

Pythium spinosum Sawada에 의한 꽃도라지 뿌리썩음병의 발생

김진원 · 김성기¹ · 박은우* · 홍순성¹ · 양장석¹
서울대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부
¹경기도 농촌진흥원 식물환경과

Occurrence of *Lisianthus (Eustoma grandiflorum)* Root Rot Disease Caused by *Pythium spinosum* Sawada

Jin Won Kim, Sung Kee Kim¹, Eun Woo Park*, Soon Sung Hong¹ and Jang Souck Yang¹
Division of Applied Biology and Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences,
Seoul National University, Suwon 441-744, Korea
¹Department of Plant Environment, Kyonggi Provincelial Rural
Department Administration, Hwasong 445-970, Korea

ABSTRACT: A *Pythium* species was isolated from roots of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) showing wilt symptoms and reduced growth in a greenhouse at Ichon, Kyonggi-do in 1997. The *Pythium* species was identified as *Pythium spinosum* Sawada based on various mycological characteristics. The isolate was strongly pathogenic when inoculated to root of lisianthus plants in pots. The diseased plants showed typical symptoms of root and crown rot, resulting in reduced growth of roots and shoots, and consequently wilting of the above ground part of plants.

Key words : *Pythium spinosum*, *Lisianthus*, pathogenicity, root rot, wilt symptoms.

꽃도라지(*Lisianthus*; *Eustoma grandiflorum* Shinn-ers)는 전세계적으로 관상용 분식 및 절화용으로 주목받고 있는 화훼작물로 최근 우리 나라에서도 널리 재배되기 시작하고 있다. 이들은 주로 15°C~25°C의 조건에서 생육이 되는 저온성 작물로 주로 하우스의 시설재배지에서 재배되고 있다. 꽃도라지에 병을 일으키는 주요 병원성 진균으로는 *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Peronospora* sp., *Rhizoctonia* sp. 그리고 *Sclerotinia* sp. 가 알려져 있으며(1, 18, 21), 이중 *Pythium* spp.에 의해 발생하는 병해 증상으로는 주로 뿌리썩음병에 의한 시들음 증상이다(21).

우리 나라에서의 꽃도라지에 발생하는 병해 중 *Pythium* spp.에 의한 병 발생에 대해서는 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 1997년 4월에 경기도 이천지역의 시설재배농가에서 발생한 시들음 증상의 개체의 뿌리로부터 분리된 *Pythium* sp.를 동정하고 그 병원성을 조사하였다.

재료 및 방법

Pythium sp. 분리. 1997년 4월 중순경 경기도 이천시

호법면 안평리의 꽃도라지 시설재배 농가의 비닐하우스에서 시들음 증상을 나타내는 개체를 채집하였다. 썩음 증상을 나타내는 뿌리와 관부 조직 및 수침상 증상을 나타내는 하엽을 분리하여 이를 표면살균한 후 물한천배지(water agar; 2.0%) 위에 치상하여 25°C 항온기에서 24~48시간 배양 후 현미경 검경을 통해 *Pythium* sp.임을 확인하였다. *Pythium* sp.의 순수분리를 위해 물한천배지 위에서 전배양시킨 균주를 Schmitthenner(17)가 사용한 sucrose-asparagine selective medium위에 치상한 다음 25°C 항온기에서 24~48시간 배양시킨 후 이를 다시 potato-carrot agar(PCA) 배지에 이식하여 공시하였다. 균주는 PCA배지에서 배양한 균을 cork-borer로 채취하여 살균수에 넣어 보관하는 살균수 보관법(12)을 이용하였고, 실험실내 그늘진 곳에 보관하면서 사용하였다.

Pythium sp.의 배양 및 형태적 특성조사. 분리된 *Pythium* sp.의 배양 및 형태적 특성을 관찰하기 위하여 저영양 배지인 PCA 배지와 김과 박(8)이 사용한 sucrose-asparagine bentgrass leaf culture (SABL) 배지를 이용하였다. 배양적 특성을 관찰하기 위하여 PCA 배지에서 균사생장형, 기중균사의 형성유무, 균사생육범위 및 적온을 조사하기 위하여 5°C 간격으로 5°C~45°C 범위에서의 균사생장 속도를 조사하였다. 형태적 특성을 조사하기 위하여 PCA 배지에서 배양시킨 미동정 *Pythium*

*Corresponding author.

sp.를 SABL 배지에 접종시켜 배지 표면과 creeping bentgrass 잎 조각에 형성된 *Pythium* sp.의 포자낭, 장란기, 장정기, 난포자 및 그 밖의 특성을 조사하였다. 분리한 *Pythium* sp.의 배양 및 형태적 특성을 조사하여 Dick(2), Hendrix(5), 이(14), Middleton(15), Van der Plaats-Niterink(19), Waterhouse(20) 그리고 Yu와 Ma(22)의 분류 key를 이용하여 동정하였다.

병원성 검정. 분리한 *Pythium* sp.의 병원성 검정을 위하여 접종원은 공시균주를 oat-meal 모래배지(무계비율 = oat-meal 1: 모래 20: 물 4)에 접종 후 25°C에서 14일간 배양한 것을 사용하였고, 꽃도라지는 경기도진흥원내 하우스에서 pot에서 재배중인 것을 이용하였다. 접종방법으로는 직경 13 mm, 깊이 30 mm인 구멍을 서로 대칭되도록 3개 뚫고, 이 중 1곳은 대조구로 dry-oven에서 140°C이상에서 3회 살균시킨 모래를 채우고(Fig. 1A), 나머지 2곳에는 준비된 접종원을 넣은 경우(접종원 I)(Fig. 1B)와 pot내 토양을 1/2정도 제거한 후 그 밑에 준비된 접종원을 채우는 경우(접종원 II)(Fig. 1C) 등 2가

지 방법으로 접종하였다. 각각의 처리는 접종 후 저면관수하고 pot를 비닐봉지로 덮어 20°C 항온실에서 48시간 동안 습실처리하였고 이후 비닐을 제거하고 20°C 항온조건과 RH 70%에서 50일간 생육시키며 나타나는 증상을 조사하였다. 각 처리구는 3반복으로 하였으며, 병원성 정도는 시들음 증상의 정도와 뿌리의 썩음 정도를 대조구와 비교하였고, 시들음 증상을 나타내는 피해 개체의 뿌리는 현미경으로 관찰하여 *Pythium* sp.의 유무를 확인하였다.

결 과

병징. 병든 개체들은 외관상 잎이나 줄기에 특징적인 병반은 형성하지 않았고, 처음에는 일시적인 시들음 증상을 나타내지만 시간이 지남에 따라 결국 회복되지 못하고 고사하였다(Fig. 2A, B). 이들 개체를 채집하여 지하부 뿌리를 관찰하면 뿌리는 심하게 갈변하여 있거나 검게 썩어 있고, 잔뿌리는 대부분 고사하여 있으며, 심한 경우 관부도 갈변하여 있었다(Fig. 3). 이처럼 시들음 증상을 나타내는 개체는 건전한 개체에 비해 생육부진 및 뿌리의 발달이 현저히 떨어져 있었고(Fig. 4), 외관상 건전한 개체의 경우도 일부는 뿌리 끝이 썩어 있는 것이 관찰되었다(Fig. 5).

***Pythium* sp.의 분리 및 동정.** 시들음 증상을 나타내는 개체의 뿌리와 관부의 썩음 증상의 조직으로부터 *Pythium* sp.를 분리하였으나, 수침상 증상을 나타내는 하엽의 조직으로부터는 *Pythium* sp.가 분리되지 않았다. 분리된 *Pythium* sp.의 배양 및 형태적 특성은 PCA 상에서 특별한 균사생장형을 나타내지는 않고, 기중균사의 형성이 관찰되었다. 구형 포자낭 형태의 팽창균사(hyphal swelling)는 구형, 타원형, 계란형 또는 레몬형으로 정생, 간생(Fig. 6A, B) 또는 한쪽 방향으로 치우쳐 간생한다(Fig. 6C). 대부분의 경우 매끈하지만 간혹 1~2개의 돌기가 형성된 것도 관찰되었고(Fig. 6B, C), 구형인 경우 그 직경은 (11.4-)11.6~25.7(-28.6) (평균 20.1) μm 로 발아관을 내어 발아하였다. 균사는 분지가 잘 발달되어 있으며 폭은 (2.8-)4.3~7.1(-9.2) μm 이고 오래된 균사에서는 격막이 관찰되었다(Fig. 6D). 장란기는 구형(Fig. 6D, E) 또는 타원형(Fig. 6I, J)으로 정생, 간생 또는 한쪽 방향으로 치우쳐 간생하며, 크기는 (12.6-)17.1~22.9(-25.7) μm (평균 25.0 μm)로 특히, 표면에는 길이가 (2.9-)5.7~8.6(-11.4) (평균 6.1) μm , 기부 폭이 2.8 μm 이상인 끝이 무딘 원추형의 손가락 모양의 끈은 돌기가 관찰되었고 간혹 굵은 모양도 관찰되었다(Fig. 6D~G). 장정기는 곤봉 또는 굵은 곤봉 모양으로 정생하며 주로 동균사성(monoclinous)을 나타내지만 간혹 이균사성(diclinous)을 나타내기도 하였다(Fig. 6F~H). 장

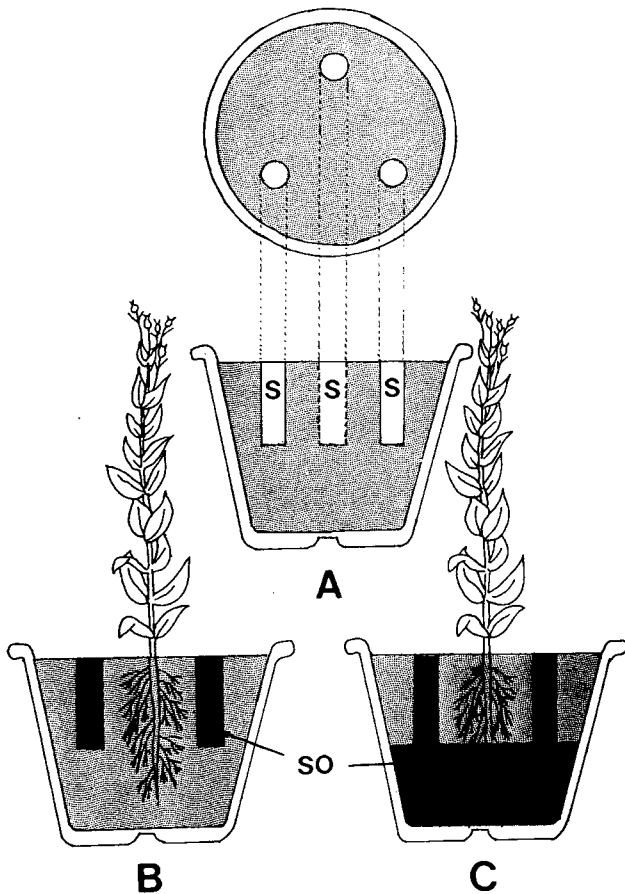
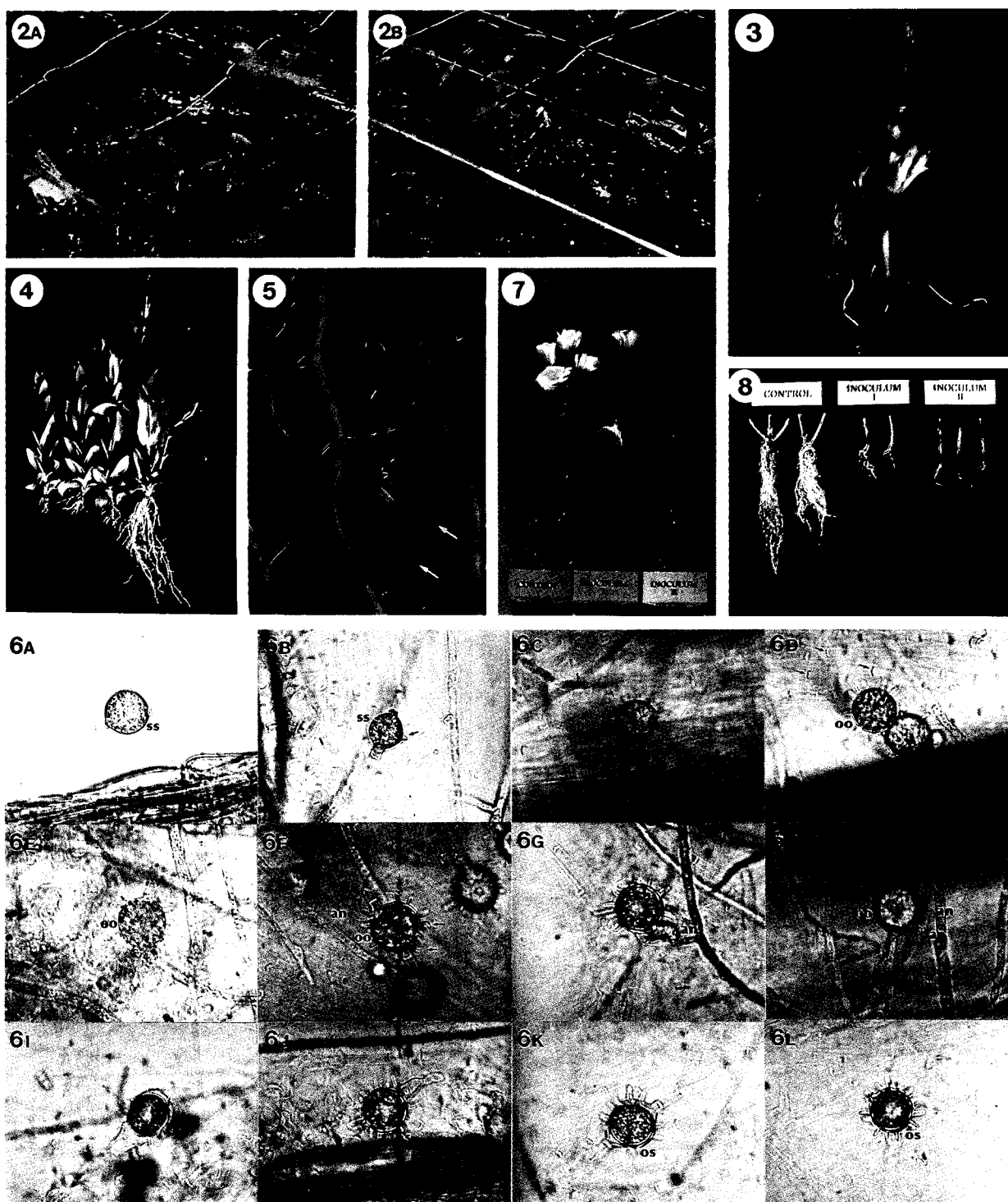


Fig. 1. Schematic diagram of a root inoculation for pathogenicity test in a pot. A, Control; B, Inoculum I; C, Inoculum II; S, Sterilized sand; SO, Sand-oatmeal inoculum (artificially-inoculated soil).



Figs. 2~5. Symptoms on lisianthus caused by *Pythium spinosum* at a mid-growth stage in the greenhouse: wilt of infected plants (Figs. 2A and 2B), the typical root rot symptom (Fig. 3), decreased root and shoot growth (Fig. 4), and necrosis of root tips (arrow) (Fig. 5). **Fig. 6.** Morphological characters of the *Pythium spinosum*: sporangia-like swellings (ss) spherical (A) or limoniform (B), intercalary or laterally intercalary (C) mostly smooth, but occasionally with 1 or 2 digitate protuberance (arrow) (B, C), aseptate hyphae, becoming septate with age (arrow) (D), oogonia (oo) terminal or intercalary, spherical (D, E) or fusiform (I, J), ornamented with a varying number of blunt, digitate projections, projection of mostly straight, occasionally curved (arrow) (F), antheridia (an) club- or curved club-shaped terminal (F~H), oospores (os) spherical, smooth, plerotic (J, L), occasionally aplerotic (I, K). **Figs. 7, 8.** Severe wilt symptoms of lisianthus (right) 14 days after inoculation of roots with *P. spinosum* (Fig. 7) and root rot symptoms 50 days after inoculation (Fig. 8).

Table 1. Comparison of mycological characteristics of *Pythium spinosum* isolated from root rot symptoms of *Lisianthus (Eustoma grandiflorum)* in this study with those previously described by other researchers

		Mycological characteristics	
		This study	Yoshimatsu and Hematsu ^b Van der Plaats-Niterink ^a
Hyphae		: aseptate, becoming septate with age, well-developed, branched, (2.8-)4.3-7.1(-9.2) μm wide	: main hyphae 2.5-5(-7) μm wide : main hyphae 6.3-9.0 μm wide
Sporangia-like swelling	shape : spherical, subspherical, ovoid or limoniform, terminal, intercalary or laterally intercalary, mostly smooth, but occasionally with 1 or 2 digitated protuberances, germinating by germ tubes size : (11.4)-11.6-25.7(-28.6) (av. 20.1) μm diam.	shape : globose or limoniform, terminal and intercalary, mostly smooth, but occasionally with 1 or 2 digitated protuberances : up to 33 μm diam.	: limoniform, intercalary : 8-29 μm diam.
Oogonia	shape : spherical, sub spherical or fusiform, terminal, intercalary or laterally intercalary size : (12.9)-17.1-22.9(-25.7) (av. 19.6) μm diam. ornamentations : with blunt, conical, finger-like or digitate projection, projections mostly straight, occasionally curved, (2.9-) 5.7-8.6(-11.4) (av. 6.1) μm long and 2.8- μm wide at the base	shape : globose or fusiform, terminal, intercalary : (14-)17-21 (av. 18.5) μm diam. : a varying number of blunt, digitate ornamentations 3.5-8.5 μm long and 1.5-2.0 μm wide at the base	: spherical, intercalary or terminal : 13.5-22.5 (av. 18.1) μm diam. : with digitate projection, 3.8-9.5 (av. 5.8) μm high, 1.3-2.6 (av. 1.9) μm wide at the base.
Antheridia	shape : club- or curved club-shaped, terminal, monoclinal, occasionally declinal, 1(-2) per oogonium size : 8.6-11.4 \times 5.7-8.6 (av. 9.3 \times 6.6) μm	shape : monoclinal, occasionally declinal, 1(-3) per oogonium	: club-shaped, monoclinal, occasionally declinal, 1(-2) per oogonium.
Oospores	shape : spherical, smooth, plerotic, occasionally aplerotic size : (11.4-)15.7-20.0(-22.9) (av. 18.5) μm diam, walls 2.0 > μm thick	shape : plerotic, occasionally aplerotic : (13-)15-19(-20) (av. 17.2) μm diam., thin walled	: spherical, plerotic : 12-21.3 (av. 16.8) μm diam, thin walled.
Cardinal temperatures	: min. 5°C, opt. 30°C, max. 35°C	: min. 5°C, opt. 25°C, max. 35°C	: min. 4°C, opt. 28°C, max. 36°C
Daily growth rate (mm)	: 30 (on potato-carrot agar at 25°C)	: 30-35 (on corn-meal agar at 25°C)	-

^aReference 19.

^bReference 21

란기당 1(-2)개가 형성되고 크기는 8.6~11.4×5.7~8.6 (평균 9.3×6.6) μm 이었다. 난포자는 구형으로 매끈하며 크기는 (11.4-)15.7~20.0(-22.9) (평균 18.5) μm 이며, 간혹 미충만형(Fig. 6I, 6K)인 경우도 관찰되었지만 대부분 충만형(Fig. 6J, 6L)이었다. 난포자막의 두께는 2.0 μm 이하였다. 생육온도범위는 PCA에서 최저 5°C, 최적 30°C, 최고 35°C이고, 25°C에서의 일일균사생장속도는 30 mm내외였다. 이상의 관찰된 배양 및 형태적 특성을 근거로 꽃도라지의 뿌리에서 분리한 *Pythium* sp.는 *P. spinosum*로 동정되었다(Table 1).

병원성 검정. 항온실 내에서 pot 실험을 통해 병원성을 조사한 결과 접종한지 3일만에 접종원 II에서 시들음 증상이 관찰되었으며, 접종 14일 후에는 접종원 I도 뚜렷한 시들음 증상이 관찰되었고 접종원 II는 회복불능 상태의 시들음 증상을 나타냈다(Fig. 7). 접종 50일 후에는 무처리는 건전한 생육을 유지하는 반면 접종원 I은 줄기 기부가 썩음 증상을 나타내고 하엽이 갈변하였고, 접종원 II는 잎과 줄기 모두가 말라 완전히 고사하였다. 지하부의 뿌리의 생육상태를 조사한 결과 무처리는 잔뿌리의 발육이 양호한 반면 접종원 I의 처리구에서는 잔뿌리가 거의 존재하지 않았고 접종원 II의 처리구에서는 주근 뿐만 아니라 관부도 검게 썩어 있었다(Fig. 8). 접종 후 병든 개체의 뿌리로부터 분리한 *Pythium* sp.가 *P. spinosum*임을 확인할 수 있었다.

고 찰

시들음 증상을 일으키는 꽃도라지의 뿌리에서 분리한 *Pythium* sp.를 Dick(2), Hendrix(5), 이(14), Middleton(15), Van der Plaats-Niterink(19), Waterhouse(20) 그리고 Yu와 Ma(22)의 분류 key를 이용하여 동정한 결과 *P. spinosum*로 동정되었고, 그 배양 및 형태적 특징은 吉松과 植松(21)이 꽃도라지에서 분리하여 동정한 결과와 유사하였다(Table 1). *P. spinosum*은 장란기 주변에 끝이 무딘 다수의 손가락모양의 돌기에 의해 다른 *Pythium* spp.과 쉽게 구별되었다. 끝이 무딘 돌기를 형성하는 유사 *Pythium* spp. 중에서 *P. irregulare*의 경우 그 수는 현저히 적고 *P. spinosum*의 돌기 길이는 평균 6.1 μm 로 *P. acanthicum*나 *P. mamillatum* 보다 길며, *P. betae*나 *P. kumingense*에 비해서는 현저히 길다(19, 22). *P. spinosum*은 금어초(*Anthirrhinum majus*)에서 처음 분리되었고, 이 후 토양과 많은 작물에 뿌리 썩음 병반으로부터 분리되었다(4, 6, 7, 9, 10, 17). 우리 나라에서는 양배추 잘록병(11), 인삼 잘록병(13)을 일으키는 것으로 보고되어 있다. 그러나 꽃도라지에 대해서는 미기록 병해로 본 연구를 통해 처음 보고되는 것이다. 최근에 함(4)은 *Fusarium oxysporum* f. sp. *eustomae*에 의한 꽃도

라지 시들음병을 보고하였다. 그러나 병원성 검정 결과 *P. spinosum*에 의한 시들음 증상은 뿌리 썩음이 주된 원인이므로 *F. oxysporum* f. sp. *eustomae*에 의한 시들음병과 구분하기 위하여 병명을 '꽃도라지 뿌리썩음병'이라고 제안하고자 한다. 吉松과 植松(22)은 *P. irregulare*와 *P. spinosum*에 의해서는 뿌리썩음병(根腐病)이 발생하고 *Fusarium* spp.에 의해서는 잘록병(立枯病)이 발생한다고 보고하여 구분하였다. 또한 吉松과 植松(21)은 뿌리썩음병을 일으키는 병원성 중으로 *P. irregulare*도 보고하였으나, 본 연구에서는 *P. irregulare*는 분리되지 않았다.

꽃도라지는 파종에서 꽃이 피기까지 4개월 이상 걸리고, 특히 어린 모의 생육이 느리다(1). 본 병은 지하부 뿌리에 썩음병을 일으키고, 따라서 오랜 생육기간 중 외관상으로는 건전하나 생육이 상대적으로 불량하고 시들음 증상을 나타내는 개체는 지하부 뿌리의 건전 여부를 확인하여야 한다. 加藤 등(7)에 의하면 벼에 발생한 잘록병의 경우 *P. spinosum*는 일반적으로 25°C보다 20°C의 낮은 온도 조건에서 보다 많은 피해를 주는 것으로 보고하였다. 이는 저온성 작물인 꽃도라지의 생육온도 범위와 *P. spinosum*의 병 발생 온도조건이 일치한다. 따라서 앞으로 본 병에 의한 큰 피해가 우려되므로 방제에 유의하여야 한다.

요 약

1997년 경기도 이천지역의 비닐하우스에서 시들음 증상과 생육부진을 나타내는 꽃도라지(*Eustoma grandiflorum*)의 뿌리로부터 *Pythium* sp.를 분리하였고, 다양한 균학적 특성을 조사한 결과 *P. spinosum*으로 동정되었다. 병원성 검정을 위하여 pot에 식재된 꽃도라지의 뿌리에 분리 균을 접종한 결과 강한 병원성을 나타냈고, 포장에서 나타난 특징적인 증상과 유사한 뿌리 썩음에 의한 시들음 증상을 나타냈다.

참고문헌

1. Corr, B. and Katz, P. 1997. A grower's guide to lisianthus production; From start to finish, here is a detailed guide for growing cut flower lisianthus. *Flora Culture International* 7(5): 16-20.
2. Dick, M. W. 1990. *Key to Pythium*. University of Reading Press, Reading, U. K. 64pp.
3. 함영일. 1997. 꽃도라지 시들음병을 일으키는 병원균의 분리 동정. 식물병리학회 추계연구발표회 초록 16쪽.
4. Hendrix, Jr., F. F. and Campbell, W. A. 1970. Distribution of *Phytophthora* and *Pythium* species in soils in the Continental United States. *Can. J. Bot.* 48: 377-384.
5. Hendrix, Jr., F. F. and Papa, K. E. 1974. Taxonomy and genetics of *Pythium*. *Pro. Am. Phytopath. Soc.* 1: 200-207.

6. Hoy, J. W. and Schneider, R. W. 1988. Role of *Pythium* in sugarcane stubble decline: Pathogenicity and virulence of *Pythium* species. *Phytopathology* 78:1688-1692.
7. 加藤重博, 中西逸朗, 高日幸義, 中神和人. 1985. *Pythium* 屬菌によるイネ苗立枯病に関する研究(1); 出芽前後の苗立枯病の發生に関する *Pythium* 屬菌. 日植病報 51:159-167.
8. 김진원, 박은우. 1997. 우리나라 골프장 잔디에서 분리한 *Pythium* spp. 한국균학회지 25:276-290.
9. Klisiewicz, J. M. 1968. Relation of *Pythium* spp. to root rot and damping-off of safflower. *Phytopathology* 58:1384-1386.
10. 楠 幹生, 一谷 多喜郎. 1994. オオムギ黄枯病を起こす *Pythium* spp. について. 日植病報 60:305-309.
11. Lee, E. K., Lee, Y. H., Lee, J. D. and Long, P. G. 1975. Studies on *Pythium* spp. in Korea; 1) Preliminary taxonomic and physiological studies. *Korean J. Plant Protection*. 14:238(Abstr.).
12. 이종규, 최경자, 김병섭, 조광연. 1994. 식물병원 진균 균주의 살균증류수 저장법. 한국식물병리학회지 10:144-147.
13. 이순구. 1984. *Pythium* 및 他病原菌에 의한 人蔘 모잘록병의 病原學的 研究. 박사학위논문. 서울대학교. 47pp.
14. 이순구. 1992. *Pythium* 분류 동정 연구 방법. 한국식물병리학회소식지 3:23-39.
15. Middleton, J. J. 1943. The taxonomy, host range and geographic distribution of the genus *Pythium*. *Mem. Torrey Bot. Club* 20:1-171.
16. Schmitthenner, A. F. 1980. *Pythium* species. Isolation, biology and identification. Pages 33-36 in: *Advances in Turfgrass Pathology*. Larsen, P. O. and Joyner, B. G., eds. Harcourt Brace Jovanovich, Duluth, M. N. 197pp.
17. Takahashi, M., Ohuchi, A. and Alicbusan, R. V. 1965. Ecologic and taxonomic studies on *Pythium* as pathogenic soil fungi. VI. Some species of *Pythium* causing rhizome rot of Hindu lotus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 30:186-191.
18. 竹内 純, 堀江 博道. 1995. *Rhizoctonia solani* による園藝作物の新病害. 植物防疫 49:184-186.
19. Van der Plaats-Niterink, A. J. 1981. Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology No. 21*, Centraalbureau Voor Schimmelcultures, *Inst. R. Neth. Acad. Sci. Lett.*, Baarn, Netherlands. 242pp.
20. Waterhouse, G. M. 1968. The genus *Pythium*, diagnosis (or descriptions) and figures from the original papers. *Mycological Papers No. 110*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. England. 71pp.+50plates.
21. 吉松 英明, 植松 清次. 1994. トルコギキョウの根部病の發生と防除. 植物防疫 48:11-13
22. Yu, Y. N. and Ma, G. Z. 1989. The genus *Pythium* in China. *Mycosystema* Vol. 2:1-110. International Academic Publishers.

(Received April 1, 1998)