

*Verticillium dahliae*에 의한 국화 반쪽시들음병 발생과 병원성

한경숙* · 박종한 · 이종섭 · 서상태 · 정승룡
원예연구소 원예환경과

Occurrence and Pathogenicity of Verticillium Wilt on Chrysanthemum Caused by *Verticillium dahliae*

Kyung-Sook Han*, Jong-Han Park, Jung-Sup Lee, Sang-Tae Seo and Seung-Ryong Cheong

Horticultural Environment Division, National Horticultural Research Institute,

Rural Development Administration, Suwon 441-440, Korea

(Received on January 26, 2007)

A wilt disease on the greenhouse-grown chrysanthemum occurred at Kumi, Masan and Busan, Korea in 2003~2005. Symptoms of wilting, yellowing, and marginal burning started from lower leaves and progressed upward. Early symptoms often appeared on one side, involving only one part of the plant or one side of individual leaves or stems without a vascular discoloration. Vascular tissues of the infected leaf-base's discolored to brown. Fungal isolates obtained from discolored tissues were identified as *Verticillium dahliae* based on its cultural and morphological characteristics. The fungus showed whitish to creamy colony pattern with abundant dark brown to black elongated microsclerotia on PDA. Conidiophores were verticillately branched and conidia were ellipsoidal to sub-cylindrical shape, and measured as 2.5~8.8 × 2.0~3.8 μm. Pathogenicity tests by root dipping resulted in similar symptoms observed in the naturally infected chrysanthemum in fields.

Keywords : Chrysanthemum, Pathogenicity, *Verticillium dahliae*

국화는 오래전부터 우리나라를 비롯한 중국, 일본 등 동양에서 가장 많이 재배되어 온 대표적인 화훼로, 절화용 뿐만 아니라 분화용 국화의 생산이 해마다 증가하고 있다. 본 연구에서는 절화용 국화 주요재배단지에서 생육 중인 국화 중 생기를 잃고 하엽부터 시들며 잎과 줄기가 마르는 증상이 발생한 포기를 채취하여 유관속과 시든 잎이 달린 잎자루의 기부를 관찰한 결과 식물체 세포조직이 연한 갈색으로 갈변되어 있는 것을 확인하였고, 갈변된 병반으로부터 병원균을 분리하여 균학적 특징과 병원성을 검정하였다.

국화에 반쪽시들음병(半身萎凋病)을 일으키는 병원균은 *Verticillium dahliae*으로 동정되었는데, 우리나라에서는 본 병원균에 의한 반쪽시들음병은 가지와 토마토에 발생하는 것으로 보고되었다(한국식물병리학회, 2004). 국화에는 1991년 이 등(1991)이 *V. albo-atrum*에 의한 국화 반쪽시

들음병을 보고한 바 있는데, 국제기호성이 높은 외국품종의 도입에 따른 재배적 변화를 겪으면서 구미, 마산, 예산 등 국화 주요 재배지역에서 발생하고 있는 시들음증상에서는 *V. albo-atrum*과 달리 소형균핵이 형성되는 등 뚜렷한 특징을 가진 *Verticillium dahliae*가 분리되었다. 본 연구에서는 국화반쪽시들음병 병원균에 대한 병징과 균학적 특징 및 병원성을 검정한 결과를 보고한다.

재료 및 방법

병원균 분리 및 동정. 병원균을 분리하기 위해 시들음 증상을 보이는 국화의 유관속 또는 잎자루의 기부(葉底, 잎새밑, leaf base)로부터 병원균을 분리하였다. 특히 시들음을 보이는 잎자루의 기부를 해부현미경으로 관찰하여 갈변된 조직과 건전한 조직의 경계부위를 해부용 칼로 잘라 1% 차아염소산 나트륨 용액에 30초간 침지하였다. 표면 살균 후 시료를 불한천(WA)배지 위에 올린 다음 27°C 항온기에서 3일간 배양 후 균사 선단부를 떼내어 감자한

*Corresponding author

Phone) +82-31-290-6233, Fax) +82-31-290-6259

E-mail) kshan9@rda.go.kr

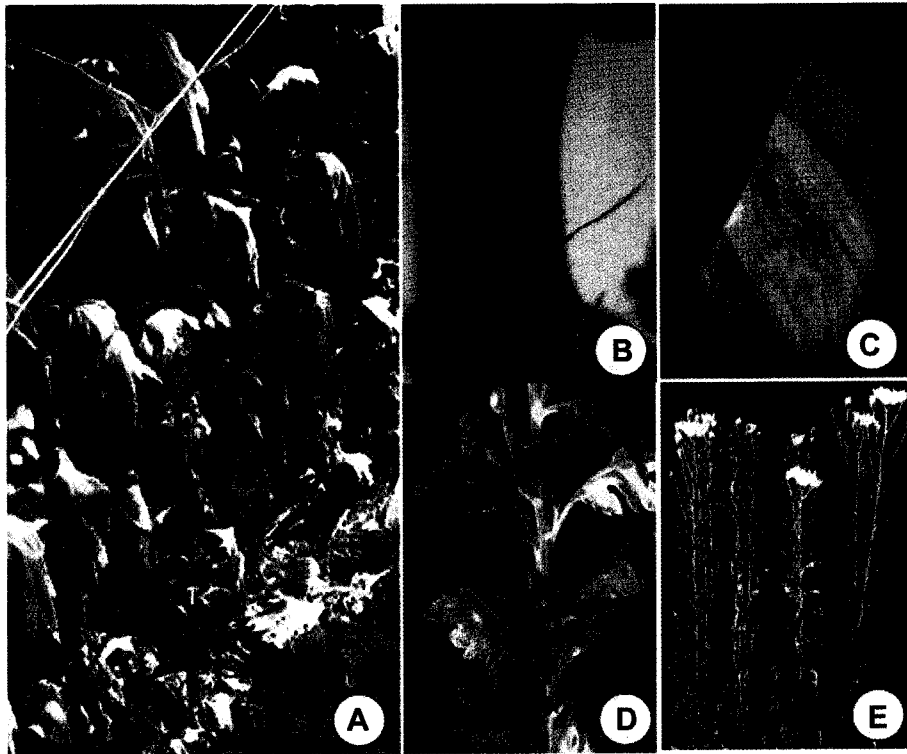


Fig. 1. Symptoms of the *Verticillium* wilt of chrysanthemum A: Diseased plants showing the typical symptom in a field, B: Discolored leaf-base and stem, C: Discolored leaf-base tissues, D: Yellowing and marginal burning of leaves, E: Symptoms induced by artificial inoculation (from left: pouring, root-dipping, injection, and control).

천(PDA) 배지 위에 다시 이식하였다. 분리된 병원균은 PDA 배지에 보존하면서 공시균주로 사용하였다.

분리된 균주를 동정하기 위해 PDA 배지에 이식한 후 25°C 항온기에서 10~14일간 배양 후 광학현미경하에서 병원균의 형태적·배양적 특징을 조사하였다. 또한 균사 생육 온도범위를 조사하기 위하여 5°C에서 35°C까지 5°C 간격으로 조절한 다음 균사를 배양하여 균총 형태 및 균핵 형성 유무를 조사하였다.

병원성 검정. 분리된 병원균의 병원성 확인을 위하여 포자현탁액의 포자 농도를 5×10^7 conidia/ml로 조절하여 접종원으로 사용하였다. 병원성 검정을 위한 식물체는 건전한 모주로부터 삼수를 채취하여 원예용 상토와 피트모스를 2:1로 혼합한 직경 10 cm 플라스틱 화분에 재배한 식물체를 사용하였다. 삼목 후 5주된 식물체의 화아분화를 유도하기 위해 3주 동안 낮의 길이를 12시간 미만으로 단일처리 하였으며, 팔알크기의 꽃봉오리가 형성된 식물체를 사용하였다. 접종방법으로는 1) 국화 뿌리를 흐르는 물에 세척한 후 포자현탁액에 30분 동안 담가 침지한 후 화분에 다시 심어 병 발생을 유도하였다(Fig. 2A). 2) 국화 줄기의 지체부를 주사바늘로 찢어 상처를 낸 후 포자현탁액을 1 ml 관주하였다(Fig. 2B). 3) 국화 잎이 달린

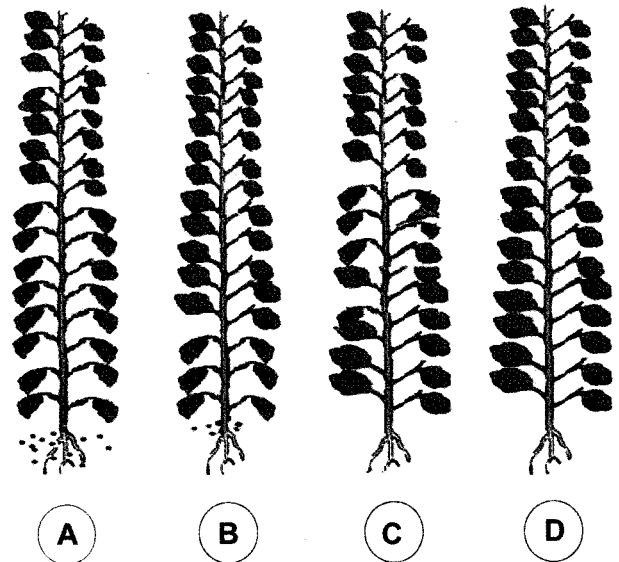


Fig. 2. Development of the *Verticillium* wilt on chrysanthemum according to inoculation methods with spore suspensions. A: by root-dip inoculation, B: Pouring, C: Internode-injection inoculation, D: control.

잎자루의 기부에 포자현탁액을 0.1 ml씩 주사접종하였다(Fig. 2C). 접종 식물체에 따라 엽위(葉位, leaf position)를

각각 달리하여 접종하였으며, 각각의 접종방법에 따라 무처리를 두었고(Fig. 2D), 접종된 국화 식물체는 27~33°C 유리온실에 두고 병징을 관찰하였다.

결과 및 고찰

병징. 2003부터 2005년 사이 국화 주요 재배지역인 구미, 마산, 부산지역의 농가로부터 꽃봉오리가 형성된 직후 국화가 생기를 잃고 잎이 시들며 급격히 갈색으로 말라 죽는 증상이 발생하였다(Fig. 1A). 초기 시들음을 보이는 식물체의 뿌리와 유관속에서는 특이한 병징을 확인할 수 없었으며 시든 잎의 잎자루가 달린 기부를 잘라 해부현미경으로 관찰한 결과 엷은 갈색으로 내부세포가 갈변되어 있는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1B, C). 또한 외관상 시들지 않은 일부 식물체에서도 잎자루가 갈변되어 있는 동일한 증상을 확인할 수 있었으며, 병원균을 분리 배양한 결과 대부분 *Verticillium*이 배양되었다(Fig. 3F). 또한 후기 병징을 나타내는 식물체에서는 잎자루 기부 뿐 아니라 줄기의 유관속까지도 갈변되어 있는 것을 관찰할 수 있었다. Horst 등(1996)의 보고에 의하면 *Verticillium*에 의한 시들음병의 전형적인 초기 병징은 하엽부터 시들며 포기 전체가 시들어 죽을 때까지도 식물체의 생장은 지속되는 특징을 나타낸다고 하였다. 또한 초기 병징이 종종 식물체의 한쪽 면에서만 나타나기 때문에 반쪽시들음병으로 불리우며 병이 진행됨에 따라 포기 전체로 퍼지

는 특징을 가진다. Horst 등(1996)과 Busch 등(1970)은 병든 식물체의 물관부가 갈색으로 변하는 증상은 거의 나타나지 않고, 뿌리에서의 병징도 거의 관찰되지 않으며 주로 엷맥이나 잎이 달리는 부위(잎자루)에서만 갈변되는 것으로 보고한 것과 동일하였다.

발병특성. *Verticillium*에 의한 반쪽시들음병의 발생특성을 조사한 결과 대부분 꽃봉오리가 형성된 직후에 갑자기 병징이 나타나며, 일단 시들음을 보인 식물체는 급격히 병이 진행되는 것을 확인할 수 있었다. 이처럼 국화에서 *Verticillium*에 의한 병징 발현은 번식 및 개화와 밀접한 관련성이 있으며, 특히 병징 발현은 꽃봉오리 형성기에 나타나기 시작하며, 개화기로 진행됨에 따라 가시적인 피해가 나타난다고 보고한 것과 일치하였다(Busch 등, 1970; Hall 등, 1971). 본 시험에서도 병징을 나타내지 않는 식물체의 잎자루 기부로부터 병원균을 분리한 결과는 Table 1과 같다.

육안으로 시들음 증상을 나타내는 국화 식물체로부터

Table 1. Discoloration rate of the leaf-base tissues and isolation frequency of *Verticillium dahliae* from the tissues

Plant status		Discolored leaf-base tissue (%)	Isolation of <i>V. dahliae</i> (%)
With symptom	Wilted leaves	93.2	90.9
	Not-wilted leaves	23.6	74.3
Without symptom	Not-wilted leaves	8.0	42.8

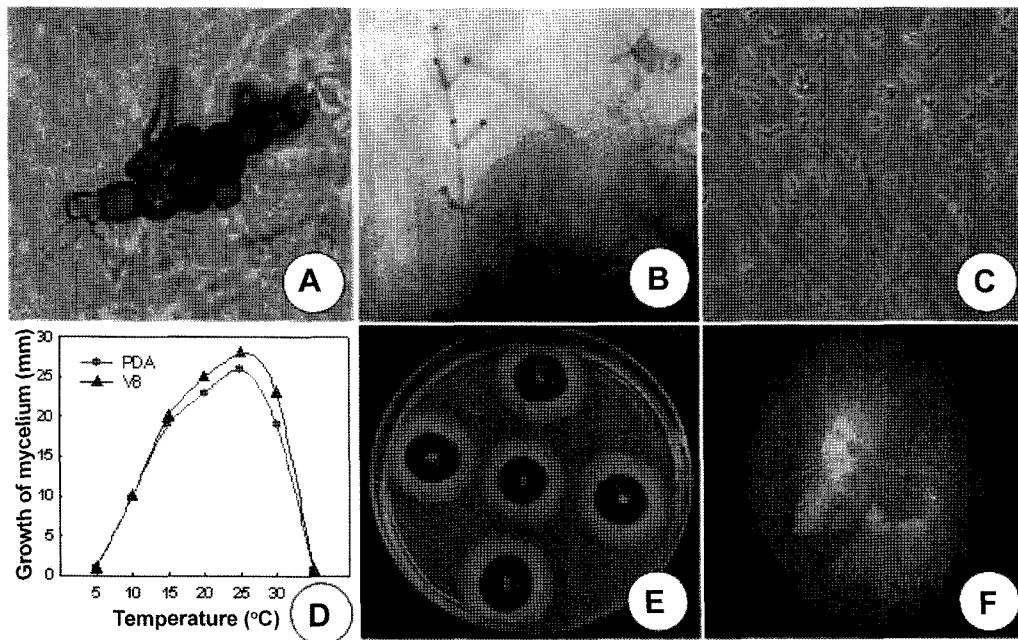


Fig. 3. A: Microsclerotia, B and C: Conidiophores and conidia, D: Diameter of mycelium after 6-day incubation on PDA, E: Colony, F: Mycelium from discolored leaf-base.

잎자루 기부의 갈변율을 조사한 결과 시든 잎의 93.2%는 이미 병원균에 의해 감염되어 잎자루의 기부가 갈변되어 있는 것으로 조사되었으며, 아직 시들지 않은 잎에서도 23.6%가 갈변된 것으로 확인되었다. 또한 시들음병이 발생한 포장 내에서 시들음 증상을 전혀 보이지 않는 식물체에서도 이미 병원균에 감염되어 잎자루의 기부가 갈변된 잎이 8.0%에 이르는 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 Wheeler 등(1954)이 국화의 잎을 생육단계별로 채취하여 병원균의 감염여부를 조사한 결과 병징을 보이지 않는 국화의 잎에서도 병원균이 분리된다고 보고한 것과 일치하였다. Dimock(1956)은 국화 반쪽시들음병은 삼수에 의해서도 감염이 이루어지고, 삼수가 병원균에 감염되어 있다 하더라도 어느 생육시기까지는 전혀 병징이 나타나지 않기 때문에 병의 방제를 위해서 삼수배양법(culture-indexed cuttings)에 의해 감염유무를 확인해야 한다고 보고한 바 있다. 일반적인 시들음병이 유관속 폐쇄에 의해 발생하는 것과는 달리 *Verticillium*에 의한 국화 반쪽시들음병은 주로 잎과 잎자루에 병원균이 집적되는 특징을 나타내며, 시들음을 보이는 국화의 뿌리, 줄기, 잎자루 기부에서 각각 병원균을 분리해 볼 때 주로 잎자루 기부에서 병원균의 증식과 집적이 주로 이루어진다고 보고된 바 있다(Hall 등, 1971). 岸(1998)도 *Verticillium*은 병든줄기의 세포속에 균사의 형태로 생존하며, 감염된 모주로부터 삼수를 통해 감염이 이루어진다고 보고하였다.

Table 2. Morphological characteristics of the fungal isolate obtained from the chrysanthemum in the present study

Characteristics	Present Isolate	<i>Verticillium dahliae</i> ^a
Colony color	Whitish to black Later becoming black	Whitish to creamy Later becoming black
Conidia		
shape	Ellipsoidal to sub-cylindrical	Ellipsoidal to sub-cylindrical
size	2.5~8.8 × 2.0~3.8 μm	2.5~8.0 × 1.4~3.2 μm
Conidiophores		
shape	Verticillately branched	Verticillately branched
Phialides		
shape	Verticillately branched	Verticillately branched
size	17.5~37.0 × 1.0~2.5 μm	16.0~35.0 × 1.0~2.5 μm
Microsclerotia		
color	Dark brown to Black	Dark brown to black
shape	Elongate to irregularly spherical	Elongate to irregularly spherical
size	9.0~22.0 × 2.4~3.0 μm	Variable

^aDescribed by Hawksworth and Talboys(1970).

병원균 동정. 2003년부터 2005년 사이에 수집된 5개 균주를 가지고 PDA 배지에서 배양한 병원균의 균총은 처음에는 흰색 내지 옅은 크림색을 나타내었다. 배양기간이 경과됨에 따라 검은색의 소형균핵(microsclerotia)이 많이 형성되면서 균총의 중심부는 검게 변색되었다(Fig. 3E). 분생포자 모양은 원통형 내지 타원형이며 무색으로 크기가 2.5~8.8 × 2.0~3.8 μm이었다(Fig. 3C). 분생포자경과 phialide는 verticillately하게 분지되어 있으며, phialide의 크기는 17.5~37.0 × 1.0~2.5 μm이고(Fig. 3B), 소형균핵(microsclerotia)는 짙은 갈색 내지 검은색으로 불규칙한 형태를 나타내었으며(Fig. 3A), PDA에서 다량 형성되었다. 병원균의 특징은 Hawksworth and Talboys(1970b)의 보고와 일치하였으며, 국내에서 국화 반쪽시들음병으로 보고된(이 등, 1991) *V. albo-atrum*과는 달리 소형균핵을 형성하는 특징을 나타내었다.

균사생장은 25°C에서 가장 좋았고 30°C 이상의 온도에서는 생장이 급격히 억제되었다(Fig. 3D). Hawksworth 등(1970)의 보고에 의하면 본 병원균의 균사생장은 23°C에서 가장 생육이 왕성하며, 30°C에서는 배지위에 균핵이 형성되어 검게 변한다고 하였다. PDA 배지와 V8 배지에 따른 균사생장의 차이는 크지 않았으며 소형균핵은 V8 배지 보다는 PDA 배지에서 많이 형성되었다.

병원성 검정. 분리된 병원균의 병원성을 확인하기 위해 화아분화기를 거쳐 꽃봉오리가 형성되기 시작한 국화 식물체의 뿌리를 포자현탁액에 침근접종한 처리에서 반쪽시들음병 병징이 가장 빠르게 확인되었다. 접종 7일 후부터 잎이 생기를 잃고 시들며 서서히 황화되어 결국은 잎 전체가 시들게 되었다(Fig. 1D). 접종 25일 후에는 식물체가 포장에서의 동일한 병징을 보이며 말라죽는 증상으로써까지 진행되었다(Fig. 1E). 이것은 일반적으로 뿌리를 통해 감염된 병원균이 물관부를 따라 잎과 꽃으로까지 이동하는 것으로 보고된 것과 일치하였다(Fradin, 2006). 특히 국화 잎이 달린 잎자루의 기부에 직접 병원균을 주사접종한 결과 병원균을 접종한 잎 뿐 아니라 접종하지 않은 인근 상하위엽에서도 병징이 나타났으며, 병원균도 분리되었다(Fig. 2). Hall 등(1971)에 의하면 *Verticillium*에 의한 국화 반쪽시들음병은 주로 잎과 잎자루에 병원균이 집적되는 특징을 보인다는 보고와 일치하였다. 국화 지체부에 상처를 주고 포자현탁액을 관주처리한 접종에서는 병징 발현이 다소 미약하였다.

요 약

2003년부터 2005년 사이 국화 주요 재배단지인 구미,

마산, 부산에서 국화의 잎이 시들며 갈색으로 말라 죽는 증상이 발생하였다. 시들고 황화된 잎은 병징이 진행됨에 따라 잎 가장자리로부터 마르며 피해증상은 시든 잎으로부터 위쪽으로 진행되며 식물체 전체에 피해를 주고 있었다. 초기 병징이 종종 식물체의 한쪽 면에서만 먼저 나타나기 때문에 “반쪽시들음병”이라고 불리는 특징을 가진다. 또한 유관속 폐쇄에 의한 일반적인 시들음병과는 달리 물관부 갈변을 확인할 수 없었으며 시든 잎의 잎자루가 달린 기부를 잘라 해부현미경으로 관찰한 결과 열은 갈색으로 내부세포가 갈변되어 있는 것을 관찰할 수 있었다. 병든 잎의 잎자루 기부 조직으로부터 병원균을 분리하여 동정한 결과 균학적 특징과 병원성을 검정한 결과 *Verticillium dahliae*으로 동정되었다. 배양적 특징으로는 균총은 처음에는 흰색 내지 옅은 크림색을 나타내고 배양기간이 경과됨에 따라 검은색 소형균핵(microsclerotia)을 많이 형성하였다. 분생포자의 모양은 원통형 내지 타원형이며 무색으로 크기가 2.5~8.8×2.0~3.8 μm이었으며, 균사생장은 25°C에서 가장 좋았다. 이상과 같이 *Verticillium dahliae*에 의해 국화에 발생한 반쪽시들음병의 병징과 균학적 특징에 대한 연구결과를 보고한다.

- on symptom expression in *Verticillium* wilt of chrysanthemum. *Can. J. Bot.* 48: 1938-1941.
- Dimock, A. W. 1956. Production of chrysanthemum propagating material free from certain major pathogens. *Plant Dis. Rep. Suppl.* 238: 59-62.
- Fradin, E. F. and Thomma, B. P. H. J. 2006. Physiology and molecular aspects of *Verticillium* wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. *Molecular Plant Pathology* 7(2): 71-86.
- Hall, R. and Busch, L. V. 1971. *Verticillium* wilt of Chrysanthemum : colonization of leaves in relation to symptom development. *Can. J. Bot.* 49: 181-185.
- 한국식물병리학회. 2004. 한국식물병명목록 제4판. 정행사. 779 pp.
- Hawksworth, D. L. and Talboys, P. W. 1970. *Verticillium dahliae*. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No. 256. Commonwealth Mycological Institute, England.
- Horst, R. K. and Nelson, P. E. 1996. Compendium of Chrysanthemum disease, American Phytopathol. Soc. Press.
- 岸國平. 1998, 日本植物病害大事典, 全國農村教育協會, p. 570.
- 이영희, 이은종, 조원대, 김완규. 1991. 농시논문집(작물보호편). 33(2): 15.
- Wheerer, S. and Sciaroni, R. H. 1954. *Verticillium* in chrysanthemum. *Calif. Agric.* 8(5): 9-10.

참고문헌

Busch, L. V. and Schooley, H. D. 1970. Environmental influence