

고추에서 탄저병균 *Colletotrichum scovillei*를 검출하기 위한 반선택 배지

홍성기*, 박세근, 최효원, 류현주

농촌진흥청 국립농업과학원 작물보호과

A semi-selective agar medium to detect the presence of the causal agent of anthracnose, *Colletotrichum scovillei*, in chilli pepper

Sung Kee Hong*, Se-Keun Park, Hyo-Weon Choi and Hyunjoo Ryu

Division of Crop Protection, National Institute of Agricultural Science, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea

*Corresponding author

Sung Kee Hong
Tel. 063-238-3201
E-mail. sukihong@korea.kr

Received: 2 November 2021

Revised: 25 November 2021

Revision accepted: 29 November 2021

Abstract: A semi-selective agar medium was developed for detecting and enumerating *Colletotrichum scovillei* in chili (*Capsicum annuum*) plant material. Potato-dextrose-agar (PDA) was used as the basic medium. The composition of the semi-selective agar medium was established after several attempts to favor the development of *C. scovillei* and inhibit the growth of other fungi and bacteria. The semi-selective agar medium contained PDA amended with pyribencarb and pydiflumetofen at 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ each and streptomycin at 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for preventing bacterial growth. The pH was adjusted to 4.8 with 85% lactic acid. The inhibition of the mycelial growth of *C. scovillei* was significantly less than that of most other fungi including *Fusarium* species when grown on the semi-selective medium. *C. scovillei* was detected from naturally infected chili plants by plating fruit and stem tissue suspensions on the semi-selective medium, which was found to be reliable and quantifiable. This was the first report of a semi-selective agar medium to detect the presence of *C. scovillei* in naturally infected chili tissue.

Keywords: chilli, *Colletotrichum scovillei*, semi-selective medium

서 론

고추는 중앙아메리카 원산으로 임진왜란 이전 우리나라에 전해진 것으로 알려져 있다. 가지과 작물로서 잎은 나물로, 열매 중 풋고추는 생식용, 조림, 부각으로, 건고추는 분쇄된 고춧가루로서 김치를 비롯한 각종 요리의 중요한 양념 채소로 사용되고 있는 채소 작물 중 하나이다. 국내에서 고추는 주로 노지에서 재배되고 있어서 온도, 강우, 습도, 바람 등 기후 요인에 따라 커다란 영향을 많이 받고 있

으며, 역병, 탄저병, 잿빛곰팡이병, 흰가루병 등 다양한 곰팡이병을 비롯하여 세균병 및 바이러스병이 발생한다. 특히, *Colletotrichum*속 균에 의한 탄저병은 장마기인 6월 하순이나 7월 상순에 시작하여 고온 다습한 환경과 가을 태풍이 발생하는 8~9월까지 지속적으로 발생하여 고추재배 농가에 큰 피해를 주고 있다(RDA 2020). 이와 같이 경제적으로 중요한 탄저병균에 대한 분류와 동정은 종을 구분할 수 있는 형태적 변이가 적고 종간 경계가 모호하였기 때문에 오랫동안 미해결 과제로 남아 있었다.

2000년대 이후 *Colletotrichum*속에 대한 분자생물학적 분류체계 연구가 이루어지면서 Internal transcribed spacer (ITS), Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*)와 β -Tubulin-2 (*TUB2*) 등 8개 혹은 그 이상의 유전자를 종합적으로 분석하는 다좌위계통분석(multilocus phylogenetic analysis)을 기초로 현대적인 분류체계가 확립되었고(Silva *et al.* 2020), 최근 *Colletotrichum*속은 248종을 대상으로 14개 종복합체(species complex)와 13개 개체종(singleton species)으로 분류되었다(Jayawardena *et al.* 2021).

Mongkolporn and Taylor (2018), Silva *et al.* (2019) 및 Jayawardena *et al.* (2021)에 따르면 고추속(*Capsicum* spp.)에 탄저병을 일으키는 병원균이 가장 많이 포함된 종복합체는 *Gloeosporioides*로서 전체 52종 중 *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum fruticola*, *Colletotrichum siamense* 등 11종을 포함하였다. 다음으로는 *Acutatum* 종복합체로서 총 39종 중 *Colletotrichum fioriniae*, *Colletotrichum nymphaeae*, *Colletotrichum scovillei* 등 8종을 포함하였다. 이외에도 *Boninense* 종복합체에 속하는 26종 중 *Colletotrichum karstii*와 *Colletotrichum novae-zelandiae* 2종, *Magnum* 종복합체에 속하는 8종 중 *Colletotrichum brevisporum*, *Colletotrichum clivicola* (= *Colletotrichum clivia*), *Colletotrichum liaoningense* 3종, *Orchidearum* 종복합체에 속하는 *Colletotrichum plurivorum*과 *Colletotrichum sojiae* 2종, *Spaethianum* 종복합체에 속하는 *Colletotrichum incanum* 1종, *Truncatum* 종복합체에 속하는 *Colletotrichum truncatum* 1종 및 개체종으로서 *Colletotrichum coccodes*와 *Colletotrichum nigrum* 2종이 보고되어서 총 8 종복합체, 2 개체종에 속하는 30종이 고추속 탄저병균으로 알려져 있다.

국내에서 고추 탄저병균 연구는 형태적 특성과 배양적 특성을 기반으로 하는 전통적 분류법에 따라서 원통형으로 한쪽 끝이 뾰족한 분생포자를 갖는 *C. acutatum*, 원통형이지만 다른 종에 비해 길고 좁은 분생포자를 갖는 *C. coccodes*, 낫 모양의 분생포자를 갖고, PDA 배지에서 풍부한 강모와 균핵을 형성하는 *C. dematium*, 원통형의 분생포자를 갖는 *C. gloeosporioides* 4종이 보고되었고(Park and Kim 1992), 최근 분자생물학적 분류에 기반하여 국내 고추탄저병균의 우점종으로서 *Acutatum* 종복합체에 속하는 *C. scovillei* (Oo *et al.* 2017) 1종을 비롯하여 *Truncatum* 종복합체에 속하는 *C. truncatum* (Oo and Oh 2020) 1종 및 *Gloeosporioides* 종복합체에 속하는 *C. siamense* (Oo *et al.* 2021) 1종이 보고되었다.

고추탄저병은 전 세계적으로 30종의 다양한 병원균에 의해 발생하며, 비바람에 의한 고추 과실의 상처로 장마기에 쉽게 감염되고 전파되기 때문에, 탄저병균을 효율적으로 방제하기 위해서는 잎, 줄기, 과실 등 식물체 잔사와 토양 등 병원균의 1차 전염원이 될 수 있는 주요 서식처를 파악해야 한다. 또한, 포장 내에서 고추의 생육기와 기상환경 특히 장마기 전후에 탄저병균의 밀도 등을 확인하여 정량화할 수 있는 생태 연구가 필요하며, 이를 위해서는 균을 순수 분리하고 검출하기 위한 선택 혹은 반선택배지가 필요하다. 선택배지는 목적하는 균만을 분리하고 다른 균의 생육을 저해해야 하지만 실제로 완전한 선택성을 갖는 배지를 만들기 어렵기 때문에 반선택이라는 용어가 사용된다. 지금까지 탄저병균을 분리하기 위한 반선택배지는 기본배지에 살균제를 첨가하여 개발되었다. Manandhar *et al.* (1995)은 고추에서 *Colletotrichum capsici* (*C. truncatum*의 동균이명)와 *C. gloeosporioides*를 분리하기 위해 fenarimol과 vinclozolin 및 iprodione을 포함하는 반선택배지를 개발하였고, Ekefan *et al.* (2000)은 토양에서 Yam 탄저병균인 *C. gloeosporioides*를 분리하기 위해 살균제인 tolclofos-methyl과 pencycuron을 첨가한 반선택배지를 개발하였다. 또한, Kang *et al.* (2005)은 고추 탄저병균인 *C. acutatum*을 분리하기 위해 살균제인 carbendazim과 diethofencarb를 포함하는 반선택배지를 개발하였다. 이와 같이 고추 등 여러 작물에서 탄저병균을 선택적으로 분리하기 위한 배지 개발이 이루어져 왔지만, 분자생물학적 분류체계가 갖추어지기 전에 연구된 반선택배지는 대상병원균이 형태적, 배양적 특성에 의한 고전적인 방법에 기초하여 분류동정되었기 때문에 새로운 분류체계에 기반하여 동정된 탄저병균을 대상으로 반선택배지의 개발이 필요할 것으로 보인다. 따라서 이 연구의 목적은 예비 실험에서 선발된 살균제 2종에 대하여 탄저병균을 비롯한 고추에서 발생할 수 있는 다양한 곰팡이에 대한 선택성을 조사하여 국내에서 우점종으로 알려져 있고, 고추의 생육 전 단계에 걸쳐서 가장 문제가 되는 *Acutatum* 종복합체에 속하는 *C. scovillei*를 검출하고 정량할 수 있는 반선택배지를 개발하기 위해 수행되었다.

재료 및 방법

1. 공시 균주

공시균은 고추를 비롯한 5개 작물로부터 분리, 동정 후

국립농업과학원에서 보관 중인 균주를 사용하였다. 공시한 고추 탄저병균에는 국내에서 보고된 *C. gloeosporioides*, *C. scovillei*, *C. truncatum*뿐만 아니라 국내에서 분리되었으나 아직 보고되지 않은 *C. fioriniae*, *C. fruticola*, *C. nymphaeae*가 포함되었다. 또한, 고추에 뿌리썩음병을 일으키는 *Fusarium oxysporum*을 비롯한 *Fusarium* 5종, 검은점열매썩음병을 일으키는 *Phomopsis*, 반쪽시들음병을 일으키는 *Verticillium*, 고추검은곰팡이병을 일으키는 *Alternaria* 및 고추점무늬병을 일으키는 *Cladosporium* 각 1종을 포함하여 고추에서 발생할 수 있는 곰팡이균 15종 18균주가 사용되었다. 모든 균주는 25°C 감자찬채배지(PDA; Difco Laboratories)에서 배양되었고, 4°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

2. 살균제 선발 및 군사생장 저해 효과

고추에 등록된 곰팡이병 방제 약제 중 탄저병 방제 약제가 아닌 pyrimethanil (FL), fenpyrazamine (FL), pyribencarb (FL), fenpyrazamine (WG), iprodione (WP), pencycuron (FL), fluxapyroxad (FL), pydiflumetofen (FL), metrafenone (FL)을 대상으로 예비실험을 통해 반선택배지에 사용할 살균제 후보로 pyribencarb (FL)와 pydiflumetofen (FL)이 선발되었다(data not shown). 두 약제의 공시균에 대한 군사생장 억제 정도를 조사하기 위하여 PDA를 기본배지로 멸균 후 식은 PDA에 pyribencarb와 pydiflumetofen의 최종농도가 40 µg mL⁻¹이 되도록 각각 혹은 함께 혼합하여 첨가하였다. pH는 lactic acid를 사용하여 4.8로 조절하였고, 세균 오염을 막기 위해 Streptomycin 100 µg mL⁻¹을 첨가하였다. 약제가 첨가된 배지 중앙에 미리 배양한 공시 균주의 5 mm 균총을 올려놓고 25°C 항온기에서 7일간 배양 후 군사 생장을 조사하였다. 모든 실험은 3 반복으로 실시하였고 약제에 대한 군사생장 저해율(%)은 무처리구의 균총직경 - 처리구의 균총직경/무처리구의 균총직경×100으로 하였다. 약제처리에 따른 곰팡이균의 군사생장 저해율의 비교를 위한 통계 분석은 R 통계 패키지(<https://www.r-project.org>)를 이용하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 수행하였고, 사후검정은 Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)를 이용하였다. 모든 데이터는 평균과 표준편차로 나타냈다.

3. 고추 잔재물과 토양에서 균 검출량 조사

2021년 2월 전라북도 김제시와 정읍시에 있는 3개의 고

추 포장에서 수확 후 포장 내에 남겨진 탄저병에 감염된 고추 열매와 줄기 잔재물 및 토양을 채취하였다. 고추 열매 10g, 줄기 10g 및 토양 20g을 각각 튜브에 넣고, 멸균 증류수를 사용하여 총량이 200 mL가 되도록 조절한 후 믹서기로 분쇄하여 현탁액을 만들었고, 멸균된 miracloth로 거른 여과액을 새로운 튜브로 옮겼다. 현탁액은 사용 전 vortexing하여 잘 혼합한 후 튜브에서 1 mL를 분취하여 9 mL 증류수에 넣어 10⁻¹ 농도를 만든 후 연속희석법을 사용하여 각 시료의 농도를 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ 농도로 조절하였다. 농도별로 만든 각각의 시료 현탁액은 100 µL씩 취하여 미리 만든 반선택배지와 대조구로서 PDA에 넣고 도말하였고, 25°C에서 5일간 배양 후 형성된 균총의 수를 조사하였다. 반선택배지는 PDA 기본배지에 40 µg mL⁻¹의 pyribencarb와 pydiflumetofen, 100 µg mL⁻¹의 Streptomycin이 첨가되었고, pH는 lactic acid를 사용하여 4.8로 조절하였다. 대조구는 pyribencarb와 pydiflumetofen 살균제를 첨가하지 않고 나머지는 반선택배지와 동일하게 제조하였다. 모든 실험은 3 반복으로 실시하였다. 시료의 수집지역, 처리시료, 처리농도 및 지역별 탄저병균의 검출량을 비교하기 위한 통계 분석은 R 통계 패키지(<https://www.r-project.org>)를 이용하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 수행하였고, 사후검정은 Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)를 이용하였다. 모든 데이터는 평균과 표준편차로 나타냈다.

결과 및 고찰

1. 반선택배지의 개발

Pyribencarb와 pydiflumetofen을 대상으로 40 µg mL⁻¹ 농도에서 공시균에 대한 군사생장 저해율을 조사한 결과 공시균 및 약제의 종류에 따라서 군사생장 저해율의 차이를 나타냈다(Table 1). Pyribencarb의 *Colletotrichum*속에 대한 군사생장 저해율을 살펴보면 *Acutatum* 종복합체에 속하는 *C. fioriniae*는 80%, *C. nymphaeae*는 94%였으나 *C. scovillei*는 26~38%로서 저해율이 낮았다. *Gloeosporioides* 종복합체에 속하는 *C. fruticola*와 *C. gloeosporioides*는 각각 57%와 55%, *Truncatum* 종복합체에 속하는 *C. truncatum*은 32%의 낮은 저해율을 나타냈다. 따라서 Pyribencarb에 대한 *Colletotrichum*속의 감수성에 대하여 *Acutatum*,

Table 1. Growth inhibition of fungal isolates on PDA medium supplemented with different fungicides

Fungi	Host	Isolate	Growth inhibition*(%)	
			Pyribencarb**	Pydiflumetofen
<i>Alternaria alternata</i>	Beet	SKH18060	50 ± 1.2 h***	79 ± 2.5 cd
<i>Cladosporium</i> sp.	Pepper	SKH21006	59 ± 0.0 de	81 ± 3.2 bc
<i>Colletotrichum fioriniae</i>	Pepper	C01005	80 ± 2.2 b	45 ± 1.1 g
<i>Colletotrichum fructicola</i>	Pepper	C01098	57 ± 1.0 ef	28 ± 0.0 hi
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Pepper	C01115	55 ± 2.1 fg	27 ± 2.1 hij
<i>Colletotrichum nymphaeae</i>	Pepper	C01067	94 ± 2.1 a	21 ± 1.2 jkl
<i>Colletotrichum scovillei</i>	Pepper	C01024	38 ± 1.3 i	20 ± 1.3 kl
<i>Colletotrichum scovillei</i>	Pepper	C01116	26 ± 1.4 l	25 ± 0.0 hijk
<i>Colletotrichum scovillei</i>	Pepper	SKHC21031001	31 ± 0.0 jk	25 ± 1.4 ijk
<i>Colletotrichum scovillei</i>	Pepper	SKHC21031002	28 ± 2.7 kl	17 ± 1.4 lm
<i>Colletotrichum truncatum</i>	Pepper	C01029	32 ± 1.5 j	31 ± 1.5 h
<i>Fusarium fujikuroi</i>	Rice	SKH18135	71 ± 3.1 c	47 ± 1.5 g
<i>Fusarium graminearum</i>	Rice	NC20-868	50 ± 1.3 h	95 ± 0.0 a
<i>Fusarium oxysporum</i>	Radish	SKH18079	52 ± 1.7 gh	74 ± 0.0 d
<i>Fusarium proliferatum</i>	Asparagus	NC18-846	61 ± 1.9 d	86 ± 4.7 b
<i>Fusarium solani</i>	Pepper	NC18-690	21 ± 1.5 m	65 ± 2.7 e
<i>Phomopsis</i> sp.	Pepper	NC19-727	74 ± 1.9 c	55 ± 4.5 f
<i>Verticillium</i> sp.	Pepper	NC20-845	82 ± 3.0 b	12 ± 11.0 m

*Growth inhibition (%) = (growth of control - growth of treatment) / growth of control × 100

**Treated concentration: 40 µg mL⁻¹

***Values in the labeled with the same letter in each row are not significantly different in Duncan's multiple range test at p=0.05.

Gloeosporioides 및 Truncatum 중복합체 간 뿐만 아니라 Acutatum 중복합체에 속하는 *C. fioriniae*, *C. nymphae* 및 *C. scovillei* 간에도 감수성이 매우 다르다는 것을 확인할 수 있었다. 또한, *Colletotrichum*속의 종과 마찬가지로 *Fusarium*속에서도 Pyribencarb의 균사생장 저해율은 *Fusarium fujikuroi*에서 71%, 다른 *Fusarium*속 종은 50~61%를 나타냈고, 특히 *Fusarium solani*에서는 21%로 매우 낮아서 종간에 큰 차이를 나타냈다. *Phomopsis*와 *Verticillium*속에 대한 균사생장 저해율은 각각 74%와 83%로 비교적 높았으며, *Alternaria*와 *Cladosporium*속에서는 49%와 59%의 저해율을 나타냈다. Pyribencarb는 2012년 일본에서 등록된 benzylcarbamate type의 Quinone outside inhibitor (QOI)계 광범위 살균제로서 경제적으로 중요한 각종 곰팡이 병원균 특히 *Botrytis cinerea*에 의한 잣빛곰팡이병과 *Sclerotinia sclerotiorum*에 의한 채소류 균핵병 방제약제로 널리 알려져 있으나 (Umetsu and Shirai 2020) 탄저병균에 항균활성을 갖는다는 보고는 알려지지 않았다. 그럼에도 불구하고 pyribencarb는 국내에서 무, 인삼, 사과, 콩 탄저병의 방제약제로 등록되어 사용되고 있고 (RDA 2021), 본 연구 결과에서 탄저병균의 일부

종에 대하여 균사생장 억제효과가 인정되는 만큼 많은 기주로부터 분리된 *Colletotrichum*종과 균주를 대상으로 균사생장 저해 정도를 비교하는 연구가 필요해 보인다. 위의 결과로부터 pyribencarb는 *C. fioriniae*, *C. nymphae*, *Phomopsis* sp. 및 *Verticillium* sp.에서만 뚜렷한 균사생장 저해를 나타내기 때문에 pyribencarb만을 이용하여 *C. scovillei* 검출용 반선택배지를 개발하는 것은 어려웠다.

Pydiflumetofen의 *Colletotrichum*속에 대한 균사생장 저해율은 *C. fioriniae*에서 45%였고, 다른 *Colletotrichum*속 종들은 17~31%로 낮았다. *Fusarium*속 종에 대한 균사생장 저해율은 *F. fujikuroi*에서 47%를 제외하고는 공시한 모든 종에 대하여 65% 이상이었다. *Phomopsis*와 *Verticillium*에서는 각각 55%와 13%의 낮은 저해율을 나타냈으나 *Alternaria*와 *Cladosporium*에서는 79%와 81%의 높은 저해율을 보였다. 위의 결과로부터 pydiflumetofen은 *Fusarium*, *Alternaria* 및 *Cladosporium*을 효과적으로 저해할 수 있으나 *Colletotrichum*, *Phomopsis* 및 *Verticillium*에 대한 저해 효과는 낮은 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 pydiflumetofen이 succinate dehydrogenase inhibitors (SDHI)계 살균제로

서 흰가루병, 채소류와 과수류에 발생하는 *Alternaria*에 의한 병과 *Fusarium*에 의한 밀 붉은곰팡이병 방제에 효과적인 약제이지만 (Umetsu and Shirai 2020), 블루베리 탄저병을 일으키는 *C. gloeosporioides*뿐만 아니라 (Gama et al. 2021) *C. acutatum*에 대해서는 균사생육 저해율이 낮았다는 보고와 일치하였다 (Haack et al. 2018). 결국, pyribencarb와 마찬가지로 pydiflumetofen을 단독으로 반선택배지에 사용하는 것은 한계가 있었다.

이와 같이, 한가지 약제만을 사용할 경우에 발생하는 균사생장 저해 스펙트럼의 한계를 극복하기 위하여 작용기작이 다른 두 약제가 모두 포함된 배지에서 공시 균의 균사생장 저해율을 조사하였다 (Table 2). 탄저병균의 균사생장 저해율은 *C. truncatum*이 가장 낮은 39%부터 *C. scovillei* 53%, *C. fructicola* 64%, *C. gloeosporioides* 68%, *C. fioriniae* 86%, *C. nymphaeae* 96%를 나타냈다. *Fusarium*속 중에는 *F. oxysporum* 96%를 비롯하여 나머지 4종은 100%, 기타 *Phomopsis*와 *Verticillium*속 종도 100%를 나타냈고, *Alternaria alternata*는 96%, *Cladosporium* sp.는 84%의 높은 균사생장 저해율을 나타냈다. 위의 결과로부터 pyribencarb와 pydiflumetofen을 포함하는 PDA 배지에서는 단독 약제처리 배지보다 대부분 균사생장 저해율이 높아지는 경향이 있었다. 특히, 공

시균 대부분 80~100%의 높은 균사생장 저해율을 나타낸 반면에 국내 고추 탄저병균 중 우점종인 *C. scovillei*와 *C. truncatum*은 뚜렷이 낮은 저해율을 나타내어 두 살균제가 첨가된 PDA 배지를 반선택배지로서 이용할 수 있을 것으로 생각된다. *C. scovillei*와 *C. truncatum* 모두에 감염된 고추 포장에서 반선택배지를 사용하면 2종의 탄저병균이 함께 검출될 가능성도 배제할 수 없다. 실제로 국내 고추 포장에서 발생하는 탄저병균은 *C. scovillei*가 70% 이상 우점하고, *C. truncatum*의 검출율은 4% 전후로 매우 낮은 것으로 조사되었기 때문에 (personal communication) 반선택배지를 이용하여 탄저병균을 검출할 경우 *C. scovillei*가 검출될 가능성이 높다. 하지만, 태국, 인도네시아 등 동남아시아에서는 *C. truncatum*이 44%, *C. scovillei*가 35%로 보고되었기 때문에 (Silva et al. 2019), 2종의 탄저병균이 함께 검출될 수도 있을 것이다. 그러나 PDA 배지에서 *C. scovillei*는 연한 오렌지색을 나타내며, 한쪽 끝은 둥글고 다른 한쪽 끝은 다소 날카로운 원통형~근봉형 분생포자를 갖는 반면 *C. truncatum*은 회백색 균총과 낮 모양의 분생포자를 갖는 것으로 보고되었기 때문에 (Oo et al. 2017, 2020) 두 종을 구분하기는 어렵지 않을 것으로 생각된다.

2. 자연 감염된 과실, 줄기 및 토양에서 탄저병균 검출

본 연구에서 개발된 반선택배지를 이용하여 고추포장 내 시료에서 탄저병균을 검출하고 밀도를 조사하기 위하여 고추 3개 포장에서 과실과 줄기 및 토양을 채취하였다. 대조구로 살균제가 포함되지 않은 PDA 배지에서는 부생성 곰팡이가 배양기 전체를 덮어서 탄저병을 분리할 수 없었으나 (Fig. 1A), 반선택배지에서는 부생성 곰팡이의 증식 없이 탄저병균이 검출되었다. 탄저병균의 균총은 연노랑 색이었고 (Fig. 1B), 원통형으로 한쪽 끝이 뾰족한 분생포자 분생포자를 갖고 있으며, ITS, GAPDH, TUB2 등 유전자의 염기서열을 분석한 결과 *C. scovillei*로 동정되었다 (data not shown). 일부 배양기에서는 부생성 곰팡이와 세균이 매우 느리게 증식하는 경우도 있으나 탄저병균을 분리하거나 균총 수의 측정에는 어려움이 없었다. 탄저병균의 밀도는 지역에 상관없이 고추 과실에서 가장 높았고, 줄기에서는 김제의 한 포장에서 채집한 시료에서만 검출되었으며, 토양에서는 탄저병균이 검출되지 않았다. 시료의 희석농도에 따른 탄저병균의 검출율을 살펴보면 심하게 감염된 열매에서는 100배와 1,000배 희석이 밀도조사에 유리하였으나,

Table 2. Growth inhibition of fungal isolates on semi-selective agar medium

Fungi	Isolate	Growth inhibition* (%)
<i>Alternaria alternata</i>	SKH18060	94 ± 2.5 b**
<i>Cladosporium</i> sp.	SKH21006	87 ± 3.2 c
<i>Colletotrichum fioriniae</i>	C01005	86 ± 1.1 c
<i>Colletotrichum fructicola</i>	C01098	64 ± 2.6 e
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	C01115	68 ± 1.3 d
<i>Colletotrichum nymphaeae</i>	C01067	96 ± 0.0 b
<i>Colletotrichum scovillei</i>	C01024	53 ± 2.3 f
<i>Colletotrichum truncatum</i>	C01029	39 ± 1.5 g
<i>Fusarium fujikuroi</i>	SKH18135	100 ± 0.0 a
<i>Fusarium graminearum</i>	NC20-868	100 ± 0.0 a
<i>Fusarium oxysporum</i>	SKH18079	96 ± 0.8 b
<i>Fusarium proliferatum</i>	NC18-846	100 ± 0.0 a
<i>Fusarium solani</i>	NC18-690	100 ± 0.0 a
<i>Phomopsis</i> sp.	NC19-727	100 ± 0.0 a
<i>Verticillium</i> sp.	NC20-845	100 ± 0.0 a

*Growth inhibition (%) = (growth of control - growth of treatment) / growth of control × 100

**Values in the labeled with the same letter in each row are not significantly different in Duncan's multiple range test at $p=0.05$.

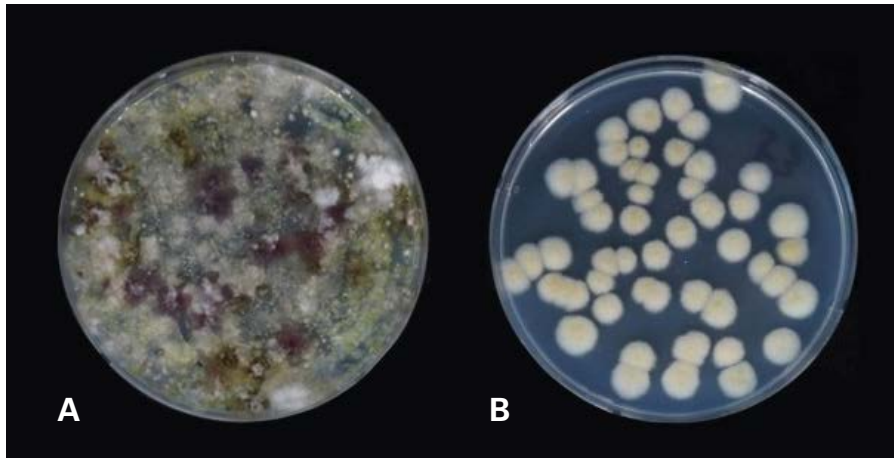


Fig. 1. Detection of *Colletotrichum scovillei* from naturally infested pepper fruit on basal medium PDA (A) and semi-selective agar medium (B) at a dilution of 10^{-3} .

Table 3. Number of *Colletotrichum scovillei* colonies recovered from naturally infected chili plants and soil on semi-selective medium

Treatment	Location	No. of colonies per plate by inoculation concentration		
		10^{-2} *	10^{-3}	10^{-4}
Fruit	Kimje1	332.0 ± 49.96 a**	65.3 ± 13.20 a	3.3 ± 0.58 a
	Kimje2	46.0 ± 8.19 c	2.7 ± 1.53 c	0.7 ± 0.58 c
	Jeongeup	172.0 ± 12.00 b	13.0 ± 4.00 b	1.3 ± 0.58 b
Stem	Kimje1	0.7 ± 1.15 d	0 c	0 d
	Kimje2	0 d	0 c	0 d
	Jeongeup	0 d	0 c	0 d
Soil	Kimje1	0 d	0 c	0 d
	Kimje2	0 d	0 c	0 d
	Jeongeup	0 d	0 c	0 d

*Statistical analysis was performed within the same dilution factor

**Values in the labeled with the same letter in each row are not significantly different in Duncan's multiple range test at $p=0.05$.

탄저병균의 감염 밀도가 낮은 줄기에서는 100배 희석에서 탄저병균을 검출할 수 있었다(Table 3). 그러나 반선택배지에서 *C. scovillei* 균총의 크기가 커지는 경우 병원균의 양적 조사에 어려움이 있을 수 있기 때문에 대상 시료에 따라서 희석농도를 적절히 조절하거나 *C. acutatum*의 균사생육을 크게 억제하는 것으로 알려진 carbendazim, diethofencarb 및 iprodione을 배지에 첨가하여 해결할 수 있을 것이다(Kang et al. 2005). 반선택배지에 사용된 pyribencarb와 pydiflumetofen은 각각 QOI와 SDHI계 살균제로서 특별한 작용점과 작용기작을 갖고 있어 고추에서 발생할 수 있는 잣빛곰팡이병균인 *Botrytis cinerea* 등 병원균에 대하여 저항

성이 발생하기 쉽다고 알려져 있기 때문에(Kim et al. 2014; Baek and Kim 2021) 반선택배지로서 기능이 무력화될 가능성도 있다. 따라서 저항성을 나타내는 곰팡이가 시료에 존재한다면 두 약제와 작용점 및 작용기작이 다르고 교차저항성을 나타내지 않으면서 *C. scovillei*의 균사생육을 완전히 억제하지 않는 다른 계통의 약제를 사용해 볼 수 있을 것이다. 위와 같은 여러 우려에도 불구하고 이 연구에서 개발된 반선택배지는 국내 고추포장에서 수집된 다수의 미생물이 포함된 시료로부터 *C. scovillei*를 신뢰성 있게 분리하고 검출할 수 있는 유용한 배지라는 것을 확인할 수 있었다.

적 요

고추에서 *Colletotrichum scovillei*를 검출하고 계수하기 위한 반선택배지가 개발되었다. 기본배지로서 Potato-dextrose-agar (PDA)가 사용되었다. 반선택배지의 최종 조성은 부생성곰팡이와 세균을 저해하고, *C. scovillei*의 생장에 양호할 수 있도록 확립되었다. 반선택배지는 pyribencarb와 pydiflumetofen 각각 40 µg mL⁻¹와 세균을 방지하기 위한 streptomycin 100 µg mL⁻¹를 포함한다. 배지의 pH는 85% lactic acid로 4.8로 조절했다. 반선택배지에 배양할 때 *C. scovillei*의 균사생육 저해율은 *Fusarium*속과 다른 부생균보다 뚜렷이 낮았다. 반선택배지에 과실과 줄기조직 현탁액을 평판배양하여 탄저병균이 자연 감염된 식물체로부터 *C. scovillei*가 검출되었고, 신뢰할 수 있고 정량할 수 있었다. 이것은 자연 감염된 고추조직에서 *C. scovillei*의 존재를 검출하기 위한 반선택성배지에 대한 처음 보고이다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 어젠다 과제 (과제번호: PJ01530 002)의 지원에 의한 연구 결과의 일부입니다.

REFERENCES

- Baek D and HT Kim. 2021. Resistance to SDHI fungicide of *Botrytis cinerea* causing gray mold in various crops. Korean J. Pestic. Sci. 25:237-245.
- Damm U, PF Cannon, JHC Woundenberg and PW Crous. 2021. The *Colletotrichum acutatum* species complex. Stud. Mycol. 73:37-113.
- Ekefan EJ, SA Simons, AO Nwankiti and JC Peters 2000. Semi-selective medium for isolation of *Colletotrichum gloeosporioides* from soil. Exp. Agric. 36:313-321.
- Gama AB, LG Cordova, CS Rebello and NA Peres. 2021. Validation of a decision support system for blueberry anthracnose and fungicide sensitivity of *Colletotrichum gloeosporioides* Isolates. Plant Dis. 105:1806-1813.
- Haack SE, KL Ivors, GJ Holmes, H Forster and JE Adaskaveg. 2018. Natamycin, a new biofungicide for managing crown rot of strawberry caused by Qol-resistant *Colletotrichum acutatum*. Plant Dis. 102:1687-1695.
- Jayawardena RS, CS Bhunjun, KD Hyde, E Gentekaki and P Itthayakorn. 2021. *Colletotrichum*: Lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species. Mycosphere 12:519-669.
- Kang BK, JY Min, YS Kim, SW Park, NV Bach and HT Kim. 2005. Semi-selective medium for monitoring *Colletotrichum acutatum* causing pepper anthracnose in the field. Res. Plant Dis. 11:21-27.
- Kim AH, SB Kim, KD Han and HT Kim. 2014. Monitoring for the resistance of strobilurin fungicide against *Botrytis cinerea* causing gray mold disease. Korean J. Pestic. Sci. 18:161-167.
- Manandhar JB, GL Hartman and TC wang. 1995. Semiselective medium for *Colletotrichum gloeosporioides* and occurrence of three *Colletotrichum* spp. on pepper plants. Plant Dis. 79:376-379.
- Mongkolporn O and PWJ Taylor. 2018. Chili anthracnose: *Colletotrichum* taxonomy and pathogenicity. Plant Pathol. 67:1255-1263.
- Oo MM, GT Lim, HA Jang and SK Oh. 2017. Characterization and pathogenicity of new record of anthracnose on various chili varieties caused by *Colletotrichum scovillei* in Korea. Mycobiology 45:184-191.
- Oo MM, MR Kim, DG Kim, TS Kwak and SK Oh. 2021. First report of *Colletotrichum siamense* causing anthracnose of chili pepper fruit in Korea. Plant Dis. 105:1567.
- Oo MM and SK Oh. 2020. First report of anthracnose of chili pepper fruit caused by *Colletotrichum truncatum* in Korea. Plant Dis. 104:564.
- Park KS and CH Kim. 1992. Identification, distribution and etiological characteristics of anthracnose of red pepper in Korea. Korean J. Plant Pathol. 8:61-69.
- RDA. 2020. Handbook to Agricultural Technology 115: Chili pepper. Rural Development Administration. Jeonju, Korea.
- RDA. 2021. Pesticide Safety Information System. Rural Development Administration. Jeonju, Korea. <http://psis.rda.go.kr>.
- Silva DD, JZ Groenewald, PW Crous, PK Ades, A Nasruddin, O Mongkoloporn and PWJ Taylor. 2019. Identification prevalence and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing anthracnose of *Capsicum annum* in Asia. 2019. IMA Fungus 10:8.
- Silva LL, HLA Moreno, HLN Correia, MF Santana and MV Queiroz. 2020. *Colletotrichum*: Species complexes, lifestyle, and peculiarities of some sources of genetic variability. Appl. Microbiol. Biotechnol. 104:1891-1904.
- Takagaki M, S Kataoka, K Kida, I Miura, S Fukumoto and R Tamai. 2010. Disease-controlling effect of a novel fungicide pyribencarb against *Botrytis cinerea*. J. Pestic. Sci. 35:10-14.
- Umetsu N and Y Shirai. 2020. Development of novel pesticides in the 21st century. J. Pestic. Sci. 45:54-74.