

分生孢子數 및 營養狀態가 고추 炭疽病菌(*Colletotrichum dematium* f. sp. *capsicum*)의 分生孢子 發芽에 미치는 影響

鄭 鳳 九 · 李 相 範

CHUNG, BONG-KOO AND SANG-BUM LEE: Effect of Conidial Number and Nutrition on the Germination of Conidia in *Colletotrichum dematium* f. sp. *capsicum* Causing Red Pepper Anthracnose

Korean J. Prot. 25(1) : 41~46(1986)

ABSTRACT Exogenous factor and nutrients affecting for conidial germination of *Colletotrichum dematium* f. sp. *capsicum* causing red pepper anthracnose were studied by slide germination test. Optimum temperature of conidial germination was at 28°C, ranging 15 to 35°C. Optimum pH was at 5.5, ranging 4.5 to 8.0, and more than 90% of relative humidity (RH) was optimum. Poor conidial germination of the fungus was observed on sterile distilled water, but potato sucrose broth (PSB), red pepper fruit broth (RPF), green pepper fruit broth (GPF) and pepper leaf broth (PLB) furnished a satisfactory nutrients for conidial germination. Exogenous supply of carbon and nitrogen sources were essential for conidial germination, while potassium, phosphorous and sulfur were not evident as that for carbon and nitrogen. Soluble starch was the most suitable as a carbon source for conidial germination and followed by D-glucose, D-galactose and lactose in that order. Maximum germination was attained in the 1×10^4 conidia per mL. Germination was decreased with increment of conidial concentration, and in the density of 5×10^4 conida per mL, germination was nearly suppressed. It suggested existing a self-inhibitor. Non-washed conidia germinated more than washed conidia, and conidial germination was also gradually decreased by increasing conidial density.

緒 論

고추 炭疽病은 疫病과 함께 每年 發生하여 고추 多收穫에 가장 큰 制限要因의 하나가 되고 있는 病이다. 特히 本病은 고추 全 生育期에 걸쳐 일, 줄기, 열매에 發病하며 열매의 發病은 고추의 收量減少는 勿論 質的의 低下를 가져오고 있다.⁴⁾

病原菌의 感染은 寄主 葉上圈에서의 病原菌 發芽로부터 始作되므로 이 病原菌 孢子的 發病에 가장 重要한 첫 段階인 것이다.¹³⁾ 이에 關聯하여 發芽生理에 미치는 外的要因, 營養源과 self-inhibitor에 關한 研究는 이미 外國에서 많이 報告된 바 있다.^{1,2,3,6,7,8,9,13,15)}

그런데 고추 炭疽病菌(*Colletotrichum dematium* f. sp. *capsicum*)에 對한 發芽生理에 對하여는 아직 研究 試圖된 바 없으므로 本 病原菌의 發芽에 미치는 溫度를 包含한 好適適圍, 營

養源의 效果 및 self-inhibitor 등을 究明코져 本 研究를 遂行하였다.

材料 및 方法

病原菌의 分離 및 孢子懸濁液 調劑: 自然感染된 열매로부터 慣行法으로 純粹分離한 供試菌 *Colletotrichum dematium* f. sp. *capsicum*을 PSA에 接種後 28°C의 定溫器에서 7日間 培養한 다음 spatula로 긁어서 殺菌蒸溜수로 稀釋하였으며 그 濃度는 Microsyringe法¹⁰⁾으로 分生孢子를 10^4 /mL로 調節 調劑하였다.

生理的 特性 및 營養源의 調劑: 分生孢子 發芽는 slide germination test法으로서 孢子懸濁液은 1回用 注射器(1mL)를 使用하여 乾熱殺菌된 concave slide glass나 water agar (2%)片 위에 방울로 處理하였다. 處理된 slide는 溫度效果試驗을 除外하고는 모두 28°C의 定溫器에 두었다. 相對濕度는 硫酸濃度를 調節하여 desiccator를 使用하여 維持시켰으며⁹⁾ pH는 KOH와 HCl로 調節하였다.⁸⁾ 營養源은 PSB(potato sucrose

충북大學校 농과대학 농생물학과(Dept. of Agricultural Biology, College of Agric., Chung Buk Nat'l Univ).

broth), 고추열매 汁液(red pepper fruit broth, green pepper fruit broth)과 고추잎 汁液(pepper leaf broth) 같은 天然 營養源과 炭素源으로서 果糖을 包含한 單糖類 5種, Maltose等 二糖類 3種 및 多糖類는 starch와 cellulose等 2種을 供試하였으며 炭素源의 濃度は 5×10^{-3} mole로, 그밖에 無機鹽類의 濃度は 1×10^{-3} mole로 調劑하여 使用하였다.

發芽에 미치는 分生孢子 數 및 基質의 效果 : 7日間 PSA 培地에서 培養시킨 供試菌을 殺菌水로 稀釋하여 洗滌하지 않은 孢子 懸濁液을 調劑하였으며 洗滌된 孢子 懸濁液의 調劑는 5,000 rpm에서 30分間 遠心分離하여 沈澱物을 다시 殺菌水로 稀釋하는 方法을 3回 反覆하여 基質을 除去하였다.¹³⁾ 孢子 懸濁液의 濃度は microsyringe 法으로 5×10^4 conidia/ml로 만든 다음 殺菌水를 添加하는 方法으로 차례대로 孢子 懸濁液의 濃度を 調節하였다,

調查方法 : 孢子 發芽率은 顯微鏡으로 各各 400 個의 分生孢자를 調查하여 平均値를 求하였으며 發芽基準은 顯微鏡視野에서 發芽管이 分生孢子의 길이만큼 伸張된 것을 發芽한 孢子로 看做하였다.

試驗結果 : *Colletotrichum dematium* f. sp. *capsicum*에 의한 고추, 炭疽病菌의 發芽에 미치는 營養生理 뿐만 아니라 主要外的 環境要因, 例를들면 溫度範圍等이 究明된 바 없으므로 表 1에서와 같이 10°C에서부터 5°C 間隔으로 35°C

Table 1. Effect of different temperature on the conidial germination of *C. dematium* f. sp. *capsicum* treated on water agar^a

Temperature (°C)	Germination (%) ^b		
	10 hrs	20 hrs	30 hrs
10	—	7	41
15	21	53	72
20	43	86	89
25	67	87	91
28	80	91	96
30	77	89	95
35	46	57	77

^a Conidial concentration was adjusted at 10^4 conidia/ml.

^b Number means an average of conidia germinated from 400 conidial observation.

Table 2. Effect of different relative humidity (RH) on the conidial germination of *C. dematium* f. sp. *capsicum* treated on water agar after incubated at 28°C^a

Relative humidity (%)	Germination (%) ^b		
	10hrs	20hrs	30hrs
100	86	92	96
92.5	67	84	87
88.5	56	63	70
82.9	38	44	58
75.6	29	37	41
66.8	—	4	7

^a Conidial concentration was adjusted at 10^4 conidia/ml.

^b Number means an average of conidia germinated from 400 conidial observation.

Table 3. Effect of different concentrations of hydrogen ions (pH) on the conidial germination of *C. dematium* f. sp. *capsicum* treated on water agar after incubated at 28°C^a

Hydrogen ion's Concentration	Germination (%) ^b		
	10hrs	20hrs	30hrs
4.0	2	30	47
4.5	64	87	19
5.0	78	89	93
5.5	88	93	98
6.0	76	85	90
7.0	71	80	88
8.0	69	74	80

^a Conidial concentration was adjusted at 10^4 conidia/ml.

^b Number means an average of conidia germinated from 4000 conidia observation.

까지 調查한 結果 10~35°C에 걸쳐 發芽가 이루어지나 低溫이나 高溫에서는 發芽가 低調한 便이고, 好適한 溫度는 25, 28 및 30°C였고 그 中에서도 28°C가 가장 좋았다. 다시 말하면 28°C에서는 處理 10時間만에 80%, 30時間後에는 96%의 發芽率을 보였다.

相對溫度 (RH)와 水素이온濃도가 孢子發芽에 미치는 效果는 表 2와 表 3에서와 같이 다른 炭疽病菌과 비슷하게 高濕度에서 높은 發芽率을 보였으며 특히 100%의 相對濕度에서는 10時間만에 86% 30時間後에는 96%의 發芽率을 나타낸 反面濕度가 낮아질수록 孢子發芽가 急激히 낮아지는 傾向이었다. pH도 既存病原菌類와 비슷하게 弱酸性에서 中性인 4.0~7.0의 好適範圍를 나타내

었으며 가장 좋은水準은 5.5로서處理 10時間에 서 88%, 30時間後에는 98%의發芽率을 보였다.

天然營養源이發芽에 미치는 効果는 PSB를 包含하여 4種을 供試하여 試驗하였다(表 4). 發芽率은 處理後 5時間만에 PSB에서는 22%, RPFB는 4%, GPFB는 3%, PLB는 7%이었으나 蒸溜水에서는 거의發芽되지 않았다. 가장 좋은 PSB는 24時間後에는 95%의發芽率을 보였다.

蒸溜水에서는 胞子發芽가 아주 不良하므로 營養源, 特別 果糖과 無機鹽類의 種類別 效果를 究明한 바는 表 5와 같다. 果糖과 몇가지 無機鹽類가 添加된 境遇 40時間이 經過됨에 따라 94%의 胞子發芽率을 보인 反面 加里나 磷酸은 炭素源이 缺乏된 境遇만큼 胞子發芽에 支障을 주지 않았다. 窒素가 缺乏된 境遇도 相當히 發芽가

Table 4. Effect of natural nutrients on the conidial germination of *C. dematium* f. sp. *capsicum* after incubated for different hours at 28°C^a

Natural nutrient	Germination (%) ^b				
	5hrs	8hrs	10hrs	12hrs	24hrs
PSB ^c	22	61	81	90	95
RFFB	4	32	65	82	91
GPFB	3	36	66	77	89
PLB	7	49	68	71	84
DW	—	—	4	7	9

^a Conidial concentration was adjusted at 10⁴ conidia/ml.

^b At least 400 conidia were counted on time after incubated at 28°C.

^c PSB: Potato Surcose Broth, RFFB: Red Pepper Fruit Broth, GPFB: Green Pepper Fruit Broth, PLB: Pepper Leaf Broth and DW: Distilled Water.

Table 5. The essentiality of various nutrients for the conidial germination of *C. dematium* f. sp. *capsicum* causing red pepper anthracnose^a

Treatment ^b	Lack of nutrient	Germination (%) ^c			
		10hrs	20hrs	30hrs	40hrs
Glucose, KNO ₃ , KH ₂ PO ₄ , MgSO ₄	None	22	52	75	94
Glucose, NaNO ₃ , NaH ₂ PO ₄ , MgSO ₄	Potassium	8	40	71	94
Glucose, NH ₄ Cl, KH ₂ PO ₄ , MgSO ₄	None	12	24	50	70
Glucose, KCl, KH ₂ PO ₄ , MgSO ₄	Nitrogen	9	19	24	55
Glucose, KCl, KNO ₃ , MgSO ₄	Phosphorous	8	51	61	84
Glucose, KNO ₃ , KH ₂ PO ₄ , MgCl ₂	Sulfur	9	15	30	61
KNO ₃ , KH ₂ PO ₄ , MgSO ₄	Carbon	7	10	14	27
Glucose	Mineral	8	13	18	40
Distilled Water	Carbon & Mineral	3	7	11	24

^a Conidial concentration was adjusted at 10⁴ conidia/ml.

^b In all case, the concentration of the mineral salts was 1.0 millimole.

^c At least 400 conidia were counted on time after incubated at 28°C.

低調함을 알 수 있었다. 덧붙여 各種 無機鹽類의 缺乏은 亦是 發芽에 큰 支障을 招來하였다. 糖의 效果를 더 仔細히 알아 보기 爲하여(表 6) 試驗한 結果 供試 10種의 糖中 水溶性 澱分이 가장 좋았고 다음 이 二糖인 Lactose와 單糖類인 D-Galactose 順이었으며 D-Mannose, D-Xylose는 成分의 効用이 낮아 不良한 發芽率을 보였다. 時間의 經過에 따라 水溶性 澱分은 10時間에 12%, 20時間만에 75%, 그리고 30時間後에 96%의 높은 發芽率을 보인 反面 D-Xylose와 D-Mannose는 10時間만에 各各 4%와 10%, 20時間에 18과 17%, 30時間後에도 그 發芽率은 크게 增加되지 않았다.

分生胞子の 濃度와 分生胞子들 싸고있는 基質이 發芽에 미치는 效果들 究明코져 遂行한 結果는 表 7과 그림 1에서와 같다. 胞子濃度가 높아 질수록 胞子發芽率은 떨어짐을 알 수 있으며 時間이 經過함에 따라 그 效果는 더욱 뚜렷하였다. 그리고 基質을 洗滌한 境遇와 洗滌치 않은 境遇에 있어서 分生胞子發芽는 洗滌한 境遇에 發芽率이 크게 떨어지는 傾向이었다. 即, 高胞子濃度인 5×10⁴/ml인 處理는 1×10⁴/ml보다 發芽率이 1/4로 줄었다. 同一胞子濃度일지라도 基質을 洗滌한 境遇에는 基質이 있는 境遇보다 發芽率이 半으로 減少하는 傾向이었다. 基質의 洗滌 또는 非洗滌을 不問하고 胞子濃度가 높아짐에 따

Table 6. Effect of carbon sources on conidial germination of *C. dematium* f. sp. *capsicum* in sterilized distilled water^a

Carbon source	Germination(%) ^b		
	10hrs	20hrs	03hrs
Monosaccharides			
D-Glucose	5	48	93
D-Fructose	12	19	34
D-Mannose	10	17	26
D-Galactose	9	49	92
D-Xylose	4	18	26
Disaccharides			
Maltose	6	57	71
Lactose	6	69	95
Sucrose	9	45	65
Polysaccharides			
Starch	12	75	96
Cellulose	6	19	35

^a Conidia (10^{-4} per ml) were placed in a water drop with a drop for each carbon source. (5×10^{-3} mol.) on sterile concave slide glass.

^b At least 400 conidia were counted on time after incubated at 28°C.

라 발芽率이 크게 낮아지는 傾向이었다. 다시 말하면 基質을 洗滌하지 않은 境遇, 胞子濃度가 1×10^4 /ml에서는 72時間後에 발芽率이 92%이나 5×10^4 ml인 境遇 21%에 不過하였다.

考 察

一般作物 炭疽病菌의 발芽生理에 미치는 外的 環境 要因과 營養源에 對하여는 많은 研究報告가 있으나^{1,2,3,6,7,8,9,13,15} 本 *Colletotrichum dematium* f. sp. *capsicum*에 依한 高추 炭疽病菌에 關한 研究는 거의 없다. 溫度를 包含한 外的 要因은 Domsch가⁵ *Colletotrichum dematium*의 生育 好適溫度를 26~32°C로 報告한 바와 같이 本 試驗의 結果도 最適溫度는 28°C(25~30°C)였고, 最適濕度는 飽和濕度, 그리고 最適酸度 範圍는 5.0~7.0이었는데 이는 사과 炭疽病菌의 pH 5.5와 類似하였다.⁹ 胞子 發芽時에 形態의 分化段階가 不分明한데 例를들면 *C. gloeosporioides*⁸나 *C. capsici*¹⁴에서 밝힌 바와 같이 이에 對한 研究도 앞으로 遂行되어야 할 것이다. (그림 1) 그리고 胞子 懸濁液 濃度調節 方法은 Microsyringe 法¹⁰으로 實施하였는데 從來의 다른 haemocytometer 法이나 colorimeter 法¹¹보

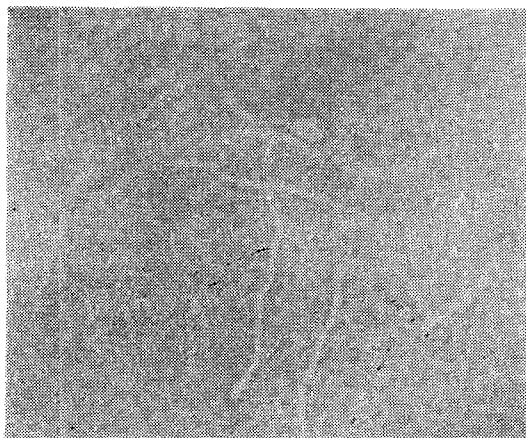


Fig. 1. Germ tube elongation of conidia of *C. dematium* f. sp. *capsicum*

다도 簡便하였음을 指摘하여 두고져 한다.

分生胞子 發芽는 分明히 外部로부터 營養源의 供給이 必要하며 特히 炭素源이나 窒素源은 必須임이 밝혀졌는데 이는 既存報告와^{4,8,13,15} 一致하는 傾向이었다. 炭素源인 澱粉이나 窒素源이 他營養源보다 胞子發芽를 促進한다는데 對한 機作으로서 胞子の 透過性이나 炭素合成을 增進시키는 特性으로 풀이하는데 아직도 그 機作이 分明치 않은 點이 많은 것 같다. 그러므로 더욱 仔細한 研究가 要望된다. 炭素源의 種類는 Oh 等¹³이 *Septoria glycines*에서 究明한 바와 같이 D-glucose, D-galactose lactose 및 starch가 뚜렷히 促進效果가 있다고 指摘한 바와 같이 本 實驗도 거의 비슷한 傾向이었다.

胞子發芽는 胞子の 濃度가 높아짐에 따라 急激히 發芽가 낮아지는데 이는 主로 胞子 自體가 分泌하는 self-inhibitor 때문으로 推測되고 있는데^{1,13} 本 實驗도 같은 傾向이었다. 또 胞子懸濁液의 濃度를 높일때 胞子 發芽率이 낮아지고 基質을 除去하였을 때에 더욱 抑制程度가 큰 것은 그 基質이 self-inhibitor로부터 保護하여 胞子發芽를 더욱 잘 하도록 하는 營養源의 役割임이 밝혀졌는데¹² 이것 亦是 표 7과 그림 2에서 잘 뒷받침해주고 있다. 그 抑制物質에 對하여는 最近 Foudin等⁷은 1974년에 *Puccinia arachidis*의 夏胞子 發芽에 self-inhibitor 物質이 Methyl cis-3.4 dimethoxy cinnamate로 確認하였고 Lax 等⁹은(1985) *C. gloeosporioides*로부터 self-

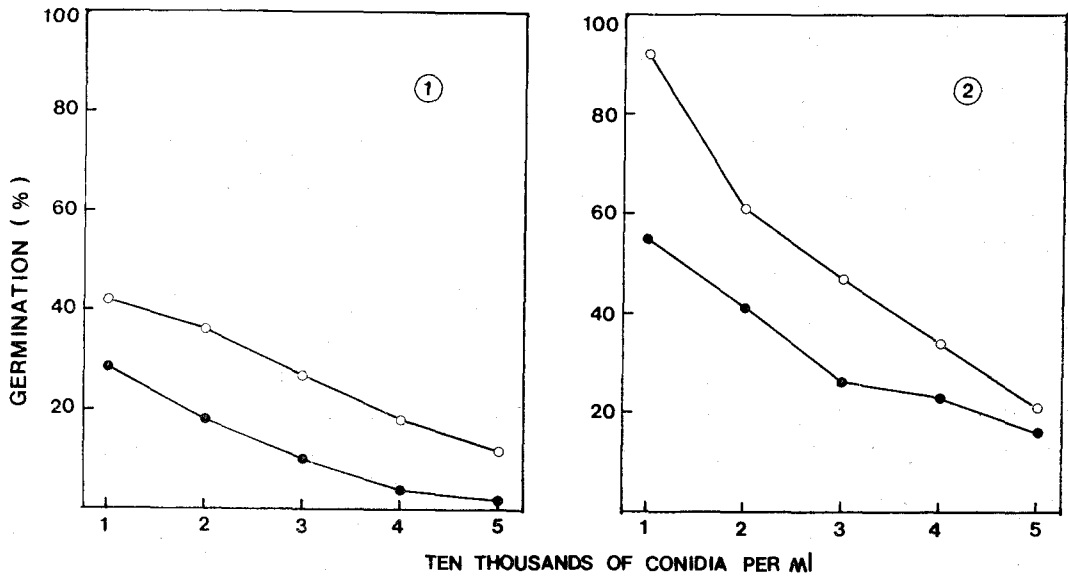


Fig. 2. Germination of wash (—●—) and non-washed (—○—) conidia of *C. dematium* f. sp. *capsicum* for 24hrs (1) and 72hrs (2) after treated with five different concentration of conidia on concave slide glasses.

Table 7. Germination of washed and non-wash conidia of *C. dematium* f. sp. *capsicum* for 12hrs, 24hrs, 36hrs, 48hrs after treated with 5 different concentration of conidia on concave slide glass.

Treated	Concentration of conidia per ml	Germination(%) ^a				
		12hrs	24hrs	36hrs	48hrs	72hrs
Nonwashed	1×10 ⁴	23	42	56	87	92
	2×10 ⁴	13	36	49	54	61
	3×10 ⁴	9	27	37	44	47
	4×10 ⁴	8	18	23	27	34
	5×10 ⁴	6	12	15	19	21
Washed	1×10 ⁴	7	29	37	31	55
	2×10 ⁴	4	18	29	37	41
	3×10 ⁴	2	10	16	24	26
	4×10 ⁴	—	4	12	20	23
	5×10 ⁴	—	2	7	9	16

^a At least 400 conidia were counted on time after incubated with five different concentration of conidia at 28°C

inhibitor로서 Gloeosporone을 報告한 바 있다. 그러므로 本病原菌에 對한 抑制物質의 研究도 앞으로 推進하여야 할 것이다.

摘 要

고추 炭疽病菌(*Colletrichum dematium* f. sp.

capsicum)의 發芽에 미치는 營養源 및 環境要因의 影響을 究明코져 slide 發芽法으로 實施하여 얻어진 結果는 다음과 같다.

1. 고추 炭疽病菌 分生孢子 發芽의 溫度範圍는 15~35°C이고 最適溫度는 28°C, pH 範圍는 4.5~8.0이고 最適 pH는 5.5였고 相對濕度는 飽和에 가까운 90% 以上の 相對濕度에서 發芽率이 顯著히 좋았다.

2. 고추 炭疽病菌의 孢子發芽는 PSB(potato sucrose broth), RPFDB(red pepper fruit broth), GPFB(green pepper fruit broth) 및 PLB(pepper leaf broth)에서는 높은 發芽率을 나타내었으나 殺菌蒸溜水(D.W)에서는 發芽率이 顯著히 떨어지는 傾向이었다.

3. 炭素源과 窒素源의 投與는 發芽에 絶對的인 影響을 미치는 것으로 確認되었으며 K,P 및 S 등의 無機鹽類는 뚜렷한 傾向을 보이지 않았다.

4. 炭素源이 發芽에 미치는 效果에서 單糖類인 glucose와 galactose에서, 二糖類인 lactose에서 그리고 多糖類인 可溶性 澱粉에서 90% 以上の 높은 發芽率을 나타내었다.

5. 懸濁液의 分生孢子 密度가 1×10⁴ conidia/ml 일때 가장 높은 發芽率을 나타내었고 2×10⁴

conidia/ml 이상일 때 발아율은 顯著히 減少되었으며 5×10^4 /ml의 胞子密度에서는 極히 낮은 발아율을 보이는 것으로 미루어 胞子密度의 增加가 self-inhibitor로 作用하는 것으로 推測되며 基質을 除去한 分生胞子の 발아율은 基質을 除去하지 않은 分生胞子の 발아율보다 낮은 傾向을 보였으며 分生胞子 密度가 增加할수록 더욱 顯著한 발아율의 減少를 가져왔다.

引用 文 獻

- Allen, P.J. 1976. Control of spore germination and infection structure formation in the fungi. *Physiological Plant Pathology* 4 : 51~76.
- Black, W.M., and D. Neely. 1978. Effect of temperature, free moisture, and relative humidity on the occurrence of walnut anthracnose. *Phytopathology* 68 : 1504~1506.
- Chung, B.K. 1969. An investigation of penetration structure by the soybean anthracnose fungus, *Glomerella glycines*. *Korean J. Prot.* 8 : 25~28.
- 鄭鳳九·張順花. 1984. 고추에서 分離한 炭疽病菌 *Colletotrichum dematium*에 對한 病原學的 研究. *韓國菌學* 12(4) : 153~157.
- Domsch, K.H., W. Grams and T.H. Anderson. 1980. *Compendium of soil fungi*. Academic Press. 1 : 223~224.
- Eppstein, D.A., and F.H. Tainter. 1976. Germination, self-inhibitor from *Cronartium comandrae* aeciospore. *Phytopathology* 66 : 1395~1397.
- Foudin, A.S. and V. Macko. 1974. Identification of the self-inhibitor and some germination characteristics of peanut rust uredospore. *Phytopathology* 64 : 990~993.
- Kim, M.H. 1969. Studies on the changes of chemical components in apple fruits and the outbreak of bitter rot of apple. *Korean J. Plant Prot.* 4(2) : 1~14.
- Lax, A.R., Templeton, G.E. and Meyer, W.L. 1985. Isolation, purification, and biological activity of a self-inhibitor from conidia of *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology* 75 : 386~390.
- Lynne, L. W., H. Ko, Chase and R.K. Kunitomo. 1973. A microsyringe method for determining concentration of fungal propagules. *Phytopathology* 63 : 1206~1207.
- Morries, S.C. and P.J. Nicholls. 1978. An evaluation of optical density to estimate fungal spore concentration in water suspension. *Phytopathology* 68 : 1240~1242.
- Nicholson, R.L. and W.B.C. Moraes. 1980. Survival of *Colletotrichum graminicola*: Importance of the spore matrix. *Phytopathology* 70 : 255~261.
- Oh, J.H. and H.S. Chung. 1984. Effect of conidial number and nutrition on the germination of conidia in *Septoria glycines*, *Korean J. Plant Prot.* 23(1) : 61~67.
- Robert, R.G. and J.P. Snow. 1984. Histopathology of cotton ball rot caused by *Colletotrichum capsici*. *Phytopathology* 74 : 390~397.
- Staple, R.C. and Z. Yaniv. 1976. Protein and nucleic acid metabolism during germination. *Physiological Plant Pathology* 4 : 86.