

## Ribosomal DNA의 PCR-RFLP에 의한 국내산 *Phytophthora drechsleri*의 3가지 종내그룹

홍승범\* · 지형진<sup>1</sup> · 이승임 · 고승주 · 류진창 · 김인수<sup>2</sup>  
농업과학기술원 분자유전과, <sup>1</sup>농업과학기술원 병리과, <sup>2</sup>경북대학교 유전공학과

### Three Intraspecific groups in Korean Isolates of *Phytophthora drechsleri* Based on PCR-RFLP of Ribosomal DNA

Seung-Beom Hong\*, Hyeong-Jin Jee<sup>1</sup>, Seung-Im Lee, Seung-Joo Go,  
Jin-Chang Ryu and In-Soo Kim<sup>2</sup>

Molecular Genetics Division, National Institute of Agricultural Science and Technology,  
Suwon 441-707, Korea

<sup>1</sup>Department of Plant Pathology, National Institute of Agricultural Science and Technology,  
Suwon 441-707, Korea

<sup>2</sup>Department of Genetic Engineering, College of Natural Science,  
Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

**ABSTRACT:** Intraspecific genetic diversity of Korean isolates of *Phytophthora drechsleri* was investigated based on PCR-RFLP of rDNA along with closely related species in the genus; *P. cryptogea*, *P. melonis*, *P. erythroseptica*, *P. cinnamomi*, *P. cambivora* and *P. cactorum*. Gene regions of nuclear small subunit and internal transcribed spacer (ITS) in rDNA were amplified with polymerase chain reaction and digested with 9 restriction enzymes. *Phytophthora* species was readily differentiated from each other based on the digestion patterns, however, *P. cryptogea* was not separable from some isolates of *P. drechsleri*. Twenty one isolates of *P. drechsleri* originated from 15 host plants were divided into three distinct groups designated as PdG1, PdG2 and PdG3, respectively. Four isolates in PdG1 were originated from green vegetables and tomato and nine isolates in PdG2 were mainly isolated from medicinal plants. The two groups showed 95.3% homology and four isolates of *P. cyptogea* came under the groups. However, Eight isolates in PdG3 collected from cucurbits were clearly differentiated from those of PdG1 and PdG2 by 66.5% homology, but completely matched with a Taiwan isolate of *P. melonis*. Results indicated that three distinct groups exist in Korean isolates of *P. drechsleri* and each group has host preference. In addition, reclassification of the cucurbits isolates are reserved because of their distinct genetic characters from other intraspecific groups in *P. drechsleri*.

**Key words:** intraspecific group, PCR-RFLP, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora melonis*, rDNA.

*Phytophthora* 속균은 세계적으로는 59종이 보고되어 있으나 국내에는 15종이 46개 작물에 발생하는 것으로 보고되어 있다(11). 그 중 *Phytophthora drechsleri*는 15개 작물에서 분리되어 *P. nicotianae*와 함께 가장 넓은 기주 범위를 가지고 있는데, 이 균은 거의 전세계적으로 분포하며 각종 채소작물, 관상식물, 수목 등 약 40과의 식물을 침해하여 주로 뿌리썩음병을 일으키는 것으로 알려져 있다(3, 19). 역병균은 종간에 형태적 특성 차이가 크지 않고 여러 종이 비슷한 형태를 가지고 있으며 배양 조건이나 균주에 따라 균의 형태적 특성이 매우 다양하게 나타나기 때문에 분류에 많은 어려움이 있다(9).

특히, *P. drechsleri*는 종내에 유전적으로 서로 다른 여러 그룹이 존재하는 것으로 알려져 있는데 *P. cryptogea*와는 형태적으로 매우 유사하여 종간 구별이 명확하지 않다(3). Bumbieris(2) 및 Ho와 Jong(10)은 형태적, 생리적 특징에서, Halsall(6)은 혈청학적인 반응에서 그리고 Matsumoto와 Sato(16)는 단백질 전기영동 양상에서 두 종이 서로 구분이 되지 않음으로 두 종이 합병되어야 한다고 주장하였다. 그러나 Mills 등(17)은 세계적으로 수집된 123균주의 mitochondrial DNA와 isozyme 분석을 통하여 *P. drechsleri*-*P. cryptogea* complex 내에는 10개의 종내그룹이 존재하는데 이 그룹간은 *Phytophthora*의 다른 종간에 해당하는 차이를 가진다고 하여 이 두 종의 합병을 반대하였다. 현재까지도 이 두 종은

\*Corresponding author

35°C에서 성장가능(*P. drechsleri*)과 그렇지 않음(*P. cryptogea*)을 제외하고는 뚜렷한 구분기준이 마련되어 있지 않다(3). 또한, 일본에서 Katsura(13)에 의해 오이로부터 분리된 *P. melonis*와 중국에서 Yu and Zhuang(21)에 의해 오이로부터 분리된 *P. sinensis*도 *P. drechsleri*와의 관계가 분류상의 논란이 되고 있다(4, 5). Ho(8)는 이 두 종의 유주자낭(sporangium)과 난포자(oogonium) 등의 형태적 특징이 *P. drechsleri*와 서로 구분되지 않고 35°C에서 성장이 가능하므로 *P. drechsleri*로 합병되어야 한다고 주장하였다. 한편 Mills 등(17)은 이 두 종이 isozyme 분석과 mtDNA의 RFLP 분석에서 박과작물 유래의 *P. drechsleri*와는 같은 그룹을 형성하나 *P. drechsleri*의 표준균주(type strain) 그룹과는 낮은 연관관계

를 보임으로서 *P. melonis*, *P. sinensis* 그리고 박과작물 유래의 *P. drechsleri*를 수정된 *P. melonis*로 명명함이 타당하다고 보고하였다.

현재 농업과학기술원에서 보존중인 *P. drechsleri* 81균주는 외국의 경우와 같이 주로 박과 작물, 엽채류, 약초류 등에서 분리되었는데, 이들 균주간에는 기주 선호성이나 균학적 특성이 균주에 따라 다소 상이하게 나타나기도 하지만 기존의 형태적 분류 방법으로는 이들을 구별하기가 매우 어렵다. 본 실험에서는 *P. drechsleri* 21개 균주와 형태적으로 유사성이 높은 6종의 역병균의 rDNA PCR-RFLP 분석을 통하여 역병균 종간의 유전적 차이와 *P. drechsleri* 종내의 유전적 다양성을 밝히고자 하였으며, *P. drechsleri*와 *P. melonis* 및 *P. cryptogea*와의 유

**Table 1.** The list of *Phytophthora* spp. used in this study

Isolate No.	Species	Intra-specific groups	Host	Origin	Mating type
D1(KACC <sup>a</sup> 40190)	<i>P. drechsleri</i>	PdG1	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Koryung	A1
D2(P-9614 <sup>b</sup> )	"	"	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Koryung	A1
D3(P-9801)	"	"	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>sativa</i>	Seoul	ND <sup>d</sup>
D4(P-9818)	"	"	<i>Spinacia oleracea</i>	Yeocheon	ND
D5(KACC 40191)	<i>P. drechsleri</i>	PdG2	<i>Angelica jaluana</i>	Seosan	A2
D6(Sp-33)	"	"	<i>Angelica jaluana</i> <sup>c</sup>	Suwon	A1
D7(KACC 40196)	"	"	<i>Ligularia fischeri</i>	Pyeongchang	ND
D8(Sp-42)	"	"	<i>Rehmannia glutinosa</i> <sup>c</sup>	Suwon	ND
D9(Sp-51)	"	"	<i>Maximowiczia chinensis</i> <sup>c</sup>	Suwon	ND
D10(P-97105)	"	"	<i>Lycium chinense</i>	Chungyang	A2
D11(KACC 40195)	"	"	<i>Atractylis lyrata</i>	Hamyang	A2
D12(KACC 40199)	"	"	<i>Actinidia chinensis</i>	Koheung	A2
D13(KACC 40198)	"	"	<i>Larix kaempferi</i>	Namwon	A1
D14(KACC 40193)	<i>P. drechsleri</i>	PdG3	<i>Cucumis sativus</i>	Puyo	A1
D15(P-9636)	"	"	<i>Cucumis sativus</i>	Kongju	Homo
D16(P-9626)	"	"	<i>Cucumis melo</i>	Iksan	Homo
D17(KACC 40194)	"	"	<i>Cucumis melo</i>	Kongju	A1
D18(KACC 40192)	"	"	<i>Cucumis melo</i> var. <i>reticulatus</i>	Iri	Homo
D19(P-9737)	"	"	<i>Cucumis melo</i> var. <i>reticulatus</i>	Kongju	A1
D20(KACC 40197)	"	"	<i>Citrullus lanatus</i>	Kongju	ND
D21(P-9750)	"	"	<i>Citrullus lanatus</i>	Puyo	A2
D22(KACC 40444)	<i>P. melonis</i>	"	<i>Cucumis melo</i>	Taiwan	A1
D23(P-9766)	<i>P. erythrosetpica</i>	-	<i>Astragalus membranaceus</i>	Suwon	Homo
D24(P-9768)	"	-	<i>Astragalus membranaceus</i>	Suwon	Homo
D25(KACC 40200)	"	-	<i>Pueraria thunbergiana</i>	Yeongcheon	Homo
D26(P-9536)	<i>P. cryptogea</i>	-	<i>Gerbera jamesoni</i>	Icheon	A2
D27(KACC 40189)	"	-	<i>Brassica pekinensis</i>	Seosan	A2
D28(P-9620)	"	-	<i>Gerbera jamesoni</i>	Pusan	A1
D29(P-9672)	"	-	<i>Gerbera jamesoni</i>	Seoguipo	A1
D30(KACC 40182)	<i>P. cinnamomi</i>	-	<i>Larix kaempferi</i>	Suncheon	A2
D31(KACC 40183)	"	-	<i>Larix kaempferi</i>	Suncheon	A2
D32(KACC 40159)	<i>P. cambivora</i>	-	<i>Malus pumila</i>	Andong	A1
D33(KACC 40160)	"	-	<i>Malus pumila</i>	Uisung	A1
D34(KACC 40174)	<i>P. cactorum</i>	-	<i>Pyrus sinensis</i>	Seosan	Homo

<sup>a</sup>Obtained from Korean Agricultural Culture Collection, Molecular Genetics Division, National Institute of Agricultural Science and Technology.

<sup>b</sup>Obtained from Department of Plant Pathology, National Institute of Agricultural Science and Technology.

<sup>c</sup>Obtained from cultural soil.

<sup>d</sup>ND: not determined.

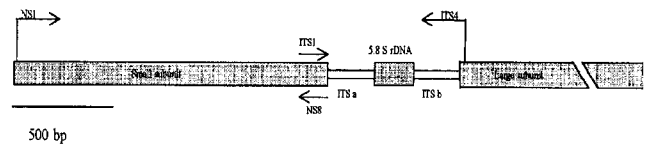
연 관계를 알아보코자 하였다.

## 재료 및 방법

**사용균주.** 농업과학기술원에서 1996년부터 전국의 작물 및 토양에서 분리한 역병균(11) 중 *P. drechsleri* 21균주, *P. cryptogea* 4균주, *P. melonis* 1균주, *P. erythroseptica* 3균주, *P. cinnamomi*와 *P. cambivora* 각각 2균주, *P. cactorum* 1균주 등 총 34균주를 선발하여 사용하였다. 각 균주들의 유래와 분리 기주 등은 Table 1에 요약하였다.

**DNA의 분리.** DNA분리는 Lee와 Taylor(14)의 방법을 변형하여 사용하였다. V8 agar에서 2~3일간 자란 활력이 높은 균총의 가장자리 균사를 긁어 1 ml의 V8 Broth가 들어있는 1.5 ml microtube에 접종한 후 분당 120회 속도로 진탕배양 하였다. 배양 2일 후에 microtube를 원심분리(13,000×g, 5분)하여 상층 배지를 버리고 균사를 수확하였다. 수확한 균사에 400 μl의 DNA추출용액[3% SDS, 50 mM EDTA, 50 mM Tris-HCl(pH 7.2), 1% 2-mercaptoethanol]을 넣고 유리막대를 이용하여 잘게 마쇄한 후 65°C에 1시간 동안 열처리하였다. 여기에 동량의 phenol:chloroform(1:1)을 넣고 13,000×g로 10분간 원심분리하여 상층액을 모은 후 0.54배 분량의 isopropanol을 첨가하여 핵산을 침전시켰다. 원심분리(12,000×g, 5분) 후 상층액을 버리고 70%의 에탄올로 세척하여 진공건조기에서 5분간 건조시킨 다음 100 μl의 TE buffer[10 mM Tris-Cl(pH 8.0), 1 mM EDTA]에 녹였다. 이어서 RNase를 넣고 37°C에서 30분간 처리하여 RNA를 제거한 후 2 μl를 취하여 PCR 반응용액의 주형 DNA로 사용하였다.

**Polymerase chain reaction에 의한 rDNA 단편의 증폭.** rDNA의 small subunit 부위를 증폭하기 위하여 primer NS1(5'-GTAGTCATATGCTTGCTC-3')과 NS8(5'-TCCGCAGTTACCTACGGA-3'), rDNA의 ITS영역을 증폭하기 위하여 primer ITS1(5'-TCCGTA-GGTGAACCTGCGG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), 그리고 rDNA의 ITS영역과 small subunit을 함께 증폭하기 위하여 primer NS1과 ITS4를 사용하였다. 이들 primer들은 white 등(22)에 의하여 보고되었으며(Fig. 1) 한국생공에 주문 제작하여 사용하였다. PCR 반응액은 1X buffer[50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl(pH 9.0), 0.1% triton X-100], dNTP 각각 0.1 mM, primer 각각 1pM, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM에 template DNA 100 ng, Taq Polymerase 2unit(Promega)를 첨가하고 전체량을 100 μl로 하였다. PCR 반응 조건은 denaturation(95°C, 1분), annealing(58°C, 1분), extension(72°C, 2분)으로서 첫 번째 denaturation은 4분을,



**Fig. 1.** Location of primers, NS1 and ITS4, used for amplifying small subunit and ITS region in rDNA of *Phytophthora* spp.(22).

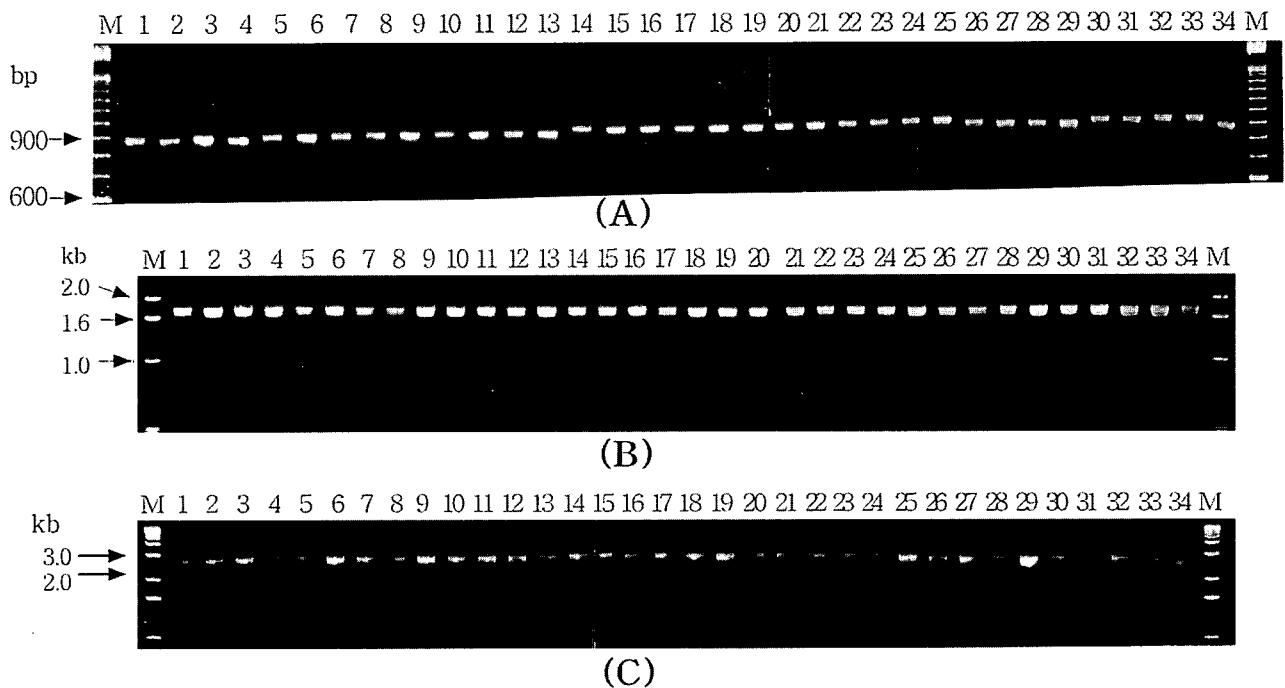
마지막 extension은 8분을 연장하였으며 총 35 cycle을 실시하였다. PCR 증폭 여부는 PCR 반응이 끝난 반응용액 중에서 5 μl를 취하여 1% agarose gel에서 전기영동으로 확인하였다.

**제한효소절단.** PCR증폭이 확인된 rDNA의 small subunit과 ITS영역의 단편을 ethanol로 침전시킨 후 25 μl의 TE에 녹이고 약 1 μg되게 정량한 후, 9가지 제한효소(4 cut: *AccII*, *AluI*, *HaeIII*, *HhaI*, *HinfI*, *MspI*, *MboI*, 5 cut: *AvaII*, *Cfr13I*)를 이용하여 절단하였으며 절단 반응은 제조회사(Takara, Japan)의 권장조건에 따라 수행하였다. 절단된 단편들은 2~3% MetaPhor™ agarose (FMC Bioproducts), TBE buffer에서 전기영동을 실시하여 다형성을 관찰하였다.

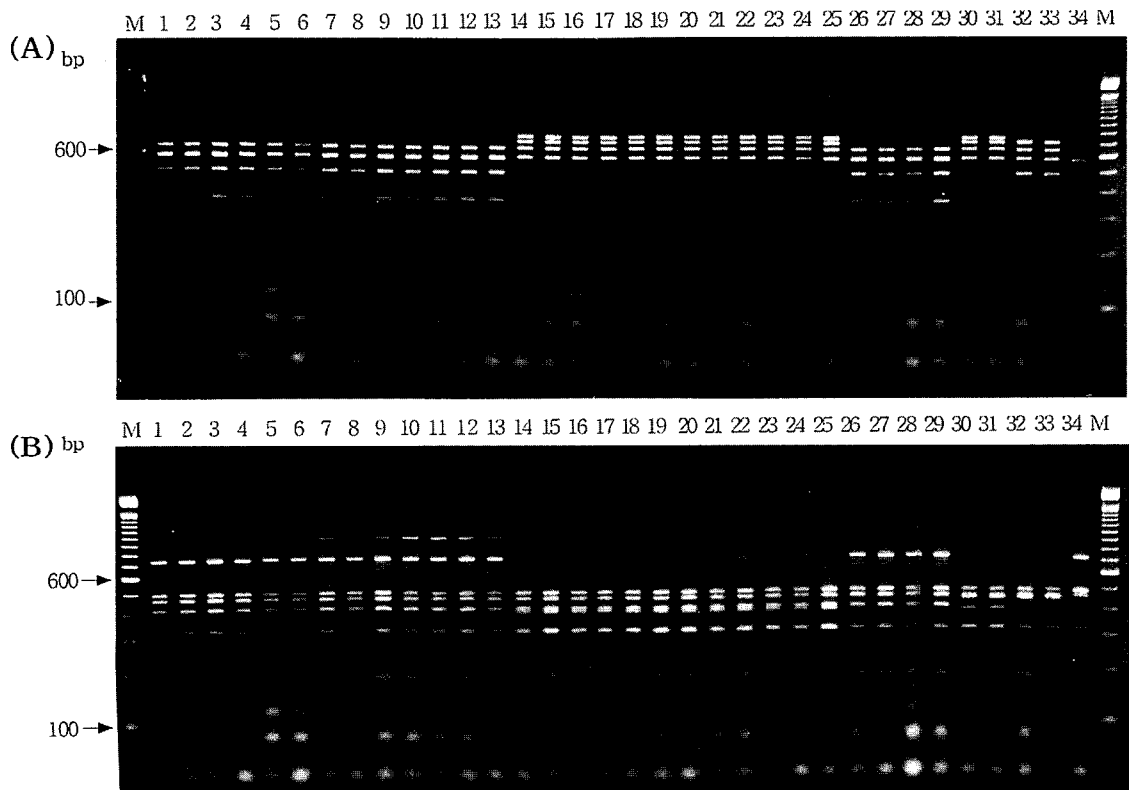
**제한효소절단양상 분석.** 균주간의 유사도분석을 위하여 수리분석용 프로그램인 NTSYS-pc(18)를 사용하였다. 제한효소절단 정보는 DNA marker와 상대적 크기를 측정하여 특정크기의 밴드가 있으면 1, 없으면 0으로 입력하였으며 밴드에 따라서 그 유무가 불확실한 것은 밴드 전체크기의 합을 구하여 제한효소로 절단하기 전의 크기와 비교한 후, 밴드의 유무를 판단하였고 100 bp 미만의 밴드들은 불명확하여 입력에서 제외하였다. 균주간 유사도지수는 Dice 공식(7, 15)으로 산출하였고 유연관계도는 UPGMA(Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Means)법을 사용한 SHAN clustering으로 작성하였다.

## 결 과

Primer ITS1과 ITS4에 의한 *Phytophthora* spp.의 rDNA ITS 영역은 약 900 bp, primer NS1과 NS8에 의한 rDNA small subunit는 약 1700 bp, 그리고 primer NS1과 ITS4에 의한 rDNA ITS영역과 small subunit는 약 2600bp로 나타났다(Fig. 2). 이들 중 ITS 영역은 중간 또는 *P. drechsleri*의 종내그룹간 밴드크기의 차이를 보였는데, *P. drechsleri*의 그룹 1(*PdG1*), *P. drechsleri*의 그룹 2(*PdG2*), *P. cryptogea* 그리고 *P. cactorum*은 900 bp보다 작았으며 *P. drechsleri*의 그룹 3(*PdG3*)과 *P. melonis*는 약 900 bp였고 *P. erythroseptica*, *P. cinnamomi* 그리고 *P. cambivora*은 900 bp보다 크게 나타났다. 반면



**Fig. 2.** PCR amplified portions of ITS region (A) by primer ITS1 and ITS4, small subunit (B) by Primer NS1 and NS8, ITS region and small subunit (C) by primer NS1 and ITS4 in *Phytophthora* spp. 1-4, *PdG1*; 5-13, *PdG2*; 14-21, *PdG3*; 22, *P. melonis*; 23-25, *P. erythroseptica*; 26-29, *P. cryptogea*; 30-31, *P. cinnamomi*; 32-33, *P. cambivora*; 34, *P. cactorum*.



**Fig. 3.** Restriction patterns of small subunit and ITS region in *Phytophthora* spp. by A, *AvaII*; B, *HaeIII*; C, *HhaI*; D, *MboI*; E, *MspI*. M, 100bp ladder; 1-4, *PdG1*; 5-13, *PdG2*; 14-21, *PdG3*; 22, *P. melonis*; 23-25, *P. erythroseptica*; 26-29, *P. cryptogea*; 30-31, *P. cinnamomi*; 32-33, *P. cambivora*; 34, *P. cactorum*. Note, The band patterns of *HinfI*, *AccII*, *Cfr13I* and *AluI* were not presented in this figure, because the band patterns of them were not different with those of the 5 enzymes which were presented in the figure.

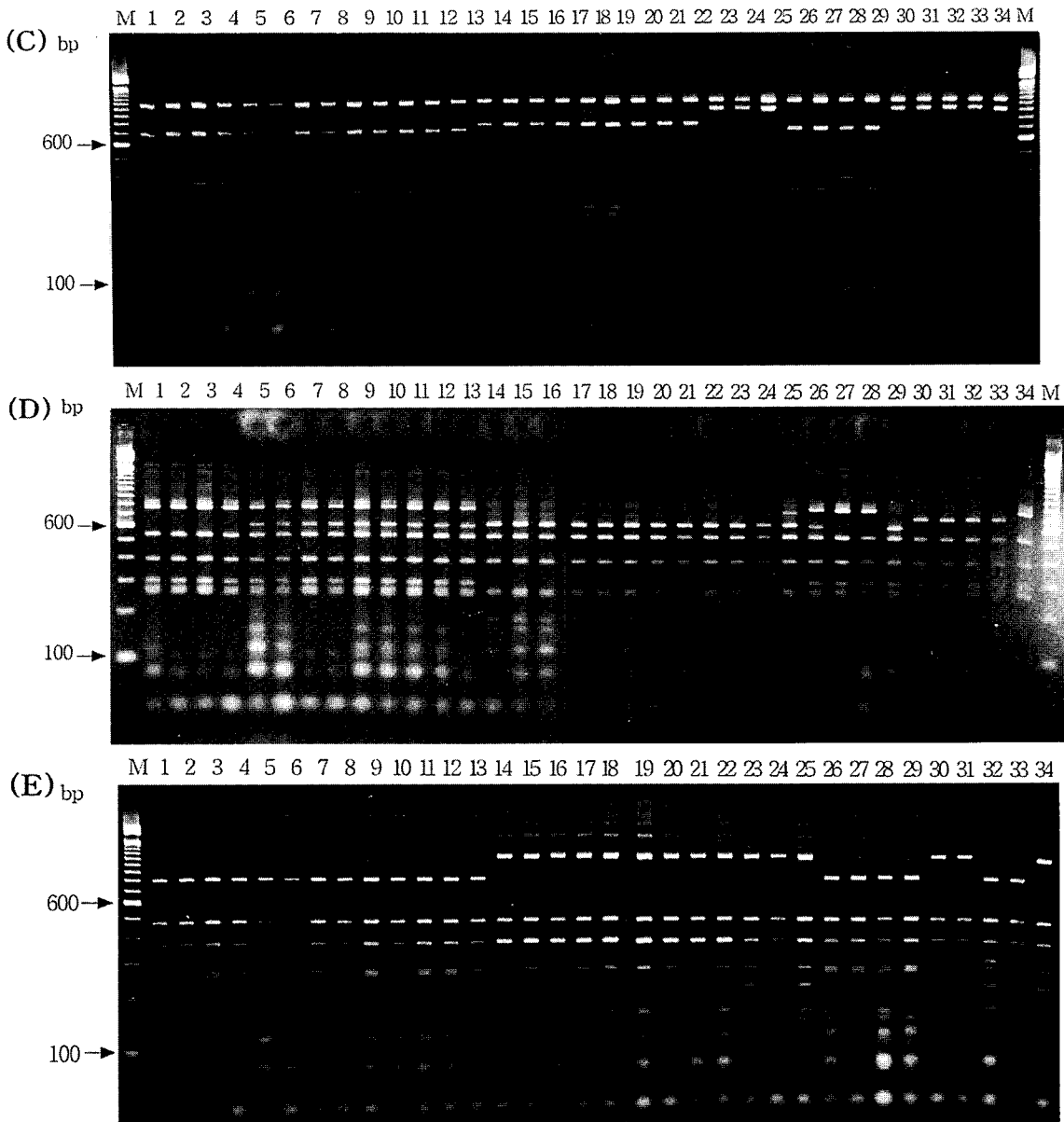


Fig. 3. Continued.

rDNA의 small subunit에서는 중간 및 종내그룹간 밴드크기가 서로 구분되지 않았다.

9개의 제한효소를 사용하여 *Phytophthora* spp.의 rDNA의 ITS영역과 small subunit 모두를 포함하는 약 2600 bp의 단편을 절단하였을 때 *P. cryptogea*를 제외한 모든 종내그룹 또는 같은 종의 균주들간은 제한효소에 관계없이 같은 밴드형태를 나타냈다(Fig. 3). 즉 *P. drechsleri*의 D1~D4(PdG1), D5~D13(PdG2) 그리고 D14~D21(PdG3), *P. erythroseptica*의 3균주, *P. cinnamomi*의 2균주, *P. cambivora*의 2균주간은 9개의 제한효소에서 밴드형태가 모두 일치하였다. 그러나 *P. cryptogea*의 4균주는 제한효소에 따라서 다른 밴드양상을 보였는데 *Hha*I으로 절단하

였을 때는 D26, D27 그리고 D29가 같은 밴드형태였으며 D28이 다른 밴드형태였으나, *Mbo*I으로 절단하였을 때는 D26, D27 그리고 D28이 같은 밴드형태였고 D29만이 다른 밴드형태를 나타내었다. *P. drechsleri*는 제한효소 절단양상에 의해 3가지 그룹으로 나누어졌는데, PdG1과 PdG2는 *Hha*I와 *Mbo*I에서만 그룹간 다른 밴드형태를 보였으나 이들 두 그룹은 PdG3과는 9개 제한효소 모두에서 다른 밴드형태를 나타내었다. 한편 PdG3는 대만 유래의 *P. melonis*와 같은 밴드형태를 보였다.

NTSYS 프로그램을 이용하여 종 및 종내그룹 간 밴드형태의 상동성을 계산하고 그들의 유연관계도를 작성하였다(Fig. 4). PdG1은 *P. cryptogea*의 D28과, PdG2는

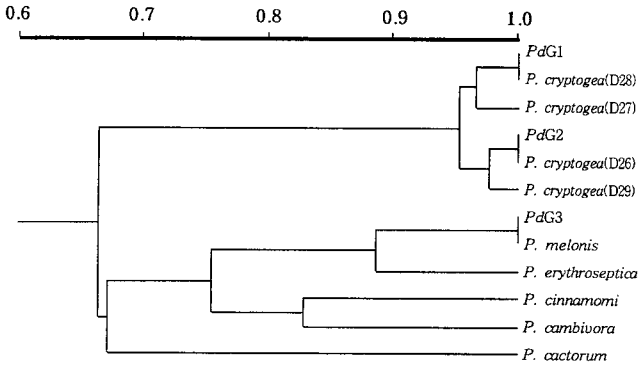


Fig. 4. Phenogram based on rDNA restriction patterns of *Phytophthora* spp. containing *P. drechsleri* intraspecific groups (PdGs) by NTSYS-pc program using UPGMA method from Dice formula.

*P. cryptogea*의 D26과 100%의 밴드 상동성을 보였으며 이들은 *P. cryptogea* D27, D29와 95.3%의 상동성으로 하나의 복합그룹을 형성하였다. 반면, 박과작물에서 분리된 PdG3 균주들은 대만유래의 *P. melonis*와 100%의 밴드 상동성을 보인 반면 PdG1, PdG2와는 66.5%의 낮은 상동성을 보였으며 *P. erythrosetptica*와 88.6%, *P. cinnamomi* 및 *P. cambivora*와 75.6% 그리고 *P. cactorum*과 67.2%의 밴드 상동성을 나타내었다.

## 고 찰

rDNA는 모든 생물에 존재하며 외부변이에 대해 안정적이고 보존영역(conserved region)과 변이영역(variable region)이 잘 섞여 있어 생물의 종간 및 종내 그룹의 계통분류에 많이 이용되고 있는데 (1) *Phytophthora drechsleri*의 종내 분류에는 아직 사용된 바가 없다. 국내 발생 역병균의 rDNA의 small subunit와 ITS영역을 PCR-RFLP 방법으로 분석 결과 역병균의 종간에는 뚜렷한 유전적 상이성 나타났으며 *P. drechsleri* 종내에도 3가지의 그룹이 존재하는 것으로 나타났다. *P. drechsleri* 그룹 1(PdG1)의 균주들은 토마토, 상추, 시금치 등의 채소작물에서 분리되었으며 *P. cryptogea* 중의 배추와 거베라에서 분리된 D27 및 D28과 같은 그룹을 형성하였고, PdG2는 당귀, 곶취, 지황, 오미자, 구기자, 삼주 등의 약초류와 양다래, 낙엽송에서 분리되었는데 거베라 역병균인 *P. cryptogea* D26 및 D29(12)와 같은 그룹을 형성하였다. PdG1은 *P. cryptogea* D28과 PdG2는 D26과 100% 밴드 상동성을 보여 이들 두 종간은 서로 구분이 되지 않았으며 이 결과는 위의 두 종이 형태적, 생리적 특징(2, 10)과 혈청학적 반응(6) 그리고 단백질 전기영동 양상(16)에서 서로 구분되지 않는다는 기존 연구자들의 결과와도 일치하였다. 또한 이들 두 종 내에는 밴드 형태가 일치하지 않는 5개의 그룹이 존재하였는데

유전적으로 상이한 여러 그룹이 복합적으로 존재한다는 Mills 등(17)의 보고와 유사한 결과이다.

한편, 오이, 참외, 멜론, 수박의 박과작물에서 분리한 PdG3 균주들은 대만 유래의 *P. melonis*와 완전히 일치된 밴드 형태를 보였다. 이 결과는 박과작물 유래의 *P. drechsleri*가 *P. melonis*, *P. sinensis*와 배양적 특성, 형태적 특성, 생리적 특성, 병원성 특성에서 서로 다르지 않다는 Ho(8)의 결과와 일치한다. 하지만 그는 이들을 명명에서 우선하는 *P. drechsleri*로 명명하여야 한다고 주장하였다. 그러나, 본 실험의 결과는 이들 그룹과 *P. cryptogea*와 복합그룹을 형성하는 PdG1 및 PdG2와의 상동성이 Stamps 등(20)의 역병균 분류체계에 따른 같은 Group VI에 속하는 *P. erythrosetptica*(88.6%), *P. cambivora*(75.6%), *P. cinnamomi*(75.6%) 뿐 아니라 Group I에 속하는 *P. cactorum*(67.2%) 보다 낮은 66.5%를 나타냄으로써, 이들은 *P. drechsleri*로 명명될 수 없다는 것을 보여준다. 이 결과는 Mills 등(17)의 mtDNA와 isozyme 분석 결과와 같이 이들 그룹이 형태적으로는 기타의 *P. drechsleri*와 유사하나 유전적으로는 현저하게 다르다는 것을 보여준다. Mills 등(17)은 이들 그룹을 *P. melonis*로 명명할 것을 제안하였는데 그들의 결과는 이들 그룹이 *P. drechsleri*-*P. cryptogea* complex의 10개 종내그룹 중의 하나의 그룹에 불과하여 전방적인 동의를 얻지 못하였다.

본 실험의 결과로 볼 때 박과작물에 발생하는 *P. drechsleri*는 *P. melonis*와 함께 기타의 *P. drechsleri*(PdG 1, PdG2)와는 유전적으로 현저한 차이를 나타내므로 다른 종으로 분리되어야 할 것으로 생각된다. 이들은 박과작물에서만 병원성을 나타내므로 Mills 등(17)이 제안한 *P. melonis*로 명명하는 것도 타당하다고 생각되지만, 박과작물 유래의 *P. drechsleri*는 유주자낭에 유두돌기가 없고 후막포자를 형성하지 않는 대신 팽윤균사를 쉽게 형성하며 대부분은 자웅이주체이나, Katsura(13)의 기록에 의하면 *P. melonis*는 유주자낭의 돌기가 반돌출형이며 후막포자를 형성하는 균으로 자웅동주체라고 하였으므로 *P. melonis*의 정의를 수정하여 이 그룹에 적용하여야 할 것으로 생각된다. 박과작물 유래의 *P. drechsleri*의 좀 더 정확한 분류와 새로운 명명을 위해서는 앞으로 세계적인 균주들에 대한 rDNA의 염기서열 분석과 함께 면밀한 균학적 특성 조사가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

## 요 약

다양한 기주범위를 가지는 *P. drechsleri*의 균주간 유전적 특성을 구명하기 위하여 국내에서 15종의 기주식물로부터 분리된 21균주와, 같은 그룹에 속하는 *P. melonis*, *P. cryptogea*, *P. erythrosetptica*, *P. cinnamomi* 그리고 *P.*

*camvivorae*의 균주들에 대한 rDNA의 PCR-RFLP를 실시하였다. PCR로 증폭된 각 균주의 rDNA를 9개 제한효소로 절단한 결과, *P. drechsleri*와 *P. cryptogea* 사이를 제외한 역병균의 종간에는 뚜렷한 밴드양상의 차이를 보였다. 한편 *P. drechsleri*는 3개의 종내그룹으로 구분되었는데 토마토, 상추 그리고 시금치를 기주로 하는 그룹 1(PdG1) 균주들과 주로 약초류를 기주로 하는 그룹 2(PdG2) 균주들은 *P. cryptogea*와 95.3%의 높은 상동성을 보이며 하나의 복합그룹을 형성하였다. 반면 그룹 3(PdG3)은 기주범위가 박과작물에 한정되었으며 *P. melonis*와 일치된 밴드형태를 보인 반면, *P. cryptogea*와 복합그룹을 형성하는 PdG1과 PdG2와는 66.5%의 낮은 상동성을 보였다. 이 결과는 박과작물에서 분리된 *P. drechsleri*(PdG3)는 공시한 다른 *P. drechsleri*와는 유전적 특성이 매우 다르기 때문에 *P. melonis*와 함께 다른 종으로 구분되어야 한다는 것을 보여준다.

### 참고문헌

1. Bruns, T. D., White, T. J. and Taylor, J. W. 1991. Fungal molecular systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 22: 525-564.
2. Bumbieris, M. 1974. Characteristics of two *Phytophthora* species. *Australian Journal of Botany* 22: 655-660.
3. Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. 1996. *Phytophthora drechsleri*. pp. 312-320. In: *Phytophthora diseases worldwide*. APS press, St. Paul, Minnesota, USA. 562pp.
4. Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. 1996. *Phytophthora melonis*. pp. 387-388. In: *Phytophthora diseases worldwide*. APS press, St. Paul, Minnesota, USA. 562pp.
5. Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. 1996. *Phytophthora sinensis*. pp. 435. In: *Phytophthora diseases worldwide*. APS press, St. Paul, Minnesota, USA. 562pp.
6. Halsall, D. M. 1976. Specificity of the cytoplasmic and cell-wall antigens from four species of *Phytophthora*. *Journal of general microbiology* 94: 149-158.
7. Hillis, D. M. and Moritz, C. 1990. Molecular systematics. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, U.S.A.
8. Ho, H. H. 1986. *Phytophthora melonis* and *P. sinensis* synonymous with *P. drechsleri*. *Mycologia* 78: 907-912.
9. Ho, H. H. and Jong, S. C. 1987. Critical problems in taxonomy of *Phytophthora* species in culture. *Mycotaxon* 29: 207-232.
10. Ho, H. H. and Jong, S. C. 1986. A comparison between *Phytophthora cryptogea* and *P. drechsleri*. *Mycotaxon* 27: 289-319.
11. 지형진. 1998. *Phytophthora* 속균의 특성 및 분류. 식물병과 농업 4(1): 79-89.
12. 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.
13. Katsura, K. 1976. Two new species of *Phytophthora* causing damping-off of cucumber and trunk rot of chestnut. *Transactions of the mycological society of Japan* 17: 238-242.
14. Lee, S. B. and Taylor, J. W. 1990. Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. pp. 282-287. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky and T. J. White. Eds. PCR protocols, A guide to methods and applications. Academic press, Sandiego.
15. Li, W. H. and Graur, D. 1991. Fundamentals of molecular evolution. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, U.S.A..
16. Matsumoto, N. and Sato, T. 1979. *Phytophthora cryptogea* Pethyb. & Laff. found in alfalfa-field soil. *Annals of the phytopathological society of Japan* 45: 362-368.
17. Mills, S. D., Forster, H. and Coffey, M. D. 1991. Taxonomic structure of *Phytophthora cryptogea* and *P. drechsleri* based on isozyme and mitochondrial DNA analyses. *Mycological research* 95: 31-48.
18. Rohlf, F. J. 1990. NTSYS-pc, numerical taxonomy and multivariate analysis system. State University of New York, Stony Brook.
19. Stamps, D. J. 1985. *Phytophthora drechsleri*. *CMI descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*. No. 840.
20. 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.
21. Yu, Y. N. and Zhuang, W. 1982. *Phytophthora sinensis*, a new species causing blight on *Cucumis sativus*. *Mycotaxon* 14: 181-188.
22. White, J. J., Bruns, J., Lee, S. B. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungus ribosomal RNA genes for phylogenetics. pp. 315-322. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky and T. J. White. Eds. PCR protocols, A guide to methods and applications. Academic press, Sandiego.

(Received July 15, 1998)