

*Rhizopus oryzae*에 의한 복숭아 무름병

권진혁* · 강동완 · 하정석 · 김진우¹ · 곽연식¹

경상남도농업기술원, ¹경상대학교 농업생명과학연구원

Soft Rot on Peach Caused by *Rhizopus oryzae* in Korea

Jin-Hyeuk Kwon*, Dong-Wan Kang, Jeong-Seok Ha, Jinwoo Kim¹ and Youn-Sig Kwak¹

Gyeongsangnam-do Agricultural Research and Extension Services, Jinju 660-360, Korea

¹Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

(Received January 28, 2012. Revised February 20, 2012. Accepted March 5, 2012)

ABSTRACT: In July and August 2011, a disease suspected to be *Rhizopus* soft rot was observed on peach (*Prunus persica* var. *vulgaris*) at the Wholesale Market for Agricultural Products, Jinju, Korea. The first symptom of soft rot on peach is a water-soaked appearance of the affected tissue. The infected parts later disintegrated into a mushy mass of disorganized cells followed by rapid softening of the diseased tissue. The lesion on peach was rapidly softened and rotted, then became brown or dark brown. Optimum temperature for mycelial growth of the causal fungus on PDA was 30°C and growth was still apparent at 37°C. Sporangiophores were 6~20 µm in diameter. Sporangia were globose and 35~200 µm in size. The color of sporangia was brownish-grey to blackish-grey at maturity. Sporangiospores were sub-globose, brownish-black streaked and 5~10 µm in size. Columella were globose to sub-globose and 85~120 µm in size. On the basis of mycological characteristics, pathogenicity test, and molecular identification, the causal fungus was identified as *Rhizopus oryzae* Went & Prinsen Geerlig. To our knowledge, this is the first report of soft rot caused by *R. oryzae* on peach in Korea.

KEYWORDS: Peach, *Rhizopus oryzae*, Soft rot

2011년 8월 진주시 농산물도매시장 복숭아를 판매하기 위해 진열해 놓은 상자 안에 있는 복숭아가 물러지고 부패되는 증상을 발견하였다. 부패가 진행 중인 복숭아 표면에서 솜털 같은 곰팡이가 발생하였고 짓물러지는 이상 증상을 관찰하였다. 이러한 증상을 보이는 복숭아를 수집하여 실험실에서 병징과 병원균을 분리, 배양한 후 균학적 특징, 병원성을 검정하였고 동정을 확실하게 하기 위해 ITS(internal transcribed spacer) rDNA 부분의 염기서열을 분석하여 GenBank에 등록되어 있는 *Rhizopus*속 곰팡이 균주들의 그것과 비교하였다.

지금까지 우리나라에서 복숭아에 발생하는 무름병으로 기록된 병원균은 *Rhizopus nigricans*로 보고되어 있을 뿐(Kwon 등, 2000), *R. oryzae*에 의한 복숭아 무름병 발생은 보고되어 있지 않았다(한국식물병리학회, 2009). 따라서 본 연구에서는 *R. oryzae*에 의한 복숭아 무름병 발생을 보고하기 위해 병징 관찰하고 병원균의 균학적 특징과 병원성 검정한 결과를 보고한다.

병징

과실이 수침상으로 물러지면서 빠르게 부패되어지고 과

실표면의 병반부위에 백색의 균사가 자라면서 균사 끝부분에 작은 검은색의 포자낭을 많이 형성되었다(Fig. 1A, B).

발생환경

진주시 농산물도매시장에 소매용으로 진열된 상자 내 복숭아에서 부패 증상을 관찰하였다. 가게에서 여러 상자가 상하로 겹겹이 쌓아 올린 상태에서 밑에 있는 상자내의 과실에서 발생이 잘되었다. 특히 복숭아 수확기에 생긴 상처나 운반수송 중 물리적으로 손상된 부위에 주로 병원균이 감염되어 물러지고 부패되어져 병이 쉽게 발생하였다. 상자 내 병든 복숭아와 접촉된 건전한 과실에 무름병이 관찰되었으며 고온 다습한 환경조건에서 잘 발생하였다.

병원균의 균학적 특성

병징이 뚜렷한 과실을 사각 플라스틱 통에 채집하여 24시간 습실 처리한 후 포자낭포자가 형성된 과실로부터 핀셋으로 포자낭을 한 개씩 떼어 내어 감자한천배지(Potato dextrose agar: PDA) 위에 50개를 옮긴 후 25°C 항온기에서 4일간 배양하였다. 배양한 균사 끝부분을 3 mm 크기로 잘라내어 PDA배지 위에 다시 옮겨 25°C 항온기에서 7일간 배양한 다음 시험균주로 사용하였다. 균충은 PDA

*Corresponding author <E-mail : kwon825@korea.kr>



Fig. 1. Symptoms of soft rot on peach (*Prunus persica*) caused by *Rhizopus oryzae*. A and B, Typical symptoms of soft rot on fruit in the box; C, Symptoms induced by artificial inoculation after 4 days of incubation.

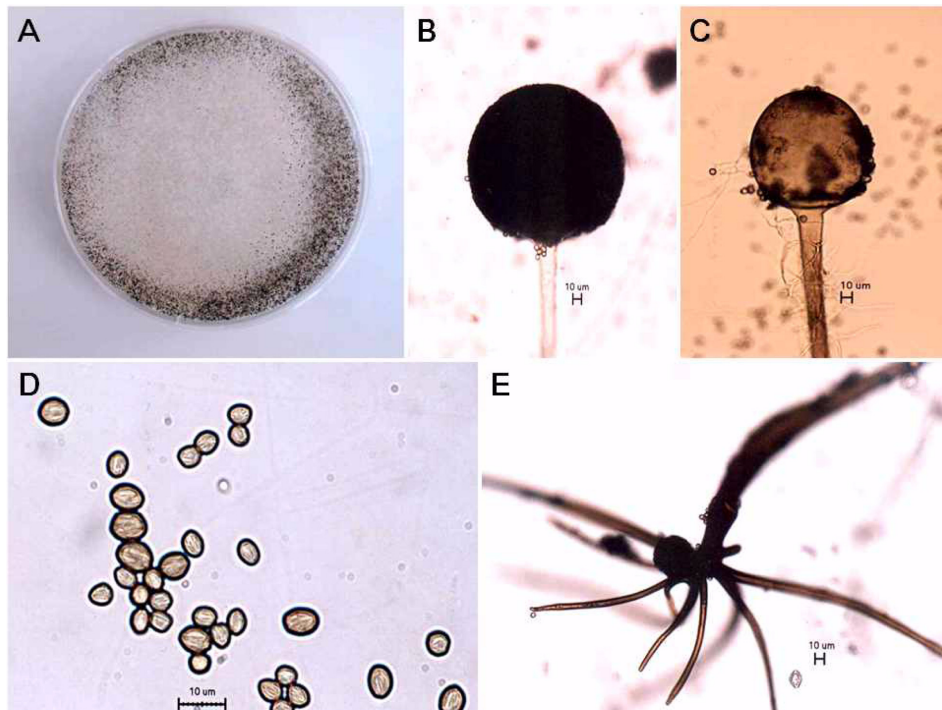


Fig. 2. Morphological characteristics of *Rhizopus oryzae* isolated from peach. A, Colony on PDA after 7 days of inoculation; B, Sporangium and sporangiophore; C, Columellum; D, Sporangiospores; E, Rhizoid.

배지상에서 균사생장이 아주 빠르고 연한 갈색이며 검은 색의 포자낭을 많이 형성하였다(Fig. 2A). 균사생장 적온은 PDA배지 상에서 30°C이지만 37°C에서도 생육이 되었다. 포자낭은 흰색이며 성숙될 경우 검은색으로 되고 구형 또는 반구형으로 크기는 35~200 μm 였다(Fig. 2B). 주축은 구형 또는 반구형으로 크기는 85~120 μm 였다(Fig. 2C). 포자낭경은 흰색에서 점차 암갈색으로 변하며 끝에 검은색의 둥근 포자낭을 형성하였으며 크기는 6~20 μm 이었다. 포자낭포자는 암갈색, 단포이며 구형으로 불규칙한 것이 많고 포자낭에서 잘 떨어지며 크기는 5~10 μm 였다(Fig. 2D, Table 1). 균사는 PDA 배지 위에 배양할 경우 포복균사를 형성하고 뿌리모양의 가근을 형성한다. 가근 하나에 3~5개의 포자낭경을 만들고 끝에 검은색의 포자낭을 형성하였다(Fig. 2E). 조사기간 동안 접합포자는 관찰되지 않았다. 이상과 같이 복숭아에서 발생한 병원균을

분리 배양하여 균학적 특성을 조사한 결과 Lunn(1977)이 기술한 *R. oryzae*와 잘 일치하였다.

ITS 염기서열 분석

복숭아에서 분리한 병원균 동정을 확실시키기 위해 ITS rDNA 부분을 White 등(1990)이 사용한 2개의 프라이머 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 사용하여 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 μl 로 반응용량을 맞추었다. PCR 반응조건은 predenaturation(98°C, 2분), denaturation(98°C, 30초), annealing(55°C, 30초), extension(72°C, 30초), total cycle(30 cycles), final extension(72도, 4분) 수행하였으며,

Table 1. Comparison of morphological characteristics of the fungus isolated from peach (*Prunus persica*) with those of *Rhizopus oryzae* described previously

Characteristics		Present isolate	<i>Rhizopus oryzae</i> ^a
Colony	color	brownish-grey to blackish-grey	brownish-grey to blackish-grey
Sporangia	shape	globose	globose
	diameter	35~200 µm	30~210 µm
Sporangiospore	shape	sub-globose	sub-globose, rhomboidal or limoniform
	length	5~10 µm	4~10 µm
Sporangiophore	diameter	6~20 µm	7~20 µm
Columellum	shape	globose to sub-globose	globose to sub-globose
	diameter	85~120 µm	90~120 µm

^aDescribed by Lunn. J. A. (1977).

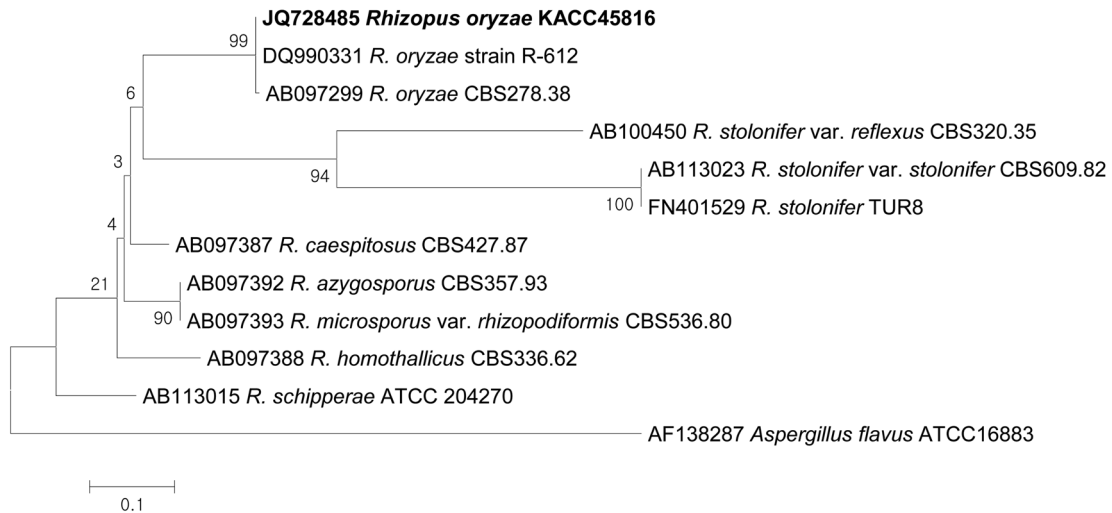


Fig. 3. Phylogenetic tree using ITS sequences showing closest known relatives of *Rhizopus oryzae*. DNA sequences from the NCBI nucleotide database were aligned using ClustalW and a phylogenetic tree was constructed using the neighbor-joining method and visualized with TreeView. Numbers above the branches indicate the bootstrap values. Bars indicate number of nucleotide substitutions per site. The present isolate infecting peach was marked in bold.

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 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. 분석된 ITS rDNA 영역의 염기서열(627-bp)을 GenBank(Accession No. JQ728485)에 등록하였고 BLASTN 프로그램을 이용하여 분석한 결과 *R. oryzae* 균주의 그것들 (GenBank Accession No. AY213684와 DQ990328)과 100% 유사성을 나타내었다. *R. oryzae*와 관련된 분류군들과의 관계를 알아보기 위하여 MEGA 4.0 프로그램을 이용하여 neighbor-joining 방법으로 계통수를 작성한 결과, *R. oryzae*와 같은 clade에 속함을 확인하였다(Fig. 3). 따라서 분자계통학적 특성을 바탕으로 복숭아 무름병의 원인균이 *R. oryzae*임을 재확인하였다.

병원성 검정

복숭아 무름병에 대한 병원성을 확인하기 위하여 농산물도매시장에 구입한 건전한 복숭아를 1% 차아염소산나트륨(NaOCl)으로 표면 살균한 다음 멸균수로 3회 세척하여 과실 표면에 있는 수분을 완전히 제거하였다. 접종상으로 준비해 둔 3개의 플라스틱 상자(29 cm)에 표면 소독한 복숭아를 넣고 상처접종 6개, 무상처 접종 3개를 준비하여 총 12개로 3회 인공접종 하였다. PDA에서 7일간 배양한 곰팡이 균에 멸균수 10 ml 넣고서 붓으로 긁어모아 가아제로 3회 거른 다음 2⁴ conidia/ml 농도로 분생포자 현탁액을 만들어 접종원으로 사용하였다. 복숭아 껍질표면에 2 mm 크기로 상처를 내고서 붓으로 현탁액 1방울 (30 µl) 접종하였다. 접종 후 플라스틱 상자 안에 일정한 습도가 유지될 수 있도록 필터 페이퍼를 5장씩 3곳에 미리 깔고 일회용 페트리디쉬 9개를 준비하여 접종한 과실을 올려놓고 멸균수 200 ml 붓고 뚜껑을 닫은 후 25°C 항온기에 넣고서 발병유무를 조사하였다. 접종 2일 후 상처접종한 복숭아 표면이 수침상으로 물러지면서 부패하기

시작하였으며 시간이 경과함에 따라 자연발생한 병징과 동일하였다(Fig. 1C). 병원균을 재분리하여 동정한 결과 *R. oryzae*에 의한 복숭아 무름병과 같은 병원균이었다. 무상처 접종한 복숭아에서는 조사기간 동안 병이 발생하지 않았지만 시간이 경과함에 따라 감염되어 발생하였다.

Rhizopus spp.는 전 세계적으로 널리 분포하고 있으며, 집합균류 중 가장 일반적인 병원균으로 따뜻한 지역에서 주로 발생한다고 보고되어 있다(Domsch 등, 1980). *Rhizopus*는 전 세계적으로 수확 후 채소 및 과일, 화훼류의 다육질 식물에 발병하며 저장, 운반, 판매 중에도 발생한다(Agrios, 2005). 복숭아 무름병에서 분리한 *R. oryzae* 균주는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터(KACC 45816)에 기탁등록하였다.

지금까지 *R. oryzae*에 의해 발생한 복숭아 무름병의 병징과 병원균의 균학적 특성, 병원성 검정한 결과 *Rhizopus oryzae* Went & Prinsen Geerligs에 의한 복숭아 무름병으로 명명할 것을 제안한다.

적 요

2011년 진주시 농산물도매시장에 판매중인 복숭아에서 이상증상이 발생하였다. 상자 안에 있는 상처 난 복숭아 표면이 수침상으로 물러지고 부패하기 시작하였다. 병징으로부터 분리한 병원균을 감자한천 배지에서 배양한 결과 연한 갈색의 균총과 검은색의 포자낭을 형성하였다. 균사생육 적온은 30°C이었으나 37°C에서도 생육이 가능하였다. 포자낭경은 흰색에서 갈색이며 크기는 6~20 µm이었다. 포자낭은 흰색에서 검은색으로 변하며 구형 또는 반구형으로 크기는 35~200 µm이었다. 주축은 구형 또는 반구형으로 크기는 85~120 µm이었다. 포자낭포자는 담갈

색, 단포이며 구형으로 크기는 5~10 µm이었다. 이상과 같이 병징, 병원균의 균학적 특징, 병원성 검정, 분자적 동정 결과를 바탕으로 본 병해를 *Rhizopus oryzae* Went & Prinsen Geerligs에 의한 복숭아 무름병으로 명명할 것을 제안한다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ007345)에서 연구비 지원으로 수행된 결과이며 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- 한국식물병리학회. 2009. 한국식물병명목록. 제5판 853 pp.
- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. 5th ed.. Academic Press. 922pp.
- Domsch, K. H., Gams, W. and Anderson, T. H. 1980. Compendium of Soil Fungi. Vol. 1. Academic Press. 859 pp.
- Kwon, J. H., Kang, S. W. and Park, C. S. 2000. Occurrence of rhizopus soft rot on peach (*Prunus persica* var. *vulgaris*) caused by *Rhizopus nigricans* in Korea. *Mycobiology* 28: 177-179.
- Lunn, J. A. 1977. *Rhizopus oryzae*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No. 525. Commonwealth Mycological Institute, Ferry Lane, Kew, Surrey, England.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A guide to methods and applications, ed. by M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White, pp. 315-322. Academic Press Inc., New York, USA.