

수박 대목용 참박에 발생한 *Monosporascus cannonballus*에 의한 검은점뿌리썩음병(黑点根腐病)

박경석* · 남상현¹ · 김충회

농업기술연구소 병리과, ¹홍농종묘육종연구소

Root Rot of Bottle Gourd Stock of Watermelon Caused by *Monosporascus cannonballus* in Korea

Kyung Seok Park*, Sang Hyeon Nam¹ and Choong Hoe Kim

Department of Plant Pathology, Agricultural Sciences Institute, Suwon 441-707, Korea

¹Plant Breeding Institute of Hung Nong, Chochiwon 339-800, Korea

ABSTRACT : The fungal pathogen *Monosporascus cannonballus* was first isolated in Korea from the rotted roots of bottle gourd stocks of collapsed watermelon plants in fields near Chochiwon, Choongnam province in July, 1993. Perithecia of *M. cannonballus* were dark brown to black, globose, 220~570 µm in diam. and had many ascii. Ascii are hyaline, clavate to pyriform, and 50~120×35~50 µm in size. Ascospores were aseptate, dark brown to black, globose, 25~45×30~50 µm in diam, and borne singly in each ascus. The fungus grew in the temperature range of 4 to 34°C, best at 30°C. The optimum pH for growth was 6.8. Mycelial growth rate of *M. cannonballus* was 25.5 mm/day on PDA at 26°C. Perithecia began to form after 20-day-growth on PDA and produced mature ascii after 30 days or later. In the greenhouse inoculation tests, the fungus developed water-soaked lesions on roots of bottle gourd seedlings and was then reisolated from the lesions. Severe damages on watermelon plants by *M. cannonballus* are greatly concerned in Korea, since no stocks used for watermelon cultivation have been reported to be resistant to the fungus.

Key words : Bottle gourd, *Monosporascus cannonballus*, watermelon, root rot, etiology.

박과작물인 수박은 1년생 덩굴식물로 여름과일의 주종을 이루고 있으며 시설하우스의 증가로 연중생산되고 있다. 또한 농가에서는 시들음병 등에 의한 토양전염성 병해의 예방을 위하여 참박을 대목으로 하여 수박을 재배하고 있다. 1993년 7월 충남 조치원읍 근처의 수확을 앞둔 한 수박 재배포장에서 원인불명의 시들음병이 대발생하여 조사한 결과 부패된 수박대목용 참박의 뿌리 및 땅가줄기에서 *Monosporascus cannonballus*가 분리되었다(5). 이 균은 1974년 미국의 Pollack & Uecker(6)에 의하여 명명되었으며, 일본에서는 1979년 처음 발견되어(13) 현재는 수박뿐 아니라 멜론 재배에도 큰 피해를 주고 있는 균으로 토양소독에 의한 방법 외에는 뚜렷한 방제방법이 아직 개발되지 않고 있다. 수박대목으로 쓰고 있는 대부분의 참박품종이 이 병에易病성이고, 오

이에도 동일한 병해를 일으키는 것으로 보고하고 있어(10) 이 균이 전파될 경우 많은 피해가 우려된다. 본 연구는 *M. cannonballus*의 병원학적 특성을 규명하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

병원균의 분리. 1993년 7월 충남 조치원읍에서 수확을 앞둔 수박의 지제부가 갈변되고 수박포기 전체가 말라죽는 병징을 나타내는 수박 뿌리를 수집하였다. 병원균의 순수분리를 위하여 수집된 이병뿌리조직을 3~5 mm 크기로 자른 다음 0.1% 차아염소산나트륨에 표면 살균하여 물한천배지 위에 치상하였다. 28°C로 3일간 배양하여 자라 나온 군사선단을 무균적으로 물한천배지와 함께 잘라 감자한천배지(PDA)로 옮겨 배양한 후 시험에 공시하였다. 또한 이병된 줄기와 뿌리로부터 직접 병원균을 분

*Corresponding author.

리하기 위하여 시료를 10 cm 크기로 잘라 20×15×10 cm 크기의 플라스틱통에 넣어 28°C로 2~3일간 습 실처리하였다. 이때 이병시료에 형성된 자낭각과 자낭포자를 분리하여 PDA 사면배지에 옮겨 병원균을 분리하였다.

병원균의 균학적 특성 조사. PDA 평판배지에 공시균주를 치상하여 28°C로 30일간 배양하여 형성된 자낭각과 균사체의 특징을 조사하였다. 수박 뿌리 이병조직에 형성된 병원균의 특성조사를 위하여 병반에 부착된 자낭각을 떼어내어 광학현미경 100~400 배로 관찰하여 균학적 특성을 조사하였다. 주사전자 현미경 관찰을 위하여 시료를 2 mm 크기로 잘라 2.5 % glutaraldehyde에 90분간 전고정시켜 중류수로 세척한 다음 2% osmium tetroxide에 1시간 후 고정하였다. 그 후 50% ethanol로 2~3회 세척한 다음 50, 75, 90, 100% ethanol에 각각 40분씩 탈수하였다. 마지막으로 amyl acetate에 40분씩 2차례 침적하여 20분간 완전 건조한 다음 금을 회복하여 Hitachi S-570 주사전자현미경으로 검정하였다.

병원균의 배양적 특성 조사. PDA 평판배지에 공시균주를 접종한 다음 4~35°C까지 9개 온도에서 각각 배양하고 5일 후의 균총직경을 측정하여 생육 최적온도를 조사하였다. 최적 pH의 조사를 위하여는 PDA 배지에 NaOH와 HCl을 첨가하여 수소이온 농도를 4.6, 5.0, 6.0, 6.85, 7.5가 되도록 조절하여 페트리접시에 20 cc씩 분주한 다음 병원균의 절편을 치상하여 배양하였다. 배양 후 3일째 각 처리별 균사진전도를 측정하여 최적 pH범위를 조사하였다. 사용된 3균주는 각각 다른 이병 식물체로부터 분리된 균주였으며, 각각의 처리는 모두 5반복으로 실시되었다.

병원성 검정. 자낭각 형성을 위하여 PDA 배양 기에서 28°C로 30일간 배양시킨 다음 배지상에 형성된 자낭각을 회수하여 유발로 자낭각을 가볍게 부순 다음 중류수를 첨가하여 자낭포자를 중류수 1 ml당 1000개 수준으로 조절하였다. 20×15×18 cm 크기의 사각포트에 참박(품종: 참피온) 종자를 6립씩 파종한 다음 병원균의 자낭포자를 토양 1 g당 50개 수준으로 관주하였다. 25~30°C의 온실에서 60일까지 병해 발생 상황을 조사하였고 60일 후 이병뿌리에 형성된 자낭각으로부터 병원균을 재분리하였다.

결 과

병징 및 병원균. 병원균이 분리된 수박 포장은 수확을 2~3주 앞둔 포장으로 발병이 심하여 수박

포기 전체가 모두 고사되어 있었다(Fig. 1g). 지제부는 겹게 변색되어 있었고, 완전히 말라 죽지 않은 수박 줄기는 수침상으로 갈변되었으며 잎은 시들어 쳐져 있었다. 심하게 발병된 포기는 잔뿌리가 거의 없이 뿌리전체가 갈변되어 있었다. 수집한 병든 뿌리를 28°C로 3일간 습실처리하여 뿌리 표면을 해부현미경 40배로 관찰해 보면 뿌리 표면에 뿌리검은점썩을병의 전형적인 특징인 많은 수의 자낭각이 형성되어 혹 점처럼 보였다(Fig. 1c). 병원균의 분리는 신선한 이병조직을 물한천배지에 치상하여 28°C로 배양하면 1~2일 후 이병조직으로부터 쉽게 균사가 형성되어 분리할 수 있었다. 또한 쉽게 이탈되어 관찰이 용이하였다.

병원균의 균학적 특성. 자낭각은 직경 220~570 μm의 흑색구형으로 기주조직에 함몰되거나 노출되어 있었다(Table 1). 이병조직상의 자낭각에는 보통 100개 이상의 자낭과 자낭포자가 형성되는데 비하여 (Fig. 1a) PDA배양기에 형성된 자낭각에는 자낭과 자낭포자의 형성이 다소 적었다(Fig. 1d). 또한 *in vitro*에서의 *M. cannonballus*의 자낭각은 2주 후부터 형성되기 시작하여 자낭각이 완전히 성숙하기까지는 30~40일이 소요되었다. 자낭각의 표면은 갈색을 띠며 다른 자낭각에서 흔히 형성되는 그물무늬를 볼 수 없었고 자낭포자가 성숙하여 흑갈색을 나타냄에 따라 점차 흑갈색을 띠었다. 자낭은 50~110×35~50 μm의 크기로 무색투명한 얇은 막으로 이루어졌으며 곤봉형으로 1개의 자낭포자를 싸고 있었다(Fig. 1b). 자낭포자는 직경 30~45×35~50 μm의 크기의 구형으로 자낭각이 완전히 성숙하게 되면 자낭포자가 자낭각 위로 누출되었으며 점질물과 함께 자낭각 위로 나와 한데 뭉쳐 있었다(Fig. 1d). 또한 자낭포자 혼탁액을 만들기 위하여 자낭포자를 중류수에 회석 할 경우 잘 분산되지 않았다. 미성숙한 자낭포자는 처음에는 무색에서 차츰 갈색으로 변하였고, 완전 성숙하면 흑색 또는 흑갈색을 띠었다. 측사(paraphyses)는 자낭보다 길게 나선형으로 위치하고 격막이 있으며, 크기는 94~165×4~8 μm로 자낭각의 안쪽 벽으로부터 자라나 있었다(Fig. 1a). 그러나 돌출부가 뚜렷한 자낭각의 경우에는 측사의 방향이 돌출부를 향하였다. 전자현미경으로 보면 도관내로 진출한 균사체를 볼 수 있었으며 병징이 심할수록 조직의 괴사와 도관내 균사체의 수는 현저히 증가하였다(Fig. 1f). 그러나 도관내에는 자좌, 자낭각 등의 기관은 전혀 관찰되지 않았다. 절단하여 전자현미경으로 본 자낭 각은 격벽이 잘 발달되어 있고, 측사는 자낭각의 중앙으로 발달해 있었으며(Fig. 1a). 또한 광학현미경

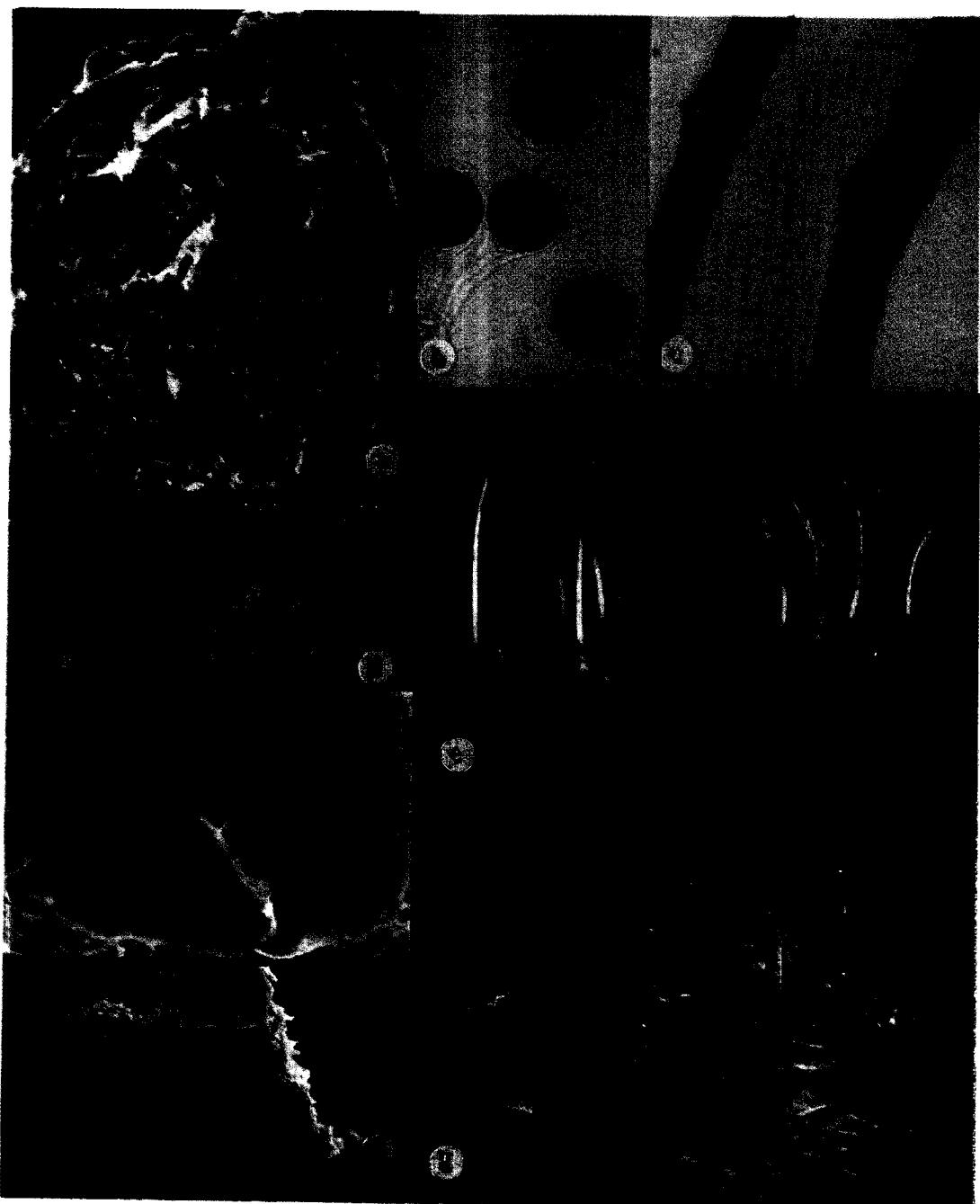


Fig. 1. a: Electron micrograph of cross section of a perithecioid of *M. cannonballus* developed on the diseased roots of bottle gourd plants, b: Ascus with a single ascospore inside, c: Black perithecia developed on the diseased roots of bottle gourd stocks of watermelon plants, d: Perithecia developed on PDA after 30-day-growth at 30°C, e: Symptoms produced by *M. cannonballus* on bottle gourd seedlings grown in greenhouse 50 days after soil-drench inoculation with spore suspension (left: inoculated, right: check), f: Electron micrograph showing growth of *M. cannonballus* in the vascular bundles of the infected roots of bottle gourd plants (upper half: magnified view of the square box indicated in the lower half), g: A severely infected field of watermelon with *M. cannonballus* found near Chochiwon in Chungnam province in 1993.

Table 1. Comparison of mycological characteristics of *Monosporascus cannonballus* isolates

Characteristics	Present study	Pollack & Uecker (1974)
Peritheciun		
diam.	220~570 µm	near 500 µm
shape	globose, periapical ring present	globose, periapical ring present
color	dark brown	light brown to dark brown
Ascus		
size	50~110×35~50 µm	56~90×30~55 µm
shape	clavate to pyriform	clavate to pyriform
color	transparent	transparent
septum	none	none
Ascospore		
diam.	30~45×35~55 µm	25~50×30~55 µm
shape	globose	globose
color	light brown to black	light brown to black

^a Based on the growth on potato dextrose agar at 25°C.

으로 보면 자낭포자를 감싸고 있는 투명한 자낭을 볼 수 있었다(Fig. 1b).

병원균의 배양적 특성. *M. cannonballus*의 생육은도 범위 조사를 위하여 PDA 배양기에 군사판을 접종한 결과 25°C 배양기내에서는 36시간째부터 군사가 배지상으로 자라 나오며 배양 5일 후에는 87.5 mm 크기의 색에 전면에 가득 자랐다. 군사 생육 속도는 26°C로 배양할 경우 25.6 mm/day였다(Fig. 2). 배양 초기에는 군사가 무색으로 미약하게 생장하는데 배지상에 윤문을 형성하거나 배지를 변형, 변색시키는 군주는 없었다. *M. cannonballus* 온도시험 결과 생육 최저온도는 5°C였으며 최고온도는 35°C 이상이었고, 생육 적온은 30°C로 고온균에 속하였다(Fig. 2). 수소이온농도에 따른 군사 생장은 pH 6.85에서 가장 생육이 좋았는데, pH 6.0에서도 큰 차이를 나타내지 않았다(Fig. 3).

분리군의 병원성. 수박 대목용 참박은 참피온 품종을 이용하였는데 *M. cannonballus*가 접종된 참박은 파종 5일 후 발아하였으며 18~32°C 초자온실에서 10일 후에는 10 cm까지 자라났다. 온실육묘 30일째 까지 외견상 무처리구와 병원균 접종구와의 차이는 전혀 없었으나 육묘 50일경에는 뽐트내 상토의 양분이 소실되어 박의 묘가 충분히 자라나지 못하였다. 이때 병원균 접종구의 줄기 부분이 변색되기 시작하였으며 뿌리를 뽑아서 흙을 털어버린 후 현미경으로 검정한 결과 많은 수의 자낭각이 뿌리에 형성되어 있는것을 관찰할 수 있었다. 가는 뿌리는 대부분

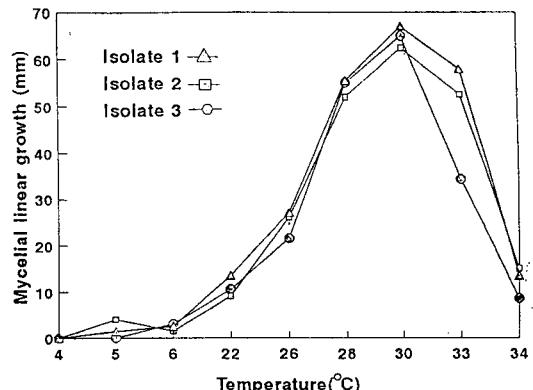


Fig. 2. Effect of temperature on vegetative growth of *Monosporascus cannonballus* on PDA isolated from the collapsed bottle gourd stocks of watermelon plants.

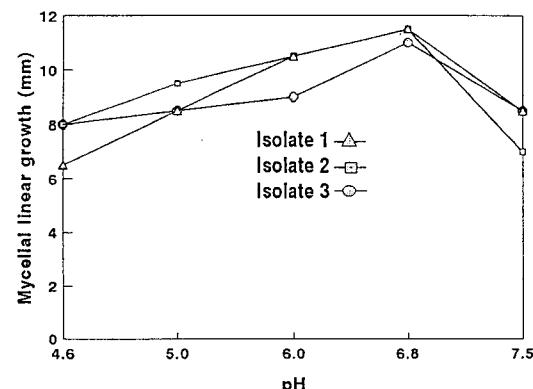


Fig. 3. Effect of pH on vegetative growth of *Monosporascus cannonballus* on PDA isolated from the collapsed bottle gourd stocks of watermelon plants.

죽어 있었으며 남아있는 굵은 뿌리도 갈변되어 있었다(Fig. 1e). 그러나 병원균 무접종구에는 잔뿌리의 형성이 훨씬 많았으며 뿌리의 변색과 자낭각의 형성이 전혀 없었다.

고 칠

*M. cannonballus*는 1975년 Pollack & Uecker(6)에 의하여 cantalope 멜론의 병원균으로 처음 명명되었는데, *Monosporascus*속에는 *M. cannonballus*, *M. monospora*와 *M. eutypoides*가 알려져 있다(1, 6). Pollack & Uecker에 의하면 *M. cannonballus*는 그 균학적 특성이 *Anixiella monospora*(2, 3, 4)와 유사하나 *M. cannonballus*은 자낭각 표면에 솔기상무늬(Cephalothecoid peridium)가 없고 자낭구의 후색 돌출구를 가

지거나 유두돌기형인 특징으로 *Anixiella monospora*와 확인히 구별되는데 본 시험에서도 이와 같은 특성을 확인할 수 있었다. 본 연구에서 분리된 균주는 자낭각, 자낭, 자낭포자, 측사 등의 균학적 특성이 Pollock & Uecker의 연구결과와 잘 일치하여 *M. cannonballus*로 동정할 수 있었다. *M. monospora*은 자낭포자의 크기에서, *M. eutypoides*는 자낭포자의 크기와 수에서 *M. cannonballus*와 뚜렷이 구별되므로 동정에 별다른 어려움은 없을 것으로 생각된다.

일본에서는 1979년 멜론의 뿌리로부터 이 균이 처음 보고된 이래(13) 植松에 의하여 그 병원성이 확인되었다(9~12). 수박대목용 참박에 처음 발생한 것은 1986년 일본 지바현에서이며 현재는 일본 각지에서 발생하고 있는 것으로 알려지고 있다(12). 우리나라의 경우에는 참박으로 접목재배한 수박에서 처음으로 발견되었지만 외국의 연구결과로 보아 멜론에도 발생할 가능성이 매우 크다(5). 이 균은 신선한 이병조직을 표면살균하여 물한천배지에 치상하면 1~2일 후 쉽게 분리되나, 자낭포자를 물한천배지에 옮길 경우에는 전혀 자라지 않았으며, 일반적으로 식물 병원진균을 배양하는데 사용되는 PDA, V-8 juice agar, Czapek-Dox agar, Oatmeal agar 등의 배지에서도 전혀 자라지 않았다. 또한 휴면타파를 목적으로 자낭포자를 -20°C로 1주간 보관한 다음 배지상에 치상하여도 전혀 빌아하지 않았다. 영양조건이나 온도가 알맞은 조건에서도 포자가 빌아하지 않는 원인은 아직 밝혀지지 않고 있으나 이는 자낭포자의 휴면 또는 물리적 특성에 기인한 것으로 생각된다. Hawksworth & Ciccarone은(1) *M. eutypoides*의 경우 자낭포자는 30°C 이상에서만 특이적으로 빌아한다고 보고하였는데, 이 균에 대하여는 아직 시험된 바 없다. *M. cannonballus*는 생육온은이 30°C였으며 34°C 이상에서는 균사생장이 급격하게 멀어지는데, 적정 생육온도 범위는 22~33°C까지였다. 이와 같은 특성은 토양 온도조절에 의한 본 병해의 생태적 방제에 매우 중요한 단서가 될 것으로 생각된다. 본 균은 PDA 배양기상에 접종한 다음 광처리하면 균총의 색이 흑색으로 변하는데 반하여 암상태로 배양한 균총은 무색으로 자랐다. 그러나 자낭각 형성은 광처리에 크게 영향을 받지 않았다. 광조사에 의한 균사 변색반응은 균총의 멜라닌 형성과 관련이 있는 것으로 생각되므로 앞으로 이 분야에 대한 더욱 깊은 연구가 요구된다.

본 균을 수박대목용 참박(품종: 참피온)에 접종시켰을 때 50일 이후에야 식물체에 나타난 병징을 볼 수 있었는데 이병식물체는 생육중기에 대조구와 비

교하여 뿌리 형성량이 다소 적었으며 포기전체가 고사한 식물체의 뿌리에서는 많은 수의 자낭각이 형성된 것을 관찰할 수 있었다. 이와같은 결과는 Pollock & Uecker(6)와 植松(12)의 결과와 거의 일치하였다. 본 균은 일본의 경우 특히 멜론에 피해가 큰 것으로 알려져 있는데, 植松(10)에 의하면 오이에도 발병하는 것으로 알려져 있어 이에 대한 대책 수립이 시급하다. 또한 수박의 경우 대부분 농가에서 덩굴 쪼김병 방제를 위하여 참박을 대목으로 접목재배하고 있는데, 내병성으로 알려진 대목품종은 아직 보고된 바 없어 피해가 우려된다. 호박의 경우 이 병에 비교적 저항성을 나타내는 것으로 알려져 있으나 수박 및 멜론의 품질저하 문제로 실제로 이용이 어려울 것으로 생각된다.

본 병원균은 토양 중에서 5년 이상 생존하는 것으로 알려져 있으므로(12) 수박을 비롯한 박과작물의 연작은 뿌리검은점썩음병의 발생을 크게 증가시킬 것으로 생각된다. 결론적으로 *M. cannonballus*가 이미 국내에 존재하는 것으로 미루어 앞으로 그 피해를 최소화하기 위하여 빠른 시일내에 이 병의 방제를 위한 생리생태 연구와 약제검정 등의 시험이 수행되어야 할 것으로 생각된다. Reuveni et al.(7)에 의하면 *Monosporascus*속 중에서 *M. eutypoides*도 멜론 뿌리에 발병하는 것으로 보고하고 있는데, 이 병의 발생은 *M. cannonballus*와는 달리 생육초기에 시들음병을 일으키며 중동지방의 전조하고 뜨거운 토양 조건의 멜론재배에서 심하게 발생하는 것으로 알려져 있다. 이와 같이 세계적으로 *Monosporascus*속에 의한 박과 작물병의 발생 빈도가 높아지고 있는데 우리나라도 그 피해가 확대되기 전에 이에 대한 대책이 시급히 마련되어야 할 것으로 생각된다. 본 병은 국내 미기록 병해이므로 앞으로 검은점뿌리썩음병(黑點根腐病, *Monosporascus* root rot)으로 칭하고자 한다.

요 약

1993년 7월 충남 연기군 조치원읍의 한 수박 재배포장에서 발생한 원인불명의 시들음증상으로부터 *Monosporascus cannonballus*를 분리하였다. 자낭각은 직경 220~570 μm 크기였고 흑색 구형이었으며 자낭은 50~120×35~50 μm의 곤봉형으로 투명하였다. 1개의 자낭에는 흑갈색 내지 흑색의 자낭포자를 1개씩 형성하며 그 직경은 32~47.5 μm였다. 균사 생장온도 범위는 5~34°C 이상이며 최적 생육온도는 30°C였다. 최적 pH는 6.8이었으며, 균사 생장속도는

PDA상 26°C에서 25.5 mm/day였다. 자낭각은 배양 2주 후부터 형성되기 시작하는데 성숙된 자낭은 30일 이후에 볼 수 있었다. 본 병원균을 참박유묘에 접종하여 관찰하면 과종 50일째부터 시들음증상이 발생하였으며 이때 뿌리는 대부분 갈변화되어 남아있는 굵은 뿌리에는 자낭각이 형성되었다. 이 병원균은 외국의 경우 수확기의 멜론, 수박에 큰 피해를 주는 것으로 보고되고 있으며, 현재 사용되는 대목이 모두 이병성으로 알려져 있어 앞으로 국내에서도 이 병에 대한 피해가 심각하게 우려된다.

참고문헌

- Hawksworth, D. L. and Ciccarone, A. 1978. Studies on a species of *Monosporascus* isolated from *Triticum*. *Mycopathologia* 66: 147-151.
- 小野木靜夫, 塙松清次, 柏谷昌孝, 渡邊恒雄, 土屋行夫. 1983. 千葉懸下で発生したメロンの萎ちよう病について. 日植病報 49(1): 126-127.
- 小林亨夫, 勝本謙. 1992. 植物病原菌類圖說 76-77面. 全國農村教育協會.
- Malloch, D. and Cain, R. F. 1971. New cleistothelial Sordariaceae and new family, Coniochaetaceae. *Can. J. Bot.* 49: 869-880.
- 박경석, 남상현, 김명희, 김충희. 1983. 수박대목용 참박에 발생한 *Monosporascus cannonballus* Pollack and Uecker에 의한 黑点根腐病(가칭). 한식병보 9(4): 327.
- Pollack, F. G. and Uecker, F. A. 1974. *Monosporascus cannonballus*, an unusual Ascomycete in cantaloupe roots. *Mycologia* 66: 346-349.
- Reuveni, R., Kikum, J. and Shani, U. 1983. The role of *Monosporascus eutypoides* in a collapse of melon plant in an arid area of Israel. *Phytopathology* 73: 1223-1226.
- Troutman, J. L. and Matejka, J. C. 1970. Three fungi associated with cantaloupe roots in Arizona. *Phytopathology* 60: 1317 (abstracts).
- 植松清次, 小野木靜夫, 渡邊恒雄. 1985. *Monosporascus cannonballus* Pollack and Uecker のメロンに對する病原性とメロン黒点根腐病. 日植病報 51: 272-276.
- 植松清次, 赤山喜一郎. 1987. メロン黒点根腐病のメロン類およびそのウリ科作物への寄生性. 日植病報 53: 382.
- 植松清次, 廣田耕作, 白石俊昌, 大泉利勝. 1991. *Monosporascus cannonballus* による黒点根腐病(新稱). 日植病報 57: 129.
- Uematsu, S., Hirota, K., Shiraishi, T., Ooizumi, T., Sekiyama, K., Ishikura, H. and Edagawa, Y. 1992. *Monosporascus* root rot of bottle gourd stock of watermelon caused by *Monosporascus cannonballus*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 58: 354-359.
- Watanabe, T. 1979. *Monosporascus cannonballus*, an Ascomycetes from wilted melon roots undescribed in Japan. *Trans. Mycol. Soc. Japan* 20: 312-326.
- 渡邊恒雄, 小野木靜夫, 塙松清次, 和泉一, 小玉孝, 田中孝. 1983. 各地で発生した メロン黒点根腐病. 日植病報 49(1): 127.