THE KOREAN JOURNAL OF MYCOLOGY
Vol. 35, No 2, p121-127 December 2007
Copyright © 2007 by The Korean Society of Mycology
Printed in S. KOREA

오이 흰가루병 생물적 방제를 위한 중복기생균 *Ampelomyces quisqualis* 94013의 선발 및 동정

이상엽[1*] · 홍성기[1] · 김용기[1] · 김홍기[2]

[1] *농촌진흥청 농업과학기술원 식물병리과,* [2] *충남대학교 농업생명과학대학 농생물학과*

Selection and Identification of a Hyperparasite, *Ampelomyces quisqualis* 94013 for Biocontrol of Cucumber Powdery Mildew

Sang Yeob Lee[1*], Sung Kee Hong[1], Yong Ki Kim[1] and Hong Gi Kim[2]

[1] *Plant Pathology Division, National Institute of Agricultural Science and Technology, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea*
[2] *Department of Agricultural Biology, Chungnam National University, Daejon 305-764, Korea*

(*Received December 11, 2007*)

ABSTRACT: 308 isolates of *Ampelomyces* sp. were isolated from powdery mildew fungi of 73 plant species in Korea for selection of biocontrol agents. An isolate 94013 isolated from powdery mildew fungus of red bean was selected as an effective biological control agent against cucumber powdery mildew in greenhouse. The morphological characteristics of the isolate is as follows. Pycnidia were sub-globose or elongated to pyriform, pale to dark brown, 52.5~82.5 × 35.0~47.5 (ave. 62.5 × 40.5)μm, and conidia were guttulate, straight cylindrical to fusiform, pale brown, 5.0~8.0 × 2.5~4.3 (ave. 6.0×3.0)μm. The isolate 94013 was identified as *Ampelomyces quisqualis* by morphological characteristics and rDNA ITS sequencing. The isolate *A. quisqualis* 94013 was different from that of the commercial product AQ10^R in the rDNA ITS sequence.

KEYWORDS: *Ampelomyces quisqualis*, Biological control, Cucumber powdery mildew, Hyperparasite, Identification

흰가루병은 세계적으로 11,800여종의 식물에서 발생하고 있으며(Braun, 1987; Koji, 1986; Spencer, 1978), 우리나라에서는 약 300여종의 식물에서 발생하고 있다(Korean Society of Plant Pathology, 2004; Shin, 1994b). 우리나라에서 흰가루병에 의한 피해가 큰 작물로는 채소류에서 오이, 멜론, 참외, 호박, 가지, 고추, 토마토, 당근, 딸기, 참깨이고, 과수류에서 사과, 포도, 단감, 배, 복숭아, 매실이며, 화훼류에서 장미, 거베라, 해바라기, 풀죽엽도 등이다. 또한 약용작물인 구기자, 작약, 황기, 천궁 등과 보리, 참깨, 뽕나무 등의 작물에서도 흰가루병에 의한 피해가 많이 발생하고 있다(Shin, 1994b). 흰가루병은 일반적으로 약간 건조한 조건에서 많이 발생하며, 노지재배는 물론 시설재배에서도 일조부족, 고온, 환기불량, 밀식재배, 질소비료 과용 등과 함께 농촌 인력의 부족으로 인한 포장관리의 부실 등으로 급격히 증가하여 포장전체에 만연되고 있다(Shin and Kim, 1994; Spencer, 1978).

최근 농산물 안전성에 대한 소비자 및 생산자의 인식과 사회적 관심이 증가되고 있으며, 친환경적으로 작물의 흰가루병을 방제하기 위해서 식물추출물, 수용성실리콘, 염류, 베이킹소다, 점토, 오일과 합성세제, wilt pruf나 vapor guard와 같은 증발억제제 등의 사용이 최근에 시도되고는 있으나(Belanger *et al.*, 1998; Menzies *et al.*, 1991; Pasini *et al.*, 1997), 아직도 주로 농약에 의존하고 있는 실정이다. 따라서 흰가루병 방제에 사용하는 화학농약에 대한 저항성이 유발되어 약효가 저하되고(Asari *et al.*, 1994; Erickson *et al.*, 1997; Lyr *et al.*, 1996; 中澤靖彦 등, 1994; 中澤靖彦, 1995), 무분별한 약제사용과 남용으로 특히 신선채소를 이용하는 소비자들은 농산물의 잔류농약에 의한 우려가 심각한 실정이다. 따라서 안전한 농산물 생산을 위한 환경 친화적인 흰가루병 방제기술 개발이 필요하게 되었다. 외국에서는 흰가루병을 방제하기 위하여 다양한 35종의 미생물을 이용하여 연구하고 있으며(Belorger *et al.*, 1994; Hijwegen *et al.*, 1992a; Kiss *et al.*, 1993; Klecan *et al.*, 1990; Nelson *et al.*, 1995), 그 중에서 흰가루병균에 직접 기생하는 특성을 이용한 *Ampelomyces quisqualis* Ces.ex Schlecht(Hijwegen *et al.*, 1984; Hofstein, 1996; Kiss, 1993)와 *Verticillium lecanii*(Zimm.) Viegas (Belanger *et al.*, 1998), 항생물질을 생성하는 *Tilletiopsis*

*Corresponding author <E-mail: lsy1111@rda.go.kr>

minor Nyland, *Tilletiopsis albescens* Gokhale, *Sporothrix flocclosa*와 *Sporothrix rugulosa*(Belanger *et al.*, 1998) 등이 흰가루병 방제에 매우 효과적인 것으로 보고되었다 (Belorger *et al.*, 1994; Hijwegen *et al.*, 1992a; Klecan *et al.*, 1990; Urquhart *et al.*, 1994).

국내에서도 안전 농산물을 생산하기 위하여 다양한 작물의 흰가루병균에서 중복기생균인 *Ampelomyces* 속균을 분리하여 오이 흰가루병에 기생력이 우수한 AQ94013 균주를 선발하고 형태학적, 배양적 및 분자유전학적 특성을 조사하여 동정하였고, 선발한 AQ94013 균주와 AQ10^{R}으로 상업화한 균주, NCBI에 등록된 *Ampelomyces* spp., *Phaeosphaeria* spp. 및 *Coniothyrium cereales* 등을 포함하여 NCBI GenBank에서 얻어진 총 18개의 곰팡이 균주들의 ITS 염기서열을 함께 비교 분석하였다.

재료 및 방법

중복기생균의 분리

1994년부터 2005년까지 흰가루병에 감염된 식물체를 전국적으로 채집하여 해부현미경하에서 흰가루병균에 기생한 진균의 병자각을 떼어냈다. 광학현미경으로 병자각과 병포자의 형태를 조사하여 *Ampelomyces* 속균을 확인한 다음(Fig. 1C, 1D), 병포자를 백금이로 떼어내어 크로람페니콜 50 ppm이 첨가된 corn meal agar 배지에 도말하여 25°C 항온기에서 7일간 배양하였다(Fig. 1E). 배양 후 단포자에서 뻗어 나온 균사를 감자포도당한천사면배지에 옮겨 25°C 항온기에서 배양한 후(Fig. 1F), 저온항온기(10°C)에 보관하면서 본 연구에 사용하였다.

균주선발

여러 흰가루병균에서 분리한 중복기생균들중에서 기생력이 우수한 균주를 선발하기 위하여 분리한 *A. quisqualis* 308균주를 감자포도당한천배지(PDA)에서 24°C에서 15일간 배양하여 병자각을 형성시킨 후 멸균수를 넣고 포자현탁액(1×10^6/*ml*)을 조제하였다. 그리고 오이재배는 온실에서 바로커상토와 원예용장기육묘용 상토를 1 : 1(v/v) 비율로 혼합하여 직경 10 cm 포트에 담은 후 은성백다다기 오이를 파종하여 제 3 본엽이 출아하였을 시기에 이병된 식물체로부터 수거한 흰가루병균(*Sphaerotheca fusca*)을 접종하여 7일 후 병반이 형성된 오이식물체에 중복기생균의 포자현탁액(1×10^6/*ml*)을 분무처리한 다음 제 1 본엽을 직경 2.5 cm 크기로 잘라내어 직경 9 cm의 유리 페트리디쉬에 살균수를 적신 여과지 3매를 깔고, 잘라낸 오이잎을 넣었다. 중복기생균을 처리한 오이잎 절편을 샤레에 4매씩 균주당 3 페트리디쉬씩 처리한 다음, 25°C 항온기에서 형광등을 매일 12시간주기로 조사하면서 처리 12일 후 해부현미경(40배)하에서 흰가루병의 병반면적율을 조사하여 8 균주를 선발하였다.

선발한 8 균주에 대하여 최종 우수균주를 선발하기 위하여 8 균주의 배양은 500 *ml* 삼각플라스크에 보리쌀을 100 g씩 담아서 2회 멸균한 다음, PDA 배지에서 배양한 후 8 균주의 포자현탁액(7.0×10^6/*ml* 농도)을 3 *ml*씩 접종하였다. 접종된 플라스크를 24°C 배양기에서 15일간 배양 후 멸균수를 넣고 포자를 회수한 다음 헤마사이트메타를 이용하여 포자현탁액을 준비하여 사용하였다. 온실에서 바로커상토와 원예용 장기육묘 상토를 1 : 1(v/v) 비율로 혼합하여 직경 25 cm 포트에 담은 후 은성백다다기 오이를 파종하여 4.5 엽기의 식물체로 재배하여 흰가루병균을 접종하여 병을 발생시킨 다음, 선발한 8 균주의 포자현탁액(6.0×10^6/*ml*)을 균주당 10주씩의 오이 식물체에 분무처리하고, 처리 8일 후에 흰가루병의 병반면적율을 조사하였다.

중복기생균의 동정

중복기생균은 병자각과 병포자의 형태, 크기와 색깔, 형태적 및 배양적 특성을 조사하여 Hanlin *et al.*(1984), Sutton (1980), Clare(1964)의 분류방법에 따라서 동정하였다.

선발된 *Ampelomyces* sp. 94013의 유전적 특성을 확인하기 위해서 ribosomal DNA-internal transcribed spacer (ITS) 부위의 염기서열 분석을 실시했다. Genomic DNA를 추출하기 위해 선발균주를 potato dextrose broth(PDB) 배지에 접종하고, 24°C에서 140 rpm으로 7일간 배양하였다. 배양된 균사체는 수거하여 동결건조하고, 잘 마쇄한 후 DNeasy kit(QIAGEN, Germany)를 사용하여 DNA를 추출하고, −20°C에 보존하면서 사용하였다. ITS1, 5.8S 및 ITS2를 포함하는 rDNA-ITS 영역뿐만 아니라 18S와 28S의 일부분을 증폭하기 위해 White *et al.*(1990)의 universal primer ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCGCGG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 사용하였다. PCR 증폭을 위해 2.5 mM dNTP 1.6 μl, 10× buffer 2 μl, 100 μM primer 1과 4 각각 0.5 μl, 5 unit/*ml* *Taq* DNA polymerase 0.2 μl, genomic DNA 1 μl 및 증류수 14.2 μl를 첨가하여 총 20 μl 부피의 PCR 반응혼합액을 제조하였다. ITS 증폭을 위한 PCR 반응조건은 94°C에서 5분간 predenaturation, 94°C에서 50초간 denaturation, 52°C에서 90초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension을 35회 반복하였고, 최종적으로 72°C에서 7분간 post extension 하였다. 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose와 0.5× TBE buffer(0.045 M Tris-borate, 0.001 M EDTA)를 이용하여 전기영동하고, ethidium bromide로 염색하여 확인하였다. Gel extraction kit(Bioneer)를 사용하여 겔로부터 DNA를 추출하고, ABI 3100 DNA sequencer를 사용하여 염기서열을 분석하였다. DNA 염기서열은 DNASTAR 프로그램의 sequman을 사용하여 편집하고, CLUSTAL W 분석법 (Thompson *et al.*, 1994)을 사용하여 정렬하였다. Phylogenetic tree를 작성하기 위해 ITS1, 5.8S 및 ITS2 염기서

열을 모두 사용하였다. 정렬된 염기서열은 Mega v3.1 (Kunmar *et al.*, 2004) 프로그램을 사용하여 Neighbor-Joining(NJ)법으로 분석하였고, 분류군간 sequence distance는 Tamura-Nei법으로 계산되었고, Bootstrap 분석이 수행되었다.

결과 및 고찰

중복기생균의 분리

1994년부터 2005년까지 전국적으로 흰가루병에 걸린 73종의 식물체를 채집하여 분리한 중복기생균(*Ampelomyces* 속균)을 총 308균주 분리하였다. 분리한 중복기생균을 흰가루병균의 속별로 구분하면, *Erysiphe*속 12종에서 토대황 등 14종의 식물체로부터 25균주, *Sphaerotheca*속 5종에서 곰취 등 35종의 식물체로부터 232균주, *Microsphaera*속 6종에서 갈참나무 등 6종의 식물체로부터 7균주, *Phyllactinia*속 1종에서 오동나무로부터 1균주, *Podosphaera* 속 1종에서 쥐똥나무로부터 1균주, *Oidium*속 2종에서 수세미오이 등 10종의 식물체로부터 25균주, *Golovinmyces* 속 1종에서 삼잎국화 등 3종의식물체로부터 8균주, *Uncinuliella*속 1종에서 배롱나무로부터 2균주, *Uncinula*속 1종에서 찔레꽃으로부터 1균주, *Arthrocladiella*속 1종에서 구기자나무로부터 6균주로서 총 흰가루병균의 10속 31종에서 분리되었다.

우리나라에서는 Lee(1976)가 호박과 참외의 흰가루병균에서 *A. quisqualis*를 처음으로 분리 동정하였으며,

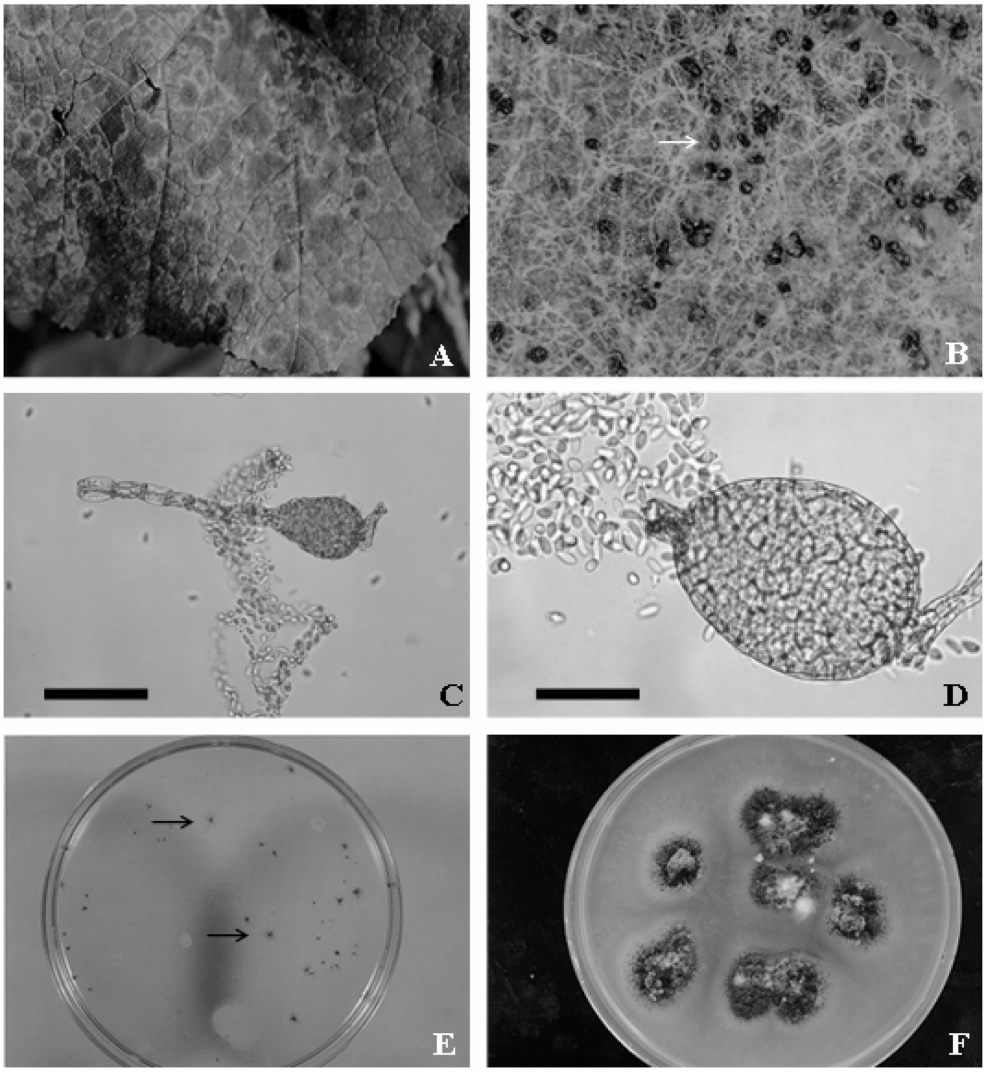

Fig. 1. A, typical symptoms of powdery mildew infected with *A. quisqualis* on a leaf of pumpkin; B, pycnidia of *A. quisqualis* produced in the mycelium and conidiophores of *Sphaerotheca fusca* C, a pycnidium of *A. quisqualis* in the basal part of a conidiophore of *S. fusca* (scale bar = 60 μm); D, a pycnidium and conidia of *A. quisqualis* (scale bar = 30 μm); E, monoconidial colonies of *A. quisqualis* on corn meal agar contained chloramphenicol 50 ppm; F, colonies of *A. quisqualis* 94013 cultured on PDA at 25°C for 25 days.

그 후 Shin and Kim(1994)이 *Uncinula verniciferae*을 비롯한 8속 27종의 흰가루병균에서 보고하였다. 외국에서는 Hawksworth(1981) 등이 *A. quisqualis*가 *Erysiphe*, *Sphaerotheca*, *Microsphaera*, *Phyllactinia*, *Podosphaera*, *Uncinula*, *Oidium*, *Leveillula*속균에 기생한다고 보고하였으며, Hanlin *et al.*(1984)은 *Brasiliomyces malachrae*(무성세대명: *Oidiopsis gosipii)*의 자낭각과 분생자경의 정부와 기부에서 *A. quisqualis*가 기생하는 것을 발견하였다.

이 균에 감염된 흰가루병균의 병반은 건전한 흰가루병 병반과 비교할 때 일반적으로 갈색 또는 암갈색으로 변색되어 뚜렷하게 구분이 되는 것도 있지만(Fig. 1A), 일부 식물체에서의 중복기생된 흰가루병 병반은 원래 흰가루병 병반과 잘 구별되지 않았다. 또한 일부 병징은 먼지가 묻은 것처럼 보이므로 확실하게 구별되지 않았으나 해부현미경으로 관찰하면 흰가루병균의 균사체에 형성된 *A. quisqualis*의 병자각을 볼 수 있었다(Fig. 1B).

*A. quisqualis*는 streptomycin 200 ppm을 첨가한 물한천배지(water agar)를 이용하여 분리하여(Hijwegen and Buchenauer, 1984), malt extract agar 배지에서 배양하였다. Shin *et al.*(1994)은 이 방법을 개량하여 streptomycin 200 ppm을 첨가한 PDA배지에서 분리하였는데 이 개량된 방법에서는 세균의 생육이 가능하며, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* 등 많은 부생균의 생육이 왕성하였다. 본 연구에서는 크로람페니콜 50 ppm을 첨가한 corn meal agar 배지를 이용하여 분리한 결과, 세균 및 다른 진균의 생육이 억제되고, 순수분리가 용이하였다(Fig. 1E).

우수 중복기생균의 선발

분리한 *Ampelomyces* 속균 308균주 중에서 1차로 실내에서 오이 잎 절편법을 이용하여 선발된 8균주를 공시하였다. 온실에서 오이 흰가루병균이 발생한 오이포트에 처리한 다음 8일 후에 *A. quisqualis*균에 의해서 기생한 오이 흰가루병균을 자세히 관찰하면 흰가루병균의 분생자경이 생기를 잃어서 비정상적으로 구부러져있고 분생자경의 밑부분에 *A. quisqualis*균의 갈색내지 황백색의 병자각이 형성되어 흰가루병균의 균총이 갈색 내지 흑갈색으로 나타나서 흰가루병균의 균총이 갈변한 면적을 제외한 순수 흰가루병반의 면적을 조사한 결과, 8균주가 모두 흰가루병 발생을 크게 억제하였으며, 특히 *Ampelomyces* sp. 94013 균주가 흰가루병 발생을 가장 많이 억제시켜서 기생력이 우수한 균주로 선발되었다(Table 1).

Hijwegen and Buchenauer(1984)와 Hijwegen(1992b)은 오이흰가루병균의 포자형성을 억제하는 17종의 진균의 포자현탁액을 처리하여 분생자경의 형태변형 여부로 포자 형성 억제 능력을 평가하였고, Kiss(1993, 1995)는 플라스틱통에 물을 담고, 그 속에 스치로폴의 작은 공을 띄워서 흰가루병에 걸린 오이잎 절편을 공위에 올려놓은 후에 중복기생균을 처리하여 기생력을 판단하였다. 본 실험에 사용한 오이잎 절편법을 이용하여 Hijwegen과 Kiss가 수행한 기생력 검정방법보다 편리하고, 간편하게 *A. quisqualis*의 흰가루병균에 대한 기생력을 검정할 수 있었다.

우수 선발 중복기생균의 동정

선발한 AQ94013 균주의 병자각은 흰가루병균의 분생자경 기부에 형성되며, 담갈색이나 다갈색이며, 구형이나 긴 서양배 모양으로(Fig. 1C, 1D), 그 크기는 52.5~82.5×35.0~47.5(평균 62.5×40.5)μm이다. 병포자는 옅은 갈색의 단세포이며, 세포안에 유적이 보이고, 곧은 원통모양의 방추형이며, 그 크기는 5.0~8.0×2.5~4.3(평균 6.0×3.0)μm이다(Table 2, Fig. 1D). 이러한 형태적 특징에서 병자각의 형태, 크기와 색은 Clare(1964), Sutton(1980), Hanlin *et al.*(1984)이 보고한 *Ampelomyces quisqualis*와 거의 일치하였으나, 포자의 형태, 크기와 색은 차이점이 있는 것은 Emmons(1930), Rudakof(1979), Kiss(1997)와 Sullivan and White(2000) 등에 의하여 *Ampelomyces* 속균의 동정이 재정립되어야 할 필요성이 제개되고 있으나 현재로서는 새로운 분류체계가 확립되지 않은 실정이다.

그리고 선발한 AQ94013 균주의 배양적 특징은 이 등(2005)이 기보고한 바와 같이 5~32°C에서 생장하였으며, 최적 균사생육 온도범위는 20~30°C이었다. 또한 26°C에

Table 1. Suppression of powdery mildew on cucumber leaves by treatment with eight isolates of *A. quisqualis* in greenhouse

Isolate No.	% lesion area of powdery mildew	Source of isolates	
		Powdery mildew fungus	Host plant
94009	2.7[a]	*Sphaerotheca fusca*	Pumpkin
94013	1.4	*S. phaseoli*	Red bean
94025	3.0	*S. balsamine*	Balsamine
95015	3.3	*S. fusca*	Common burdock
95020	2.1	*S. fusca*	Cucumber
96004	4.2	*S. fusca*	Devilsbeggar-ticks
96029	3.7	*S. fusca*	Wang-godulppaegi
97005	3.0	*S. fusca*	Gourd
Control	47.2		

[a]Measurement was made eight days after treatment of spore suspension (6.0×10^6/*ml*) of each *A. quisqualis*.

Table 2. Morphological characteristics of *Ampelomyces quisqualis* 94013 isolated from red bean powdery mildew fungi

Pycnidia	Conidia	Reference
Sub-globose or elongated to pyriform Pale to dark brown 52.5~82.5 × 35.0~47.5 μm (Ave. 62.5 × 40.5 μm)	Guttulate, straight cylindrical to fusiform Pale brown 5.0~8.0 × 2.5~4.3 μm (Ave. 6.9 × 3.0 μm)	Isolate AQ94013
Sub-globose to pyriform Pale brown 33.0~105 × 23~53 μm	Guttulate, ovoid, clavate, cylindrical or curved Hyaline 4.0~8.5 × 1.5~4.0 μm	Clare (1964)
Globose or elongated to pyriform Pale brown 40~105 × 30~50 μm	Guttulate, straight or curved cylindrical to fusiform Pale brown 4.0~6.5 × 2~2.5 μm	Sutton (1980)
Globose or elongated fusoid Dark brown 50~125 × 30~47 μm (Ave. 81×36 μm)	Oval one-celled Hyaline 10~15 × 3.75~5 μm (Ave. 11 × 4.9 μm)	Hanlin (1984)

서 균사의 생육이 가장 양호하였다. pH 3.0~9.0에서 생장하였으며, 최적 pH는 6.5이였다. AQ94013 균주의 PDA 배지상에서 배양한 균사는 매우 천천히 생장하며 이식한 균총부위에서 병자각이 형성되기 시작되어 균총의 색이 짙은 갈색으로 나타난다(Fig. 1F). Philipp and Crüger (1979), Sundheim and Krekling(1982)과 Sztejnberg *et al.*(1989)은 이 균의 균사생장 최적온도가 20~25°C라고 보고하였고, Shin *et al.*(1994)도 최적 생육온도가 26°C라고 보고하였으며, Kiss *et al.*(1995)의 배양실험에서도 같은 경향을 나타내었고 하였다. 그러므로 선발한 94013 균주는 형태학적 및 배양적 특성으로 *Ampelomyces quisqualis*로 동정하였다.

Emmons(1930)의 보고에 의하면 Cesatii는 1852년에 포도 흰가루병균에 기생한 병자각균을 *Ampelomyces quisqualis* 의해서 처음으로 *Ampelomyces* 속균이 만들어졌고, 그 후에 여러 균학자에 의하여 *Byssocystis textilis*(Ries, 1852), *Cicinobolus florentinus*(Ehrenberg, 1953), *Cicinobolus cesatii*(de Bary, 1870), *Cicinobolus humuli*(Fautrey, 1890)와 같이 다양한 이름으로 명명하였다고 하였다. 이와 같은 혼동속에서도 De bary와 Emmons은 흰가루병균에 기생하는 곰팡이가 *Ampelomyces* 속균이라고 명확하게 증명하였다(Kiss *et al.*, 2004). 그것이 최근까지 *Ampelomyces* 속균에는 하나의 종이 존재하는 것으로 알려져 있으나, 균사생장속도, 포자형성정도, 기생성 등의 차이로 새로운 종 설립의 필요성이 제시되었다(Kiss *et al.*, 1995; Rudakof, 1979). Rudakof(1979)는 이 속의 종으로 *quisqualis* 외에

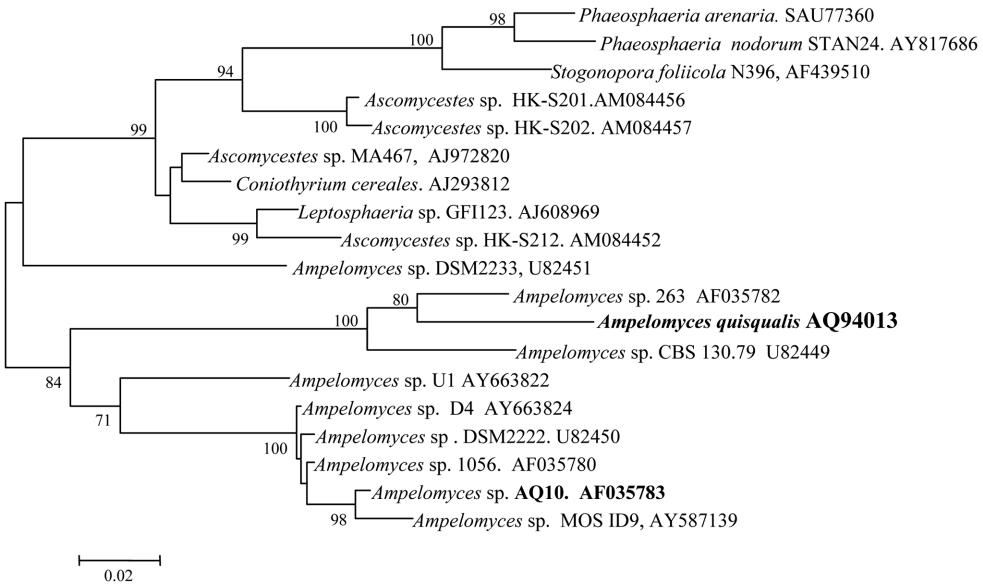

Fig. 2. Neighbour-joining tree of *Ampelomyces quisqualis* 94013 and its related genus and species based on rDNA-ITS sequences. The numbers above the nodes represent the bootstrap values of > 70% out of 1,000 bootstrap replication. The DNA sequences of all isolates except for *A. quisqualis* AQ94014 are from NCBI GenBank. The accession numbers of 18 sequences obtained from GenBank are in parentheses.

*artemisiae, humuli, quercinus, uncinulae*과 같은 종명을 사용하였다. 그러나 Kiss(1997)는 생장속도의 차이가 있는 균주들을 RFLP분석에 의한 유전적 차이를 조사한 결과, 종(種)으로 구분할 만한 차이점을 발견하지는 못하였다. 그 후에 최근 Sullivan and White(2000)는 빠르게 균사 생장하는 일부의 *Ampelomyces* 균주가 흰가루병균에 기생하여 병자각을 형성하는 과정과 ITS sequence에 의해서 *Phoma glomerata*(Cda)라고 주장하였다. Kiss *et al.* (2004)은 이 속균의 형태적 상이점 및 생장속도가 빠르고 느린 배양적 특성과 rDNA ITS sequences의하여 차이를 보고하면서 동일한 속이 아닐 수 있다고 제시함으로서 속균에 대한 명확한 동정은 아직도 이루어지지 못하고 있는 실정이다.

선발된 AQ94013 균주가 기존에 보고된 중복기생균인 *Ampelomyces* spp. 균주들과 동일한 균인지의 여부 및 유전적 관련성을 확인하기 위해 병자각을 형성하는 *Ampelomyces* spp. *Phaeosphaeria* spp. 및 *Coniothyrium cereales* 등을 포함하여 NCBI GenBank에서 얻어진 총 18개의 곰팡이 균주들의 ITS 염기서열을 함께 분석하여 Neighbour-joining tree를 작성하였다. ITS 염기서열을 분석 비교한 결과에서 선발균주인 AQ94013 균주는 흰가루병의 생물방제제(AQ10^{R})로서 상업적으로 널리 알려져 있는 Khat(*Catha edulis*)의 흰가루병균(*Oidium* sp.)에서 분리된 *Ampelomyces* sp. AQ10 균주와는 뚜렷이 다르게 위치하였고, 유전적 유연관계가 먼 것으로 나타났다. 향쑥(*Artemisia absinthium*) 흰가루병균(*Erysiphe cichoracearum*)의 중복기생균인 *Ampelomyces* sp. 263 균주는 선발균주인 AQ94013과 유전적 유연관계가 가장 가까운 것으로 나타났지만 두 균주들은 동일한 균이 아니며, 이것은 80%의 bootstrap값으로 지지되었다(Fig. 2). Szentivanyi *et al.* (2005)은 사과흰가루병균의 중복기생균인 *Ampelomyces* 균주들의 염기서열이 복숭아흰가루병균의 중복기생균인 *Ampelomyces* sp. U1 균주를 비롯하여 5개의 다른 곰팡이와 기주식물에서 분리된 *Ampelomyces* sp.와 동일하게 위치한다고 보고하였다. 그러나 이 연구에서는 U1 균주가 선발균주인 AQ94013 균주와는 뚜렷이 다르게 위치하는 것을 확인하였다. 이와 같은 결과로 볼 때, 본 연구의 선발균주인 AQ94013은 기존에 보고된 *Ampelomyces* spp. 10균주와 분자적 특성이 다른 strain이라는 것을 제시한다.

적 요

국내에서 73종의 식물에서의 흰가루병균에서 중복기생균인 *Ampelomyces* 속 308 균주를 분리하였다. 팥의 흰가루병균에서 분리한 AQ94013 균주는 오이 흰가루병균에 가장 기생력이 우수한 균주로 선발되었다. 94013 균주의 병자각은 담갈색이나 다갈색이며, 구형이나 긴 서양배 모양으로, 그 크기는 52.5~82.5×35.0~47.5(평균 62.5×40.5)μm이다. 병포자는 옅은 갈색의 단세포이며, 세포안에 유적이 보이고, 곧은 원통모양의 방추형이며, 크기는 5.0~8.0×2.5~4.3(평균 6.0×3.0)μm이다. 그러므로 AQ94013 균주는 형태학적 및 분자적 특성을 조사한 결과에서 *Ampelomyces quisqualis*로 동정하였다. 또한 *Ampelomyces quisqualis* 94013균주는 기 상업화한 *Ampelomyces* sp. AQ10균주 등의 rDNA ITS sequence를 비교 분석한 결과에서 다른 균주임이 증명되었다.

참고문헌

이상엽, 류재당, 김홍기. 2005. 중복기생균 *Ampelomyces quisqualis* 94013의 배양적 특성. 식물병연구 **11**: 173-178.

中澤靖彦, 大塚範夫. 1994. ウリ類うどんこ病菌. 植物防疫 **48**: 36-38.

中澤靖彦. 1995. キュウリうどんこ病菌の藥劑 感受性. 今月の農業 **4**: 114-118.

Asari, S. Horie, H. and Nakazawa, Y. 1994. Current status in sensitivity of *Sphaerotheca fuliginea* to DMI in Kanto-Tosan District, Japan. *Proc. Kanto-Tosan Plant Protec. Soc.* **41**: 69-75.

Belanger, R. R., Dik, A. J. and Menzies, J. M. 1998. Powdery mildews recent Advances toward integrated control. Pp 89-126. *In*: Boland, G. J. and Kuykendall, D. L. Eds. Plant-microbe Interactions and Biological Control, Marcel dekker, New York, USA.

Belorger, B. R., Labbe, C. and Jarvis, W. R. 1994. Commercial scale control of rose powdery mildew with a fungal antagonist. *Phytopathology* **78**: 420-424.

Braun, U. 1987. A Monograph of the *Erysiphales* (Powdery Mildews). Stuttgart, Borntraeger Publisher. 700p.

Clare, B, G. 1964. *Ampelomyces quisqualis* (*Cicinnobolus cesatii*) on Queensland Erysiphaceae. Univ. Queensland Papers, Dept. Bot. **4**: 147-149.

Emmons, C. W. 1930. *Cicinnobolus cesatii*, a study in host parasite relationships. *Bull. Torrey Bot. Club*. **57**: 421-441.

Erickson, E. O. and Wilcox, W. F. 1997. Distributions of sensitivities to three sterol demethylation inhibitor fungicides among populations of *Uncinula necator* sensitive and resistant to triadimefon. *Phytopathology* **87**: 784-791.

Hanlin, R. T. and Tortolero, O. 1984. *Brasiliomyces*, a new host for *Ampelomyces*. *Mycotaxon* **21**: 459-462.

Hawksworth, D. L. 1981. A survey of the fungicolous conidial fungi. Pp 171-244. *In*: G. T. Cole and B. Kendrick. Eds. Biology of Conidial Fungi, vol. 1. Academic Press, London, UK.

Hijwegen, T. 1992a. Biological control of cucumber powdery mildew with *Tilletiopsis minor* under greenhouse conditions. *Neth. J. Plant Pathol.* **98**: 221-225.

Hijwegen, T. 1992b. Glycolytic activities in some fungicolous fungi. *Neth. J. Plant Pathol*. **98**: 91-98.

Hijwegen, T. and Buchenauer, H. 1984. Isolation and identification of hyperparasitic fungi associated with *Erysiphaceae*. *Neth. J. Plant Pathol.* **90**: 79-84.

Hofstein, R. 1996. *Ampelomyces quisqualis*, a new biofungicide to control powdery mildew in grapes. in Brighton Crop Protection Conference-Pests and Diseases, vol. **1**: 34-40. British Crop Protection Council, Farnham, UK.

Kiss, L. 1997. Genetic diversity in *Ampelomyces* isolates, hyperparasites of powdery midew fungi, inferred from RFLP analysis of the rRNA ITS region. *Mycol. Res*. **101**: 1073-1080.

Kiss, L., Russell, J. C., Szentivanyi, O., Xu, X. and Jeffries, P. 2004. Biological and biocontrol potential of *Ampelomyces* mycoparasites, natural antagonist of powdery mildew fungi. *Biocontrol Sci. Technol.* **14**: 635-651.

Kiss, L. and Vajna, L. 1994. New approaches in the study of the genus *Ampelomyces*. Abstracts of the 3rd EFPP Conference, Poznan, p83.

Kiss, L. and Vajna, L. 1995. New approaches in the study of the genus *Ampelomyces*, hyperparasites of powdery mildew fungi. Pp 301-304. *In*: Manka, M. Ed. Environmental biotic factors in integrated plant disease control. Polish Phytopathological Society, Poznan, Poland.

Klecan, A. L., Hippe, S. and Somentlle, S. C. 1990. Reduced growth of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* indiced by *Tilletiopsis pallescens*. *Ecol. Epidemiol.* **80**: 325-331.

Koji Amano. 1986. Host range and geographical distribution of the powdery mildew. Japan societies press, Tokyo, Japan.

Korean Society of Plant Pathology. 2004. List of Plant Diseases in Korea. 4rd. ed. JungHangSa, Korea.

Kumar, S., Tamura, K. and Nei, M. 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Brief Bioinform.* **5**: 150-163.

Lee, B. H. 1976. Mycoparasitic fungi in Korea. part 1. Mycoparasitic fungi on the pathogen of powdery mildew. *Bull. Appl. Nat. Sci. (Konkuk Univ.)* **2**: 7-11.

Lyr, H., Russell, P. E. and Sisler, H. R. 1996. Modern fungicides and antifungal compounds. Intercept Limited, Andover, UK.

Menzies, J. G., Ehret, D. L., Glass, A. D. M., Helmer, T., Koch, C. and Seywerd, F. 1991. Effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus*. *Phytopathology* **81**: 84-88.

Nelson, M. D. and Gubler, W. D. 1995. Evaluation of biological and chemical agents for control of strawberry powdery mildew, *Sphaerotheca macularis* f. sp. *fragariae*. *Phytopathology* **85**: 1041 (Abstr.).

Pasini, C., D'Aquila, F., Curir, P. and Gullino, M. L. 1997. Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaertheca pannosa* var. *rosae*) in glasshouses. *Crop Protection* **16**: 251-256.

Philipp, W. D. and Crüger, G. 1979. Parasitismus von *Ampelomyces quisqualis* auf Echten Mehltaupilzen an Gurten und anderen Gemusearten. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzensch.* **86**: 129-142.

Rudakof, O. L. 1979. Fungi of the genus *Ampelomyces* Ces. Es Schlecht. In Russian, *Mikol. Fitopatol.* **13**: 104-110.

Shin, H. D. and Kim, K. H. 1994. Isolation of hyperparasitic fungi to powdery mildews and selection of superior isolates for biocontrol of cucumber powdery mildew. *RDA J. Agr. Sci.* **36**: 141-151.

Shin, H. D. 1994b. Powdery mildew fungi and their host plants from kangwon province. *Kor. J. Mycol.* **22**: 229-246.

Spencer, D. M. 1978. The Powdery Mildew. London. Academic Press.

Sullivan, R. F. and White, J. F. 2000. Phoma glomerata as a mycoparasite of powdery mildew. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 425-427.

Sundheim, L. and Krekling, T. 1982. Host-parasite relationships of the hyperparasite *Ampelomyces quisqualis* and its powdery mildew host *Sphaerotheca fuliginea*. *Z. Phytopathol.* **104**: 202-208.

Sutton, B. C. 1980. The Coelomycetes. CMI Kew, Surrey, England.

Sztejnberg, A., Galper, S., Mazar S. and Lisker, N. 1989. *Ampelomyces quisqualis* for biological and integrated control of powdery mildews in Israel. *J. Phytopath.* **124**: 285-295.

Szentivanyi, O., Kiss, L., Russell, J. C., Kovacs, G. M., Varga, K., Jankovics, T., Lesemann, S., Xu, X.-M. and Jeffries, P. 2005. *Ampelomyces* mycoparasites from apple powdery mildew identified as a distinct group based on single-stranded conformation polymorphism analysis of the rDNA ITS region. *Mycol. Res.* **109**: 429-438.

Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acids Res.* **22**: 4673-4680.

Urquhart, E. J., Menzies, J. G. and Punja, Z. K. 1994. Growth and biological control activity of *Tilletiopsis* species against powdery mildew (*Sphaertheca fuliginea*) on greenhouse cucumber. *Phytopathology* **84**: 341-351.

White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. and Taylor, J, W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp 315-322. *In*: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. and White, T. J. Eds. PCR Protocols: A guide to methods and applications. Academic press, New York, USA.