

**Botrytis cinerea에 의한 네프로레피스 잿빛곰팡이병**전용호<sup>1,2</sup> · 김정호<sup>1</sup> · 김영호<sup>1\*</sup><sup>1</sup>서울대학교 농업생명과학대학 농생명공학부, 식물분자유전육종연구센터, <sup>2</sup>KT&G 중앙연구원**Gray Mold of Nephrolepis Caused by Botrytis cinerea**Yong Ho Jeon<sup>1,2</sup>, Jung Ho Kim<sup>1</sup> and Young Ho Kim<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Department of Agricultural Biotechnology and Center for Plant Molecular Genetics and Breeding Research, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea<sup>2</sup>Agro-tech. Research Group, KT&G Central Research Institute, 434 Dangsu-dong, Gwonsun-gu, Suwon 441-480, Korea

(Received on February 24, 2006)

In February of 2000-2001, the gray mold disease occurred on nephrolepis (*Nephrolepis* sp.) grown in a flower nursery farm in Suwon, Korea. Typical symptoms were water-soaked brown or blackish lesions on terminal leaf blades. Severely infected leaves were entirely blighted with grayish fungal mycelia formed on the surface. Conidia of the fungus in mass were hyaline or gray, 1-celled, mostly ellipsoid or ovoid and 13.5-16.9 × 6.8-9.2 μm in size. Conidiophores were formed on PDA with 8.7-11.1 μm in width. The sclerotia were readily formed within 2 or 3 days on PDA. In addition, the Biolog database gave the causal fungus a high similarity to *Botrytis cinerea* (78%) with a match probability of 100%. Pathogenicity of the causal organism was proved according to Koch's postulate. The causal organism was identified as *Botrytis cinerea* based on its mycological characteristics and utilization of carbon sources with Biolog system as supporting data. This is the first report of gray mold of nephrolepis caused by *Botrytis cinerea* in Korea.

**Keywords :** Biolog, *Botrytis cinerea*, Gray mold, *Nephrolepis* sp., Pathogenicity

네프로레피스는 고사리과(Polypodiaceae, Pteridaceae)에 속하는 1년생 또는 다년생 초본식물로 세계적으로 약 40종이 있고, 적정 생육온도는 20°C 내외이며 내한성이 강하여 5°C-8°C이면 월동이 가능하다. 가장 흔한 종류는 일명 "Boston fern"으로 알려져 있는 *Nephrolepis exaltata bostoniensis*이다. 우리나라에서는 최근 원예용으로 많이 심는 식물종의 하나이다.

2000~2001년 2월 수원시 농가 육묘장에 재배중인 네프로레피스종에서 잎 가장자리가 갈변하고 심하면 검게 말라가는 병반을 확인하였다. 자세히 들여다 보면 병반 위에 회색균사도 관찰할 수 있었다. 이러한 병든 식물체의 병반으로부터 병원균을 분리하여 균학적 특징과 병원성을 검정한 결과 *Botrytis cinerea*에 의한 네프로레피스 잿빛곰팡이병으로 동정되었다. Chase(1987)에 의해서 *B.*

*cinerea*에 의한 네프로레피스 잿빛곰팡이병이 외국에서는 보고되어 있으나, 우리나라에서는 네프로레피스 잿빛곰팡이병에 관해서 아직 보고된 바 없다(한국식물병리학회, 2004). 국내에서 네프로레피스에 발병하는 병해로는 *Colletotrichum gloeosporioides*에 의한 탄저병이 보고되어 있다(한국식물병리학회, 2004). 본 연구에서는 네프로레피스에 발생하는 잿빛곰팡이병의 병징과 병원균의 균학적 특징 및 병원성 검정을 하여 *Botrytis cinerea*에 의한 네프로레피스 잿빛곰팡이병을 국내에서 처음으로 보고한다.

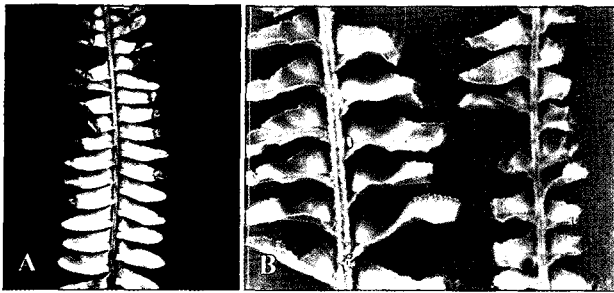
**병징 및 발생환경.** 수원 지역의 2000-2001년 2월에 시설화재배 농가에서 시설하우스내 네프로레피스의 잎끝에서부터 물러지면서 갈변하고 검게 썩어 들어가고 결국 잎이 말라버리는 병이 발생하였다. 병 증상은 잎의 가장 자리에 발생하였으며 병든 부분이 수침상으로 갈변하면서 검게 썩어 들어가는 것이 특징이었다(Fig. 1A). 병이 진전함에 따라 이병엽은 암갈색으로 변하면서 잎이 마르고 감염부위에서는 회색의 곰팡이 균사가 다량 형성되었다.

여러 동의 시설하우스 중에 발병한 시설하우스의 환경

\*Corresponding author

Phone)+82-2-880-4675, Fax)+82-2-873-2317

E-mail) yhokim@snu.ac.kr



**Fig. 1.** Typical symptoms of gray mold of nephrolepis, showing brownish rots or blights on leaf edges naturally infected (A) or artificially inoculated (B) by *Botrytis cinerea*. With the progress of the disease, the whole leaflets became blighted with a full sign of mycelia.

은 바닥에 물이 고여 있어 축축하였고, 하우스의 공기도 저온 다습한 조건이었으며 환기가 잘 되지 않는 상태여서 잎 끝에 이슬이 낮까지 마르지 않고 맺혀 있어서 잿빛곰팡이병의 발생에 양호한 환경 조건으로 생각되었다. 또한 이 지역은 네프로레피스의 연작지로 해마다 잿빛곰팡이병균의 전염원이 누적되어 발병이 심화되고 있는 것으로 생각되었다.

**균학적 특성.** 병원균 분리를 위해 잎의 이병부와 건전부 사이의 조직을 3×3 mm 잘라서 1% 차아염소산나트륨 용액에 1분간 표면 살균한 다음 물한천배지(WA)에서 분리하였다. 조직을 25°C 항온기에서 2일간 배양한 후 자라나온 균사의 선단부를 떼내어 감자한천배지(PDA)에 다시 이식하여 시험균주로 사용하였다.

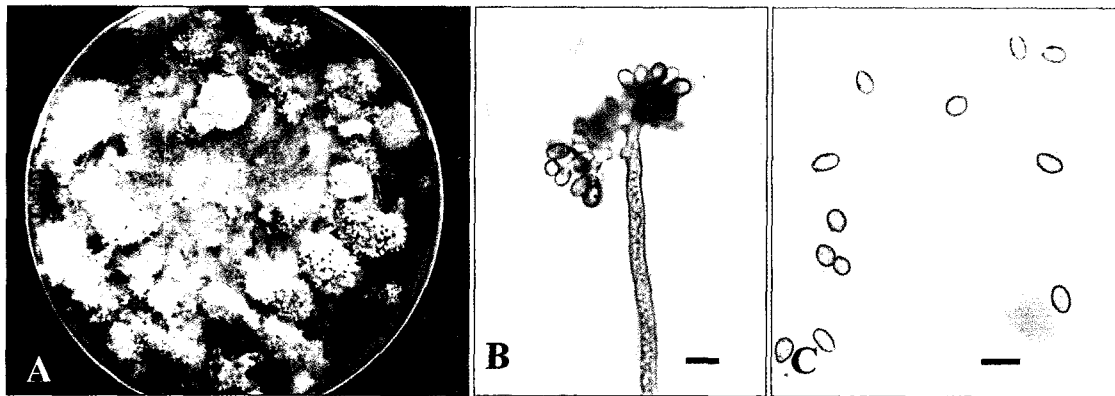
특성 병원균을 동정하기 위해 PDA를 이용하여 25°C 항온기에서 7일간 자란 균총을 떼내어 광학현미경하에서 병원균의 형태적 특징을 관찰하였다. 병원균을 PDA배지에서 배양한 결과 균사 색깔은 회색 또는 회갈색으로 균사생육이 왕성하고 배양기간이 경과함에 따라 배지 표면

**Table 1.** Comparison of morphological characteristics of the causal fungus of Nephrolepis gray mold disease and *Botrytis cinerea* described by previously

Characteristics		Present isolate	<i>B. cinerea</i> <sup>a</sup>
Colony	color	grayish brown	grayish brown
	shape	ellipsoid-ovoid	ellipsoid-ovoid
	size	13.5~16.9 × 6.8~9.2 μm	6~18 × 4~11 μm
Conidia	color	colorless~pale brown	colorless~pale brown
	shape	flat or irregular	flat or irregular
Sclerotia	color	black	black

<sup>a</sup>Described by Ellis and Waller (1972).

에 잿빛의 균사와 다량의 잿빛 혹은 갈색의 포자 및 불규칙한 모양의 균핵이 형성되었다(Fig. 2A). 분생자경은 균사 표면으로부터 직립하여 나뭇가지 모양으로 형성되었고, 선단부분에 분생포자를 형성하였는데 분생자경의 폭은 8.7~11.1 μm였다(Table 1, Fig. 2B). 분생포자의 모양은 타원형 또는 난형으로 크기는 13.5~16.9×6.8~9.2 μm였다(Table 1, Fig. 2C). 이와 같은 특징은 Ellis와 Waller (1972)가 보고한 *Botrytis cinerea*의 형태적 특징과 일치하였다. 또한 Biolog system을 이용한 동정은 다음과 같이 수행하였다. 분리한 곰팡이를 2% Malt extract agar 배지에 치상하여 25°C에서 10일 배양한 후 포자와 균사를 채취하여 Filamentous Fungi-Inoculating Fluid (FF-IF) 용액에 현탁하여 FF microplate(BIOLOG FF Microplate™)의 96 well에 100 μl씩 분주하여 25°C에서 배양하였다. 배양 후 48, 72시간에 MicroLog™ 3-Automated Microstation System을 이용하여 탄소원 이용여부를 조사하고, MicroLog Filamentous-fungi database (Version 4.02)와 연결하여 동정하였다. 분리된 곰팡이의 탄소원 이용 정도를 48시간 후에는 Tween 80, L-Arabinose, Arbutin, Dextrin, D-



**Fig. 2.** Morphological characteristics of *Botrytis cinerea*, the causal agent of nephrolepis grey mold. A: Mycelia and sclerotia formed on PDA, B: Conidiophore with conidia, C: conidia. Bars = 20 μm.

**Table 2.** Metabolic activities of *Botrytis* isolate from nephrolepis gray mold at 48 and 72 hr in the Biolog FF microplate assay

Substrates	Incubation time (hrs)		Ref <sup>a</sup>	Substrates	Incubatio time (hrs)		Ref
	48	72			48	72	
Tween80	+ <sup>b</sup>	+	+	Salicin*	-	-	+
Adonitol	-	-	-	Stachyose	-	+	+
Amygdain	-	-	-	Sucrose	+	+	+
L-Arabinose	+	+	+	D-Trehalose*	-	-	+
D-Arabitol	-	-	-	Turanose	w	+	+
Arbutin	+	+	+	Xylitol	-	-	-
D-Cellobiose*	-	-	+	D-Xylose	+	+	+
Dextrin	+	+	+	Fumaric Acid	-	-	-
D-Fucose	+	+	+	L-Proline	-	-	-
L-Fucose	-	-	-	Adenosine	-	-	-
D-Galactose	w	+	+	α-Keto-glutaric Acid	+	+	+
D-Galacturonic acid	-	+	+	β-Methyl-D-Glucoside	w	+	+
Gentiobiose	-	+	+	Palatinose*	-	+	-
α-D-Glucose	+	+	+	D-Psicose	-	-	-
D-Melibiose	-	-	-	D-Raffinose	+	+	+
Glycogen	+	+	+	Succinic Acid	-	-	-
L-serine	-	-	-	Alaninamide*	+	+	-
α-D-Lactose	-	-	-	L-Alanine*	+	+	-
Lactulose*	-	+	-	L-Alanyl-Glycine	-	-	-
Maltitol	-	-	-	L-Asparagine*	w	+	-
Maltose	+	+	+	L-Asparatic Acid	-	-	-
Maltotriose	+	+	+	L-Glutamic Acid	-	-	-
D-Mannose	+	+	+	L-Omnithine	-	-	-
D-Melezitose	+	+	+	L-Phenylalanine	-	-	-

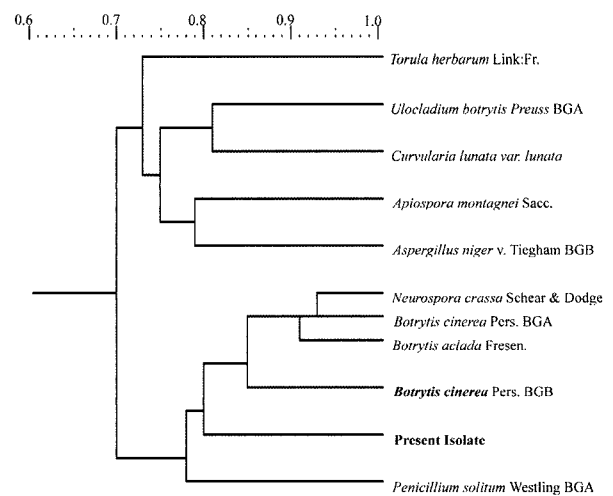
<sup>a</sup>*Botrytis cinerea* of MicroLog Filamentous -fungi database (Version 4.02).

+: positive, -: negative, w: weak reaction.

\*Mismatched carbohydrates compared with Reference.

Fucose, Galacturonic acid, Gentiobiose, α-D-Glucose, Glucose-1-phosphate, Glycogen, Maltose, Maltotriose, D-Mannose, D-Melezitose, D-Raffinose, Sucrose, D-Xylose, α-Keto-glutaric Acid, Alaninamide, L-Alanine의 탄소원을 이용하였으며, D-Galactose, Lactulose, Stachyose, Turanose, β-Methyl-D-Glucoside, Palatinose, L-Asparagine의 탄소원은 이용하지 않았거나 약한 반응을 보였으나 72시간 후에는 양성 반응을 보였다(Table 2). 탄소원 이용 정도를 database와 연결하여 비교하였을 때 *Botrytis cinerea*와 48 시간에서는 73%, 72시간 후에는 78%의 상동성을 가지고 동정되었다(Fig. 3).

**병원성.** 병원성을 확인하기 위하여 네프로레피스 묘종을 이용하였다. 순수분리한 병원균에서 형성된 분생포자를 5×10<sup>4</sup> conidia/ml 농도로 현탁액을 만들어 식물체에 분무접종한 다음 25°C 접종상에서 24시간 습실처리 후



**Fig. 3.** Phylogenetic tree showing position of present isolate within genus *Botrytis* and related taxa (based on Biolog analysis).

꺼내어 온실에 격리 재배하였다. 인공 접종한 네프로레피스 잎은 잎 가장자리가 물러지면서 갈변하고 이병부는 빠르고 검게 변하였으며(Fig. 1B) 접종 5일부터는 병반 부위에 잿빛곰팡이가 다량 형성되었다. 시간이 경과됨에 따라 병반 부위는 잿빛의 곰팡이가 생기고 포장에서 자연 감염되어 발생한 것과 동일한 병반이 형성되었다. 인공접종하여 발병된 병반부에서 다시 병원균을 재분리하여 동정한 결과 동일한 균이었다.

우리나라에서 주로 재배 유통되고 있는 네프로레피스는 주로 *Nephrolepis exaltata bostoniensis* (Boston Fern)이며 *B. cinerea*에 의한 잿빛곰팡이병이 아직까지 보고된 바가 없으므로(한국식물병명목록, 2004) 이 병을 네프로레피스 잿빛곰팡이병으로 처음 보고한다.

## 요 약

2000~2001년 2월 수원시 농가 육묘장에서 *B. cinerea*에 의한 네프로레피스 잿빛곰팡이병이 발생하였다. 병징은 잎에 발생하여 병든 부분이 검게 썩으며 병반부위에 회

색의 곰팡이가 많이 생기고 심할 경우 감염된 부위가 말라 떨어진다. 분생포자는 무색, 단포자이며 난형 또는 타원형으로 크기는 13.5~16.9×6.8~9.2 μm였고, 분생자경 위에 분생포자가 아주 많이 형성되었다. 분생자경은 갈색으로 격막이 있고 폭은 8.7~11.1 μm였다. 또한 탄소원 이용 정도를 Biolog system을 사용하여 조사한 결과 참조 *Botrytis cinerea*와 78%의 높은 유사도를 보였다. 이 곰팡이에 의한 네프로레피스 병은 국내에서 처음 발견되어 보고되므로 이 병을 네프로레피스 회색곰팡이병으로 명명하고자 한다.

## 참고문헌

- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. 5th Ed. Elsevier Academic Press. NY. 922 pp.
- Chase, A. R. 1987. *Compendium of Ornamental Foliage Plant Diseases*. American Phytopathological Society Press, St. Paul. 92 pp.
- Ellis, M. B. and Waller, J. M. 1972. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria, No. 431.
- 한국식물병리학회. 2004. 한국식물병명목록. 779 pp.