

고추疫病菌(*Phytophthora capsici*)의 卵孢子 形成에 미치는 溫度 및 營養의 效果

鄭鳳九·姜美貞

忠北大學校 農科大學 農生物學科

Effect of Temperature and Nutrition Affecting Oospore Formation of *Phytophthora capsici* Causing Red Pepper Fruit Rot

Bong-Koo Chung and Me-Jong Kang

Department of Agricultural Biology,

College of Agriculture, Chung-buk National University, Cheonju, 360-763. Korea

ABSTRACT: Sexual reproductive structure of *Phytophthora capsici* *in vitro* was round shape with thick wall and 24.4 μm of diameter ranging 20-32.5 μm . Oogonium was 26.7 μm (21-37.5 μm) and 6.5- \times 5.4 μm (6-8 \times 5-6 μm) for antheridium as doughnut shaped. Since mycelial contact of the paired cultures initiated right after inoculation, mycelial expansion phase was followed. Oospore morphogenesis could be divided into the four phases for reproducing adult oospores. The optimum temperature for oospore reproduction was 20-24°C, whereas a retard trend for oospore formation was at the temperature above 25°C. Korean squash agar medium showed a higher oospore formation than the existing V-8 agar medium. Red pepper fruit agar medium was next. No oospore was reproduced on the red pepper leaf medium. Diurnal light with 1800 \pm 300 and 800 \pm 300 Lux showed rather retardation for oospore formation than dark conditions.

KEYWORDS: *Phytophthora capsici*, Oospore, Natural squash medium, Red pepper.

고추 生育 中에 發病하여 被害를 주고 있는 고추疫病(*Phytophthora capsici* Leonian)은 고추 多收穫에 있어서 가장 큰 減收 要因 中의 하나가 되고 있다(鄭鳳九 등, 1986; Leonian, 1922). 遊走子 菌類에 속하는 이 病原菌은 無性世代로 運動性인 遊走子를 形成하여 作物에 直接侵入할 뿐만 아니라 完全世代로써 形成된 卵孢子는 흙속에서 살면서 第1次 傳染源으로 重要한 役割을 하고 있다(김 등, 1988). 따라서 限定된 耕地로 인한 고추의 連作은 고추 疫病發生 擴大의 直接的인 原因이 되고 있다.

卵孢子 形成에 미치는 溫도와 營養에 관한 研究로서 Turner(1961)는 *P. palmivora*의 卵孢子 形成에 미치는 溫度는 菌絲生長보다 낮은 溫度인 16~

20°C이었다고 報告하였으나 *P. heveae*는 卵孢子 形成이나 菌絲生長의 最適溫度는 같았다고 Brasier(1969)는 밝혔다. 天然培地로 Kaostri 등(1980)은 *P. palmivora*에 대하여 당근배지가 가장 좋았다고 報告하였고, Ribeiro, 등(1975)은 V-8 환천培地와 比較하여 여러 種의 卵孢子 形成에 알맞는 合成培地를 選拔 報告 하였을뿐 國內에서 고추疫病的 卵孢子에 대한 研究는 未治한 實情이다.

그러므로 고추疫病 防除의 基礎資料로써 아직까지 잘 알려져 있지 않은 고추疫病的 卵孢子 形成에 미치는 要因 中 溫도와 營養에 관한 研究를 遂行 하였으며 이에 지금까지 進行한 研究結果를 報告드리는 바이다.

本 研究는 1989年度 韓國科學財團의 研究支援으로 遂行된 研究의 一部임.

Table I. Major component of the media used.

Medium	Major component
V-8A	V-8 juice 100 ml, CaCO ₃ 2g
OA	Oatmeal 30g
CA	Carrot 200g
PDA	Potato 200g, Dextrose 20g
RPSA	Red pepper fruit 25g, Squash 25g, CaCO ₃ 2g
RPFA	Red pepper fruit 50g, CaCO ₃ 2g
SA	Squash, each of 50,100,150,200g
RPLA	Red pepper leaf 20g

*Agar; 18g/1000 ml

材料 및 방법

供試菌株

供試菌株은 報恩지방의 고추圃場에서 分離한 一般菌株과 農業技術研究所 病理科에서 分讓받은 配偶子型인 A₁과 A₂ 및 任実·大邱 菌株을 供試하였다.

卵孢子 觀察

V-8, 오토밀 및 호박배지 위에서 配偶者型인 A₁과 A₂ 菌株을 24℃의 定溫器에서 3週日間 培養하였다. 藏卵器(Oogonium), 藏精器(Antheridium) 및 卵孢子(Oospore)의 形成過程을 400배와 1000배의 顯微鏡下에서 觀察하였다.

溫度 效果

호박培地와 V-8 한천培地에 供試菌을 接種하여 13, 20, 24, 28, 30℃ 및 35℃ 등 6단계의 溫度로 처리하여 卵孢子의 形成 狀況을 Microsyringe法(Ko 등, 1973)으로 調査하였다.

天然培地 選拔

供試培地는 既存培地 4種과 高추, 호박, 고추열매, 호박 및 고추잎한천培地 등 4種을 첨가 使用하여 3週間 培養한 後 Microsyringe法으로 卵孢子數를 調査하였다. 供試 培地의 造成은 다음과 같다 (Table I).

光의 效果

任実과 大邱分離菌株을 오토 밀 培地에 5日間 培養后 콜크보라(직경 4mm)로 찍은 菌絲片을 V-8 한천培地에 接種하여 1800±300 및 800±300

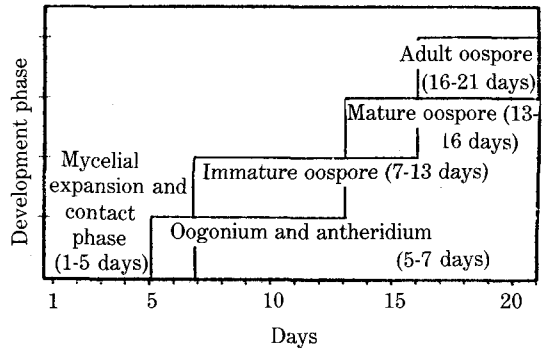


Fig. 1. Development phases of sexual morphogenesis of *P. capsici* in vitro.

(Lux)로 조절된 定溫器(24℃)에서 晝夜條件으로 光照射하였고 對照區로서 暗條件을 두었다. 調査方法은 前述한 方法에 따랐다.

結果 및 考察

卵孢子 觀察

異株性인 高추疫病菌(*Phytophthora capsici*)의 卵孢子 形成은 配偶者型인 A₁과 A₂ 菌株을 接種한지 5일에서 7일만에 藏卵器와 藏精器 形成, 7일에서 13일에는 未熟 卵孢子形成, 14일에서 15일에는 成熟 卵孢子 形成, 16일 이후에는 完熟된 卵孢子가 形成되었다(Fig. 1과 2). 勿論 卵孢子 形成過程을 形態分化에 基準하여 四段階로 區分 試圖하였으나 더 細密한 微細構造 觀察에 依한 究明이 必要하다 하겠다.

完熟한 卵孢子的 크기는 平均 24.4 μm, 藏精器는 도우넛모양으로 길이와 폭은 6.5×5.4 μm, 藏卵器의 크기는 26.7 μm이었다(Table II). Smoot 등(1958)이 報告한 *P. infestans*의 卵孢子 31.5~41.0 μm보다 작으며 Ribeiro 등(1975)이 報告한 *P. capsici*의 卵孢子는 29~38 μm인데 반하여 韓國產 高추 疫病菌 卵孢子는 24.4 μm(20~33 μm)로서 약간 작은편이었다. 卵孢子的 바깥膜은 藏卵器膜(Oogonial Wall)이며 안쪽에 얇은 膜에 쌓여있는 둥근모양의 卵孢子가 鮮明히 보이고 그 卵孢子的 内部는 Ooplast로 構成되어 있었다(Fig. 2).

溫度 效果

供試培地에 差異없이 13℃에서는 卵孢子는 形成

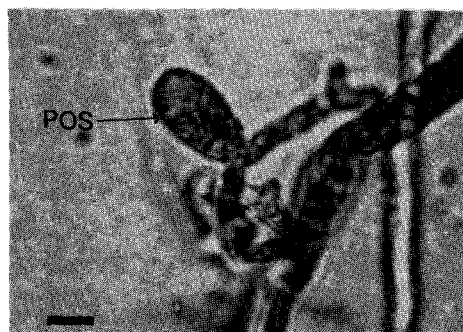


Fig. 2-1

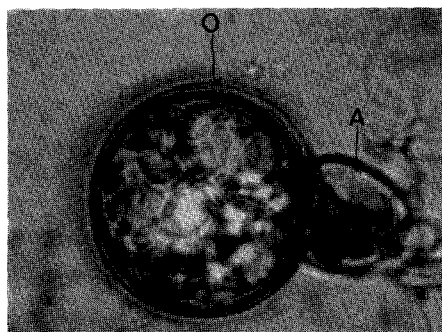


Fig. 2-2

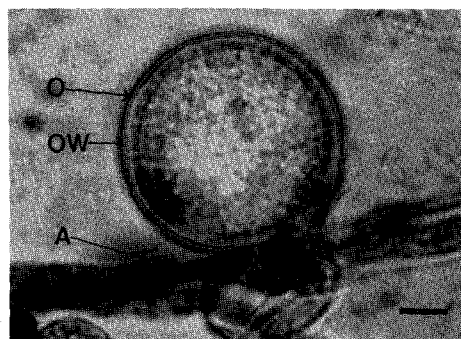


Fig. 2-3

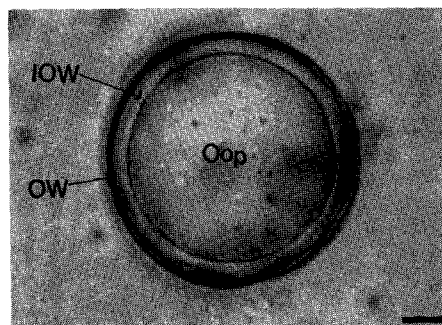


Fig. 2-4

Fig. 2. Explanation of plate.

Fig. 2-1. Mycelial expansion and preoogonial structure forming stage after paired culture of the fungus. POS=preoogonial structure, Bar represents 7 μ m.

Fig. 2-2. Oosphere formation after formed oogonial and antheridial structure. O=oogonium, A=antheridium. Bar represents 5.0 μ m ($\times 1000$)

Fig. 2-3. Immature oogonial formation. OW =oogonial wall, O =oogonium, A =antheridium. Bar represents 4.1 μ m ($\times 1000$).

Fig. 2-4. Mature oospore formation. OOP =ooplast, OW =oogonium wall, IOW =inner oospore wall. Bar represents 4.7 μ m ($\times 1000$).

Table II. Size of oogonium, antheridium and oospore produced by the mating A_1 and A_2 of *P. capsici* on the media incubated for 3 weeks at 24°C.

Medium ^{a)}	Size of sexual structure		
	Oogonium	Antheridium (L \times W)	Oospore μ m
V-8A	26.3 (23-35.0)	6.8 \times 5.6 (6-8 \times 5-6)	23.7 (22-30)
OA	29.5 (21-32.5)	6.2 \times 5.2 (6-7 \times 5-6)	25.4 (20-30.5)
SA	27.2 (21-37.5)	6.5 \times 5.4 (6.8 \times 5-6)	24.3 (20-32.5)

^{a)} SA: Squash Agar Medium, OA: Oatmeal Agar Medium and V-8 juice Agar Medium.

Table III. Effect of different temperatures affecting oospore formation of *P. capsici* cultured on the natural media.

Medium	Weekly Incubation period	Oospore No. (10^3 /ml)					
		13	20	24	28	33	35°C
V-8A	1	-	1.6	2.0	1.0	1.2	-
	2	-	5.0	7.5	4.5	3.0	-
	3	-	10.8	12.3	9.5	5.5	-
SA ^{a)}	1	-	0.9	2.2	1.0	1.1	-
	2	-	3.8	7.3	3.8	2.3	-
	3	-	10.3	15.9	9.5	4.8	-

^{a)} SA: Squash Agar Medium.

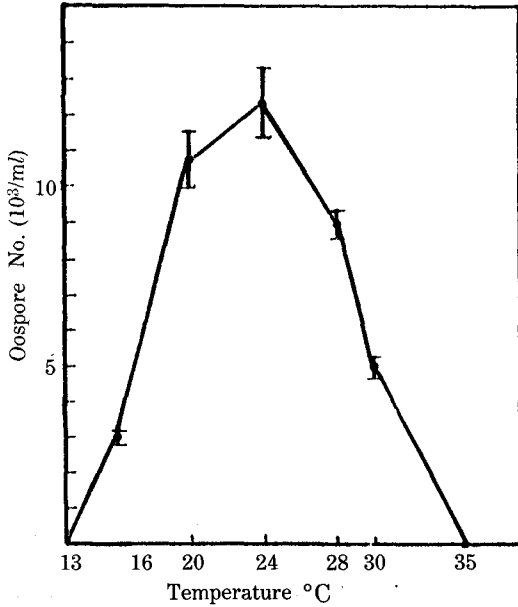


Fig. 3. Effect of temperature affecting oospore formation of *P. capsici* causing red pepper fruit rot cultured on the V-8 juice agar medium for three weeks.

되지 않았으며 16°C에서는 卵孢子 形成이 始作되었다. 24°C에서는 가장 많은 卵孢子 形成을 보였으며 培地別 差異없이 칫주와 들깨주보다 3週에 접어들면서 가장 많은 卵孢子 形成을 보였다(Table III). 有性世代의 子實體 形成에는 일반적으로 낮은 溫度가 必要하다고 指適한 바와 같이(Zentmyer 등, 1979), Turner(1961)는 *P. Palmivora* 配偶者型의 對置培養에서 卵孢子 形成에는 菌絲生長보다 低溫인 16~20°C에서의 卵孢子 形成을 報告하였고 본 고추 疫病菌의 最適溫度 範圍는 20~24°C로서 *P. parasitica*와 비슷한 傾向이었다(Honour 등, 1974). 따라서 24°C보다 溫度가 높아짐에 따라 오히려 卵孢子 形成이 떨어지는 傾向이었는데(Fig. 3) 이는 大部分의 疫病菌과 비슷하였다(Marudarajan, 1941; Hennes 등, 1975).

溫度와 光의 晝夜處理는 光度에 差異없이 卵孢子 形成이 暗條件보다 크게 減少하는 傾向이었다(Table IV) 即 任實菌株는 暗條件이 光照射條件보다 卵孢子 形成에 있어서 3~5培에 달했고 더욱이 大邱菌株는 光條件보다 2~8培 많은 卵孢子 形成을 보였다. 原來 有性과 無性世代間의 進展의 均衡은

Table IV. Effect of light affecting oospore formation of *P. capsici* causing red pepper fruit rot cultured on V-8 medium for 3 weeks at 24 °C.

Isolate	Oospore No. (10 ³ /ml)		
	Diurnal condition		Dark condition
	1800 ± 300	800 ± 300	
Imshil (A ₁ , A ₂)	2.4	3.4	13.2
Tague x Euisung (A ₁ , A ₂)	1.3	4.6	10.5

Table V. Comparison with oospore formation of *P. capsici* cultured on the red pepper medium.

Medium	Oospore No. (10 ³ /ml)		
	Exp I	Exp II	Mean
Red pepper ^{a)} leaf medium	-	-	-
Red pepper ^{b)} fruit medium	4.9	5.2	5.5

^{a)} Red pepper leaf medium: 20g of pepper leaves was incorporated, and red pepper fruit medium contained 50g of fruit plus CaCO₃, respectively.

한편이 다른편을 競爭의으로 沮止하기 때문이다. 따라서 溫度와 光이 無性과 有性世代 形成에 미치는 均衡制御에 關與됨을 Brasier(1969)와 Harnish(1965)는 指摘하였다.

天然培地 選拔

既存 4種의 天然培地와 새로운 天然培地의 效果를 比較한 結果 고추일한천培地에서는 卵孢子 形成이 전혀되지 않았으나 고추열매培地에서는 약간의 卵孢子 形成이 觀察되었다(Table V).

오토밀, V-8, 당근한천培地 및 감자한천培地와 고추호박, 고추열매 및 호박한천培地上에서의 卵孢子 形成 狀況을 比較한 結果는 호박한천培地上에서 既存 培地인 V-8 한천培地보다 더 많은 卵孢子 形成이 調査되었다(Table VI).

새로운 韓國型 天然培地와 既存培地를 比較한 結果 既存의 OA, CA, V-8에 뒤지지 않는 卵孢子 形

Table VI. Comparison with oospore formation of *P. capsici* cultured on the red pepper medium.

Medium ^{a)}	Oospore No. (10 ³ /ml)		
	Exp I	Exp II	Mean ^{b)}
RPSA	3.4	3.0	3.2 ^a
RPA	4.9	5.2	5.5 ^{ab}
PDA	8.5	12.0	10.3 ^{bc}
V-8A	13.2	12.4	12.8 ^{cd}
OA	17.0	14.3	15.8 ^{de}
CA	19.7	17.5	18.6 ^e
SA	18.2	15.8	17.0 ^e

a) RPSA: Red Pepper Fruit Squash Agar, RPA: Red Pepper Fruit Agar, PDA: Potato Dextrose Agar, V-8A: V-8 juice Agar, OA: Oatmeal Agar, CA: Carrot Agar, SA: Squash Agar, respectively.

b) Means in each column followed by the same letter are not significantly different at p=0.05, according to Duncan's multiple range test.

성을 고추열매와 호박한천배지에서 確認하였으며 고추잎한천배지에서는 卵胞子가 거의 形成되지 않았는데 이는 호박에는 풍부한 營養素가 含有되어 있으나 고추잎만으로는 卵胞子 形成에 필요한 營養分이 不足되기 때문이라 생각되며(Table VI) 앞으로 호박成分에 대한 精密한 研究도 要望된다.

Zentmyer 등(1979)은 *P. cinnamomi* 에서 가장 많은 卵胞子 形成을 보인 培地는 당근한천배지와 V-8 한천배지라고 하였으나 고추역병균 *P. capsici* 에 대하여는 값싼 호박培地로 代替하여 生理遺傳研究에 使用할 수 있으리라 生覺된다. 以上の 結果로 고추 疫病的 卵胞子는 두터운 膜으로 쌓여 있어서 休眠하였다가 이듬해 病을 誘發시키는 一次 傳染源으로서의 生態學的 條件을 說明하여 줄 뿐만 아니라 낮은 溫度에서 卵胞子는 形成되고 光條件보다는 暗條件에서 많은 卵胞子가 形成되는 것은 不利한 土壤속에서 存在하는 適應된 休眠胞子임을 알 수 있다.

摘 要

고추 疫病菌 有性世代인 卵胞子는 円形이며 膜이 두텁고 크기는 24.4 μm(20~32.5 μm)이며 藏卵器는 26.7 μm(21~37.5μm)이고 藏精器는 도우넛모양의

로 크기는 6.5×4 μm(6~8×5~6 μm)이었다. 卵胞子の 形成段階는 接種 直後 各 配偶者型的 菌絲가 伸展되어 接觸되고 擴張期로 이어지면서 完熟卵胞子로 되기까지 四段階로 區分되었다. 卵胞子 形成에 最適溫度는 20~24℃이었고 溫度가 25℃ 이상되면 오히려 減少하는 傾向이었다. 새로운 호박배지는 既存 V-8 寒天培地보다 많은 卵胞子 形成을 보였으나 고추잎培地에서는 卵胞子가 形成되지 않았다. 1800±300 및 800±300 Lux의 晝夜 光照射는 暗條件보다 오히려 卵胞子 形成에 沮害的이었다.

參考文獻

Brasier, G.M. (1969): The effect of light and temperature on reproduction *in vitro* in two tropical species of *Phytophthora*. *Trans. Br. Soc.* **52**(1): 105-113.

Chung, B.K. and Jang, K.S. (1986): Effect of soil amendments for suppressing occurrence of red pepper fruit rot caused by *Phytophthora capsici* and selection of effective antagonists. *The research report of the R.D.A.*: 151-162.

Harnish, W.N. (1965): Effect of light on production of oospores and sporangia in species of *Phytophthora*. *Mycologia* **57**: 85-90.

Hemmes, D.E. and Bartnicki-Garcia, S. (1975): Electron microscopy of gametangial interaction and oospore development in *Phytophthora capsici*. *Arch. Microbiol.* **103**: 91-112.

Honour, R.C. and Tsao, P.H. (1974): Production of oospores by *Phytophthora parasitica* in liquid medium. *Mycologia*. **66**(6): 1030-1038.

Kaosiri, T., Zentmyer, G.A. and Erwin, D.C. (1980) Oospore morphology and germination in the *Phytophthora palmivora* Complex from Cacao. *Mycologia* **72**: 888-907.

Kim, J.S., Do, T.H., Cho, E.K. and Lee, M.W. (1988) Mating type of *Phytophthora capsici* Leonian from red pepper in Korea. *Kor. J. Mycol.* **16**(2): 60-63.

Ko, W.H., Chase, L.L. and Kunimoto, R.K. (1973): A microsyringe method for determining concentration of fungal propagules. *Phytopathology* **63**: 1206-1207.

Leonian, L.H. (1922): Stem and fruit blight of pepper caused by *Phytophthora capsici*. sp. Nov.

- Phytopathology* 12: 401-408.
- Marudarajan, D. (1941): Observation on the production of sex organs in paired cultures of *Phytophthora* species of the Palmivora group. *Proc. Indian. Acad. Sci.* 5: 485-495.
- Ribeiro, O.K., Erwin, D.C. and Zentmyer, G.A. (1975): An improved synthetic medium for oospore production and germination in sexual *Phytophthora* species. *Mycologia* 67: 1012-1019.
- Ribeiro, O.K. (1978): A source book of the genus *Phytophthora*. J. Cramer, FRC.
- Smoot, J.J., Gough, F.J., Lamey, H.A., Eichenmuller, J.J. and Gallegly, M.E. (1958): Production and germination of Oospores of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*. 48: 165-171.
- Turner, P.D. (1961): Complementary isolates of *Phytophthora palmivora* from cacao and rubber, and their taxonomy. *Phytopathology*. 51: 161-163.
- Zentmyer, G.A., Klure, L.J. and Pond, E.C. (1979): The influence of temperature and nutrition on formation of sexual structures by *Phytophthora cinnamomi*. *Mycologia*. 71: 55-67.

Accepted for Publication 10 October 1990