 수 없었다. 그러나 뿌리의 導管과 皮層細胞内에서 가끔 菌絲가 관찰되었으므로 *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans* 에 의한 양배추 누렁이病(12, 13, 17), *F. oxysporum* f. sp. *diant-*

hi 에 의한 카아네이손 시들음病(12) 등 *F. oxysporum*의 他 分化型에서 報告된 것처럼 뿌리의 根端이나 表皮를 통하여 侵入, 導管까지 도달하는 것으로 생각된다. 그러나 宿根을 侵入하는지 또는 形成지 며칠 내지 數週日만에 죽고, 또 새로이 形成는 잔뿌리로부터 侵入하는지는 추후 究明되어야 겠다.

딸기 시들음病菌을 接種하면 1週째의 뿌리 導管内에서 本 菌이 觀察되기 시작하여 冠部에서는 3 週, 잎자루의 導管에서는 6~7週째에 관찰되었고 끔 導管 壁孔으로 侵入하는 것도 있었으므로 딸 뿌리의 維管束까지 侵入한 菌絲가 매우 느린 속도 導管을 따라 縱的 伸長을 하고, 또 壁孔을 통해 導管과 導管 사이로 橫的 伸長도 하는 것으로 生된다. 壁孔을 통한 橫的 伸長은 카아네이손 시들 病(12), 토마토 시들음病(4), 양배추 누렁이病(에서도 證明된 바 있다.

感染 初期에 導管内에서 풍부하게 形成된 分生 子が 증등류를 따라 運搬됨으로써 신속한 全身의 染이 일어난다는 報告(1, 2, 6, 12, 16)와는 달리 딸 植物의 導管内에서는 菌絲가 定着된 후에 비로소 生胞子가 形成되었으며, 만약 分生胞子가 증등류 따라 運搬된다면 菌絲에서 分離된 分生胞子가 菌 伸長에 앞서 發見된 것이나, 어느 切片에서도 菌絲

Explanation of Plates

[Plate I]

Fig. 1. Longitudinal section through the crown of strawberry plants naturally infected with *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae* showing xylem vessels plugged with conidial mass (x200).

Fig. 2. Longitudinal and cross section through the crown of strawberry plants artificially inoculated with *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*.

2a. Xylem vessels with a number of hyphae and conidia at the advanced stage of infection (x200)

2b. Xylem vessel showing the lumen plugged with the conidial mass (x200).

2c. Mycelium progressed from the vascular region into the surrounding cortical cells (x200).

2d. Cavity(arrows) formed between the xylem and pith (x50).

[Plate II]

2e. Cavity(arrows) formed between the xylem and pith, and between the xylem and phloem (x50)

2f. Hyphae growing in clumps against a perforation plate (x500).

Fig. 3. Longitudinal sections through the petiole of strawberry plants artificially inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*.

3a,b. Mycelial and conidial mass (x200).

Fig. 4. Longitudinal and cross sections through the runner of strawberry plants artificially inoculated with *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*.

4a. Mycelia established in the xylem vessels (x200).

[Plate III]

4b,c,d. Mycelia and conidia established in the xylem vessels (Fig. 4b and 4c, x500; Fig. 4d, x200)

4e,f. Xylem vessels plugged with the mycelial and conidial mass (Fig. 4e, x200; Fig. 4f, x500).

Fig. 5. Granular material(arrows) in xylem vessel of crown infected with *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae* (x500).

Plate I

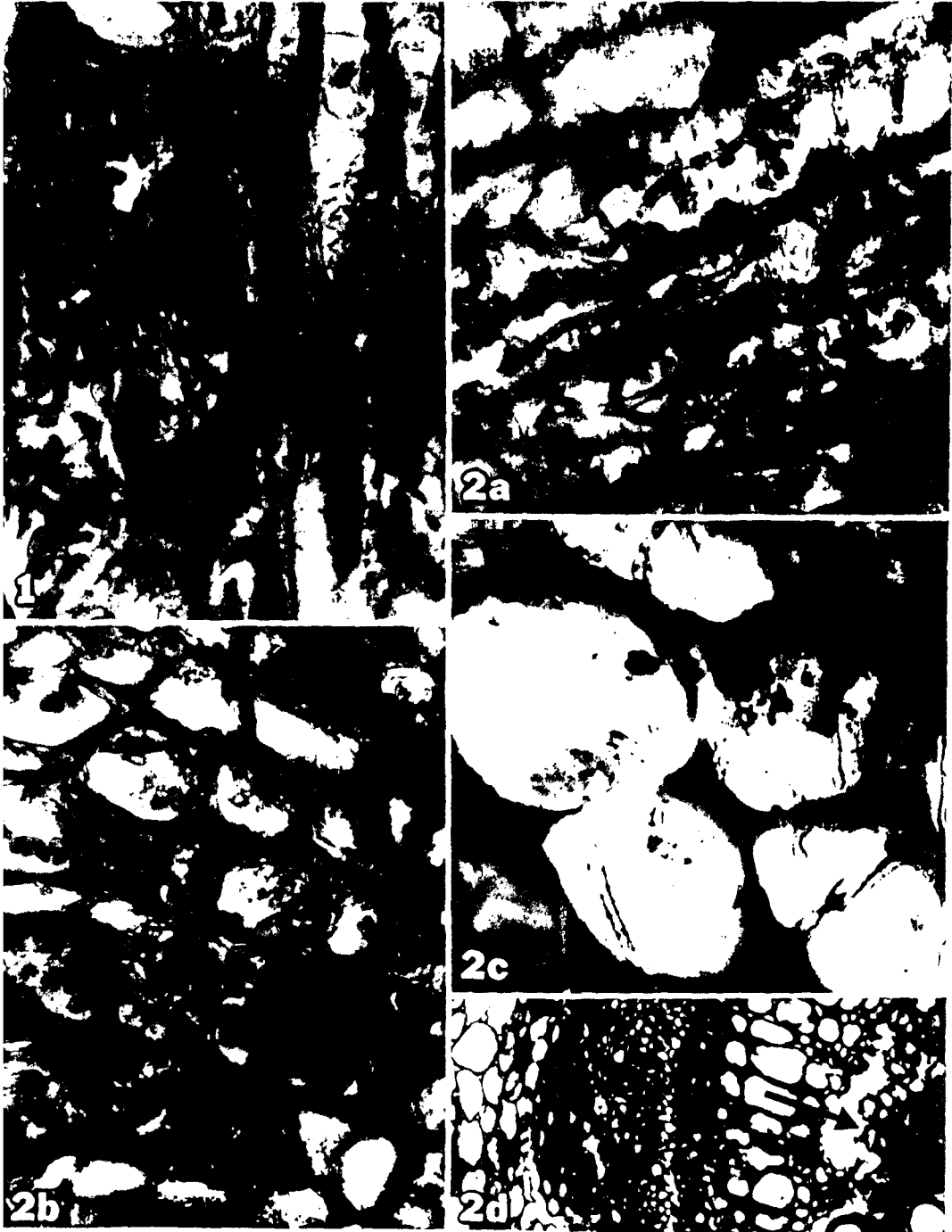


Plate II

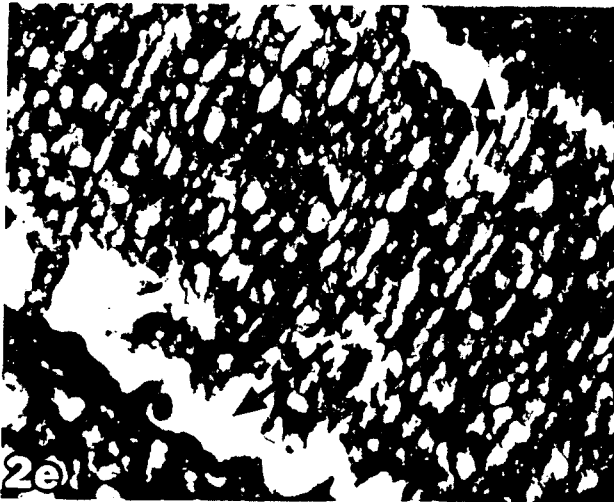


Plate III



앞서 分生孢子만 單獨으로 관찰되지 않았고, 또 本病的 潛伏期間이 30~50日(9, 11, 20)인 것으로 보아도, 카아네이손의 시들음病에서와 같이(12) 分生孢子가 증동류를 따라 運搬되지 않는 것으로 생각된다.

本 研究에서 外部病徵이 뚜렷이 나타남에 따라서 感染導管數가 增加되고 萎凋病徵이 심한 植物이 慢性型 病徵만 보이는 植物에 비하여 導管內에 菌絲나 分生孢子가 가득 차서 閉鎖되는 것이 많이 觀察되었으나, 他 作物의 시들음病에서 報告된 導管柔組織의 肥大現象과 填充體(2, 6, 12) 및 pectin 物質(6, 7, 12, 14)에 의한 導管閉鎖는 관찰되지 않았으므로 Saaltink 등(15), Dimond(6)가 報告한 바와 같이 딸기에서도 萎凋發生의 原因은 菌絲와 分生孢子에 의한 導管의 機械的인 閉鎖가 重要한 役割을 하는 것으로 생각하였다. 또 딸기植物의 導管細胞壁에는 壁孔이 많은 것이 特徵(18)이므로 壁孔을 통한 菌絲의 侵入 때문에 木의 側面移動이 減少되는 것도 萎凋發生의 한 原因으로 추측되었다.

參 考 文 獻

1. BECKMAN, C. H. & HALMOS, S. (1962). Relation of vascular occluding reactions in banana roots to pathogenicity of root-invading fungi. *Phytopathology* 52:893-897.
2. BECKMAN, C. H. (1964). Host responses to vascular infection. *Ann. Rev. Phytopathol.* 2: 231-252.
3. BERLYN, G. P. & MIKSCHIE, J. P. (1976). Botanical microtechnique and cytochemistry. The Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa. 326pp.
4. CHAMBERS, H. L. & CORDEN, M. E. (1963). Semeiography of *Fusarium* wilt of tomato. *Phytopathology* 53:1006-1010.
5. 曹鍾澤·文炳周. (1984). 딸기 시들음病에 관한 研究. 韓植保護誌 23: 74-81.
6. DIMOND, A. E. (1955). Pathogenesis in the wilt diseases. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 6: 329-350.
7. GOTHOSKAR, S. S., SCHEFFER, R. P., WALKER, J. C. & STAHMANN, M. A. (1955). The role of enzymes in the development of *Fusarium* wilt of tomato. *Phytopathology* 45:381-387.
8. 加藤喜重郎·廣田耕作. (1972).イチゴ萎黃病に關する研究. 第一報 寄生性および傳染法について. 關西病虫研報 14: 85-86.
9. 金忠會·徐孝德·趙元大·金聖奉. (1982). *Fusarium oxysporum*에 의한 양딸기 시들음病의 藥劑防除 및 品種抵抗性에 관한 研究. 韓植保護誌 21: 61-67.
10. MACE, M. E., VEECH, J. A. & BECKMAN, C. H. (1972). *Fusarium* wilt of susceptible and resistant tomato isolines: Histochemistry of vascular browning. *Phytopathology* 62: 651-654
11. 岡本康博·藤井新太郎·加藤喜重郎·芳岡昭夫. (1970). イチゴの新病害「萎黃病」. 植物防疫 24: 231-235.
12. PENNYPACKER, B. W. & NELSON, P. E. (1972). Histopathology of carnation infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *phytopathology* 62: 1318-1326.
13. PETERSON, J. L. & POUND, G. S. (1960) Studies on resistance in radish to *Fusarium oxysporum* f. *conglutinans*. *Phytopathology* 50:807-816.
14. PIERSON, C. F., GOTHOSKAR, J. C. & STAHMANN, M. A. (1955). Histological studies on the role of pectic enzymes in the development of *Fusarium* wilt symptoms in tomato. *Phytopathology* 45: 524-527.
15. SAALTINK, G. J. & DIMOND, A. E. (1964). Nature of plugging material in xylem and its relation to rate of water flow in *Fusarium*-infected tomato stems. *Phytopathology* 54: 1137-1140.
16. SCHELFFER, R. P. & WALKER, J. C. (1953). The physiology of *Fusarium* wilt of tomato. *Phytopathology* 43: 116-125.
17. SMITH, R. (1930). A cytological study of cabbage plants in strains susceptible or resistant to yellows. *Jour. Agr. Research.* 41: 17-35.
18. WHITE, P. R. (1927). Studies of the physiological anatomy of the strawberry. *Jour. Agr. Research* 35: 481-492.
19. WINKS, B. L. & WILLIAMS, Y. N. (1965). A wilt of strawberry caused by a new form of *Fusarium oxysporum*. *Queensl and J. Agr. Ani. Sci.* 22: 475-479.
20. 吉野正義·橋本光司. (1978). イチゴ萎黃病の發生生態と防除に關する研究. 埼玉園試研報 7: 13-34