

*Sclerotium rolfsii*에 의한 동부 흰비단병권진혁<sup>1\*</sup> · 강동완<sup>1</sup> · 한인영<sup>1</sup> · 최용조<sup>1</sup> · 이상대<sup>1</sup> · 손대영<sup>2</sup><sup>1</sup>경상남도농업기술원, <sup>2</sup>경상대학교 식물의학과**Sclerotium Rot of Cowpea (*Vigna sinensis* King) Caused by *Sclerotium rolfsii***Jin-Hyeuk Kwon<sup>1\*</sup>, Dong-Wan Kang<sup>1</sup>, Inyoung Han<sup>1</sup>, Yong-Jo Choi<sup>1</sup>, Sang-Dae Lee<sup>1</sup> and Daeyoung Son<sup>2</sup><sup>1</sup>Gyeongsangnam-do Agricultural Research and Extension Services, Jinju 52733, Korea<sup>2</sup>Department of Plant Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

**ABSTRACT :** Sclerotium rot disease on cowpea (*Vigna sinensis* King) was observed in the exhibition field of Gyeongsangnam-do Agricultural Research and Extension Services in September 2015. Lesions were covered by white mycelial mats, and numerous sclerotia were formed on the stem near the soil line. The sclerotia were globoid in shape, 1~3 mm in size and white to brown in color. The optimum temperature for mycelial growth and sclerotia formation on potato dextrose agar (PDA) was 30°C, with the hyphal width of 4~8 µm. For molecular identification, the complete internal transcribed spacer (ITS) rDNA region of the causal fungus was sequenced and analyzed. Based on the mycological characteristics, ITS rDNA sequence analysis, and pathogenicity test, this fungus was identified as *Sclerotium rolfsii*. This is the first report of sclerotium rot on cowpea caused by *S. rolfsii* in Korea.

**KEYWORDS :** Cowpea, *Sclerotium rolfsii*, Sclerotium rot, *Vigna sinensis*

동부(*Vigna sinensis* King)는 콩과(Fabaceae)에 속하며 일년생 덩굴식물로서 식용으로 이용한다[1]. 2015년 경상남도농업기술원 시험연구 포장에서 재배 중인 동부가 시들어 말라 죽는 이상증상을 관찰하였다. 포장에서 병든 식물체를 채집하여 실험실에 가져와 병반 부위에서 병원균을 순수분리하고 병원균의 균학적 특징을 조사한 결과 *Sclerotium rolfsii*에 의한 동부 흰비단병으로 동정되었다.

지금까지 우리나라에서 동부 흰비단병에 대한 병해 발생 보고는 없었다[2]. 따라서 본 연구에서는 동부에 발생한 흰

비단병의 병징과 병원균의 균학적 특징 및 병원성 조사 결과를 국내에서 처음으로 보고한다.

**병징**

동부 줄기의 아랫부분, 특히 땅 표면에 닿는 지체부위가 수침상으로 물러지면서 병든 식물체는 서서히 시들고 결국 말라 죽는다. 병든 식물체의 병반 부위에서 흰색의 곰팡이가 생기고, 균사체는 시간이 경과함에 따라 갈색을 띠는 둥근 모양의 작은 균핵을 많이 형성하였다(Fig. 1). 포장에서 감염된 동부의 줄기 부분이 수침상으로 물러지면서 갈색으로 변하는 이상증상이 나타났다. 병이 발생한 식물체는 서서히 시들면서 결국 말라 죽었다. 병든 식물체의 줄기에서 흰색의 균사체와 갈색의 둥글고 작은 균핵이 형성되었으며 서서히 시들어 말라 죽기 때문에 포장에서 육안으로 쉽게 관찰되었다.

**발생환경**

2015년 8월 이후 경상남도농업기술원 시험연구 포장에서 재배 중인 동부는 생육이 왕성하여 줄기와 잎자루가 서로 엉키어 자랐다. 통풍과 채광이 부족한 환경조건이었으며, 강우가 잦아 온도와 습도가 적당하게 유지되어 병해 발생

Kor. J. Mycol. 2016 March, **44**(1): 61-63  
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2016.44.1.61>  
 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249  
 © The Korean Society of Mycology

**\*Corresponding author**

E-mail: kwon828@korea.kr

**Received** February 24, 2016**Revised** March 6, 2016**Accepted** March 12, 2016

©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 of sclerotium rot on cowpea (*Vigna sinensis*) caused by *Sclerotium rolfsii*.

이 용이하였다.

#### 병원균 분리 및 균학적 특성

동부에서 발생한 흰비단병의 병원균을 분리하기 위하여 병든 식물체를 채집하여 건전부와 병반부 경계부위의 조직을  $3 \times 3$  mm 크기로 30개를 잘랐다. 1% NaOCl 용액으로 1분간 표면을 소독한 후 멸균수에 3회 세척하였다. 알코올 램프에 화염 소독한 필터 종이를 이용하여 잘라낸 조직의 물기를 제거한 후 무균상에서 일회용 펄트리디시 안에 넣고 24시간 동안 시료를 건조시켰다. 감자한천배지(potato dextrose agar, PDA) 위에 옮겨  $25^{\circ}\text{C}$  항온기 내에서 4일간 배양한 후 자라 나온 균사를 다시 떼어 내어 새로운 PDA 위에 옮긴 후  $30^{\circ}\text{C}$  항온기에서 18일간 배양하면서 병원균의 균학적 특성을 조사하였다(Table 1). PDA에서 배양한 균총은 흰색으로 균사가 솜털처럼 왕성하게 자라며 흰색의 균핵 시원체가 형성되고 배양시간이 길어짐에 따라 지름

**Table 1.** Morphological comparison of mycological characteristics between the Korean isolate obtained from cowpea (*Vigna sinensis* King) and previously described *Sclerotium rolfsii*

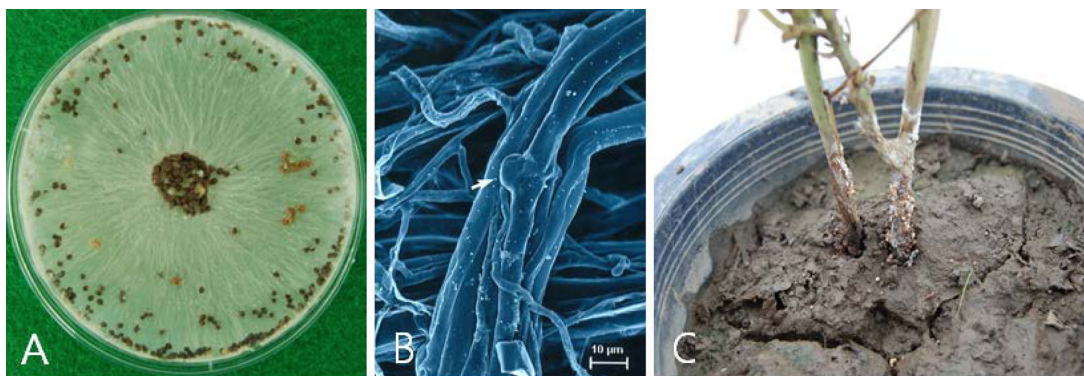
| Characteristics |                  | Present isolate   | <i>S. rolfsii</i> <sup>a</sup> |
|-----------------|------------------|-------------------|--------------------------------|
| Colony          | Color            | white             | white                          |
| Hypha           | Size             | 4~9 $\mu\text{m}$ | 4.5~9.5 $\mu\text{m}$          |
|                 | Clamp connection | present           | present                        |
| Sclerotium      | Shape            | globoid           | spherical                      |
|                 | Size             | 1~3 mm            | 1~2 mm                         |
|                 | Color            | white to brown    | brown                          |

<sup>a</sup>Described by Mordue[4].

1~3 mm의 둥글고 작은 갈색 균핵을 많이 형성하였다(Fig. 2A). 균사생육 및 균핵형성의 최적온도는  $30^{\circ}\text{C}$ 이었다. 주사전자현미경을 사용하여 5일간 배양한 균총에서 담자균 균사 특유의 clamp connection 형태를 관찰하였다(Fig. 2B). 균사의 폭은 4~9  $\mu\text{m}$ 이었다.

#### 병원성 검정

2015년 6월 하순에 건전한 동부 종자를 준비하여 와그너 포트( $1/5,000$  a)에 한알씩 파종하여 경상남도농업기술원 온실에서 격리재배를 하였다. 8월 하순 건전한 식물체에 균을 접종하여 병원성 검정하였다. 접종원은 직경 2.0 mm의 가는 체로 친 토양을 고압멸균기에 3일간격으로 30분간 3회 멸균하였다. PDA에서 7일간 배양한 균총 30개를 수거하여 플라스틱 용기( $56 \times 35 \times 13$  cm)에 넣고 멸균한 흙 3 kg을 손으로 잘 섞은 다음 골고루 잘게 마쇄하였다. 유리온실에서 2주간 건조시킨 후 상온에 보관하면서 접종원으로 사용하였다. 접종하기 전에 와그너 포트내 토양이 건조하지 않도록 포트당 500 mL씩 물을 준 다음 식물체 주변에 포트당 전염원 100 g씩 9포트에 인공접종하였다. 수분 증발을 방지하기 위해 A4종이 한 장을 그 위에 올려 놓고 온실에서



**Fig. 2.** Mycological characteristics of *Sclerotium rolfsii* isolated from cowpea (*Vigna sinensis*). A, Mycelial mats and sclerotia produced on potato dextrose agar after 18 days; B, Scanning electron micrograph of clamp connection (arrow); C, Symptoms induced by artificial inoculation.

격리재배하면서 발병을 관찰하였다.

접종 6일 후부터 동부의 줄기가 수침상으로 물러지고 부패되면서 흰색의 균사가 왕성하게 자라고 식물체는 서서히 시들어 말라 죽었다. 병반부에 흰색의 균사와 갈색의 둥글고 작은 균핵을 형성하였으며 흰비단병 특유의 병징이 나타났다(Fig. 2C).

#### Internal transcribed spacer (ITS) 염기서열 분석

병원균 동정을 확정하기 위해 White 등 [3]이 제작한 프라이머 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 사용하여 ITS rDNA 부분을 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)으로 증폭하였다. PCR 반응액은 최종 농도 10 mM Tris-HCl(pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 nM dNTPs, 10 pmol 프라이머, 0.1 unit rTaq DNA polymerase(Takara, Seoul, Korea)를 사용하여 총량 50 µL로 만들었다. PCR은 predenaturation (98°C, 2분), denaturation (98°C, 30초), annealing (55°C, 30초), extension (72°C, 30초)를 30회 반복하였으며 final extension (72°C, 4분)을 추가로 실시하였다. 증폭된 PCR 산물은 0.8% agarose gel에서 전기영동 후, ethidium bromide로 염색하여 UV transilluminator에서 밴드를 확인하였다. 확인된 밴드는 QIAquick PCR purification kit (QIAGEN, Germantown, MD, USA)를 사용하여 분리 정제하였고 pGEM-T Easy 클로닝 벡터(Promega, Seoul, Korea)에 클로닝한 플라스미드(pOR258)를 M13F와 M13R 프라이머를 이용하여 염기서열을 분석하였다(Macrogen, Seoul, Korea). 병원성 곰팡이의 분자생물학적 동정을 위해 ITS rDNA 영역의 염기서열(684 bp)을 BLASTN 프로그램 이용하여 분석하였으며, 그 결과 닭의 장풀의 흰비단병균(GenBank accession no. HQ3420816)과 100% 상동성을, 그리고 난의 흰비단병균(KJ546416)과 99% 상동성을 나타내었다. 이미 보고된 흰비단병균들과 높은 상동성을 보였으므로 분자계통학적 유연관계 분석은 실시하지 않았다.

이상과 같이 동부에서 분리된 곰팡이의 균학적 특성, 병원성, ITS 염기서열을 분석한 결과, Mordue [4]가 보고한 *Sclerotium rolfsii* Sacc.와 일치하였다. 또한 최근에 보고된 시클라멘 흰비단병 [5]과 할미꽃 흰비단병 [6]의 병징과 균학적 특징이 일치하였다. 외국에서는 Adegbite and Amusa [7]가 동부에서 동일한 병원균을 보고하였다. 따라서 본 연구에서 얻은 결과를 바탕으로 이 병을 *S. rolfsii*에 의한 동부 흰비단병으로 명명하고자 한다.

## 적 요

2015년 9월 경상남도농업기술원 시험연구 포장에서 재배 중인 동부에 흰비단병 증상이 발생하였다. 병징은 동부의 줄기 지체부위가 수침상으로 물러지고 부패되어 서서히 시들면서 포기 전체가 말라 죽었다. 줄기의 병반부와 토양표면에 흰색의 곰팡이가 발생하며 갈색의 둥글고 작은 균핵이 많이 형성되었다. 감자한천배지에서 균충은 흰색으로 잘 자라며 배양기간이 경과함에 따라 갈색의 둥글고 작은 균핵을 많이 형성하였다. 균핵의 크기는 1~3 mm이며 균사의 폭은 4~9 µm였다. 균사생육과 균핵형성 적온은 30°C이었다. 담자균 균사특유의 clamp connection이 관찰되었다. 동부에서 발생한 병징과 병원균의 균학적 특징, internal transcribed spacer rDNA 염기서열을 비교 분석한 결과를 토대로, 이 병을 *Sclerotium rolfsii*에 의한 동부 흰비단병으로 명명하고자 제안한다.

## Acknowledgements

This work was carried out with the support of Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ01082304) Rural Development Administration, Korea.

## REFERENCES

1. Lee TB. Coloured flora of Korea. Hyangmoonsa: Seoul; 2003.
2. Korean Society of Plant Pathology. List of plant diseases in Korea. 5th ed. Seoul: Korean Society of Plant Pathology; 2009.
3. White TJ, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, editors. PCR protocols: a guide to methods and applications. San Diego: Academic Press; 1990. p. 315-22.
4. Mordue JE. *Sclerotinia rolfsii*. In: Commonwealth Mycological Institute (Great Britain), CAB International, editors. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria. Wallingford: CAB International; 1974. no. 410.
5. Kwon JH, Lee HS, Kim J, Kim WI, Shim HS, Shen SS. Sclerotium rot of *Cyclamen europaeum* caused by *Sclerotium rolfsii*. Res Plant Dis 2014;20:223-6.
6. Kwon JH, Hwang GC, Lee SB, Choi YJ, Lee SD, Nguyen LM. Sclerotium rot of *Pulsatilla koreana* Nakai caused by *Sclerotium rolfsii*. Res Plant Dis 2015;21:334-6.
7. Adegbite AA, Amusa NA. The major economic field diseases of cowpea in the humid agro-ecologies of South-Western Nigeria. Afr J Biotechnol 2008;7:4706-12.