

*Trichothecium roseum*에 의한 배 분홍빛썩음병 발생*

권진혁**·이흥수***·최시림***·조용조***·
최옥희****·조현숙*****·심창기*****

Pink Mold Rot on Asian Pear (*Pyrus serotina* Rehder) Caused by *Trichothecium roseum* (Pers.) Link ex Gray in Korea

Kwon, Jin-Hyeuk·Lee, Heung-Su·Choi, Si-Lim·Cho, Cho-Yong·
Choi, Ok-Hee·Cho, Hyeoun-Suk·Shim, Chang-Ki

A severe pink mold rot on matured asian pear (*Pyrus serotina* Rehder) fruit occurred in the organic farmers' orchard in Jinju, Korea in October, 2012. Decay of pear fruit appeared as a softened water-soaked symptom that was easily punctured by pressure. Later pink mycelium appeared on the surface of pear fruit and produced a mass of powdery pink conidia spores. Optimum temperature for mycelial growth of *T. roseum* was 25°C. Conidia showed hyaline, smooth, 2-celled, thick-walled with truncate bases, ellipsoidal to pyriform, and characteristically held together zig-zag chains and 10-22(34)×6-10(12) μm in size. Conidiophore was erect, colorless, unbranched type, and 4-5 μm width. On the basis of mycological characteristics, pathogenicity test, and molecular identification with the ITS region, the causal fungus was identified as *Trichothecium roseum* (Pers.) Link ex Gray.

Key words : pear, pink mold rot, *pyrus serotina*, *trichothecium roseum*

* 본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 : PJ006512)에서 연구비 지원으로 수행된 결과이며 연구비 지원에 감사드립니다.

** Corresponding author, 경상남도 농업기술원(E-mail : kwon825@korea.kr)

*** 경상남도 농업기술원

**** 경상대학교 농업생명과학연구원

***** 농촌진흥청 국립식량과학원

***** 농촌진흥청 국립농업과학원

I. 서 론

국내에서 *Trichothecium roseum*에 의한 병으로는 멜론 분홍빛열매썩음병(Kwon 등, 1998), 딸기 분홍빛열매썩음병(Kwon 등, 2010), 배 붉은빛썩음병(Park, 1961), 사과 붉은썩음병(Nakata와 Takimoto, 1928)이 발생하는 것으로 보고된 바 있다.

그런데, 박 등(1961)에 의한 배 붉은빛썩음병은 병리학적인 관찰자료가 전혀 없이 단순하게 병 발생 자체에 대한 보고로 균학적인 보고가 미비하다.

2012년 10월 경상남도 진주시 유기농 배 재배 농가포장의 성숙기 과실에서 수침상으로 부패하고 그 위에 분홍빛 곰팡이가 발생하는 이상증상을 나타내는 과실에 대해 농가 임상진단 의뢰를 받았다. 농가포장에 병든 과실 8개 채집하여 실험실로 가지고 와서 병원균 순수 분리하고 균학적 특징과 병원성 조사한 결과 *T. roseum*에 의한 배 분홍빛썩음병으로 진단하였다.

지금까지 우리나라에서 *T. roseum*에 의해 발생하는 병해를 배 붉은빛썩음병이라고 기록은 있었지만, 이 병해에 대한 학술적인 보고가 전혀 되어 있지 않다(Park, 1961).

본 연구는 유기농 배 재배 지역에서 분리한 *T. roseum*에 대한 병원균의 균학적 특성과 병원성 검정 결과 *Trichothecium roseum* (Pers.) Link ex Gray에 의한 배 분홍빛썩음병으로 제안하며 그 결과를 보고한다.

II. 재료 및 방법

1. 포장에서 병징과 발생 조사

2012년 10월 중순 이후 경상남도 진주시 병해 임상진단 의뢰한 유기농 배(품종: 신고) 재배 농가 포장을 선정하였다. 조사 포장은 20년 된 과수원으로 봉지 씌우기한 과실을 주당 100개씩 3주에 대한 병징과 병 발생을 조사하였다

2. 병원균 분리 및 병원성 검정

배에서 발생한 분홍빛썩음병의 병원균을 분리하기 위해 병든 과실 채집하여 실험실에서 건전부와 병반부 경계 부위의 조직을 5×5 mm 크기로 자른 다음 1% NaOCl 용액으로 1분간 표면소독한 후 멸균수에 3회 세척을 하였다. 알콜램프에 화염 소독한 필터 페이프 이용하여 물기를 완전히 제거한 후 크린 벤치 안에서 일회용 페트리디쉬 안에 넣고서 24시간 건조하였다. 감자한천배지(PDA) 위에 옮겨 25℃ 항온기내에서 4일간 배양한 후 자라 나온 균

사를 다시 떼어 내어 PDA 위에 옮겨 25°C 항온기 내에서 8일간 배양하여 병원균의 균학적 특성을 조사하였다.

유기농 배에 발생한 분홍빛썩음병원균을 분리한 균주의 병원성을 확인하기 위하여 2013년 4월 농산물도매시장에 구입한 건전한 배를 1% 차아염소산나트륨(NaOCl)으로 깨끗이 표면 살균한 다음 멸균수로 3회 세척하여 수분을 완전히 제거하였다. 접종상으로 준비해 둔 3개의 플라스틱 상자(29×22×15cm)에 표면 소독한 배를 넣고 상처접종 9개, 무상처 접종 3개를 준비하여 3회에 걸쳐 인공접종 하였다. PDA에서 12일간 배양한 병원균을 가지고 멸균수 10ml 넣고서 붓으로 긁어모아 가아제로 거른 다음 3×10^4 conidia/ml 농도로 분생포자 현탁액을 만들어 접종원으로 사용하였다. 배 표면에 3mm 크기로 상처를 내고서 붓으로 현탁액 1방울(30 μ l) 접종하였다. 접종 후 플라스틱 상자 안에 일정한 습도가 유지될 수 있도록 필터 페이퍼를 5장씩 3곳에 깔고 일회용 페트리디쉬 위에 접종한 과실을 올려놓고 멸균수 100ml 붓고 뚜껑을 닫은 후 25°C 항온기에 넣고서 발병유무를 조사하였다.

3. ITS 염기서열 분석에 의한 동정

병원균 동정을 확실시키기 위하여 ribosomal DNA(rDNA)의 complete internal transcribed spacer(ITS) 영역의 염기서열을 White 등(1990)이 사용한 2개의 프라이머 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 이용하여 PCR로 증폭하였다. PCR 조건은 최종농도 10 mM Tris-HCl(pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 200 nM dNTPs이고 10 pmol의 프라이머와 0.1 unit의 rTaq DNA polymerase(Takara)를 사용하였으며, 50 μ l로 반응용량을 맞추었다. PCR 반응조건은 predenaturation(98°C, 2min), denaturation(98°C, 30 Sec), annealing(60°C, 30 Sec), extension(72°C, 30 Sec), total cycle(30 cycles), final extension(72°C, 4 min) 수행하였으며, 증폭된 PCR 산물은 0.8% agarose gel에서 전기영동 후, ethidium bromide로 염색하여 UV transilluminator에서 밴드를 확인하였다. 확인된 밴드는 QIAquick PCR purification kit(Qiagen)를 사용하여 분리 정제하였고, pGEM-T Easy 클로닝 벡터(Promega)에 클로닝한 후 M13F와 M13R 프라이머를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 염기서열은 ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit(PE Biosystems, Foster, CA, USA)를 이용하여 결정하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 병징

수확기에 있는 배 과실 표면의 상처부위에 발생을 하며 감염된 부분은 수침상으로 물러지고 썩으면서 갈색으로 변하고 부패된 부분에 분홍빛 곰팡이가 많이 형성되는 것이 특징이다(Fig. 1A, B). 병반부위를 절단해 보면 과육 내부가 물러져 상품성이 없다(Fig. 1C).

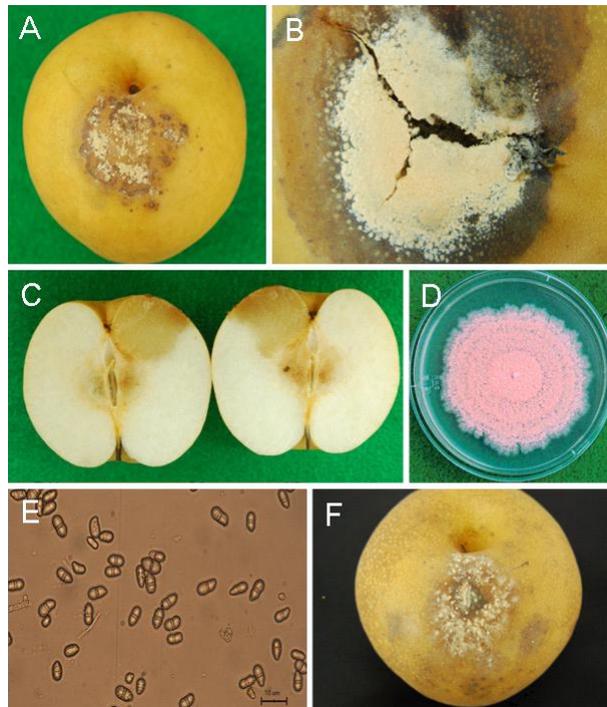


Fig. 1. Symptom of pink mold rot on the surface of a matured Asian pear (*Pyrus serotina* Rehder) fruit caused by *Trichothecium roseum*. A and B: Typical symptom naturally infected fruit, C: Longitudinal section of infected fruit, D: Colony on PDA after 8 days of inoculation, E: Conidia, F: Artificially inoculated symptoms after 8 days

2. 발생환경

2012년 10월 중순 이후 경상남도 진주시 농가포장에 유기농 재배중인 배에서 분홍빛썩음병이 발생하여 수확기에 있는 과실이 수침상으로 물러지고 부패되어졌다. 수확기에 있는 배는 성숙하여 당도가 있어 작은 상처나 열과된 부위 또는 낙과될 때 상처 난 과실에 발생

이 되었다. 봉지를 씌운 과실이나 봉지씌우기를 하지 않은 과실 모두 발생이 되었으며 낙과시 포장 내 풀속에 그대로 방치되어 통풍과 채광이 좋지 않는 상태에서 균락 내 온도와 습도가 알맞게 유지되어 병든 과실 표면에 많은 양의 분생포자가 형성된 것으로 관찰되었다. 병든 과실을 포장 내 방치할 경우 병원균이 증식되어 많은 양의 분생포자가 형성되어 저 수확 후 저장, 유통 중 2차 전염원으로 피해가 우려된다. 포장에서 봉지 씌운 과실 발병율은 2% 정도로 미미하였다.

3. 균학적 특성

*T. roseum*의 균총색깔은 처음에 흰색이고 배양기간이 경과됨에 따라 배지 표면에 분홍빛으로 나타나고 분생포자가 많이 형성되었다(Fig. 1D). 그러나 박 등(1961)에 의한 배 붉은빛썩음병의 병명은 병리학적인 관찰자료가 전혀 없이 단순하게 병이 발생한 것에 대한 보고로 병징이나 형태적인 특성을 고려할 때, “분홍빛열매썩음병”으로 병명이 정정되어야 한다.

균사생육 적온은 25°C이다. 분생포자의 모양은 서양배형이며 성숙한 분생포자는 2세포로 되어있다. 크기가 10~22(34)×6~10(12) μm이고 무색인 분생포자는 좌우 지그자그로 돌출 팽대되어 분생자경 선단에 많이 형성하였다. 분생자경은 균사표면으로 부터 직립으로 형성하고, 길이는 2mm 정도이며, 폭은 4~8μm이고 무색이었다(Fig. 1E). 이와 같은 특징은 Domsch (1980) 등이 보고한 *T. roseum*의 형태적 특징과 일치하였다.

Table 1. Comparison of morphological characteristics of the fungus isolated from Asian pear (*Pyrus serotina* Rehder) with those of *Trichothecium roseum* described previously

Characteristics		Present isolate	<i>Trichothecium roseuma</i>
Colony	color	pinkish, zonate in diurnal rhythm, powdery	pinkish, dusty, zonate in diurnal rhythm, powdery
	shape	erect, unbranched	erect, unbranched
Conidiophores	size	4~5 μm wide	2 mm long, 4~5 μm wide
	shape	ellipsoidal to pyriform, 2-celled, imbricate zig-zag chains	ellipsoidal to pyriform, 2-celled, thick-walled truncate bases, imbricate zig-zag chains
Conidia	size	10~22(34)×6~10(12) μm	12~23(35)×8~10(13) μm

^a Described by Domsch et al.,(1980).

4. ITS 염기서열 분석에 의한 동정

병원균 동정을 확실시키기 위하여 ribosomal DNA(rDNA)의 complete internal transcribed spacer(ITS) 영역의 염기서열을 White 등(1990)이 사용한 2개의 프라이머 ITS1(5'-TCCGTAG GTGAACCTGCGG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 이용하여 PCR로 증폭하였다. 병원 곰팡이의 분자적인 동정을 위해 ITS rDNA 영역의 염기서열(613 bp)을 BLASTN 프로그램을 이용하여 분석하였으며, 딸기 분홍빛썩음병(GenBank accession no. HM355750)과 망고 분홍빛썩음병을 일으키는 *T. roseum*(GenBank accession no. JQ898156)와 99%의 상동성을 나타내었다(Fig. 2).

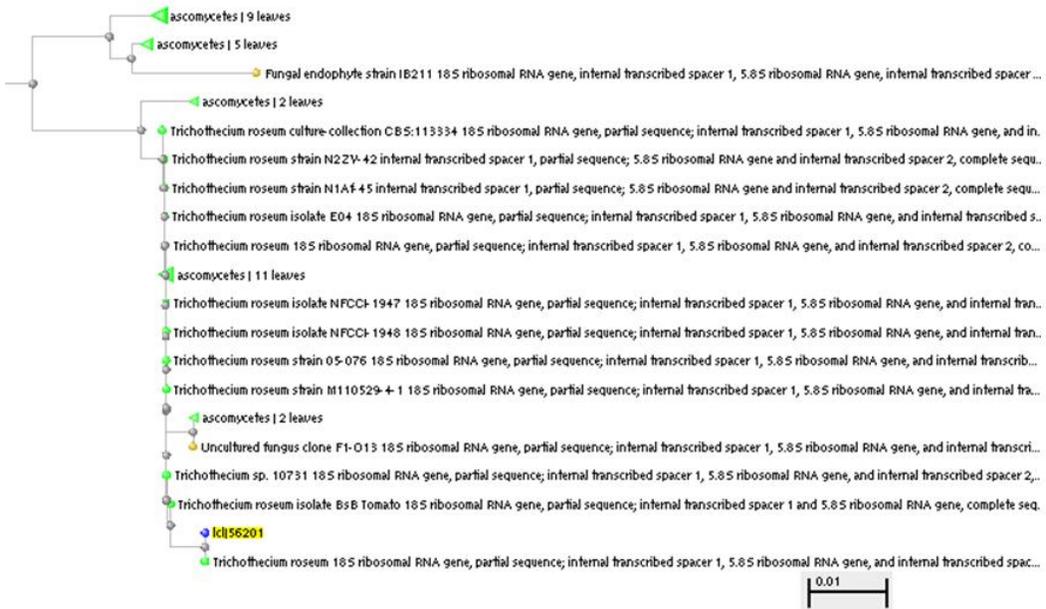


Fig. 2. Genetic distance of 613 bp of ITS rDNA region of *Trichothecium roseum*, occurred on Asian Pear (*Pyrus serotina* Rehder)

5. 병원성 검정

배에서 분리한 균주의 병원성을 확인하기 위하여 멸균한 건전한 배에 접종 4일후 상층 접종한 배 표면이 수침상으로 물러지면서 부패하기 시작하였으며 시간이 경과함에 따라 포장에서 발병된 병징과 동일한 병징을 나타내었다(Fig. 1F). 병원균을 재분리하여 동정한 결과 *T. roseum*에 의한 배 분홍빛썩음병과 같은 병원균이었다. 무상처 접종한 배에서는 조사기간 동안 병이 발생하지 않았지만 기간이 경과함에 따라 서서히 병이 발생하였다.

Domsch(1980)와 Kobayashi(1992) 등에 의하면, *T. roseum*균은 부생적 성질이 강하고 살아 있는 식물체뿐만 아니고 식물의 잔재물이나 미숙퇴비에 번식하고 기생성은 약하다고 기술하였다.

IV. 요약

2012년 10월 경상남도 진주시 농가포장에 재배중인 성숙기 배 과실에서 분홍빛썩음병이 발생하였다. 병징은 배 과실 표면이 수침상으로 물러지고 썩으면서 그 위에 분홍빛 곰팡이가 많이 형성되었다. 균층의 색깔은 처음에 흰색이고 배양기간이 경과됨에 따라 배지 표면에 분홍빛의 분생포자가 많이 형성되었다. 균사생육 적온은 25°C이었다. 분생포자의 모양은 서양배형이며 좌우 지그자그로 부착하며 성숙한 분생포자는 2세포로 되어있다. 크기는 10~22(34)×6~10(12) μm이었다. 분생자경은 균사표면에 직립으로 형성하고, 폭이 4~5 μm이고 무색이었다. 동정을 확실시키기 위해 rDNA의 complete internal transcribed spacer(ITS) 영역의 염기서열을 분석하였고, 분석된 염기서열(613 bp)을 BLASTN 프로그램으로 확인한 결과, *T. roseum*(GenBank accession no. JQ898156)와 99%의 상동성을 나타내었다. 이와 같이 배에서 발생한 병징과 병원균의 균학적 특징을 기초로 하여 이 병을 *Trichothecium roseum* (Pers.) Link ex Gray에 의한 배 분홍빛썩음병으로 명명하고자 제안한다.

[논문접수일 : 2013. 5. 28. 논문수정일 : 2013. 6. 5. 최종논문접수일 : 2013. 6. 17.]

Reference

1. Domsch, K. H., W. Gams, and T. H. Anderson. 1980. Compendium of soil fungi. Vol. 1. Academic Press. 859 p.
2. Kobayashi, T., K., Katumoto, K. Abiko, Y. Abe, and M. Kakishima. 1992. Illustrated genera of plant pathogenic fungi in Japan. The Whole Farming Educational Association. 685 p. (in Japanese).
3. Kwon, J. H., S. S. Shen, and J. W. Kim, 2010. Occurrence of pink mold rot of strawberry caused by *Trichothecium roseum* in Korea. Plant Pathology J. 26: 296 (In Korean).
4. Kwon, J. H., S. W. Kang, J. T. Lee, H. K. Kim, and C. S. Park. 1998. Matured fruit *cucumis melo* caused by *Trichothecium roseum* (Pers.) Link ex Gray in Korea. Plant

- Pathology J. 14: 642-645 (In Korean).
5. Nakata, K. and Takimoto S. 1928. Diseases of cultivated plants in Korea. J. Agric. Exp. Stat. Gov. Gen. Chosen 15: 122 (In Japanese).
 6. Park, J. S. 1961. Fungous Diseases of Plants in Korea (2). Bulletin No. 2, p. 12. College of Agriculture, Chungnam National University, Daejeon, Korea.
 7. White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A guide to methods and applications, (eds.) M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White, pp. 315-322. Academic Press, Inc., New York.