

*Monilinia fructicola*에 의한 살구 잿빛무늬병

Occurrence of Brown Rot on Apricot Caused by *Monilinia fructicola* in Korea

최인영 · 김 주 · 서경원 · 오훈탁 · 조종현 · 김진호* · 송영주

전라북도농업기술원

*Corresponding author

Tel: +82-63-290-6182

Fax: +82-63-290-6198

E-mail: water86@korea.kr

In-Young Choi, Ju Kim, Kyoung-Won Seo, Hun-Tak Oh, Chong-Hyeon Cho, Jin-Ho Kim*, and Young-Ju Song

Jeollabuk-do Agricultural Research & Extension Services, Iksan 54591, Korea

In June 2015, an exhibited typical signs and symptoms of brown rot was observed on fruit of Apricot cvs. Modern and Alexander at an incidence of 5% of fruit in Jeonju, Korea. Early symptoms on fruit showed small, circular, light brown spots that eventually destroyed the entire fruit. Small sporodochia appeared on the fruit surface. Fruit susceptibility to brown rot increases during the 1 to 2 weeks period prior to harvest. The conidia were one-celled, hyaline, lemon-shaped, 14.6–18.0×8.5–11 μm, and borne in branched moniloid chains. Based on the morphological characteristics and phylogenetic analysis of internal transcribed spacer (ITS), the fungus was identified as *Monilinia fructicola*. A BLAST search revealed that sequences of the fungus shared 100% identity to those of *M. fructicola*. Pathogenicity of a representative isolate was proved by artificial inoculation, fulfilling Koch's postulates. To our knowledge, this is the first confirmed report on the occurrence of *M. fructicola* on apricot in Korea.

Keywords: Apricot, Brown rot, *Monilinia fructicola*, *Prunus armeniaca*

Received March 10, 2016

Revised March 29, 2016

Accepted April 11, 2016

살구나무(*Prunus armeniaca* L., *Rosaceae*)는 장미과 벚나무 속에 속하고, 식용이나 약용, 정원수로 이용된다. 중국이 원산지로 한국, 일본, 몽골 등 아시아와 미국, 유럽 등지에 널리 분포한다. 살구나무의 과실인 살구는 구형의 핵과이며, 용모가 있고 6월에 황색으로 익어 수확하게 된다(Kim, 1975).

국내에서 살구나무에 발생하는 주요 진균병으로는 *Podosphaera tridactyla* (powdery mildew), *Cladosporium carpophilum* (scab), *Blastospora smilacis* (rust), *Phomopsis vexans* (brown rot), *Phyllosticta circumscissa*, *Septoria cerasina* (leaf spot), *Monilinia fructicola* (brown rot), *Taphrina mume* (leaf curl) 등이 보

고되어 있다(The Korean Society of Plant Pathology, 2009). 특히, *Monilinia*균은 살구를 비롯하여 복숭아, 자두, 매실, 체리, 사과, 배 등 여러 과수류에 잿빛무늬병을 일으키는 병원균으로 전 세계적으로 *M. fructicola* (G. Winter) Honey, *M. fructigena* (Aderhold & Ruhland) Honey, *M. laxa* (Aderhold & Ruhland) Honey 등 3종이 알려져 있다. 특히, *M. fructicola*는 미국, 호주, 뉴질랜드와 일부 유럽과 아시아에, 그리고 *M. fructigena*와 *M. laxa*는 유럽에 분포하는 것으로 보고되었다(Fulton과 Brown, 1997; Hu 등, 2011; Shim 등, 2007). 또한, *M. fructicola*와 *M. laxa*는 꽃에 감염되어 꽃시들음병(blossom blight)과 건전한 과실 및 상처가 있는 과실에 brown rot을 일으키지만 *M. fructigena*는 상처받은 과실에만 병을 일으키는 것으로 보고되었다(Rungjindamai 등, 2014).

Research in Plant Disease

pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

www.online-rpd.org

©The Korean Society of Plant Pathology

©This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

국내의 경우, *M. fructicola*는 복숭아, 매실, 자두, 살구, 체리, 아몬드 등에 보고되었고, *M. fructigena*는 사과와 배, 그리고 *M. laxa*의 경우 체리에 보고되었다(The Korean Society of Plant Pathology, 2009). 그러나 *M. fructicola*에 의한 잣빛무늬병은 아몬드(Shim 등, 2007), 체리(Choi 등, 2014), 복숭아(Lim 등, 2001)를 제외한 매실, 자두, 살구에서는 병원균에 대한 자세한 기록이 없어 좀더 깊이 있는 연구가 요구된다(Rural Development Administration, 2008a; The Korean Society of Plant Pathology, 2009).

2015년 6월에 전라북도 전주시에 세 개 농가포장에서 재배되고 있는 살구 과실에 잣빛무늬병 증상이 관찰되었다. 발병된 살구 과실에서 병원균을 순수 분리하여 균학적 특성 및 DNA 염기서열을 분석한 결과 *M. fructicola*로 동정되었으며, 건전한 살구 과실에 인공 접종하여 병원성을 확인하였다. 따라서 본 연구는 이전에 기록된 살구 잣빛무늬병에 대하여 병징, 균학적 특징, 병원성 검정 및 염기서열 분석결과를 포함하는 균학적 및 분자생물학적인 자료를 보고하고자 한다.

병징. 잣빛무늬병은 살구 과실을 수확하는 시기인 6월 중순경에 Modern과 Alexander 품종에서 발생했으며, 전체

과실에 대한 발병률은 5% 정도였다. 잣빛무늬병은 꽃에도 발생하였지만 주로 과실에 발생하여 피해를 주었다. 발생 초기 살구 과실의 표면에 작은 갈색 반점이 생기고 병이 진전됨에 따라 갈색 반점이 점차 확대되어 수침상의 병반이 퍼졌다(Fig. 1A). 시간이 더 지나면 갈변된 원형의 병반 위에 백색의 포자 덩어리가 밀생하여 결국 과실 전체가 부패하였다(Fig. 1C). 또한, 비가 많이 내리는 장마철에는 그대로 부패하여 살구 과실이 떨어졌으며 건조한 환경에서는 미라 과실이 되어 나무 위에 남아 있었다(Fig. 1B). 특히, 수확기 1-2주를 앞두고 잣빛무늬병이 더욱 심하였다. 잣빛무늬병은 핵과류의 과실이 재배되는 모든 지역에서 발생하며, 꽃과 잎에서도 발생하지만 주로 성숙한 과실에 발생하여 수량 감소의 직접적인 요인이 된다. 수확 후 저장이나 수송 중에도 병이 진전되면서 큰 피해를 주는 것으로 이미 보고되었다(Rural Development Administration, 2008b). 잣빛무늬병은 균핵 또는 균사체의 형태로 병든 가지나 과실에서 월동하다가 이듬해 균핵이 발아한 자낭포자와 균사에서 형성된 분생포자가 1차 전염원이 되며, 자낭포자 및 분생포자는 비바람 또는 곤충에 의해 전염되며 상처 부위나 기공을 통해 침입하여 개화기에 꽃 시들음 증상과 과실에 잣빛무늬병을 일으킨다. 특

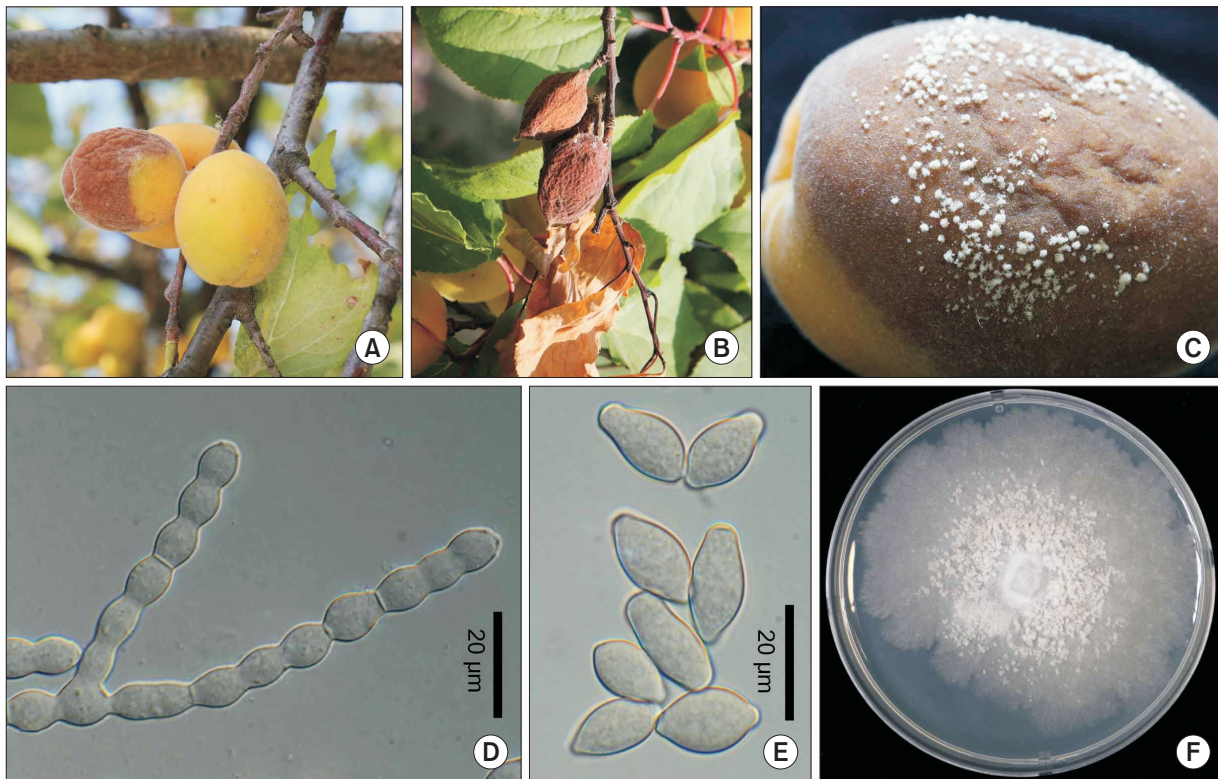


Fig. 1. Brown rot caused by *Monilinia fructicola* on apricot. (A) Occurrence of brown rot in a farm in June 2015. (B) The fruit was infected, dark black mummified the whole fruits. (C) A brown rotted fruit covered with the grayish spore mass, sporodochia. (D, E) Monilioid chains and lemon shaped conidia. (F) Five-day-old colony of *M. fructicola* on a potato dextrose agar.

히, 개화기와 등숙기의 잦은 강우는 심각한 피해를 초래하므로 적절한 방제 대책이 없을 경우 50%–75%까지 피해를 주는 것으로 보고되었다(Rural Development Administration, 2008b).

병원균의 분리 및 병원성 검정. 병원균의 단포자를 분리하기 위하여 발병포장에서 이병과를 채집하여 실험실에서 분생포자 덩어리를 떼어내어 멸균수가 들어있는 1.5 ml eppendorf 튜브에 넣고 볼텍스믹서로 30초 동안 흔들었다. 분생포자가 들어있는 멸균수를 루프로 찍어 감자한천배지(Difco, Sparks, MD, USA)에 치상하였다. 병원균을 3일간 암배양하여 단포자의 끝부분을 떼어 감자한천배지에 옮긴 후 25°C 항온기에서 5일간 배양한 뒤 병원균의 균학적 특성을 조사하였다. 병원균이 감염된 표본은 고려대학교 표본실(Korea University Herbarium, KUS)에 보존하였다. KUS-F29117로부터 대표 균주가 분리되어 농업유전자원정보센터(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)에 기탁하였으며(accession No. KACC48000), 병원성 검정 및 염기서열 분석에 사용하였다. 또한 병원균의 특성비교를 위하여 잣빛무늬병이 감염된 다른 살구에서 같은 방법으로 단포자를 분리하여 JBARES37 균주를 확보하였다. 병원성 검정은 Alexander 품종에서 실시하였다. 병원성 접종원은 KACC48000 균주를 감자한천배지에서 1주일간 배양한 후 멸균수를 넣고 메스(scalpel)로 포자를 수거한 포자현탁액을 3×10^5 conidia/ml로 준비하였다. 병원성 검정은 건전한 과실 5개 위에 포자현탁액을 분무하였으며, 대조과는 멸균수를 분무하였다. 접종과와 대조과를 밀폐된 플라스틱박스에 넣고 박스 안쪽표면에 멸균수를 분무하여 상대습도를 100% 유지하였으며, $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 의 인큐베이터에 보관하였다. 접종 3일 후 포장에서와 같은 전형적인 잣빛곰팡이병 증상이 나타나기 시작하였으며, 열매가 한 쪽에서부터 갈변되기 시작하여 5일째에는 전체로 확산되었고, 흰색의 분생포자 덩어리가 형성되어 병원균이 재분리되었다. 따라서 살구 잣빛곰팡이병을 일으키는 병원균은 병원성이 있는 것으로 판단되며, 대조구에서는 병징이 나타나지 않았다.

병원균의 균학적 특징 및 염기서열 분석. 병원균의 형태적 특징을 관찰하기 위해 KACC48000 균주를 감자한천배지에 치상하여 25°C에서 1주일 동안 배양하였다. 형태적 특징은 differential interference contrast (DIC) 광학현미경으로 200–1,000배에서 관찰하였다. 감자한천배지에서 균사생육은 직경이 60–78 mm/4일이었으며, 균총은 흰색–회색으로 중앙 부분에 무수히 많은 분생포자가 형성되었다(Fig. 1F). 현

미경으로 관찰된 분생포자($n=30$)는 분지된 엽주상으로 사슬모양을 나타냈으며(Fig. 1D), 단생, 투명하고, 난형–레몬형으로 크기는 $14.6\text{--}18.0 \times 8.5\text{--}11 \mu\text{m}$ 였다(Fig. 1E). 이상과 같이 살구 잣빛무늬병을 일으키는 병원균의 형태적 특징과 병원성 검정을 기초로 *M. fructicola* (G. Winter) Honey로 동정하였다(Pellegrino 등, 2009).

형태적 특징을 기초로 한 병원균의 동정을 뒷받침하고자 염기서열 분석을 실시하였다. *M. fructicola* 병원균(KACC48000)을 감자한천배지에서 1주일 동안 배양한 균사를 ribosomal DNA (rDNA)의 internal transcribed spacer (ITS) 영역의 염기서열에 사용하였다. Genomic DNA는 DNeasy Plant Mini kit (QIAGEN, Valencia, Canada)를 이용하여 분리하였고, ITS1/ITS4 (White 등, 1990) primer를 이용하여 PCR로 증폭하였다. 증폭시킨 PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 band를 확인한 후, PCR purification kit (CoreOne™; CoreBio, Seoul, Korea)를 이용하여 정제하였다. 염기서열은 autosequencer (ABI 3030)로 분석하였으며, 최종 획득한 ITS의 염기서열들은 GenBank database (National Center for Biotechnology Information [NCBI] US National Institute of Health Bethesda; <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)에서 확인하였다. 계통수 분석은 GenBank 데이터베이스에 올라와 있는 ITS의 염기서열들을 이용하였다. 계통수는 MEGA 6.0 프로그램을 이용하여 neighbor-joining 방법으로 작성하였으며, sequence distance는 Tajima-Nei parameter model로 계산하였다(Saitou와 Nei, 1987; Tamura 등, 2013). *Botrytis cinerea* (GenBank accession No. KM016553)를 계통수 분석 outgroup으로 사용하였다.

살구 잣빛무늬병을 일으키는 KACC48000 균주의 ITS sequence 크기는 558 bp로 NCBI의 GenBank에 등록(accession No. KU513386)하였다. NCBI에서 BLAST search한 결과 *M. fructicola*로 등록된 GenBank accession Nos. KC544809, JN176564, FJ515894, KM279616 등과 100% 일치하였다. 또한 계통수작성 결과 KC544809의 염기서열은 *M. fructicola*와 같은 계통군에 속함을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 최근에 ITS 염기서열을 이용한 *Monilinia*종 간 구분을 위하여, Hu 등(2011)이 중국에서 복숭아 잣빛곰팡이병을 일으키는 *M. fructicola*, *M. yunnanensis*, *M. fructigena*, *M. laxa*를 분리하여 ITS 유전분석을 한 결과 100% 종 간 구분이 되었으며, 4종 간에 상당한 유전적 변이가 있음을 확인하였다. 그러나 과거에는 *M. laxa*와 *M. fructigena*에는 존재하지 않고, *M. fructicola*의 small subunit (SSU) rDNA에만 위치한 418 bp group-I intron을 분석하여 *M. laxa*와 *M. fructigena*로부터 *M. fructicola*를 구분하였다(Fulton

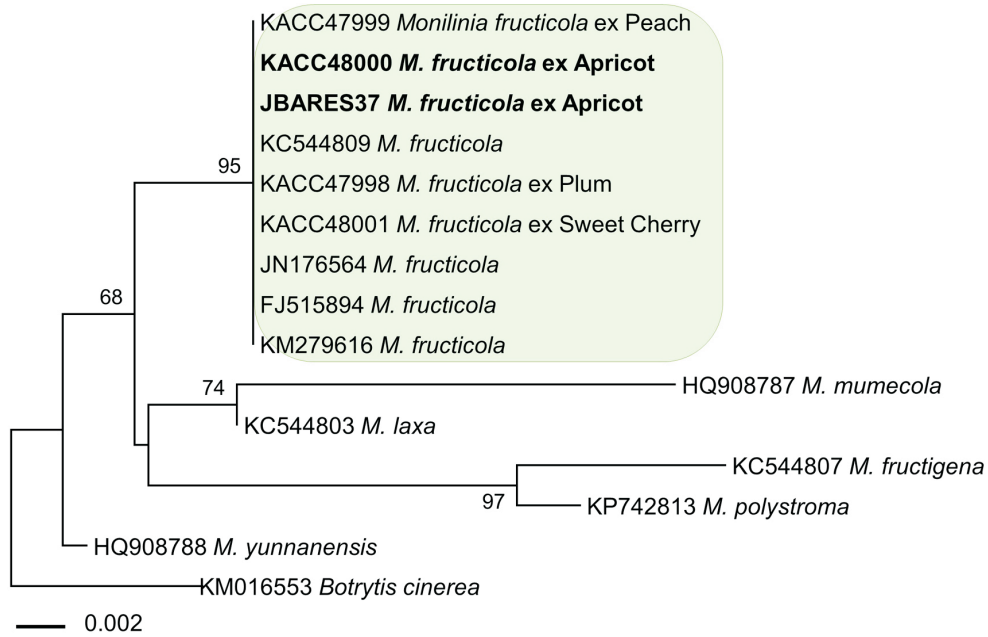


Fig. 2. Phylogenetic analysis by means of the neighbor-joining method comparing the internal transcribed spacer ribosomal DNA (rDNA) region of *Monilinia fructicola* with that of other *Monilinia* spp. retrieved from GenBank. The numbers above the branches represent the bootstrap value. The fungi identified in this study are boldfaced.

과 Brown, 1997).

*M. fructicola*에 의한 잣빛무늬병은 세계적으로 핵과류에 발생하는 중요한 병으로 알려져 있으며(Fulton과 Brown, 1997), 미국 캘리포니아 지역에서는 이 균의 살균제 저항성까지 보고하였다(Ma 등, 2003). 그러나 우리나라의 경우 발생 생태 및 병징에 관한 기록만 확인된다. 따라서 살구에서 잣빛무늬증상을 일으키는 병원균을 분리하여 균학적 특성, 병원성 검정, ITS rDNA 염기서열 비교분석 등의 결과를 바탕으로 *M. fructicola*로 동정되었으며, 국내에 보고된 자료를 좀 더 보완하는 자료로 제출하고자 한다.

요 약

2015년 6월에 살구나무(Modern과 Alexander 품종)에 잣빛무늬병이 발생하였으며, 과실에 대한 발병률은 5% 정도였다. 잣빛무늬병은 발생 초기 살구 과실의 표면에 작은 갈색 반점이 생기다가 병이 진전된 후에는 점차 확대되어 수침상의 병반이 퍼지고, 시간이 더 지나면 갈변된 원형의 병반 위에 백색의 포자 덩어리가 밀생하여 결국에는 과실 전체가 부패하였다. 특히, 수확기 1-2주를 앞두고 잣빛무늬병 발생이 더욱 심하였다. *M. fructicola* 분생포자는 분지된 엽주상으로 사슬모양을 나타냈으며, 단생, 투명하고, 난형-레몬형으로 크기는 14.6-18.0×8.5-11 μm였다. 살구 잣빛무늬병을 일

으키는 병원균의 형태적 특징, 병원성 검정, rDNA의 ITS 영역의 염기서열 분석을 기초로 *M. fructicola*로 동정하였으며, NCBI에서 BLAST search한 결과 *M. fructicola*로 등록된 GenBank accession Nos. KC544809, JN176564, FJ515894, KM279616 등과 100% 일치하는 것으로 확인되었다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No. PJ01082906)" Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

Choi, H. W., Hong, S. K., Lee, Y. K., Nam, Y. J., Lee, J. G. and Shim, H. S. 2014. Characterization of *Monilinia fructicola* associated with brown rot of cherry fruit in Korea. *Kor. J. Mycol.* 42: 353-356. (In Korean)

- Fulton, C. E. and Brown, A. E. 1997. Use of SSU rDNA group-I intron to distinguish *Monilinia fructicola* from *M. laxa* and *M. fructigena*. *FEMS Microbiol. Lett.* 157: 307-312.
- Hu, M. J., Cox, K. D., Schnabel, G. and Luo, C. X. 2011. *Monilinia* species causing brown rot of peach in China. *PLoS One* 6: e24990.
- Kim, I. W. 1975. A guide for cultivation of stone fruit. Rural development administration, Suwon, Korea. (In Korean)
- Lim, T. H., Yi, J. C., Chang, T. H. and Cha, B. J. 2001. Fitness of dicarboximide-resistant and sensitive *Monilinia fructicola* isolated from peach in Korea. *Plant Pathol. J.* 17: 205-209.
- Ma, Z., Yoshimura, M. A. and Michailides, T. J. 2003. Identification and characterization of benzimidazole resistance in *Monilinia fructicola* from stone fruit orchards in California. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 7145-7152.
- Pellegrino, C., Gullino, M. L., Garibaldi, A. and Spadaro, D. 2009. First report of brown rot of stone fruit caused by *Monilinia fructicola* in Italy. *Plant Dis.* 93: 668.
- Rungjindamai, N., Jeffries, P. and Xu, X. M. 2014. Epidemiology and management of brown rot on stone fruit caused by *Monilinia laxa*. *Eur. J. Plant Pathol.* 140: 1-17.
- Rural Development Administration. 2008a. New illustrated book on diseases, insect pests in fruit trees. Rural Development Administration, Suwon, Korea. 550 pp. (In Korean)
- Rural Development Administration. 2008b. Diagnosis and control of insect pests and plant diseases. Rural Development Administration, Suwon, Korea. 436 pp. (In Korean)
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.
- Shim, M. Y., Jeon, Y. J. and Kim, S. H. 2007. Characterization of a brown rot fungus isolated from dwarf flowering almond in Korea. *Mycobiology* 35: 30-35.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725-2729.
- The Korean Society of Plant Pathology. 2009. List of Plant Disease in Korea. 5th ed. The Korean Society of Plant Pathology, Suwon, Korea. 853 pp.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, eds. by M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Shinski and T. J. White, pp. 315-322. Academic Press, San Diego, CA, USA.