

*Phytophthora nicotianae*와 *P. drechsleri*에 의한 구기자 역병의 발생

지형진* · 곽용범¹ · 이봉춘² · 조원대

농업과학기술원 식물병리과, ¹원예연구소 남해출장소, ²충청남도농촌진흥원 청양구기자시험장

Occurrence of Boxthorn Blight Caused by *Phytophthora nicotianae* and *P. drechsleri*

Hyeong-Jin Jee*, Young-Bum Kwak¹, Bong-Chun Lee² and Weon-Dae Cho
Division of Plant Pathology, National Institute of Agricultural Science and Technology,
RDA, Suwon 441-707, Korea

¹Namhae Subinstitute, National Horticultural Research Institute, Namhae 668-810, Korea

²Chongyang Boxthorn Experiment Station, Chungnam Provincial RDA, Chongyang 345-870, Korea

ABSTRACT: Since 1995, boxthorn blight caused by *Phytophthora* spp. has occurred at Chongyang areas in Chungnam province. Infected plants showed yellows and wilt at early stage, but the symptom rapidly progressed into blight due to the decay of roots and basal stem tissues. The disease was relatively severe in poorly drained lowlands and incidence reached ca. 20% in some fields. Two species of *Phytophthora* were constantly isolated from freshly infected roots and basal stems. Among 39 isolates collected, 26 were identified as *P. nicotianae* and 13 as *P. drechsleri* based on their mycological characteristics. Both fungi showed strong pathogenicity to boxthorn cv. Chongyang No. 1. However, the former expressed stronger pathogenicity than the latter. *Phytophthora* blight of boxthorn caused by the fungi has not been reported in Korea previously.

Key words: boxthorn blight, *Phytophthora nicotianae*, *P. drechsleri*.

구기자(*Lycium chinense*)는 가지과에 속하는 낙엽성 관목으로 줄기는 대개 덩굴성이며 가지가 있는 약용식물로서 우리나라 각처의 인가 부근이나 길가에서 자라고 있는데 충남 청양과 전남 진도에서 집단으로 재배되고 있다. 구기자는 새순은 나물로, 열매와 뿌리는 약용으로, 줄기는 사료로 사용되는 등 식물체의 전부위가 골고루 이용되는 유용한 식물인데, 한방에서 구기자 열매는 구기자, 뿌리의 껍질은 지골피, 잎은 구기엽으로 불린다(10, 11).

현재까지 국내에서 보고된 구기자 병해는 탄저병(*Colletotrichum gloeosporioides*), 흰가루병(*Erysiphe polygoni*), 점무늬병(*Cercospora lycii*), 갈색점무늬병(*Phoma* sp.), 뒷면잎곰팡이병(*Pseudocercospora chengtzensis*) 등으로 주로 공기전염성 병해가 많으며, 뿌리나 줄기를 침해하여 주 전체를 고사시키는 토양전염성 병해에 대한 기록은 아직 없다(9). 하지만, 1995년부터 충남 청양지역의 일부 구기자 재배포장에서 뿌리와 줄기 지제부가 썩으면서 지상부는 황화되고 시들며 결국 고사되는 병해가 발생하고 있다. 본 연구는 이와 같은 구기자 뿌리와

줄기 지제부 썩음 증상의 원인을 밝히기 위하여 병든 식물조직으로부터 병원균을 분리동정하고 이들의 병원성을 검정하여 구기자의 새로운 병해로 보고하고자 수행하였다.

재료 및 방법

발병 및 병원균의 분리. 충청남도농촌진흥원 구기자 시험장 포장과 청양의 11개 농가 포장에서 구기자 뿌리와 줄기 지제부가 썩고 지상부는 황화 고사되는 병 증상의 발병을 달관조사하였다. 신선한 병든 시료를 각 포장에서 수집하여 흐르는 수도물에 깨끗이 씻고 물기를 말린 다음 병든 조직을 약 3 mm² 정도로 절편을 내어 1% NaClO 용액에 약 10초간 표면 살균하였다. 이 조직을 살균수에 행구고 물기를 제거 한 다음 물한천 배지(WA)와 역병균 반선택배지(7,8)에 올려 놓고 24°C에서 48시간 동안 배양한 후 조직에서 자라나온 균사의 끝을 떼어 10% V8 주스배지에 옮겨 배양하였다.

병원균의 균학적 특성 조사. 분리균주들을 Potato Dextrose Agar(PDA), Corn Meal Agar(CMA) 및 Oat-Meal Agar(OMA)상에서 7일정도 배양하여 균총의 형태

*Corresponding author.

**농업과학기술원 승인번호 : 98-3-2-57

를 관찰하였으며, 유주자낭의 형태를 조사하기 위해서 분리균을 10% V8 주스배지에서 3~4일 동안 배양한 다음 균층의 가장자리를 수술용 칼로 약 15×15 mm 정도로 잘라내어 새 Petri dish로 옮기고 살균수를 약 1.0

ml 정도 첨가하여 절편이 물에 잠기도록 한 다음 형광등이 조사된 24°C 항온기에서 24~72시간 동안 두고 형성된 유주자낭의 형태를 관찰하였다. 유성생식형과 난포자 관찰을 위해서 공시균들을 10% V8 주스배지에 4일간 배

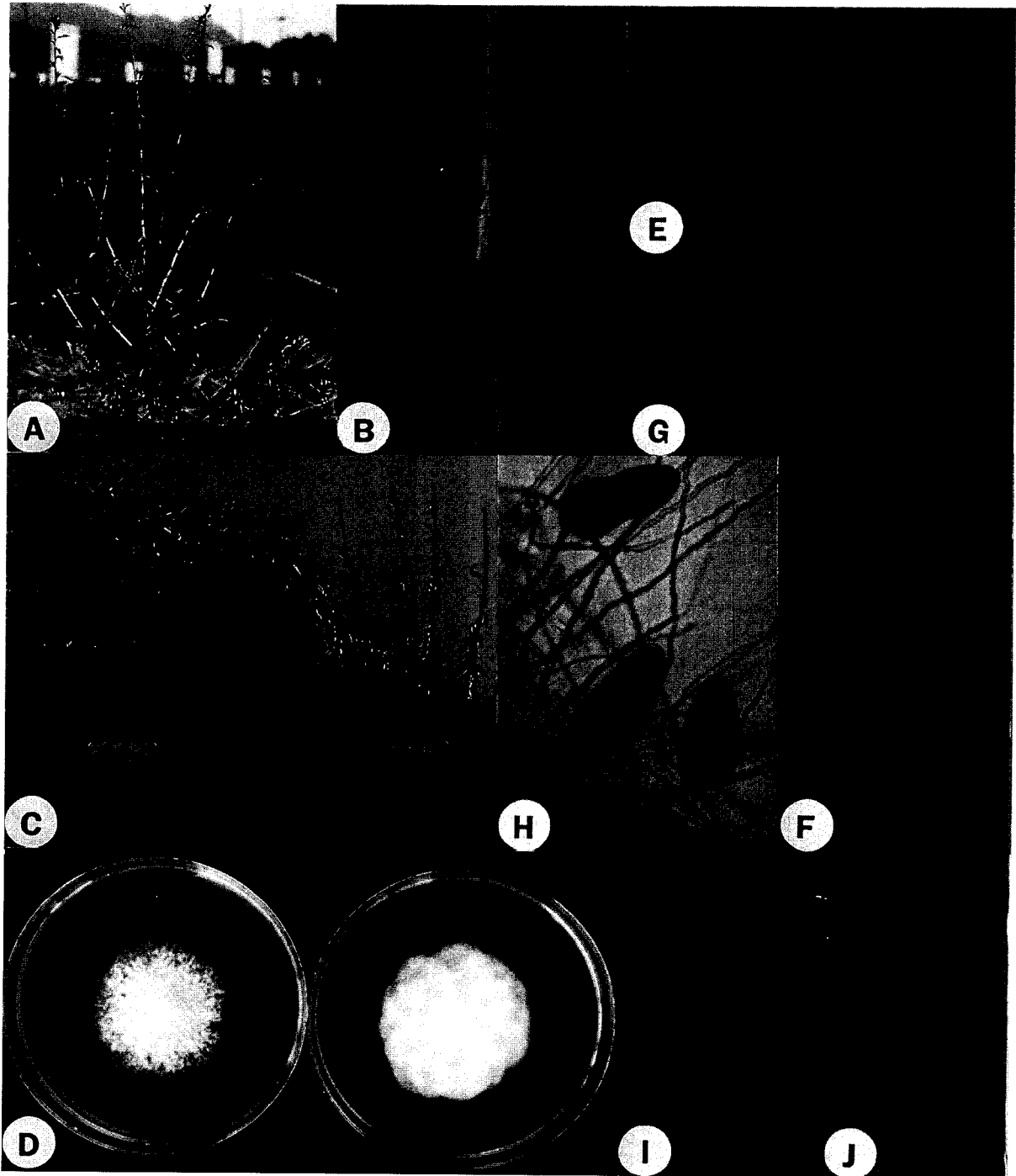


Fig. 1. Symptoms and morphological characteristics of the *Phytophthora* isolated from roots or basal stems of blighted boxthorn. (A) A typical symptom in the field; (B) Roots and basal stems of the infected plants; (C) A control (left) and an artificially inoculated plant (right); (D) Two colony types of the causal fungi showing either arachnoid (A type, left) or rosaceous pattern (R type, right) on PDA; (E) Sporangia, (F) oospore and (G) chlamydospore of the A type (P-9658); (H) Sporangia, (I) oospore and (J) hyphal swellings of the R type (P-9657).

양한 후 어린 균사를 직경 7 mm의 cork borer로 agar disk를 찍어 낸 다음 새로운 petri dish에 6개씩 옮기고 polycarbonate membrane(PC MB 90 mm, 0.2 μ m, Nucleopore Co., USA)을 그 위에 덮었다. 유성생식 표준균주인 *P. parasitica* A1(991)과 A2(6134)를 위와 같은 방법으로 한천원반을 만들어 각각 3개씩 그 위에 뒤집어 올려 놓은 후 빛이 없는 20°C 항온기에서 2주간 배양하였다. PC membrane을 제거한 다음 공시균의 agar disk 표면에 형성된 난포자의 형성 유무와 형태를 관찰하였다(7).

병원성 검정. 분리된 39균주중 P-9657과 P-9658 균주를 선발하여 병원성을 검정하였다. 전염원인 유주자를 형성시키기 위하여 병원균을 10% V8 주스 배지에서 5일간 배양한 후 약 15×15 mm 크기로 agar block을 만들어 새 petri dish에 약 20개씩 옮기고 멸균수를 각각 20 ml씩 첨가한 다음 빛이 조사된 25°C 항온기에서 24~48시간 배양하였다. 유주자낭이 충분히 형성된 후 4°C에서 30분간 저온 처리하여 유주자를 유출시켰는데 유출된 유주자는 4겹의 가아제로 걸러서 접종원을 만들었다. 이때의 유주자 농도는 10^4 ~ 10^5 /ml이 되게 조절하였다.

약 90일정도 화분(직경 25 cm×높이 20 cm)에서 육묘한 청양 1호 구기자를 뿌리가 상하지 않게 들어내어 흐르는 수도물에 뿌리를 깨끗이 씻고 핀으로 상처를 준 것과 상처를 주지 않은 것으로 구분하여 준비된 병원균의 유주자 현탁액에 약 1시간 정도 담구고 다시 화분에 이식하였다. 충분한 습도 유지를 위해서 모든 처리주에 비닐을 씌워 25°C에서 48시간동안 둔 후 비닐을 벗겨 내고 온실에 두고 병징 발현 여부를 관찰하였다. 병원성 검정은 처리별로 3주씩 공시하였으며 2회 반복 실험하였다.

결 과

발병 및 병원균의 분리. 병든 구기자의 지하부 뿌리와 줄기 지체부는 심하게 썩고 지상부는 초기에 황화되며 시들다가 나무 전체가 말라 죽었다(Fig. 1-A, B). 구기자시험장 포장과 4개 농가 포장에서 이와 같은 병 증상이 조사되었는데 주로 배수가 불량한 저습지에서 발생이 많았고 병 발생율은 5~20% 정도였다. 병든 구기자의 뿌리와 줄기 지체부에서는 균총의 형태가 서로 다른 두 종류의 병원균이 분리되었는데, 1996년도에 분리된 26균주중 25균주는 PDA상에서 거미집 형태로 자랐으며 (Arachnoid, A type) 나머지 한 균주는 기중균사를 다소 많이 생성하면서 장미꽃 형태로 자랐다(Rosaceous, R type). 이에 반해 1997년에 분리된 13균주중 한 균주만 거미집 모양을 보이고 나머지는 장미꽃 모양의 균총을 형성하였다(Fig. 1-D). 두 종의 병원균은 균사에 격막이 없고 물속에서 유주자를 형성하며 유주자낭으로부터 유

주자를 직접 유출시키므로 *Phytophthora*속 균으로 동정되었다.

병원균의 동정. A type(Fig. 1-D, 왼쪽)의 균총을 형성한 균주들은 물속이나 배지상에서 유주자낭을 쉽게 형성하였으며 1~2개의 전형적인 유두돌기를 생성하였는데 유주자낭은 비탈락성이었으며 크기는 32-46×28-36(평균 39.1×33.3) μ m로 구형에 가까웠다(Fig. 1-E). 자웅이주균으로 26균주중 20균주는 A1형 나머지 6균주는 A2형으로 조사되었는데 난포자의 크기는 18~24(평균 22.8) μ m였고 장정기는 모두 저착형(amphigynous)이었다(Fig. 1-F). 대부분의 균주는 오래된 배지에서 다량의 후막포자(Fig. 1-G)를 형성하였는데 구형인 후막포자의 크기는 20~48 μ m 정도였으며 35°C에서 잘 자랐다(Table 1).

R type(Fig. 1-D, 오른쪽)의 균총을 형성하는 13균주는 배지에서는 유주자낭을 형성하지 않고 물속에서만 형성하였는데 유두돌기는 없었으며 크기는 56-68×24-36(평균 62.3×32.2) μ m로 비교적 길쭉한 형태를 나타냈다(Fig. 1-H). A type과는 달리 후막포자를 형성하지 않은 반면 물속에서 팽윤 균사(hyphal swelling)를 다량 형성하였는데(Fig. 1-J) 35°C에서 미약하게 성장하였다(Table 2). 자웅이주균으로 모든 균주가 A1형이었으며 장정기는 저착형이었는데 장난기의 크기는 24~36(평균 32.0) μ m, 난포자의 크기는 22~32(평균 28.2) μ m로 조사되었다(Fig. 1-I).

병원성. 공시한 2종의 역병원균은 상처 접종시 무상처 접종에 비해 강한 병원성을 나타내었는데 접종 5일 후부터 초기 시들음 증상을 보이고 잎은 황화되기 시작하였으며 2주 후에는 접종한 구기자나무가 모두 심하게 고사하였다(Fig. 1-C). 상처 접종시 A type 균주인 P-9658이 P-9657에 비해 다소 강한 병원성을 보인 것으로 조사되었으며 무접종주에서는 발병되지 않았다(Table 3). 접종한 구기자의 지체부 줄기는 포장에서와 유사한 썩음증상

Table 1. Characteristics of asexual and sexual reproduction structures of P-9658 identified as *Phytophthora nicotianae*

Examined characters	Morphological characters
Sporangium	Produced on agar and in water, papillate, not caducous, papilla ≥ 1 , ovoid to spherical, 32-46×28-36 (av. 39.1×33.3) μ m
Sporangiophore	Branched
Sexuality	Heterothallic
Antheridium	Amphigynous
Oogonium	Spherical, 22~28 (av. 24.4) μ m
Oospore	Plerotic, spherical, 18~24 (av. 22.8) μ m
Chlamyospore	Abundant, spherical
Hyphal swelling	Rare
Others	Growth at 35°C: 3.6 mm/24h Colony pattern on PDA: arachnoid

Table 2. Characteristics of asexual and sexual reproduction structures of P-9657 identified as *P. drechsleri*

Examined characters	Morphological characters
Sporangium	Produced only in water, not papillate, not deciduous, broad & elongate obpyriform, 56-68×24-36 (av. 62.3×32.2) μm
Sporangiophore	Unbranched
Sexuality	Heterothallic
Antheridium	Amphigynous
Oogonium	Spherical, 24~36 (av.32) μm
Oospore	Plerotic, spherical, 22~32 (av.28) μm
Chlamyospore	None
Hyphal swelling	Common
Others	Growth at 35°C Colony pattern on PDA : rosaceous

Table 3. Pathogenicity of the two isolates of *Phytophthora* to a boxthorn cultivar Chongyang No. 1

Inoculated isolate	Severity of boxthorn blight		
	Wounded	Not wounded	Control
P-9658	++++ ^a	+	-
P-9657	++	+	-

^aRoot rot degree; - : Healthy, + : weak, ++ : moderate, +++ : severe root rot.

을 나타내었으며 병든 조직으로부터는 역병균이 다시 분리되었다.

고 찰

구기자에서 분리된 역병균 중 PDA상에서 거미집 형태 (A type)로 자라는 26균주는 *Phytophthora nicotianae*로 동정되었으며 장미꽃 형태(R type)로 자라는 13균주는 *P. drechsleri*로 동정되었다. Stamps *et al.*(12)의 분류 체계에 따르면 *P. nicotianae*는 *Phytophthora* Group II에 속하는데 전형적인 유두돌기를 가진 유주자낭을 쉽게 형성하며 자웅이주균으로 저착성인 장정기를 형성한다. 이 균은 특이적으로 PDA 배지상에서 거미집모양의 균총을 형성하는데 35°C에서도 잘 자라며 많은 후막포자를 형성하고 24 μm 미만의 작은 난포자를 형성하기 때문에 다른 종들과 쉽게 구별된다고 하였다(1, 2).

PDA상에서 장미꽃형태로 자라는 13균주의 특성은 다른 연구자들이 기술한 *P. drechsleri*의 특징들과 잘 일치하였다(1-5, 11, 12). *P. drechsleri*는 역병균 group VI에 속하는 균으로 물속에서만 유주자낭을 형성하는데 유두돌기는 없으며 장정기는 저착형이고 유주자가 이미 방출된 유주자낭의 내부에서 다시 유주자낭을 형성하는 (internal proliferation) 특징을 가지고 있다. 후막포자는 형성하지 않으며 물에서 팽윤 균사(Hyphal swelling)

를 쉽게 형성하고 35°C에서도 생장하므로 그룹내의 다른 종들과 구분된다(1, 2). 하지만, *P. drechsleri*는 종내에 유전적으로 다른 여러 그룹이 존재하는 것으로 알려져 있으며 *P. cryptogea*, *P. sinensis*, *P. melonis* 등과는 형태적·배양적 특성이 매우 유사하여 명확한 구분이 어려운 것으로 알려져 있다(1).

구기자를 침해하는 두 역병균은 세계적으로 널리 분포하는 병원균으로 *P. nicotianae*는 1,000여종, *P. drechsleri*는 100종 이상의 매우 많은 기주 식물을 침해하는 것으로 알려져 있다(1, 4, 14), 국내에 발생하는 역병균 중 *P. nicotianae*와 *P. drechsleri*는 각각 15 기주식물에서 분리되었는데 주로 화훼류와 약초류 및 채소류를 침해하는 것으로 조사되었다(6). 1996년에 분리된 균주중 한 균주를 제외한 모든 균주는 *P. nicotianae*인 반면 1997년에 분리한 균주는 대부분 *P. drechsleri*로 동정되었는데, 한 개의 이병주에서 두 가지 병원균이 동시에 분리된 경우도 있어 두 종의 역병균 중 어떤 것이 구기자의 주 병원균인지 분명치 않다. 재배포장에서의 전염원의 밀도나 병 발생환경에 따라 1차 원인균이 결정될 것으로 판단되는데, 구기자에 대한 병원성은 *P. nicotianae*가 *P. drechsleri*에 비하여 다소 강한 것으로 조사되었다. 이상의 결과로 *Phytophthora*속 균에 의한 구기자 역병을 국내 미기록 병해로 보고하는 바이다.

요 약

1995년부터 충남 청양 지역의 일부 구기자 재배포장에서 구기자의 뿌리와 줄기지제부 심하게 썩으면서 지상부 위는 황화되고 결국 고사되는 병해가 발생되었다. 이 병은 배수가 잘 되지 않는 저지대에서 발생이 많았으며 병 발생율은 5~20% 정도였다. 신선한 병든 조직으로부터 2종류의 역병균이 분리되었는데, 수집된 39균주중 26개는 *P. nicotianae*로 나머지 13균주는 *P. drechsleri*로 동정되었다. 두 균 모두 구기자 재배품종 중 하나인 청양1호에 대해 강한 병원성을 나타냈는데 전자가 후자에 비해 좀 더 강한 병원성을 보였다. *Phytophthora*속 균에 의한 구기자 역병은 국내에 보고되지 않았으므로 *P. nicotianae*와 *P. drechsleri*에 의한 구기자 역병을 미기록 병해로 보고한다.

참고문헌

1. Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. 1996. *Phytophthora diseases worldwide*. APS press, St. Paul, Minnesota. 562pp.
2. Erwin, D. C., Bartnicki-Garcia, S. and Tsao, P. H. 1983. *Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology, and Pathology*. APS press, St. Paul, Minnesota. 392pp.
3. Ho, H. H. 1981. Synoptic keys to the species of *Phy-*

- tophthora. Mycologia* 73:705-714.
4. Ho, H. H. and Jong, S. C. 1989. *Phytophthora nicotianae* (*P. parasitica*). *Mycotaxon* XXXV(2):243-276.
 5. Ho, H. H. and Jong, S. C. 1991. Species concepts of *Phytophthora cryptogea* and *P. drechsleri*. *Mycotaxon* XL:35-39.
 6. 지형진. 1998. *Phytophthora* 속군의 특성 및 분류. 식물병과 농업. 4(1):79-89.
 7. Jee, H. J., Kim, W. G., Lee, S. Y. and Cho, W. D. 1996. *Phytophthora cryptogea* causing the foot rot of *Gerbera jamesonii* in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 12(3):374-376.
 8. Jee, H. J., Cho, W. D. and Kim, W. G. 1997. *Phytophthora* Diseases of Apple in Korea:II. Occurrence of an Unusual Fruit Rot Caused by *P. cactorum* and *P. cam bivora*. *Korean J. Plant Pathol.* 13(3):145-151.
 9. Jee, H. J., Cho, W. D. and Kim, W. G. 1997. *Phytophthora* Diseases of Apple in Korea:I. Occurrence of a destructive collar rot caused by *P. cactorum*. *Korean J. Plant Pathol.* 13:139-144.
 10. 이은중, 이영희, 조원대, 김완규, 진경식. 1991. 원색 약용작물 병해도감. 농촌진흥청 농업 기술연구소. pp.143-147.
 11. Seo, G. S., Lee, J. Y., Kim, S. Y., Kim, J. K. and Ahn, B. C. 1985. A Study on Cultural Methods of Boxthorn. *Res. Rept. RDA(Crops)* 27(2):218-224.
 12. Lee, B. C., Seo, G. S., Cho, I. S., Paik, S. W. and No, J. G. 1994. The cultural situation of the *Lycium chinense* in the regions of Chongyang. *Korean J. Oriental Bot. Res.* 7(1):23-28.
 13. Stamps, D. J., Waterhouse, G. M., Newhook, F. J. and Hall, G. S. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. *Mycological Papers* No. 162.
 14. Stamps, D. J. 1985. *Phytophthora drechsleri*. *CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria* No. 840.
 15. 한국식물병리학회. 1998. 한국식물병목록. 제3판. 64pp.

(Received July 15, 1998)