

***Phytophthora nicotianae*(Breda de Haan)에 의한 카네이션 역병**

류경열* · 진경식 · 이영희
농업과학기술원 해외병해충과

Root Rot of Carnation Caused by *Phytophthora nicotianae* (Breda de Haan)

Kyoung Yul Ryu*, Kyoung Sik Jin and Young Hee Lee
*Oversea's Pest Division, National Institute of Agricultural Science and Technology,
RDA, Suwon, 441-100, Korea*

ABSTRACT: Root rot of carnation caused by isolates of *Phytophthora* was found at Kongju, 1996. Infected plants appeared symptoms of wilting, brown discoloration on collar area and consequently led to death. The causal pathogen was identified as *Phytophthora nicotianae* based on morphological, cultural and physiological characteristics. Mycelium was grown to rosette colony pattern on corn meal agar and the growth was 10.2 mm/day on 10% clarified V8 medium at 25°C. Swelling with radiating hyphae was formed in water and on agar within 7 days. Chlamydospores were abundantly produced on agar within 7 days. Sporangium was prominent papillate, 2~3 apex, 1.2:1 l/b ratio, lateral attachment on sporangiospore and was rarely produced on solid media but produced in water. The shape of sporangium was spherical or ovoid, and the size was 34~73×32~60 (av. 33×66.5) μm in dimension. The isolates were heterothallic, and mating type A2. Oogonium was spherical, ovoid, 26~36 (av. 36 μm) in diameter, and antheridium was amphigynous to oogonia. The fungus was able to grow 10~35°C, and optimal temperature was 27°C.

Key words: *Phytophthora nicotianae*, root rot, carnation.

카네이션은 다년생 화초로서 꽃의 색과 크기가 관상에 적합하여 절화용으로 많은 계통이 육성 되었고, 생활수준의 향상으로 카네이션 절화는 매년 소비가 증가하여 재배면적이 확장되고 있으나 재배중에 발생하는 여러 가지 병해는 양질의 카네이션 생산에 커다란 제한 요인으로 되고 있다. 카네이션에 발생하는 병은 바이러스 2종, 세균 1종, 곰팡이 9종이 한국 식물병해충잡초 명감(11)에 기록되고 있으나 온실 카네이션은 삽수에 의한 번식이 많기 때문에 실제로 더 많은 병원균이 침입할 것으로 생각된다. 카네이션시들음병은 전 생육기에 발생하며 주요 감염부위는 지제부 및 뿌리에서 침입하여 지상부에 병징이 유발되어 피해가 크게 나타나는 것으로서 병원균은 *Fusarium oxysporum*으로만 보고되었다.

그러나 1996년 2월부터 1997년 2월까지 농과원 해외병해충과에서 병해증 조사사업으로 화훼류 병해를 조사 하던 중 충남 공주시 일대 카네이션 재배포장에서 지상부 잎이 시들며 노랗게 말라죽는 카네이션을 발견하였다. 카네이션은 뿌리가 썩어 지상부 줄기와 쉽게 분리되었으며, 지제부는 수침상 병반이 형성되어 회색 부패증상이

진행되고 있었다. 따라서 카네이션시들음병의 발생 원인을 밝히고자 포장에서 시들음병징이 뚜렷한 이병식물을 수집하여 병원균을 분리, 동정하고 병원성검정을 통하여 카네이션시들음병 방제에 필요한 정보를 얻고자 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

카네이션 병해조사. 전국 23개 카네이션 집단재배지에서 1996년 2월부터 1997년 2월 사이에 주요병에 대한 발병조사를 하였다.

병원균 분리 및 동정. 충남 공주군 일대 카네이션 재배포장에서 시들음 병징이 발생한 이병주를 채집하였다. 수집한 이병식물은 흐르는 수도물로 3회 씻어준 후 paper towel로 물기를 제거하여 실온에서 건조시켰다. 이병식물 병징부위는 크기 5~10 mm로 절단하여 1% 차염소산나트륨으로 표면소독한 후 12개씩 물한천배지(WA), 감자한천배지(PDA), PARP 배지(corn meal agar 17 g, H₂O 1,000 ml, pimaricin 0.4 ml, ampicillin 250 mg, rifampicin 10 mg dissolved in 1 ml dimethyl sulfoxide, pentachloronitrobenzene 35 mg)에 치상하여 20°C

*Corresponding author.

향온기에서 5일 동안 배양하였다(10). 이병조직에서 자라난 균사 선단을 10% clarified V8 배지(V8 juice 200 ml, CaCO₃ 2 g, Agar 18 g, H₂O 800 ml)에 옮겨놓고 배양하여 5일 경과한 균사를 직접 또는 슬라이드에 옮겨놓고 광학현미경을 이용하여 균학적 특징을 조사하였다. V8 배지에서 배양한 균사는 유주자낭을 형성시키기 위해서 직경 7 mm cork borer로 원형 block을 만들어 멸균된 petri dish에 5~7개씩 옮겨두고 미리조제하여 냉장보관중인 salt solution으로 flooding을 시켰다(3). 그후 25°C 향온기에서 24~48시간 동안 배양하여 유주자낭 형성 유, 무와 형태적 특징을 조사하였다. 병원균의 유성생식형을 조사하기 위하여 농과원 병리과에서 분양받은 표준균주를 지 등(9)의 방법을 모방하여 *P. cryptogea* A1 331, A2 36, *P. capsici* A1 8710, A2 8812, 그리고 *P. parasitica* A1 991, A2 6134를 10~35°C까지 5°C 간격으로 온도를 조절한 향온기에서 6일동안 대치배양한 후 균사를 직접 또는 슬라이드에 옮겨두고 유성생식기관의 형성여부와 형태적 특징을 광학현미경을 이용하여 조사하였다.

병원성 검정. 병원성 검정에 이용한 카네이션 품종은 화훼농가에서 가장 많이 재배하는 Desio를 원예연구소 화훼1과에서 분양받아 실험에 사용하였다. 삽목후 30일 이 경과한 초장 15 cm 카네이션을 삽목상자에서 뽑아내어 뿌리에 부착된 흙을 완전히 제거하고 뿌리부위에 인위적인 상처를 만들었다. 병원균은 10^{3~4} cell/ml 농도로 유주자를 조절하여 그 혼탁액에 카네이션 유묘를 30분간 침지하였고 살균된 원예용 상토가 채워진 소형 플라스틱화분에 옮겨심었으며, 일부는 유주자 혼탁액을 플라스크에 넣고 카네이션 유묘를 계속 침지시켰다. 병원균을 접종한 카네이션은 습실처리를 위하여 접종상(26°C, 상대습도 90%)에 24시간 배양한 후 25°C 온실에서 재배하여 14일 동안 시들음병 발생여부를 조사하였다.

결 과

카네이션 병해 조사 전국 23개 카네이션 집단재배 포장에서 주요 병 발생여부를 조사하였던바 채집한 이병식물에서 병원진균 6종을 분리할 수 있었다(Table 1). 카네이션 재배지에서 발생하는 주요 병징은 시들음증상으로서 조사지역중 10개지점에서 *Fusarium*이 분리되었고, *Rhizoctonia*에 의한 뿌리썩음 증상도 2개 포장에서 확인 할 수 있었다. 그러나 충남 공주시 소재의 카네이션 재배 포장에서 발생한 시들음 병징에서는 현재까지 발생보고가 없었던 *Phytophthora*가 분리되었다(Fig. 1A). *Phytophthora*에 감염된 식물의 지제부는 수침상 병반을 형성 하며 갈변하였고 병진전이 되었을때는 완전히 시드는 현상이 나타났으며(Fig. 1B) 지상부 줄기와 뿌리가 쉽게

분리되는 특징을 보였다(Fig. 1C). 이외에도 흰가루병, 녹병, 마름병, 점무늬병 등 순으로 발생하였으나 그 발생

Table 1. Survey^a on diseases of carnation at major growing areas in Korea

Province	Location	Disease	Pathogen
Kyunggi	2	root rot	<i>Rhizoctonia solani</i> (2)
Kyungnam	2	blight	<i>Alternaria dianthi</i> (1)
		wilt	<i>Fusarium oxysporum</i> (1)
Pusan	2	rust	<i>Uromyces dianthi</i> (2)
Chunnam	2	blight	<i>Alternaria dianthi</i> (1)
		wilt	<i>Fusarium oxysporum</i> (1)
Chunbuk	13	wilt	<i>Fusarium oxysporum</i> (7)
		leaf spot	<i>Cladosporum echinulatum</i> (3)
		rust	<i>Uromyces dianthi</i> (3)
Chungnam	1	root rot	<i>Phytophthora nicotianae</i> (1)
Chungbuk	1	wilt	<i>Fusarium oxysporum</i> (1)

^a The survey was conducted from Feb., 1996 to Feb., 1997.

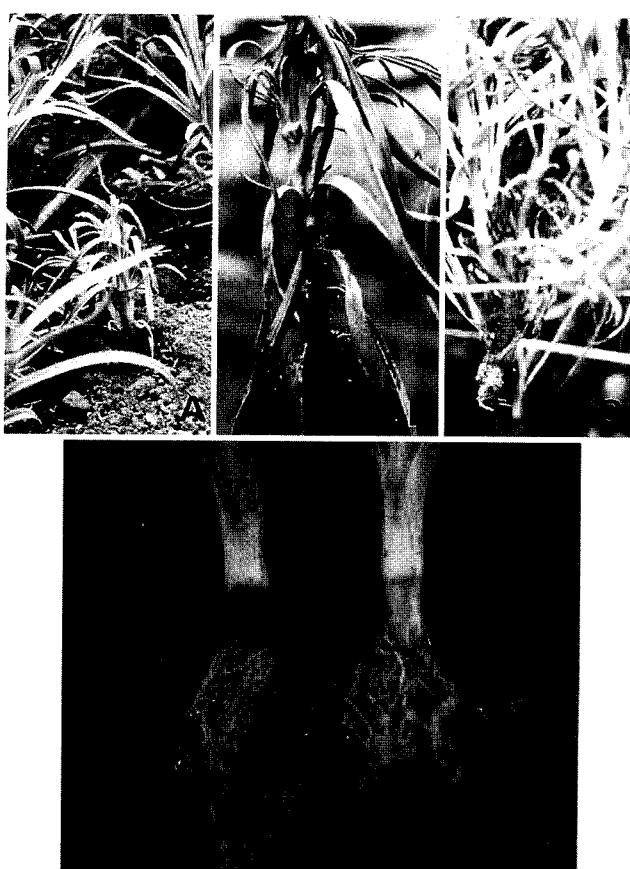


Fig. 1. Symptoms of carnation root rot caused by *Phytophthora nicotianae* A : root rot symptom in cultivation field, B : root rot appeared near the soil line and progressed upward, C : when plants are gently pulled, the stem break at the crown, leaving the whole root system behind in the soil, D : browning symptom on root at 2 wks after artificial inoculation with carnation isolate of *P. nicotianae*, left (inoculated), right (control).

정도는 시들음병보다 적게 나타났고, 전북지역은 많은 병원균이 분리되는 특징을 보였다.

균학적 특징. 병원균 유주자낭은 배지에서 잘 형성되지 않지만 염용액과 물에서는 아주 잘 형성되었다. 유주자낭은 형태적 특징이 구형, 계란형이 대부분이었고, 폭과 길이 비율은 1:1~1.3(평균 1.2)였으며, 확실하게 구분 할수 있는 돌출된 유두돌기가 형성되었고(Fig. 2A) 유두돌기가 2-3개 형성되는 경우도 있었다(Fig. 2B). 유주자낭 크기는 34~73×32~60 μm (평균 35 μm)였고 유주자낭경 측면에 부착되는 유주자낭을 관찰할수 있었다(Fig. 2C). 병원균은 장난기 형태가 구형, 크기는 26~49(평균 39 μm)이었으며, 내부가 균질한 물질로 채워져 있었다. 난포자는 구형, 크기는 20~37(평균 28 μm)이고 불규칙한 형태의 봉입체가 형성되어 있었고 장난기를 채우지는 않았다. 장정기는 형태가 구형, 실린더형으로 저착성 특징을 보였다(Fig. 2D). 후막포자는 배지와 물에서 배양 초기부터 대량으로 형성되었고 크기가 25~45(평균 35 μm)인 구형이였다. 군사웅기도 배지와 물속에서 잘 형성되고, corn meal agar에서 자라는 군사 생육형태는 불규칙하고 위축형으로 나타났다. 분리된 병원균은 생육 최적온도가 25~30°C였으며 최저 10°C, 최고 35°C에서

생육하는 특징을 보였다(Table 2).

유성생식형 조사. 유성생식 특성을 확인하기 위하여 표준균주로 알려진 *P. cryptogea* A1 331, A2 36, *P. capsici* A1 8710, A2 8812, *P. parasitica* A1 991, A2 6134를 이용하여 온도별로 유성생식을 유도하였다(Table 3). 병원균은 실험에 사용한 A2형 3균주와는 유성생식이 일어나지 않았지만 A1형과는 *P. cryptogea*, *P. parasitica*에서 장난기를 형성하는 특성을 나타내어 유성생식형은 A2형으로 확인하였다. 유성생식이 발생하는 최적온도를 조사하였을 때 *P. parasitica*는 25°C에서 가장 왕성하여 난포자가 75개/시야($\times 100$)이었고 20, 30, 15, 35°C순으로 생성량이 많았다. *P. cryptogea*도 같은 경향을 보였으나 난포자 형성량에서는 현저한 차이를 보였고, 10°C 이하에서는 전혀 장난기를 형성하지 않았다.

균사신장율을 알아보기 위하여 카네이션 분리균을 5종류 배지에 접종하고 생육특성을 조사하였다(Table 4). 사용한 배지중 corn meal agar와 V8 배지는 25°C에서 9일간 배양하였을 때 96, 92 mm로 생육하여 1일 균사신장율이 10.6, 10.2 mm로 왕성한 생육을 하였고, PDA 배지에서는 5.8 mm였으며, 선택배지로 알려진 PARP에서는 9.3 mm 이상 생장하였다.

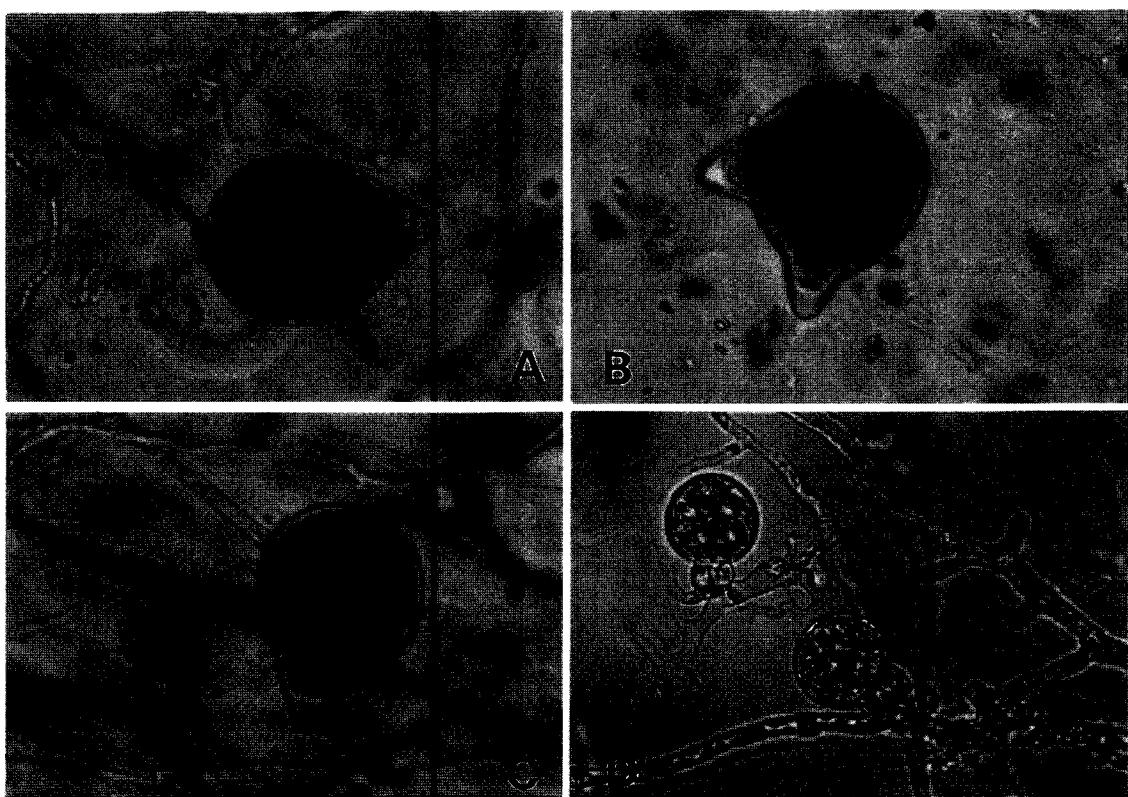


Fig. 2. Mycological characteristics of *Phytophthora nicotianae* causing the carnation root rot. A : sporangium with prominent papillae ($\times 500$), B : spherical sporangium with two papillae ($\times 500$), C : sporangium laterally attached to sporangiophore ($\times 500$), D : oogonium with amphigynous antheridium ($\times 250$).

Table 2. Mycological characteristics of *Phytophthora* isolate causing root rot on carnation

Characteristics	Phytophthora isolate
Sporangium	Produced in water, rarely on agar, papillate (2~3 papillae) spherical, ovoid, ellipsoid obpyriform l/b ratio 1:1~1.3:1 (av. 1.2:1) lateral attachment, size 34~73×32~60 μm (av. 53×46 μm)
Sexuality	Heterothallic, A2
Oogonium	Spherical, smooth, size 26~29 μm (av. 36) homogeneous contents
Oospore	Aplerotic, spherical size 20~37 μm (av. 28), irregularly shaped subcellular inclusion
Antheridium	Amphigynous, cylindrical, spherical, unicellular
Chlamydospore	Abundant on agar and water, size 25~45 μm, spherical (av. 35 μm)
Hyphal swelling	Formed on agar and water (radiating)
Others	Hyphae uneven and irregular, loose rosette pattern Temperature: opt. 25~30°C, max. 35°C, min. 10°C

Table 3. Effect of temperature and interspecific mating on oospore production of the *Phytophthora* isolates

Tem- pera- ture (°C)	No. Oogonia/microscopic field (× 100)					
	<i>P. cryptogea</i>		<i>P. capsici</i>		<i>P. parasitica</i>	
	331 (A1)	36 (A2)	8710 (A1)	8812 (A2)	991 (A1)	6134 (A2)
10	0 ^a	0	0	0	0	0
15	11	0	0	0	15	0
20	19	0	0	0	41	0
25	43	0	0	0	75	0
30	16	0	0	0	17	0
35	0	0	0	0	2	0

^aData obtained 6 days after incubation and value means of 3 replicates

Table 4. Mycelial growth of isolates of *Phytophthora* from carnation on different media

Isolate	PDA	WA	CMA	PARP	V8
Pn-1	52 ^a	74	96	84	92
Pn-2	52	72	92	88	90

^aDiameter (mm) of colony after 9 days incubation at 25°C.

카네이션에서 분리한 병원균은 삽목한지 30일이 경과한 카네이션 유묘(품종 Degio)를 이용하여 병원성을 검정하였다(Table 5). 병원균을 접종한 후 7일에 접종부위인 지제부에서 갈변이 나타났고 시간이 경과하면서 변색부위는 증가하여 결국은 시들어 죽게 되었다(Fig. 1D). 분리한 2균주 모두 병원성이 확인 되었고 Pn-2 균주의 병원성이 강한 것으로 나타났다.

Table 5. Pathogenicity of *Phytophthora* isolates on carnation seedlings

Isolate	Length of root rot (mm)			
	7 day*	10 day	12 day	14 day
Pn-1	0	4	13	18
Pn-2	2	10	18	26
Control	0	0	0	0

*Days after inoculation.

고 칠

카네이션뿌리썩음병을 일으키는 병원균을 이병식물에서 분리하여 형태 및 생리적 특성을 Waterhouse(14), Ho(7), Stamps(13) 등의 분류 key에 따라 비교하였다. 병원균은 배양기에서 유주자낭 형성이 드물었으나 형태는 구형 및 난형으로 현저하게 돌출된 유두돌기가 나타났고, 자웅이주로 A2형 유성생식을 하며 장정기는 저착성으로 나타났다. 후막포자는 배양기 및 물에서 배양초기부터 다양하게 형성되는 특징을 보였는데 이는 Erwin & Riberio(4)의 설명과 일치하였다. 또한 이병식물에서 분리한 병원균은 물 또는 배양기에서 다양한 균사용기를 하였으며 이러한 여러가지 특징에 따라 분리균은 *P. nicotianae*로 동정되었다. 그동안 *P. nicotianae*는 *P. parasitica*와 동종이명으로 사용되어 왔다. Ho & Jong(8)은 여茫然역에서 수집한 두종의 균주를 동일 조건에서 비교한 결과 균주간 차이가 없다고 하였고, Oudemans and Coffey(12)은 isozyme을 분석한 결과 여茫然역에서 채집한 균주는 기주에 의한 다양성의 차이가 없었다고 보고하였다. 또한 mDNA와 nDNA를 RFLPs로 비교하였을 때도 양적인 차이를 구분할 수 없어서 이들은 같은 병원균으로 간주하여 *P. nicotianae*로 통일하여 부르게 되었다(5, 6). 카네이션의 뿌리썩음병을 일으키는 *P. nicotianae*는 온실 및 포장에서 재배되는 많은 작물에서 병을 일으키는 것으로 알려져 있고 그 분포지역은 전세계적으로 알려져 있다. *P. nicotianae*에 의한 카네이션 시들음병은 일본(2), 미국 및 유럽에서 일부 보고되었으나(4) 우리나라에서는 *F. oxysporum*과 *Rhizoctonia*에 의한 시들음병만 알려져 있다. 그러나 *P. nicotianae*에 의한 카네이션 시들음병도 갑자기 시들어 버리거나, 잎은 황갈색으로 변색되며, 조직을 연화시키는 연부증상도 동시에 균권에서 발생하며 이런 카네이션은 조심스럽게 뽑았을 때 줄기가 균권으로부터 쉽게 분리되고 전체 균권은 토양에 남게 되는 특징이 있었다. 토양에서 서식하는 카네이션 시들음병원균은 정확한 진단을 통하여 체계적이고 효과적인 방제대책 수립이 절실하게 필요하며 현재 육성 보

급된 여러 가지 품종에 대한 저항성 검정이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

요 약

카네이션에 발생하는 병해를 조사하던 중 충남 공주에서 노랗게 갈변하며 시들어가는 식물체를 발견하였다. 이병식물에서 분리한 병원균은 형태적, 배양적, 생리학적 특성에 따라서 *P. nicotianae*로 동정하였다. 병원균은 corn meal agar에서 rosette pattern으로 생육하는 배양적 특징이 나타났고 25°C에서 균사신장은 10.2 mm/day로 왕성한 생육을 하였다. 후막포자는 배양초기부터 다량으로 형성하였으나, 유주자낭은 형성되지 않았다. 유주자낭은 돌출된 유두돌기를 가지고 있었고, 형태는 구형 또는 난형이며, 크기는 53~46 μm이었다. 유성생식형은 A2형 자웅이주로 확인되었고, 장난기는 구형이고 크기가 26~29 μm였고, 난포자도 구형으로 크기가 20~37 μm였으나 불규칙한 형태의 세포내 봉입체가 있었다. 장정기는 저착성으로 구형 또는 실린더형이 많았다. 물과 배양기에서 균사용기 현상은 관찰되었고 생육적온은 25~30°C이며 5°C와 40°C에서는 생육이 정지하는 현상을 보였다. 병원성은 접종후 2주일에 지제부에서 26 mm 크기의 갈색 부패증상이 발생하였고 그이후는 시들어 고사하였다.

참고문헌

- Ann, P. J. and Ko, W. H. 1990. Growth rate and colony morphology of progenies of zoospores and selfed oospores

- of *Phytophthora parasitica*. *Mycologia* 82:693-697.
- 岸國平. 1988. 作物病害事典. 全國農科教育協會. pp.530-534.
- Chen, D. W. and Zentmyer, G. A. 1970. Production of sporangia by *Phytophthora cinnamomi* in axenic culture. *Mycologia* 62:397-402.
- Erwin, D. D. and Riberio, O. K. 1996. *Phytophthora* disease worldwide. APS press, St Paul Minnesota, USA, 562p.
- Foster, H., Oudemans, S. P. and Coffey, M. D. 1990. Mitochondrial and nuclear DNA diversity within six species of *Phytophthora*. *Experimental Mycology* 14:18-31.
- Hall, G. 1993. An integrated approach to the analysis of variation in *Phytophthora nicotianae* and a redescription of the species. *Mycological Research* 97:559-574.
- Ho, H. H. 1981. Synoptic keys to the species of *Phytophthora*. *Mycologia* 73:704-714.
- Ho, H. H. and Jong, S. C. 1989. *Phytophthora nicotianae* (*P. parasitica*). *Mycotoxon* 35:243-276.
- 지형진, 조원대, 김완규. 1997. 사과의 역병 II. *Phytophthora cactorum*과 *Phytophthora cambivora*에 의한 사과 과실역병의 발생. 한국식물병리학회지 13:145-151.
- Jeffers, S. N. and Martin, S. B. 1986. Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. *Plant Disease* 70:1038-1043.
- 한국식물보호학회. 1986. 식물병해총집초명감 382p.
- Oudemans, S. P. and Coffey, M. D. 1991. A revised systematics of twelve papillate *Phytophthora* species based on isozyme analysis. *Mycological Research* 95:1025-1046.
- Stamps, D. J., Waterhouse, G. M., Newhook, F. J. and Hall, G. S. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. *Mycological papers* No. 162.
- Waterhouse, G. M. 1963. CMI description of Fungi and Bacteria No 1200.

(Received April 1, 1998)