

국내에서 개발된 참다래 신품종의 과실무름병 발생률과 병원균 검출 빈도

권신영¹, 김경희², 고영진², 이영선¹, 손산호¹, 김성철³, 정재성^{1*}
¹순천대학교 생물학과, ²순천대학교 식물외과, ³국립원예특작원 온난화대응농업연구센터

Incidence Rates of Postharvest Fruit Rots and Detection Rates of Their Pathogens on New Kiwifruit Cultivars Bred in Korea

Shin Young Kwon¹, Gyoung Hee Kim², Young Jin Koh², Young Sun Lee¹, San Ho Shon¹,
Seong-Cheol Kim³ and Jae Sung Jung^{1*}

¹Department of Biology and ²Department of Plant Medicine, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea
³Agricultural Research Center for Climate Change, NIHHS, RDA, Jeju 690-159, Korea

Abstract - The incidence rates of postharvest fruit rots of four kiwifruit cultivars which were cultivated under rain-proof tunnel house at a same orchard were examined. Among them, 'Halla-Gold', 'Jecy-Gold' and 'Jecy-Sweet' were new cultivars bred in Korea. The disease incidence was varied with cultivars; 74.8%, 65.3%, 57.1% and 16.2% for 'Hayward', 'Halla-Gold', 'Jecy-Sweet' and 'Jecy-Gold' cultivars, respectively. Two hundred and eighteen isolates were obtained from diseased fruits and identified by mycological and molecular biological methods. Three fungi, *Botryospheria dothidea*, *Diaphorthe actinidiae* and *Botrytis cinerea*, were identified as pathogens of the postharvest fruit rots with detection rates of 95.4%, 4.6% and 2.3%, respectively.

Key words - Kiwifruit, Postharvest fruit rot, *Botryospheria dothidea*

서 언

참다래(키위, kiwifruit)는 다래나무과(Family Actinidiaceae), 다래나무속(Genus *Actinidia*)의 다년생 덩굴성 과수이다. 다래나무속 식물은 전 세계적으로 약 60여종이 분포하고 있는데 대부분 아시아가 원산지이다. 현재 재배되고 있는 참다래는 원래 중국다래(Chinese gooseberry)로서 양자강 유역 산림에서 야생하던 것을 20세기 초에 뉴질랜드가 종자를 도입하여 개량하였다(Liang, 1984; Cui, 1993). 뉴질랜드에서 개량된 참다래가 이탈리아, 칠레, 미국, 일본 등으로 보급되어 재배되기 시작한 것은 1960-1970년대의 일이다. 우리나라에서는 월동이 가능한 남부 해안지방과 제주도에서 1980년대 초부터 뉴질랜드, 일본 등으로부터 참다래 묘목을 들여와서 재배하기 시작하였다. 도입 초기 국내

에서 재배된 품종은 거의 대부분 '헤이워드' 품종(*Actinidia deliciosa* cv. 'Hayward')이었다(Kwack and Park, 2007).

그 후 뉴질랜드에서는 과일의 향기가 좋은 종인 *A. chinensis* 계통의 품종인 'Hort 16A'의 육종에 성공하였다. 우리나라에서 '골드키위'로 알려진 이 품종은 제주도에 서 계약재배를 통해 국내시장에 유통되고 있다. 우리나라에서도 야생에서 채집된 종을 포함한 여러 품종들에 대한 분자계통을 규명하는 연구(Kim *et al.*, 2004)와 함께 품종들 간의 교배육종 프로그램을 통해 *A. chinensis* 계통을 포함한 다수의 신품종이 개발되어 국내에서 재배되고 있으며 그 효능에 대한 연구가 진행되고 있다(Kim *et al.*, 2007a, 2007b; Kim *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2010; Kwack *et al.*, 2010).

참다래의 수확 후 문제는 연화에 의한 저장력 감소와 함께 후숙 과정 중 발생하는 과실무름병에 의한 과실의 손상이다. 연화 정도는 에틸렌 발생량과 밀접한 관계가 있어 에

*교신저자(E-mail) : jjung@sunchon.ac.kr

틸렌 감수성에 따라 신품종의 저장성이 결정되는 것이 보고된 바 있다(Park, 2009). 참다래의 과실무름병은 병원균들이 포장에서 감염되어 과실에 잠복해 있다가 수확 후 저장이나 후숙 과정에서 과실을 부패시킨다. 병원균으로는 *Botryosphaeria dothidea*(참다래 과숙썩음병원균), *Diaporthe actinidiae*(참다래 꼭지썩음병원균), *Botrytis cinerea*(참다래 잿빛곰팡이병원균) 등이 알려졌다(Pennycook, 1985; Koh *et al.*, 2003a, 2003b). 그러나 과실무름병에 대한 품종별 감수성 정도에 대해서는 보고된 바 없다. 본 연구에서는 국내에서 육종된 신품종의 과실무름병에 대한 감수성을 '헤이워드' 품종과 비교하여 조사하고 병원균의 검출 빈도를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 과실무름병 발병률 조사

우리나라 주요 참다래 재배지인 제주도 소재(서귀포시 대정읍 안성리 55) 한 농가의 동일한 포장에서 재배된 참다래 4품종을 대상으로 실험을 수행하였다. 실험에 사용된 참다래는 비닐하우스 시설을 갖춘 포장에서 동일한 조건으로 재배된 것들로 품종별 과실 수는 '한라골드' 98개, '제시골드' 99개, '제시스위트' 98개, '헤이워드' 119개였다. 조사 대상 품종 중에서 '한라골드', '제시골드', '제시스위트'는 국립 원예특작과학원 온난화대응농업연구센터에서 육종한 신품종이다. 과실은 수확 후 0 ± 1°C의 저장고에 보관되어 있는 것을 사용하여 후숙 과정을 거친 후 발병여부를 조사하였다. 후숙은 멸균된 종이판에 과실을 격리시켜 넣은 후 20°C에서 10일 동안 시켰다. 후숙시킨 과실을 육안으로 외부 병징을 확인하고 껍질을 제거한 다음 내부 병징을 조사하였다.

과실무름병원균의 분리

병든 조직을 0.5 × 0.5 cm 크기로 잘라 낸 다음 4등분한 뒤 70% 에탄올에서 30초, 60초, 90초, 120초 동안 담갔다. 멸균수에서 30초간 세척하였다. 세척된 조각은 멸균된 여과지로 물기를 제거한 뒤 30 µg/ml의 streptomycin이 함유된 PDA배지(potato dextrose agar)에 치상하여 25°C에서 3일간 배양하였다. 필요에 따라 동일한 PDA배지에서 계대배양을 시킴으로써 병원균을 순수분리하였다.

균학적 방법에 의한 병원균 동정

분리한 병원균을 동정하기 위하여 포자를 현미경으로 관찰하고 그밖에 형태적 특성 및 일반적인 균학적 특성을 조사하여 기존에 발표된 병원균의 특성과 비교하여 동정하였다(Punithalingam and Holiday, 1973; Ellis and Waller, 1974; Sommer and Beraha, 1975; Ellis, 1977).

분자생물학적 방법에 의한 동정

균학적 방법으로 일차적으로 동정된 병원균들의 ITS(internal transcribed spacer)부위의 염기서열을 분석함으로써 균학적 방법을 통한 동정 결과를 확정하였다. 각 단계별 실험 방법은 다음과 같다.

DNA 추출

각 그룹의 대표균주로부터 DNA를 추출을 위하여 Vandemark 등(2000)의 방법을 변형하여 사용하였다. 요약하면 다음과 같다. 균사체를 potato dextrose broth (Difco)에 접종하여 25°C에서 3일 동안 진탕배양 후 12,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 균사체를 얻었다. 균사체를 액체질소에서 갈아 분말화 시켰다. 분말화 된 균사체 1 µg에 추출 완충용액(200 mM Tris [pH 8.0], 250 mM NaCl, 25 mM EDTA, 0.5% SDS) 3 ml을 넣고 2분간 세차게 흔들어서 주었다. 원심분리한 뒤 얻어진 상층액에 동량의 phenol/chloroform/isoamylalcohol(25:24:1)을 넣어 액상층을 얻고, 다시 한 번 동량의 chloroform/isoamylalcohol(24:1)로 DNA가 포함된 액상층을 얻었다. 0.5배 양의 7.5 M ammonium acetate와 3배 양의 95% 에탄올로 DNA를 침전 시킨다음 마지막으로 70% 에탄올로 세척 한 뒤 TE용액(10 mM Tris, 1 mM EDTA [pH 8.0])에 녹였다.

PCR을 통한 ITS의 증폭

ITS부위의 증폭을 위하여 프라이머 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990)를 사용하였다. PCR 반응액은 주형 DNA 1 µl, *Taq* polymerase(Bioneer. Co) 1.25 µl(2 units), 10×PCR buffer 5 µl(100 mM Tris-HCl, 25 mM MgCl₂, 500 mM KCl, pH 8.0), 각 1 µl(20 pM)의 primer ITS1, ITS4에 0.2 mM의 deoxyribonucleoside triphosphates를 넣고 증류수로 최종 반응용액의 부피를 50 µl로 조절하였다.

PTC-150 Mini Cycler(Takara Co.)를 사용하여 증폭하였으며, 반응 조건은 94°C에서 5분간 전 처리 한 후, 94°C에서 30초간 DNA의 변성, 57°C에서 1분간 primer의 결합, 72°C에서 1분간 DNA의 합성을 30회 반복하고 마지막 연장반응은 72°C에서 7분간 실시하였다. 증폭된 PCR산물은 1% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다.

ITS 염기서열의 결정 및 분석

PCR 산물은 AccuPrep PCR purification Kit(Bioneer Co.)를 사용하여 제조사가 제시한 방법에 따라 정제하였다. 염기서열의 분석은 제노텍(Daejeon, Korea)에 의뢰하여 결정하였다. 결정된 염기서열은 ChromasPro program(<http://www.technelysium.com.au/>)로 확인한 후 Phydit program(<http://plaza.snu.ac.kr/~jchun/phydit/>)을 사용하여 정돈하였다. 염기서열의 상동성은 Basic Local Alignment Search Tool(Blast) program(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>)을 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

참다래 품종별 과실무름병 발병률

제주도에 소재한 동일한 포장에서 채집한 참다래를 후숙시킨 후 발생한 과실무름병의 발병률은 Table 1과 같다. 참다래 과실무름병의 발병률은 후숙 후 과실의 외부와 내부에 나타나는 병징의 유무로 조사하였다. 조사한 결과 과실무름병의 발병률은 참다래 품종에 따라 뚜렷한 차이를 보였다. ‘헤이워드’가 119개 중 89개에서 발병되어 74.8%의 가장 높은 발병률을 보였다. 그 다음으로 ‘한라골드’(65.3%), ‘제시스위트’(57.1%) 순이었다. ‘제시골드’는 16.2%로 조사가 이루어진 품종 중에서 발병률이 가장 낮아 과실무름병에 대해 가장 큰 저항성을 나타내었다.

Table 1. Occurrence of postharvest fruit rots during ripening in four kiwifruit cultivars

| Kiwifruit cultivar | Halla-Gold | Jecy-Gold | Jecy-Sweet | Hayward |
|---------------------------|------------|-----------|------------|---------|
| Number of fruits surveyed | 98 | 99 | 98 | 119 |
| Number of diseased fruits | 64 | 16 | 56 | 89 |
| Occurrence rate (%) | 65.3 | 16.2 | 57.1 | 74.8 |

참다래 과실무름병균 검출 빈도

*Botryosphaeria dothidea*에 감염된 과실은 외부에 움푹 들어간 병징을 보였다. 내부 병징은 다른 부위와 구별되는 핵을 중심으로 동심원상으로 병반이 형성되어 조직이 물러졌다. PDA에서 7일 동안 배양하면 흰색의 균총이 발달하게 되고 중심부부터 검게 변하여 전체적으로 검은색이 되었다(Fig. 1A). 포자는 11.6~30.5 × 2.9~7.1 μm 크기로 투명하고 타원형이며 격막이 없었다. 이러한 결과는 Punithalinram과 Holiday(1973)가 기술한 *B. dothidea*의 특징과 일치하였다.

*Diaporthe actinidiae*에 감염된 과실은 과육이 물러져 진물이 흐르다가 흰색 균사로 덮이게 된다. 과실 내부 병징은 전체가 물러지면서 과육이 갈라져 흡이 파인 형태가 되었다. PDA 배지 상에서 균총은 전체적으로 흰색이고 많은 수의 기중균사를 보였다(Fig. 1B). 분생포자각에서 α-conidia와 β-conidia, 자낭, 자낭포자의 형태와 크기를 관찰하였다. α-conidia 형태는 투명하고 격막이 없는 난형이며 크기는 3.1~9.0 × 1.4~6.6 μm였다. β-conidia는 투명하고 선형이며 한쪽 끝이 구부러진 모양을 하고 있으며 크기는 12.0~25.8 × 1.0~2.1 μm였다. 자낭의 형태는 곤봉형으로 이중막이었으며, 크기는 22.8~40.0 × 5.3~14.1 μm였다. 자낭 안의 자낭포자는 격막이 있고 타원형이나 방추형의 형태이며, 크기는 7.9~14.9 × 3.9~7.9 μm였다. 이러한 결과는 Sommer와 Beraha(1975)이 기술한 *D. actinidiae*의 특징과 일치하였다.

*Botrytis cinerea*는 PDA배지에서 초기에는 흰색이었던 균사가 시간이 지나면서 회색을 거쳐 연한 갈색으로 변하였다(Fig. 1C). 분생포자는 난형이고 크기는 6.3~16.9 × 3.9~12.1 μm였다. 이러한 결과는 Ellis와 Waller(1974)가 기술한 *B. cinerea*의 특징과 일치하였다. 그러므로 참다래 과실무름병의 주요 병원균은 아니지만 많은 작물에 저장병

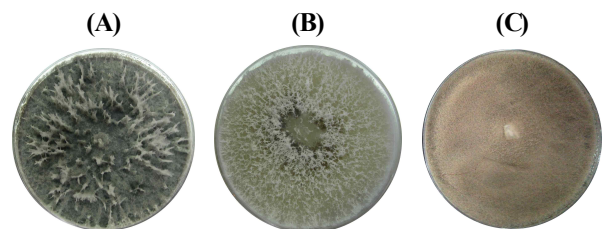


Fig 1. Mycelial colony of 7-day-old culture of *Botryosphaeria dothidea* (A), *Diaporthe actinidiae* (B) and *Botrytis cinerea* (C) on potato dextrose agar.

Table 2. Detection rates for major pathogens recovered from rotten fruits of four kiwifruit cultivars

| Kiwifruit cultivars | Number of diseased fruits | Detection rates (%) | | |
|---------------------|---------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------|
| | | <i>Botryosphaeria dothidea</i> | <i>Diaphorthe actinidiae</i> | <i>Botrytis cinerea</i> |
| Halla-Gold | 57 | 100 (57/57) | 0 | 0 |
| Jecy-Gold | 16 | 87.5 (14/16) | 6.3 (1/16) | 6.3 (1/16) |
| Jecy-Sweet | 56 | 96.4 (54/56) | 1.8 (1/56) | 5.4 (3/56) |
| Hayward | 89 | 93.3 (83/89) | 9.0 (8/89) | 1.1 (1/89) |
| Total | 218 | 95.4 (208/218) | 4.6 (10/218) | 2.3 (5/218) |

Table 3. Similarity of ITS sequences of the pathogens isolated from rotten fruits of the kiwifruit cultivars

| Pathogens | Similarity |
|--------------------------------|-----------------|
| <i>Botryosphaeria dothidea</i> | 100% (528/528) |
| <i>Diaphorthe actinidiae</i> | 99.6% (527/529) |
| <i>Botrytis cinerea</i> | 99.6% (479/481) |

을 일으키는 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)도 참다래 과실무름병에 관여하는 것을 알 수 있었다.

ITS(internal transcribed spacer)부위의 염기서열 분석결과는 Table 3과 같다. *B. dothidea*의 염기서열은 보고된 염기서열과 100% 일치하였으며, *D. actinidiae*와 *B. cinerea*의 염기서열은 각각 99.6%의 상동성을 보여 분자생물학적 방법에 의한 동정결과와 균학적 동정결과가 일치하였다. 따라서 우리나라에서 육성된 신품종 참다래에 발생하는 과실무름병의 주요 병원균은 과숙썩음병균(*B. dothidea*)과 꼭지썩음병균(*D. actinidiae*)이며 소수의 잣빛곰팡이균(*B. cinerea*)임을 알 수 있었다.

과실무름병이 나타난 과실에서 분리한 218개 곰팡이 균주 중 *B. dothidea*가 208개로 전체의 95.4%를 차지하였다. 그 다음이 *D. actinidiae*(4.6%), *B. cinerea*(2.3%) 순이었다(Table 2). ‘제시스위트’ 품종에서 2개, ‘헤이워드’ 품종에서 3개 과실에서는 *D. actinidiae*와 *B. cinerea* 두 균주가 한 과실에서 동시에 발견되었다. 품종에 관계없이 *B. dothidea*가 가장 많이 분리되어 이 균이 조사된 품종에서 과실무름병의 주요 병원균임을 알 수 있었다. 이러한 결과는 우리나라

에서 재배된 ‘헤이워드’를 대상으로 이루어진 선행연구에서 과실무름병 병원균의 검출률이 *B. dothidea*가 83.3%, *D. actinidiae*는 11.9%, *B. cinerea*가 1.4%였던 연구결과와 유사한 양상을 보였다(Koh *et al.*, 2003b; Koh *et al.*, 2005).

결론적으로, 우리나라에서 육성된 품종을 포함한 조사된 참다래 4개 품종 중 ‘제시골드’가 다른 품종에 비해 과실무름병에 대한 저항성이 가장 강하였다. 주요 병원균은 전체 분리균주의 95.4%를 차지한 *B. dothidea*였다.

적 요

참다래 품종 ‘헤이워드’와 우리나라에서 육성된 품종인 ‘한라골드’, ‘제시골드’, ‘제시스위트’를 동일한 조건에서 재배한 후 후숙 과정에서 발생하는 과실무름병의 발병률을 조사하였다. 발병률은 품종에 따라 큰 차이를 보였다. 품종별 발병률은 ‘헤이워드’ 74.8%, ‘한라골드’ 65.3%, ‘제시스위트’ 57.1%, ‘제시골드’ 16.2% 순으로 조사된 품종 중 ‘제시골드’가 과실무름병에 대한 저항성이 가장 컸다. 병반 부위에서 218개 균주를 분리하여 동정한 결과 과실무름병을 일으키는 병원균은 *Botryosphaeria dothidea*, *Diaphorthe actinidiae*, *Botrytis cinerea*의 세 종류로 밝혀졌다. 각 병원균의 검출률은 각각 95.4%, 4.6%, 2.3%로 *B. dothidea*가 과실무름병의 주요 병원균이었다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: 20110404-302-572-001-08-00)의 지원에 의해 이루어진 것임.

인용문헌

- Cui, Z.X. 1993. *Actinidia* in China. Shandong Scientific Press, Jinan, China.
- Ellis, M.B. 1977. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Surrey, UK.
- Ellis, M.B. and J.M. Waller. 1974. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria, No. 431. Commonwealth Mycological Institute, Surrey, UK.
- Kim, C.H., S.C. Kim, E.Y. Song, N.Y. Ro, M. Kim, K.H. Kang, K.C. Jang, and S.J. Chun. 2009. A new kiwifruit, ‘Jecy Sweet’ with high soluble content. Korean J. Hort.

- Sci. Technol. 27:325-328 (in Korean).
- Kim, C.H., S.C. Kim, K.C. Jang, E.Y. Song, M. Kim, D.Y. Moon, K.C. Seong, J.S. Lee, H.D. Suh, and K.J. Song. 2007a. A new kiwifruit cultivar, "Jecy Gold" with yellow flesh. Korean J. Breed. Sci. 39:258-259.
- Kim, C.H., S.C. Kim, K.C. Jang, E.Y. Song, N.Y. Ro, D.Y. Moon, J.S. Lee, and K.C. Seong. 2007b. A new kiwifruit cultivar, "Jecy Green". Korean J. Breed. Sci. 39:508-509.
- Kim, H.J., H. Yang, H.J. Hong, W.Y. Kang, D.G. Kim, S.C. Kim, K.J. Song, D. King, C.H. Han, and Y. J. Lee. 2010. Neuroprotective effects of Korean kiwifruit against *t*-BHP-induced cell damage in PC12 cells. Korean J. Plant Res. 23:165-171 (in Korean).
- Kim, S.C., K.C. Jang, E.Y. Song, K.H. Kim, Y.H. Jung, M. Kim, S.J. Oh, and S.C. Koh. 2004. Development of universal primers for phylogenetic analysis and species-specific band identification in the genus *Actinidia*. Korean J. Plant Res. 17:107-115 (in Korean).
- Koh, Y.J., J.G. Lee, D.H. Lee, and J.-S. Hur. 2003a. *Botryosphaeria dothidea*, the causal organism of ripe rot of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) in Korea. Plant Pathol. J. 19:227-230.
- Koh, Y.J., J.G. Lee, J.-S. Hur, and J.S. Jung. 2003b. Incidences and causal agents of postharvest fruit rots in kiwifruits in Korea. Res. Plant Dis. 9:196-200 (in Korean).
- Koh, Y.J., J.-S. Hur, J.S. Jung. 2005. Postharvest fruit rots of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) in Korea. New Zealand J. Crop Hort. Sci. 33:303-310.
- Kwack, Y.B., H.S. Choi, W.B. Chae, and M.I. Jeong. 2010. 'Skinny Green', a novel hairless green-fleshed baby kiwifruit. Korean J. Hort. Sci. Technol. 28:708-710.
- Kwack, Y.B. and Y.S. Park. 2007. Kiwifruit, In J.M. Lee, G.W. Choi, and J. Janick (eds.). Horticulture in Korea. Kor. Soc. Hort. Sci. Press, Suwon, Korea. pp. 244-249 (in Korean).
- Liang, C.F. 1984. *Actinidia*, In: K.M. Feng (eds.) Flora reipublicae popularis sinicae. Vol. 49(2). Beijing Science Press, Beijing, China, pp. 196-268.
- Park, Y.S. 2009. Storability of new kiwifruit cultivar bred in Korea. Korean J. Hort. Sci. Technol. 27: 123-127 (in Korean).
- Pennycook, S.R. 1985. Fungal fruit rots of *Actinidia deliciosa* (kiwifruit). New Zealand J. Exp. Agric. 13:289-299.
- Punithalingam, E. and P. Holiday. 1973. *Botryosphaeria ribis*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria No. 395. Commonwealth Mycological Institute, Surrey, UK.
- Sommer, N.F. and L. Beraha. 1975. *Diaporthe actinidiae*, a new species causing stem-end rot of Chinese gooseberry fruits. Mycologia 67:650-653.
- Vandemark, G.J., J.M. Kraft, R.C. Larsen, M.A. Gritsenko, and W.L. Boge. 2000. A PCR-based assay by sequence-characterized DNA markers for the identification and detection of *Aphanomyces euteiches*. Phytopathology 90: 1137-1144.
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee, and J.W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White (eds.). PCR Protocols: A guide to methods and applications. Academic Press, New York, USA, pp. 315-322.

(접수일 2011.6.10; 수정일 2011.7.15; 채택일 2011.9.20)