

*Rhizopus oryzae*에 의한 산딸기 무름병

권진혁* · 강동완 · 안재욱 · 최옥희¹ · 곽연식¹

경상남도농업기술원, ¹경상대학교 응용생물학과

Occurrence of Soft Rot on Raspberry (*Rubus crataegifolius*)
Caused by *Rhizopus oryzae* in Korea

Jin-Hyeuk Kwon*, Dong-Wan Kang, Jae-Uk An, Okhee Choi¹ and Youn-Sig Kwak¹

Gyeongsangnam-do Agricultural Research and Extension Services, Jinju 660-360, Korea

¹Department of Applied Biology, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

(Received on July 14, 2011; Revised on October 15, 2011; Accepted on November 12, 2011)

Soft rot disease on Raspberry (*Rubus crataegifolius* Bunge) was observed in sale boxes at Jinju City Wholesale Market of Agricultural Products in June 2010. The infected fruits were rapidly water-soaked, softened, black and eventually rotted. The colonies on the infected fruits were white to light brown, formed numerous sporangiospores. Optimum temperature for the mycelial growth of the causal fungus on PDA was 30°C and growth was still apparent at 37°C. Sporangia were globose, white at early and gradually to black, and 40-210 µm in diameter. Sporangioophores were white to mid brown as maturation and 8-20 µm in diameter. Columella were globose to sub-globose, and the size of the diameter was 85-120 µm in diameter. Sporangiospores were sub-globose, rhomboidal and irregular, streaked and 5-10 µm in length. On the basis of symptom, mycological characteristics, ITS rDNA sequence analysis, and pathogenicity of the fungus, the causal fungus was clearly identified as *Rhizopus oryzae* Went & Prinsen Geerlig. This is the first report of soft rot by *R. oryzae* on *R. crataegifolius* in Korea.

Keywords : *Rhizopus oryzae*, *Rubus crataegifolius*, Soft rot

산딸기(*Rubus crataegifolius* Bunge)는 장미과(Rosacea)에 속하며 전국의 산과 들의 어디에서나 자라는 낙엽아관목으로서 과실을 식용으로 이용한다(Lee, 2003).

2010년부터 2011년까지 진주시 농산물도매시장에 6월경 유통 판매중인 산딸기의 과실이 수침 상으로 물러지면서 부패하고 과실 표면에 흰색의 곰팡이가 생기는 이상증상이 관찰되어 병든 과실로부터 병원균을 분리, 배양하여 동정하였다. 지금까지 우리나라의 산딸기에 발생하는 것으로 기록된 병은 빗자루병, 녹병, 점무늬병 3종과 *Rhizopus stolonifer*에 의한 무름병이 보고되어 있다(Kwon과 Phuong Chi, 2008; The Korean Society of Plant Pathology, 2009). 그렇지만 *Rhizopus oryzae*에 의한 무름병 발생보고는 되어 있지 않았다.

따라서 본 연구에서는 *R. oryzae*에 의한 산딸기 무름병의 국내 발생을 보고하고자 수확 후 유통 중인 과실에 발생한 병징을 관찰하였고 병원균의 균학적 특징과 병원성 검정한 결과를 확인하였다. 원인균의 동정을 확실시키기 위해 원인균의 ITS rDNA 염기서열을 분석하여 NCBI Blast 분석하였다.

병징과 발생환경. 2010년 6월 중순 진주시 농산물도매시장에 수확 후 유통 중인 산딸기의 과실 표면이 수침 상으로 물러지면서 빠르게 부패가 진행되고 약간 흰색 또는 회색의 균사가 상자 내 있는 산딸기에 심하게 발생하였다(Fig. 1A). 이들 균사의 끝부분에 검은색의 작은 포자낭들이 많이 형성되었다. *R. oryzae*에 의한 산딸기 무름병은 수확 후 수송, 유통 중에 있는 과실이 상처난 부위가 물러지면서 고온다습한 환경에서 빠르게 발생되었다. 다만 유통 중에 산딸기를 저온저장고에 보관할 때는 발생되지 않았으나 시장 유통 시 상온에서 노출시간이 길

*Corresponding author

(Phone) +82-55-771-6423, (Fax) +82-55-771-6419

(Email) kwon825@korea.kr

어짐에 따라 저장력이 떨어져 짓물러지고 상처난 부위에서 비교적 병 발생이 잘 되었다. 상자 내 발생할 경우 과실 전체에 대한 상품성이 없어진다.

분리 및 균학적 특성. 진주시 농산물도매시장에서 산딸기 과실에 무름병 증상이 발생한 과실을 수거하여 실험실 내 무균상에서 끝이 뾰족한 핀셋으로 성숙한 포자낭 30개를 하나씩 떼어내어 미리 만들어놓은 감자한천배

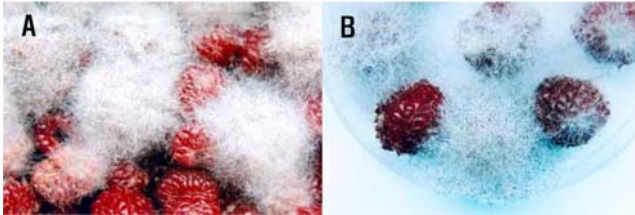


Fig. 1. Symptoms of soft rot on *Rubus crataegifolius* caused by *Rhizopus oryzae*. (A) Typical symptoms of soft rot in the storage box after harvest, (B) Symptoms caused by *R. oryzae* after 72 h of artificial inoculation.

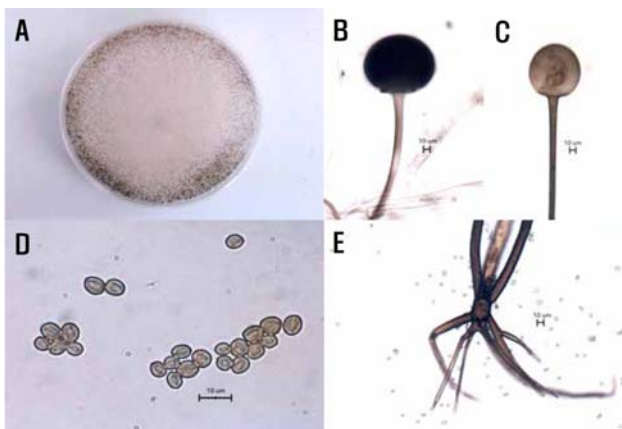


Fig. 2. Morphological characteristics of *Rhizopus oryzae* isolated from *Rubus crataegifolius*. (A) Colony on PDA 7 days after incubation, (B) Sporangium and sporangiophore, (C) Columella, (D) Sporangiospores, (E) Rhizoids.

지(PDA) 위에 옮겨 25°C 항온기에서 3일간 배양하였다. 순수 분리배양된 병원균을 가지고 다시 PDA배지 위에 옮기고 7일간 배양하여 병원균 동정 및 병원성 검정에 사용하였다.

PDA 배지상에서 균사 생육이 아주 빠르고 무격균사로서 배지표면에 기중균사 형태로 자라면서 긴 포자낭경을 형성한다. 균총은 초기에 약간 흰색을 띄지만 배양일수가 길어짐에 따라 연한 회색을 나타낸다. 이때 무수히 많이 형성된 검은색 포자낭으로 인해 페트리디쉬 두껍 부분이 검은색으로 보인다(Fig. 2A). PDA 배지 상에서 균사생육 적온은 30°C이지만 37°C에서도 생육하였다. 포자낭은 생육 초기에 흰색을 띄다가 점차 성숙되어지면 검은색으로 되어지고 모양은 구형으로 크기는 40–210 μm 였다(Fig. 2B). 포자낭경은 초기에 약간 흰색을 띄는 것도 있지만 성숙하게 되면 연한 갈색으로 변하며 가근을 형성하는 곳에 2–5개씩 직립으로 자라며 크기는 8–20 μm 이었다. 주축은 구형 또는 반구형이며 크기는 85–120 μm 였다(Fig. 2C). 포자낭포자는 담갈색으로 단포이며 구형 또는 장방형으로 불규칙한 것도 있으며 포자낭에서 잘 떨어지고 크기는 5–10 μm 였다(Fig. 2D). 균사가 PDA배지 표면에 자라면서 포복균사를 형성하며 뿌리모양의 가근을 형성하였다(Fig. 2E, Table 1). 조사기간 동안 접합포자는 관찰되지 않았다.

병원성 검정. 2011년 6월 상순 *R. oryzae*에 의한 산딸기 무름병의 병원성을 검정하기 위하여 시장에 유통 중인 건전한 산딸기 100개를 1% 차아염소산나트륨(NaOCl)으로 표면살균한 다음 멸균수로 3회 세척하고 선풍기를 이용하여 물기를 완전히 제거한 다음 30개씩 접종하였다. 접종은 바늘 끝을 이용한 상처접종, 무상처 접종으로 나누어 인공접종을 하였다. 접종원으로 사용하기 위해 감자한천 배지에서 7일간 배양한 균에 멸균수 10 ml 넣고서 붓으로 균사와 완전히 현탁시킨 후 가아제로 3회 거른 다음

Table 1. Comparison of morphological characteristics of the fungus isolated from raspberry showed to symptom of soft rot

Characteristics		Present isolate	<i>Rhizopus oryzae</i> ^a
Colony		Brownish-grey to blackish-grey	Brownish-grey to blackish-grey
Sporangia		Globose 40–210 μm in diameter	Globose 30–210 μm in diameter
Sporangiospores	shape	Sub-globose, rhomboidal	Sub-globose, rhomboidal or limoniform
	size	5–10 μm in length	4–10 μm in length
Sporangiophores	size	8–20 μm in diameter	7–20 μm in diameter
Columella	shape	Globose to sub-globose	Globose to sub-globose
	size	85–120 μm in diameter	90–120 μm in diameter

^aDescribed by Lunn. (1977).

3×10^5 conidia/ml 농도로 분생포자 현탁액을 만들었다. 산딸기의 표면에 붓으로 현탁액 1방울씩 접종한 후 플라스틱 통 안에 일정한 습도가 유지될 수 있도록 필터 페이퍼 5장씩 4군데 놓고서 멸균수를 200 ml 붓고 뚜껑을 닫은 후 25°C 항온기에서 발병유무를 관찰하였다. 접종 2일 후 상처 접종한 산딸기의 과실이 수침 상으로 물러지기 시작하면서 빠르게 부패되어졌으며 3일째에 심하게 발생되어졌다. 접종 병반부위에서 흰색 또는 연한 회색의 균사가 발생하기 시작하면서 서서히 과실 표면으로부터 많은 균사가 자라게 되고 균사 끝부분에서 검은색의 포자낭이 많이 형성되어 자연발생한 병징과 동일하게 나타났다(Fig. 1B). 병원균을 재분리하여 동정한 결과 *R. oryzae*에 의한 산딸기 무름병과 같은 병원균이었다. 무상처 접종한 산딸기에서는 조사기간 동안 병이 발생하지 않았지만 시간이 경과됨에 따라 병이 발생하였다.

ITS 염기서열 분석. 유전자 분석을 통한 병원균 동정을 위해 rDNA의 ITS(internal transcribed spacer) 부분을 2개의 프라이머 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')로 증폭하였고 pGEM-T Easy vector(Promega)에 클로닝한 후 염기서열을 분석하였다(627 bp). Nucleotide blast 분석한 결과 *R. oryzae*(GenBank accession no. DQ119017)와 100%의 상동성을 나타내었다.

이상과 같이 산딸기에서 발생한 병원균을 분리 배양하여 균학적 특성을 조사한 결과 Lunn(1977)이 기술한 *R. oryzae*와 잘 일치하였고 rDNA의 ITS 염기서열 분석과 병원성을 검정한 결과를 토대로 본 병해를 *R. oryzae* Went & Geer.에 의한 산딸기 무름병으로 명명할 것을 제안하고자 한다. 우리나라에서 산딸기 무름병으로 *R. stolonifer*가 보고되어 있지만 또 다른 새로운 병원균으로 *R. oryzae* Went & Prisen Geerlings에 의한 무름병이 발생되었기에 이를 보고하고자 한다. 산딸기 무름병에서 분리한 *R. oryzae* 균주는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터(KACC 46032)에 기탁·등록하였다.

요 약

2010년 6월 중순 경남 진주시 농산물도매시장에 유통 판매중인 산딸기에서 이상증상이 발생하였다. 병징은 과실표면에 상처 또는 물러진 과실부분이 수침 상으로 물러지면서 빠르게 부패되었다. 균총은 처음 흰색에서 연한 회색으로 되고 검은색의 포자낭을 많이 형성하였으며 균사생육 적온은 30°C이었으며 37°C에서도 성장하였다. 포자낭은 검은색으로 구형이며 크기는 40–210 μm 이었다. 포자낭경은 처음 흰색에서 연한 갈색을 나타내며 폭은 8–20 μm 이었다. 주축은 구형 또는 반구형이며 크기는 85–120 μm 이었다. 포자낭 포자는 담갈색으로 단포이며 구형 또는 장방형이고 불규칙한 것도 있으며 크기는 5–10 μm 이었다. 따라서 산딸기 과실에 발생한 병징과 병원균의 균학적 특징, ITS 염기서열 분석, 그리고 병원성을 검정한 결과, 본 병을 *Rhizopus oryzae* Went & Prinsen Geerlings에 의한 산딸기 무름병으로 명명할 것을 제안한다.

Acknowledgements

This work was carried out with the support of “Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ007345)” Rural Development Administration, Korea.

References

- Kwon, J. H. and Phuong Chi, T. T. 2008. Occurrence of rhizopus soft rot on *Rubus crataegifolius* Bunge caused by *Rhizopus stolonifer* in Korea. *Res. Plant Dis.* 14 : 127–130. (In Korean)
- Lee, T. B. 2003. Coloured flora of Korea (1). Hyangmoonsa. Seoul, Korea. 914 pp. (In Korean)
- The Korean Society of Plant Pathology. 2009. List of plant diseases in Korea. 5th ed. 853 pp. (In Korean)
- Lunn, J. A. 1977. *Rhizopus oryzae*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No. 525. Commonwealth Mycological Institute, Ferry Lane, Kew, Surrey, England.