

## RESEARCH NOTE

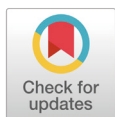
## 국내 미기록 등수국 녹병균 *Pucciniastrum hydrangeae-petiolaris*

이재성<sup>1</sup>, 최영준<sup>1\*</sup>, 최병기<sup>2</sup>, 정복남<sup>3</sup>, 박지현<sup>3</sup>, 신현동<sup>4\*</sup><sup>1</sup>국립군산대학교 생물학과, <sup>2</sup>국립산림과학원 난대·아열대산림연구소, <sup>3</sup>국립산림과학원 산림병해충연구과, <sup>4</sup>고려대학교 환경생태공학부

## *Pucciniastrum hydrangeae-petiolaris*, a Newly Found Rust Fungus on *Hydrangea petiolaris* in Korea

Jae Sung Lee<sup>1</sup>, Young-Joon Choi<sup>1\*</sup>, Byoung-Ki Choi<sup>2</sup>, Bok-Nam Jung<sup>3</sup>, Ji-Hyun Park<sup>3</sup>, Hyeon-Dong Shin<sup>4\*</sup><sup>1</sup>Department of Biology, Kunsan National University, Gunsan 54150, Korea<sup>2</sup>Warm-Temperate and Subtropical Forest Research Center, National Institute of Forest Science, Seogwipo 63582, Korea<sup>3</sup>Division of Forest Insect Pests and Diseases, National Institute of Forest Science, Seoul 02455, Korea<sup>4</sup>Division of Environmental Science and Ecological Engineering, Korea University, Seoul 02841, Korea

\*Corresponding authors: yjchoi@kunsan.ac.kr, hdshin@korea.ac.kr



### OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X  
eISSN : 2383-5249Kor. J. Mycol. 2021 March, 49(1): 119-125  
<https://doi.org/10.4489/KJM.20210012>

Received: January 07, 2021

Revised: March 10, 2021

Accepted: March 12, 2021

© 2021 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.

### ABSTRACT

*Hydrangea petiolaris*, belonging to the family Hydrangeaceae, is a vine plant distributed in Ulleung, Jeju, and other southern islands of Korea. In October 2017, a rust fungus was discovered on *H. petiolaris* in Jeju Island, Korea. To identify the rust fungus, we performed a morphological examination and molecular phylogenetic analysis of the internal transcribed spacer and 28S large subunit rDNA sequences. As a result, the fungus was identified as *Pucciniastrum hydrangeae-petiolaris*, consistent with previous reports from Japan and Russia, but showed a significant phylogenetic distance from *Pucciniastrum hydrangeae* reported on *Hydrangea* spp. in North America. This is the first record of *P. hydrangeae-petiolaris* on *H. petiolaris* in Korea.

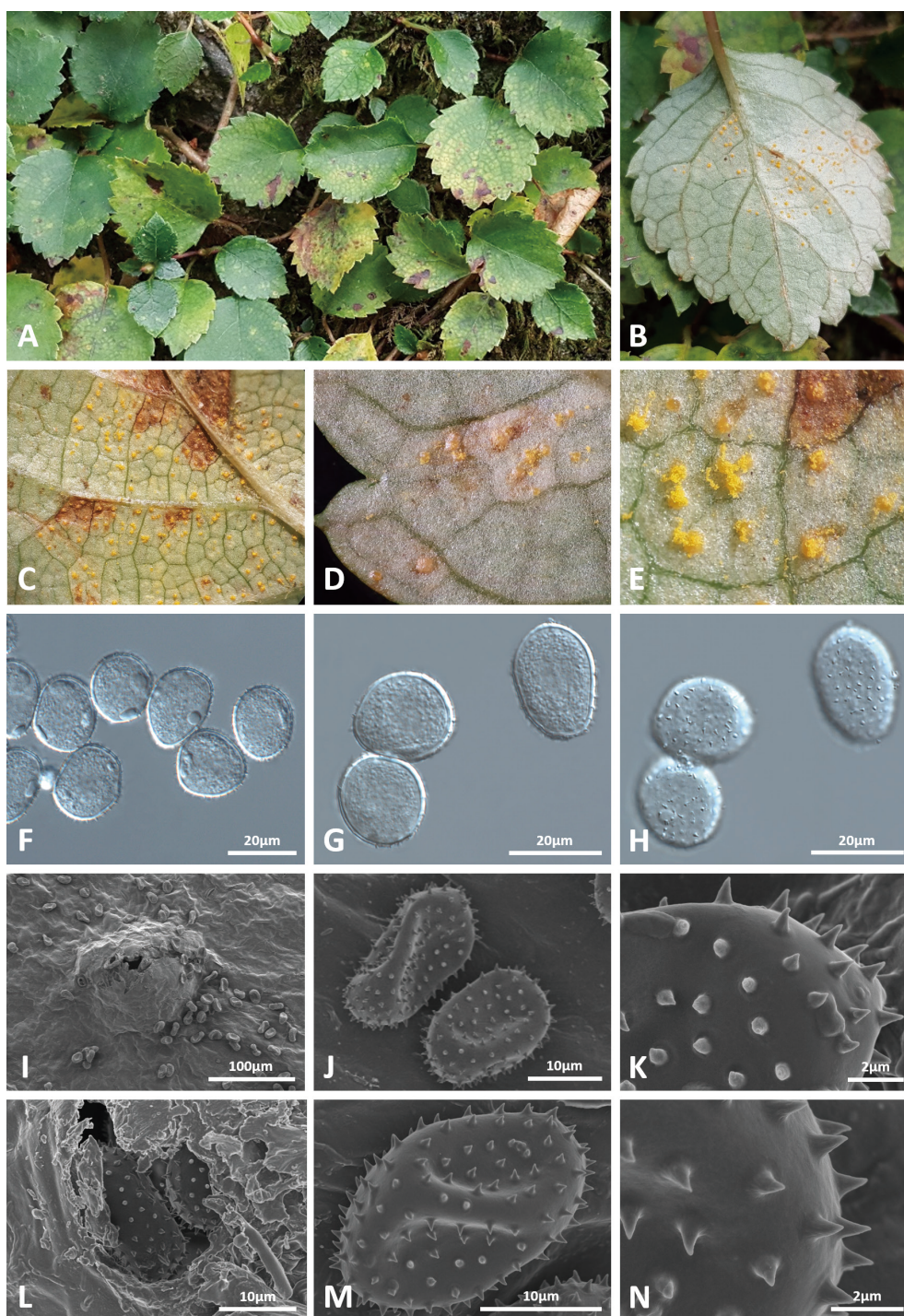
**Keywords:** Identification, Phylogeny, Pucciniastraceae, *Pucciniastrum hydrangeae*, SEM

등수국(*Hydrangea petiolaris* Siebold & Zucc.)은 수국과(*Hydrangeaceae*)에 속하는 식물로 한국이 원산지이며, 주로 울릉도, 제주도 등 남쪽 섬에 분포한다[1]. 등수국은 가지에서 기근이 발생하여 나무나 바위에 붙어 자라는 덩굴성 식물로 국외에서는 아이비, 담쟁이덩굴처럼 관상용 벽면 녹화소재로 많이 활용되고 있다[2]. 국내에서 등수국은 식물지리적으로 제한된 분포를 나타내며, 학술적, 생태학적으로 가치가 높아 식물구계학적 특정식물 III 등급 종으로 지정되었으나[3,4], 무분별한 채취로 자생지가 훼손되어 개체수가 감소하고 있는 실정이다[4].

지금까지 국내의 등수국에서 보고된 병해는 없으나, 해외의 경우 점무늬병균(*Ascochyta hydrangeae*, *Septoria hydrangeae*), 흰가루병균(*Erysiphe polygoni*, *E. schizophragmatis*), 탄저병균(*Glomerella cingulata*), 녹병균(*Pucciniastrum hydrangeae-petiolaris*) 등이 알려져 있다[5]. 전 세계적으로 *Hydrangea*속의 다양한 식물을 감염하는 녹병균은 두 종으로, 북미에서는 *P. hydrangeae*, 동아시아에서는 *P. hydrangeae-petiolaris*가 보고되었다[5-7]. 따라서, 한국의 등수국 녹병균이 어떤 종인지 확인이 필요하다. 이에 따라 본 연구진은 한국에서 유일하게 채집되어 고려대학교 식물표본보관소(KUS)에 보존된 등수국 녹병 시료(KUS-F30254, 채집일: 2017년 10월 24일, 채집장소: 제주시 조천읍 교래리, 33°23'04"N 126°37'22"E)를 대상으로 형태 및 분자계통분석을 수행하여 녹병균을 동정하였다.

건조표본에서 녹병균의 존재를 육안으로 확인하고, 해부현미경(M205C, Leica, Wetzlar, Germany)과 카메라(Dhyan 400DC, Tucsén, Fuzhou, China)를 이용하여 여름포자더미(uredinia)의 특징을 관찰 및 촬영하였다. 녹병균의 여름포자(urediniospore)의 형태적 특징을 파악하고 크기를 측정하기 위해 명시야광학현미경(BX53F; Olympus, Tokyo, Japan)을 사용하였으며, 광학현미경 사진은 미분간섭현미경(Axio Imager 2; Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)과 Axiocam 512 color 카메라(Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)를 이용하여 촬영하였다. 또한, 녹병균의 외부 형태와 미세구조는 주사전자현미경(SU8220; Hitachi, Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰 및 촬영하였다.

녹병이 발생한 잎은 병 초기에는 연한 연두색 또는 노란색, 후기에는 갈색으로 변한다(Fig. 1A). 여름포자더미는 대부분 잎 뒷면에 형성되었지만 드물게 어린 줄기에서도 발견되었으며, 대부분 군데군데 흩어져 있었다(Fig. 1B and 1C). 노란색 내지 주황색으로 다소 돌출되었으며, 원형 내지 타원형에 가까운 모양으로 직경은 대부분 150-300  $\mu\text{m}$  범주에 들지만 드물게 2-3개의 여름포자더미가 연결된 듯 400-600  $\mu\text{m}$  길이로 형성된 경우도 있었다(Fig. 1D-1F). 여름포자( $n=50$ )는 계란형 내지 타원형 또는 곤봉형이며, 크기는  $20-26 \times 15-20 \mu\text{m}$  (평균  $23.09 \times 17.9 \mu\text{m}$ )이며, 포자 벽의 두께는 0.8-1.5  $\mu\text{m}$ 였다(Fig. 1G-1I). 여름포자 표면에는 원뿔형의 미세한 돌기가 전체적으로 분포하였다(Fig. 1J-1N). 겨울포자(teliospore) 세대는 관찰되지 않았다. 이러한 형태적 특징은 일본의 등수국에서 보고된 *Pucciniastrum hydrangeae-petiolaris* Hirats.의 기록과 일치하였다[6].

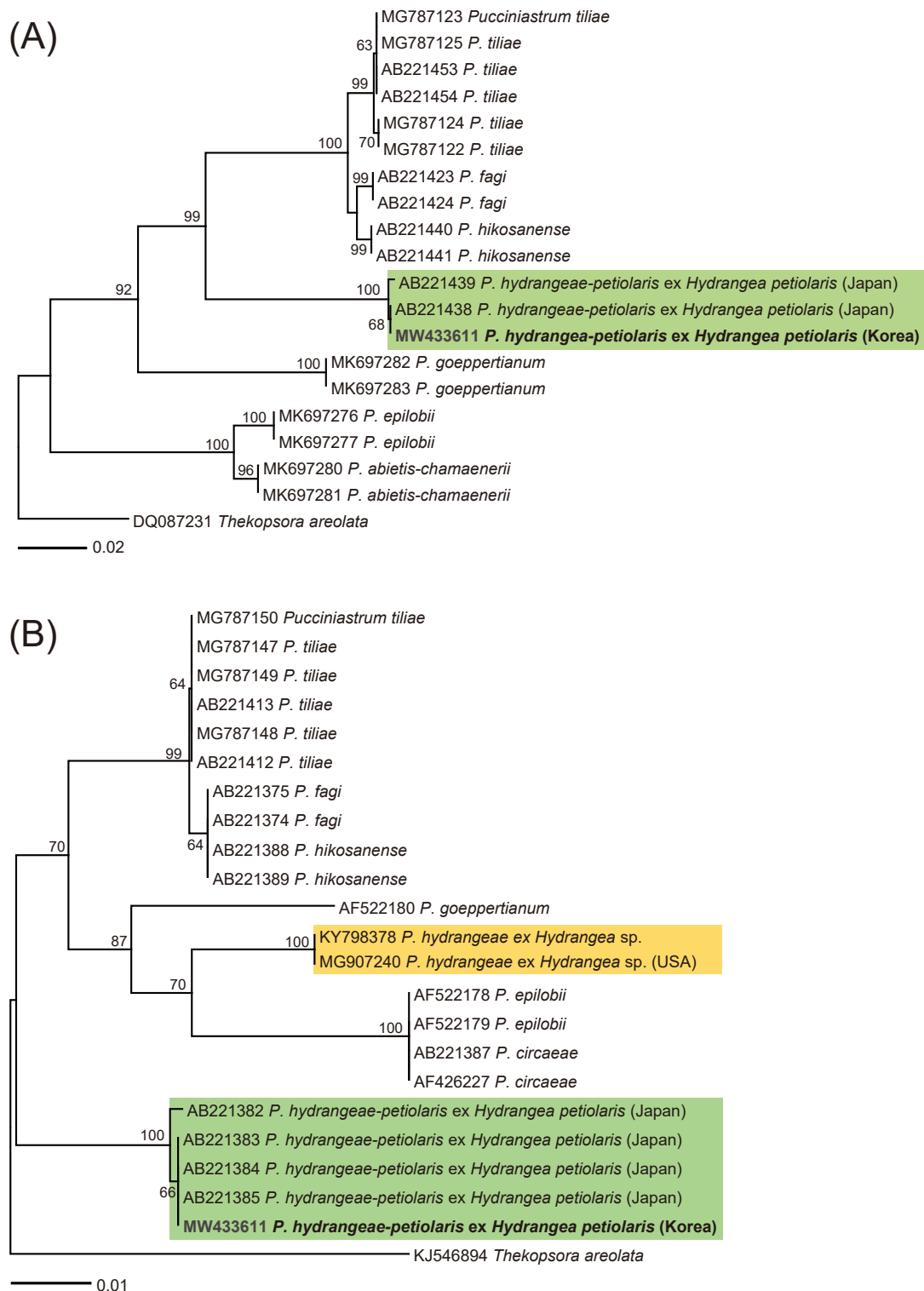


**Fig. 1.** *Pucciniastrum hydrangeae-petiolaris* occurring on *Hydrangea petiolaris*. A, symptoms appeared on the upper surface of affected leaves. B, uredinia formed on the lower surface of an affected leaf. C-E, close-up view of erumpent uredinia. F-H, urediniospores observed under a DIC microscope: Urediniospores focused on outline (F and G), urediniospores focused on ornamentation (H). I-N, uredinium (I and L), urediniospores (J and M), and wall ornamentation of urediniospores (K and N) observed under a scanning electron microscope (SEM).

등수국 녹병균의 동정 및 *Pucciniastrum* 종들과 관계를 확인하기 위해서, internal transcribed spacer (ITS) 및 large subunit (LSU) rDNA 영역의 염기서열을 활용한 분자계통학적 분석을 수행하였다. 건조시료에서 채취한 여름포자에서 genomic DNA를 추출하였고, ITS5-u [8]와 LR6 [9] 프라이머를 사용하여 ITS와 LSU 영역을 동시에 PCR 증폭하였다. PCR 조건은 95°C에서 4분(initial denaturation), 95°C에서 40초(denaturation), 56°C에서 1분(annealing), 72°C에서 1분 20초(elongation), 72°C에서 7분(final elongation)이며, denaturation에서 elongation단계까지 36회 반복하여 진행하였고, 증폭 산물의 길이는 약 1,800 bp이다. 증폭된 PCR 산물을 전기영동하여 확인한 후, AccuPrep® PCR/Gel DNA Purification Kit (Bioneer, Daejeon, Korea)를 이용하여 정제하여 마크로젠(MacroGen, Seoul, Korea)에 염기서열 분석을 의뢰하였다. 증폭산물의 길이를 고려하여 총 4개의 프라이머, ITS5-u, ITS4-rust [10], LRust1R [10], LR6로 염기서열분석을 진행하였다. 분석된 염기서열은 DNASTAR computer package 7.1 (Lasergene, Madison, WI, USA)를 이용하여 편집 및 정리하여 NCBI (National Center for Biotechnology Information)의 GenBank에 등록하였다(MW433611). BLASTn을 이용하여 GenBank에 등록된 염기서열과 비교한 결과, ITS 영역 부위의 염기서열은 GenBank에 등록된 일본의 등수국 녹병균 *P. hydrangeae-petiolaris*의 염기서열 AB221438, AB221439와 각각 99.6%, 99.5%의 높은 상동성을 보였다. 또한 LSU 영역 부위의 염기서열은 AB221383과 100% 일치하였다. 계통학적 분석은 MEGA 7.0 program [11]을 이용하여 minimum evolution 방법으로 ITS 및 LSU 영역의 염기서열에 대한 계통수를 각각 작성하였으며(Fig. 2), 염기서열의 유전적 거리는 Tamura-Nei model로 계산하였고, bootstrap 분석은 1,000 반복으로 수행하였다. ITS와 LSU 영역의 계통수(Fig. 2A and 2B)에서 한국의 등수국 녹병균 시료는 일본에서 등록한 등수국 녹병균 *P. hydrangeae-petiolaris*와 100% 신뢰도지수로 한 그룹을 형성하였다. 반면, *Hydrangea*속을 감염하는 다른 녹병균인 *P. hydrangeae*와는 상당히 먼 계통학적 관계를 확인하였다(Fig. 2A).

수국속(*Hydrangea*)은 층층나무목(Cornales) 수국과(*Hydrangeaceae*)에 속하는 식물로서 전 세계 50여종이 알려져 있다[12,13]. 국내에는 자생종인 성넬수국(*H. luteovenosa*), 등수국(*H. petiolaris*), 산수국(*H. serrata* f. *acuminata*), 꽃산수국(*H. serrata* f. *buergeri*), 떡잎산수국(*H. serrata* f. *coreana*), 탐라산수국(*H. serrata* f. *ferillis*)과 도입종인 미국수국(*H. arborescens*), 나무수국(*H. paniculata*), 수국(*H. macrophylla* f. *otaksa*) 등이 분포한다고 알려져 있다[14,15]. 우리나라에서 기록된 수국속의 녹병균으로는 산수국의 녹병균 *Puccinia glyceriae*가 있다. 본 연구를 통해 우리나라에서 발생하는 등수국 녹병을 처음으로 보고하고, 녹병균을 *Pucciniastrum hydrangeae-petiolaris*로 동정하였다.

본 연구를 통해 수국속을 감염하는 두 종의 녹병균, *Pucciniastrum hydrangeae*와 *P. hydrangeae-petiolaris* 사이에 상당한 계통학적 차이를 확인하였으며, 특히 등수국에서 *P. hydrangeae-petiolaris*의 확인은 일본과 러시아의 기록 이후로 처음이다. 추가적으로 동아시아 및 북미에서 다양한 수국속 식물을 감염하는 녹병균의 시료를 확보할 수 있다면, 녹병균(*Pucciniastrum*)-수국속(*Hydrangea*)의 진화적 관계를 밝히고, 녹병 관리를 위한 기초자료로서 활용가치가 높을 것으로 기대된다.



**Fig. 2.** Minimum evolution tree of *Pucciniastrum* species based on internal transcribed spacer (ITS) (A) and large subunit (LSU) (B) rDNA sequences. Bootstrapping support values higher than 60% are given above the branches. The two colored boxes represent the two *Pucciniastrum* species parasitic to *Hydrangea* species. The Korean specimen is indicated in bold. The scale bar equals the number of nucleotide substitutions per site.

## 적요

등수국은 수국과에 속하는 덩굴성 식물로 우리나라의 울릉도, 제주도, 남해안 섬에 분포한다. 2017년 10월 제주도에서 등수국에 발생하는 녹병균을 국내 최초로 발견하였다. 등수국 녹병균을 동정하기 위해, 형태적 특성을 조사하고 internal transcribed spacer (ITS) 및 28S large subunit (LSU) rDNA의 염기서열의 분자계통학적 분석을 수행하였다. 그 결과, 한국의 등수국 녹병균은 일본과 러시아에서 보고된 *Pucciniastrum hydrangeae-petiolaris*의 형태적 및 분자계통학적 특징과 일치하였으며, 북미에서 보고된 *P. hydrangeae*와는 상당히 먼 계통학적 관계를 보였다. 본 연구는 한국의 등수국에서 녹병균 *P. hydrangeae-petiolaris*의 첫 보고이다.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by a National Academy of Agricultural Science grant (PJ0149560112020) from the Rural Development Administration and the National Institute of Forest Science (FE0100-2018-01).

## REFERENCES

1. Lee TB. Coloured flora of Korea, Vol I, II. Seoul: Hayangmunsa; 2003.
2. Johnston J, Newton J. Building Green: A Guide to Using Plants on Roofs, Walls and Pavements. London: Greater London Authority, 2004.
3. Ku YB, Lim JW. Revision of the control list of indigenous/endemic species of Korea. Incheon: National Institute of Biological Resources; 2011.
4. Cho JS, Jeong JH, Kim SY, Lee JY, Lee CH. Several factors affecting seed germination of *Hydrangea petiolaris* Siebold & Zucc. Korean J Plant Res 2014;27:534-9.
5. Fungal databases. U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA [Internet]. Washington DC: Fungal databases; 2020 [2020 Dec 21]. Available from <https://nt.ars-grin.gov/fungaldbases/>
6. Hiratsuka N. Studies on the Melampsoraceae of Japan. J Fac Agri Hokkaido Imp Univ 1927;21:1-40.
7. Liang Y-M, Tian C-M, Kakishima M. Phylogenetic relationships on 14 morphologically similar species of *Pucciniastrum* in Japan based on rDNA sequence data. Mycoscience 2006;47:137-44.
8. Pfunder M, Schürch S, Roy BA. Sequence variation and geographic distribution of pseudoflower-forming rust fungi (*Uromyces pisi* s. lat.) on *Euphorbia cyparissias*. Mycol Res 2001;105:57-66.
9. Vilgalys R, Hester M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. J Bacteriol 1990;172:4238-46.
10. Beenken L, Zoller S, Berndt R. Rust fungi on Annonaceae II: The genus *Dasyscypha* Berk. & MA Curtis. Mycologia 2012;104:659-81.
11. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Mol Biol Evol 2016;33:1870-4.
12. McClintock E. A monograph of the genus *Hydrangea*. Proc Calif Acad Sci 1957;29:147-256.

13. World Flora Online. An Online Flora of All Known Plants [Internet]. St Louis: World Flora Online; 2020 [2020 Dec 21]. Available from <http://www.worldfloraonline.org/>.
14. Kim HS, Park KT, Park SJ. Molecular phylogenetic study of Korean *Hydrangea* L. Korean J Plant Res 2016;29:407-18.
15. Chang KS, Son DC, Lee DH, Choi K, Oh SH. Checklist of vascular plants in Korea. Pocheon: Korea National Arboretum; 2017.