

*Fusarium commune*에 의한 고구마 표피썩음병의 발생

최효원^{1*} · 홍성기¹ · 이영기¹ · 남영주¹ · 이재금¹ · 안치중²

¹농촌진흥청 국립농업과학원, ²여주시 농업기술센터

Occurrence of *Fusarium* Surface Rot on Sweet Potato Caused by *Fusarium commune*

Hyo-Won Choi^{1*}, Sung Kee Hong¹, Young Kee Lee¹, Young Ju Nam¹, Jae Geum Lee¹ and Chi Jung An²

¹National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

²Yeoju Agricultural Technology Center, Yeoju 469-800, Korea

ABSTRACT: In June 2013, surface rot symptoms were observed on sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) in Yeosu city, Korea. The lesions were circular, light to dark brown, firm, dry, and superficial. The diseased area became sunken in older tissues, and the symptoms usually did not extend deeply into the flesh. Seven isolates of *Fusarium* species were isolated from diseased sweet potatoes. All isolates were identified as *Fusarium oxysporum* based on morphological characteristics on CLA medium. To confirm the identification, molecular analysis of elongation factor 1 alpha gene was conducted. Among the isolates, however, four isolates were *F. commune*, and three isolates were *F. oxysporum* based on the DNA sequence data. Pathogenicity was tested using agar block inoculation on wounded or unwounded sweet potato pieces. Lesions were observed on wounded sweet potato pieces after 7 days inoculation in only *F. commune* isolates. This is the first report that *F. commune* causes *Fusarium* surface rot of sweet potato in Korea.

KEYWORDS : *Fusarium commune*, *Fusarium* surface rot, Sweet potato

고구마(*Ipomoea batatas* L.)는 전세계적으로 중요한 식량 작물 중 하나로 괴근은 대부분 전분으로 이루어져 있으며 각종 비타민, 무기질, 양질의 식이섬유 등 건강기능성 성분을 풍부히 함유하고 있다[1]. 2013년 6월, 경기도 여주시에서 저장 중인 고구마 괴근 표면에 진한 갈색 내지 검정색인 둥근 모양의 반점이 형성되어 상품성이 떨어지는 증상이 관찰되었다. 병든 괴근에서 병원균을 순수 분리하여 균학적 특성 및 DNA 염기서열을 조사하고, 병원성 검정을 수행한 결과, *Fusarium commune*에 의한 고구마 표피썩음병

으로 동정되었다.

국내에서 고구마에 발생하는 진균병은 *Fusarium oxysporum* f. sp. *batatas*에 의한 덩굴썩음병, *Ceratocystis fimbriata*에 의한 검은무늬병 등 13개가 보고되었으며, 특히 덩굴썩음병 이외에 *Fusarium*균에 의한 병해로는 *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. solani*에 의한 밀썩음병(*Fusarium* rot)이 알려져 있다[2]. 그러나 우리나라에서 *F. commune*에 의한 표피썩음병의 발생에 대한 보고는 없으며, 미국에서는 이 병에 *F. oxysporum*과 *F. solani* 등이 관여하는 것으로 보고되어 있다[3,4].

본 연구에서는 고구마에 발생하는 표피썩음병의 병징과 병원균의 균학적 특성, 염기서열 분석 결과 및 병원성 검정에 대한 결과를 보고하고자 한다.

병징

저장 중인 고구마 괴근 표면에 열린 갈색에서 진한 갈색 혹은 검정색의 둥근 모양의 반점이 형성된다(Fig. 1A). 이 병이 발견된 저장고는 온도 10~15°C, 약 85%의 습도 조건이었다. 병징은 무르거나 수침상으로 썩지 않고 단단하며, 부패증상은 표피부근에 한하여 얇게 진행되어 괴근 내부로 진행되지 않는 특징을 가진다(Fig. 1B). 감염된 괴근이 장기

Kor. J. Mycol. 2014 March, 42(1): 91-94
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2014.42.1.91>
 pISSN 0253-651X
 © The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
 E-mail: hyon338@korea.kr

Received March 17, 2014
 Revised March 24, 2014
 Accepted March 26, 2014

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

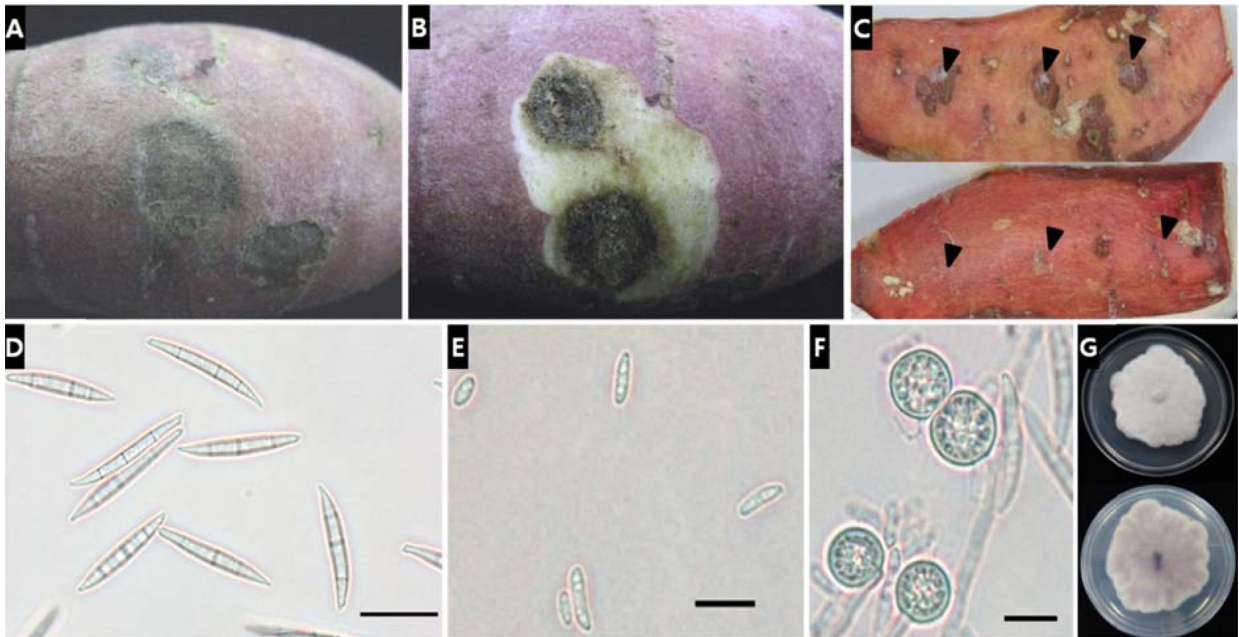


Fig. 1. Symptoms and mycological characteristics of *Fusarium* surface rot on sweet potato caused by *Fusarium commune*, A-B, Typical symptoms with circular, light to dark brown, and firm on root tuber; A, B indicated the external and internal symptoms, respectively; C, Symptoms on wounded root tuber artificially inoculated with *F. commune* (upper) and control (bottom); D-F, Microscopic images of macroconidia (D), microconidia (E) and chlamydospores (F) of *F. commune*. Bar: D = 20 μ m, E and F = 10 μ m, G: Top and bottom view of *F. commune* cultured on PDA after 7 days.

간 보관되면 병반 주변이 마르면서 괴근이 쪼그라들고, 결국 딱딱하게 말라 미라처럼 된다. 주로 저장 중에 발생하는 병으로 알려져 있으며, 특히 재배 혹은 수확시 기계적 상처에 의해 감염되어 피해를 준다[3,4].

균학적 특성 및 염기서열 분석

병원균을 분리하기 위하여 병든 조직과 건전한 조직의 경계부위를 5×5 mm 크기로 잘라 1% NaOCl 용액에 표면 살균하고 멸균수로 세척한 후 화염소독한 필터페이퍼를 이용하여 물기를 제거하고 물한천배지(water agar)에 치상하였다. 치상 5~7일 후, 자라난 균총으로부터 *Fusarium* 균을 단포자 분리하여 감자한천배지(PDA) 사면배지에 옮겨 배양하고, 이 균주를 10°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. 분리한 *Fusarium* 균의 균학적 특성은 PDA배지와 CLA(car-nation leaf agar)배지에 균을 배양하여 조사하였다.

PDA에서 균총은 7일간 35~45 mm 성장하며, 기중균사는 흰색에서 옅은 주황색을 나타내었다. 균총의 색은 흰색에서 옅은 보라색이고, 뒷면은 어두운 황색 내지 보라색을 띠었다(Fig. 1G). 대형포자와 소형포자, 후막포자를 모두 형성하는데 대형포자는 주로 3개의 격막을 가지며 크기가 24.3~42.1×3.7~45 μ m이며 전형적인 초승달 모양이었다(Fig. 1D). 소형포자는 주로 격막이 없으며, 크기가 5.1~10.5×2.0~3.6 μ m이고 원통형이며 직선형이거나 약간 굽은형이었다(Fig. 1E). 후막포자는 균사 중간이나 말단에 형성되었으며, 크기는 9.2~9.7 μ m이었다(Fig. 1F). 이와 같은 균학적 특성 조사

결과에 의해 병반에서 분리한 7개의 *Fusarium* 균주는 *F. oxysporum*으로 동정되었다(Table 1).

그러나 *Fusarium*균은 포자 및 분생자경의 모양과 크기, 균총 형태 등 균학적 특성에 의한 분류에 의해 종 구분이 명확하지 않기 때문에 DNA 염기서열 분석을 통한 계통발생적 방법을 중 분류에 사용하고 있다[5]. 따라서 본 연구에서 분리된 균주의 염기서열 분석을 위하여 균사를 동결 건조한 후 마쇄하여 CTAB-phenol법으로 genomic DNA를 분리하였다[5]. Translation elongation factor 1-alpha(EF-1 α) 유전자의 염기서열 분석을 위하여 EF-1(5'-ATG GGT AAG GAA GAC AAG AC-3')과 EF-2(5'-GGA AGT ACC AGT GAT CAT GTT-3') 프라이머를 사용하여 PCR 증폭하였다[6]. 증폭된 PCR산물은 Wizard SV Gel & PCR Clean-up System kit(Promega)를 사용하여 정제한 후, PCR 증폭용 프라이머를 이용하여 direct sequencing하여 염기서열을 결정하였다. 분석된 염기서열은 Clustal W 소프트웨어를 이용하여 정렬하였고, nucleotide의 유사도를 계산하였다[7]. 계통수는 MEGA 4.0 프로그램을 이용하여 neighbor-joining법에 의해 작성하였다.

균학적 특성 조사에 의해 *F. oxysporum*으로 동정되었던 7개 균주는 EF-1 α 염기서열 분석에 의하여 4개 균주는 *F. commune*, 3개 균주는 *F. oxysporum*으로 동정되었다(Fig. 2). 이 중 *F. commune* 균주인 NC13-024, NC13-025, NC13-028는 각각 KJ525719, KJ525720, KJ525722로 *F. oxysporum* 균주인 NC13-021, NC13-026은 각각 KJ525723, KJ525721

Table 1. Comparison of morphological characteristics between the present isolates obtained from sweet potato and *Fusarium* species described previously

<i>Fusarium</i> species	Structure	Characteristics		
		Present isolates	Reference ^a	
<i>F. commune</i>	Growth rate (mm/day)	5.6±0.7	5.1	
	Aerial mycelium	Abundant, white	Abundant, white to orange white	
	Microconidia	Shape	Oval, cylindrical, straight to slightly curved	Cylindrical, straight to slightly curved
		Size(µm)	5.1-10.5×2.0-3.6	4.0-8.0×2.0-4.0
	Macroconidia	Shape	Fusiform with a slightly curved apical cell, straight	Fusiform with a slightly curved apical cell and a foot shaped basal cell
		Size(µm)	24.3-42.1×3.7-4.5	22-38×3.8-4.1
	Phialides	Shape	Monophialides	Monophialides and occasionally polyphialides
		Size(µm)	-	10-44
	Chlamydospores		9.2-9.7 µm diam, smooth, intercalary or terminal	8-12 µm diam, smooth, intercalary or terminal
	<i>F. oxysporum</i>	Growth rate (mm/day)	6.0±0.5	7.5
Aerial mycelium		Usually rather abundant	Usually rather abundant	
Microconidia		Shape	Oval, elliptical or kidney shaped	Oval, elliptical or kidney shaped
		Size(µm)	5.8-9.6×1.6-3.8	5-9×2.4-3.0
Macroconidia		Shape	Straight to slightly curved	Straight to slightly curved
		Size(µm)	34.9-41.9×4.7-5.4	27-42×3.0-4.7
Phialides			Short monophialides	Short monophialides
Chlamydospores		6.6-7.5 µm diam, smooth, intercalary or terminal	7-11 µm diam, smooth, intercalary or terminal	

^aReference: *F. commune* described by Skovgaard et al. [5], and *F. oxysporum* described by Gerlach and Nirenberg [9].

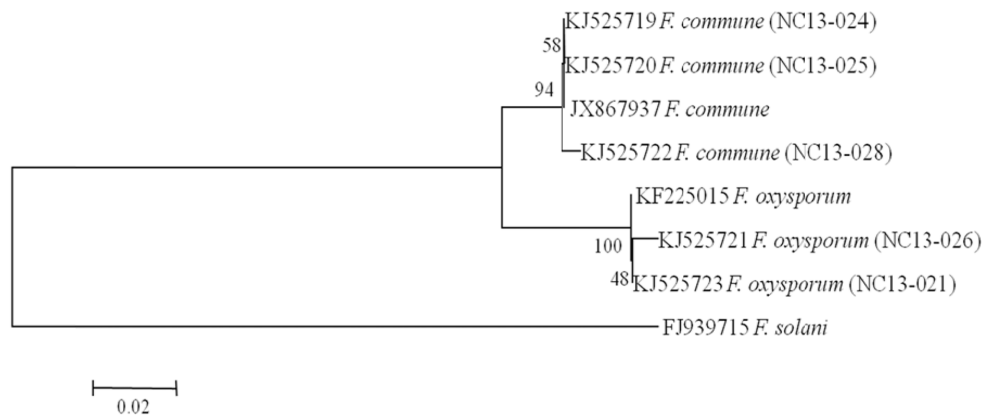


Fig. 2. Phylogenetic tree of *Fusarium* species isolates from root tuber of sweet potato based on the sequence of the translation elongation factor 1 alpha gene. The tree was generated using Neighbor-Joining analysis. The number in each branch indicates bootstrap values obtained after a bootstrap test with 1,000 replications.

의 accession number로 Genbank에 등록하였다. 2003년 처음 보고된 *F. commune*은 이전에는 *F. oxysporum*으로 간주되어 왔으나 *F. oxysporum*에 비하여 경자의 형태가 가늘고 길며, 간혹 poly형의 경자(polyphialide)를 형성하는 차이가 있고, DNA 염기서열 분석에 의해 구분이 되는 것으로 보

고된 바 있다[5].

병원성 검정

고구마에 대한 병원성을 확인하기 위하여 외관상 건전한 고구마를 1% NaOCl 용액에 4시간 침지하여 부생균을 제

Table 2. Pathogenicity of *Fusarium commune* and *F. oxysporum* isolates on root tuber of sweet potato by artificial inoculation

Fusarium species	Isolate	Pathogenicity ^a of tested isolates on root tuber of sweet potato	
		Wounded	Unwounded
<i>F. commune</i>	NC13-025	+	-
<i>F. oxysporum</i>	NC13-026	-	-
Control		-	-

^aPathogenicity was rated based on the lesion formation seven days after inoculation. += above 10 mm of lesion diameter; -= no symptom.

거하고, 멸균수로 3회 세척한 후, 무균대에서 건조시켰다. 분리한 병원균 *F. commune* NC13-025와 *F. oxysporum* NC13-026 균주는 PDA에서 7일간 배양한 후, 5×5 mm의 크기로 잘라 접종에 사용하였다. 이 병원균은 상처를 통해 침입하기 때문에 상처구와 무상처구로 구분하여 병원성 검정을 수행하였다. 상처구는 편을 이용하여 고구마 괴근에 상처를 낸 후, 상처 부위에 자른 균사 절편을 올려놓았고, 무상처구는 상처를 내지 않은 괴근에 균사 절편을 올려놓았다. 병원균을 접종하지 않은 대조구의 경우, 상처구와 무상처구에 모두 PDA 배지 절편을 올려놓았다. 각각의 괴근을 습실처리한 플라스틱 박스에 넣고 25°C의 배양기에 두면서 습도와 온도를 유지시켰다. 접종 7일 후, *F. commune* 을 접종한 상처구에서 괴근의 접종부위가 약간 움푹 패이면서 둥근 병반이 형성되었고, 대조구에서는 병징이 나타나지 않았다(Fig. 1C). 또한 *F. oxysporum*을 접종한 상처구 및 모든 무상처구에서는 병징이 관찰되지 않았다(Table 2). *Fusarium commune*은 미국에서 미송 유묘에 뿌리썩음병을 일으키는 것으로 보고되어 있으며, 미송뿌리썩음병균도 이전에는 *F. oxysporum*으로 알려져 있었다[8]. 따라서 이전에 *F. oxysporum*으로 보고된 병원균이 *F. commune*으로 재분류될 가능성이 있으며, 이에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이상과 같이 고구마 표피썩음 증상에서 분리한 병원균은 균학적 특성과 DNA 염기서열 분석에 의해 *F. commune*으로 동정되었으며, 이 균은 고구마에 병원성이 있음이 확인되었다. 따라서 본 결과를 토대로 이 병을 *Fusarium commune* Skovgaard, O'Donnell & Nirenberg에 의한 고구마표피썩음병으로 명명하고자 하며, 이는 국내에서 처음 보고되는 것이다.

적 요

2013년 6월, 경기도 여주시에서 저장 중인 고구마 괴근

표면에 갈색의 썩음 증상이 관찰되었다. 병징은 둥글고, 열은 갈색 내지 진한 갈색이며, 단단하고 건조한 편으로 표피에 한하여 알파카하게 나타났다. 병반 부위는 오래된 부위에서 움푹 패이고, 괴근의 내부로 깊게 썩히지 않았다. 병든 고구마에서 7개의 *Fusarium*균을 분리하였고, CLA 배지에서 균학적 특징을 조사한 결과 *F. oxysporum*으로 동정되었다. 이러한 결과를 확인하기 위하여 elongation factor 1 α 유전자 부위의 염기서열을 분석하였다. 그 결과, 7개 균주 중 4개는 *F. commune*으로, 3개는 *F. oxysporum*으로 확인되었다. 고구마 괴근을 상처구와 무상처구로 구분하고, 균사 절편을 접종하여 병원성을 확인한 결과, 접종 7일 후 *F. commune*을 접종한 상처구에서만 병징이 관찰되었다. 따라서 본 병을 *Fusarium commune*에 의한 고구마 표피썩음병으로 명명하며, 국내에서 최초로 보고한다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호 : PJ008841)의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Reddy NN, Sistrunk WA. Effect of cultivar, size, storage, and cooking method on carbohydrates and some nutrients of sweet potatoes. *J Food Sci* 1980;45:682-684.
- The Korean Society of Plant Pathology. List of plant diseases in Korea. 5th ed. Seoul: Korean Society of Plant Pathology; 2009.
- Martin WJ, Person H. Surface rot of Puerto Rican sweet potatoes. *Phytopathology* 1951;41:228-230.
- Harter LL, Weimer JL. The surface rot of sweet potatoes. *Phytopathology* 1919;9:465-469.
- Skovgaard K, Rosendahl S, O'Donnell K, Nirenberg HI. *Fusarium commune* is a new species identified by morphological and molecular phylogenetic data. *Mycologia* 2003;95:630-636.
- O'Donnell K, Kistler HC, Cigelnik E, Ploetz RC. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:2044-2049.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 1994;22:4673-4680.
- Stewart JE, Abdo Z, Dumroese RK, Klopfenstein NB, Kim MS. Virulence of *Fusarium oxysporum* and *F. commune* to Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) seedlings. *Forest Pathol* 2012;42:220-228.
- Gerlach W, Nirenberg H. The genus *Fusarium*-A pictorial atlas. Berlin: Institut fur Mikrobiologie; 1982.