

Note Open Access

Sclerotium rolfsii에 의한 수세미오이 흰비단병

권진혁* · 김진우¹ · 이용환² · 심홍식³

경상남도농업기술원, ¹경상대학교 농업생명과학연구원, ²농촌진흥청, ³국립농업과학원

Sclerotium Rot of Sponge Gourd Caused by *Sclerotium rolfsii*

Jin-Hyeuk Kwon*, Jinwoo Kim¹, Yong Hwan Lee² and Hong-Sik Shim³

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

¹Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

²Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

³National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

(Received on December 30, 2011; Revised on February 10, 2012; Accepted on March 13, 2012)

Sclerotium rot of sponge gourd occurred at the experimental field of Gyeongsangnam-do Agricultural Research and Extension Services in August 2010. The infected fruits showed water-soaked and rot symptoms. White mycelial mats spread over lesions, and then sclerotia were formed on fruit and near soil line. The sclerotia were globoid in shape, 1-3 mm in size and white to brown in color. The optimum temperature for mycelial growth and sclerotia formation on PDA was 30°C and the hyphal width was 4-8 μm. The typical clamp connections were observed in the hyphae of the fungus grown on PDA. On the basis of mycological characteristics, ITS rDNA sequence analysis, and pathogenicity to host plants, this fungus was identified as *Sclerotium rolfsii* Saccardo. This is the first report of sclerotium rot on sponge gourd caused by *S. rolfsii* in Korea.

Keywords : *Sclerotium rolfsii*, Sclerotium rot, Sponge gourd

수세미오이(*Luffa cylindrica* ROEM)는 박과(*Cucurbitaceae*)에 속하며 열대 아시아 원산지로 덩굴식물로서 재배되고 있으며 어릴 때 식용으로 이용하며 성숙한 것은 섬유질의 망상조직을 해면으로 이용하고 가을철에 수액을 화장수로 사용한다(Lee, 2003).

2010년 8월중 경상남도농업기술원 시험포장에 심어 놓은 수세미오이에서 과실이 부패되는 이상 증상을 관찰하였다. 포장에서 조사한 결과 성숙한 수세미오이의 과실이 토양 표면에 닿는 부위에서 흰색의 곰팡이와 갈색의 작은 둥근 균핵이 관찰되었다. 병든 식물체를 채집하여 병원균을 순수 분리하여 병원균의 균학적 특징과 병원성을 검정한 결과 *Sclerotium rolfsii* Saccardo에 의한 수세미오이 흰비단병으로 동정되었다.

지금까지 우리나라에서 수세미오이 흰비단병에 대한 병해 발생 보고는 없다(The Korean Society of Plant Pathology, 2009). 따라서 본 연구에서는 수세미오이에 발생한 흰비단병의 병징과 병원균의 균학적 특징 및 병원성 조사 결과를 보고한다.

병징. 수세미오이의 과실에 발생하여 수침상으로 물러지고 갈변하면서 썩는다. 성숙한 과실이 토양표면에 닿은 부분에서 흰색의 곰팡이가 생기고 균사체는 시간이 경과함에 따라 갈색의 작은 둥근 균핵을 많이 형성하였다(Fig. 1A).

발생환경. 2010년 경상남도농업기술원 시험포장에 심어 놓은 수세미오이가 생육 중기 이후 왕성하게 자라나 덩굴이 서로 엉켜져 통풍과 채광이 부족한 상태로 재배되었다. 또한 생육 중 과실이 비대하여 덩굴이 늘어져 과실이 토양표면에 닿은 부분에서 수침상으로 무르는 증상이 나타났으며, 장마기 이후 온도와 습도가 알맞게 유지되었을 때 더 심하게 발생하였다. 과실에 발생할 경우 흰

*Corresponding author

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

(Email) kwon825@korea.kr

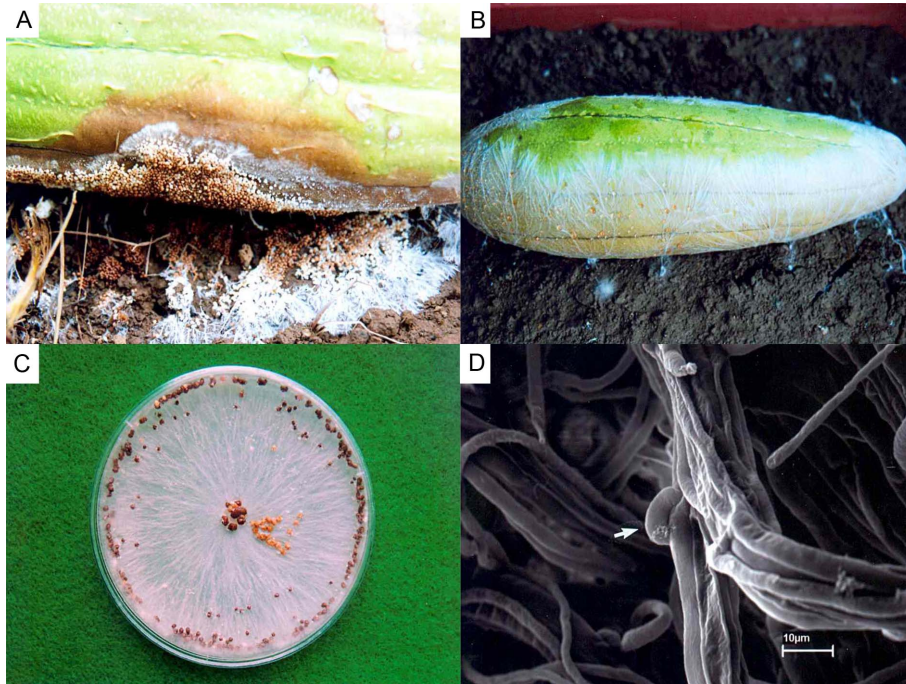


Fig. 1. Symptoms of fruit rot of sponge gourd (*Luffa cylindrica*) and mycological characteristics of the pathogenic fungus, *Sclerotium rolfsii*. **A:** Typical symptom in the field, **B:** Symptoms induced by artificial inoculation, **C:** Mycelial mats and sclerotia produced on PDA after 18 days of incubation, **D:** Clamp connection (arrow).

색의 균사체와 균핵이 형성되기 때문에 육안으로 쉽게 관찰이 가능하다.

병원균 분리 및 균학적 특성. 수세미오이에서 발생한 흰비단병의 병원균을 분리하기 위하여 병든 식물체를 채집하였고 건전부와 병반 경계 부위의 조직을 3×3 mm 크기로 자른 다음 1% NaOCl 용액으로 1 min 표면소독한 후 멸균수에 3회 세척하였다. 알콜램프에 화염 소독한 거름종이를 이용하여 물기를 완전히 제거한 후 무균상 안에서 페트리디쉬 안에 넣고서 24시간 보관하였다. 감자한천배지 위에 옮겨 25°C 항온기내에서 4일간 배양한 후 자라 나온 균사를 다시 감자한천배지 위에 옮겨 30°C 항온기 내에서 20일동안 배양하고 분리균의 균학적 특성을 조사하였다(Table 1).

감자한천배지 위에서 균층은 흰색이며 균사가 솜털처럼 왕성하게 자라며 흰색의 균핵 시원체가 형성되고 배양시간이 길어짐에 따라 지름 1-3 mm의 작고 둥근 갈색 균핵을 많이 형성하였다(Fig. 1C). 균사생육 및 균핵 형성 적온은 30°C이었다. 5일간 배양한 균층에서 광학현미경으로 균사 특유의 clamp connection 형태를 관찰할 수 있었다(Fig. 1D). 균사의 폭은 4-9 µm이었다.

병원성 검증. 2011년 8월에 건전한 과실 9개를 준비하여 1% NaOCl 용액으로 표면 소독을 한 다음 병원성을 검증하였다. 접종원은 다음과 같이 준비하였다. 가는

Table 1. Comparison of mycological characteristics of an isolate obtained from sponge gourd (*Luffa cylindrica*) and *Sclerotium rolfsii* described previously

Characteristics		Present isolate	<i>S. rolfsii</i> ^a
Colony	color	white	white
	size	4-9 µm	4.5-9 µm
Hypha	clamp connection	present	present
	size	4-9 µm	4.5-9 µm
Sclerotium	shape	globoid	spherical
	size	1-3 mm	1-2 mm
	color	white to brown	brown

^aDescribed by Mordue (1974).

체(2.0 mm)로 친 토양을 고압 멸균기에 30분간 5일 간격으로 3회 멸균하였다. 감자한천 배지에 7일간 배양한 균층 30개를 수거하여 플라스틱 용기(56×35×13 cm)에 넣고 멸균한 흙 3 kg과 잘 섞은 다음 골고루 잘게 마쇄하였다. 유리 온실에서 10일간 건조시킨 후 상온에서 보관하면서 필요시 접종원으로 사용하였다. 접종은 갈색 사카플라스틱 바트(32×26×2 cm)에 멸균한 토양 2 kg을 바닥에 깔고 골고루 정지한 다음 준비된 전염원 500 g을 수세미오이 놓을 부분에 살포하였다. 토양이 건조하지 않게 하기 위해 물 500 ml를 토양 표면에 충분히 적신 다음 수세미오이 2개를 전염원 위에 올려놓았다. 접종한 수세미오이

는 20 l 비닐봉지 안에 넣은 후 공기가 잘 통하도록 끝부분을 느슨하게 묶은 다음 실온에 두고서 발병을 유도하면서 관찰하였다. 접종 4일 후 수세미오이가 수침상으로 물러지면서 부패가 되고 갈색으로 변하였다. 접종부위에 솜털모양의 흰색 균사가 왕성하게 자라면서 균핵 시원체가 생기고 시간이 경과됨에 따라 다시 갈색의 작은 둥근 균핵이 많이 형성되었다. 토양표면에도 균사와 갈색의 균핵이 많이 형성되어 흰비단병 특유의 병징이 나타났다 (Fig. 1B).

ITS 염기서열 분석. 병원균 동정을 확정하기 위해 White 등(1990)이 사용한 프라이머 ITS1(5'-TCCGTAGGTG AACCTGCGG-3')과 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 사용하여 ITS(internal transcribed spacer) rDNA 부분을 PCR로 증폭하였다. PCR 조건은 최종농도 10 mM Tris-HCl(pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 200 nM dNTPs이고 10 pmol의 프라이머와 0.1 unit의 rTaq DNA polymerase(Takara)를 사용하였으며, 50 µl로 반응용량을 맞추었다. PCR 반응조건은 predenaturation(98°C, 2 min), denaturation(98°C, 30 Sec), annealing(60°C, 30 Sec), extension (72°C, 30 Sec), total cycle(30 cycles), final extension(72°C, 4 min) 등이었으며, 증폭된 PCR 산물은 0.8% agarose gel 에서 전기영동 후, ethidium bromide로 염색하여 UV transilluminator에서 밴드를 확인하였다. 확인된 밴드는 QIAquick PCR purification kit(Qiagen)를 사용하여 분리 정제하였고 pGEM-T Easy 클로닝 벡터(Promega)에 클로닝한 후 M13F와 M13R 프라이머를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 염기서열은 ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit(PE Biosystems, Foster, CA, USA)를 이용하여 결정하였다. 병원 곰팡이의 분자적인 동정을 위해 ITS rDNA 영역의 염기서열(684-bp)을 BLASTN 프로그램을 이용하여 분석하였으며 난 흰비단병(GenBank accession no. GQ358518)과 옥잠화 흰비단병을 일으키는 *S. rolfsii*(GenBank accession no. HM355751)와 99%의 상동성을 나타내었다.

이상과 같이 병원균의 균학적 특성, 병원성, ITS 염기서열 분석 결과, Mordue(1974)가 보고한 *Sclerotium rolfsii*와 일치하였으며, 최근에 양파 흰비단병(Kwon 등, 2011), 부추 흰비단병(Kwon 등, 2011), 초석잠 흰비단병(Kwon 등, 2011)에 발생 보고한 병징과 균학적 특징이 일치하였다. 따라서 본 연구에서 얻어진 결과를 가지고 이 병을 *S. rolfsii* Saccardo에 의한 수세미오이 흰비단병으로 명명하고자 한다. 수세미오이에서 분리한 *S. rolfsii*은 농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터 미생물은행(KACC 45437)에 균주등록을 하였다.

요 약

경상남도농업기술원 시험포장에서 *S. rolfsii*에 의한 수세미오이 흰비단병 증상이 발생하였다. 병징은 과실이 수침상으로 무르고 갈색으로 변하면서 썩는다. 병반부와 토양 표면에 흰색의 곰팡이가 발생하며 갈색의 작은 둥근 균핵이 형성되었다. 감자한천배지에서 균총은 흰색이고 잘 자라며 배양기간이 경과됨에 따라 갈색의 작은 둥근 균핵을 많이 형성하였다. 균핵의 크기는 1-3 mm이며 균사의 폭은 4-9 µm였다. 균사생육과 균핵 형성 적온은 30°C이었다. 균사특유의 clamp connection이 관찰되었다. 수세미오이에서 발생한 병징과 병원균의 균학적 특징, 그리고 ITS rDNA 염기서열 비교분석 결과, 이 병을 *Sclerotium rolfsii* Saccardo에 의한 수세미오이 흰비단병으로 명명하고자 제안한다.

Acknowledgement

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., Kim, H. D., Choi, O. H., Kwak, Y. S., Lee, Y. H. and Shim, H. S. 2011. Sclerotium rot of onion caused by *Sclerotium rolfsii*. *Res. Plant Dis.* 17: 222-224. (In Korean)
- Kwon, J. H., Kang, D. W., Song, W. D. and Choi, O. H. 2011. Occurrence of sclerotium rot in *Allium tuberosum* caused by *Sclerotium rolfsii* in Korea. *Mycobiology* 39: 230-232.
- Kwon, J. H., Kang, D. W., Lee, S. T., Choi, O. H. and Shen, S. S. 2011. Stem rot of *Stachys sieboldii* caused by *Sclerotium rolfsii* in Korea. *Res. Plant Dis.* 17: 399-401. (In Korean)
- Lee, T. B. 2003. Coloured flora of Korea (1). Hyangmoonsa. 914 pp. Seoul, Korea. (In Korean)
- Mordue, J. E. M. 1974. *Sclerotium rolfsii*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No. 410. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- The Korean Society of Plant Pathology. 2009. List of plant diseases in Korea. 5th ed., Suwon, Korea. 853 pp. (In Korean)
- White, T. J., Bruns, T. Lee, S. and Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A guide to methods and applications, ed. by M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White, pp. 315-322. Academic Press Inc., New York, USA.