

RESEARCH NOTE

머귀나무에서 녹병균 *Coleosporium zanthoxyli*의 확인

신현동^{1*}, 최영준², 이충규³, 이호상⁴, 최원일⁴

¹고려대학교 환경생태공학부, ²군산대학교 생물학과, ³경남과학기술대학교 산림자원학과, ⁴국립산림과학원 난대아열대산림연구소

Confirmation of *Coleosporium zanthoxyli* on *Zanthoxylum ailanthoides* in Korea

Hyeon-Dong Shin^{1*}, Young-Joon Choi², Chong-Kyu Lee³, Ho-Sang Lee⁴, Won-Il Choi⁴

¹Division of Environmental Science and Ecological Engineering, Korea University, Seoul 02841, Korea

²Department of Biology, Kunsan National University, Gunsan 54150, Korea

³Department of Forest Resources, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Korea

⁴Warm-Temperate and Subtropical Forest Research Center, National Institute of Forest Science, Seogwipo 63582, Korea

*Corresponding author: hdshin@korea.ac.kr

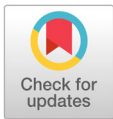
ABSTRACT

A previous record of *Coleosporium phellodendri* on *Zanthoxylum ailanthoides* in Korea by Korean researchers was regarded as *C. zanthoxyli* by foreign scientists without further studies. To clarify the identity of a *Coleosporium* species occurring on *Z. ailanthoides* in Korea, we examined the morphological characteristics of eight materials and analyzed the internal transcribed spacer (ITS) and 28S large subunit (LSU) rDNA regions of three representative specimens which were collected in Korea and deposited in the Mycological Herbarium at Korea University (Seoul, Korea). All specimens collected in Korea were morphologically and molecularly determined to be *C. zanthoxyli*. Therefore, this is the first confirmed report on the presence of *C. zanthoxyli* on *Z. ailanthoides* in Korea.

Keywords: *Coleosporium phellodendri*, *Coleosporium zanthoxyli*, Identification, Phylogeny, *Zanthoxylum ailanthoides*

서론

머귀나무(*Zanthoxylum ailanthoides* Siebold & Zucc.)는 운향과(Rutaceae)에 속하는 낙엽성 소교목으로 한국, 일본, 대만, 필리핀, 중국 등지에 분포한다[1]. 우리나라에서는 주로 남부 도서지역과 울릉도에 분포하며, 특히 제주도에서는 주요한 수종의 하나이다[2]. 머귀나무에서 알려진 곰팡이는 크게



OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249

Kor. J. Mycol. 2019 March, 47(1): 83-88
<https://doi.org/10.4489/KJM.20190010>

Young-Joon Choi
<https://orcid.org/0000-0002-0909-4723>

Received: January 30, 2019

Revised: March 6, 2019

Accepted: March 8, 2019

© 2019 THE KOREAN SOCIETY OF MYCOLOGY.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

4부류인데, 뒷면흰가루병균(*Phyllactinia* sp.), 점무늬병균류(*Pseudocercospora fagarina*, *Septoria* sp.), 목재부후균류(*Trametes gibbosa*, *Tubulicrinis glebulosus*, *Vesiculomyces luridus*), 그리고 녹병균류(*Aecidium zanthoxyli*, *A. zanthoxyli-schinifolii*, *Coleosporium zanthoxyli*, *Puccinia andropogonis* var. *zanthoxyli*)이다[3].

이 중에서 *Coleosporium zanthoxyli*는 지금까지 아시아에 분포하는 총 23종(변종 포함)의 산초나무속(*Zanthoxylum* spp.) 식물의 녹병균으로만 알려져 있다[3,4]. 즉, 아시아에서 산초나무속 식물에서 여름포자/겨울포자 세대를 형성하는 녹병균은 모두 *C. zanthoxyli*로 알려져 있다[3,4]. 머귀나무 녹병균도 *C. zanthoxyli*로 일본, 중국, 대만에서 기록되었다[3,4]. 그런데, 예외적으로 한국의 머귀나무에서만 *Coleosporium phellodendri*가 녹병균으로 보고되었다[5]. 이러한 상황은 머귀나무 녹병균의 정체성에 혼란을 줄 수도 있다. 게다가, Back 등[5]이 분석하여 GenBank에 등록한 머귀나무(*Z. ailanthoides*) 녹병균 시료 1점이 울릉도에서 채집된 것이므로 내륙에서 채집된 머귀나무의 녹병균에 대한 추가적인 검토가 필요하다고 판단된다. 또한, Back 등[5]이 채집한 시료는 표본보관소에 수장되지 않아 추적이 불가능한 상태이다. 따라서 우리나라에 존재하는 머귀나무 녹병균의 수집 및 분류학적 재검토가 필요하다고 판단하였다. 이에 따라, 저자들은 고려대학교 진균표본실에 보존된 머귀나무 녹병균을 형태적으로 검토하고 분자적으로 분석하여 종 수준으로 동정하여 보고한다.

표본 내역

고려대학교 식물표본보관소(KUS)에 총 11점의 머귀나무 녹병균이 보존되어 있다. 보존된 시료는 KUS-F18150 (21 Nov 2000, 제주, 한라수목원), F23484 (5 Jul 2008, 제주, 선홍꽃자왈), F29478 (20 Sep 2016, 서귀포, 난대아열대산림연구소 서귀포시험림), F29610 (20 Oct 2000, 제주, 연동), F29673 (11 Nov 2016, 서귀포, 서흥동), F29706 (29 Nov 2016, 제주, 연동), F30298 (31 Oct 2017, 제주, 한라수목원), F30404 (23 Nov 2017, 제주, 사라봉), F30579 (9 Jun 2018, 제주, 절물자연휴양림), F30721 (11 Jul 2018, 제주, 용담동), F30819 (18 Oct 2018, 제주, 한라수목원) 등이다.

녹병균의 형태적 특징

보존된 표본시료를 맨눈으로 관찰하여 발병 부위와 표징을 파악하였고, 때로는 해부현미경으로 정확한 관찰을 도왔다. 녹병균의 분류학적 특성을 파악하고 크기를 측정하기 위해서 명시야광학현미경(BX51; Olympus, Tokyo, Japan)을 사용하였다. 광학현미경 사진은 미분간섭현미경(Axio Imager; Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)을 이용하여 촬영하였다. 또한, 녹병균의 미세구조를 관찰하기 위해서 주사전자현미경(JSM-5410LV; JEOL, Japan)을 이용하여 사진을 촬영하였다.

여름포자더미(uredinium)는 모두 잎 뒷면에 형성되었으며, 노란색 내지 주황색이었으며, 다소 돌출되었으며, 직경은 대부분 100~300 μm 의 범주에 들며 때로는 직경 600 μm 에 이르는 하나의 큰 여름포자더미 주변으로 작은 여름포자더미가 둥글게 분포하는 독특한 양식을 나타냈다(Fig. 1). 여름포자(uredinospore)는 매우 짧거나 거의 흔적에 가까운 꼭지(pedicle)가 있으며, 거꾸로계란형 내지 밀이 좁아지는 장타원형이며, 20~42 x 16~28 μm (자연건조 상태)로 담황색이었다. 여름포자의 세포벽 두께는 약 2~3 μm 이며, 표면에 미세한 돌기가 분포하였다. 표면돌기는 1.0~1.5 μm 의 폭에 1.0~2.5 μm 의 높이를 가졌으며 포자 위쪽에 더 많이 분포하였다(Fig. 1). 본 연구기간 동안 겨울포자 세대는 채집되지 않았으며, 11월 하순에 채집된 시료에서도 겨울포자의 형성 흔적을 찾을 수 없었다. 이러한 모든

형태적 특징은 기존에 *Zanthoxylum* spp.에서 보고된 *C. zanthoxyli*의 기재와 일치하였다[4].

염기서열 분석

고려대학교 표본실에 보존되어 있는 머귀나무 녹병균 시료 3점(KUS-F23484, F29478, F30298)을 대상으로 ITS 및 LSU rDNA 영역의 염기서열을 분석하였다. Aime [6]의 방법에 따라 건조 시료에서 채취한 여름포자에서 genomic DNA를 추출하였고, ITS 영역은 ITS5u와 ITS4rust 프라이머[7], LSU 영역은 LR0R와 LR6 프라이머[8]를 사용하여 PCR로 증폭시켰다. 증폭된 각각의 PCR 산물을 전기영동을 통하여 확인한 후에 염기서열을 분석하기 위하여 마크로젠(Macrogen, Seoul, Korea)에 의뢰하였다. 분석된 염기서열은 DNASTAR computer package 7.1 (Lasergene; DNASTAR, Madison, WI, USA)를 이용하여 정리하였으며, 이들을 NCBI (National Center for Biotechnology Information)의 GenBank에 등록하였다(기탁번호: ITS 영역 MK447124-MK447126, LSU 영역 MK447127-MK447129).BLASTn을 이용하여 GenBank에 등록되어 있는 염기서열과 비교한 결과,

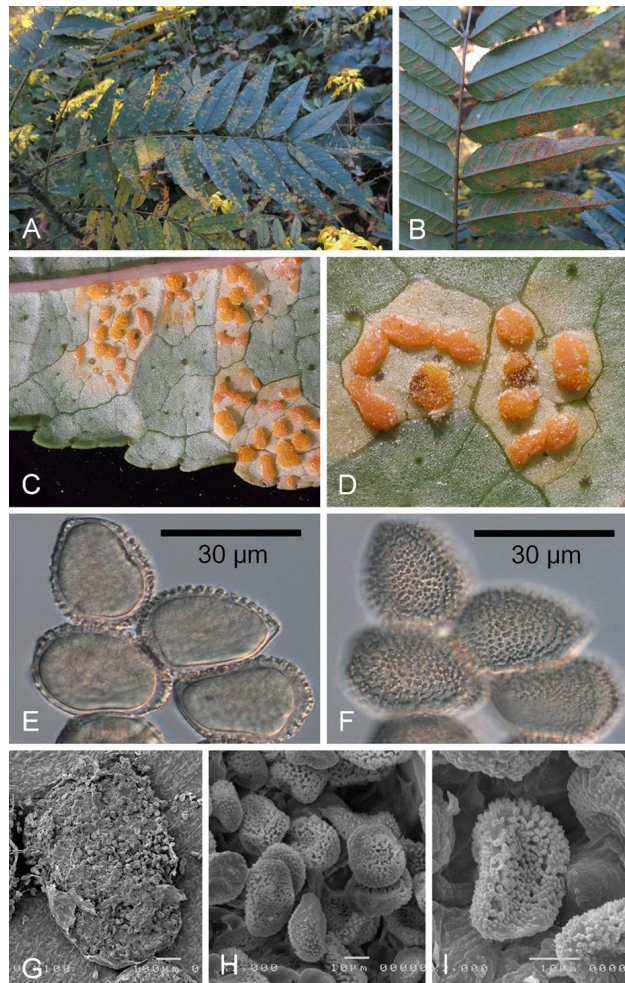


Fig. 1. *Coleosporium zanthoxyli* occurring on *Zanthoxylum ailanthoides*. A, Symptoms appeared on the upper surface of the leaves. B, Uredinia formed on the lower surface of the leaves. C and D, Close-up view of erumpent uredinia. E and F, Urediniospores observed at different focal planes. G, Uredinium observed under scanning electron microscope. H and I, Urediniospores observed under scanning electron microscope.

ITS 영역의 염기서열은 중국의 머귀나무 녹병균 *C. zanthoxyli* (MG561456) 및 다른 *Zanthoxylum* spp.에서 발생한 *C. zanthoxyli*의 염기서열(MG561457-MG561460, KX376017-KX376019)과 일치하였다. LSU 영역의 염기서열은 베트남의 *Zanthoxylum avicennae* (MF769698) 및 한국의 개산초(*Zanthoxylum planispinum*; MH460677-MH460678)에 기록된 *C. zanthoxyli*의 염기서열과 99% 이상의 상동성을 보였다. *Zanthoxylum-Coleosporium*의 분자계통학적인 관계를 명확하게 확인하기 위하여 MEGA7 프로그램[9]을 이용하여 Minimum Evolution 방법으로 ITS 염기서열의 대한 계통수를 작성하였다(Fig. 2). 그 결과, 한국의 머귀나무 녹병균 시료 3점은 중국의 *Zanthoxylum* spp.에서 채집한 *C. zanthoxyli*와 100% 신뢰도지수를 가지고 한 그룹으로 묶였으나, *C. phellodendri*과는 낮은 계통학적 유연관계를 보였다.

고찰

산초나무속(*Zanthoxylum*)은 운향과에 속하며 약 225종을 포함하는 큰 분류군이며 열대부터 아열대 지역에 주로 분포하지만 일부는 온대 지역에 적응한 종도 있다[1,10]. 우리나라에는 머귀나무(*Z. ailanthoides*), 왕초피나무(*Z. coreanum*), 좀머귀나무(*Z. fauriei*), 초피나무(*Z. piperitum*), 개산초(*Z.*

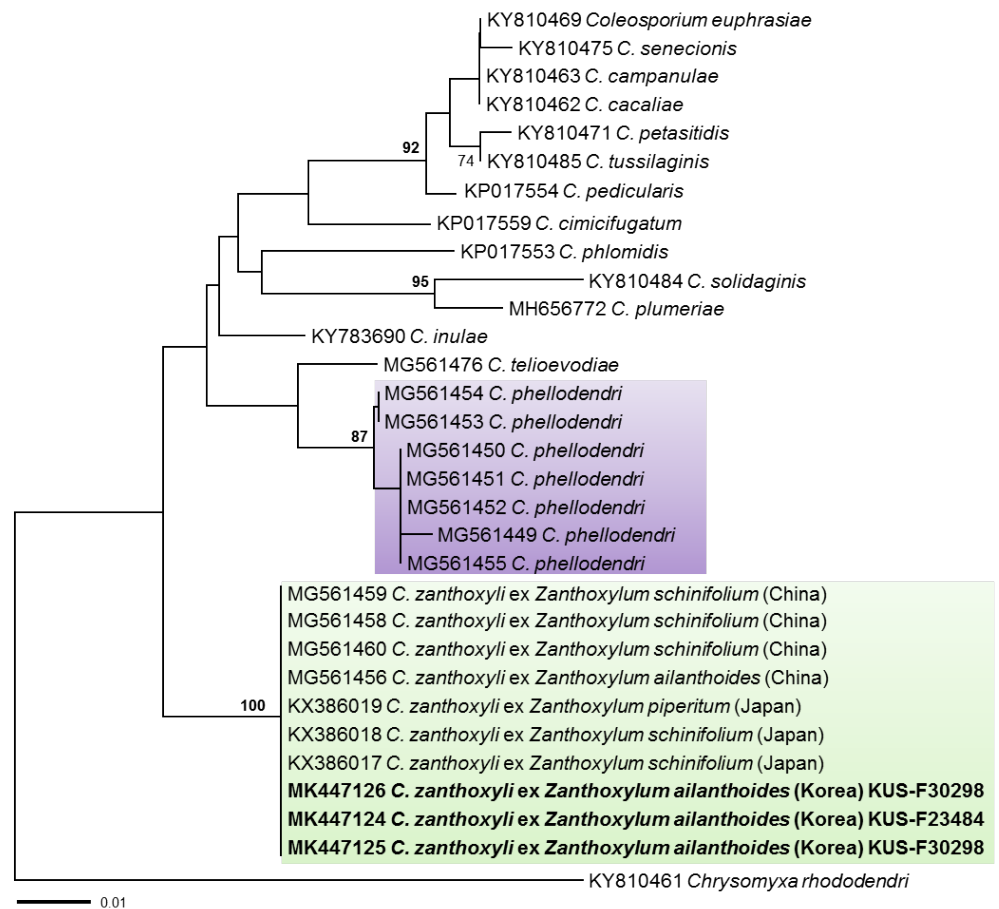


Fig. 2. Minimum evolution tree of *Coleosporium* species based on ITS rDNA sequences. Bootstrapping support values higher than 70% are given above the branches. The Korean specimens are shown in bold. The scale bar equals the number of nucleotide substitutions per site.

planispinum), 산초나무(*Z. schinifolium*) 등 6종이 분포하며, 변종 또는 품종으로 털초피나무, 민산초나무, 좁산초나무 등이 있으며, 도입종으로서 미국초피(*Z. americanum*), 클라비헤르쿨리스초피(*Z. clava-herculis*), 시물란스초피(*Z. simulans*)가 있다[국가표준식물목록, <http://www.nature.go.kr/kpni>]. 우리나라에서 기록된 이들 식물의 녹병으로는 산초나무 녹병, 머귀나무 녹병, 그리고 개산초 녹병이 있다[3,11]. 산초나무 녹병[12,13]과 개산초 녹병[11]은 *C. zanthoxyli*에 의한 것으로 보고되었으며, 머귀나무 녹병[5]은 *C. phylloendri*로 기록되었다. 따라서 본 연구를 통하여 우리나라에서 발생하는 머귀나무 녹병은 다른 *Zanthoxylum* spp.의 녹병과 마찬가지로 *C. zanthoxyli*에 의한 것임을 증명하였다.

본 연구를 기반으로 하여 우리나라에 분포하는 다른 종의 *Zanthoxylum*에서도 녹병균이 채집되어 동정되기를 기대한다. 왕초피나무는 한국에만 분포하는 특산종이므로 외국에서 녹병의 기록은 없다. 좁머귀나무 녹병은 일본에서, 초피나무 녹병은 일본과 중국에서 각각 *C. zanthoxyli*가 녹병균으로 보고되었다[3]. 한편, 도입종으로서 미국초피에는 미국에서 *Aecidium zanthoxyli*가 녹병균으로, 시물란스초피에는 중국과 대만에서 *C. zanthoxyli*가 각각 녹병균으로 기록되었다[3]. 따라서 우리나라에 자생하거나 도입된 *Zanthoxylum* spp.에 발생하는 녹병균을 지속적으로 모니터링할 필요가 있다고 판단된다.

적요

한국 학자들에 의해 머귀나무의 녹병균이 *Coleosporium phellodendri*로 보고되었으나, 추가적인 연구 없이 외국 학자들에 의해 이 녹병균이 *C. zanthoxyli*로 기록되었다. 한국에서 머귀나무 녹병균의 정체성을 밝히기 위하여, 한국에서 채집되어 고려대학교 진균표본보관소에 보존된 8개 시료를 형태적으로 검경하고 대표적인 3개 시료의 internal transcribed spacer (ITS) 및 28S large subunit (LSU) rDNA 의 염기서열을 분석하였다. 그 결과, 한국의 머귀나무 녹병균은 형태적으로나 분자적으로 *C. zanthoxyli*로 동정하는 것이 옳다고 결정되었다. 따라서 이 연구를 통하여 머귀나무에 녹병균 *C. zanthoxyli*가 존재한다는 사실을 처음으로 보고한다.

REFERENCES

1. Appelhans MS, Reichelt N, Groppo M, Paetzold C, Wen J. Phylogeny and biogeography of the pantropical genus *Zanthoxylum* and its closest relatives in the proto-Rutaceae group (Rutaceae). *Mol Phylogenet Evol* 2018;126:31-44.
2. Lee YN, Lee KS, Shin YM. Wild plants of Jeju island. Seoul: Yeomiji; 2001.
3. Farr DF, Rossman AY. Fungal databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA [Internet]. Beltsville: Systematic Mycology and Microbiology Laboratory; 2018 [cited 2018 Jul 25]. Available from: <https://nt.ars-grin.gov/fungaldbases/>.
4. Hiratsuka N, Sato S, Katsuya K, Kakishima M, Hiratsuka Y, Kaneko S, Ono Y, Sato T, Harada Y, Hiratsuka T, et al. The rust flora of Japan. Tsukuba: Tsukuba Shuppankai; 1992.
5. Back CG, Nam GY, Kyukyuwin N, Lee SY, Kang IK, Lee SC, Jung HY, Ohga S. Characterization of *Coleosporium phellodendri* causing rust disease on Japanese prickly-ash tree. *J Fac Agric Kyushu Univ* 2012;57:379-82.
6. Aime MC. Toward resolving family-level relationships in rust fungi (Uredinales).

- Mycoscience 2006;47:112-22.
7. Beenken L, Zoller S, Berndt R. Rust fungi on Annonaceae II: the genus *Dasyscypha* Berk. & M.A. Curtis. *Mycologia* 2012;104:659–81.
 8. Vilgalys R, Hester M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *J Bacteriol* 1990;172:4238-46.
 9. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol* 2016;33:1870-4.
 10. Zhu H, Huang YJ, Ji XP, Su T, Zhou ZK. Continuous existence of *Zanthoxylum* (Rutaceae) in Southwest China since the Miocene. *Quatern Intl* 2016;392:224-32.
 11. Shin HD, Jeon CH, Choi WI, Lee CK. First report of rust caused by *Coleosporium zanthoxyli* on *Zanthoxylum planispinum* in Korea. *Plant Dis* 2019;103:371.
 12. Hiratsuka N. Uredinales collected in Korea. V. *Bot Mag Japan* 1942;56:53-61.
 13. Lee SK, Kim KH, Lee CK, Kim DY, Hwang JH. Morphological features of *Coleosporium zanthoxyli* and its alternate host in Korea. *Res Plant Dis* 2004;10:279-84.