

## *Alternaria mali*에 의한 아로니아 점무늬낙엽병

# *Alternaria* Leaf Spot Caused by *Alternaria mali* on Black Chokeberry in Korea

함수상\* · 권미경 · 김병련 · 한광섭 · 남윤규

충남농업기술원 농업환경과

**\*Corresponding author**Tel: +82-41-635-6112  
Fax: +82-41-635-7923  
E-mail: hahmsoo@korea.kr**Soo-Sang Hahm\*, Mi-Kyung Kwon, Byung-Ryun Kim, Kwang-Seop Han, and Yun-Gyu Nam**

Agricultural Environment Research Division, Chungnam Agricultural Research and Extension Services, Yesan 32418, Korea

In early June 2014, leaf spot symptoms were observed on black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) in Yesan-gun and Geumsan-gun, Chungcheongnam-do in Korea. The initial symptoms on leaf surfaces were brown small-circular spots with a yellow halo lesion, and gradually the small spots were fused, all of infected leaves dropped eventually. A fungus were isolated from the initial lesion, and cultured on potato dextrose agar. Colony color on upper surface of plate varied from olive gray to charcoal gray. Size of conidia mostly extend to 19–50×5–9 μm in nature and 20–59×8–13 μm in culture, with 3–8 transverse septa and usually no longitudinal septum or only 1 longitudinal septum in 1–3 of the transverse compartments, and also have a short or long beak. Pathogenicity was investigated using wounded or unwounded black chokeberry and apple leaves. After 7 days of inoculation, leaf spots were similar to the symptoms naturally occurred in the field. On the basis of mycological characteristics, pathogenicity, and ITS rDNA sequence analysis, this fungus was identified as *Alternaria mali*. This is the first report of *Alternaria* leaf spot on black chokeberry caused by *A. mali* in Korea.

**Keywords:** *Alternaria* leaf spot, *Alternaria mali*, *Aronia*, *Aronia melanocarpa*Received October 22, 2015  
Revised December 17, 2015  
Accepted February 22, 2016

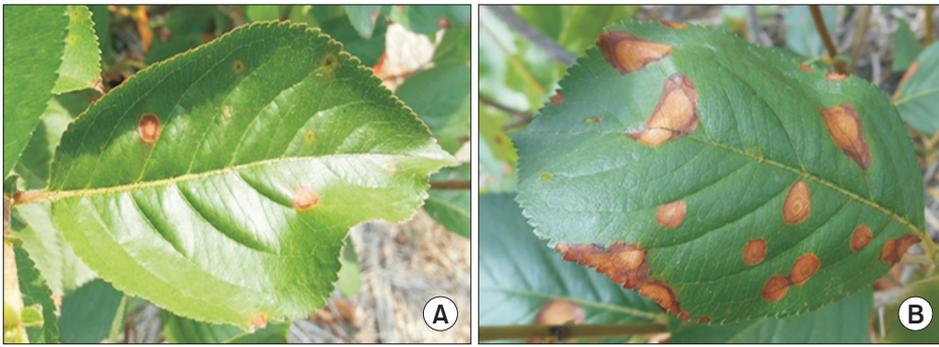
아로니아는 신소득 유망작물로 전국 재배면적은 336.4 ha로 추정하고 있으며, 최근 몇 년 동안 지속적으로 재배면적이 증가하고 있는 추세이다. 하지만 지금까지 아로니아에 발생하는 병해에 대한 기초조사는 전무한 상태로 병해 발생 시 그에 따른 대책을 마련하기 어려운 실정이다.

2014년 6월 초 충남 예산과 금산의 농가포장에서 재배 중인 아로니아에서 점무늬낙엽병으로 의심되는 증상이 관찰되었다. 처음 병징은 잎에 갈색의 작은 점무늬가 생기고 확대되면서 둥근 겹무늬를 형성하였고, 암갈색으로 변하면서

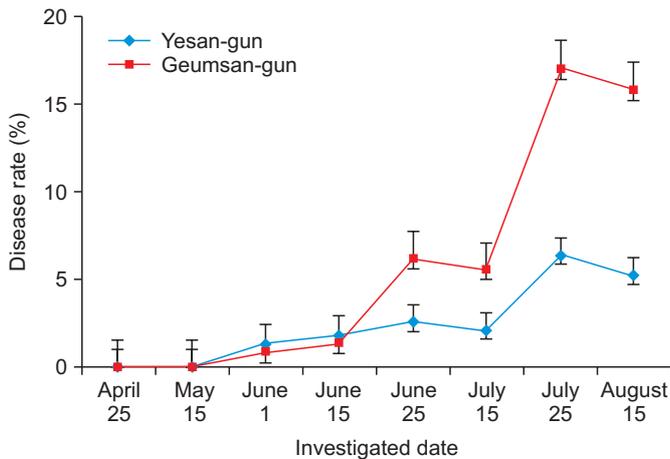
심해지면 잎 전체에 병반이 확대되면서 떨어지는 증상이 관찰되었다(Fig. 1). 균 동정을 위해 포장에서 채집한 잎의 병반으로부터 병원균을 순수 분리하여 균학적인 특성과 병원성 검정 및 ITS 염기서열을 분석하였다.

**병 발생 조사.** 아로니아 점무늬낙엽병 발생 조사는 2014년 4월 말부터 8월 중순까지 충남의 아로니아 주산단지인 예산군 신암면과 금산군 부리면 일대를 대상으로 하였다. 발병률은 포장별 30주를 지정, 주당 60엽을 관찰하여 병징을 보이는 개체를 모두 합한 다음 조사 개체수로 나누어 발병률로 계산하였다.

$$\text{발병률(\%)} = (\text{발병 개체수} / \text{총 조사 개체수}) \times 100$$
**Research in Plant Disease**©The Korean Society of Plant Pathology  
pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191



**Fig. 1.** Symptoms of *Alternaria* leaf spot on black chokeberry caused by *Alternaria mali*. (A) Initial and advanced symptoms of infection on leaves. (B) Severe symptoms.



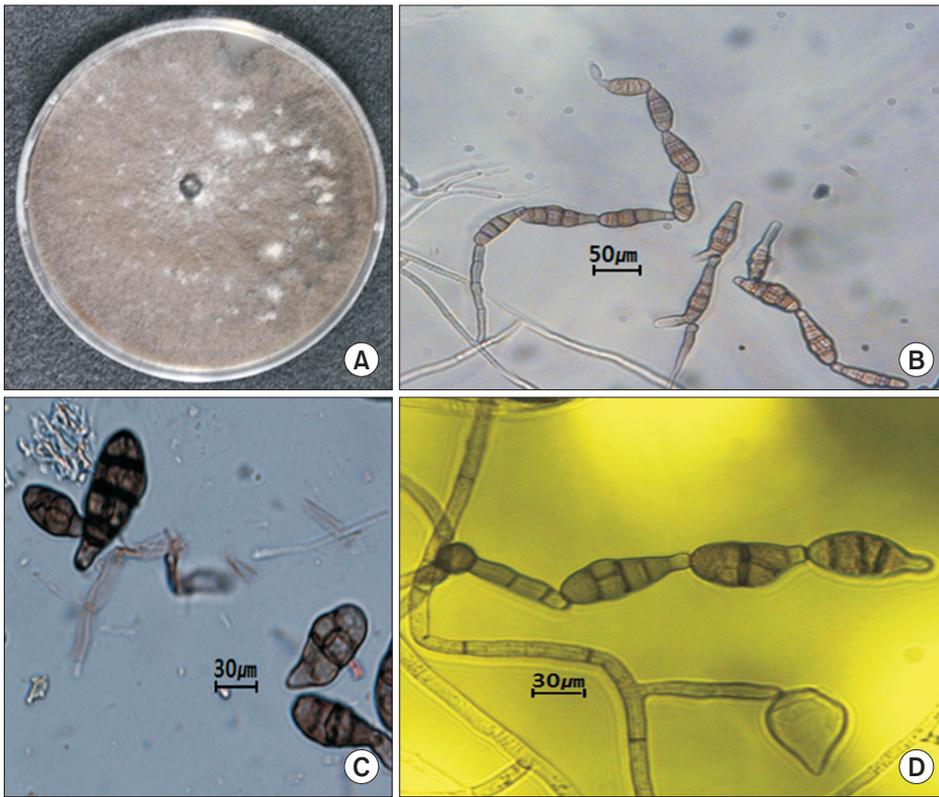
**Fig. 2.** Occurrence period of *Alternaria* leaf spot on black chokeberry.

조사 지역인 예산군과 금산군에서의 점무늬낙엽 증상은 모두 6월 초에 처음 발생하였으며, 6월 중하순부터 급격히 진전되어, 7월 하순에는 최고로 발생하여 예산과 금산에서 각각 6.4%, 17.2%의 발병률을 나타내었다(Fig. 2). 금산 지역의 발병률이 예산 지역에 비해 월등히 높게 조사된 것은 금산 지역 아로니아 재배농가 대부분은 친환경 무농약으로 재배하였기 때문으로 생각된다.

**병원균 분리 및 특성.** 병원균을 분리하기 위해 채집된 병든 조직을 병반 부위와 건전 부위가 1:1이 되도록 0.5×0.5 mm 크기로 잘라 70% 에탄올에 30–60초간 침지한 후 멸균수로 씻은 다음 1% NaOCl 용액으로 1분간 표면 소독하고 멸균수에 3회 세척한 후 멸균된 필터페이퍼로 수분을 제거하였다. 표면 소독된 조직은 물한천배지(water agar) 위에 올려놓고 25°C 항온기에 24시간 동안 배양한 다음, 병든 조직에 형성된 균사의 끝부분을 떼어 내어 다시 감자한천배지(potato dextrose agar medium, PDA)에 옮겨 7일간 배양하여 병원균 동정 및 병원성 검정에 사용하였다. PDA상에서 균사 생육은

매우 빠르며, 균총은 초기에는 옅은 올리브색을 띄지만 배양 후기에는 짙은 올리브색과 검정 색깔을 나타내었다(Fig. 3A). 포장에서 감염된 잎과 PDA에서 분리한 분생포자 크기는 각각 19–50×5–9 μm, 20–59×8–13 μm이고 길거나 짧은 부리를 가지며, 분생자경의 끝에 1–3개의 분생포자가 형성되었다. 분생포자는 3–8개의 횡경막을 보이고, 종경막은 없거나 1–3번째 횡경막 내에 1개의 종경막이 형성되었는데(Fig. 3B, C, Table 1), 이는 예산 지역 사과 점무늬낙엽병에 걸린 잎에서 분리한 균(Fig. 3D)과 형태적으로 일치하였다. 이상과 같이 아로니아 잎에서 분리한 병원균을 배양하여 균학적인 특성을 조사한 결과 Roberts (1914, 1924)가 기술한 *Alternaria mali*와 거의 일치하였고, 또한 Bulajic 등(1996)이 사과나무 점무늬낙엽병에서 분리한 병원균과도 일치하였다.

**병원성 검정.** 분리된 병원균에 의한 아로니아 점무늬낙엽병의 병원성을 검정하기 위하여 충남농업기술원 아로니아 과원에서 재배 중인 건전하게 보이는 개체로부터 잎을 떼어 사용하였다. *A. mali*를 접종원으로 사용하기 위해 PDA에서 7일간 배양한 균체에 멸균수를 넣고 쉐일 스크래퍼로 균사와 포자를 현탁하여 가아제로 거른 다음 2×10<sup>7</sup> conidia/ml 농도로 분생포자 현탁액을 만들어 접종원으로 사용하였다. 병원성 검정에 사용된 아로니아 품종은 '바이킹'으로 3년생이며, 잎의 뒷면에 바늘 끝을 이용한 상처 접종, 무상처 접종으로 나누어 인공접종을 하였다. 접종은 배양된 포자현탁액 10 μl를 잎 뒷면에 떨어뜨린 후 일정한 습도가 유지되는 stainless plate에 넣고 7일간 배양하고 발병 유무를 조사하였다. 접종 3일 후 상처 접종한 줄기 표면이 수침상으로 물러지면서 썩기 시작하였으며, 시간이 경과함에 따라 자연발생한 병징과 유사한 병징이 잎에 나타났다. 무상처 접종의 경우는 접종 후 7일이 경과하였을 때부터 상처 접종하였을 때와 동일한 형태의 진행과 병징을 관찰할 수 있었다(Fig. 4A). 한편 아로니아에서 분리한 병원균을 사과 잎(품종: 홍로, 후지)

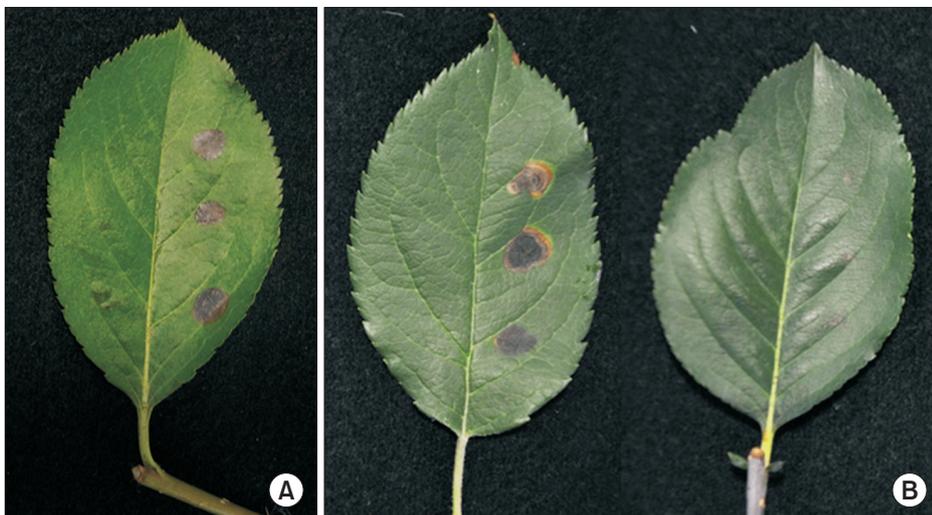


**Fig. 3.** Morphological characteristics of *Alternaria mali* isolated from black chokeberry and apple. (A) Mycelial mats on potato dextrose agar medium 14 days after inoculation. (B, C) Conidia and conidiophores (black chokeberry). (D) Conidia and conidiophores (apple).

**Table 1.** Mycological characteristics of an isolate obtained *Alternaria* leaf spot of black chokeberry compared with *Alternaria mali* described previously

Characteristic		Present isolate	<i>A. mali</i> isolated from apple*
Colony	Color	Brownish-grey to blackish-grey	Brownish-grey to blackish grey
Conidium	Size in nature (µm)	19–50×5–9	18–55×5–12
	Size in culture (µm)	20–59×8–13	15–65×8–20
	No. of transverse septa	3–8	3–8
	No. of longitudinal septa	0–1	0–1
Conidiophores	Size (µm)	2–4×20–90	2–4×20–90

\*Described by Roberts (1914) (*J. Agri. Res.* 2: 57-66) and Roberts (1924) (*J. Agri. Res.* 27: 699-708).



**Fig. 4.** Symptoms induced by artificial inoculation. (A) Black chokeberry. (B) Apple (left, 'Hongro'; right, 'Fuji').

에 각각 접종하여 AM 독소 생성 여부를 확인한 결과, 홍로에서는 뚜렷한 병징이 나타난 반면 후지에서는 어떠한 형태의 병징도 관찰할 수 없었다(Fig. 4B). *Alternaria*속 균주들은 형태적으로 매우 유사하여 특정한 형태학적인 상이성을 현미경으로 구분하기 매우 어려우므로 Pryor와 Michailides (2002) 및 Gilchrist와 Grogan (1976)은 *A. mali*는 사과에, *A. gaisen*은 배에, *A. logipes*는 담배에, *A. alternata*는 딸기에, *A. citri*는 감귤에, *A. alternata* f. sp. *lycopersici*는 토마토에 각각 병원성을 나타내는 기주 특이적 특성으로 분류하기도 하고, *A. mali*의 경우 AM 독소 생산 여부에 따라 *A. alternata* f. sp. *mali* (Yoon 등, 1989)로 기술하고 있거나 *A. alternata* apple pathotype (Johnson 등, 2000)으로 기술되기도 하였다.

**ITS 염기서열 분석.** 아로니아에서 분리된 병원균은 계통분석을 하기 위해 ITS 1과 ITS 4 primer를 이용하여 rDNA의 ITS 영역을 증폭하였다. 분석된 ITS 염기서열(546 bp)은 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 GenBank에 등록(기탁번호 KU301746)하였고 BLAST를 이용하여 염기서열을 비교 분석한 결과, GenBank에 등록되어 있는 *A. mali* (KT154012), *Alternaria* sp. (KR822138), *A. alternata* (KM268870)의 ITS 염기서열과 100% 상동성을 보였다. 하지만 Roberts 등 (2000)은 소형의 포자를 형성하는 *Alternaria*를 먼저 형태적인 그룹으로 나누고, 그 그룹을 대상으로 random amplified polymorphic (RAPD) DNA-PCR 분석을 실시한 결과, 각각의 형태적인 종 그룹은 서로 독립된 cluster를 이루어 rDNA 영역의 염기서열 분석에서 나타난 형태적으로 나눈 그룹 간 동일한 염기서열을 보인 것과 상반된 결과를 보였다. 또한 Kim 등(2005)의 보고에서도 *A. mali*를 포함한 소형의 포자를 형성하는 *Alternaria*종들을 대상으로 universal rice primer (URP)-PCR 핵산지문분석을 실시할 경우, 비록 중간 유사도는 높았지만 각각의 종은 독립된 cluster를 형성하여 종간 구별이 가능하였다. 이는 *Alternaria*종들은 형태적 특성이나 병원성 등과 같이 종 고유의 특성을 가지고 있다는 것이다. Simmons (1990, 1995)는 소형의 포자형성 *Alternaria*의 분류에서 분생포자의 형태적인 특징 외에 포자사슬 형성양상을 비교하면 유사 종간의 차이를 구별할 수 있다고 하였는데, 아로니아에서 분리한 병원균 또한 이와 같은 특징이 일치하였고, 사과의 품종(홍로, 후지) 간에 특이적인 병원성이 발현되었다. 이상의 결과와 Roberts 등(2000)과 Kim 등(2005)의 URP-PCR 핵산지문분석에 관한 결과를 종합하여 볼 때 병원균은 *A. mali*로 기술하는 것이 타당할 것으로 생각되며, 따라서 이 병은 *A. mali*에 의한 아로니아 점무늬낙엽병으로 명

명하고자 한다.

## 요 약

2014년 6월 초 충남 예산과 금산의 농가포장에서 재배 중인 아로니아에서 점무늬낙엽병으로 의심되는 증상이 관찰되었다. 초기에는 잎에 갈색의 작은 점무늬가 생기고 이것이 확대되면서 둥근 겹무늬를 형성하고, 암갈색으로 변하였다. 그리고 병세가 심해지면 잎 전체에 병반이 확대되면서 떨어지는 증상이 관찰되었다. 병든 아로니아 잎에서 분리한 병원균은 PDA에 배양하였을 때 균체는 올리브 회색과 진한 회색으로 다양한 색을 나타내었다. 포장에서 감염된 잎과 PDA에서 분리한 분생포자의 크기는 각각 19-50×5-9 μm, 20-59×8-13 μm이고, 길거나 짧은 부리를 가지며, 분생자경의 끝에 1-3개의 분생포자가 형성되었으며, 3-8개의 횡경막을 보이고 종경막은 없거나 1-3번째 횡경막 내에 1개 형성되었다. 병원성 검정 결과, 접종 7일 후 아로니아와 사과 모두에서 자연발생한 병징과 동일하게 관찰되었다. 이상 병원균의 형태적 특성, 병원성 검정과 ITS rDNA 염기서열 비교분석 결과를 토대로 아로니아에서 분리한 병원균은 *A. mali*로 동정하였고, 이 병을 아로니아 점무늬낙엽병으로 명명하였다.

## References

- Bulajic, A., Fladjic, N., Babovic, M. and Sutton, T. B. 1996. First report of *Alternaria mali* on apples in Yugoslavia. *Plant Dis.* 80: 709.
- Gilchrist, D. G. and Grogan, R. G. 1976. Production and nature of a host-specific toxin from *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology* 66: 165-171.
- Johnson, R. D., Johnson, L., Kohmoto, K., Otani, H., Lane, C. R. and Kodama, M. 2000. A polymerase chain reaction-based method to specifically detect *Alternaria alternata* apple pathotype (*A. mali*), the causal agent of *Alternaria* blotch of apple. *Phytopathology* 90: 973-976.
- Kim, B. R., Park M. S., Cho, H. S. and Yu, S. H. 2005. Molecular characterization of small-spored *Alternaria* species. *Res. Plant Dis.* 11: 56-65. (In Korean)
- Pryor, B. M. and Michailides, T. J. 2002. Morphological, pathogenic, and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of pistachio. *Phytopathology* 92: 406-416.
- Roberts, J. W. 1914. Experiments with apple leaf spot fungi. *J. Agri. Res.* 2: 57-66.
- Roberts, J. W. 1924. Morphological characters of *Alternaria mali*. *J. Agri. Res.* 27: 699-708.
- Roberts, R. G., Reymond, S. T. and Andersen, B. 2000. RAPD fragment pattern analysis and morphological segregation of small-

- spored *Alternaria* species and species groups. *Mycol. Res.* 104: 151-160.
- Simmons, E. G. 1990. *Alternaria* themes and variation (27-53). *Mycotaxon* 37: 79-119.
- Simmons, E. G. 1995. *Alternaria* themes and variation (112-144). *Mycotaxon* 55: 55-163.
- Yoon, J. T., Park, S. D., Park, D. O. and Lee, J. T. 1989. Effects of meteorological factors on the occurrence of *Alternaria* leaf spot caused by *Alternaria alternata* f. sp. *mali*. *Korean J. Plant Pathol.* 5: 312-316. (In Korean)