Korean Journal of Environmental Agriculture

Korean J Environ Agric. 2017;36(4):299-305. Korean
Published online 2017 November 6. https://doi.org/10.5338/KJEA.2017.36.4.32

Online ISSN: 2233-4173
Print ISSN: 1225-3537

Research Article

Open Access

자두 탄저병균의 분리 및 동정

이용세*, 하다희, 이태이, 박민정, 정종배, 정병룡

대구대학교 생명환경대학 생명환경학부

Isolation and Characterization of *Colletotrichum* Isolates Causing Anthracnose of Japanese Plum Fruit

Yong-Se Lee*, Da-Hee Ha, Tae-Yi Lee, Min-Jung Park, Jong-Bae Chung and Byeong-Ryong Jeong (Division of Life and Environmental Science, College of Life and Environmental Science, Daegu University, Gyeongsan 38453, Korea)

Received: 23 September 2017/ Revised: 17 October 2017/ Accepted: 31 October 2017

ORCID
Yong-Se Lee
http://orcid.org/0000-0001-7732-5725
Jong-Bae Chung
http://orcid.org/0000-0002-5284-2272
Byeong-Ryong Jeong
http://orcid.org/0000-0002-0607-4161

Abstract

BACKGROUND: Although the filamentous fungal pathogen *Colletotrichum* species causing anthracnose disease on various fruits including peach, apple, persimmon and grape, there is no report on Japanese plum in Korea.
METHODS AND RESULTS: In 2016, diseased fruits showing typical anthracnose symptoms of Japanese plum were collected in market and ochards. Diseased tissue was cut off and disinfected subsequently with 70% ethanol for 1 min, and in 1% sodium hypochloride solution for 1 min, followed by three washes with sterile distilled water. The disinfected tissues were placed onto potato dextrose agar (PDA), and incubated at 25℃ in the dark for 5 to 7 days. For single-spore isolation, conidia were scraped off the plate using a loop, and suspended with 10 mL sterile distilled water. One hundred microliter of the conidial suspension was spread on PDA plates and incubated at 25℃. Finally, one germinated conidium was transferred onto PDA plates. Morphological and cultural characteries of colonies and spores of isolated *Colletotrichum* were observed after 7 to 10 days incubation on PDA. Molecular identification of isolates were analyzed by comparing rDNA-ITS gene sequences with NCBI GeneBank.
CONCLUSION: Of eleven isolates of *Colletotrichum* isolated from anthracnose diseased Japanese plum fruits, six were identified as *C. acutatum*, and five as *C. gloeosporioides* based on diagnostic characteristics such as colony growth rate, shape and size of conidia, and rDNA-ITS sequences. This is the first report of *Colletotrichum* causing the anthracnose on Japanese plum in Korea.

Key words: Anthracnose, *C. gloeosporioides*, *Colletotrichum acutatum*, Japanese plum

*Corresponding author: Yong-Se Lee
Phone: +82-53-850-6763; Fax: +82-53-210-8847;
E-mail: yslee@daegu.ac.kr

서 론

자두나무(*Prumus salicina* Lindl.)는 장미과에 속하는 과수로 Japanese plum 또는 Chinese plum이라고 불리며, 우리나라를 비롯하여 중국, 일본, 미국, 호주 등에서 재배된다. 통계연감에 의하면 우리나라의 자두 재배면적은 2015년 5,920 ha, 생산량은 67,810 ton으로 5,803 ha에서 64,816 ton을 생산하였던 2007년 이후 다소 증가하였다.

한국식물병리학회에서 2009년에 발행한 식물병명목록에 기록된 자두나무에 발생하는 곰팡이에 의한 병해는 *Botrytis cinerea*에 의한 잿빛곰팡이병, *Monilinia fructicola*에 의한 잿빛무늬병, *Polystigma rubrum*에 의한 붉은무늬병, *Septobasidium tanakae*에 의한 갈색고약병, *Taphrina pruni*에 의한 주머

니병 등이 있으며, *Podosphaera tridactyla*에 의한 흰가루병(Lee *et al.*, 2012)과 *Rosellinia necatrix*에 의한 흰날개무늬병 및 *P. rubrum*에 의한 붉은무늬병이 2014년 수행한 농촌진흥청 조사에 의해 보고되었다. 세균에 의한 병해는 *Xanthomonas aboricola* pv. *pruni*에 의한 검은점무늬병(Ryu *et al.*, 2012) 또는 잉크병으로 불리는 세균성구멍병(Choi *et al.*, 2000)이 보고되어 있다. 농촌진흥청에서 2015년 경북지역 자두과원에서 병해 발생을 조사한 결과, 이들 병해 중 세균성구멍병과 검은점무늬병이 가장 심하게 발생하여 큰 피해를 주는 병으로 조사되었다.

Colletotrichum 속에 의한 탄저병은 전 세계적으로 채소 및 과수 등 다양한 작물에 발생하여 품질과 수량을 저하시켜 경제적으로 큰 손실을 일으킨다(Jeger and Bailey, 1992; Perfect *et al.*, 1999). 우리나라에서는 사과, 복숭아, 포도 및 감에 탄저병이 발생하여 큰 피해를 주는 것으로 보고되어 있으나(Kim *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2007; Kim and Hong, 2008; Kim *et al.*, 2016; Jeon *et al.*, 2017), 자두 탄저병에 관한 연구 보고는 없다.

본 연구에서는 2016년 5월부터 9월 사이 경북 군위 지역의 과원과 대구시 과일 시장에서 수집한 자두 과실에 발생한 탄저병 병반으로부터 병원균을 분리하였으며, 배양적 특성과 포자의 형태 및 rDNA-ITS 유전자 염기서열분석을 통해 병원균을 동정하였다.

재료 및 방법

탄저병균의 분리

자두 탄저병균을 분리하기 위해 이병과를 자두과원과 유통과정에 탄저병이 발생하는 과실을 채집하였다. 병원균을 순수 분리하기 위해 병반부와 건전부위의 경계 조직을 5 mm× 5 mm 크기로 절단한 다음 70% Ethanol에 1분 간 침지한 다음, 1% NaOCl에 침지하여 표면 살균을 하고 멸균수로 3회 세척하였다. 멸균한 filter paper상에서 건조시킨 후 water agar(1.5%)에 치상하여 25℃에서 배양하였다. 자라난 균사를 potato dextrose agar(PDA, Difco Laboratories)에 접종하여 탄저병균을 분리하였다. 분리한 탄저병균을 PDA에서 5-7일 동안 배양한 후 포자를 멸균수로 회수하여 4겹의 거즈로 거른 다음 포자현탁액(10^2 spores/mL)을 만들어 PDA에 100 μL를 도말하여 25℃에서 배양하였다. 배양 2-3일 후 한 개의 포자에서 자란 단일 균총(colony)를 순수 분리하여 실험에 사용하였다.

모든 공시 균주는 PDA에 접종하여 25℃의 암 상태에서 배양한 후 4℃ 냉장고에 보관하면서 사용하였다. 시험 시에는 보관한 균주로부터 균총의 선단부위를 지름 5 mm의 cork borer를 사용하여 새로운 PDA에 접종하여 25℃에서 7일간 배양 후 사용하였다.

배양적 특성 및 포자형태적인 특징

PDA배지에서 7일 동안 자란 분리된 탄저병균 균총의 가장자리에서 떼어낸 5 mm의 균사 조각을 새로운 PDA에 접종한 다음 25℃에서 7일간 배양한 후 배양적 특성을 관찰하였으며, 포자의 형태적인 특징은 광학현미경(Nikon Eclipse 50i, Japan)상에서 포자의 형태 및 크기를 관찰하였다.

rDNA – ITS 유전자 염기서열분석에 의한 동정

분리 균주를 PDA에 접종하여 25℃에서 7일간 배양 후 균사체를 수확하여 Lee와 Taylor(1990)의 방법으로 genomic DNA를 추출하였다.

rDNA-ITS 영역을 증폭하기 위해 White 등(1990)이 사용한 primer ITS1 5′ (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) 3′와 ITS4 5′ (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) 3' 를 사용하였다. PCR은 ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 영역과 18S와 28S rRNA gene 일부를 포함한 약 570 bp의 단일밴드를 증폭시켰다.

염기서열 분석을 위해 증폭된 유전자를 BigDye (R) Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits (Applied Biosystems, Thermo Fisher, USA)와 Primer는 PCR 증폭에서 사용한 것과 동일한 것을 사용하여 DNA Engine Tetrad 2 Peltier Thermal Cycler (BIO-RAD, USA)를 사용하여 PCR하였다. PCR 반응이 끝난 후 dNTP와 반응물을 제거하여 정제한 후, ABI PRISM 3730XL Analyzer (96 capillary type, Hitachi, Japan)에 loading 하여 염기서열을 해독한 다음, 각 균주의 염기서열을 NCBI GenBank의 염기서열과 상동성을 비교하여 동정하였다.

병원성 검정

순수 분리한 균주를 형태적동정과 유전자분석에 의한 동정을 한 균주들을 이용하여 병원성 검정을 하였다. PDA에서 10일 동안 배양한 후 포자를 멸균수로 회수하여 4겹의 거즈로 거른 다음 포자현탁액(10^5 spore/mL)을 만들어 건전 자두(품종 : 추희)에 micro pipette (Gilson, P 100, France)으로 20 μL 씩 약 2 mm 깊이로 상처를 내면서 포자현탁액을 주입하여 접종하였다. 대조는 동일한 방법으로 멸균수를 사용하였다. 접종 후 플라스틱 상자에 넣어 25℃ 항온기에서 6일 동안 배양 후 병징 발현과 병반 직경을 측정하였다. 자두 1개당 2곳에 접종하였으며, 3반복으로 시험을 수행하였다.

결과 및 고찰

탄저병 발생 및 병징의 특징

2016년 5월에서 9월 동안 경북 군위군, 영천시, 경산시 등 3지역 6농가와 과실 유통 시장에서 탄저병이 발생한 자두 이병과를 채집하였다. 자두 과원에서 탄저병 발생은 거의 관찰되지 않았으며, 조사 농가 과원에서 10개의 이병과를 채집할 수 있었다. 병징의 특징은 발병 초기 과실 표면에 엷은 갈색의 작은 반점으로 시작해 점차 둥근 겹무늬로 확대되며 중앙부가 움푹 들어가고 병반 상에는 연분홍색의 병원균에서 분생 포자를 형성하는 것으로 일반 과실류의 탄저병 증상과 유

Fig. 1. Anthracnose symptoms on plum fruits collected from orchards (A) and markets (B).

Fig. 2. Anthracnose symptoms on plum fruits artifically inoculated with *Colletotrichum* spp. (A: 71501, B: 92206) isolated from anthracnose of plum fruits.

Table 1. Isolates of *Colletotrichum* spp. isolated from anthracnose of plum fruits

Isolate No.	Region isolated	Cultivar
71501	Gyeongbuk Gunwi	Humoosa
71502	Gyeongbuk Gunwi	Humoosa
91901	Gyeongbuk Yeongcheon	Akihime
92201	Gyeongbuk Gyeongsan	Akihime
92202	Gyeongbuk Gyeongsan	Akihime
92205	Daegu Market	Akihime
92206	Daegu Market	Akihime
92207	Daegu Market	Akihime
92208	Daegu Market	Akihime
92240	Daegu Market	Akihime
M	Daegu Market	Akihime

Table 2. Pathogenicity of *Colletotrichum* spp. isolated from anthracnose of plum fruits

Isolate	Lesion diameter[a)] (mm)
71501	39.3±1.2
71502	38.0±2.0
91901	36.3±1.5
92201	18.7±1.5
92202	19.3±1.2
92205	31.3±1.5
92206	14.7±1.2
92207	18.0±1.0
92208	15.0±1.0
92240	22.3±2.1
M	18.3±1.5

[a)] Lesion diameter was measured six days after artifical inoculation. The diameter represent means ± standard deviations of three replicates.

사하였다. 시장에서 유통 중인 자두에서는 이병과가 농가 포장에서 보다 빈도가 높게 관찰되었으며, 병징은 재배포장에서 발생하는 병징과 다르게 윤문이 뚜렷하게 나타나지 않은 상태에서 부패가 진행되는 증상을 보였다(Fig. 1).

병원균의 분리 및 배양적 특성

이병과에서 분리한 탄저병균(Table 1)을 추희 품종의 자두에 상처 접종하여 병원성을 검정한 결과 병징이 3일 후부터 발현되었으며, 6일 후 관찰한 결과 균주간 병징 발현에 차이가 있었다. 71501, 71502, 91901 및 92205 균주를 접종한 자두에서는 접종부위에 기중균사가 자라고 포자퇴가 대량으로 형성되면서 부패하였으나, 9226 균주 등 다른 균주들은 포자괴만 윤문으로 형성되면서 부패하였다(Fig. 2). 생성된 병반 직경은 기중균사를 생성하면서 부패시킨 71501, 71502,

Table 3. Cultural characteristics of the *Colletotrichum* spp. isolated from anthracnose of plum fruits. Cultures of each isolate were inoculated on potato dextrose agar for 7 days at 25℃

Isolate No.	Aerial mycelium, color	Reverse color	Mycelium growth (mm)	Mycelium growth (mm/day)
71501	dense cottony, gray to dark gray	white gray	79.9±3.2	11.4±0.5
71502	dense cottony, gray	white gray	78.4±3.5	11.2±0.5
91901	dense cottony, gray	white gray	70.2±3.2	10.0±0.5
92201	sparse, gray, more or less colourless towards edge	dark gray	43.4±2.2	6.2±0.3
92202	sparse, pale gray	light orange	54.7±1.0	7.8±0.1
92205	dense cottony, gray	dark gray	82.6±2.5	11.8±0.4
92206	sparse, dark red purple, colourless edge	red purple	54.2±4.0	7.7±0.6
92207	sparse, gray, more or less colourless towards edge	light yellow to gray	58.9±2.3	8.4±0.3
92208	sparse, gray, more or less colourless towards edge	gray	55.1±1.8	7.9±0.3
92240	sparse, pale orange	pale orange	78.1±2.6	11.2±0.4
M	sparse, dark gray, more or less colourless towards edge	orange	55.3±1.3	7.9±0.2

91901 및 92205 균주가 92206 균주 등에 비해 더 크게 형성되어 병원성이 큰 것으로 평가되었다(Table 2).

병원균 동정 및 병원성

자두 탄저병원균인 *Colletotrichum* 속의 분류 및 동정에는 형태적인 특징인 분생포자의 형태, 균사 생장속도, 균총의 특징과 색, 적정 배양 온도 및 살균제인 베노밀에 대한 감수성 등 다양한 방법이 이용된다(Sutton, 1980; Freeman *et al*, 1998, Kim *et al.*, 2006; Sato *et al.*, 2013). 그러나 같은 종 내에서도 균주 사이에 형태 및 생리적인 특성이 다양한 경우가 많아 균주를 명확히 동정하는 데는 한계가 있어(Freeman *et al.*, 1998; Sato *et al.*, 2013) RAPD와 ribosomal DNA-ITS 유전자 염기서열 등의 분자생물학적 분석이 종을 구분하는데 사용되고 있다(Abang *et al.*, 2002; Martinez-Culebras *et al.*, 2003; Talhinhas *et al.*, 2005; Weir *et al.*, 2012; Sato *et al.*, 2013; Jeon *et al.*, 2017). 균사 생장속도와 포자형태에 따른 분류에 의하면 *C. gloeosporioides*은 균사 생장속도가 *C. acutatum*보다 빠르고, *C. gloeosporioides*의 포자 형태는 끝이 둥근 긴 타원형이며, *C. acutatum*의 포자는 타원형 내지 방추형인 것으로 보고되어 있다(Bernstein *et al.*, 1995; Shi *et al.*, 1996; Freeman *et al.*, 1998). 분리 균주들을 PDA에 접종 후 25℃에서 7일 간 배양한 다음 균총의 특징과 균사 생장속도를 측정한 결과 4 group으로 분류할 수 있었다(Table 3). Humoosa에서 분리한 71501, 71502 균주와 Akihime (추희)에서 분리한 91901, 92205 균주는 균총의 색이 옅은 재색에서 짙은 재색으로 관찰되었으며, 배양기상에서의 분비색은 옅은 재색이었다(Fig. 3). 균사는

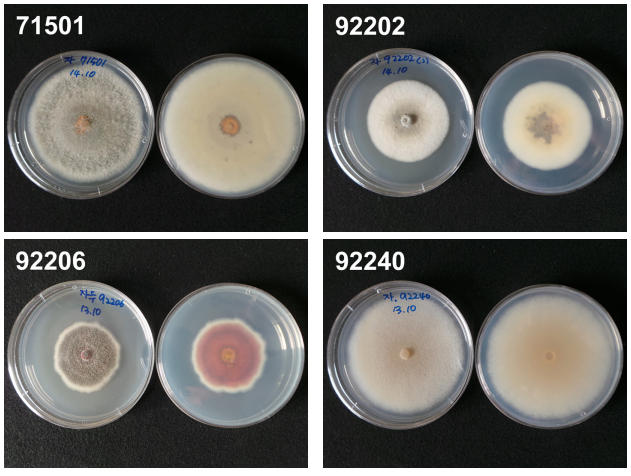

Fig. 3. Colony morphology of *Colletotrichum* spp. isolated from anthracnose of plum fruits on potato dextrose agar medium (PDA) incubated for 7 days at 25℃.

10-11.8 mm/day로 생장하여 7일 후에는 약 80 mm 정도까지 생장하였다. 92201, 92202, 92207, 92208과 M 균주는 균사가 6.2~8.4 mm/day로 생장하여 7일 후에는 약 43-58 mm까지 생장하였다. 균총색은 재색에서 짙은 재색이었으며, 분비색은 옅은 오렌지에서 짙은 재색이었다(Fig. 3). 2006 균주는 균총색과 분비색이 짙은 붉은색을 띠었으며, 균사는 7.7 mm/day로 생장하였다. 92240 균주는 균사가 11.2 mm/day로 생장하여 균사생장 정도가 71501 균주 등과 유사하였으나, colony 색과 분비색은 옅은 오렌지색이었다. 7151, 71502, 91901, 92205 및 92240 균주의 균사 생장속도는

Table 4. Conidial morphology of *Colletotrichum* spp. isolated from anthracnose of plum fruits. Cultures of each isolate were inoculated on potato dextrose agar for 10 days at 25℃. Fifty conidia of each isolate were measured in length and breadth, and the expriment was conducted twice

Isolate	Shape	Length (μm)		Breadth (μm)		Length/breadth (L/B) ratio	
		Range	Average	Range	Average	Range	Average
71501	cylindrical, round both end	14.0~18.0	16.37±1.29	4.3~5.6	5.06±0.34	2.45~4.25	3.26±0.43
71502	cylindrical, round both end	14.0~18.8	16.61±1.07	4.6~5.4	4.95±0.27	2.79~3.76	3.37±0.29
91901	cylindrical, round both end	15.1~18.3	16.21±0.81	4.3~5.4	5.09±0.28	2.79~4.19	3.20±0.30
92201	subcylindrical, round both end, sometimes taperred end	8.1~17.2	11.49±1.89	3.8~5.4	4.62±0.51	1.55~3.38	2.51±0.44
92202	subcylindrical, round both end, sometimes taperred end	7.5~15.9	11.99±1.87	3.8~5.1	4.28±0.38	2.13~3.69	2.81±0.41
92205	cylindrical, round both end	11.6~18.3	14.27±1.13	4.0~5.9	4.90±0.43	2.23~4.00	2.94±0.38
92206	straight, fusiform	9.1~15.1	12.13±1.26	3.8~5.4	4.63±0.39	1.70~3.73	2.64±0.39
92207	subcylindrical, round both end, sometimes taperred end	8.1~13.4	9.83±1.42	3.5~5.6	4.39±0.48	1.68~3.00	2.26±0.36
92208	subcylindrical, round both end, sometimes taperred end	7.5~16.1	10.22±2.04	3.5~5.4	4.22±0.45	1.40~3.53	2.44±0.49
92240	cylindrical, round both end, sometimes taperred end	9.9~16.4	13.79±1.84	3.8~5.6	4.85±0.52	2.27~3.57	2.85±0.31
M	subcylindrical, round both end, sometimes taperred end	8.1~14.5	11.15±1.94	3.5~5.4	4.31±0.41	1.76~3.38	2.59±0.42

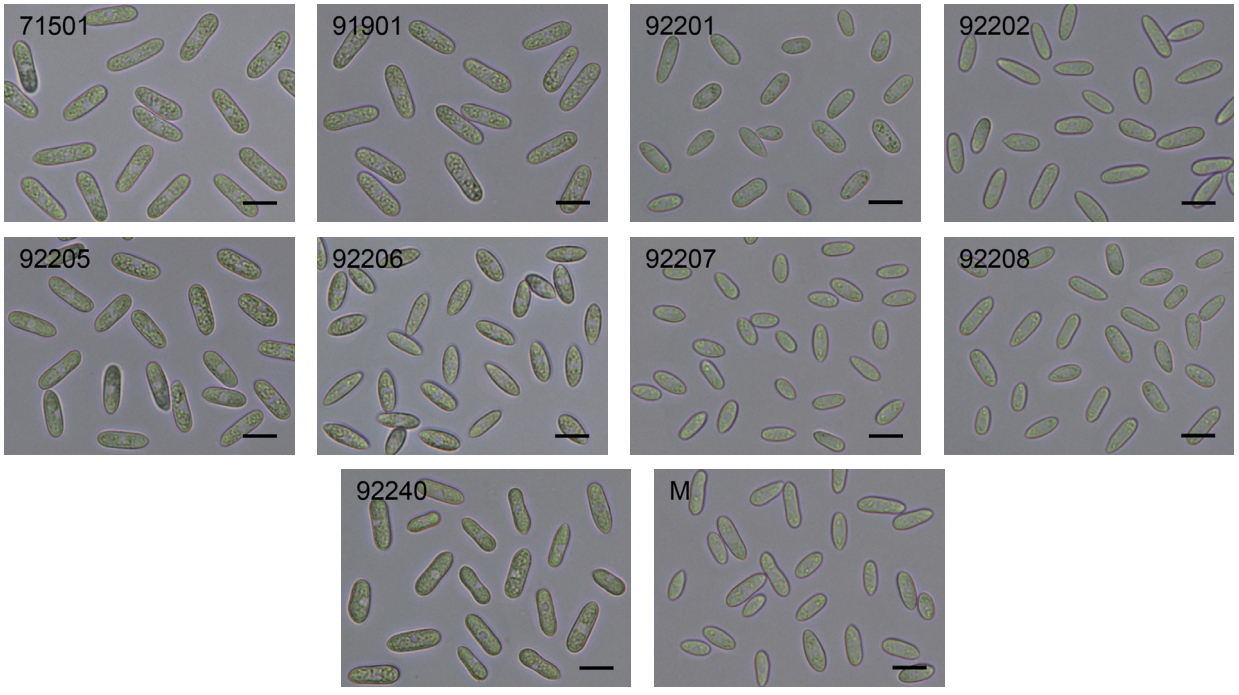

Fig. 4. Conidial morphology of *Colletotrichum* spp. isolates from anthracnose of plum fruits. The isolates were grown on potato dextrose agar. Scale bar=10 μm.

10~11.8 mm/day로 *C. gloeosporioides*의 경우 PDA배지에서 5일간 55~69 mm 생장한다는 보고(Adaskaveg and Hartin, 1997; Kim *et al.*, 2006)와 유사한 경향을 보였다. 92201, 92202, 92206, 92207, 92208과 M 균주의 균사 생장 속도는 6.2~8.4 mm/day이었으며, 5일간 배양하였을 때 45 mm 이하로 생장하는 특성을 나타내는 *C. acutatum* (Kim *et al.*, 2006)과 유사하였다.

포자의 크기와 형태를 관찰한 결과는 Table 4와 같다. 균

사생장 특성이 유사하였던 71501, 71502 및 91901 균주의 포자 형태는 양끝이 둥근 cylinder 모양으로 유사하였으며, 측정된 포자의 길이와 폭도 차이가 없었다. 92205 균주의 포자는 양끝이 둥근 cylinder 형태로 71501 균주 등과 유사하였으나 크기가 작았다(Fig. 4). 이들 4개 균주는 배양적 특성과 포자의 형태가 같은 핵과류인 복숭아에서 분리된 *C. gloeosporioides* (Kim and Hong, 2008)와 유사하였다. 92201, 92202, 92207, 92208 및 M 균주의 포자크기는 71501 균주 등에 비하여 크기가 작았으며, 형태는 subcylinder이었고 한쪽 끝은 둥근 모양이었으나 한쪽 끝은 뾰쪽하였다(Fig. 4). *C. acutatum*의 포자는 방추형(fusiform)으로 끝이 둥근 *C. gloeosporioides*와 다르게 끝이 뾰쪽한 것이 특징인데(Sutton, 1980), 92206 균주의 포자는 방추형으로 포자형태에 의해서 *C. acutatum*으로 분류할 수 있었으며, 크기는 복숭아 탄저병에서 분리된 *C. acutatum* (Kim and Hong, 2008)과 유사하였다. 92240 균주의 포자는 cylinder 형태로 71501 균주등과 유사하였으나, 크기는 13.8 μm×4.9 μm로 길이가 짧은 경향이었다.

rDNA-ITS 영역을 증폭하여 해독한 염기서열을 NCBI GenBank의 염기서열과 비교하여 분석한 결과는 Table 5와 같다. 균사가 배양 7일 후 약 80 mm 생장하여 빠른 생장속도를 나타낸 71501, 71502, 91901, 92205 및 92240 균주는 colony의 특성이나 색은 각각 특이성이 있었지만 모두 NCBI에 등록된 *C. gloeosporioides*과 분석된 염기서열 부위가 99-100% 일치하였다. 배양 7일 후 균사가 43.4-55.3 mm 생장하여 생장속도가 느렸던 92201, 92202, 92206, 92207, 92208 및 M 균주도 NCBI에 등록된 *C. acutatum*과 분석된 염기서열 부위가 99-100% 일치하였다.

*C. acutatum*과 *C. gloeosporioides*는 다양한 식물에서 탄저병의 병원균으로 분리되어 보고되어 있으며(Freeman *et al.*, 1998; Hu *et al.*, 2015), 동일 종 내에서도 병원성과 배양적 특성 등이 다양한 것으로 보고되어 있다. 본 연구 결과 자두에서 분리한 탄저병균을 PDA에서 배양 후 colony의 특성, 균사 생장속도, 포자 형태 및 분자생물학적 분석에 의해 *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides*으로 분류 동정하였다. 이러한 결과는 *C. acutatum*과 *C. gloeosporioides*가 탄저병이 발생한 복숭아(Kim *et al.*, 2006)와 사과(Lee *et al.*, 2007)에서 분리되어 보고된 결과와 유사하였다.

In vitro에서 *C. gloeosporioides*로 분류된 균주들의 병원성이 *C. acutatum*으로 분류된 균주들 보다 높은 것으로 나타났지만 실제 포장에서의 분리빈도는 조사되지 않았기 때문에 종에 따른 탄저병 발생 빈도의 조사와 탄저병 발생 시 농약을 사용하여 방제하기 위해서는 농약 고시가 우선인데, 이를 위해 이들 탄저병균 균주들의 농약에 대한 감수성 정도에 대한 시험이 수행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

탄저병이 발생한 자두에서 11개 탄저병균을 순수 분리하여 병원성을 검정한 후 PDA에 접종하여 25℃에서 7-10일 동안 배양하면서 각 균주의 균사 생장속도, colony의 특징과 색, 포자 형태 및 크기를 관찰하였다. 각 균주의 genomic DNA를 추출하여 rDNA-ITS 영역을 증폭한 다음, PCR을 하여 염기서열을 해독하였다.

각 균주의 배양적 특성, 포자의 형태와 크기 및 염기서열을 NCBI GenBank의 염기서열과 상동성을 비교하여 동정한 결과 6개 균주는 *Colletotrichum* acutatum으로, 5개 균주는 *C. gloeosporioides*로 동정되었다.

Table 5. Blast results with rDNA-ITS sequences *Colletotrichum* spp. islated from anthracnose of plum fruits. Partial sequence of 18S and 28S ribosomal RNA gene, complete sequence of internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosmal RNA gene and internal transcribed spacer 2 were analyzed

Isolate	Species	NCBI GeneBank Accession No.
71501	*C. gloeosporioides*	KC493156.1
71502	*C. gloeosporioides*	HQ645082.1
91901	*C. gloeosporioides*	HQ645079.1
92201	*C. acutatum*	KX344998.1
92202	*C. acutatum*	KX344998.1
92205	*C. gloeosporioides*	KT282667.1
92206	*C. acutatum*	KX108948.1
92207	*C. acutatum*	KX344998.1
92208	*C. acutatum*	KX344998.1
92240	*C. gloeosporioides*	KY302642.1
M	*C. acutatum*	KX344998.1

Notes

The author declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This research was supported by the Daegu University Research Scholoarship Grants.

References

Abang, M. M., Winter, S., Green, K. R., Hoffmann, P., Mignouna, H. D., & Wolf, G. A. (2002). Molecular identification of *Colletotrichum gloeosporioides* causing yam anthracnose in Nigeria. Plant Pathology, 51(1), 63-71.

Adaskaveg, J. E., & Hartin, R. J. (1997). Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. Phytopathology, 87(9), 979-987.

Bernstein, B., Zehr, E. I., & Dean, R. A. (1995). Characteristics of *Colletotrichum* from peach, apple, pecan, and other hosts. Plant Disease, 79(5), 478-482.

Choi, J. E., Lee, E. J., & Park, Y. S. (2000). Shot hole of peach and Japanese plum caused by *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* and *Erwinia nigrifluens* in Korea. Research in Plant Disease, 6(1), 10-14.

Freeman, S., Pham, M., & Rodriguez, R. J. (1993). Molecular genotyping of *Colletotrichum* species based on arbitrarily primed PCR, A+T-rich DNA and nuclear DNA analyses. Experimental Mycology, 17(4), 309-322.

Hu, M. J., Grabke, A., & Schnabel, G. (2015). Investigation of the *Colletotrichum gloeosporioides* species complex causing peach anthracnose in South Carolina. Plant Disease, 99(6), 797-805.

Jeger, M., & Bailey, J. A. (1992). *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control, pp. 1-26, First Edition, CAB International, Wallingford, UK.

Jeon, J. Y., Hassan, O., & Chang, T. (2017). Anthracnose of persimmon (*Diospyros kaki*) caused by *Colletotrichum horii* in Sangju, Korea. Plant Disease, 101(6), 1035.

Kim, D. H., Jeon, Y. H., Go, S. J., Lee, J. K., & Hong, S, B. (2006). Reidentification of *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. acutatum* isolates stored in Korean Agricultural Cultur Collection (KACC). Research in Plant Disease, 12(3), 168-177.

Kim, H. J., Eum, S. H., & Lee, Y. S. (2002). Analyses of genetic relationships of *Colletotrichum* spp. isolated from sweet persimon with RAPD and PCR-RELP. The Korean Journal of Microbiology, 38(1), 19-25.

Kim, S. H., Choi, S. Y., Lim, Y. S., Yoon, J. T., & Choi, B. S. (2001). Ettiological characteristics and chemical control of ripe rot in grape cultivar campbell early. Research in Plant Disease, 7(3), 140-144.

Kim, W. G., & Hong, S. K. (2008). Occurrence of anthracnose on peach tree caused by *Colletotrichum* species. The Plant Pathology Journal, 24(1), 80-83.

Kim, Y. S., Balaraju, K., & Jeon, Y. (2016). Biological control of apple anthracnose by *Panibacillus polmyxa* APEC128. The Plant Pathology Journal, 32(3), 251-259.

Lee, D. H., Kim, D. H., Jeon, Y. U., Uhm, J. Y., & Hong, S. B. (2007). Molecular and cultural characterization of *Colletotrichum* spp. causing bitter rot of apples in Korea. The Plant Pathology Journal, 23(2), 37-44.

Lee, S. B., & Taylor, J. W. (1990). Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. PCR protocols: A guide to methods and applications (eds. Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., & White, T. J.), pp. 282-287. Academic Press, New York, USA.

Lee, S. C., Han, K. S., Cho, S. E., Park, J. H., & Shin, H. D. (2012). Occurrence of powdery mildew of Japanese plum caused by *Podosphaera tridactyla* in Korea. Research in Plant Disease, 18(1), 49-53.

Lee, S. W., Lee, D. H., Choi, K. H., & Kim, D. A. (2007). A report on current management of major apple pests based on census data from farmers. Korean Journal of Horticultural Science & Technology, 25(3), 196-203.

Perfect, S. H., Hughes, H. B., O'Connell, R. J., & Green J. R. (1999). *Colletotrichum*: A model genus for studies on pathology and fungal–plant interactions. Fungal Genetics and Biology, 27(2-3), 186-198.

Martinez-Culebras, P. V., Querol, A., Suarez-Fernandez, M. B., Garcia-Lopez, M. D., & Barrio, E. (2003). Phylogenetic relationships among *Colletotrichum* pathogens of strawberry and design of PCR primers for their identification. Journal of Phytopathology, 151(3), 135-143.

Ryu, Y. H., Lee, J. H., Kwon, T. Y., Kim, S. H., & Kim, D. G. (2012). Occurrence of bacterial black spot on Plum by *Xanthomonas aboricola* pv. *pruni* and it's pathogenicity on varieties of some stone fruits. Research in Plant Disease, 18(1), 40-44.

Sato, T., Moriwaki, J., & Misawa, T. (2013). Molecular re-identification of strains of the *Colletotrichum acutatum* species complex deposited in the NIAS Genebank and morphological characteristics of its member species. Japan Agricultural Research, 47(3), 295-305.

Shi, Y., Correll, J. C., Guerber, J. C., & Rom, C. R. (1996). Frequency of *Colletotrichum* species causing bitter rot of apple in the southeastern United States. Plant Disease, 80(6), 692-696.

Sutton, B. C. (1980). The Coleomycetes, Fungi Imperfecti with Picnidia, Acervuli and stromata. p 696, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.

Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Neves-Martins, J., & Oliveira, H. (2005). Molecular and phenotypic analyses reveal association of diverse *Colletotrichum acutatum* groups and a low level of *C. gloeosporioides* with olive anthracnose. Applied and Environmental Microbiology 71(6), 2987-2998.

Weir, B. S., Johnston, P. R., & Damm, U. (2012). The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. Studies in Mycology, 73(1), 115-180.

White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. & Taylor, J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: A guide to methods and applications (eds. Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., & White, T. J.), pp. 315-322. Academic Press, New York, USA.