

RESEARCH NOTE

형태 특징 및 분자 분석에 의한 산철쭉 흰가루병균 *Erysiphe izuensis* 동정

조성은¹, 이상현², 이선근², 서상태², 신현동^{1*}¹고려대학교 환경생태공학부, ²국립산림과학원 산림병해충연구과

Identification of *Erysiphe izuensis* on *Rhododendron yedoense* f. *poukhanense* in Korea Based on Morphological and Molecular Characteristics

Sung-Eun Cho¹, Sang-Hyun Lee², Sun-Keun Lee², Sang-Tae Seo², Hyeon-Dong Shin^{1*}¹Division of Environmental Science and Ecological Engineering, Korea University, Seoul 02841, Korea²Forest Insect Pests and Diseases Division, National Institute of Forest Science, Seoul 02455, Korea

*Corresponding author: hdshin@korea.ac.kr

ABSTRACT

The *Rhododendron* powdery mildew fungus *Erysiphe izuensis* has been recorded throughout Asia, including China, Japan, Korea, and Russia. In Korea, *E. izuensis* has been identified based on morphological characteristics of the anamorph found on introduced *Rhododendron* spp. We here describe the first identification of *E. izuensis* collected from *Rhododendron yedoense* f. *poukhanense* in Korea. Morphological characteristics of the teleomorph as well as internal transcribed spacer sequences of the species are provided. Moreover, we describe the characteristics of the primary conidia and conidial surface pattern of *E. izuensis* for the first time.

Keywords: Ericaceae, Erysiphaceae, *Microsphaera*, Molecular analysis, Morphology

OPEN ACCESS

Kor. J. Mycol. 2018 March, 46(1): 69-74
https://doi.org/10.4489/KJM.20180009

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249

Received: February 9, 2018

Accepted: February 20, 2018

© The Korean Society of Mycology



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.

진달래속(*Rhododendron*) 식물을 감염하는 흰가루병균은 3가지 속(genus)인 *Erysiphe*, *Phyllactinia*, *Podosphaera*에서 기록되어 있다[1, 2]. 이 중에서 *Erysiphe*속에서 가장 많은 종이 기록되어 있으며, 이 속은 2000년대 이후에 자낭구 부속사(chasmothecial appendages)의 형태적 특징에 의해 5가지 절(section)로 구분되며, 다음과 같다[1]: *Erysiphe* sect. *Erysiphe*, *E.* sect. *Microsphaera*, *E.* sect. *Uncinula*, *E.* sect. *Californiomyces*, *E.* sect. *Typhulochaeta*. 진달래속의 흰가루병균은 *E.* sect. *Erysiphe*에서 1종(*E. rhododendri* J.N. Kapoor), *E.* sect. *Microsphaera*에서 4종(*E. azaleae* (U. Braun) U. Braun & S. Takam., *E. digitata* (A.J. Inman & U. Braun) A.J. Inman & U. Braun, *E. izuensis* (Y. Nomura) U. Braun & S. Takam., *E. vaccinii* Schwein.)이 기록되어 있다. 이 중에서 *E.* sect. *Microsphaera*에서 알려진 흰가루병균을 살펴보면 다음과 같다. 첫째, *E. azaleae*는 1982년 북미에서 처음 기록되었고, 그 후에

유럽으로 퍼져 무성세대뿐만 아니라 유성세대의 형성도 확인되었다. 이 종은 분생포자경의 기부세포가 뒤틀린(kinking or twisting) 형태적 특유성을 가지고 있다[3]. 둘째, *E. digitata*는 자낭구 부속사의 끝부분이 손가락 모양인 형태적 특징을 가지며, 2000년에 벨기에에서 처음으로 기록된 후에 아직까지 다른 나라에서 알려진 바 없으므로 벨기에에서만 분포하는 고유종으로 여겨진다[1]. 셋째, *E. izuensis*는 1984년 일본에서 처음 기록되었으며[4] 일본, 한국, 중국, 러시아 등에서만 알려진 동아시아 특산종이다[2]. 또한, 이 종은 동양이 원산인 진달래속 식물뿐 아니라[2] 서양이 원산인 진달래속의 원예종에서도 기록되어 있다[5]. 마지막으로 *E. vaccinii*는 북미 원산종으로 여러 진달래과(Ericaceae) 식물에서 기록되어 있다. 무성세대의 특징은 알려지지 않았으나, 자낭구 부속사가 위의 3종보다 긴 특징을 가지고 있다.

한편, 한국에서 진달래속 식물을 감염하는 흰가루병균으로는 2종이 있는데, *Phyllactinia rhododendri* H.D. Shin & Y.J. La와 *Microsphaera izuensis* Y. Nomura가 있다[6, 7]. 이 중에서 *M. izuensis*(현재 *Erysiphe izuensis*)는 Shin과 La [8]가 철쭉(*Rhododendron* sp.)에서 보고하였으며, 형태적인 기재없이 기주목록에만 포함되었다. 그 이후에 Shin [5]이 이 종의 무성세대의 형태적 특징을 한국에서 처음으로 기재하였다. 유럽에서 도입된 영산홍과 철쭉류(*Rhododendron* spp.)의 원예종을 기주로 보고하였으며, 유성세대는 발견하지 못했다. 따라서 한국의 *E. izuensis*는 무성세대의 형태적 특징만으로 동정되어왔다.

필자들은 2015년에 춘천에서 산철쭉(*Rhododendron yedoense* f. *poukhanense* (H. Lév.) M. Sugim. ex T. Yamaz.)에 발생한 흰가루병균을 처음으로 채집하였고, 2016년에 부산에서도 산철쭉에 발생한 흰가루병균을 추가적으로 채집하였다. 특히, 부산에서는 유성세대를 채집하였으며 성숙한 자낭구의 형성을 확인하였다. 이 두 지역의 흰가루병균은 형태적인 특징에 따르면 *Erysiphe*속에 속하며, 동일한 종으로 추측되었다. 따라서 본 연구에서 한국의 산철쭉 흰가루병균의 형태적 특징과 분자분석 결과를 통해 정확한 종 동정을 하고자 한다.

시료

2015년과 2016년에 춘천과 부산에서 채집한 총 3점의 산철쭉 흰가루병균의 시료는 고려대학교 진균표본실(Korea University Herbarium)에 보존되어 있다. 소장된 시료의 내역은 다음과 같다. KUS-F28719 (6 Jul 2015, 춘천시, 봉명리), F29101 (16 Nov 2015, 부산광역시, 동대신동), F29641 (1 Nov 2016, 부산광역시, 동대신동).

형태적 특징

산철쭉 흰가루병균의 무성세대와 유성세대를 검정하였다. 분류학적 특성을 파악하고 크기를 측정하기 위해서 명시아광학현미경(BX51; Olympus, Tokyo, Japan)을 사용하였으며, 현미경 사진은 미분간섭현미경(Axio Imager; Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)을 이용하여 촬영하였다. 무성세대와 유성세대의 현미경 사진은 기본적으로 신선시료를 사용하여 이루어졌으며, 봉입제로는 물을 이용하였다. 추가적인 검정이 필요한 경우에는 건조시료를 3% KOH에 충분히 불려서 사용하였다.

산철쭉 흰가루병균은 잎과 잎자루에서 발견되었다. 잎 앞면과 뒷면에서 모두 발병하였으나, 잎 앞면의 감염이 더 심하였다. 발병이 심해지면 잎 앞면에 상응하는 뒷면의 병반이 적자

색으로 변화였다(Fig. 1A). 부산에서 채집한 시료의 경우에는 11월 초순까지 무성세대가 지속되었으며, 유성세대도 함께 형성되었다(Fig. 1B). 특히 자낭구가 잎자루에서 많이 형성되어 있음을 확인하였다.

균사는 잎 양면에 존재하지만 앞면에 발생하는 경우가 더 흔하며, 식물 조직의 바깥쪽에 존재하였다. 균사는 대부분 파상이며, 때로는 결절을 형성하였고, 폭은 4–8 μm 였다. 균사의 부착기는 굴곡상이며, 단생하거나 쌍을 이루며, 잘 발달하였다(Fig. 1C). 분생포자경은 균사의 윗부분으로부터 발달하며, 63–90 $\times$ 8.5–10 μm 이며, 3–4개의 세포로 구성되며, 정단세포가 분생포자로 발달하였다(Fig. 1D, 1E). 기부세포의 아래쪽은 곧거나 약간 굴곡상이며, 길이는 28–42 μm 였다. 1차 분생포자의 위쪽은 둥근 원뿔형이고 아래쪽은 뭉툭하며, 크기는 27–33 $\times$ 14–18 μm 이며(Fig. 1F), 기타 다른 특성은 2차 분생포자에 준하였다. 2차 분생포자는 무색의 단세포이며, 피브로신체를 갖지 않으며, 타원형 내지 달걀형이며, 크기는 30–40 $\times$ 15–20 μm

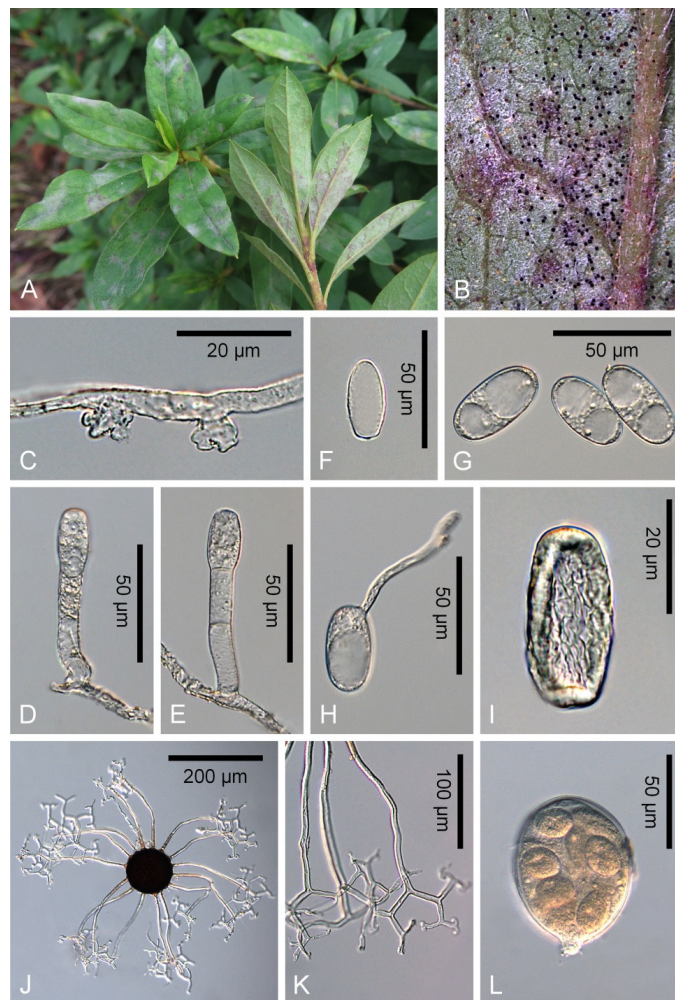


Fig. 1. *Erysiphe izuensis* on *Rhododendron yedoense* f. *poukhanense*. A, symptoms on abaxial and adaxial leaf surface; B, formation of chasmothecia on abaxial leaf surface; C, hypha with lobed appressoria; D, E, conidiophores; F, primary conidium; G, conidia; H, germinating conidium; I, conidium showing the angular/rectangular pattern of outer wall; J, chasmothecium; K, chasmothecial appendages; L, ascus.

이며(Fig. 1G), 발아관은 분생포자의 배꼽 테두리에 위치하였다(Fig. 1H). 또한 분생포자의 표면구조는 다각격자형(angular/rectangular)이었다(Fig. 1I).

자낭구는 잎과 잎자루에 흩어지거나 모여서 형성되며, 직경은 85~120 μm 이며, 벽세포는 직경 8~20 μm 의 불규칙한 세포로 구성되며, 4~6개의 자낭을 가졌다(Fig. 1J). 부속사는 10~18개이며, 자낭구의 위쪽에 분포하며, 길이는 150~300 μm 이고, 폭은 5~7.5 μm 이며, 끝은 4~6회 이분지되어 있으며, 아래쪽은 갈색을 띠지만 위쪽으로 갈수록 열어졌다(Fig. 1K). 자낭은 타원형으로서 아랫부분에 꼭지를 가지며, 크기는 60~75 $\times$ 45~55 μm 이며, 6~8개의 자낭포자를 지녔다(Fig. 1L). 자낭포자는 타원형 내지 달걀형이며, 크기는 20~25 $\times$ 10~15 μm 이며, 무색이었다. 이러한 균학적 특징은 앞선 연구[1]에서 기록된 진달래속 식물의 흰가루병균 *Erysiphe izuensis* (Y. Nomura) U. Braun & S. Takam.와 일치하였다.

분자적 분석

고려대학교 표본실에 보존되어 있는 산철쭉 흰가루병균 시료 중에서 2점(KUS-F28719, F29641)을 선정하여 internal transcribed spacer (ITS) 영역의 염기서열을 분석하였다. Genomic DNA를 추출하기 위해서 Chelex 100 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 사용하였고, ITS5 (5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3')와 P3 (5'-GCC GCT TCA CTC GCC GTT AC-3') 프라이머를 이용하여 ITS 영역을 polymerase chain reaction (PCR)으로 증폭시켰다[9]. 전기영동을 통하여 PCR 산물을 확인한 후에 염기서열 분석을 마크로젠 (Macrogen, Seoul, Korea)에 의뢰하였다. 그 이후, 2점의 시료에서 얻은 염기서열을 확인하였고, 이들을 GenBank에 기탁하였다(MG905322, MG905323). 이들의 염기서열을 비교한 결과, GenBank에 등록되어 있는 일본의 *E. izuensis* (LC009975, LC010076)와 99%의 상동성을 나타냈다. 이들의 분자계통학적인 관계를 더 정확히 확인하기 위하여 계통수를 작성하

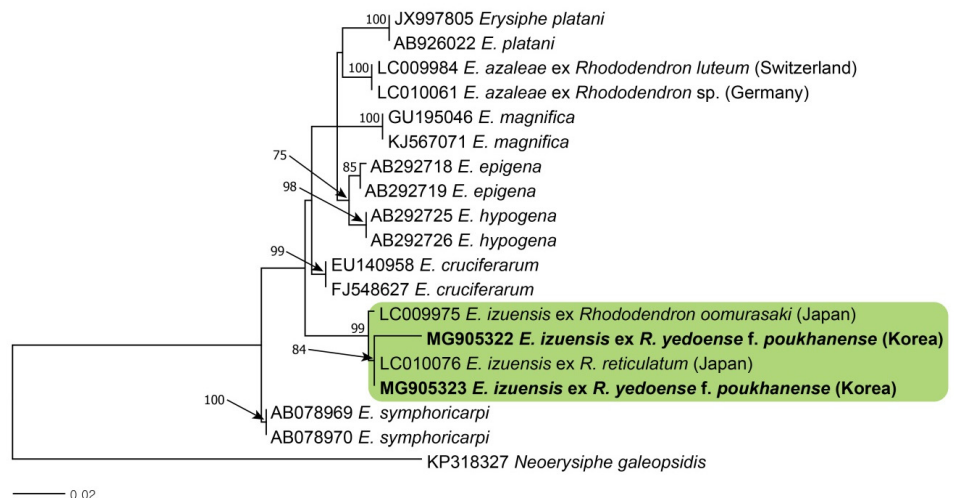


Fig. 2. Phylogenetic relationship between *Erysiphe izuensis* isolates and some reference isolates retrieved from GenBank, inferred by maximum likelihood method using the internal transcribed spacer regions. Bootstrap values based on 1,000 replications are indicated above the branches. The scale bar represents 0.02 nucleotide substitutions per site. The Korean isolates presented in this study are indicated in bold.

였으며, MEGA7 프로그램[10]을 이용하여 maximum likelihood 방법으로 분석하였다. 그 결과, 한국의 산철쭉 흰가루병균 시료 2점과 일본 시료 2점은 단계통군에 속하였으며, 99%의 높은 신뢰도 지수를 나타냈다(Fig. 2). 또한, 독일과 스위스의 *Rhododendron* spp.에서 채집된 흰가루병균 *E. azaleae* (LC010061와 LC009984)와는 계통학적으로 멀리 떨어져 있음을 확인하였다. 따라서 *E. izuensis*는 분자계통학적으로 독립적인 계통군을 형성하며, 한국의 시료 2점도 *E. izuensis*에 속함을 확인하였다.

고찰

진달래속의 흰가루병균인 *E. izuensis*는 지금까지 한국에서 무성세대의 형태적 특징만 알려져 있었으나, 본 연구를 통하여 유성세대를 처음으로 기록하였고, 해당 시료의 ITS 염기서열도 제공하였다. 뿐만 아니라, *E. izuensis*의 무성세대의 형태적 특징 중에서 1차 분생포자와 분생포자의 표면구조는 지금까지 알려진 바가 없었으므로, 한국 시료를 가지고 처음으로 기재하였다. 이로써 한국에서 *E. izuensis*의 존재를 확인하게 되었으며, 특히 유성세대의 형성은 대응하는 교배형의 존재를 의미하며 이는 곧 유전적 다양성의 확보를 의미한다.

한편, 최근에 일본에서 여러 진달래속 식물의 흰가루병균을 분자계통학적으로 분석하여 *E. izuensis*뿐만 아니라 *Rhododendron* spp.를 감염하는 *E. azaleae*의 존재도 확인하였다[11]. 지금까지 *E. azaleae*는 북미 원산의 흰가루병균으로 주로 유럽에서 보고되었으며[12], 아시아에서 알려진 적이 없었다. 아직 일본에서 *E. azaleae*의 존재에 대한 공식적인 기록은 없지만[2], Takamatsu 등[11]에 의해 일본에서 채집한 *E. azaleae*의 28S rDNA 영역이 분석되어 계통수로 작성되었다. 이 계통수에 따르면 일본의 *E. azaleae*가 독일과 스위스의 *E. azaleae*와 같은 계통군에 속함을 알 수 있다. 따라서, 그 동안 북미와 유럽에서만 알려졌던 *E. azaleae*가 동아시아로 유입되었다고 판단된다.

필자들이 지금까지 한국에서 채집한 시료는 *E. izuensis*로 동정되었으나, 진달래속 식물의 흰가루병균에 대한 지속적인 모니터링을 통해 한국에 새로운 흰가루병균이 도입되었는지 주목할 필요가 있다. 또한, 앞서 한국에서 보고된 *E. izuensis*의 기주인 서양의 진달래속 원예종 (cv. Cecile, Cock too, Daviesii, Golden oriole, Irene koster, Rozame western, Scarlet, Sherbet 등)에 대한 기록[5]도 재확인할 필요하며, 한국에서 진달래속 흰가루병균을 감염하는 기주에 대한 종합적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

적요

진달래속의 흰가루병균인 *Erysiphe izuensis*는 중국, 일본, 한국, 러시아 등 아시아에서만 기록되어있다. 한국에서는 무성세대의 형태적 특징에 의해, 도입된 진달래속 식물에서 *E. izuensis*가 기록되었다. 최근에 저자들은 산철쭉에서 흰가루병균을 국내에서 처음으로 채집하였다. 본 연구를 통하여 국내에서 *E. izuensis*의 유성세대의 형태적 특징과 internal transcribed spacer 염기서열을 처음으로 제공하였다. 게다가, 이 종에서 그 동안 알려지지 않았던 1차 분생포자와 분생포자의 표면구조 등 무성세대의 형태적 특징을 처음으로 기재하였다.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financially supported by a grant from the National Institute of Forest Science. Additional funding was received by the BK21 Plus program in 2016~2020 funded by the National Research Foundation of Korea (NRF) and also in part by a special grant from Korea University to HDS.

REFERENCES

1. Braun U, Cook RTA. Taxonomic manual of the *Erysiphales* (powdery mildews). Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre; 2012.
2. Farr DF, Rossman AY. Fungal databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA [Internet]. Beltsville: Systematic Mycology and Microbiology Laboratory; 2018 [cited 2018 Feb 5]. Available from: <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.
3. Shin HD, Mulenko W. The record of *Erysiphe azaleae* (Erysiphales) from Poland and its anamorph. Mycobiology 2004;32:105-9.
4. Nomura Y. Two new powdery mildew fungi on *Euonymus sieboldianus* and *Rhododendron macrosepalum*. Trans Mycol Soc Japan 1984;25:475-83.
5. Shin HD. Erysiphaceae of Korea. Suwon: National Institute of Agricultural Science and Technology; 2000.
6. The Korean Society of Plant Pathology. List of plant diseases in Korea. 5th ed. Seoul: Korean Society of Plant Pathology; 2009.
7. Takamatsu S, Inagaki M, Niinomi S, Khodaparast SA, Shin HD, Grigaliunaite B, Havrylenko M. Comprehensive molecular phylogenetic analysis and evolution of the genus *Phyllactinia* (Ascomycota: Erysiphales) and its allied genera. Mycol Res 2008; 112:299-315.
8. Shin HD, La YJ. Addition to the new records of host plants of powdery mildews in Korea. Kor J Plant Pathol 1992;8:57-60.
9. Takamatsu S, Heluta V, Havrylenko M, Divarangkoon R. Four powdery mildew species with catenate conidia infect *Galium*: molecular and morphological evidence. Mycol Res 2009;113:117-29.
10. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Mol Biol Evol 2016;33:1870-4.
11. Takamatsu S, Ito Arakawa H, Shiroya Y, Kiss L, Heluta V. First comprehensive phylogenetic analysis of the genus *Erysiphe* (Erysiphales, Erysiphaceae) I. The *Microsphaera* lineage. Mycologia 2015;107:475-89.
12. Inman AJ, Cook RTA, Beales PA. A contribution to the identity of *Rhododendron* powdery mildew in Europe. J Phytopathol 2000;148:17-27.