

난 썩음병균 *Fusarium* sp. KS-01의 분리 및 계통학적 분석

박인재 · 신광수*

대전대학교 이과대학 미생물학과

Isolation and Phylogenetic Analysis of Orchid Rotting Fungus, *Fusarium* sp. KS-01

In-Jae Park and Kwang-Soo Shin*

Department of Microbiology, College of Sciences, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea

(Received November 18, 2005)

ABSTRACT: A orchid rotting fungus was isolated and identified. The isolate was consistent with the genus *Fusarium* in morphological and cultural characteristics. The partial 18S rRNA sequence of the isolate showed high similarity with anamorph or teleomorph of *Fusarium* and other *Fusarium* species. In phylogenetic analysis, the isolates was poorly related to other *Fusarium* species. The isolate closely related to *Fusarium* sp. LP-A2/3.

KEYWORDS: *Fusarium* sp. KS-01, Orchid rotting, Phylogenetic analysis

대표적 관상식물의 하나인 난은 전세계적으로 온대 및 아열대 지역에서 주로 분포하고 있다. 최근 우리나라에서도 문화수준이 향상됨에 따라 난 애호가 수가 급증하게 되었고, 난의 급격한 수요 증가에 따라 난 생산체계가 대규모화 되고 있다. 그러나, 대부분의 난 재배시설은 유리 온실 또는 비닐하우스 시설 내에서 이루어지고, 이러한 시설 내부의 습한 환경으로 말미암아 여러 가지 병이 발생하는 것으로 보고되어 있다(Ishii and Martinez, 1973; Uchida, 1994). 국내에서 보고된 대표적인 난 질병으로는 *Colletotrichum gloeosporioides*에 의한 난 탄저병(Park et al., 1996), *Fusarium proliferatum*에 의한 *Cymbidium* 점무늬병(Chang et al., 1998), *Erwinia chrysanthemi*에 의한 *Dendrobium*과 *Phalaenopsis*의 세균성 무름병(Lee et al., 1999), *Fusarium* spp.에 의한 *Phalaenopsis*의 뿌리썩음병(Kim et al., 2002) 및 *Fusarium* spp.에 의한 *Cymbidium* 마른썩음병(Lee et al., 2002) 등이 있다. 외국에서는 *Nectria haematococca*에 의한 *Phalaenopsis* 역병(Morita et al., 1992), *Fusarium subglutinans*에 의한 *Cymbidium* 점무늬병(Broadhurst and Hartill, 1996) 등이 보고되어 있다. 그러나, 최근 동양난에 감염하여 뚜렷한 병징을 보이지 않은 채로 점차 난을 썩게하는 새로운 병이 나타나 난 재배 및 생산에 막대한 피해를 주고 있다(Fig. 1). 따라서, 본 연구에서는 이러한 병징을 보이는 난으로부터 병원균을 분리하여 형태학적, 분자생물학적 특성을 조사하여 동정하고, 이를 근거로 동일한 질병의 방제에 기초 자료를



Fig. 1. Symptom of orchid rot caused by *Fusarium* sp. KS-01 (right).

제공하고자 한다.

병에 감염된 난의 병든 부위 절편을 채취하여 70% 에탄올로 표면살균한 후 Potato Dextrose Agar(PDA) 배지에 접종하고 28°C에서 1주일간 배양하여 병원균을 순수분리하였다. 분리한 병원균을 건전한 난에 재접종하여 동일한 병징이 나타남을 관찰하였고, 형성된 병반으로부터 동일한 병원균을 재분리하였다. 분리된 병원균을 Sabouraud Dextrose Agar(SDA) 배지에서 배양하면서 배양적 특성

*Corresponding author <E-mail: shinks@dju.ac.kr>

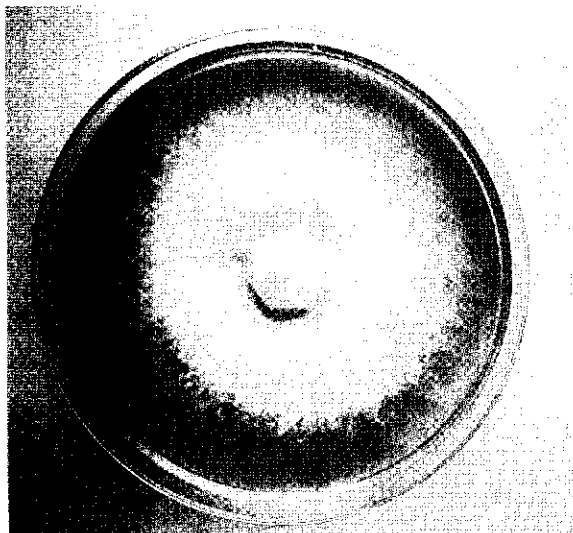


Fig. 2. Colony morphology of *Fusarium* sp. KS-01 on Sabouraud Dextrose Agar medium.

을 관찰하였다. 병원균은 솜털 모양의 흰색 균사로 자랐으며, 뒷면은 오렌지빛 붉은 색을 띠었다(Fig. 2). 배양한 병원균을 현미경 하에서 관찰하여 형태학적 특징으로 일차 동정하였다(Fig. 3). 병원균은 형태학적으로 *Fusarium* 속의 특징을 보였다(Booth, 1971; Nelson *et al.*, 1983). 이에 따라 병원균을 *Fusarium* sp. KS-01이라 명명하였다. 분자생물학적 분류를 위하여 PCR과 sequencing을 통하여 18S rRNA의 부분적인 염기서열을 분석하였다. 사용된 primer는 EF4f(GGAAGGGRTGTATTATTAG)와 Fung5r(GTAAAAGTCCTGGTTC)이며, PCR 수행조건은 94°C에서 8분 반응시킨 후 94°C에서 1분, 48°C에서 1분, 72°C에서 2분의 조건으로 40 cycle 반응시킨 후 72°C에서 10분간 반응시켰다. Agarose 겔 전기영동을 통해 PCR 산물을 분석한 결과 530 bp에서 단일 밴드가 확인되었다. PCR 산물을 AccuPrep Gel Purification Kit(Bioneer)을 사용하



Fig. 3. Microscopic properties of macroconidia (upper) and microconidia with phialides of *Fusarium* sp. KS-01 (lower, $\times 400$).

여 정제한 후 한국의과학센터에 의뢰하여 염기서열을 결정하였다. 염기서열의 GeneBank Accession Number는 DQ251629였다.

PCR 산물의 염기서열을 Blast search(NCBI)를 수행한 결과, 분리된 병원균의 18S rRNA 유전자는 분생자세대가 *Fusarium* 속인 *Gibberella pulicaris*, *Fusarium solani*의 원전세대인 *Nectria haematococca* 및 *Fusarium oxysporum* 등 *Fusarium* 속의 18S rRNA와 매우 높은 유사도를 보였다. 18S rRNA의 염기서열에 기초하여 유사도가 높은 다른 균류와의 계통학적 거리를 알아보기 위하여 Clustal-W 프로그램을 사용하여 계통수를 작성한 결과, 본 균주는 계통학적으로 *Fusarium* sp. LP-A2/3(AF548314)와 가장 근접한 것으로 나타났다(Fig. 3).

적 요

농양란에 썩음병을 일으키는 병원균을 분리하여 동정하였다. 병원균은 배양학적으로나 형태학적으로 *Fusarium* 속의 특징을 지니고 있었고, PCR 기법을 사용한 18S rRNA

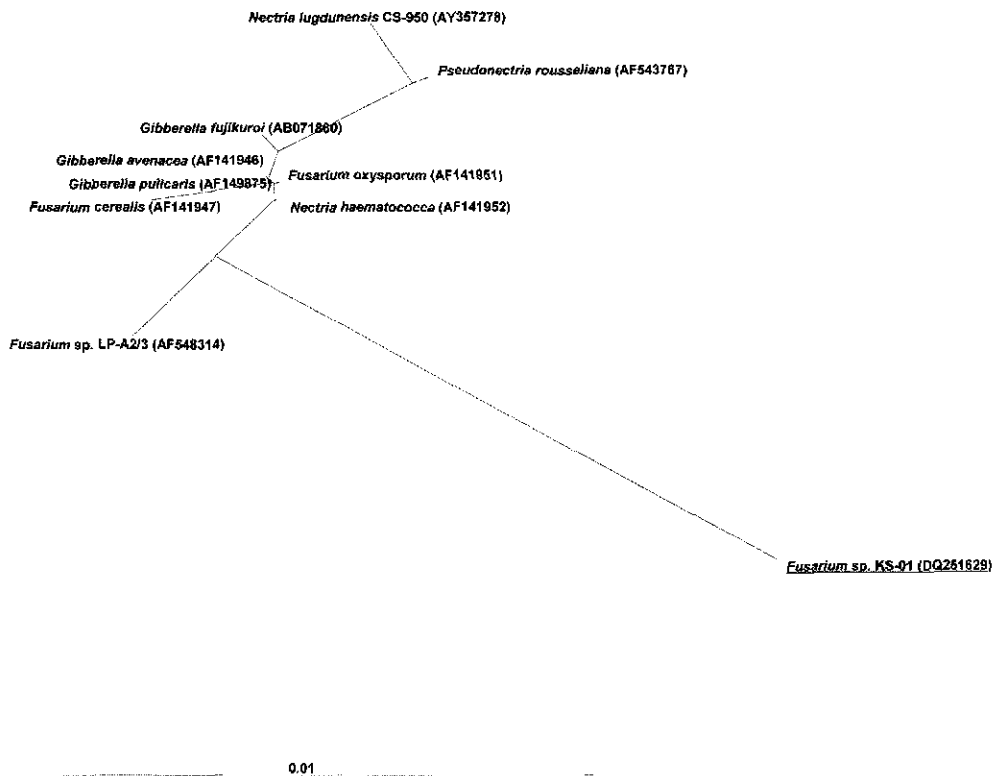


Fig. 4. Unrooted neighbor-joining tree based on partial 18S rRNA sequence.

염기서열 분석결과 *Fusarium* 속의 균류와 매우 높은 유사도를 보였다. 계통학적 분석결과, 본 균주는 *Fusarium* sp. LP-A2/3(AF548314)과 가장 근접한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2005년도 대전대학교 교내학술연구조성비에 의해 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. p. 237. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- Broadhurst, P. G. and Hartill, W. F. T. 1996. Occurrence of *Fusarium subglutinans* on cymbidium orchids in New Zealand. (Abstr.) *Plant Disease* **80**: 711.
- Chang, M., Hyun, I. H., Lee, Y. H. and Lee, D. H. 1998. Leaf spot of *Cymbidium hybrida* caused by *Fusarium proliferatum*. *Kor. J. Plant Pathol.* **14**: 664-667.
- Ishii, M. and Martinez, A. P. 1973. Significant orchid diseases in Hawaii. *Hawaii Orchid J.* **2**: 6-10.
- Kim, W. G., Lee, B. D., Kim, W. S. and Cho, W. D. 2002. Root rot of moth orchid caused by *Fusarium* spp. *Plant Pathol. J.* **18**: 225-227.
- Lee, B. D., Kim, W. G., Cho, W. D. and Sung, J. M. 2002. Occurrence of dry rot on *Cymbidium* orchids caused by *Fusarium* spp. in Korea. *Plant Pathol. J.* **18**: 156-160.
- Lee, D. H., Kim, J. H., Lee, J. H., Hur, J. S. and Koh, Y. J. 1999. Bacterial soft rot of *Dendrobium phalaenopsis* and *Phalaenopsis* species by *Erwinia chrysanthemi*. *Plant Pathol. J.* **15**: 302-307.
- Morita, Y., Arie, T., Kawarabayashi, S., Suyama, K., Namba, S., Yamashita, S. and Tsuchizaki, T. 1992. A new disease of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* caused by *Nectria haematococca*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* **58**: 452-455.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A. and Marasas, W. F. O. 1983. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. p. 193. The Pennsylvania State University Press, Pennsylvania, USA.
- Park, S. Y., Chung, H. J., Kim, G. Y. and Koh, Y. J. 1996. Characteristics of anthracnose of orchids caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Kor. J. Plant Pathol.* **12**: 455-458.
- Uchida, J. Y. 1994. Diseases of orchids in Hawaii. *Plant Diseases* **78**: 220-224.