

울무 잎마름병을 일으키는 *Bipolaris coicis*의 분리 및 동정

김성기* · 김기우¹ · 홍순성 · 박은우¹ · 양장석 · 김윤정

경기도 농촌진흥원 식물환경과, ¹서울대학교 농업생명과학대학 농생물학과

Isolation and Identification of *Bipolaris coicis*, Causing Leaf Blight of Job's Tears

Sung-Kee Kim*, Ki-Woo Kim¹, Soon-Sung Hong, Eun-Woo Park¹,
Jang-Souck Yang and Yun-Jeong Kim

Department of Plant and Environment, Kyonggi Provincial Rural
Development Administration, Hwasong 445-970

¹Department of Agricultural Biology, College of Agriculture and Life Sciences
Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

ABSTRACT: Diseased leaves of Job's tears were collected at six locations in Korea to isolate and identify the pathogen causing leaf blight. Conidia were brown, fusoid, and slightly curved. They were 25~46×10~15 μm in size, and had mostly 4 septa which were characteristic of pseudosepta. A few conidia had slightly protruding hila, whereas most had no hilum. Conidial germ tubes were produced mostly from both polar end cells (bipolar), and progressed in semiaxial direction. When seedlings of Job's tears were inoculated with conidia, long, spindle-shaped, and brown lesions were produced on leaves, and entire leaves became blighted 15 days later. Based on the aggressiveness in pathogenicity, the isolates could be divided into two groups. Considering the mycological characteristics and pathogenicity of the fungus, the pathogen causing leaf blight of Job's tears was determined to be *Bipolaris coicis* (Nisikado) Shoemaker.

KEYWORDS: *Bipolaris coicis*, *Coix lachryma-jobi*, leaf blight, taxonomy

울무[*Coix lachryma-jobi* var. *mayuen* (Roman) Stapf]는 열대 아시아, 인도네시아, 중국, 일본 및 한국 등에서 재배되는 벼과(Gramineae)의 1년생 초본식물이다. 이 작물은 식용으로 울무쌀이라 하여 주식으로 사용된 적이 있으며, 특히 잎은 차로 끓여 마시도록 하여 건강식품으로 쓰이고, 한방 용도로는 소염 작용 생약과 배합되거나, 거친 피부의 미용 및 사마귀 제거에 사용된다(임, 1989; 한 등, 1996). 최근 식생활 개선과 식품기호의 다양화로 재배면적이 급격히 확대되고 있는 추세이다(농림수산부, 1995). 이러한 울무 생산에 있어서 크게 문제되고 있는 요인은 잎에 방추상 병반과 마름 증상을 유발하는 잎마름병이다. 이 병은 울무의 잎, 잎집, 열매 및 지경

에 발생하고 심한 수량 감소를 유발시키므로 넓은 면적에서 재배할 때는 그 피해가 더욱 증가할 것으로 추측된다. 현재까지 국내에서는 울무 잎마름병에 관여하는 병원균으로 *Curvularia coicis*, *Helminthosporium coicis*, *Septoria* sp.가 보고되어 있다(한국식물보호학회, 1986). 그러나 국내에서 본 병원균에 대한 분류학적인 연구 자료 뿐만 아니라 발생생태에 관한 기초 연구는 매우 부진한 실정이다. 특히 이들 진균들은 그 형태가 서로 매우 유사하며, 특히 *Helminthosporium*속의 분류체계가 최근 큰 변화를 맞이하여 국내에서 발생하는 울무 잎마름병 병원균에 대한 분류학적 검토가 필요하다. 본 연구에서는 전국의 주요 울무 재배지역에서 채집한 병원균의 균학적 특성과 병원성을 조사하여 우리나라에서 발생하는 울무 잎마름 병원균을 동정하였다.

*Corresponding author

재료 및 방법

병원균 분리 및 배양

울무 잎마름병의 발생 최성기인 1995년 8월말에서 9월 중순까지 울무 재배단지인 경기도 연천군과 화성군, 전라북도 장수군과 무주군, 충청북도 영동군 등지를 방문하여 황갈색 방추형 병반을 나타낸 병든 잎을 채취하였다. 채취한 병든 잎을 5×5 mm 크기로 절단하여 1% NaOCl 용액에 1분간 침지하여 표면살균하였다. 살균한 잎을 물한천배지(WA)에 치상하여 25°C에서 7일간 배양하였고, 병반에 형성된 분생포자를 해부현미경으로 관찰하면서 단포자를 분리하여 47개의 균주를 확보하였다. 분리한 균주는 감자설탕한천배지(PSA)에 배양하고 보관하면서 공시균주로 사용하였다.

병원균 동정

분리한 전체 균주에서 PSA 배지상에서 균사 생육에 차이가 있는 8개 균주를 선발하였다. 이를 PSA에 접종하여 배양한 후 균사의 말단 부분을 떼어 싹겨배지(싹겨 50 g, 설탕 20 g, 한천 20 g, 증류수 1l) plate에 이식한 후 24시간 암상태의 25°C 항온기에서 7일간 배양하였다. 이후 싹겨배지 표면에 형성된 기중균사를 제거하고 25°C에서 3일 동안 연속 형광등 하에서 배양하여 포자를 형성시켰다. 이후 분생포자의 형태, 크기, 색상, 격막수 및 hilum(분생포자경에 부착되었던 분생포자의 흔적)의 존재와 형태를 광학 현미경으로 관찰하면서 조사하였다. 또한 포자의 발아 특성을 조사하기 위하여 slide glass에 포자 현탁액을 떨어뜨린 다음 습실 처리한 후 25°C에서 9시간 동안 배양하였다. 이후 분생포자의 각 격막으로 분할된 세포에서의 발아관 형성 유무와, 포자의 장축을 기준으로 하여 발아관이 진행되는 방향을 광학 현미경으로 관찰하였다. 조사한 균주의 형태적 특성을 근거로 Alcorn(1988)의 분류체계에 따라 동정하였다.

병원성 검정

동정에 사용한 8개 균주를 PSA에 접종한 후 25°C에서 4일 배양한 후 활발하게 생육하는 균사의

말단 부분을 떼어, 싹겨배지 plate에서 분생포자를 형성시켰다. 포자 현탁액을 조제하기 위하여 살균 증류수로 만든 0.02% Tween20 용액 20 ml을 포자가 형성된 싹겨 배지 plate에 가하였다. 배지 표면을 붓으로 긁어 주면서 만든 현탁액을 2겹의 cheesecloth에 여과시킨 후 haemocytometer를 이용하여 $1.0 \times 10^6/\text{ml}$ 농도의 포자 현탁액을 조제하였다. 접종 실험을 위하여 각 공시 균주당 4개체의 울무를 5~6엽기까지 격리된 온실에서 재배하였다. 포자 현탁액을 turn table이 부착된 접종상에서 현탁액이 흘러내리지 않을 정도로 울무 잎에 분무 접종하였다. 이후 포화습도로 유지되는 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 환경조절실에서 15일 동안 발병시키고 7~8일 간격으로 병반면적율을 조사하였으며, 2회 반복하여 실험하였다.

결과

발병 및 병징

울무 잎마름병은 장마가 끝날 무렵인 7월 중·하순경부터 9월 하순까지 발병되었다. 처음에는 엽맥을 따라 직경 0.1~1 mm의 원형 또는 타원형의 황색 또는 담갈색 병반으로 나타나고, 병반 중심부는 회갈색으로 변화하였다(Fig. 1). 7월 하순이후 온도와 습도가 높아짐에 따라 반점이 점점 커져 긴 방추형의 병반이 되고, 심한 경우에는 몇 개의 병반이 합쳐져 일전체에 퍼졌다. 더욱 진전되면 주로 잎끝이나 가장자리부터 고사하는 경우가 많고, 잎집에도 감염이 되는데 심하면 잎집이 고사하고, 후에 상부의 잎도 고사하였다. 또한 종자와 지경에도 발병되는데, 병반부는 회백색이 되고, 감염시기가 빠를 경우에는 불임종자도 발생하였다(Fig. 2).

병원균 동정

공시한 균주는 모두 분생포자가 갈색이었고, 격막으로 분할된 세포들간에 색상의 차이는 없었다. 또한 방추형(fusoid)으로서 포자의 말단부위로 갈수록 포자의 폭이 좁아지는 형태를 나타내었다(Fig. 3A). 또한 대부분 C자 형으로 약간 굽거나 비틀린 형태였으며, 크기는 $25 \sim 46 \times 10 \sim 15 \mu\text{m}$ 범위에 속하였다. 포자의 격막은 주로 4개이고, 각 격막



Fig. 1. A blighted leaf of Job's tears infected with *Bipolaris coicis*.

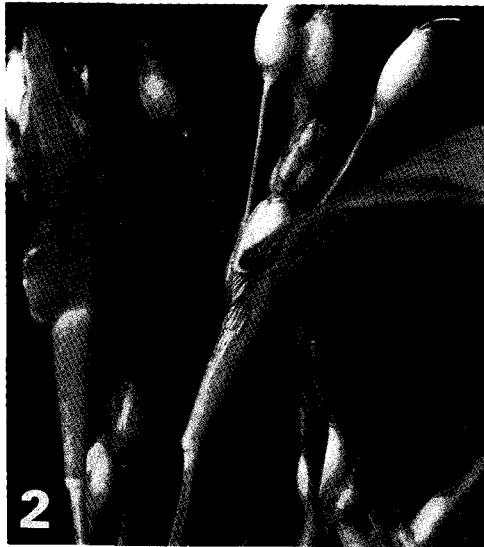


Fig. 2. Blighted seeds and leaves of Job's tears infected with *B. coicis*.

으로 분할된 포자의 세포는 이상적으로 비대한 것은 없었고 대부분 말단부위에서 중앙부위로 갈수록 점진적으로 키지는 양상이었다. 특히 격막이 두껍게 관찰되었으며, 그 내부에 콩꼬투리 모양과 같이 원형의 세포를 감싸는 형태를 나타내는 위격막 상태(distoseptate or pseudoseptate)가 특징이었다. Hilum은 대부분 돌출되지 않았고 약간 돌출된

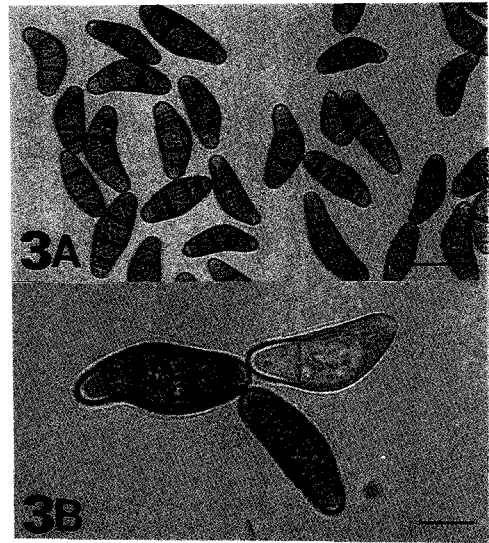


Fig. 3. A: Conidia of *B. coicis* isolated from blighted leaves of Job's tears. Scale bar indicates 20 μ m. B: Conidia of *B. coicis* showing no protruding hila. Scale bar indicates 10 μ m.

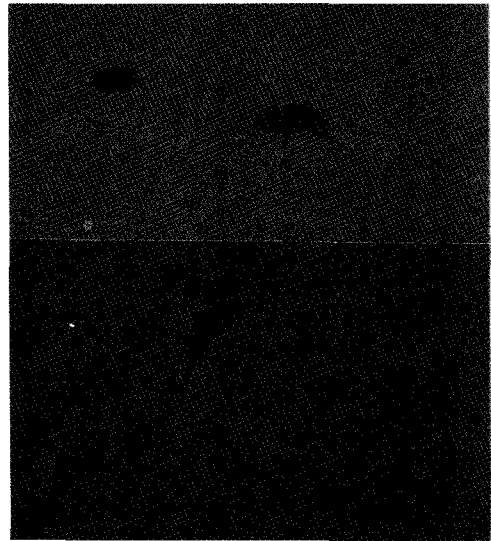


Fig. 4. Germinated conidia of *B. coicis*. Note that germ tubes were produced from both end cells.

것도 관찰되었다(Fig. 3B). 포자의 발아관은 대부분 양극단의 세포에서 발생하였고(bipolar), 발아관은 포자의 장축을 기준으로 하여 약간 비스듬한(semiaxial) 방향으로 진행하였다(Fig. 4). 이와 같

Table 1. Morphological characteristics of eight pathogenic isolates obtained from blighted leaves of Job's tears and *Bipolaris coicis* previously described in the literature

Isolates	Shape	Size (μm)	Color	No. of septa	Hilum	Germination	Germ tube direction
KG 9401	fusoid, straight or curved	31-39 \times 11-15	brown	3-5(4)	nonprotruding	bipolar or monopolar	semiaxial
KG 9408	"	29-36 \times 11-15	"	"	"	"	"
KG 9417	"	34-36 \times 12-15	"	"	"	"	"
KG 9424	"	31-41 \times 14-15	"	"	"	"	"
KG 9404	"	27-46 \times 11-15	"	"	"	"	"
KG 9411	"	25-40 \times 11-15	"	"	"	"	"
KG 9422	"	30-36 \times 10-15	"	"	"	"	"
KG 9425	"	28-41 \times 11-14	"	"	"	"	"
^a <i>B. coicis</i>	ovate-fusoid, slightly curved	26-75 \times 12-22	brown	4	nonprotruding	bipolar	semiaxial
^b <i>Helminthosporium coicis</i>	ND	27-47 \times 11-16	ND	ND	ND	ND	ND
^d <i>B. coicis</i>	fusoid, straight or curved	ND	brown	3	slightly protruding	bipolar or monopolar	semiaxial

^aDescription by Luttrell (1969).

^bDescription by Tsuda (1977).

^cNot described.

^dDescription by Alcorn (1983).

은 특성은 Luttrell(1969), Tsuda(1977), Alcorn (1988) 등의 결과와 일치하여 본 병원균을 *Bipolaris coicis* (Nisikado) Shoemaker로 동정하였다(Table 1).

병원성 검증

선발한 균주를 울무에 접종한 결과, 접종후 4일부터 병반이 나타나기 시작하였다. 접종한 8개 균주는 병원성에 있어서 크게 차이를 나타내는 2개의 group으로 구분할 수 있었다(Fig. 5). Group 1에는 4개 균주 KG 9404, 9411, 9422, 9425가 포함되며, 접종 7일후에 이미 60% 이상의 병반면적율을 나타내면서 급속히 진전하여, 엽맥을 따라서 길게 형성되는 갈색의 병반을 나타내며 잎을 고사시켰다. 접종 15일후에 조사했을 때에도 특별한 진전은 없이 65% 수준의 병반면적율을 유지하였다. 그러나 group 2에 속하는 4개 균주 KG 9401, 9408, 9417, 9424는 접종 7일 후 25% 수준의 병반면적율을 나타내고, 방추형 병반이 점진적으로 엽맥을 따라서 진전되었다. 접종 15일 후에는 group 1과 거의 동일한 수준의 병반면적율에 도달하면서 갈색의 병반이 형성되고 잎이 고사되었다.

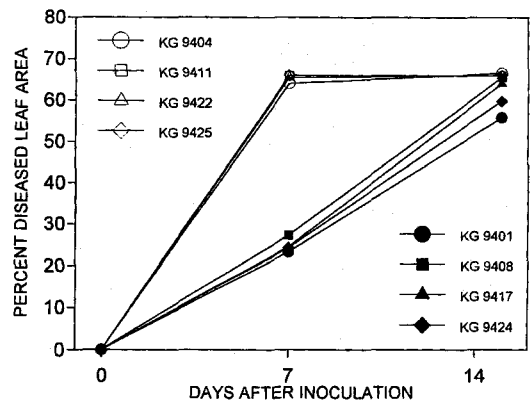


Fig. 5. Temporal progress of leaf blight of Job's tears inoculated with eight isolates of *Bipolaris coicis*.

고찰

울무의 잎마름 증상을 일으키는 병원균은 본 연구에서 *Bipolaris coicis*로 동정되었다. *Bipolaris* 속은 이전에 일반적으로 *Helminthosporium* 속으로 분류되었다. 그러나 울무를 비롯한 벼과 식물을 침해하는 *Helminthosporium* spp.은 그 형태적 특성이 매우 다양하여 type species(*H. velutinum*)

와는 큰 차이를 나타내었다. 또한 그들이 형성하는 완전세대도 특징을 달리하는 별개의 속을 형성하므로 분류학적인 혼란을 초래하였다(Shoemaker, 1959; Smiley 등 1992).

이러한 과정 속에서 벼과 식물을 침해하는 *Helminthosporium* spp.의 분류를 통합하여 Alcorn (1983, 1988)은 3가지 독립적인 속을 인정할 것을 제안하였다. 그리하여 *Bipolaris*속(완전세대 *Cochliobolus*)은 양말단 부분에서 발아관이 출현하며 양극단으로 갈수록 좁아지는 모양의 포자를 가지고, 돌출하는 hilum이 존재하지 않는 것을 포함시켰다. *Drechslera*속(완전세대 *Pyrenophora*)은 끝부분의 포자 모양이 뾰족하며 hilum이 존재하지 않고 격막으로 구분된 모든 세포에서 발아관이 출현하는 것이라 정의하였다. 그러나 *Exserohilum*속(완전세대 *Setosphaeria*)은 hilum이 돌출한 것이 가장 구분되는 특징이고 포자의 발아나 형태는 *Bipolaris*와 거의 유사한 것을 포함하도록 구분하였다. 이러한 Alcorn의 분류체계가 전세계적으로 많은 연구자에 의하여 채택됨에 따라서 과거에는 *Helminthosporium* spp.으로 동정되었던 것이 3가지 독립된 속으로 구분되어 분류되었다(정 등, 1990; Alcorn, 1990).

국내에서는 울무 잎마름병의 병원균으로 *Curvularia*와 *Helminthosporium*, *Septoria*의 3가지 진균이 관여하는 것으로 보고되어 있으나, 본 연구에서는 *Septoria* sp.는 잎마름 증상을 보이는 울무 잎에서 분리되지 않았다. Kilpatrick and Luttrell(1967)과 Luttrell(1969)은 이전에 *Coix lachryma-jobi*의 잎마름병 병원균으로 기록된 *Curvularia coicis*는 *Curvularia*속과 형태적인 차이가 심하여 *Curvularia*속에 포함시킬 수 없고, *Helminthosporium coicis*로는 명명할 수 있지만, *Helminthosporium*속의 새로운 분류체계에 의거하여 *Bipolaris*속에 포함시킬 것을 제안하였다. 또한 Luttrell(1963)과 律田(1992)은 *Bipolaris*속과 *Curvularia*속의 구별은 포자의 크기와 분생포자 격막의 형태로 가능하다고 하였다. 즉 *Curvularia*속의 분생포자 격막은 진격막(euseptate)인데 반하여 *Bipolaris*속의 격막은 위격막(distoseptate or pseudoseptate)이라 하였는데, 본 연구에서도 분리

한 균주는 위격막을 나타내었다. Shoemaker (1959)는 *Bipolaris*속의 설립을 제안하면서 *Coix*속의 식물을 침해하는 병원균을 *Bipolaris coicis* (Nisikado) comb. nov.라고 기술하였다. 그러나 Alcorn(1983)의 분류체계가 보편화되기 전에 Tsuda(1977)는 울무 잎마름병균으로 *Helminthosporium coicis* Nisikado라고 인용하였다. 위와 같은 연구 결과를 종합해 볼 때, 울무 잎마름병균은 *Bipolaris coicis*(Nisikado) Shoemaker로 명명하는 것이 타당하다고 제안한다. 한편 이 등(1991)은 국내에서 발생하고 있는 울무 잎마름병의 병원균을 *Curvularia coicis* Castell.로 동정하였는데, 이 균의 형태적 특성이 본 연구 결과와 비슷하여 *B. coicis*로 수정함이 적절하다.

분리된 균주의 병원성을 조사한 결과 병원성에 있어서 두 group으로 분류할 수 있었다. 이는 지역 간, 균주 개체간의 변이에 기인한 것으로 다양한 병원형으로 세분화한 것으로 생각된다. 병원성 정도 및 배양적 특성을 비롯한 표현형질의 다양성과 병원균 집단의 유전적 구조와의 관계를 구명하는 연구가 앞으로 보완될 필요가 있다.

본 연구는 분생포자의 특성을 중심으로 한 불완전세대의 자료로 병원균을 동정하였다. Tsuda (1977)는 Sach's nutrient agar 배지에서 *B. coicis*의 완전세대를 형성하였고, *Cochliobolus*속의 특징인 자낭포자의 나선형 배열과 다른, 자낭포자가 자낭과 평행하게 배열되어 있는 *Pseudocochliobolus nisikadoi* Tsuda라는 신종을 보고하였다. 이후에는 배지상에서 울무 잎마름병균의 완전세대를 형성시켜 그 자낭 및 자낭포자의 특성을 조사하여 동정함으로써 본 연구 결과를 보완하는 연구가 수행되어야 할 것이다.

적 요

울무 잎마름병을 일으키는 병원균을 분리하고 동정하기 위하여 국내 6개 지역에서 병든 잎을 채집하였다. 분생포자는 갈색이었고 방추상이었으며 약간 굽은 모양이었다. 크기는 25~46×10~15 μm이었고 격막은 주로 4개이었으며 위격막 상태가 특징이었다. Hilum은 대부분 관찰되지 않았고 약간 돌출

된 것도 있었다. 포자의 발아관은 대부분 양극단의 세포에서 출현하였고, 발아관은 포자의 장축을 기준으로 하여 약간 비스듬한 방향으로 진행하였다. 유묘 단계의 울무에 분생포자를 접종했을 때, 잎에 긴 방추형의 갈색 병반이 나타나면서 15일 후에 잎 전체가 고사하였다. 병원균은 병원성에 따라서 두 group으로 구분할 수 있었다. 이 곰팡이의 균학적 특성과 병원성을 고려하여, 울무 잎마름병 병원균은 *Bipolaris coicis* (Nisikado) Shoemaker로 결정되었다.

감사의 글

본 연구는 1996 교육부 지역개발연구과제(과제 번호: 농축산 1-3)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 농림수산부. 1995. pp. 52-55. '94 특용작물 생산실적. 이은중, 이영희, 조원대, 김완규, 진경식. 1991. 원색 약용작물 병해도감 pp. 85-86. 농업기술연구소, 수원. 임응규. 1989. 제3장 울무. pp. 83-88. 자원식물학. 개정판. 선진문화사. 서울.
- 정영륜, 김병섭, 김홍태, 조광연. 1990. 논피(*Echinochloa crus-galli*) 잎마름병을 일으키는 병원균 *Exserohilum* sp.의 분리 및 동정. 한국식물병리학회지 6(4): 429-433.
- 한국식물보호학회. 1986. pp. 9. 한국 식물병·해충·잡초 명감. 개정판. 이우인쇄사. 서울.
- 한용남, 윤훈경, 박정화, 유시용. 1996. 울무 생리활성 물질의 산업화 이용에 관한 연구-용매 분획물의 생리활성 검색. 농업논문집('95 농업산학협동) 38: 21-29.
- 律田 盛也. 1992. 真菌の分離と分類・同定(31)いわゆるイネ科植物寄生性 *Helminthosporium* 屬菌と *Curvularia* 屬菌. 3. *Bipolaris* 屬菌と *Curvularia* 屬菌. 防菌防微 20(8): 437-448.
- Alcorn, J. L. 1983. Generic concepts in *Drechslera*, *Bipolaris* and *Exserohilum*. *Mycotaxon* 12(1): 1-86.
- Alcorn, J. L. 1988. The taxonomy of "*Helminthosporium*" species. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26: 37-56.
- Alcorn, J. L. 1990. Additions to *Bipolaris*, *Cochliobolus* and *Curvularia*. *Mycotaxon* 39: 361-392.
- Kilpatrick, R. A. and Luttrell, E. S. 1967. An undescribed species of *Curvularia* pathogenic to *Dichanthium annulatum*. *Mycologia* 59: 889-892.
- Luttrell, E. S. 1963. Taxonomic criteria in *Helminthosporium*. *Mycologia* 55: 643-674.
- Luttrell, E. S. 1969. *Curvularia coicis* and the nodulosa group of *Bipolaris*. *Mycologia* 61: 1031-1040.
- Shoemaker, R. A. 1959. Nomenclature of *Drechslera* and *Bipolaris*, grass parasites segregated from '*Helminthosporium*'. *Can. J. Botany* 37: 879-887.
- Smiley, R. W., Dernoeden, P. H. and Clarke, B. B. 1992. *Bipolaris* and *Exserohilum* Diseases. pp 34-36. In: Compendium of Turfgrass Diseases. 2nd ed. APS Press, St. Paul, Minnesota. 98pgs.
- Tsuda, M., Ueyama, A. and Nishihara, N. 1977. *Pseudocochliobolus nisikadoi*, the perfect state of *Helminthosporium coicis*. *Mycologia* 69: 1109-1120.