

*Puccinia jogashimensis*에 의한 갯기름나물 녹병

Occurrence of Rust on *Peucedanum japonicum* Caused by *Puccinia jogashimensis* in Korea

고속주¹ · 김효정¹ · 명인식² · 엄미정³ · 최인영^{3*}

¹전라남도농업기술원, ²국립농업과학원, ³전라북도농업기술원

Sug-Ju Ko¹, Hyo-Jeong Kim¹, Inn-Shik Myung², Mi-Jeong Uhm³ and In-Young Choi^{3*}

¹Jeollanam-do Agricultural Research and Extension Services, Naju 58213, Korea

²Crop Protection Division, National Institute of Agricultural Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

³Jeollabuk-do Agricultural Research and Extension Services, Iksan 54591, Korea

***Corresponding author**

Tel: +82-63-290-6182

Fax: +82-63-290-6198

E-mail: choiy21@korea.kr

During July to November 2014, severe rust infection was consistently found on *Peucedanum japonicum* growing farm in Yeosu, Korea. The rust was observed mainly on lower leaf surfaces. Symptoms of typical plants included yellow-orange rust pustules were observed on the petiole and leaf surface with small yellowish to chlorotic lesions on the upper surface. No symptom was observed on flowers. Uredinia were occurred amphigenous on leaf surface, and occasionally caulicolous, scattered or loosely aggregate, rounded to oblong, 0.4 to 4 mm in diameter, covered by epidermis, then naked, surrounded by ruptured epidermis, pulverulent, and brown. Urediniospores were ovate-ellipsoid, ellipsoid or subglobose, light brown, 20 to 45 × 15 to 35 μm, walls 2 to 4 μm thick. The resulting sequences were deposited in GenBank with accession No. KT778808, KT778809, and KT778810, respectively. Since this was the first accession of 28S sequence *Puccinia jogashimensis*, there was no exact match in GenBank nucleotide database. On the basis of the morphological characteristics and phylogenetic analyses of 28S rDNA, the fungus was identified as *P. jogashimensis*. To our knowledge, this is the first confirmed report on the occurrence of *P. jogashimensis* on *P. japonicum* in Korea.

Keywords: *Peucedanum japonicum*, *Puccinia jogashimensis*, Rust

Received September 22, 2015

Revised October 20, 2015

Accepted November 6, 2015

갯기름나물(*Peucedanum japonicum* Thunb.)은 미나리과(Apiaceae) 다년생 초본식물로서 한약재명으로는 식방풍으로 알려져 있으며, 어린순과 잎은 쌈, 무침, 절임 등 산채 식용으로, 뿌리는 약용으로 널리 이용된다. 우리나라에는 중부지방 이남의 바닷가에, 세계적으로는 중국, 일본, 필리핀 등지에 분포한다. 최근에는 고유의 독특한 풍미와 항산화성, 항암, 항염, 항당뇨 효능 등이 높은 것으로 알려지면서 건강채소로서 수요가 증가하여 재배면적도 증가하는 추세이다(Son 등, 2014). 특히, 노

지에서 이른봄부터 여름철까지 수확하여 쌈채소로 이용하는 갯기름나물은 신소득원으로 전남 여수 금오도, 충남 태안 지역을 비롯한 일부 내륙에서 재배가 확대되고 있는 작목이다(Jung 등, 2014).

전 세계적으로 갯기름나물에 기록된 주요 병원균으로는 *Alternaria peucedani*(Korea), *Ascochyta* sp.(Korea), *Erysiphe heraclei*(Korea), *Puccinia jogashimensis*(Korea, Japan), *Rhizoctonia solani*(Korea) 등이 보고되어 있다(Farr와 Rossman, 2015). 특히 녹병은 여름부터 가을철에 잎과 잎자루에 발병하여, 상품성을 떨어뜨리고, 수량감소의 주요 원인으로 작용한다.

2014년 여름부터 겨울 사이에 전라남도 여수시 금오도의 농

Research in Plant Disease

©The Korean Society of Plant Pathology
pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191

가포장에서 재배되고 있는 갯기름나물에 녹병이 발생하였다. 시료를 채집하여 병원균의 균학적 특성 및 DNA 염기서열을 분석한 결과 *P. jogashimensis*로 동정되었다. 따라서 본 연구는 갯기름나물 녹병의 병징, 균학적 특성 및 염기서열 분석결과를 보고하고자 한다.

발병 및 병징. 농가포장에서 갯기름나물은 7월 중순부터 녹병이 발생하기 시작하여 11월까지 피해를 초래하였다. 갯기름나물은 3월부터 매일 지상부 잎을 잘라 수확하는데, 녹병은 새로운 잎보다는 아래로 늘어진 오래된 잎에서 주로 발병하였다. 주요 병징은 잎 앞면과 뒷면, 그리고 심할 경우 잎자루에 주황색 모양(yellow-orange)의 여름포자퇴(uredinium)를 만들었으며, 그 안에는 대량의 포자를 가지고 있었다. 그러나 갯기름나물 꽃에는 녹병이 관찰되지 않았다. 잎과 잎자루에 발생된 병징은 동일한 형태이며, 잎과 잎자루 모두 병에 걸리기 쉬운 상

태이었다. 녹병에 심하게 감염된 식물체는 여름포자퇴 주변에서 갈색형태의 반점을 보였으며, 잎이 황화되거나 고사되고 조기 노화를 가져왔다(Figs. 1A–C). 이와 같은 증상은 2014년 10월 전라북도농업기술원의 시험재배포장에서도 동일하게 나타났다. 재배농가에 따르면 같은 증상이 매년 반복되었으며, 수확시 상품성 가치를 크게 떨어뜨리는 병해로 인식되어져 왔다.

병원균의 균학적 특성 및 염기서열 분석. 발병포장에서 이병주를 채집하여 실험실에서 현미경 관찰 및 유전분석을 위한 재료로 사용하였다. 또한 녹병에 감염된 식물체는 고려대학교 표본실(Korea University Herbarium)에 기탁하였으며, 등록번호(KUS-F28663)를 받았다. 식물체에 감염된 병원균의 형태적 특징은 DIC(differential interference contrast) 광학현미경으로 400–1000배에서 관찰하였으며, 여름포자퇴와 여름포자(urediniospore)의 외부형태적 관찰을 위해서 해부현미경과

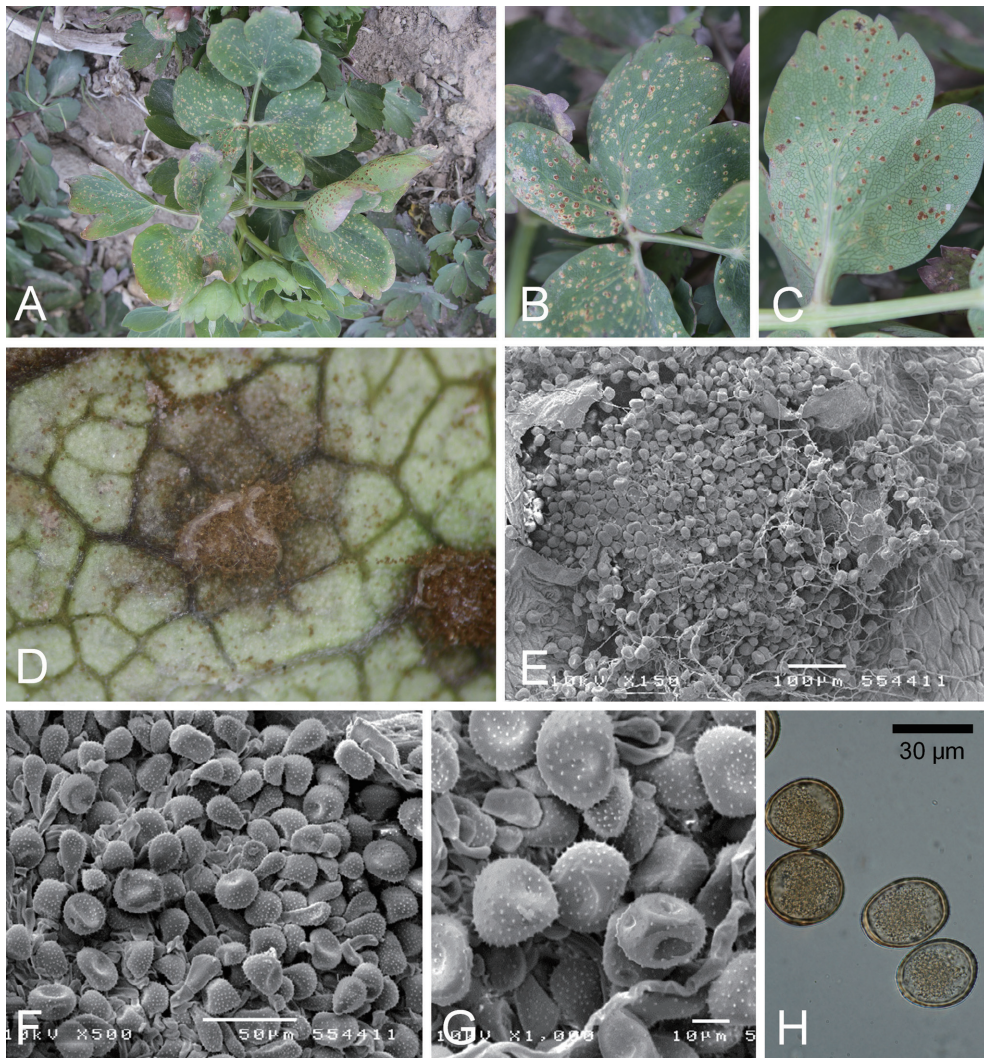


Fig. 1. Rust disease caused by *Puccinia jogashimensis* on *Peucedanum japonicum*. **A:** Symptoms of rust disease on leaves in September 2014. **B, C:** Close-up of infected leaves. **D, E:** Uredinium and urediniospores in median. **F, G:** Close-up of urediniospores observed by SEM. **H:** Urediniospores by light microscope.

SEM(scanning electron microscope)으로 관찰하였다.

녹병균의 형태적 특징으로 여름포자되는 잎 표면의 앞·뒷면과 줄기에 발생하였으며, 개별적으로 형성되거나 때때로 군집하여 형성되기도 하였다. 둥근 원형에서 길쭉한 반구 형태로 표피로 덮여져 있거나, 벗겨진 표피로 둘러 싸여진 형태로 직경은 0.1–4 mm이며, 분말형태의 갈색을 띄고 있었다(Figs. 1D, 1E). 여름포자는 달걀모양에서 타원형으로 겉 표면에 가시 같은 돌기가 있는 밝은 갈색으로 20–45 × 15–35 μm이며, 벽의 두께는 2–4 μm이었다(Figs. 1F–1H). 그러나 채집된 샘플에서 겨울포자(teliospore)를 가지고 있는 겨울포자퇴(telium)는 발견되지 않았다. 이상과 같이 형태적 특징을 기초로 갯기름나물 녹병을 일으키는 병원균은 *P. jogashimensis* Hirat. f. & S. Kaneko로 동정되었다(Hiratsuka 등 1992; Lee, 2001).

형태적 특징을 기초로 한 병원균의 동정을 뒷받침하고자 염기서열 분석을 실시하였다. *P. jogashimensis*에 감염된 갯기름나물 잎의 앞·뒷면에서 여름포자퇴를 메스(scalpel)로 긁어 유전분석에 사용하였다. 유전분석은 특이 primer인 LROR과 LR6를 이용하여 polymerase chain reaction(PCR)로 증폭된 28S ribosomal DNA(rDNA)의 D1/D2 영역의 염기서열을 분석하였다(Park 등, 2012). Genomic DNA는 DNeasy Plant

Mini kit(QIAGEN, Valencia, Canada)를 이용하여 분리하였고, 특이 primer로 증폭시킨 PCR 산물을 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 band를 확인한 후, PCR purification kit(Core-one TM, Core-bio, Korea)를 이용하여 정제하였다. PCR 산물을 TOPcloner™ TA kit (Enzymomics, Korea)를 이용해 재조합하고 DH5α *E. coli* competent cell에 chemical 방식으로 형질전환하였다. Ampicillin이 포함된 LB 배지에 도말하여 37°C에서 15시간 배양한 후 각각의 colony를 picking하여 증류수가 포함된 PCR tube에 현탁하고 2xTOPsimple™ DyeMIX-Tenuto(Enzymomics, Korea), M13(-40)과 M13(-20) primer로 PCR하였다. PCR 산물은 QIAquick PCR Purification Kit(QIAGEN, USA)를 이용해 정제한 후 염기서열분석에 사용하였다. 염기서열은 autosequencer(ABI 3030)로 분석하였으며, 최종 획득한 28S rDNA의 D1/D2 염기서열들은 GenBank database(National Centre for Biotechnology Information [NCBI] US National Institute of Health Bethesda, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)를 이용하여 확인하였다. 계통수 분석은 GenBank 데이터베이스에 올라와 있는 28S rDNA의 염기서열들을 이용하였다. 계통수는 MEGA 6.0 프로그램을 이용하여 neighbor-joining 방법으로 작성하였으며, sequence distance는 Tajima-Nei parameter

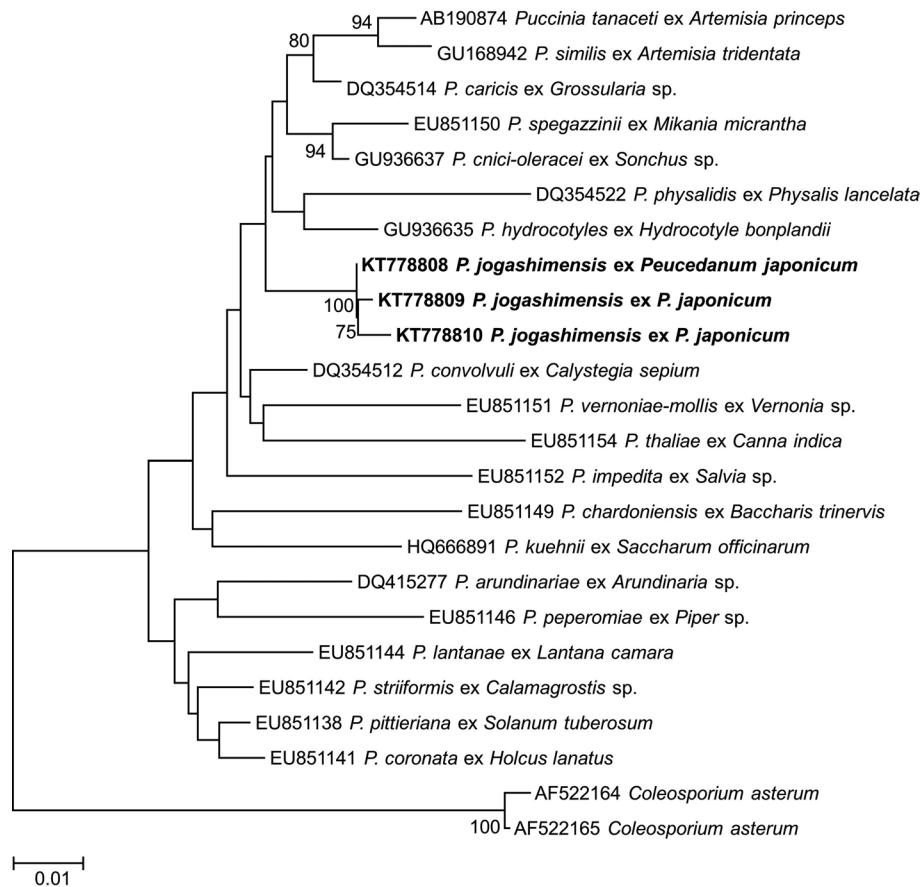


Fig. 2. Phylogenetic relationship between *Puccinia jogashimensis* on *Peucedanum japonicum* and other *Puccinia* species, inferred neighbor-joining method using the 28S ribosomal DNA (rDNA) region. Numbers above the branches represent the bootstrap values. Bar=number of nucleotide substitutions per site. The fungi identified in this study are boldfaced.

model로 계산하였다(Saitou와 Nei, 1987; Tamura 등, 2013). *Coleosporium asterum*(GenBank accession No. AF522164, AF522165)를 계통수 분석 outgroup으로 사용하였다.

갯기름나물 녹병을 일으키는 KUS-F28663 균주의 28S rDNA의 D1/D2 sequence 크기는 1150, 1150, 1101 bp로 NCBI의 GenBank 등록번호는 KT778808, KT778809, KT778810이었다. NCBI에서 BLAST search한 결과 등록된 GenBank accession number는 없는 것으로 확인되었다(Fig. 2).

*P. jogashimensis*에 의한 갯기름나물 녹병은 전세계적으로 한국과 일본에서만 보고되어 있다(Farr와 Rossman, 2015). 우리나라의 갯기름나물 녹병에 대한 기록은 발병현황, 병징 및 병원균의 동정을 뒷받침하는 염기서열 분석 없이 형태적 특징만을 기초로 동정하여 보고하였다(Lee, 2001; The Korean Society of Plant Pathology, 2009). 따라서 본 연구는 병해의 발생생태, 균학적 특징, 28S rDNA의 D1/D2의 염기서열 분석 등의 결과를 바탕으로 기존의 보고된 *P. jogashimensis*에 의한 갯기름나물 녹병을 다시 보완하는 자료로 제출하고자 한다.

요 약

2014년 7월 중순부터 11월까지 전라남도 여수시 금오도의 농가포장에 갯기름나물 녹병이 발생되었다. 녹병은 새로운 잎보다는 아래로 늘어진 오래된 잎에서 주로 발병되었는데, 병징은 잎 앞면과 뒷면, 그리고 잎자루에 주황색 모양의 여름포자퇴를 만들었으며, 그 안에는 대량의 포자를 가지고 있었다. 그러나 갯기름나물 꽃에는 녹병이 관찰되지 않았다. 녹병에 심하게 감염된 식물체는 여름포자퇴 주변에서 갈색형태의 반점을 보였으며, 잎이 황화되거나 고사되고 조기 노화를 가져왔다. 녹병균의 여름포자퇴는 잎 표면의 앞·뒷면과 잎자루에 발생하였으며, 개별적으로 형성되거나 때때로 군집하여 형성되기도 하였다. 둥근 원형에서 길쭉한 반구 형태로 표피로 덮여 있거나, 벗겨진 표피로 둘러 쌓여진 형태로 직경은 0.1–4 mm이며, 분말형태의 구릿빛 갈색을 띠고 있었다. 여름포자는 달걀모양에서 타원형으로 겉 표면에 가시 같은 돌기가 있는 밝은 갈색으로 20–45 × 15–35 μm이며, 벽의 두께는 2–4 μm이었다. 28S rDNA의 염기서열을 NCBI에서 BLAST search한 결과 등록된 GenBank accession number는 없는 것으로 확인되었다. 따라서 녹병의 발생생태, 균학적 특징, 28S rDNA의 D1/D2의 염기서열 분석 등

의 결과를 바탕으로 기존의 보고된 *P. jogashimensis*에 의한 갯기름나물 녹병을 다시 보완하고자 한다.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of “Cooperative Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No. PJ009814)” Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Hiratsuka, N., Sato, S., Kakishima, M., Kaneko, S., Sato, T., Hiratsuka, T., Katsuya, K., Hiratsuka, Y., Ono, Y., Harada, Y. and Nakayama, K. 1992. The rust flora of Japan. Tsukuba Shuppankai, Ibaraki, Japan. 1205 pp. + 159 pp. (Index)
- Lee, T. S. 2001. Pucciniaceae of Korea (Uredinales). National Institute of Agricultural Science and Technology, Rural Development Administration, Suwon, Korea. 81 pp.
- Farr, D. F. and Rossman, A. Y. 2015. Fungal Databases. Syst. Mycol. Microbiol. Lab., Online publication, ARS, USDA, Retrieved January 12.
- Jung, H. K., Jung, W. S., Ahn, B. K., Kang, B. M., Yeo, J. H., Cha, S. W., Park, C. G., Cho, J. H. and Cho, W. H. 2014. *Peucedanum japonicum* Thunberg leaf alleviates the symptoms of dextran sulfate sodium induced ulcerative colitis in mice. *Korean J. Plant Res.* 27: 421–428. (In Korean)
- Park, M. J., Kakishima, M., Lee, S. K. and Shin, H. D. 2012. Rust disease of *Aster pilosus* caused by *Coleosporium asterum* in Korea. *Plant Pathol. J.* 28: 332.
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406–425.
- Son, H. K., Kang, S. T. and Lee, J. J. 2014. Effects of *Peucedanum japonicum* Thunb. on lipid metabolism and antioxidative activities in rats fed a high-fat/high-cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 641–649. (In Korean)
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipksi, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725–2729.
- The Korean Society of Plant Pathology. 2009. List of plant disease in Korea. 5th ed. Suwon, Korea. 853 pp.