

콩 炭疽病菌(*Glomerella glycines*)의 侵入前構造에關한研究

*鄭鳳九

An Investigation of Prepenetration structure by the
soybean anthracnose fungus, *Glomerella glycines*

*B. K. Chung

Summary

In order to find out the effect of contactor to form appressorial structure of *Glomerella glycines*, this experiment was carried out by using several contactors such as cover glass, cellophane, vinyl and oil paper, respectively.

In the case of cover glass placed on a drop of conidial suspension of the fungus which is incubated on water agar for 12 hours, 67.7 percent of appressoria were resulted, whereas no appressorial structure was found in the control.

Vinyl was known best physical contactor and cellophane, cover glass and oil paper were fairly good in that order.

Effects of temperature, time and relative humidity on the formation of appressoria of *G. glycines* were similar to each of optimum growth range of temperature and relative humidity 25°—30°C and 70—100 percent, respectively. In addition, maximum appressorial formation was resulted in the conidial suspension incubated on soybean leaves for 36 hours. No appressorium was found at above 35°C, below R.H. 70 percent and 5 hours incubation.

緒論

最近植物病原菌의 感染經路에 關한 研究는 Host-parasite relationship 을 理解하는데 基礎가 되므로 오래 전부터 研究가 推進되어 왔다. 一般的으로 感染經路는 侵入前, 侵入, 侵入後로 三分되며 다시 侵入前 構造는 胞子의 發芽, 發芽管의 伸張, 끝으로 附着器의 形式으로 細分할 수 있다. 그런데 附着器의 形成機作에 있어 서 Brown (1)은 콜로이드膜은 接觸刺戟으로서 *Botrytis cinerea*의 附着器形成에 도움을 주었다고 하였으며

Dickinson (2)도 *Puccinia* sp.의 附着器形成에 接觸効果를 認定하였다. 한편 Sharp & Smith (8)는 *Puccinia coronata*의 경우 아연이온이 젤라친위에서 附着器形成에 關與되었다고 밝혔으며 또 *Rhizoctonia solani*는 植物 뿌리에서 分泌하는 分泌物이 附着器形成에 影響을 주었다고 Kerr & Flentje (5)가 報告하였다. 그러나 Dodman et al (3)이豫備試驗에서 接觸刺戟 하나만이 附着器形成에 關係된다고 하는 것은 不充分하다고 指摘하였다.

本 試驗은 *Glomerella glycines* Lehman et Wolf의 侵入前 構造와 그 機作을 確認하고자着手하였으며 몇

*農村振興廳 植物環境研究所 病理科

*Dept. of Plant Pathology, Inst. of Plant Environment, Office of Rural Development Suwon, Korea

가지 結果를 얻었기 때문에 이에 報告하는 바이다.

本研究를 수행하는데 積極 助力 하여준 當科 研究員 安正光氏, 指導, 後援하여 주신 李始鍾前科長任과 이原稿를 修正하여 주신 서울 大學校 農科大學 鄭厚燮 教授에게 感謝를 드리는 바이다.

材料 署 方法

純粹分離한 供試菌 *G. glycines*를 감자 果糖 寒天 培地에 25°C에서 7 일간 培養한 後 그 菌을 索菌蒸溜水로 稀釋하여 孢子懸濁液을 만들었다. 그 懸濁液은 피펫트로 Water Agar 위에 방울로 處理한 다음 溫度 25°C 되는 定溫器에 5 時間 8 時間, 12 時間 處理한 後 供試 接觸劑를 덮어 處理別 500 個 分生孢子를 觀察하여 附着器 形成率을 算出하였다. 供試한 接觸劑는 커바그리스 No.2 와 비닐 0.03 mm 를 使用하였다.

콩잎 위에서의 附着器形成調査는 Shipton과 Brown (1962)이 考案한 Whole Leaf Clearing and Staining 法을 使用하였는데 그 順序는 다음과 같다.

分生胞子 懸濁液을 ($50 \times 10^4 / mL$) 콩잎에 Atomizer로
接種後 습실에 놓고 그림 2에 있는바와 같이 5~96時
間까지 6等級의 時間 間隔을 두고 調査하였다. 所定의
處理가 끝난 材料는 Alcoholic Lactophenol Cotton blue
에 數分동안 煮인 것을 식혀 1분간 미지근히 煮이고 다
시 식혀 그대로 그 液에 48時間 浸漬한다. 染色液에
서 꺼낸 供試材料는 飽和 chloral hydrate 용액에 30分
間浸漬하여 葉綠素를 除去한 다음 5%의 글리세린 液
에 埋藏하여 處理當 100視野를 檢鏡하였다. 相對 濕度
는 硫酸으로 R.H 75.6, 82.9, 88.5, 92.9, 100%의 5等
級으로 調節하였다. 供試 콩잎 自體의 萎凋를 防止하기
爲하여 小型 물병에 콩잎가지를 꽂은 후 솜으로 막고
胞子 懸濁液을 接種하였다. 그 接種된 植物은 濕度가
調節된 대시케타 (직경 (15 cm 높이 15 cm)에 넣어 밀
폐한 다음 25°C에서 48時間 定溫器에 넣은 후 꺼내어
檢鏡 調査하였다.

試 驗 結 果

1. 카버글라스의 影響

表 1에서 보는바와 같이 分生胞子懸濁液을 Water agar에 놓고 커바 글라스를 덮은 처리에는 5時間區에 7.7%, 8時間區에서는 16.5%, 12時間區에서 67.7%의 附着器形成率을 보인 反面 커바 그리스를 處理하지 않은 對照區에서는 發芽는 되나 全然 附着器가 形成되지 않았다. 이 結果로 接觸刺戟은 本 病原菌의 附着器形成에 影響함을 確認하였다.

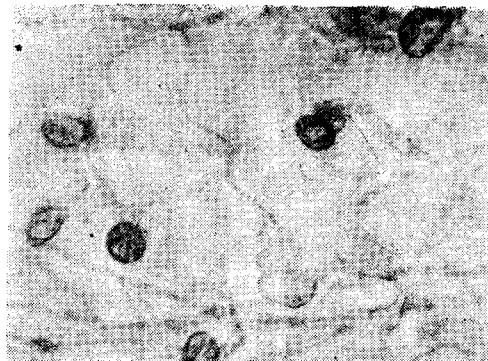


Fig. 1. Appressoria of *Glomerella glycines* formed on soybean leaf.
 A: Conidium
 B: Appressorium

Table 1. Effect of cover glass on the appressorium formation of *G. glycines*

Treatment	% of appressorium formation after hr.		
	5	8	12
Cover glass	7.7	16.5	67.7
Non cover glass	0	0	0

500 conidia were observed for each treatment.

2. 여러가지 接觸劑의 效果

「카바 그라스 셀로판, 비닐 및 유지를 處理하여 對照區와 比較하여 볼 때 비닐이 가장 좋았고 (표 2) 다음과이 셀로판 카바 그라스 및 유지의 順이었다. 그리고 發芽率에 있어서는 各處理區에서 모두 80%以上 發芽

Table 2. Effects of contactors for the appressorium formation of *G. glycines*

Contactors used	Percentage of conidia germinated	Percentage of appressoria formed
Vinyl	92.9	31.5
Cellophane	86.6	18.6
Cover glass	95.3	16.0
Oil paper	94.9	2.0
Non cover glass	93.2	0

* 500 conidia were observed with 6 replications for each treatment.

하영타

3. 溫度 和 時間과의 關係

Fig. 2에서와 같이 本 病原菌의 培養溫度도 25°~30°C에서 가장 많은 附着器가 形成되었다. 15°~20°C

에서는 67 개의 附着器形成을 보였으나 35°C에서는 35 개의 附着器가 形成되었다. 處理時間에 따른 附着器形成은 5 時間 處理에는 거의 形成을 볼 수 없었고 8 時

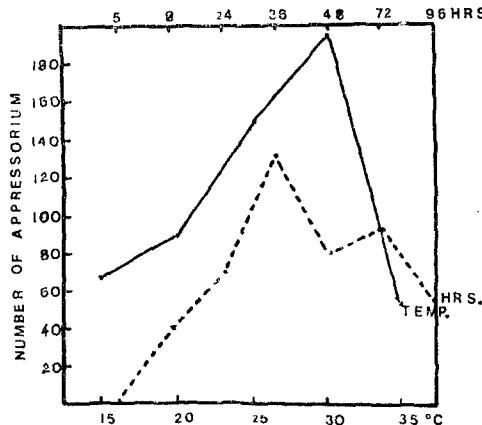


Fig. 2. Effects of temperature and time for the appressorium formation of *G. glycines* in cubated on soybean leaves.

間 處理區에서는 40 개, 24 時間に에는 70 개, 36 時間に에는 136 개로서 最高이었고 48 時間後에는 附着器數가 顯著히 줄어들었다. 이 成績은 顯微鏡視野(240×) 10을 10 反覆하여 얻어진 것이다.

4. 相對濕度의 影響

表 3에서와 같이 75.6%以下에서는 거의 附着器를 觀察할 수 없었으며 82.9~88%사이에서 각各 112, 122 개의 附着器가 形成되었고 90~100%사이에서 最高인 266~288 개가 形成되었다. 이 數値는便宜上 顯微鏡

Table 3. Effect of relative humidity on the appressorium formation of *G. glycines* on soybean leaf

Relative humidity %	75.6	82.9	88.5	92.9	100
Number of appressorium formed	12	112	122	266	288

* 10 Microscopic fields (240×) were observed with 10 replications for each treatment

(240×) 100 視野를 50 個 콩잎에서 랜덤으로 擇하여 調査하였다.

考 察

現在까지 植物病原菌의 侵入前構造인 附着器形成機作에 관하여는 두 가지의 서로 다른 刺戟 即 接觸刺戟

과 寄生에서 스며 나오는 物質의 刺戟으로 알고 있다. 일찌기 Brown (1)과 Dickinson 은 附着器形成에 있어서 接觸刺戟 効果를 認定하였으나 Flentje (4)는 *Rhizoctonia solani*의 附着器 形成에는 植物뿌리에서 스며 나오는 分泌物에 依한 刺戟의 結果라고 하였으며 R. *Solani* 菌自身이 쿠치를 分解酵素를 生成한다고 Linskens 와 Haage, ⁶가 報告하였다. Dodman et al (3)도 接觸刺戟하나만이 附着器形成에 關與된다고는 보지 않는다고 附言하였다. 그러나 本試驗에서 카바 그라스 비닐 셀로판, 및 油紙 等 接觸刺戟劑가 附着器 形成에 關與됨이 確認되었다.

그리고 接觸劑의 種類에 따른 附着器形成率의 差異는 아마도 그 接觸劑의 硬度와 그 質에 因因되거나 生覺된다. 溫度 時間 濕度가 附着器形成에 미치는 影響에서 Iida (1951)가 本 病原菌의 好適溫度를 25°C라고 報告한 結果와 附着器形成 好適溫度와 비슷하였다. 그리고 濕度도 같은 傾向이었다. 處理時間에 따른 附着器形成은 36 時間に서 最高를 나타내었고 48 時間後에 附着器數가 顯著히 줄었는데 이는 寄主에 侵入이 始作되고 菌絲가 얹겨 檢鏡이 되지 못한 것으로 思料된다.

以上과 같은 結果로서 本 病原菌의 附着器形成에는 接觸刺戟이 主로 關與된다고 볼 수 있으나 앞으로 더욱 廣範하게 侵入과 侵入後 構造에 關한 研究도 아울러 繼續하여야 할 것이다.

摘要

콩병瘟病菌(*G. glycines*)의 侵入前 附着器의 構造와 그 形成條件를 알기 為하여 몇 가지 接觸劑 카바 그라스, 셀로판, 비닐 그리고 油紙를 使用하여 本 試驗을着手하였다.

*G. glycines*의 附着器形成에는 接觸劑 카바 그라스를 넣어 Water Agar에 處理한 區에는 12 時間만에 67.7 % 附着器가 形成된 反面 對照區에는 全然 形成되지 않았다. 附着器 形成에 있어서 供試한 4 가지 接觸劑의 効果는 비닐이 가장 좋았고 다음이 세로판 카바그라스 및 油紙의 順이었다.

溫度 濕度 時間이 콩잎上에서 *G. glycines*의 附着器形成에 미치는 効果는 本 病原菌의 好適溫度 및 溫度範圍와 같이 25°~30°C, R.H. 75~100%이었다. 그리고 36 時間 處理區에서 가장 많은 附着器가 形成되었으며, 溫度 35°C 以上 濕度 75% 以上, 및 5 時間 處理區에서는 아주 적은 數의 附着器가 形成되었다.

引 用 文 獻

1. Brown, W. 1936. The physiology of host parasite relations. *Botan. Rev.* 2: 236-281.
2. Dickinson, S. 1949. Studies in the physiology of obligate parasitism: II. The behaviour of the germ tubes of certain rusts in contact with various membranes. *Ann. Botany N.S.* 13: 219-236.
3. Dodman, R.L., K.R. Barker, and J.C. Walker 1968. A detailed study of the different modes of penetration by *Rhizoctonia solani*. *Phytopath.* 58: 1271-76.
4. Flentje, N.T. 1959. The physiology of penetration and inflection. In C.S. Holton et al. (Eds.) *Plant Pathology, Problems and Progress (1908-1958)*. Univ. of Wisconsin Press, Madison, pp. 76-87.
5. Kerr, A., and N.T. Flentje 1957. Host inflection in *Pellicularia filamentosa* controlled by chemical stimuli. *Nature* 179: 204-205.
6. Linskens, H.F., and P.Haage 1963. Cutinase-Nachweis in Phytopathogenen pilzen. *Phytopathol. Z.* 48: 306-311.
7. 飯田格 1951. 大豆炭疽病에 關한 研究 逸見武雄先生還暦記念論文集(植物病害研究, 第4集) 169-173.
8. 倉田浩 1960. ダイズの 線状菌に 關する研究 農業技術研究報告 C, 12卷.
9. Sharp, E.L., and F.G. Smith 1952. The influence of pH and Zinc on vesicle formation in *Puccinia coronata avenae* Corda. *Phytopath.* 42: 581-582.
10. Shipton, W.A. and J.F. Brown 1962. A whole leaf clearing and staining technique to demonstrate host-pathogen relationships of wheats stem rust. *Phytopath.* 52: 1313-1315.