

*Caeoma makinoi*에 의한 매실나무 꽃눈녹병의 발생 보고이승열¹ · 이연희¹ · 박수진¹ · 이한동¹ · 이재진¹ · 강인규¹ · 이항범² · 정희영^{1*}¹경북대학교 농업생명과학대학, ²전남대학교 농업생명과학대학Flower Bud Chloranthy Disease Caused by *Caeoma makinoi* on *Prunus mume*Seung-Yeol Lee¹, Yeon-Hee Lee¹, Su-Jin Park¹, Han-Dong Lee¹, Jae-Jin Lee¹, In-Kyu Kang¹, Hyang Burm Lee² and Hee-Young Jung^{1*}¹College of Agriculture and Life Sciences, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea²College of Agriculture and Life Sciences, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

ABSTRACT : Abnormal chloranthy was observed on *Prunus mume* trees grown in an orchard in Uiseong, Gyeongbuk province, Korea in 2015. Flower buds showing chloranthy were covered with numerous orange-colored sori, which were confirmed to contain spermatogonia and aeciospores by stereo microscopy and light microscopy. When observed using scanning electron microscope, the aeciospores were globose, ellipsoid, or ovoid, and measured $22.8\sim35.6 \times 19.8\sim36.8 \mu\text{m}$, with a verrucae wall ornamentation. To construct a phylogeny, the large and small subunit regions of rDNA were sequenced and compared with those of allied species by the maximum likelihood method. The isolated fungus species showed high similarities with *Caeoma makinoi* (Teleomorph: *Blastospora smilacis*), which was previously isolated from *P. mume* in Japan. Therefore, we initially report this fungal agent parasitic on *P. mume* as *C. makinoi* in Korea and name the disease it causes as "flower bud chloranthy disease".

KEYWORDS : *Caeoma makinoi*, Flower bud chloranthy, *Prunus mume*, Rust disease

매실나무(*Prunus mume* Siebold & Zucc.)는 장미과(*Rosaceae*) 벚나무속(genus *Prunus*)에 속하며, 한국, 대만, 일본, 중국 등에서 재배되고 있는 주요 경제적 작물이다[1]. 우리나라의 경우, 매실나무에는 *Botrytis cinerea*에 의한 잿빛곰팡이병, *Phomopsis vexans*에 의한 갈색썩음병, *Tranzschelia pruni-spinosae*에 의한 녹병 등 15종의 병해가 보고되어 있다[2-4].

국내 매실에 녹병을 일으키는 병원균인 *T. pruni-spinosae*

는 전 세계적으로 분포하고 있으며, 복숭아, 자두, 앵두 등 대부분의 핵과류에서 발생한다[5]. 또한 위 병원균은 국내에서 매실(*P. mume*)과 이스라지(*P. japonica*)나무에서 발생하며[2], 특히 감염된 잎과 과실에서는 검은 반점 증상이 관찰되는 것이 특징이다[5]. 하지만 본 연구에서는 국내 매실에서 미 보고된 녹병균에 의한 새로운 병징을 관찰하고, 이상증상을 일으키는 병원균에 대한 균학적 특징 및 계통학적 분석을 실시하였다. 이에 본 논문에서는 국내 매실에서 이상증상을 일으키는 녹병균을 처음으로 보고하고자 한다.

병징 및 균학적 특징

2015년 5월 중순, 경상북도 의성군의 매실 과원(N 36° 27'44", E 128°43'37")에서 꽃눈에서 엽화증상이 관찰되었다(Fig. 1). 비정상조직의 형태는 정상적으로 생육한 꽃눈 및 정상 잎 등과 명확하게 구분되었으며(Fig. 1A), 관찰되는 이상 병징의 외부에는 주황색의 돌기가 관찰되었다(Fig. 1B). 또한 이러한 엽화증상은 꽃눈에서만 특이적으로 관찰되었으며, 잎이나 과실 등에서는 관찰되지 않았다(data not shown). 엽화증상에서 병원체의 관찰은 광학현미경(BX-50; Olympus, Tokyo, Japan), 디지털 현미경(DIMIS-M; Siwon

Kor. J. Mycol. 2016 December, 44(4): 377-381
<https://doi.org/10.4489/KJM.2016.44.4.377>
 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
 © The Korean Society of Mycology

***Corresponding author**

E-mail: heeyoung@knu.ac.kr

Received December 1, 2016**Revised** December 9, 2016**Accepted** December 10, 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.

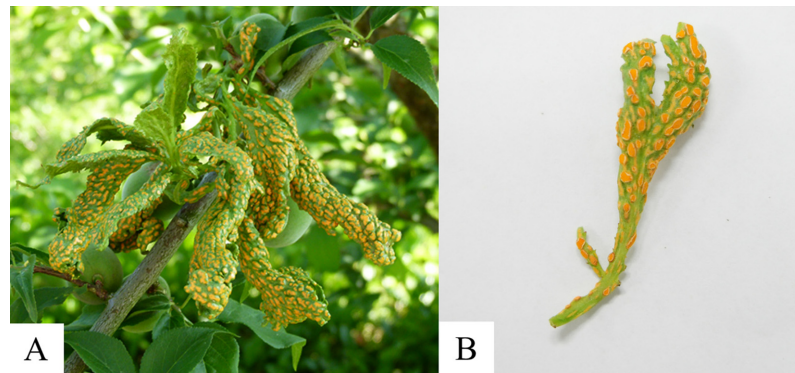


Fig. 1. Symptoms of flower bud chloranthry on *Prunus mume* observed at orchard located in Uiseong in 2015. A, observed flower bud chloranthry symptoms; B, detailed single feature of chloranthry symptom.

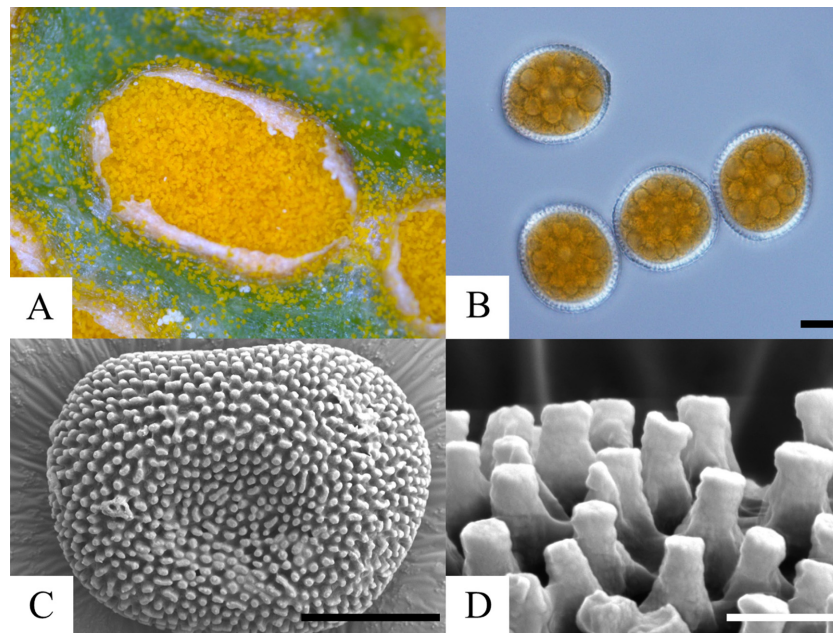


Fig. 2. Macroscopic and microscopic feature of *Caecoma makinoi*. A, structure of spermogonium under stereo microscope; B, C, aeciospores under light microscope and scanning electron microscope; D, ornamentation of aeciospore (scale bars: B, C = 10 μ m, D = 1 μ m).

Optical Technology, Anyang, Korea) 및 주사전자현미경 (Hitachi SU8220; Hitachi, Tokyo, Japan)을 이용하였다. 디지털 현미경 및 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 주황색의 돌기는 녹병정자기(spermagonium)로 확인되었고, 내부에는 사슬형(catenulate)으로 배열된 많은 녹포자(aeciospore)가 관찰되었다(Fig. 2A, 2B). 녹포자는 대부분 구형, 타원형 혹은 난형, 크기는 약 $22.8\sim35.6 \times 19.8\sim36.8 \mu\text{m}$ (Fig. 2C), 녹포자의 표면은 무사마귀형(verrucae)이었다(Fig. 2D). 기주식물에서 엽화증상을 일으키는 것으로 기 보고된 *Caecoma* spp.의 형태적 특징을 검색하고[6-9], 녹포자 특징을 비교한 결과(Table 1), 본 연구의 매실에서 관찰된 녹포자

의 형태는 일본에서 보고된 *C. makinoi*와 일치하였고[7], 매실에 엽화증상을 나타내는 병원체는 *C. makinoi*에 의한 것으로 추정되었다.

병원균의 분자생물학적 동정

본 병원균의 분자계통학적 유연관계를 분석하기 위한 녹포자의 total genomic DNA 추출은 HiGene Genomic DNA prep kit (BIOFACT, Daejeon, Korea)를 이용하여 실시하였다. Pucciniales에 속하는 녹병균과의 계통학적 유연관계를 분석하기 위해, 추출된 genomic DNA의 large subunit (LSU) rDNA와 18S rDNA 영역을 분석하였다[10]. 18S rDNA 영

Table 1. Comparison of morphological characteristics of aeciospores included in *Caeoma* spp.

Characteristics	Present isolate	<i>Caeoma makinoi</i>	<i>Caeoma radiatum</i>	<i>Mikronegeria alba</i>	<i>Caeoma peltatum</i>
Shape	catenulate, globose, ovoid to ellipsoid	catenulate, subglobose, ovoid to ellipsoid	catenulate, mostly aciculate	catenulate, subglobose, ellipsoid	catenulate, angular to ellipsoid
Aecio-spores Size	22.8~35.6 × 19.8~36.8	20~45(or 50) × 15~30	25~48 × 21~30	15~22 × 20~39	23.6~46.3 × 17.5~30.0
Ornamentation	verrucae	verrucae	-	minute verrucae	coralloid to reticulate, tuberculate and peltate excrescences
Symptoms on host (Scientific name of host)	witches' broom (<i>Prunus mume</i>)	witches' broom (<i>Prunus mume</i>)	witches' broom (<i>Prunus grayana</i>)	witches' broom (<i>Austrocedrus chilensis</i>)	yellow, irregular and marginal spot (<i>Phyllocladus trichomanoides</i>)
References	this study	Ono et al. [6]	Ono et al. [7]	Peterson and Oehrens [8]	Shaw [9]

역을 증폭하기 위해 NS1/Rust 18S-R primer pair를 이용하여 PCR을 수행하였으며 [10, 11], LSU rDNA 영역의 일부를 증폭하기 위해 Rust2inv/LR6 primer pair를 이용하여 PCR을 수행하였다 [12, 13]. 증폭된 PCR 산물은 정제 후 염기서열 분석을 의뢰하였다(SolGent, Daejeon, Korea). 그 결과, LSU rDNA 일부 영역 및 18S rDNA 영역에서 각각 약 1,300 bp와 1,700 bp의 염기서열을 획득하였으며, 염기서열은 NCBI Genbank에 각각 LC198776과 LC198777로

등록하였다. 계통학적 분석을 위해, Pucciniales에 속하는 녹병균의 LSU rDNA 일부 영역 및 18S rDNA 영역의 염기서열을 수집하고, 계통학적 유연관계는 Kimura-2-parameter 모델을 기반으로 한 maximum likelihood법으로 MEGA 7 프로그램을 통해 분석되었다. 그 결과, 국내 의성군의 매실나무의 엽화증상에서 관찰된 녹병균은 Mikronegeriineae에 속하였으며, 일본에서 분리된 *C. makinoi* (Teleomorph: *B. smilacis*)와 100% 일치하는 것으로 확인되었다(Fig. 3).

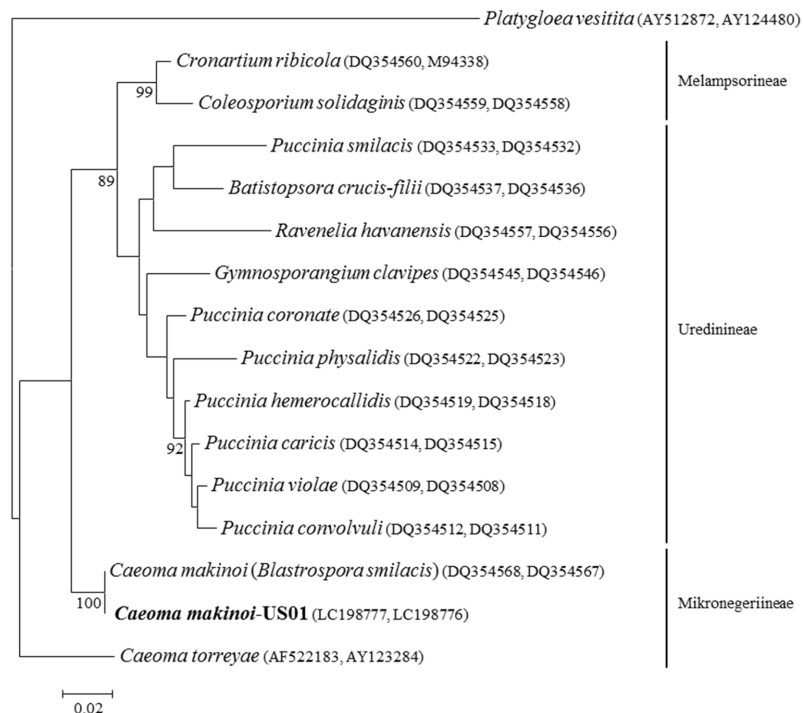


Fig. 3. Phylogenetic analysis conducted based on the sequences of 18S rDNA and large subunit (LSU) rDNA using allied species of *Caeoma makinoi*. *Platyglöea vesitita* was used as the outgroup. The tree was constructed using the maximum likelihood method with 1,000 replicates (values < 80 are not shown). The bar represents a phylogenetic distance of 0.02%.

*Caeoma makinoi*는 녹균강(Pucciniomycetes) 녹균목(Pucciniales)에 속하는 녹병균이며, 한국과 일본에서 발생이 보고되어 있다[14, 15]. *C. makinoi*의 완전세대명은 *Blastospora smilacis*이며, 청가시덩굴(*Smilax sieboldii*)과 기주교대하는 것으로 알려져 있다[6]. 위 녹병균은 매실의 꽃눈에 엽화(Chlororanth)를 일으키며, Kusano [15]에 의해 처음 명명되었다. 일본에서는 1971년 나가노현의 매실나무에 대 발생하여, 매실 농가에 막대한 경제적인 피해를 입힌 것으로 알려져 있으나[16], 이후 본 병원균에 대한 추가적인 발생보고 및 역학적인 연구는 보고된 바 없다. 국내의 경우, 살구나무에서 *C. makinoi*에 의한 녹병이 보고되었으나[14], 발생한 병원균의 형태적 특징 및 매실나무에서 발생한 병원균에 대한 보고는 연구된 바 없다.

녹병균은 기주에 따라 혹(gall), 총생(witches' broom) 및 변형(malformation)을 유발한다고 보고되어 있으며, 특히 감염된 기주에 총생을 일으키는 녹병균으로는 *Aecidium magellanicum*, *Atelocauda digitata*, *Caeoma* spp., *Chrysomyxa arctostaphyli*, *Endoraecium acacia*, *Melampsorella caryophyllacearum* 등 9종이 알려져 있다[17]. 그 중 국내에는 *Caeoma makinoi* (Teleomorph: *B. smilacis*)에 의한 살구나무 녹병과 *M. caryophyllacearum*에 의한 전나무 빗자루병이 보고되어 있으나[14, 18], 그 외 녹병균은 보고되지 않았으며[19] 국내에 보고된 *C. makinoi*의 경우, 병원균에 의한 엽화 및 총생증상에 대한 보고는 없었다[14].

Ono 등[7]에 따르면, *C. makinoi*는 청가시덩굴(*Smilax sieboldii*)에서 여름포자세대와 겨울포자세대를 갖는다고 보고되어 있다. 또한 교차 접종실험을 통해 매실에서 관찰되는 *C. makinoi*의 녹포자를 청가시덩굴에 접종하면 10~17일 후 여름포자가 형성되고, 약 1개월 후 겨울포자가 형성되며, 청가시덩굴에서 관찰되는 담자포자(Basidiospore)를 다시 매실나무에 접종하면 동일한 엽화증상이 나타난다고 보고되어 있으나[7], 아직까지 국내 청가시덩굴에는 *B. smilacis*가 보고된 바 없다.

본 연구에서는 국내 매실나무에서 엽화증상 일으키는 병원균을 *Caeoma makinoi*로 동정하였으며, 이에 *C. makinoi*에 의한 녹병을 매실나무 꽃눈녹병으로 제안하는 바이다. 추가적으로 매실나무 꽃눈녹병의 전국적인 발생조사와 매실나무와 기주 교대를 하는 청가시덩굴에서의 발생 양상도 함께 조사해야 할 것으로 생각된다.

적 요

2015년 5월, 경상북도 의성군 소재 매실과원에서 비정상적인 엽화증상이 매실나무에서 관찰되었다. 관찰된 엽화증상에서는 외부에 주황색의 돌기가 관찰되었고, 실체현미경으로 관찰한 결과 녹포자퇴로 확인되었다. 자세한 형태를 관찰하기 위해 광학현미경과 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 녹포자는 구형, 타원형 또는 난형이었고, 약 22.8~

35.6 × 19.8~36.8 μm 크기를 가지면서 표면은 무사마귀형으로 관찰되었다. 녹포자의 정확한 동정과 계통학적 유연관계 분석을 위하여, 18S rDNA와 large subunit rDNA 영역을 증폭시킨 후 염기서열을 분석하고 계통학적 유연관계를 분석하였다. 그 결과, 매실나무의 엽화증상에서 관찰된 병원균은 일본에서 분리된 *Caeoma makinoi* (Teleomorph: *B. smilacis*) 균주와 100% 일치하는 것으로 확인되었다. 따라서 본 연구에서는 국내 매실나무에서 엽화증상을 일으키는 녹병균을 *Caeoma makinoi*로 보고하고, 위 병원균에 의한 매실나무 엽화증상을 매실꽃눈녹병으로 제안하고자 한다.

Acknowledgements

This research was supported by a grant (NIBR 2015-01205) from the National Institute of Biological Resources (NIBR), funded by the Ministry of Environment (MOE) of the Republic of Korea for projects on the survey and discovery of indigenous Korean fungal species.

REFERENCES

- Hwang JY. Pharmacological effects of Maesil (*Prunus mume*). Food Sci Ind 2005;38:112-9.
- The Korean Society of Plant Pathology. List of plant diseases in Korea. 5th ed. Seoul: Korean Society of Plant Pathology; 2009.
- Kwon JH, Kim WI, Park CS. Occurrence of gray mold on *Prunus mume* caused by *Botrytis cinerea* in Korea. Res Plant Dis 2007;13:216-9.
- Kim WG, Hong SK, Cho WD, You CH. Brown rot of apricot and mume caused by *Phomopsis vexans*. Plant Pathol J 2003; 19:231-4.
- Jafar H. Studies on the biology of peach rust (*Tranzschelia pruni-spinosae* Pers.) in New Zealand. N Z J Agric Res 1958; 1:642-51.
- Ono Y, Kakishima M, Kudo A, Sato S. *Blastospora smilacis*, a teleomorph of *Caeoma makinoi*, and its sorus development. Mycologia 1986;78:253-62.
- Ono Y, Kakishima M, Sato S, Harada Y. *Blastospora itoana* on *Smilax nipponica* forms a caeoma stage on *Prunus grayana* in Japan. Mycologia 1987;79:668-73.
- Peterson RS, Oehrens E. *Mikronegeria alba* (Uredinales). Mycologia 1978;70:321-31.
- Shaw CG. Rust on *Phyllocladus trichomanoides*: the first recorded on a member of the podocarpaceae. Trans Br Mycol Soc 1976;67:506-9.
- Aime MC. Toward resolving family-level relationships in rust fungi (Uredinales). Mycoscience 2006;47:112-22.
- 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.
- Moncalvo JM, Wang HH, Hseu RS. Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacers

- and 25S ribosomal DNA sequences. *Mycologia* 1995;87:223-38.
13. O'Donnell K. *Fusarium* and its near relatives. In: Reynolds DR, Taylor JW, editors. *The fungal holomorph: mitotic, meiotic and pleomorphic speciation in fungal systematics*. Wallingford: CAB International; 1993. p. 225-33.
 14. Park CS. Research report no. 1: fungus disease of plants in Korea. Daejeon: College of Agriculture, Chungnam National University; 1958.
 15. Kusano S. Notes on the Japanese fungi: IV. *Caeoma* on *Prunus*. *Bot Mag Tokyo* 1906;20:47-51.
 16. Imamura S, Saito Y. A disease of plum by *Caeoma makinoi* heavily occurred in Ina region in Nagano Prefecture, Japan. *Plant Prot* 1975;29:481-3.
 17. Hernández JR, Hennen JF. Rust fungi causing galls, witches' brooms, and other abnormal plant growths in northwestern Argentina. *Mycologia* 2003;95:728-55.
 18. Kim KH, Seo ST, Oh ES, Lee SH, Lee SK, Shin SC. *Disease of conifers in Korea*. Seoul: National Institute of Forest Science; 2007.
 19. The Korean Society of Mycology. *National list of species of Korea: Basidiomycota*. Incheon: National Institute of Biological Resources; 2015.