*Trichothecium roseum*에 의한 감귤 분홍빛열매썩음병 발생권진혁^{1*} · 강동완¹ · 최옥희² · 심홍식³¹경상남도농업기술원, ²경상대학교 농업생명과학연구원, ³국립농업과학원 작물보호과Pink Mold Rot on Unishiu Orange (*Citrus unshiu* Mac.) Caused by *Trichothecium roseum* (Pers.) Link ex Gray in KoreaJin-Hyeuk Kwon^{1*}, Dong-Wan Kang¹, Okhee Choi² and Hong-Sik Shim³¹Gyeongsangnam-do Agricultural Research and Extension Services, Jinju 660-370, Korea²Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea³Crop Protection Division, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

(Received on March 4, 2013; Revised on September 17, 2013; Accepted on September 23, 2013)

In 2012, a pink mold rot was observed on unishiu orange (*Citrus unshiu* Mac.) fruits at the Wholesale Market for Agricultural Products, Jinju, Korea. The symptom on unishiu orange was a water-soaked lesion on the surface of fruit, which later on enlarged to form softened brown rot lesions. The diseased fruits were covered with pink-colored mold, consisting of conidia and conidiophores of the pathogen. Optimum temperature for mycelial growth was 25°C. Conidia were hyaline, smooth, 2-celled, and thick-walled conidia with truncate bases, ellipsoidal to pyriform, characteristically held together zig-zag chains and 12–26 × 8–12 µm in size. Conidiophore was erect, colorless, unbranched, and 4–5 µm wide. On the basis of mycological characteristics, pathogenicity test, and molecular analysis with complete ITS rDNA region, the causal fungus was identified as *Trichothecium roseum* (Pers.) Link ex Gray. This is the first report of pink mold rot caused by *T. roseum* on unishiu orange in Korea.

Keywords : *Citrus unshiu*, Pink mold rot, *Trichothecium roseum*, Unishiu orange

2012년 진주시 농산물도매시장 도매가게에 판매용으로 저장 중이던 감귤에서 분홍빛 곰팡이가 발생한 이상증상을 관찰하였다. 이러한 증상을 보이는 과실을 채집하여 실험실에서 병징과 병원균을 순수 분리하여 배양한 후 균학적 특징과 병원성 검정을 하였다. 또한 병원균 동정을 확실하게 하기 위해 complete internal transcribed spacer (ITS) rDNA 부분의 염기서열을 분석하여 GenBank에 등록되어 있는 *Trichothecium*속 곰팡이 균주와 비교하였다.

지금까지 우리나라에서 *Trichothecium roseum*에 의한 감귤 분홍빛열매썩음병 발생은 보고되어 있지 않았다(The Korean Society of Plant Pathology, 2009). 본 연구는 감귤에서 분리한 *T. roseum*에 대한 병원균의 균학적 특성과

병원성 검정, 그리고 ITS rDNA 염기서열 분석 결과, *Trichothecium roseum* (Pers.) Link ex Gray에 의한 감귤 분홍빛열매썩음병으로 제안하며 그 결과를 보고한다.

병징. 유통중에 있는 감귤 과실 표면의 상처부위에 발생을 하였으며 감염된 부분은 수침상으로 물러지고 부패되어져 연한 갈색으로 변하고 과신표면에 분홍빛 곰팡이가 많이 형성하는 것이 특징이다(Fig. 1A). 감염된 과실의 병반부위를 절단해 보면 과육 내부가 물러지고 상품성이 없다(Fig. 1B).

발생환경. 2012년 경상남도 진주시 농산물도매시장에 판매용으로 저장 중 감귤 과실 박스 안에서 분홍빛열매썩음병이 발생하였다. 실내에서는 과실 상자 내 온도와 습도가 알맞게 유지되어져 병든 과실 표면에 많은 양의 분생포자가 형성된 것으로 추측된다. 이것은 포장에서 감귤 수확시 또는 저장, 수송 중 과실 표면에 상처 난 부위

*Corresponding author

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

Email) kwon825@korea.kr

Fig. 1. Symptom of pink mold rot on unshiu orange fruit caused by *Trichothecium roseum*. **A:** Typical symptom of infected fruit, **B:** Longitudinal section of infected fruit, **C:** Colony on PDA after 8 days of inoculation, **D:** Conidia, **E:** Symptom induced by artificial inoculation.

Table 1. Comparison of morphological characteristics of the fungus isolated from unshiu orange (*Citrus unshiu* Mac.) with *Trichothecium roseum* described previously

Characteristics			Present isolate	<i>Trichothecium roseum</i> ^a
Colony	color		pinkish	pinkish
Conidiophores	shape		erect, unbranched	erect, unbranched
	size		4–5 μm wide	2 mm long, 4–5 μm wide
Conidia	shape		ellipsoidal to pyriform, 2-celled, zig-zag chains	ellipsoidal to pyriform, 2-celled, zig-zag chains
	size		12–26 $\times$ 8–12 μm	12–23(35) $\times$ 8–10(13) μm

^aDescribed by Domsch *et al.* (1980).

를 통해 병원균이 침입하여 과실 껍질이 수침상으로 물러지고 부패되어진 것으로 생각되어진다. 병든 과실을 상자 내 방치할 경우 병원균이 증식되어 많은 양의 분생포자가 형성되고 유통 중 상자 내에 있는 다른 과실에 2차 전염원 역할도 가능한 것으로 사료되어진다.

균학적 특성. *T. roseum*의 균총 색깔은 처음 흰색이고 배양기간이 경과됨에 따라 감자한천배지(PDA) 표면이 분홍빛으로 변하며 분생포자가 많이 형성되었다(Fig. 1C). 균사생육 적온은 25°C이다. 분생포자의 모양은 서양배형이며 성숙한 분생포자는 2세포로 되어 있다. 크기가 12–26 $\times$ 8–12 μm 이고 무색인 분생포자는 좌우 zigzag로 돌출 팽대되어 분생자경 선단에 많이 형성하였다. 분생자경은 균사표면으로부터 직립으로 형성하고 길이는 2 mm 정도이며 폭은 4–5 μm 이고 무색이었다(Fig. 1D, Table 1).

이와 같은 특징은 Domsch(1980) 등이 보고한 *T. roseum*의 형태적 특징과 잘 일치하였다.

ITS 염기서열 분석. 감귤에서 분리한 병원균 동정을 확실시키기 위해 ribosomal DNA(rDNA)의 complete internal transcribed spacer(ITS) 영역의 염기서열을 White 등(1990)이 사용한 2개의 프라이머 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 사용하여 PCR로 증폭하였다. 증폭된 PCR 산물은 0.8% agarose gel에서 전기영동 후, ethidium bromide로 염색하여 UV transilluminator에서 밴드를 확인하였다. 확인된 밴드는 QIAquick PCR purification kit(Qiagen)를 사용하여 분리 정제하였고 pGEM-T Easy 벡터(Promega)에 클로닝한 후 M13F와 M13R 프라이머를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 분석된 ITS rDNA 영역의 염기서열(613 bp)

을 BLASTN 프로그램으로 분석한 결과 *T. roseum* 균주 (GenBank Accession Nos. EU552162, HM355750)와 99% 상동성을 나타내었다.

병원성 검정. 감귤에서 분리한 균주의 병원성을 확인하기 위하여 2012년 12월 농산물도매시장에 감귤 1박스를 구입하여 건전한 과실 12개에 1% 차아염소산나트륨 (NaOCl)으로 깨끗이 표면 살균한 다음 멸균수로 3회 세척하여 수분을 완전히 제거하였다. 접종상으로 준비해 둔 3개의 플라스틱 상자(29×22×15 cm)에 상처접종 9개, 무상처 접종 3개를 준비하여 3반복 인공접종 하였다. PDA에서 10일간 배양한 병원균을 가지고 멸균수 10 ml 넣고서 붓으로 긁어모아 가아제로 거른 다음 3×10^4 conidia/ml 농도로 분생포자 현탁액을 만들어 접종원으로 사용하였다. 표면 소독한 감귤을 가로, 세로 2 mm 크기로 상처를 내고서 붓으로 현탁액 1방울(30 μ l) 접종하였다. 접종 후 플라스틱 상자 안에 일정한 습도가 유지될 수 있도록 필터 페이퍼를 5장씩 3곳에 깔고 멸균수 100 ml 붓고 일회용 페트리디쉬 놓고서 그 위에 접종한 과실을 올려놓고 뚜껑 덮은 후 25°C 항온기에 넣고서 발병유무를 관찰하였다. 접종 5일후 상처 접종한 감귤 표면이 수침상으로 물러지면서 부패하기 시작하였으며 시간이 경과함에 따라 과실표면에 분홍빛 곰팡이가 많이 형성하여 포장에서 발병된 병징과 일치하였다(Fig. 1E). 무상처 접종한 감귤에서는 조사기간 동안 병이 발생하지 않았다.

요 약

2012년 경상남도 진주시 농산물도매시장에 판매중인 감귤에서 분홍빛열매썩음병이 발생하였다. 병징은 감귤 과실 표면이 수침상으로 물러지고 썩으면서 그 위에 분홍빛 곰팡이가 많이 형성되었다. 균총의 색깔은 처음에 흰

색이고 배양기간이 경과됨에 따라 배지 표면에 분홍빛의 분생포자가 많이 형성되었다. 균사생육 적온은 25°C이었다. 분생포자의 모양은 서양배형이며 좌우 zigzag로 부착하며 성숙한 분생포자는 2세포로 되어 있으며 크기는 12–26×8–12 μ m이었다. 분생자경은 균사표면에 직립으로 형성하고, 폭이 4–5 μ m이고 무색이었다. rDNA의 complete internal transcribed spacer(ITS) 영역의 염기서열을 분석하였고, 분석된 염기서열(613 bp)을 BLASTN 프로그램으로 확인한 결과, *Trichothecium roseum*와 99%의 상동성을 나타내었다. 이와 같이 감귤에서 발생한 병징과 병원균의 균학적 특징을 기초로 하여 이 병을 *Trichothecium roseum* (Pers.) Link ex Gray에 의한 감귤 분홍빛열매썩음병으로 명명하고자 제안한다.

Acknowledgement

This work was carried out with the support of “Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ009192)” Rural Development Administration, Korea.

References

- Domsch, K. H., Gams, W. and Anderson, T. H. 1980. Compendium of soil fungi. Vol. 1. Academic Press. 859 pp.
- The Korean Society of Plant Pathology. 2009. List of plant diseases in Korea, 5th ed., 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.