

강원 지역에서 분리한 감자역병균(*Phytophthora infestans*)의 교배형(mating type) 및 metalaxyl 저항성

김병섭* · 최진희 · 전환홍 · 류경열¹ · 함영일¹ · 이윤수²

강릉대학교 원예학과, ¹고령지농업시험장 작물과, ²강원대학교 식물응용과학부

요약 : 1998년과 1999년에 강원도의 4지역으로부터 수집, 분리한 감자역병균 집단의 교배형과 metalaxyl 반응성을 조사하였다. 1998년 및 1999년에 분리한 균주는 A1과 A2 교배형이 모두 검출되었으나, 분리된 균주의 대부분이 A1 교배형이었다. 1998년에는 조사한 42균주 중 35.7%가 A2 교배형이었으며, 1999년에는 105균주 중 1균주만이 A2 교배형이었다. Metalaxyl에 대한 반응성은 metalaxyl이 10 µg/mL가 첨가된 V8-juice agar 배지에서 균사의 성장정도에 따라 결정했다. 1998년에는 조사한 균주 중 44.6%가 metalaxyl에 대하여 저항성이었으며, 55.4%의 균주가 중도저항성으로 감수성 균은 발견되지 않았다. 그러나 1999년에는 조사한 균주 중 10.5%가 감수성으로 나타났고, 88.6%의 균주가 중도저항성이었으며, 저항성 균은 0.9%로 나타났다. 따라서 A2교배형에서 A1교배형을 대체되고 있으며, metalaxyl에 대하여 저항성인 균주의 비율이 점차 줄어들고 있어 이러한 결과는 1990년대 초의 조사 경향과는 현저한 차이를 나타냈다.(2000년 1월 10일 접수, 2000년 2월 23일 수리)

Key words : *Phytophthora infestans*, mating type, metalaxyl resistance.

서론

감자와 토마토에 역병(late blight)을 일으키는 병원균인 *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary는 전형적인 난균강(Oomycetes)의 생물학적 특성을 가지지만, 다른 *Phytophthora*속 병원균과는 달리 노균병(downy mildew)과 유사한 병리학적인 특성을 가지고 있다. 난균강은 자낭균과 담자균보다는 조류(algae)와 고등식물과 근연관계가 가까운 것으로 보인다(Bruns 등, 1991; Knoll, 1992; 고, 1995). 난균강은 배수체로 다핵균사이며 세포벽에 chitin이 없고 편모가 두개인 유주자(zospore)를 생성한다. 일반적으로 *P. infestans*에는 두 가지 교배형(mating type) A1과 A2가 있다. 유성생식 기관인 웅기(antheridia)와 난기(oogonia)는 상대 교배형이 존재할 때만 유도 생성되며, 유전적 융합에 의해 난포자(oospore)가 생성된다(Shaw, 1987; 고 등, 1994; 소와 이, 1994). 난포자는 월동구조체인 반면에, 잎 또는 괴경의 감염은 무성적 분생포자(sporangia) 또는 유주자(zospore)에 의해 시작되며, 감염된 괴경 내부에서 균사체로 흔히 월동한다. 특히 공기 전염을 하는 분생포자에 의해 폭발적인 전염력을 가지고 있어서 전세계적으로 감자가 재배되는 곳에서는 감자역병의 대발생 가능성이 잠재하고 있다.

*P. infestans*의 기주는 경제적으로 중요한 작물인 감자와 토마토 뿐만 아니라 *Solanum*속에 속하는 많은 종들을 포함한다. 감자의 역병은 감자가 재배되고 있는 세계 도처에

서 발생하지만 감자가 넓은 면적에서 자라고 서늘하고 습한 날씨가 감자생산과 역병에 모두 유리한 북아메리카의 중동부와 북서유럽에서 가장 파괴적이다. 역병은 생육기 동안에 어느 때라도 감자와 토마토의 잎과 줄기를 침해하고 죽인다. 역병은 또한 감자 괴경과 토마토 열매를 침해하고 포장이나 수확 후 썩게 한다. 역병은 날씨조건이 적합하고 아무런 방제수단이 없다면 1, 2주일 이내에 포장에서 모든 식물체를 완전하게 죽여버린다(고, 1995; 김, 1998).

감자 역병 방제를 위해 난균류(Oomycetes)에 선택적으로 효과 있는 약제로 1977년 Ciba Geigy에서 개발된 metalaxyl이 사용되어 왔다. 이 약제는 약효가 탁월하고, 경엽처리에 의한 침투이행 효과를 가지고, 치료효과 등의 많은 장점을 가지고 있어 전세계적으로 널리 사용되었다(Bruck 등, 1980; 최 등, 1992; 김 등, 1993). 그러나 metalaxyl에 저항성인 *Phytophthora infestans*균주가 아일랜드(Dowley와 O'sullivan, 1981)와 네덜란드(Davidse 등, 1981)에서 1981년에 처음 보고된 이후, 전세계적으로 저항성 균이 보고되었다(Delp, 1988; 최 등, 1992; Daggett 등, 1993).

감자와 토마토에 발생하는 역병의 효율적인 관리를 위하여 *P. infestans* 집단의 유전적 특성을 조사하는데 이용되고 있는 유전자표(genetic marker)로는 mating type, allozyme, nuclear DNA fingerprinting, mitochondrial DNA, fungicide resistance, virulence 등이 있다(Fry 등, 1992; Fry 등, 1993; 고, 1995). 본 연구에서는 이중 두 가지 mating type과 침투성 살균제인 metalaxyl 저항성을 이용하여 대관령 지역 *P. infestans*집단의 진화기작에 관하여 고

*연락처

찰하고, 역병방제를 위한 집단의 유전연구의 방향을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

공시 균주

1998년과 1999년 여름에 강원도 강릉(Kangnung), 진부(Jinbu), 왕산(Wangsan), 횡계(hoenggae)지역의 감자 재배 포장에서 병든 잎을 채집하였다.

감염된 식물의 조직을 사방 0.5 mm 정도의 단편으로 잘라 표면 소독한 후, 항세균제(ampicillin 500 ppm, vancomycin 200 ppm, rifampicin 50 ppm)과 항진균제(pimaricin 100 ppm, benomyl 10 ppm)를 포함한 V-8 juice agar(200 mL V-8 juice, 4.5 g CaCO₃, 20 g agar, 800 mL D.W.)로 조제된 *Phytophthora* 선택배지를 이용하여 총 188개의 균주를 분리하여 다음 시험에 공시하였다.

분리된 균주는 20°C 암상태에서 Rye A agar배지를 이용하여 보존하였다.

Mating type 조사

각 지역별로 채집, 분리한 균주의 mating type을 결정하기 위하여, 한국화학회연구소에서 A1 type인 KA-2균주와 충남대학교 농생물학과에서 A2 type인 BC-3 균주를 분양받아 이것을 검정 균주로 사용하였다. Mating type이 알려지지 않은 균주의 균사선단을 8 mm 정도로 잘라 plate의 가운데 놓고 양끝에 A1, A2 검정균주를 대치법으로 접종하였다.

접종 4~5일 후부터 양균사가 만나는 곳에 백색 띠가 형성되는데, 그 부위를 현미경상으로 검정하여 A1균주와 접한 부위에 난포자가 형성되면 A2 type으로, A2균주와 접한 부위에 난포자가 형성되면 A1 type으로 결정한다.

Metalaxyl 반응성

In vitro 실험을 통해 metalaxyl 저항성 정도를 조사하였다. 분리된 균주를 metalaxyl(DL-methyl N[2, 6-dimethyl phenyl]-N-methoxyacetylalanine methyl ester)이 10 µg/mL가 첨가된 평판배지(9cm 직경의 petridish)에 접종하였다. 20°C 항온기에서 5일간 배양 후, 대조구에 대한 상대적인 균사의 생육정도에 따라 대조구의 생장의 40% 이상 생장한 경우 저항성(R, resistance), 40% 미만의 생장 균주는 중도저항성(MR, moderately resistance), 전혀 생장하지 못한 균주는 감수성(S, sensitive)으로 분류하였다.

결 과

병원균 분리

평안지인 강릉과 고령지인 횡계, 진부, 왕산에서 1998년 83균주, 1999년에는 105균주를 분리, 총 188개의 균주를 분리하였다(표 1).

Table 1. Origins of *Phytophthora infestans* isolates collected in Kangwan areas in 1998 and 1999

Year	Location	The number of isolates obtained
1998	Kangnung	40
	Jinbu	14
	Wangsan	5
	Hoenggae	24
Subtotal		83
1999	Kangnung	78
	Jinbu	7
	Wangsan	10
	Hoenggae	10
Subtotal		105
Total		188

Mating type

1998년에 분리한 총 83균주 중 42균주, 1999년에는 분리한 105균주 모두를 교배형 조사에 공시하였다.

1998년 분리 균주는 35.7%(15/42)가 A2 mating type으로 나타났다. 지역별로 살펴보면 고령지인 횡계에서 분리한 균의 81.8%가 A2 mating type인 반면, 강릉지역은 12.5%로 그 비율이 매우 낮았다. 전체적으로 볼 때 고령지 지역 분리균주의 A2 mating type 비율이 평안지 분리균의 비율보다 높았다. 1999년에 분리한 105개의 균주는 횡계에서 분리한 1 균주(1.0%)만 A2 mating type이고, 나머지는 A1 mating type으로 나타났다(표 2).

Metalaxyl 반응성

1998년에 분리한 83균주와 1999년에 분리한 105균주를 metalaxyl 반응성 시험에 공시하였다. 1998년 조사한 83개 균주는 저항성이 44.6%(37/83), 중도저항성이 55.4%(46/83)로 감수성 균은 발견되지 않았다. 지역별로 살펴보면, 강릉에서 분리한 균의 경우는 65.0%가 중도 저항성이며 35%는 저항성인 반면, 진부에서 분리한 균은 중도 저항성이 28.6%이고, 저항성 균이 71.4%로 저항성균이 많이 분리되었다. 그러나 왕산과 횡계에서 분리된 균주는 중도저항성이 각각 60.0와 54.2%로 강릉과 비슷한 분포를 나타냈다(표 3).

1999년 조사한 105개의 균주는 중도저항성이 88.6%(93/105), 감수성 균은 10.5%(11/105)이었으며, 저항성 균은 횡계에서 분리된 균주 중 1 균주(0.9%)만 발견되었다. 평안지인 강릉의 경우 93.6%(73/78)가 중도저항성 균으로, 6.4%(5/78)가 감수성 균으로 나타났고, 진부도 이와 비슷하게 각각 71.4(5/7)와 28.6%(2/7)로 나타났다. 또 왕산의 경우 모두 중도 저항성으로 나타났으나 횡계의 경우 중도 저항성 균이 50%(5/10), 감수성 균이 40%(4/10), 저항성 균이 10%(1/10)를 차지했다(표 3).

Table 2. Frequency of mating types of *Phytophthora infestans* isolates obtained from various locations in Kangwon areas in 1998

Year	Location	No. of isolates tested	Mating type ^{a)}	
			A1	A2
1998	Kangnung	16	14(87.5) ^{b)}	2(12.5)
	Jinbu	11	8(72.7)	3(27.3)
	Wangsan	4	3(75.0)	1(25.0)
	Hoenggae	11	2(18.2)	9(81.8)
	Subtotal	42	27(64.3)	15(35.7)
1999	Kangnung	78	78(100) ^{b)}	0(0)
	Jinbu	7	7(100)	0(0)
	Wangsan	10	10(100)	0(0)
	Hoenggae	10	9(90.0)	1(10.0)
	Subtotal	105	104(99.0)	1(1.0)
Total		147	131(89.1)	16(10.9)

^{a)}Mating type was determined by pairing each testing isolate with known A1 and A2 mating type isolates.

^{b)}Percentage of mating type isolates in parentheses.

Table 3. Responses to metalaxyl of *Phytophthora infestans* isolates obtained from various locations in Kangwon areas in 1998

Year	Location	No. of isolates tested	The number of isolates ^{a)}		
			S	MR	R
1998	Kangnung	40	0(0) ^{b)}	26(65.0)	14(35.0)
	Jinbu	14	0(0)	4(28.6)	10(71.4)
	Wangsan	5	0(0)	3(60.0)	2(40.0)
	Hoenggae	24	0(0)	3(54.2)	11(45.8)
	Subtotal	83	0(0)	46(55.4)	37(44.6)
1999	Kangnung	78	5(6.4)	73(93.6)	0(0)
	Jinbu	7	2(28.6)	5(71.4)	0(0)
	Wangsan	10	0(0)	10(100)	0(0)
	Hoenggae	10	4(40.0)	5(50.0)	1(10.0)
	Subtotal	105	11(10.5)	93(88.6)	1(0.9)
Total		188	11(5.9)	139(73.9)	38(20.2)

^{a)}Resistance of the *Phytophthora infestans* isolates to metalaxyl was examined on V-8 juice agar medium containing 10 µg/mL metalaxyl following an incubation of the fungus at 20°C for 7 days. S; sensitive, MR; moderately resistant, R; resistant.

^{b)}Percentage of resistant isolates in parentheses.

고찰

1980년대 초 *P. infestans*의 A2 mating type의 존재가 보고된 이후 우리나라에서도 1990년대 초 A2형의 존재가 처음으로 보고되었고, 분리된 대부분이 A2형임을 보고한 바가 있다(고 등, 1994; 소와 이, 1994; Nishimura 등,

1999). 이러한 결과는 감자역병균 집단이 이동을 통해 전 세계적으로 점차 A2 교배형으로 대체된다는 이론과 일치했었다(Shaw, 1987; Spielman 등, 1991; Fry 등, 1992; Daggett 등, 1993; Fry 등, 1993; 고, 1995). 그러나 본 실험에서의 결과는 A2 Mating type 비율이 1998년에는 37.5% 이고 1999년에는 1%에도 미치지 않아 그 비율이 점

점 낮아지는 경향을 보여 전 세계적으로 A2형이 A1형을 대체하고있다는 보고와는 다른 결과를 나타냈다. 1990년대 초 A2 mating type으로 대체되었던 감자 역병균 집단이 다시 A1 mating type으로 복귀되고 있는 상황이다.

Metalaxyl이 감자역병에 효과적인 약제로 보급되기 시작한 1980년대 초부터 전세계적으로 metalaxyl 저항성 균주들이 보고되기 시작하였고(Davidse 등, 1981; Dowley와 O'sullivan, 1981), 우리나라에서도 1990년대 초, 고 등(1994)에 의한 연구에 의하면 그 저항성이 점차적으로 증가하는 것으로 조사되었다. 또한 그 당시 강원도 지역에서 수집된 균주들의 경우, 남부평야 지대에서 수집된 균주들보다 metalaxyl저항성 정도가 훨씬 높게 나타났었다(고 등, 1994). 그러나 본 연구 결과에서는 1998년에 비하여 1999년의 경우, 저항성 균주가 44.6%에서 0.9%로 줄어든 반면, 중도저항성 균주는 55.4%에서 88.6%로 크게 증가한 것을 볼 수 있다. 1999년에는 특히 감수성 균주도 발견된 것으로 보아 metalaxyl 저항성이 감소함을 알 수 있다. 이렇게 metalaxyl에 대한 저항성이 감소한 원인으로 metalaxyl 사용량의 감소와 관련이 있는 것으로 생각된다. 농약연보(1988, 1993, 1998)에 따르면 실제로 metalaxyl의 사용량은 1980년대 초부터 급속히 증가하다가 1994년을 기점으로 줄어들기 시작하였다. 그러나 근래의 이러한 사용량도 감자역병 방제의 목적이 아닌 다른 용도로 사용되었을 가능성이 높다(그림 1).

이 연구에서의 결과를 종합해보면, metalaxyl 저항성이 점차 감소되고 A2 mating type의 비율이 점점 줄어들었음을 알 수 있다. 따라서 metalaxyl 저항성의 감소와 A2 mating type의 감소는 그 작용 기작이 확실하게 밝혀지지 않았으나 어떤 관계가 있는 것으로 보인다. 즉 과거의 강한 metalaxyl 저항성 유전자를 지닌 A2 mating type이 감소하면서 metalaxyl 저항성도 감소한 것으로 생각된다.

이 연구에서는 *P. infestans* 집단의 유전연구와 방제를 위한 수단으로 mating type과 metalaxyl 저항성, 두가지를 이용하여 강원도 지역의 감자 역병균의 생리, 생태를 조사하였다. 따라서 더 확실한 진화 기작 규명과 효과적인 방제수단을 강구하기 위해서는 또 다른 유전지표에 대한 연구가 시급히 이루어져야 할 것이다.

감사의 글

이 논문은 1998년도 한국학술진흥재단의 연구비(KRF-98-003-G00028)에 의하여 수행된 것으로서 재단측에 감사를 표합니다. 또 감자역병균의 교배형 조사를 위하여 검정균주를 분양해주신 한국화학연구소 스크리닝연구부와 충남대학교 농생물학과에 감사 드립니다.

인용문헌

- Bruck, R. I., W. E. Fry and A. E. Apple (1980) Effect of metalaxyl, an acylalanine fungicide, on developmental stages of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 70:597~601.
- Bruns, T. D., T. J. White, and J. W. Taylor (1991) Fungal molecular systemics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 22:525-564.
- Daggett, S. S., E. Gots and C. D. Therrien (1993) Phenotypic change in populations of *Phytophthora infestans* from eastern Germany. *Phytopathology* 83(3):319~323.
- Davidse, L. C., D. Looijen, L. J. Turkensteen and D. Vander Wal (1981) Occurrence of metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* in Dutch potato

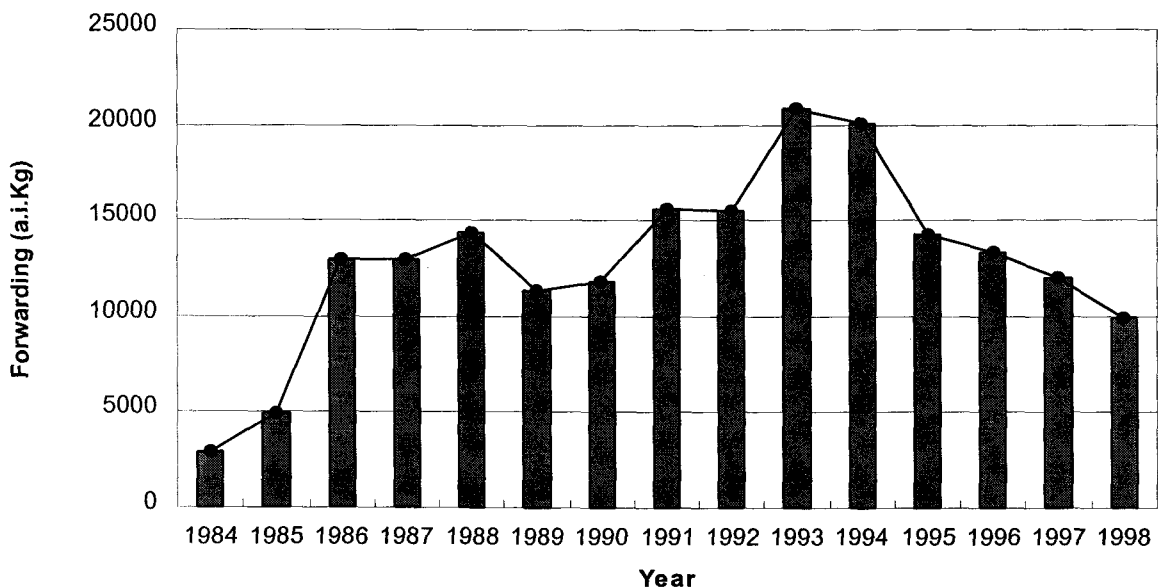


Fig. 1. Metalaxyl forwarding according to year.

- fields. Neth. J. Plant Path. 87:65~68.
- Delp, C. J. (1988) Fungicide resistance in north America. APS press. pp.133.
- Dowley, L. J. and E. O'Sullivan (1981) Metalaxyl-resistance strains of *Phytophthora infestans*(Mont.) de bary in Ireland. Potato Res. 24:417~421.
- Fry, W. E., S. B. Goodwin, A. T. Dyer, J. M. Matuszak, A. Drenth, P. W. Tooley, L. S. Sujukowski, Y. J. Koh, B. A. Cohen, L. J. Spielman, K. L. Deahl, D. A. Inglis and K. P. Sandlan (1993) Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: Chronology, pathways, and implications. Plant Dis. 77:653~661.
- Fry, W. E., S. B. Goodwin, J. M. Matuszak, L. J. Spielman, M. G. Milgroom and A. Drenth (1992) Population genetics and intercontinental migrations of *Phytophthora infestans*. Annu. Rev. Phytopathol. 30:107~29.
- Knoll, H. A.(1992) The early evolution of eukaryotes: A geological perspective. Science 256:622~627.
- Nishimura, R., K. Sato, W. H. Lee, U. P. Singh, T. Chang, E. Suryaningshi, S. Suwonakenee, P. Lumyong, C. Chamswang, W. Tang, S. K. Shrertha, M. Kato, N. Fujii, S. Akino, N. Kondo, K. Kobayashi and A. Ogoshi (1999) Distribution of *Phytophthora infestans* populations in seven asian countries. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 65:163~170.
- Shaw, D. S.(1987) The breeding system of *Phytophthora infestans*: the role of the A2 mating type. pp.161~174, In Genetics and plant pathogenesis (ed. P. R. Day & G. J. Jellis), Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Spielman, L. J., A. Drenth, L. C. Davidse, L. J. Sujukowski, W. Gu, P. W. Tooley and W. E. Fry (1991) A second world-wide migration and population displacement of *Phytophthora infestans*. Plant Pathol. 40:422~430.
- 고영진, 정희정, W. E. Fry (1994) 우리나라 감자역병균 A2 교배형 및 metalaxyl 저항성균의 빈도 및 분포의 변화. 한국식물병리학회지 10(2):92~98.
- 고영진 (1995) 감자역병균의 집단유전. 식물균병학 연구, pp.124~144, 한림원.
- 김병섭, 정영륜, 조광연 (1993) Metalaxyl 저항성 및 감수성 감자 역병균(*Phytophthora infestans*)의 적응력 비교 및 dimethomorph와 chlorothalonil에 의한 방제. 한국식물병리학회지 9(1):31~35.
- 김충희 (1988) 채소역병의 발생상태와 방제. 한농소식지 30:24~27.
- 농약공업협회 (1988, 1993, 1998) 농약연보.
- 소만서, 이왕휴 (1994) 감자역병균 *Phytophthora infestans*의 A2 교배형의 발생. 한국식물병리학회지 9(4):275~279.
- 최경자, 김병섭, 정영륜, 조광연 (1992) 감자 재배포장에서 metalaxyl 저항성인 감자역병균(*Phytophthora infestans*)의 발생. 한국식물병리학회지 8(1):34~40.

Mating type and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* isolated from Kangwon area in Korea

Byung-Sup Kim*, Jin-Hoe Choi, Whan Hong Chun, Kyoung-Yul Ryu¹, Young-Il Hahm¹ and Youn-Su Lee² (Department of Horticulture, Kangnung National University, Jibyun-dong 123, Kangnung-shi, Korea 210-702, ¹Crop Division, National Alpine Agriculture Experiment Station, Pyongchang 232-950, Korea, and ²Department of Applied Plant Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea)

Abstract : Isolates of *Phytophthora infestans* obtained from several locations of Kangwon area in 1998 and 1999 were examined on mating types and sensitivity to metalaxyl. Both A1 and A2 mating type isolates were isolated in 1998 and 1999. The majority of the *P. infestans* isolates were A1 mating type. About 64.3% of the isolates collected in 1998 and 99.1% in 1999 were determined as A1 mating type. Sensitivity of the *P. infestans* to metalaxyl was examined by measuring mycelial growth on V8 juice agar amended with 10 µg/mL metalaxyl. About 44.6% of the isolates examined in 1998 were resistant to metalaxyl, 55.4% of the isolates were intermediate resistant, but sensitive isolate was not isolated. However, 10.5% of the isolates examined in 1999 were sensitive, 88.6% of the isolates were intermediate resistant, and 0.9% of the isolates were resistant to metalaxyl. This studies indicate that A1 mating type is displacing A2 mating type and metalaxyl sensitivity of the *P. infestans* isolates of Kangwon area is increasing. This result is quite different from trends of early in 1990s.

*Corresponding author (Fax : +82-391-647-9535, E-mail : bskim@knusun.kangnung.ac.kr)