핵과류 잿빛무늬병을 일으키는 *Monilinia fructicola* 병해 특성

Characteristics of Brown Rot Caused by *Monilinia fructicola* on Stone Fruit in Korea

오훈탁^{1,2} · 최인영^{1*} · 김주¹ · 나영은¹ · 이왕휴² · 이귀재³ · 신현동⁴

¹전라북도농업기술원, ²전북대학교 농생물학과, ³전북대학교 환경생명자원대학, ⁴고려대학교 환경생태공학부

Hun-Tak Oh^{1,2}, In-Young Choi^{1*}, Ju Kim¹, Young-Eun Na¹, Wang-Hyu Lee²,
Kui-Jae Lee³, and Hyeon-Dong Shin⁴

¹Jeollabuk-do Agricultural Research and Extension Services, Iksan 54591, Korea

²Department of Agricultural Biology, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

³Division of Biotechnology, College of Environmental and Bioresource Sciences, Chonbuk National University, Iksan 54596, Korea

⁴Division of Environmental Science and Ecological Engineering, Korea University, Seoul 02841, Korea

*Corresponding author

Tel: +82-63-290-6182

Fax: +82-63-290-6198

E-mail: choiy21@korea.kr

In June and July 2015 and 2017, typical signs and symptoms of brown rot were observed on the fruit of Japanese apricot, peach, apricot, Japanese plum, and sweet cherry with incidence levels of 2–5% in Jeonju and Imsil, Korea. Early symptoms were small, circular, light brown spots that eventually destroyed entire fruit. Small sporodochia later appeared on the surface. Conidia isolated from each host were one-celled, hyaline, lemon-shaped and borne in branched monilioid chains. The optimal temperature range for hyphal growth of all the isolates was 20–25°C. The growth of hyphae was faster on potato dextrose agar and oatmeal agar than others. Multiple alignments using the ITS sequences from different host showed that they matched each other (100%). The ITS sequences showed 100% identity to those of *M. fructicola*. Based on the morphological characteristics and phylogenetic analysis via internal transcribed spacer (ITS), all the isolate was identified as *M. fructicola*. Pathogenicity of representative isolates was proved by artificial inoculation, fulfilling Koch's postulates. This is the first confirmed report on brown rot caused by *M. fructicola* on stone fruit in Korea.

Keywords: Brown rot, *Monilinia fructicola*, Stone fruit

Received August 7, 2017

Revised September 10, 2017

Accepted September 10, 2017

서론

핵과류는 리그닌화된 내과피(핵), 다육질로 수분이 많은 중과피(과육), 얇고 연약한 외과피를 갖는 것이 특징으로 매실 [*Prunus mume* Siebold & Zucc.], 복숭아 [*P. persica* (L.) Batsch],

살구 [*P. ameniaca* var. *ansu* Maxim.], 자두 [*P. salicina* Lindl.], 체리 [*P. avium* (L.) L.] 등이 이에 속한다. 매실, 복숭아, 살구 및 자두는 중국이나 동북아시아를 원산지로 하며, 체리는 유럽 동부와 아시아 서부가 원산지이다. 수확기는 매실 5–6월, 복숭아 6–7월, 살구 7월경, 자두 6–7월 및 체리 5–7월경으로 대부분 6월을 전후로 과실이 익는 비슷한 수확기를 가지고 있다(Rural Development Administration, 2007). 또한, 핵과류는 꾸준히 생산량과 소비량이 증가하고 있어 중요한 작목으로 주목받

Research in Plant Disease

pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

www.online-rpd.org

고 있는데, 매실은 2000년 1,114 ha에서 2015년에는 12,082 ha로 10배 정도 재배 면적이 확대되었다(Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, 2017). 또한, 체리의 경우 통계화된 1998년 41 ton의 수입량을 시작으로, 2008년에는 3,383 ton으로 수입량이 기하급수적으로 증가하였다(Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, 2010). 즉 핵과류는 국내 재배지 확대와 과실 수입량의 증가 추세를 고려한다면, 그 중요성이 꾸준히 커지고 있는 작목이다.

국내에서 핵과류에 발생하는 주요 진균병으로는 *Alternaria* sp., *Botrytis cinerea* (gray mold), *Cercospora circumscissa* (leaf spot), *Cladosporium carpophilum* (scab), *Colletotrichum* spp. (anthracnose), *Monilinia fructicola* (brown rot), *Phomopsis vexans* (brown rot), *Phyllosticta circumscissa* (leaf spot), *Podosphaera tridactyla* (powdery mildew), *Septoria cerasina* (leaf spot), *Taphrina mume* (leaf curl) 등이 기주에 따라 보고되었다(The Korean Society of Plant Pathology, 2009). 특히, *Monilinia*속 균에 의한 잣빛무늬병은 꽃과 잎에도 발생하지만, 수확 전·후 저장 및 수송 중에도 발생하여 경제적으로 큰 피해를 일으키므로 핵과류에 있어서 중요한 병이다(Rural Development Administration, 2008). 또한, *Monilinia*균은 매실, 복숭아, 배, 사과, 살구, 자두, 매실, 체리 등 여러 과수류에 잣빛무늬병을 일으키는 병원균으로 전세계적으로 *M. fructicola* (G. Winter) Honey, *M. fructigena* (Aderhold & Ruhland) Honey, *M. laxa* (Aderhold & Ruhland) Honey 등이 주로 알려져 있다(Choi 등, 2016). 그 중 *M. fructicola*는 미국, 호주, 뉴질랜드와 일부 유럽과 일본에, 그리고 *M. fructigena*는 유럽과 일본, *M. laxa*는 유럽, 미국, 호주, 일본에 분포하는 것으로 보고되었다(Fulton과 Brown, 1997; Hu 등, 2011; Shim 등, 2007). 또한, *M. fructicola*와 *M. laxa*는 꽃을 감염하여 꽃시들음병(blossom blight)을 일으키고, 건전한 과실 및 상처가 있는 과실에는 brown rot을 일으킨다. 반면에 *M. fructigena*는 상처가 생긴 과실에만 병을 일으키는 것으로 보고되었다(Rungjindamai 등, 2014). 국내의 경우, *M. fructicola*는 매실, 복숭아, 살구, 자두, 체리, 아몬드 등에 보고되었고, *M. fructigena*는 배와 사과에 보고되었다(The Korean Society of Plant Pathology, 2009). 그러나 *M. fructicola*에 의한 잣빛무늬병은 국내에 발간된 병해도감에서 병원균을 소개하는 수준에 불과하며, 최근에 아몬드(Shim 등, 2007), 체리(Choi 등, 2014), 살구(Choi 등, 2016)를 기주로 하는 연구가 일부 수행된 실정이다.

따라서 가파르게 소비가 증가하고 있는 핵과류의 생산량과 수입량 추이를 고려한다면, 안정적인 생산과 유통을 위한 병원균의 국내 발생 정보와 병원균에 대한 깊이 있는 연구가 요구된

다. 본 연구에서는 핵과류인 매실, 복숭아, 살구, 자두 및 체리에 발생하는 잣빛무늬병의 병징, 균학적 특징, 병원성 검정 및 염기서열 분석 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

병해 발생 조사. 2015년과 2017년 6–7월에 전라북도의 매실, 복숭아, 살구, 자두 및 체리 농가에서 발생하는 잣빛무늬병을 조사하였다. 조사지역은 전주와 임실에서 작목당 3개 포장을 선정하였으며, 발병률은 발병과율로 산정하였다.

병원균의 분리 및 배양적 특성. 병원균의 단포자를 분리하기 위하여 발병포장에서 이병과를 채집하여 실험실에서 분생포자 덩어리를 떼어내어 멸균수가 들어있는 1.5 ml eppendorf 튜브에 넣고, 30초 동안 교반하였다. 루프를 이용하여 분생포자가 들어있는 멸균수를 감자한천배지(Difco, MD, USA)에 도말하였다. 병원균은 3일 동안 암배양하였으며, 단포자에서 자라 나온 균사의 끝부분을 떼어 감자한천배지에 옮긴 후 25°C 항온기에서 7일 동안 다시 배양한 후 병원균의 균학적 특성을 조사하였다. 핵과류 작목별로 수집된 병원균 시료는 고려대학교 표본실(Korea University Herbarium, KUS)에 보존하였으며, 대표균주는 농업유전자원정보센터(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)에 기탁하고, 병원성 검정, 균학적 특성 관찰, 염기서열 분석 등에 사용하였다(Table 1).

병원균의 배양적 특성에 대해서는 핵과류 작목별 대표균주를 이용하여 배양온도별 균사생장과 배지종류별 균사생장을 조사하였다. 배양온도는 PDA배지에서 4°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C로 설정하여 암배양 한 7일 후에 균총의 크기를 측정하였다. 배지종류는 PDA (Potato dextrose agar), OA (Oatmeal agar), CMA (Corn meal agar), WA (Water agar), RBA (Rose Bengal agar)를 사용하여 25°C 암조건에서 배양한 7일 후에 균총의 크기를 측정하였다. 접종원으로부터 수직 방향으로 4부분의 반지름을 측정하였고, 최소값은 1 mm, 최대값은 배지의 크기를 고려하여 35 mm로 설정하였다.

병원성 검정. 접종원은 핵과류에서 분리한 대표균주를 사용하였으며, 감자한천배지에서 7일 동안 배양한 후 멸균수를 넣고 칼(scalpel)로 포자를 긁어내어 $1-3 \times 10^5$ conidia/ml의 포자현탁액으로 준비하였다. 병원성 검정은 건전한 과실 5개 위에 포자현탁액을 분무하였으며, 대조과는 멸균수를 분무하였다. 접종과와 대조과를 밀폐된 플라스틱 상자에 넣고 상자 안쪽 표면에 멸균수를 분무하여 상대습도를 100% 유지하였으며,

Table 1. Summary of *Monilinia fructicola* isolates investigated in this study

Host plant/isolation source	Geographic origin	Date	Incidence of brown rot (%)	Herbarium voucher	ITS GenBank Acc. No.
Japanese apricot [<i>Prunus mume</i>]	Imsil, Korea	Jun. 2015	<2.0	KACC47998	KU513384
	Imsil, Korea	Jul. 2015		JBARES-F33	MF597787
Peach [<i>P. persica</i>]	Imsil, Korea	Jul. 2015	<3.0	KACC47999	KU513385
	Jeonju, Korea	Jul. 2015		JBARES-F35	MF597789
Apricot [<i>P. ameniaca</i> var. <i>ansu</i>]	Jeonju, Korea	Jun. 2015	<5.0	KACC48000	KU513386
	Jeonju, Korea	Jun. 2015		JBARES-F37	MF597788
Japanese plum [<i>P. salicina</i>]	Imsil, Korea	Jun. 2015	<2.0	JBARES-F41	MF591580
	Jeonju, Korea	Jul. 2017		JBARES-F40	MF597786
Sweet cherry [<i>P. avium</i>]	Jeonju, Korea	Jun. 2015	<4.0	KACC48001	MF597791
	Jeonju, Korea	Jun. 2017		JBARES-F39	MF597790

25°C의 인큐베이터에 보관하였다.

결 과

병원균의 형태적 특징 및 염기서열 분석. 핵과류에서 분리한 대표 균주를 감자한천배지에 7일 동안 배양하여 Stereo 현미경(SteREO Discovery. V8, Zeiss, Munich, Germany)과 DIC (differential interference contrast) 모듈이 장착된 광학현미경(AXIO, Zeiss)으로 200–1,000배에서 균의 형태적 특징을 관찰하였다. 단포자의 형태와 크기($n=30$) 등은 AxioVision LE Module Interactive Measurement (Zeiss) 프로그램을 이용하여 측정하였다.

형태적 특징을 기초로 한 병원균의 동정을 뒷받침하고자 염기서열 분석을 실시하였다. 핵과류에서 분리한 대표 균주를 감자한천배지에서 7일 동안 배양한 후 ribosomal DNA (rDNA)의 internal transcribed spacer (ITS) 영역의 염기서열을 분석하였다. Genomic DNA는 DNeasy Plant Mini kit (QIAGEN, Valencia, Canada)를 이용하여 추출하였고, ITS1/ITS4 primer를 이용하여 PCR로 증폭하였다(White 등, 1990). 증폭시킨 PCR 산물은 염기서열 분석에 사용하였다. 염기서열은 autosequencer (ABI 3030)로 분석하였으며, 최종 획득한 염기서열들은 GenBank database (National Centre for Biotechnology Information [NCBI] US National Institute of Health Bethesda, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)에서 확인하였다. 계통수 분석을 위해 GenBank 데이터베이스의 ITS 염기서열들을 이용하였으며, 계통수는 MEGA 6.0 프로그램을 통해 neighbor-joining 방법으로 작성하였다. Sequence distance는 Tajima-Nei parameter model로 계산하였다(Saitou와 Nei, 1987; Tamura 등, 2013). 또한, *Botrytis cinerea* (GenBank accession No. KX229751)를 out-group으로 사용하였다.

[매실 잣빛무늬병]

국내에서는 한국식물병명목록(2009)에 *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey에 의한 병으로 기록되어 있다. 국외에서는 *M. fructicola* (Japan), *M. kusanoi* (Japan), *M. laxa* (China, Japan), *M. mume* (Japan) 등이 병원균으로 기록되어 있다(Farr와 Rossman, 2017).

발병 및 병징. 2015년 6월과 7월에 임실(35°38'10"N; 127°19'02"E)에서 발병되었으며, 발병과율은 <2.0%이었다(Table 1). 발생초기 과실 표면에 작은 갈색 반점이 생기고, 병이 진전됨에 따라 반점이 점차 수침상으로 확대되었다(Fig. 1A). 시간이 더 지나면 갈변된 수침상의 병반 위에 백색의 포자 덩어리가 밀생하였으며, 하얀 곰팡이가 눈꽃처럼 피어나고, 과실 전체가 부패하였다(Fig. 1B). 또한, 온도와 상대습도가 높은 장마철에는 과실이 매달려 있는 상태로 부패가 심하였으며, 시간이 경과하면 과실이 떨어졌다. 특히, 수확기에 과실이 익어가면서 잣빛무늬병이 더욱 심하였다.

배양적 특성. 균사생장 적온은 20–25°C이며, 균사생장이 가능한 온도는 10–30°C이었다. 4°C와 30°C에서는 균사생육이 억제되었다. 균사생장에 적합한 배지는 OA와 PDA이며, WA, RBA, CMA에서는 균사생장이 느렸다. 균총은 흰색-회색, 평편(flat)/확산형(effuse), 열편형(lobate)으로 중앙부분부터 무수히 많은 분생포자가 형성되었다(Table 2, Fig. 1E).

병원성 검정. 균을 접종한 지 4일 후에 포장에서와 같은 전

Fig. 1. Brown rot caused by *Monilinia fructicola* on Japanese apricot. (A) Occurrence of brown rot in a farm in June 2015, (B) A brown rotted fruit covered with the grayish spore mass, sporodochia, (C, D) Monilioid chains and lemon shaped conidia, (E) Five-day-old colony of *M. fructicola* on PDA.

형적인 잣빛무늬병 증상이 나타나기 시작하였으며, 열매가 한 쪽에서부터 부패되기 시작하여 6일째에는 전체로 확산되었고, 흰색의 분생포자 덩어리가 형성되었다. 대조구에서는 병징이 나타나지 않았다.

균학적 특성. 분생포자는 분지된 엽주상으로 사슬모양(monilioid chains)을 나타냈으며(Fig. 1C), 단생, 투명하고, 난형-레몬형으로 크기는 $13.9\text{--}18.3 \times 8.1\text{--}10.9\ \mu\text{m}$ 이었다(Table 2, Fig. 1D).

염기서열 분석. KACC47998과 JBARES-F33 균주의 ITS sequence 크기는 499 bp로 NCBI GenBank 등록번호는 각각 KU513384, MF597787이다. NCBI Blast search 결과 *M. fructicola*로 등록된 GenBank accession number KC544809, JN176564, FJ515894, KM279616 등과 100% 일치하였다. 또한, 계통수 작성 결과 매실 잣빛무늬병 균주들은 *M. fructicola*와 같은 계통군에 속하였다(Table 1, Fig. 6).

고찰. 한국에서 분리된 매실 잣빛무늬병 병원균은 형태적

특징, 병원성 검정, 유전자 분석을 기초로 *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey로 동정하였다(Pellegrino 등, 2009). 이와 같은 결과는 일본에서 기록된 *M. fructicola*의 특징과 일치하였다. 그러나 *M. kusanoi*, *M. laxa*, *M. mume* 등은 발생하지 않았다(Farr와 Rossman, 2017). 본 연구 결과는 한국식물병명목록(2009)에 병명만 기록된 이 병에 대해 자세히 보완하는 자료이다.

[복숭아 잣빛무늬병]

국내에서는 한국식물병명목록(2009)에 *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey에 의한 병으로 기록되어 있다. 국외에서는 *M. fructicola* (Australia, Brazil, Canada, China, Croatia, Czech Republic, Ecuador, Greece, Hungary, Japan, Mexico, New Zealand, Norway, Slovenia, South Africa, Spain, Tasmania, United States, Venezuela), *M. fructigena* (Bulgaria, China, Cuba, Croatia, France, Hungary, Italy, Sicily, Netherlands, Spain), *M. laxa* (Australia, Brazil, Bulgaria, Chile, China, Croatia, Greece, Hungary, Iraq, Italy, Sicily, New Zealand, Norway, Serbia, Slovenia, South Africa, Spain, United States), *M.*

Table 2. Comparison of morphological and cultural characteristics between the present isolates obtained from infected stone fruit and *Monilinia fructicola* species described previously

Characters	Present isolates ^a					<i>M. fructicola</i> ^b
	KACC47998	KACC47999	KACC48000	JBARES-F41	KACC48001	
Conidia size (μm)	13.9–18.3×8.1–10.9	15.0–18.7×9.1–11.8	14.6–18.0×8.5–11.0	14.0–17.5×8.2–10.3	14.8–17.4×8.3–11.7	14.5–16.0×9.5–11.0
Conidia type	Monilioid chains	Monilioid chains	Monilioid chains	Monilioid chains	Monilioid chains	Monilioid chains
Sporulation	Abundant	Abundant	Abundant	Abundant	Abundant	Abundant
Colony morphology	Flat/Effuse Lobate	Flat/Effuse Lobate	Flat/Effuse Lobate	Raised Lobate	Flat/Effuse Lobate	Flat/Effuse Lobate

^aAll structures were investigated on PDA plates incubated at 25°C for 7 days.

^b*Monilinia fructicola* species described by EPPO/CABI (2010).

Fig. 2. Brown rot caused by *Monilinia fructicola* on peach. (A) Occurrence of brown rot in a farm in July 2015, (B) A brown rotted fruit covered with the grayish spore mass, sporodochia, (C, D) Monilioid chains and lemon shaped conidia, (E) Five-day-old colony of *M. fructicola* on PDA.

polystroma (Italy, Japan, Slovenia), *M. seaveri* (United States), *Monilinia* sp. (Brazil) 등이 기록되어 있다(Farr와 Rossman, 2017).

발병 및 병징. 2015년 7월에 임실(35°38'10"N; 127°19'02"E)과 전주(35°51'51"N; 127°02'49"E)에서 발병되었으며, 발병과율은 <3.0%이었다(Table 1). 과실에 작은 갈색 반점이 생기기 시

작하여 점차 확대되고, 이병부와 건전부에 경계가 생겼다(Fig. 2A). 시간이 더 지나면 갈변된 병반 위에 백색의 포자 덩어리가 밀생하여 눈꽃처럼 피어났다(Fig. 2B). 특히, 수확기에 과실이 익어가면서 잿빛무늬병이 더욱 심하였으며, 병든 과실은 낙과 하였다.

배양적 특성. 균사생장 적온은 20–25°C이며, 균사생장이

가능한 온도는 10–25°C이었다. 4°C와 30°C에서는 균사생육이 억제되었다. 균사생장에 적합한 배지는 OA와 PDA이며, WA, RBA, CMA에서는 균사생장이 느렸다. 균충은 흰색-회색, 평편(flat)/확산형(effuse), 열편형(lobate)으로 중앙 부분부터 밀가루를 뿌린 것처럼 무수히 많은 분생포자가 형성되었다(Table 2, Fig. 2E).

병원성 검정. 균을 접종한 지 4일 후에 포장에서와 같은 전형적인 잣빛무늬병 증상이 나타났으며, 5일째에는 전체로 확산되어 부패하였고, 흰색의 분생포자 덩어리가 형성되었다. 대조구에서는 병징이 나타나지 않았다.

균학적 특성. 분생포자는 분지된 엽주상으로 사슬모양(monilioid chains)을 나타냈으며(Fig. 2C), 단생, 투명하고, 난형-레몬형으로 크기는 15.0–18.7×9.1–11.8 µm이었다(Table 2, Fig. 2D).

염기서열 분석. KACC47999과 JBARES-F35 균주의 ITS sequence 크기는 499 bp로 NCBI GenBank 등록번호는 각각 KU513385, MF597789이다. NCBI Blast search 결과 *M. fructicola*로 등록된 GenBank accession number KC544809, JN176564, FJ515894, KM279616 등과 100% 일치하였다. 또한, 계통수 작성 결과 복숭아 잣빛무늬병 균주들은 *M. fructicola*와 같은 계통군에 속하였다(Table 1, Fig. 6).

고찰. 한국에서 분리된 복숭아 잣빛무늬병 병원균은 형태적 특징, 병원성 검정, 유전자분석을 기초로 *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey로 동정하였다(Pellegrino 등, 2009). 이와 같은 결과는 세계적으로 보고된 *M. fructicola*의 특징과 일치하였다. 그러나 *M. fructigena*, *M. laxa*, *M. polystroma*, *M. seaveri* 등은 발생하지 않았다(Farr와 Rossman, 2017). 본 연구 결과는 한국식물병명목록(2009)에 병명만 기록된 이 병에 대해 자세히 보완하는 자료이다.

Fig. 3. Brown rot caused by *Monilinia fructicola* on Apricot, (A) Occurrence of brown rot in a farm in June 2015. The fruit was infected, dark black mummified the whole fruit, (B) A brown rotted fruit covered with the grayish spore mass, sporodochia, (C, D) Monilioid chains and lemon shaped conidia, (E) Five-day-old colony of *M. fructicola* on PDA.

[살구 잿빛무늬병]

국내에서는 Research in Plant Disease (Choi 등, 2016)에 *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey에 의해 발생하는 것으로 기록되어 있다. 국외에서는 이에 대한 기록이 없다(Farr와 Rossman, 2017).

발병 및 병징. 2015년 6월에 전주(35°52'18"N; 127°06'49"E)에서 발병되었으며, 발병과율은 <5.0%이었다(Table 1). 병징은 꽃과 과실에 발생하였다. 발생초기 과실의 표면에 작은 갈색 반점이 생기고, 병이 진전됨에 따라 점차 수침상으로 확대되었다(Fig. 3A). 또한, 비가 많이 내리는 장마철에는 그대로 부패하여 과실이 떨어졌으나, 건조한 환경에서는 미라 과실이 되어 떨어지지 않고 가지에 남아 있었다(Fig. 3A). 병에 감염된 과실은 갈변된 원형의 병반 위에 백색의 포자 덩어리가 밀생하여 과실 전체가 부패하였다(Fig. 3B).

배양적 특성. 균사생장 적온은 25°C이며, 균사생장이 가능한 온도는 10–25°C이었다. 4°C와 30°C에서는 균사생육이 억제되었다. 균사생장에 적합한 배지는 OA와 PDA이며, WA, RBA,

CMA에서는 균사생장이 매우 느렸다. 균충은 흰색-회색, 평편(flat)/확산형(effuse), 열편형(lobate)으로 중앙 부분부터 밀가루를 뿌린 것처럼 무수히 많은 분생포자가 형성되었다(Table 2, Fig. 3E).

병원성 검정. 균을 접종한 지 3일 후에 포장에서와 같은 전형적인 잿빛무늬병 증상이 나타났으며, 열매가 한쪽에서부터 갈변되기 시작하여, 5일째에는 전체로 확산되었고, 흰색의 분생포자 덩어리가 형성되었다. 대조구에서는 병징이 나타나지 않았다.

균학적 특성. 분생포자는 분지된 엷주상으로 사슬모양(monilioid chains)을 나타냈으며(Fig. 3C), 단생, 투명하고, 난형-레몬형으로 크기는 14.6–18.0×8.5–11.0 μm이었다(Table 2, Fig. 3D).

염기서열 분석. KACC48000과 JBARES-F37 균주의 ITS sequence 크기는 499 bp로 NCBI GenBank 등록번호는 각각 KU513386, MF597788이다. NCBI Blast search 결과 *M. fructicola*

Fig. 4. Brown rot caused by *Monilinia fructicola* on Japanese plum. (A) Occurrence of brown rot in a farm in July 2017, (B) A brown rotted fruit covered with the grayish spore mass, sporodochia, (C, D) Monilioid chains and lemon shaped conidia, (E) Five-day-old colony of *M. fructicola* on PDA.

로 등록된 GenBank accession number KC544809, JN176564, FJ515894, KM279616 등과 100% 일치하였다. 또한, 계통수 작성 결과 살구 잣빛무늬병 균주들은 *M. fructicola*와 같은 계통군에 속하였다(Table 1, Fig. 6).

고찰. 한국에서 분리된 살구 잣빛무늬병 병원균은 형태적 특징, 병원성 검정, 유전자분석을 기초로 *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey로 동정하였다(Pellegrino 등, 2009). 본 연구 결과는 Choi 등(2016)이 보고한 내용을 재정리하고, 일부 보완한 자료이다.

[자두 잣빛무늬병]

국내에서는 한국식물병명목록(2009)에 *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey에 의한 병으로 기록되어 있다. 국외에서는 *M. fructicola* (Australia, Brazil, Chile, China, Japan, New Zealand, Spain, United States), *M. fructigena* (China), *M. laxa* (China, Japan, South Africa, United States) 등이 기록되어 있다(Farr와 Rossman, 2017).

발병 및 병징. 2015년 6월에 임실(35°35'18"N; 127°18'43"E)과 2017년 7월에 전주(35°52'42"N; 127°06'39"E)에서 발병되었으며, 발병과율은 <2.0%이었다(Table 1). 과실이 잘 익은 부위에서 작은 반점이 형성되기 시작하여 점차 수침상으로 확대되고, 병반 위에 백색의 포자 덩어리가 밀생하여 눈꽃처럼 피어났다(Fig. 4A, 4B). 특히, 수확기에 과실이 익어가면서 잣빛무늬병이 더욱 심하였으며, 병든 과실은 낙과하였다.

배양적 특성. 균사생장 적온은 20–25°C이며, 균사생장이 가능한 온도는 10–25°C이었다. 4°C와 30°C에서는 균사가 생육되지 않았다. 균사생장에 적합한 배지는 OA와 PDA이며, WA, RBA, CMA에서는 균사생장이 매우 느렸다. 균충은 흰색-회색, 융기형(raised), 열편형(lobate)으로 중앙부분부터 무수히 많은 분생포자가 형성되었다(Table 2, Fig. 4E).

병원성 검정. 균을 접종한 지 3일 후에 포장에서와 같은 전형적인 잣빛무늬병 증상이 나타났으며, 4일째에는 전체로 확산되어 부패하였고, 흰색의 분생포자 덩어리가 형성되었다. 대조구에서는 병징이 나타나지 않았다.

균학적 특성. 분생포자는 분지된 엽상상으로 사슬모양(monilioid chains)을 나타냈으며(Fig. 4C), 단생, 투명하고, 난형-레몬형으로 크기는 14.0–17.5×8.2–10.3 μm이었다(Table 2,

Fig. 4D).

염기서열 분석. JBARES-F40과 JBARES-F41 균주의 ITS sequence 크기는 499 bp로 NCBI GenBank 등록번호는 각각 MF597786, MF591580이다. NCBI Blast search 결과 *M. fructicola*로 등록된 GenBank accession number KC544809, JN176564, FJ515894, KM279616 등과 100% 일치하였다. 또한, 계통수 작성 결과 자두 잣빛무늬병 균주들은 *M. fructicola*와 같은 계통군에 속하였다(Table 1, Fig. 6).

고찰. 한국에서 분리된 자두 잣빛무늬병 병원균은 형태적 특징, 병원성 검정, 유전자분석을 기초로 *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey로 동정하였다(Pellegrino 등, 2009). 이와 같은 결과는 세계적으로 보고된 *M. fructicola*의 특징과 일치하였다. 그러나 *M. fructigena*, *M. laxa* 등은 발생하지 않았다(Farr와 Rossman, 2017). 본 연구 결과는 한국식물병명목록(2009)에 병명만 기록된 이 병에 대해 자세히 보완하는 자료이다.

[체리 잣빛무늬병]

국내에서는 한국균학회지(Choi 등, 2014)에 *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey에 의한 병으로 기록되어 있다. 국외에서는 *M. fructicola* (Australia, Canada, China, Greece, Japan, Maryland, United States), *M. fructigena* (Bulgaria, Serbia), *M. kusanoi* (Japan), *M. laxa* (Australia, Bulgaria, Canada, Greece, Japan, Norway, Serbia, Slovenia, United States), *Monilinia* sp. (Japan) 등이 기록되어 있다(Farr와 Rossman, 2017).

발병 및 병징. 2015년과 2017년 6월에 전주(35°52'42"N; 127°06'39"E)에서 발생하였으며, 발병과율은 <4.0%이었다(Table 1). 병징은 잎과 과실에서 발생하였다. 잎에서는 엽맥을 따라 갈변되어 퍼져 나갔으며, 과실에서는 갈색의 수침상 원형 병반이 확대되고, 병반 위에 백색의 포자 덩어리가 밀생하여 부패하였다(Fig. 5A). 감염된 과실은 주글주글하고 검게 말라 땅에 떨어지거나 가지에 붙어 있었다(Fig. 5B).

배양적 특성. 균사생장 적온은 20–25°C이며, 균사생장이 가능한 온도는 10–25°C이었다. 4°C와 30°C에서는 균사가 생육되지 않았다. 균사생장에 적합한 배지는 OA와 PDA이며, WA, RBA, CMA에서는 균사생장이 매우 느렸다. 균충은 흰색-회색, 평편(flat)/확산형(effuse), 열편형(lobate)으로 중앙 부분부터 밀가루를 뿌린 것처럼 무수히 많은 분생포자가 형성되었다(Table 2, Fig. 5E).

Fig. 5. Brown rot caused by *Monilinia fructicola* on sweet cherry. (A) Occurrence of brown rot in a farm in June 2017, (B) A brown rotted fruit covered with the grayish spore mass, sporodochia, (C, D) Monilioid chains and lemon shaped conidia, (E) Five-day-old colony of *M. fructicola* on PDA.

병원성 검정. 균을 접종한 지 5일 후에 포장에서와 같은 전형적인 잣빛무늬병 증상이 나타났으며, 7일째에는 전체로 확산되어 부패하였고, 흰색의 분생포자 덩어리가 형성되었다. 대조구에서는 병징이 나타나지 않았다.

균학적 특성. 분생포자는 분지된 엮주상으로 사슬모양(monilioid chains)을 나타냈으며(Fig. 5C), 단생, 투명하고, 난형-레몬형으로 크기는 $14.8\text{--}17.4 \times 8.3\text{--}11.7\ \mu\text{m}$ 이었다(Table 2, Fig. 5D).

염기서열 분석. KACC48001과 JBARES-F39 균주의 ITS sequence 크기는 499 bp로 NCBI GenBank 등록번호는 각각 MF597791, MF597790이다. NCBI Blast search 결과 *M. fructicola*로 등록된 GenBank accession number KC544809, JN176564, FJ515894, KM279616 등과 100% 일치하였다. 또한, 계통수 작성 결과 चे리 잣빛무늬병 균주들은 *M. fructicola*와 같은 계통군에 속하였다(Table 1, Fig. 6).

고찰. 한국에서 분리된 चे리 잣빛무늬병 병원균은 형태적 특징, 병원성 검정, 유전자분석을 기초로 *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey로 동정하였다(Pellegrino 등, 2009). 이와 같은 결과는 세계적으로 보고된 *M. fructicola*의 특징과 일치하였다. 그러나 *M. fructigena*, *M. kusanoi*, *M. laxa* 등은 발생하지 않았다(Farr와 Rossman, 2017). 본 연구 결과는 Choi 등(2014)이 보고한 이 병에 대해 자세히 보완하는 자료이다.

종합 고찰

잣빛무늬병은 핵과류가 재배되는 모든 지역에서 발생하며, 꽃과 잎에서도 발생하지만, 주로 성숙한 과실에 발생하여 수량 감소의 직접적인 요인이 되며, 수확 후 저장이나 수송 중에도 병이 진전되면서 큰 피해를 주는 것으로 알려져 있다(Rural Development Administration, 2008). 2015년과 2017년 6월부터 7월에 전라북도 전주와 임실에서 매실, 복숭아, 살구, 자두, चे리 등 국내 핵과류에 발생한 잣빛무늬병은 일부 꽃과 잎에서

Fig. 6. Phylogenetic analysis by means of the neighbor-joining method comparing the internal transcribed spacer ribosomal DNA (rDNA) region of *Monilinia fructicola* with that of other *Monilinia* spp. retrieved from GenBank. The numbers above the nodes are the bootstrap values obtained from 1,000 replicates. The isolates obtained in this study are shown in boldface.

도 발생하였지만, 주로 과실에 집중적으로 발생하였다. 과실의 표면에 작은 갈색반점이 생기고, 병이 진전됨에 따라 점차 수침상으로 확대되며, 갈변된 원형의 병반 위에 백색 내지 회백색의 포자 덩어리가 밀생하여 눈꽃처럼 피어 과실 전체로 확대되었다. 결국에는 과실 전체가 부패하였다. 이러한 병든 과실은 비가 많이 내리는 장마철에는 그대로 부패하여 과실이 떨어지지 않, 건조한 환경에서는 미라화 되어 과실이 떨어지지 않고 가지에 남아 있었다. 특히, 수확기 1-2주를 앞두고 잣빛무늬병이 더욱 심하였다. 과실에 생긴 *M. fructicola*에 의한 잣빛무늬병 병징은 어린 과실에서는 잘 나타나지 않다가, 과실이 성숙되면 균사가 관찰되는 것으로 알려져 있다(Gell 등, 2008). 균핵 또는 균사체의 형태로 병든 가지나 과실에서 월동하다가 이듬해 균핵이

발아하면서 형성된 자낭포자와 균사에서 형성된 분생포자가 잣빛무늬병의 1차 전염원이 된다. 자낭포자 및 분생포자는 비바람 또는 곤충에 의해 전염되며, 상처 부위나 기공을 통해 침입하여 개화기에 꽃 시들음 증상과 과실에 잣빛무늬병을 일으킨다(Sinclair와 Lyon, 2005). 특히, 개화기와 성숙기의 잣은 강우는 발병을 조장하여 심각한 피해를 초래하므로 적절한 방제대책이 없을 경우 50-75%까지 피해를 주는 것으로 보고되었다(Rural Development Administration, 2008).

병원균은 형태적 모양과 크기가 분리군별로 차이가 없었으며, 모두 *M. fructicola*의 특성과 일치하였다(Pellegrino 등, 2009). 특히, *M. fructicola*와 *M. laxa*는 구분하기 어려우나 분생포자의 크기가 미세하게 차이나며, 본 실험결과에 의하면 핵과

류 잣빛무늬병 균주들의 분생포자 크기는 *M. fructicola*와 가까웠다(Sinclair와 Lyon, 2005; Zhu 등, 2005).

온도별 균사생장의 특성은 *M. fructicola*의 특성과 일치하였지만, Shim 등(2007)의 보고와는 달리 본 연구에서는 30°C에서 균사생장이 더 억제되었다. 핵과류 유통의 경우 상품 과실을 저온상태로 저장 및 수송하면서 *M. fructicola*에 의한 잣빛무늬병이 발생한다고 알려져 있다(Petroczy와 Palkovics, 2006; Pellegrino 등, 2009). 따라서 본 연구 결과를 토대로, 저장온도를 10°C보다는 4°C로 설정하는 것이 잣빛무늬병 피해를 줄이는 데 더욱 효과적인 것으로 판단된다. 또한, 균사생장에 적합한 배지는 OA와 PDA이며, WA, RBA, CMA에서는 균사생장이 매우 느렸다. RBA와 WA에서는 균사생장 양상에 차이가 있었는데, RBA에서는 균총의 밀도가 매우 높았고, 반대로 WA에서는 균총의 밀도가 아주 낮고, 균사가 가늘게 뻗어가는 차이가 있었다. RBA는 사상균의 선택배지로 많이 사용되는데, *M. fructicola* 배양을 위해 기본적으로 사용이 가능할 것으로 판단된다(Martin, 1950). OA, CMA에 풍부한 불용성 탄수화물은 포자형성(sporulation)을 촉진하여 PDA보다 균주 보존에 적합할 것으로 생각된다(Crous 등, 2009).

중국에서는 복숭아 잣빛무늬병을 일으키는 *M. fructicola*, *M. fructigena*, *M. laxa*, *M. yunnanensis*를 분리하여 ITS 염기서열을 분석한 결과, ITS 염기서열만으로 100% 종간 구분되었으며, 4종 간에 상당한 유전적 변이가 있음을 확인하였다(Hu 등, 2011). 그러나 과거에는 *M. fructigena*와 *M. laxa*에는 존재하지 않으나 *M. fructicola*의 small subunit (SSU) rDNA에만 위치한 418 bp 길이의 group-I intron을 분석하여 *M. fructigena*와 *M. laxa*로부터 *M. fructicola*를 구분하였다(Fulton과 Brown, 1997).

핵과류 잣빛무늬병은 우리나라에서는 *M. fructicola*에 의해서만 발생한다고 보고되어 있으나 세계적으로는 *M. fructicola*, *M. fructigena*, *M. laxa*, *M. polystroma*, *M. seaveri* 등에 의해서도 발생하는 것으로 알려져있다(Farr와 Rossman, 2017). 따라서 차후에는 지역과 시기의 범위를 넓혀 핵과류 잣빛무늬병에 대해 면밀히 조사하고, *M. fructicola* 외 다른 종에 대한 발생 및 분포 비율에 대한 연구가 필요하다.

요 약

2015년과 2017년 6-7월에 전라북도 전주와 임실에서 매실, 복숭아, 살구, 자두, 체리 등 핵과류에 잣빛무늬병이 2-5% 정도 발생하였다. 잣빛무늬병은 일부 꽃과 잎에서도 발생하였지만, 주로 과실에 발생하였다. 초기병징은 과실의 표면에 작은 원형의 갈색 반점이 생기고, 병이 진전됨에 따라서 점차 수침상으

로 확대되었으며, 후기에는 갈변된 원형의 병반 위에 백색 내지 회백색의 포자 덩어리가 밀생하여 눈꽃처럼 피고, 과실 전체로 확대되었다. 핵과류에서 분리된 분생포자는 분지된 염주상으로 사슬모양(monilioid chains)을 나타냈으며, 단생, 투명하고, 난형-레몬형이었다. 분리된 균주들의 온도별 균사생장 적온은 20-25°C이며, 균사생장에 적합한 배지는 OA와 PDA이었다. 핵과류 잣빛무늬병을 일으키는 병원균의 형태적 특징, 병원성 검정, ribosomal DNA (rDNA)의 ITS 영역의 염기서열 분석을 기초로 *Monilinia fructicola*로 동정하였다. 대표 균주에 대한 병원성은 인공접종으로 확인하였다. 본 연구는 한국의 핵과류에서 발생하는 *M. fructicola*에 의한 잣빛무늬병에 대한 최초 보완자료이다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No. PJ011690)" Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Choi, I. Y., Kim, J., Seo, K. W., Oh, H. T., Cho, J. H., Kim, J. H. and Song, Y. J. 2016. Occurrence of brown rot on apricot caused by *Monilinia fructicola* in Korea. *Res. Plant Dis.* 22: 122-126. (In Korean)
- Choi, H. W., Hong, S. K., Lee, Y. K., Nam, Y. J., Lee, J. G. and Shim, H. S. 2014. Characterization of *Monilinia fructicola* associated with brown rot of cherry fruit in Korea. *Kor. J. Mycol.* 42: 353-356. (In Korean)
- Crous, P. W., Verkley, G. J. M., Groenewald, J. Z. and Samon, R. A. 2009. Fungal Biodiversity, pp. 144-146. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre Utrecht, The Netherlands.
- EPPO/CABI. 2010. Data sheets on quarantine pests: *Monilinia fructicola*.
- Farr, D. F. and Rossman, A. Y. Fungal Databases, Systematic Mycology & Microbiology Laboratory, ARS, USDA [Internet]. United States Department of Agriculture, Washington, DC. Cited 24th July 2017. URL <http://nt.ars-grin.gov/fungaldbases/>
- Fulton, C. E. and Brown, A. E. 1997. Use of SSU rDNA group-I intron to distinguish *Monilinia fructicola* from *M. laxa* and *M. fructigena*. *FEMS Microbiol. Lett.* 157: 307-312.

- Gell, I., De Cal, A., Torres, R., Usall, J. and Melgarejo, P. 2008. Relationship between the incidence of latent infections caused by *Monilinia* spp. and the incidence of brown rot of peach fruit: factors affecting latent infection. *Eur. J. Plant Pathol.* 121: 487-498.
- Hu, M. J., Cox, K. D., Schnabel, G. and Luo, C. X. 2011. *Monilinia* species causing brown rot of peach in China. *PLoS One* 6: e24990.
- Martin, J. P. 1950. Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.* 69: 215-232.
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. 2010. Statistics of Cultivation and Production of Industrial Crops in 2008. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Sejong, Korea.
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. 2017. Statistics of Cultivation and Production of Industrial Crops in 2015. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Sejong, Korea.
- Pellegrino, C., Gullino, M. L., Garibaldi, A. and Spadaro, D. 2009. First report of brown rot of stone fruit caused by *Monilinia fructicola* in Italy. *Plant Dis.* 93: 668.
- Petroczy, M. and Palkovics, L. 2006. First report of brown rot caused by *Monilinia fructicola* on imported peach in Hungary. *Plant Dis.* 90: 375.
- Rungjindamai, N., Jeffries, P. and Xu, X. M. 2014. Epidemiology and management of brown rot on stone fruit caused by *Monilinia laxa*. *Eur. J. Plant Pathol.* 140: 1-17.
- Rural Development Administration. 2007. Monography of Stone Fruit Cultivars. Suwon, Korea. 252 pp. (In Korean)
- Rural Development Administration. 2008. New Illustrated Book on Diseases, Insect Pests in Fruit Trees. Suwon, Korea. 550 pp. (In Korean)
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.
- Shim, M. Y., Jeon, Y. J. and Kim, S. H. 2007. Characterization of a brown rot fungus isolated from dwarf flowering almond in Korea. *Mycobiology* 35: 30-35.
- Sinclair, W. A. and Lyon, H. H. 2005. Diseases of Trees and Shrubs. 2nd ed. pp. 76-77. Ithaca and London, Comstock Publication Associates, Cornell University Press.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725-2729.
- The Korean Society of Plant Pathology. 2009. List of Plant Disease in Korea. 5th ed. The Korean Society of Plant Pathology, Suwon, Korea. 853 pp.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, eds. by M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Shinski and T. J. White, pp. 315-322. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Zhu, X. Q., Chen, X. Y., Luo, Y. and Guo, L. Y. 2005. First report of *Monilinia fructicola* on peach and nectarine in China. *Plant Pathol.* 54: 575.