

*Fusarium oxysporum*에 의한 파프리카 잘록병

First Report of *Fusarium oxysporum* Causing Damping-off on Paprika in Korea

***Corresponding author**

Tel: +82-63-238-6312

Fax: +82-63-238-6305

E-mail: mijpark@korea.kr

박미정* · 백창기 · 서윤희 · 박종한

농촌진흥청 국립원예특작과학원 원예특작환경과

Mi-Jeong Park*, Chang-Gi Back, Yunhee Seo, and Jong-Han Park*Horticultural and Herbal Crop Environment Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Wanju 55365, Korea*

Received April 3, 2019

Revised May 14, 2019

Accepted June 10, 2019

In February 2019, a damping-off disease occurred at the seedling stage of paprika in a commercial nursery located in Cheorwon, Korea. A species of *Fusarium* was isolated from the diseased plant and it was identified as *Fusarium oxysporum* based on morphological characteristics and nucleotide sequence data of translation elongation factor 1- α and the largest subunit of RNA polymerase. The isolate obtained was revealed to be pathogenic to the host plant through pathogenicity tests, and the reisolation of the pathogen confirmed Koch's postulates. This is the first report of damping-off caused by *Fusarium oxysporum* on paprika in Korea.

Keywords: *Capsicum annuum*, damping-off, *Fusarium oxysporum*, paprika, sweet pepper

파프리카(paprika, bell pepper)는 고추(*Capsicum annuum* L., pepper)의 한 종류로서 형태적으로 종 모양의 특징을 가지며, 맛이 달아 단고추(sweet pepper)라고도 부르는 가지과(Solanaceae) 과채류이다. 파프리카는 2017년 국내 생산면적이 712 ha로써 2007년 생산면적인 320 ha에 비해 큰 폭으로 증가하였으며, 2017년 생산량은 78,000톤으로 2007년 생산량인 29,000톤과 비교해 크게 늘어났다(Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, 2018). 파프리카는 국내 시설 과채류 중에서 대표적인 수출 작물로 주로 일본으로 수출되고 있으며, 2017년 국내 파프리카 생산량 78,000톤 중에서 수출량이 35,000톤으로 수출 비중은 약 45%인 것으로 나타났다(Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs and Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation, 2018).

잘록병(damping-off)은 전 세계적으로 다양한 작물의 유묘 단계에서 나타나는 병으로 기주작물과 원인균에 따라 5~80%의 피해가 발생하는 것으로 보고되어 있다(Lamichhane 등, 2017). 잘록병은 여러 종류의 식물병원성 곰팡이에 의해 발생할 수 있으나, 특히 *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp.이 잘록병의 주요 원인균으로 알려져 있다(Lamichhane 등, 2017).

2019년 2월에 철원의 한 육묘장에서 파종하여 재배 중인 파프리카(품종: 요리트) 유묘의 30% 정도에서 잘록병과 유사한 증상이 나타나 유묘가 시들어 죽는 피해가 발생하였다. 이러한 피해는 파프리카 유묘의 자엽이 전개된 시기에 나타났다. 주로 유묘의 지제부가 갈변하고 잘록해지는 증상이 관찰되었으며 뿌리도 갈변하여 생육이 불량하였다. 대부분의 감염 식물체는 서있지 못하고 쓰러졌으며, 잎이 시드는 증상을 나타내기도 하였다(Fig. 1A-B). 병든 식물체로부터 원인균을 순수 분리하여 *Fusarium*속에 속하는 곰팡이 균주를 획득하였다. 형태적 특성

Research in Plant Disease

pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

www.online-rpd.org

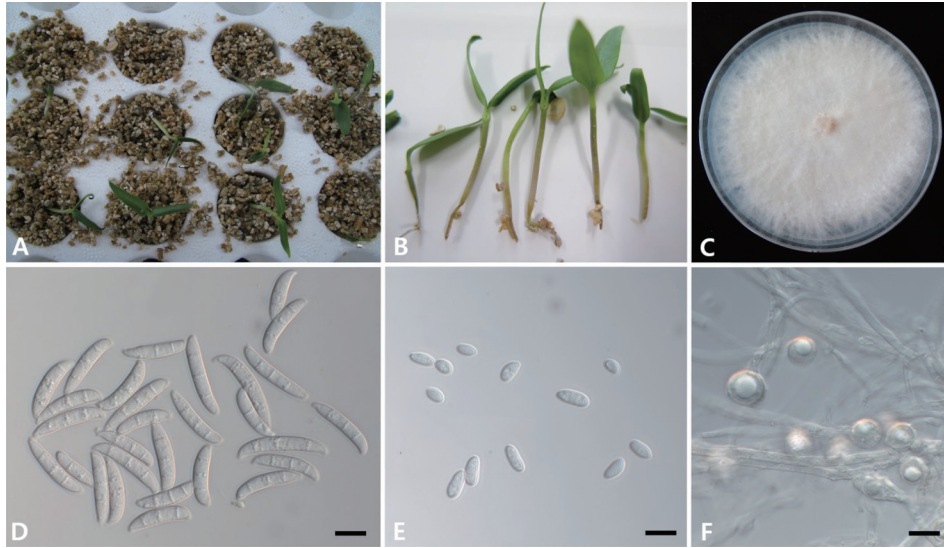


Fig. 1. Characteristics of *Fusarium oxysporum* causing damping-off on seedlings of paprika. A: Paprika seedlings exhibiting damping-off symptoms. B: Brown necrosis appearing on stems and roots. C: A ten-day culture of *F. oxysporum* on potato dextrose agar. D: Macroconidia, E: Microconidia, F: Chlamydospores. Scale bar = 10 μ m (D, E and F).

과 유전자 염기서열 분석을 통해 원인균을 정확히 동정하고 파프리카 종자와 유묘에 균주를 접종하여 병원성을 확인하였다.

병원균의 분리. 병든 식물체 10주의 줄기 표면을 70% 에탄올과 1% 차아염소산나트륨을 이용하여 소독하였으며 멸균수로 3회 세척하였다. 배양을 위해 갈변된 지제부를 3 mm × 3 mm 크기로 얇게 잘랐으며, 총 10개의 조직을 물한천배지(water agar)에 치상하였다. 상온에서 3일간 배양한 후 식물체 조직에서 자라나는 균사의 끝부분을 떼어내어 감자한천배지(potato dextrose agar)에 치상하여 배양하였다. 시료로 사용한 10개의 조직 모두에서 동일한 패턴으로 곰팡이가 자라는 것을 확인하였다. 7일 후에 감자한천배지의 균층에서 형성된 포자로부터 단포자 분리법을 이용하여 균을 순수 분리하였으며, 대표균주 1개를 한국농업미생물은행에 KACC 48704로 기탁하였다.

병원균의 균학적 특성. 감자한천배지에서 흰색 내지 연한 주황색을 띠는 원형의 면사상(cottony) 균층을 형성하였으며, 배양한 지 10일 만에 페트리디시의 가장자리에 도달하였다(Fig. 1C). 병원균의 균학적 특성을 관찰하기 위해 멸균된 카네이션 잎을 water agar에 올려 놓아 carnation leaf agar (CLA)를 제조하였으며, KACC 48704 균주를 CLA 배지에서 7일간 배양하였다. 대형분생포자(macroconidia)는 무색이며 18-26 × 3-5 μ m의 크기로 1-3개의 격벽을 가지고 약간 굽은 낫 모양이었다(Fig. 1D). 소형분생포자(microconidia)는 무색이며 6-10 × 2-4 μ m의 크기로 격벽이 없고 타원형이었다(Fig. 1E). 후벽포자(chlamydospore)는 균사의

끝이나 중간에 형성되었으며 7-12 μ m의 크기로 대체로 원형이었다(Fig. 1F). 이러한 병원균의 형태적 특성은 *Fusarium oxysporum* Schltdl. (Lombard 등, 2019)과 일치하였다.

분자계통학적 유연관계 분석. 병원균의 형태적 특성에 근거한 동정 결과를 뒷받침하기 위해 균주의 유전자 염기서열을 획득하여 분자계통학적 유연관계를 분석하였다. 먼저 감자한천배지에서 7일간 배양한 10개의 균주로부터 DNeasy Plant Mini Kit (Quiagen)을 이용하여 genomic DNA를 추출하였다. EF1/EF2 프라이머(Geiser 등, 2004)를 이용하여 TEF (translation elongation factor 1- α) 유전자의 일부 염기서열을 PCR로 증폭시켜 총 623 bp의 염기서열을 획득하였다. 또한 Fa/G2R 프라이머(O'Donell 등, 2010)를 이용하여 RPB1 (the largest subunit of RNA polymerase) 유전자의 일부 염기서열을 증폭시킨 후 1,765 bp의 염기서열을 획득하였다. 10개의 균주 모두 두 가지 유전자의 염기서열이 동일함을 확인하였다. 대표균주(KACC 48704)의 TEF 유전자 염기서열을 NCBI GenBank에 accession no. MK732352로 등록하였다. SeqMan 프로그램(DNASTAR Lasergene, Madison, WI, USA)을 이용하여 염기서열을 편집하였으며 MEGA7 프로그램을 이용하여 계통수를 작성하였다. 파프리카 잘록병균의 RPB1 유전자 염기서열은 NCBI BLAST search를 통해 *Fusarium oxysporum*의 염기서열(KF466398)과 99% 이상 일치하는 것을 확인하였다. 파프리카 잘록병균의 TEF 유전자 염기서열은 NCBI의 BLAST search에서 *F. oxysporum*의 염기서열들과 100% 일치하였다. 스페인에서 보고한 파프리카 잘록병 병원균(*F. oxysporum*)의 TEF 유전자 염기서열

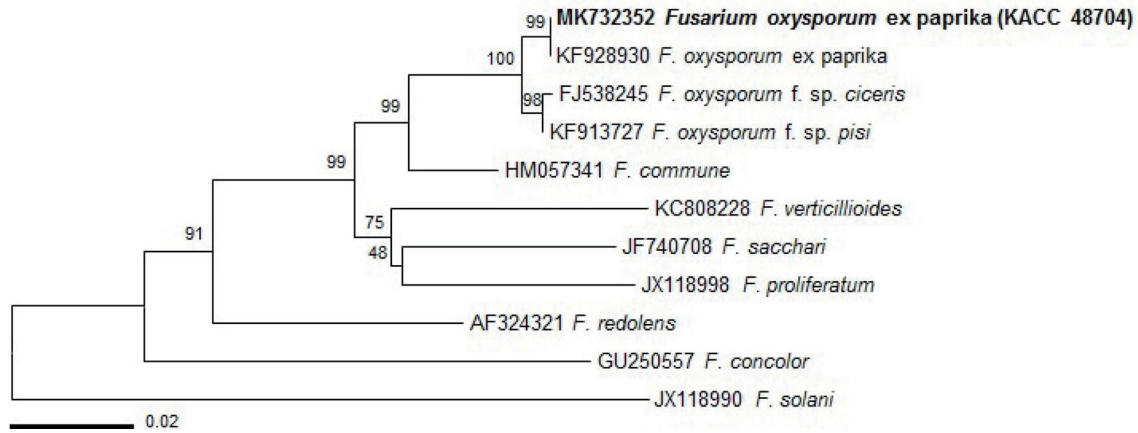


Fig. 2. Neighbor-joining tree based on the partial sequences of TEF (translation elongation factor 1-a) showing phylogenetic affinities of the one isolate of *Fusarium oxysporum* obtained in this study with isolates of other *Fusarium* spp. *Fusarium solani* was designated as the out-group. Isolate in boldface was sequenced in this study. The scale bar represents 0.02 nucleotide substitutions per site.

Table 1. Pathogenicity test results on seeds and seedlings of two paprika cultivars

Cultivar	Treatment	Rate of seed germination (%)	Rate of seedling infection (%)
Kori	Inoculated	4.2a ^a	100a
	Control	91.7b	0b
Yellow-top	Inoculated	2.8a	100a
	Control	100b	0b

^aValues are means calculated from three independent observations. Different letters indicate significant difference between treatments according to Duncan's multiple range test at p=0.05.

(KF928930)을 포함시켜 그린 Neighbor-joining 계통수에서는 한국의 파프리카 잘록병균과 스페인의 파프리카 잘록병균의 염기서열이 하나의 그룹을 형성하였다(Fig. 2).

병원균의 병원성 검정. 2개의 파프리카 품종(코리, 옐로우탑)

을 병원성 검정에 사용하였다. 먼저 균주를 감자한천배지에서 7일간 배양한 후에 포자현탁액을 1×10^7 conidia/ml의 농도로 제조하여 접종원을 준비하였다. 병원성 검정을 위해 두 가지 시험을 각각 3반복으로 수행하였다. 첫 번째 시험에서는 포트의 상토에 포자현탁액을 10 ml씩 관주한 후에 품종별로 파프리카 종자를 24개씩 파종을 하였으며 균이 종자의 발아에 영향을 주는지 관찰하였다. 두 번째 시험에서는 포트의 상토에 파프리카 종자를 품종별로 24개씩 파종하고 나서 7일 후에 종자가 발아하여 싹이 출현하면 포자현탁액 10 ml를 상토에 관주하여 유묘에서 잘록병이 발생하는지 관찰하였다. 첫 번째 시험에서 파종한 지 15일째에 조사한 결과, 코리 품종의 경우 처리군의 평균 발아율은 4.2%로서 대조군의 평균 발아율 91.7%와 비교해 현저히 낮았다. 또한 옐로우탑 품종의 경우 처리군의 평균 발아율이 2.8%로서 대조군의 평균 발아율 100%보다 월등히 낮음을 확인하였다(Table 1). 처리군의 발아하지 않은 종자에서 동일한 병원균을 분리하였으며, 파종 전 종자에서는 병원균이 분리되지 않았다. 두 번째 실험에서는 접종한 지 8일 만에 두 가지 품종의 모든 유묘가 쓰러지

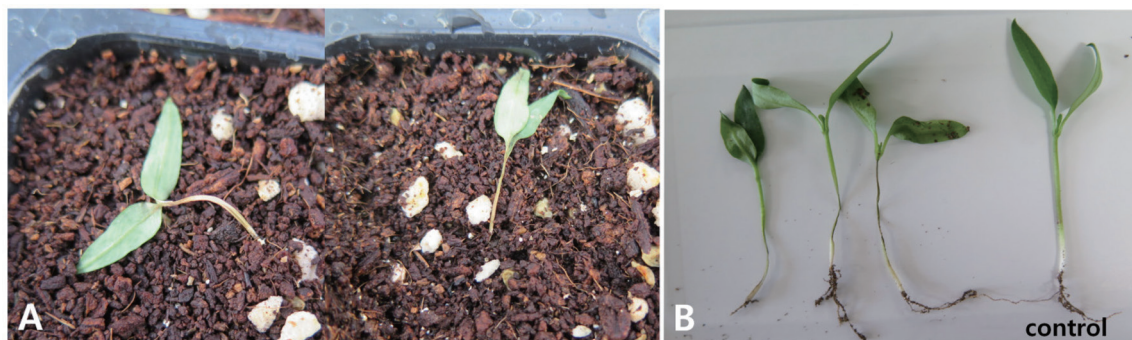


Fig. 3. Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* on paprika seedlings. A: Diseased plants showing damping-off symptoms eight days after inoculation. B: Diseased plants with lesions girdling base of stems.

는 잘록병 증상(평균 발병률 100%)이 나타났으며, 병든 부위에서 동일한 병원균이 재분리된 반면에 대조군에서는 증상이 전혀 나타나지 않았다(Table 1, Fig. 3A-B).

*Fusarium oxysporum*은 대표적인 토양전염성 병원균으로 기주범위가 넓고 식물에 주로 시들음병을 일으킨다고 알려져 있다. 국내에서는 *F. oxysporum*에 의해 토마토, 딸기, 오이 등 70여 개의 식물 기주에서 주로 시들 증상을 수반하는 시들음병, 근경적색병 등이 발생하는 것으로 보고되어 있다(The Korean Society of Plant Pathology, 2009). 파프리카의 경우, *F. oxysporum*이 시드는 식물체의 줄기 및 뿌리의 썩음 증상에서 분리되어 뿌리썩음병(stem and root rot)의 병원균으로 보고된 바 있다(Cha 등, 2007). 최근 스페인에서는 *F. oxysporum*에 의해 파프리카 유묘에서 잘록병이 발생한 것으로 보고되었다(Pérez-Hernández 등, 2014). 국내 고추에서 발생하는 잘록병의 원인균으로는 *Pythium ultimum*과 *Rhizoctonia solani*가 보고되어 있으나 *F. oxysporum*에 의한 고추 및 파프리카 잘록병은 아직까지 보고된 적이 없다(The Korean Society of Plant Pathology, 2009). 본 연구에서는 균의 형태적 특성 분석, 유전자 염기서열 분석, 병원성 검정을 통한 종합적인 결과에 근거하여 *F. oxysporum*에 의한 파프리카 잘록병의 발생을 국내 처음으로 보고하고자 한다.

요 약

육묘장에서 파프리카 유묘의 줄기와 뿌리가 갈변하고 잎이 시드는 증상이 나타났으며 병든 어린 식물체는 묘판에 서있지 못하고 쓰러졌다. 파프리카 줄기와 뿌리의 감염 부위에서 곰팡이 단포자 균주를 획득하였다. 분리 균주를 carnation leaf agar에 배양하여 균학적 특성을 관찰한 결과, 대형분생포자는 약간 굽은 낫 모양으로 무색이고 $18-26 \times 3-5 \mu\text{m}$ 이며 1-3개의 격벽이 있었다. 소형분생포자는 타원형으로 무색이고 $6-10 \times 2-4 \mu\text{m}$ 이며 격벽이 없었다. 후벽포자는 원형으로 $7-12 \mu\text{m}$ 이며 균사의 끝이나 중간에 형성되었다. 균주의 포자현탁액을 파프리카 종자와 유묘에 접종하여 병원성을 검정한 결과, 이 병원균은 종자의 발아를 억제하는 영향을 주었으며 유묘에는 잘록병 증상이 나타났다. 병든 파프리카 유묘에서 분리한 균주의 형태적 특성을 비롯하여 TEF 및 RPB1 유전자 염기서열 분석을 통해 원인균을 *Fusarium oxysporum*으로 동정하였으며, 파프리카 잘록병으로 명명하여 국내 처음으로 보고하고자 한다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgements

This work was carried out with the support of the “Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ01136801), Rural Development Administration, Republic of Korea

References

- Cha, S. D., Jeon, Y. J., Ahn, G. R., Han, J. I., Han, K. H. and Ki, S. H. 2007. Characterization of *Fusarium oxysporum* isolated from paprika in Korea. *Mycobiology* 35: 91-96.
- Geiser, D. M., Jiménez-Gasco, M. M., Kang, S., Makalowska, I., Veer-araghavan, N., Ward, T. J. et al. 2004. FUSARIUM-ID v. 1.0: a DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *Eur. J. Plant Pathol.* 110: 473-479.
- Lamichhane, J. R., Dürr, C., Schwanck, A. A., Robin, M. H., Sarthou, J. P., Cellier, V. et al. 2017. Integrated management of damping-off diseases. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 37: 10.
- Lombard, L., Sandoval-Denis, M. P., Lamprecht S. C. and Crous, P. W. 2019. Epitypification of *Fusarium oxysporum* – clearing the taxonomic chaos. *Persoonia* 43: 1-47.
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. 2018. 2017 Greenhouse status and production performance in vegetables cultivation under structure. Sejong, Korea. 161 pp (in Korean).
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs and Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation. 2018. 2017 Trends and statistics of import and export on agriculture, forestry, fisheries and food. Naju, Korea. 509 pp (in Korean).
- O'Donnell, K., Sutton, D. A., Rinaldi, M. G., Sarver, B. A., Balajee, S. A., Schroers, H. J. et al. 2010. Internet-accessible DNA sequence database for identifying *Fusaria* from human and animal infections. *J. Clin. Microbiol.* 48: 3708-3718.
- Pérez-Hernández, A., Serrano-Alonso, Y., Aguilar-Pérez, M. I., Gómez-Uroz, R. and Gómez-Vázquez, J. 2014. Damping-off and root rot of pepper caused by *Fusarium oxysporum* in Almería Province, Spain. *Plant Dis.* 98: 1159.
- The Korean Society of Plant Pathology. 2009. List of Plant Disease in Korea. 5th ed. The Korean Society of Plant Pathology, Suwon, Korea. 853 pp (in Korean).