

# 사과점무늬낙엽병균(*Alternaria mali*)이 생성하는 寄主特異的 毒素와 그의 生物活性<sup>1</sup>

劉 勝 憲 · 沈 亨 權 · 朴 鍾 聲

YU, SEUNG-HUN, HYEONG-KWON SHIM AND JONG-SEONG PARK: Production of Host-specific Toxin by *Alternaria mali* and its Biological Activity.

*Korean J. Plant Prot.* 26(3) : 171~178 (1987)

**ABSTRACT** Pathogenic isolates of *Alternaria mali* produced host-specific toxin(AM-toxin) in liquid culture. The toxin was also released by germinating spores of the fungus. The physiological event of apple leaves induced by germinating spores was an increased loss of electrolytes from susceptible leaves. This reaction was evident soon after spore inoculation, indicating that the leakage was caused by AM-toxin from germinating spores. Typical symptoms were developed only in susceptible leaves of apple within 48hr after inoculation with pathogenic spores. Similar symptoms occurred on susceptible leaves when non-pathogenic isolates plus AM-toxin were used.

## 緒 論

사과 점무늬낙엽병(斑點落葉病)은 우리나라를 비롯한 세계 각국의 사과 재배 지역에 널리 분포하는 병으로 사과의 잎과 열매에 발생하여 여름철의 早期落葉을 誘發하고 果實의 상품가치를 저하시켜 사과생산에 큰 피해를 주는 병이다.

이 병은 1910년대에 美國에서 처음으로 보고되었고<sup>1,2,7,25)</sup> 1924년 Roberts에 의하여<sup>26)</sup> 이 병의 病原이 *Alternaria mali* Roberts로 命名되었다. 韓國에서는 1928년 中田, 龍元<sup>12)</sup>가 사과로부터 *A. mali*와 형태적으로 類似한 菌을 記載한 것이 최초의 보고이며 그 후 中田<sup>11)</sup>는 그의 著書에서 *A. mali*에 의한 斑點病을 大星病으로 命名하였다. 澤村<sup>28)</sup>는 日本에서 인도, 멜리셔스계의 사과품종에 特異적으로 발생하는 斑點性落葉病의 病斑으로부터 *Alternaria* sp.를 분리하고 이를 America Type Collection으로 부터 分讓 받은 *Alternaria mali* Roberts와 菌學的 성질을 비교하여 이 병의 病原을 *A. mali*로 同定하고 病名을 사과 斑點落葉病으로 提唱하였다. 그 후 日本의 Nishimura<sup>13,14,15)</sup>는 病原菌의 형태적 특

징이 *A. alternata*와 同一하며 단지 病原性的의 差異만 인정되므로 이 병의 病原을 *A. alternata* apple pathotype으로 命名하여야 한다고 주장하고 있다.

1966년 澤村<sup>27)</sup>는 *A. mali*의 培養濾液 중에는 感受性 사과品種에 褐色 壞死 病斑을 형성하고 抵抗性品種에는 毒性이 없는 寄主特異的 毒性物質이 존재함을 최초로 보고하였다. Okuno *et al*<sup>19)</sup>은 *A. mali*의 培養濾液으로부터 寄主特異的 毒素를 單離하였고 그 후 Ueno *et al*<sup>30,31,32)</sup>은 *A. mali*의 培養濾液으로부터 3종류의 寄主特異的 毒素인 AM-toxin I, II, III,를 單離하고 그 化學構造를 보고하였다. Kohomoto *et al*<sup>5)</sup>은 이 병원균은 培養濾液뿐 아니라 孢子發芽液중에도 寄主特異的 毒素를 生成함을 보고하였다.

寄主特異성을 發揮하는 병원균의 代謝毒素가 植物疾病의 特異性 決定因子로서 주목을 받기 시작한 것은 Mechan & Murphy,<sup>10)</sup> Luke & Wheeler<sup>9)</sup> 등에 의한 귀리·마름병균(*Helminthosporium victoriae*)의 毒素(Victorin 또는 HV-toxin)가 보고된 후, Wheeler & Luke<sup>33)</sup>에 의한 病原毒素(Phytotoxin), Pringle & Scheffer<sup>24)</sup>에 의한 寄主特異的 毒素(Host-specific toxin: HST)의 概念이 확립되면서부터이며 그 후 주로 美國과 日本의 研究陣에 의하여 이에 관한 연구

忠南大學校 農科大學 農生物學科(Dept. of Agric. Biology, College of Agriculture, Chungnam National University, Taejon, Korea)

1 本 研究는 韓國科學財團研究費로 遂行된 研究의 一部임.

가 활발히 진행되어 왔다. 지금까지 보고된 寄主特異의毒素(HST)는 모두 14種이며<sup>3,4,29)</sup> 그 중 *Alternaria* spp.에 의한 HST는 7種<sup>4,13,14,15,16,17)</sup> 이 보고되어 있으나 國內에서는 이에 관한 연구가 거의 없는 실정이다.

本 研究는 韓國產 사과·점무늬낙엽병균(*A. mali*)을 供試하여 病原성과 HST生成과의 관계를 조사하고 感染成立에 있어서 HST의 역할과 그 生理活性를 알아보기 위하여 실시하였다.

## 材料 및 方法

### 1. 病原菌의 分離 및 病原性 檢定

忠南 禮山의 忠南農村振興院 果樹試驗地에서 채집한 사과·점무늬낙엽병 병반부위를 濕室處理하여 나타난 *Alternaria*菌을 單孢子分離하였다. 分離菌株는 PDA slant에 옮겨 배양한 후 5°C의 냉장고에 보관하면서 필요한 실험에 供試하였다.

病原性檢定을 위하여 분리균주들을 V-8 juice agar배지에 接種하여 近紫外線光(NUV lamp)이 12시간 간격으로 照射되는 25°C의 항온기에서 10일간 배양한 후 형성된 菌叢으로부터 분생포자를 붓으로 모아 분생포자 懸濁液을 만들었다. 接種에 供試한 사과품종은 후지, 겹보, 모리쓰, 홍월이었으며 이들 供試품종의 어린잎(展葉後 10~15일)을 따서 裏面에 분생포자 懸濁液(孢子濃度: 10<sup>5</sup>/ml)을 고르게 噴霧接種하고 습실처리된 플라스틱상자에 넣어 25°C의 항온실에 두고 1~2일 후에 病徵 發現 與否를 조사하였다.

### 2. 培養濾液 및 孢子發芽液의 調製

供試菌을 250ml의 Richards液이 들어 있는 1,000ml용량의 Roux bottle에 접종하여 25°C의 항온기에서 暗狀態로 15일간 靜置배양하였으며 배양후 菌叢을 제거하고 培養液을 2배의 여과지로 걸러 培養濾液을 얻었다.

한편 孢子發芽液을 얻기 위하여는 孢子懸濁液(孢子濃度: 2.5×10<sup>5</sup>/ml)을 petri dish의 內面에 spoid를 이용하여 한방울씩 떨어뜨리고 飽和濕度를 유지시켜 25°C의 항온기에서 발아시키고 일정시간 간격으로 發芽液을 채취하여 포자발아율을 조사하고 2배의 여과지로 포자를 걸러내어 孢子發芽液을 얻었다.

### 3. 寄主特異의毒素(HST)의 單離

大量培養에 의하여 얻어진 培養濾液을 利用하여 Ueno *et al*<sup>30)</sup>의 방법으로 HST를 單離하였다. 먼저 HCl로 培養濾液의 pH를 6.0으로 조절하고 회전감압농축기로 1/10로 농축하여 ethyl acetate로 抽出하고 抽出液을 다시 감압농축한 다음 갈색의 잔여물을 소량의 methanol을 첨가한 물에 溶解시켜 cyclohexane으로 抽出하였다 cyclohexane分畫을 버리고 水溶分畫을 취하여 benzene으로 抽出하고 다시 水溶分畫을 dichloromethane으로 抽出한 다음 dichloromethane을 증발시키고 silicic acid column chromatograph(chloroform : ethyl acetate-7 : 3~6 : 4 v/v)를 통하여 溶出하고 감압농축하여 活性物質인 AM-toxin을 얻었다.

### 4. 寄主特異의毒素의 植物毒性 調査

病原菌의 培養濾液 및 孢子發芽液중의 HST生成與否와 單離된 HST의 植物毒性은 leaf necrosis bioassay法으로 조사하였다. 즉 供試 사과품종의 어린잎(展葉後 10~15일)을 따서 裏面의 중앙부위에 바늘로 가벼운 상처를 내고 吸濕 스폰지가 깔린 플라스틱 상자에 놓고 상처부위에 培養濾液, 孢子發芽液 및 毒素溶液 등 被檢物溶液을 한방울 떨어뜨린 다음 24시간 후에 잎맥壞死 形成 與否를 조사하였다. HST인 AM-toxin이 함유된 용액을 처리할 경우 感受性品種의 잎에서는 처리 부위 주변에 전형적인 잎맥壞死증상이 나타났고 抵抗性品種의 잎에서는 잎맥壞死증상이 나타나지 않았다.

### 5. 電解質 流出量 調査

供試品種의 잎에 病原菌의 孢子를 접종한 후 電解質 流出量을 Otani *et al*<sup>22)</sup>, Yamamoto *et al*<sup>34)</sup>의 방법을 수정하여 조사하였다. 즉 孢子接種후 잎으로부터 직경 10mm의 disk를 10매씩 일정시간 간격으로 떼어 脫이온수로 씻고 10ml의 脫이온수를 넣은 포리에칠렌 튜브에 넣고 25°C의 항온진탕수조에서 2시간 왕복진탕(100회/분)을 하고 電解質 流出量을 電氣傳導度計(Jenway Ltd. PCM-3, K=1.08)로 측정하였다 각 처리는 5반복으로 하였다.

HST를 처리한 잎의 電解質 流出은 Kohmoto *et al*,<sup>4)</sup> Otani *et al*<sup>21,22)</sup>의 방법을 수정하여 조

사하였다. 供試品種의 잎에서 직경 10mm의 disk를 10매씩 잘라 내어 脫이온수로 희석한 10ml의 毒素液(0.1 $\mu$ g/ml)에 沈漬시킨 다음 vacuum desicator에 넣고 減壓吸收시켰다. 毒素가 잎조직내로 충분히 浸透하도록 하기 위해 減壓을 5분씩 3회 반복하였다. 減壓浸透가 끝난 잎 disk를 脫이온수로 세척하여 脫이온수를 넣은 포리에칠렌 튜브에 넣고 25°C의 항온진탕수조에서 1~4시간 왕복진탕(100회/분)을 하고 電氣傳導度를 측정하였다.

### 結果 및 考察

#### 1. 사과·점무늬낙엽병균의 病原성과 培養濾液 및 HST의 植物毒性

점무늬낙엽병 罹病葉에서 분리한 5개 *Alternaria*菌株의 分生孢子 懸濁液을 4개 供試品種의 사과잎에 噴霧接種한 결과 3菌株만이 점보, 후지, 모리쓰에 병반을 형성하였고 2菌株는 非病原性 菌株로서 병반을 형성하지 않았다. 병반이 형성된 3품종 중에서도 점보에는 많은 병반이 형성되어 高度의 感受性品種임을 나타내었고 후지와 모리쓰에는 소수의 병반을 형성하여 中度感受性品種임을 나타내었으며 홍월은 抵抗性品種이었다(Table 1).

病原성이 강한 菌株(Isolate F-1)의 培養濾液의 植物毒性을 leaf necrosis bioassay法으로 조사하였던 바 感受性品種인 점보에서는 24시간내에 심한 잎맥壞死를 일으켰고 中度感受性品種인 후지, 모리쓰에서는 약한 잎맥壞死를 일으켰으며 抵抗性品種인 홍월에서는 전형적인 잎맥壞死가 나타나지 않았다. 또한 非病原性 菌株의 培養濾液은 어떤 供試品種의 잎에도 植物毒性을 나타내지 않았다(Table 1). 한편 病原性菌株의 培養濾液을 증류수로 희석하면서 植物毒性을 나타내는 最大稀釋濃度를 조사하였던 바 感受性品種인 점보의 잎에서는 2,048배의 희석액에서도 잎맥壞死가 나타났고 中度感受性品種인 모리쓰의 잎에서는 128배 희석액까지만 植物毒性을 나타내었으나 抵抗性品種의 잎에서는 培養濾液 原液에서도 잎맥壞死가 나타나지 않았다. 이상의 실험 결과 韓國產 사과·점무늬낙엽 병균(*Alternaria mali*)은 培養濾液중에 오직 感受性品種에

만 毒性이 있고 抵抗性品種에는 毒性이 없는 HST를 生成하며 非病原性菌株는 이와같은 毒素를 生成하지 않음을 확인할 수 있었다.

病原菌의 培養濾液으로 부터 HST인 AM-toxin을 單離하여 그 植物毒性을 조사한 결과 感受性品種인 점보에서는 單離된 AM-toxin을 10<sup>-5</sup>M로 희석할 경우 심한 잎맥壞死를 일으켰으나 中度感受性品種인 후지, 모리쓰에서는 매우 약한 잎맥壞死가 일어났으며 抵抗性品種인 홍월에서는 어떤 희석농도에서도 잎맥壞死가 일어나지 않았다(Fig. 1).

Kohomoto *et al.*,<sup>5,6)</sup> Okuno *et al.*<sup>19)</sup>은 본 병원균이 생성하는 AM-toxin이 感受性品種인 인도, 델리셔스등에만 毒性이 있고 조나단과 같은 抵抗性品種에는 毒性이 없음을 보고하였는데 본 연구에서도 AM-toxin이 感受性品種에만 特異적으로 毒性을 나타냄을 확인하였다.

#### 2. 感染過程에 있어서 HST의 役割

##### 1) 孢子發芽에 의한 HST의 分泌

病原菌의 孢子發芽液(發芽 24시간후)을 희석해 가면서 그 植物毒性을 最大稀釋濃度로 조사하였다. 供試한 사과品種중에서 病原菌에 感受性인 점보에서는 孢子發芽液을 20배로 희석하여도 잎맥壞死의 植物毒性이 나타났으며 中度感受性品種인 모리쓰에서는 5배 희석농도 까지만 잎맥壞死가 나타났고 抵抗性品種인 홍월에서는 原液에서도 植物毒性이 나타나지 않았다. 病原菌의 孢子發芽液에는 感受性品種에만 毒性을 나타내고 抵抗性品種에는 毒性이 없는 HST(AM-toxin)를 分泌함을 확인할 수 있었다.

한편 病原菌의 孢子發芽中에 있어서 HST의 生成能을 經時的으로 조사한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같다. 孢子的 發芽가 시작된 지 2시간째부터 HST를 分泌함을 알 수 있었으며 8시간이 지나면서부터 分泌량이 급격히 증가하였다. 또한 孢子懸濁液을 사과 잎의 裏面に 噴霧接種하고 孢子發芽率을 經時的으로 조사하였던 바(Fig. 2) 孢子는 接種후 2시간째부터 發芽를 시작하며 4시간 이후 發芽率이 급격히 증가하였고 8시간이 지나면 75% 이상의 發芽率을 나타내었다.

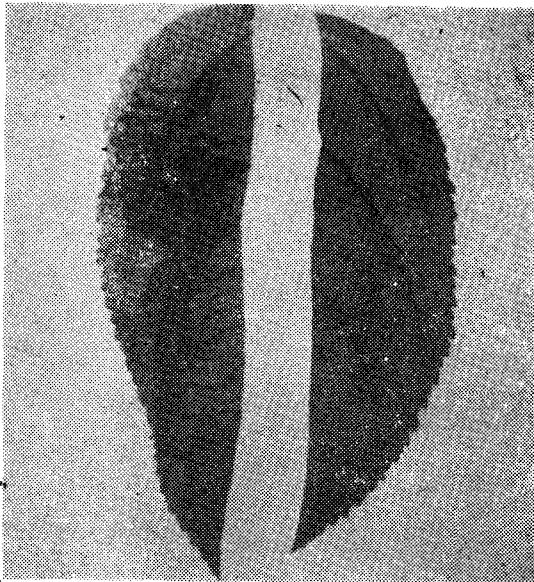
이상의 결과 본 病原菌은 寄主體 침입 이전의

**Table 1.** Comparison of pathogenicity of *Alternaria mali* and phytotoxicity of AM-toxin produced by the fungus on leaves of different cultivars of apple.

Cultivar	Susceptibility to pathogen <sup>a</sup>	Necrosis rating of leaf with <sup>b</sup>	
		Culture filtrate	AM-toxin(10 <sup>-5</sup> M)
Jumbo	S	++	++
Fuji	MS	+	+
Moris	MS	+	+
Hongweol	R	-	-

<sup>a</sup> Leaves were inoculated with spore suspension (10<sup>8</sup> conidia/ml) of *Alternaria mali*. Susceptibility was shown according to the number of induced spots: Many spots, susceptible(S); a few spots, moderately susceptible(MS); and no spots, resistant(R).

<sup>b</sup> Sensitivity of culture filtrate and toxin was indicated as sensitive(++), moderately sensitive(+) and insensitive(-), according to the necrotic area induced.

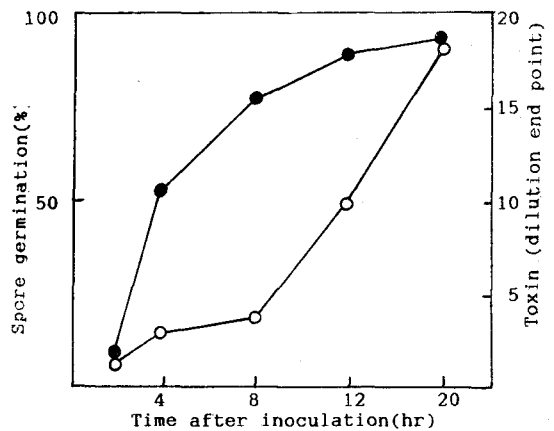


**Fig. 1.** Formation of the veinal necrosis on the leaf of susceptible apple cv. Jumbo (left) by AM-toxin. Right is the leaf of resistant apple cv. Hongweol.

胞子發芽 初期부터 HST를 분비함을 알 수 있었으며 이런 현상은 Kohmoto et al<sup>19)</sup>에 의하여도 보고된 바 있고 배나무·검은무늬병균(*A. kikuchiana*),<sup>20)</sup> 딸기·검은무늬병균(*A. alternata* strawberry pathotype)<sup>34)</sup>에서도 보고된 바 있다.

2) 胞子接種 및 HST處理에 의한 寄主組織으로부터의 電解質 流出

病原菌에 感受性品種인 점보, 中度感受性品種인 모리쓰, 抵抗性品種인 홍월等 3品種의 잎에



**Fig. 2.** Spore germination(—•—) on apple leaves and release of toxin(—○—) from germinating spores of *Alternaria mali* in water on glass slides. Release of toxin was determined by dilution end point of the germination fluids to cause veinal necrosis on young susceptible leaves.

病原菌과 腐生菌의 胞子를 噴霧接種하고 電解質 流出量을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 感受性品種인 점보에서는 接種후 4시간 후에 약간의 電解質 流出을 보였다가 8시간 후부터는 서서히 증가하여 12시간 후부터는 급격히 증가하였다. 모리쓰品種의 경우도 정도는 낮지만 같은 경향을 보였으나 抵抗性品種의 경우와 非病原性菌의 接種時에는 전체 처리구에서 電解質 流出의 증가가 나타나지 않았다.

또한 病原菌이 生成하는 AM-toxin을 供試品種의 잎에 처리한 경우 電解質 流出量은 Fig. 4에서 보는 바와 같다. 感受性品種에서는 毒素處

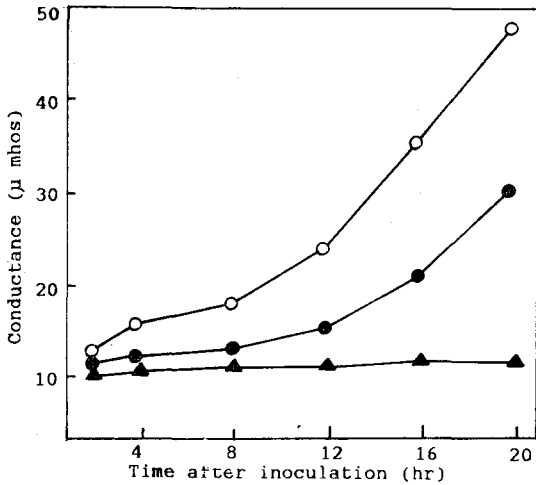


Fig. 3. Loss of electrolytes from apple leaves by spore inoculation. Each conductance from apple leaves inoculated was adjusted by calculating the value of each water control to 10μ mhos, and was shown by the net value of increased electrolyte leakage from initial inoculation till each specific interval. Treatments were as follows: —○—, susceptible tissues inoculated with virulent spores; —●—, moderate susceptible tissues inoculated with virulent spores; —▲—, resistant tissues inoculated with virulent spores, or susceptible and moderate susceptible tissues inoculated with avirulent spores.

理 2시간째까지 電解質 流出量이 급격히 증가하였으며 中度感受性品種에서는 처리후 완만한 電解質 流出의 증가를 보였고 抵抗性品種에서는 電解質 流出의 증가를 거의 나타내지 않았다.

感染過程에 있어서 HST의 역할에 주목하기 시작한 것은 비교적 최근의 일이다. 胞子 發芽에 의한 HST의 分泌가 최초로 확인된 것은 커리·마름병균(*Helminthosporium victoriae*)의 HV-toxin으로서 Nishimura & Scheffer<sup>18)</sup>는 胞子 發芽時에 HV-toxin을 生成함을 보고하였다. 그 후 Yoder & Scheffer<sup>35)</sup>는 *H. victoriae*의 감염 과정에 있어서 寄主의 生理學的 초기 변화는 寄主表皮細胞로 病原菌이 침입하기 전에 感受性組織으로부터 電解質이 多量 流出되는 현상이며 이것은 發芽胞子에서 分泌되는 HST인 HV-toxin의 작용에 의한 것이라고 하였다. 또 그들은 이 HV-toxin의 작용으로 發芽胞子 바로 아래의 寄主細胞가 生理的 障害를 받아 菌의 침입을 가능하게 하고 感染成立을 誘導하는 것이라고 하였

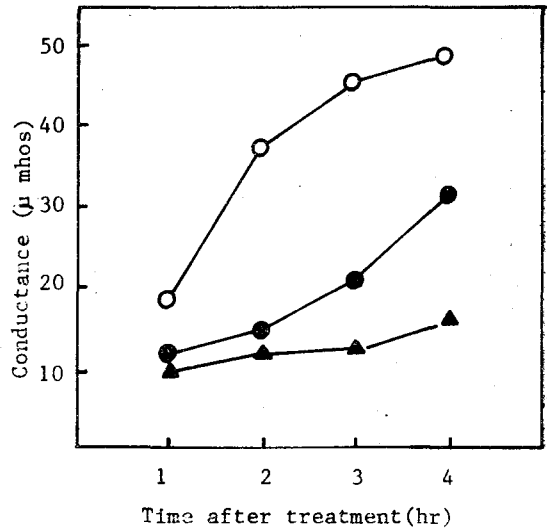


Fig. 4. Loss of electrolytes from apple leaves induced by AM-toxin. Susceptible(—○—), moderate susceptible(—●—) and resistant(—▲—) apple leaves were vacuuminfiltrated with AM-toxin solution. Conductance of each ambient solution was adjusted by calculating the value of each water control to 10μ mhos.

다. 感染成立에 있어서 HST의 역할에 관하여는 AK-toxin과 배의 組織<sup>22)</sup>, AF-toxin과 딸기 組織<sup>9)</sup> 사이에서도 비슷한 결과가 보고된 바 있다. 사과·점무늬낙엽병균이 生成하는 AM-toxin의 寄主에 대한 作用點이 原形質膜과 葉綠素의 라멜라 組織에 있음을<sup>6,23)</sup> 고려할 때 AM-toxin에 의하여 原形質膜이 파괴될 때 多量의 電解質이 流出되는 것으로 생각된다.

3) 非病原性菌의 感染에 미치는 HST의 影響  
非病原性菌인 *A. alternata*, *Curvularia lunata*의 分生胞子懸濁液을 다음과 같이 조제하여 接種에 供試하였다. 즉 非病原性菌의 胞子를 ① AM-toxin溶液(濃度: 0.2μg/ml)으로 懸濁液을 만든 것, ② 病原性菌(Isolate F-1)의 胞子發芽液과 殺菌水를 같은 비율로 혼합한 용액으로 懸濁液을 만든 것, ③ 殺菌水로 懸濁液을 만든 것으로 구분하였다. 供試한 胞子懸濁液(胞子濃度: 10<sup>5</sup>/ml)을 사과품종 점보와 홍월의 어린잎에 분무접종하여 25°C의 濕室에 두고 24시간 후에 胞子發芽率을 조사하였고 48시간 후에 病斑形成 與否를 조사하였다(Table 2).

**Table 2.** Effect of spore germination fluid of *A. mali* and AM-toxin on spore germination of saprophytic *A. alternata*, *Curvularia lunata* and development of lesions on apple leaves.

Treatment <sup>a</sup>	Cultivar	Rate of spore germination(%) <sup>b</sup>	No. of lesions per cm <sup>2</sup> <sup>c</sup>
<i>A. alternata</i> +toxin	Jumbo	85.5	25
<i>A. alternata</i> +s. g. f.	(Susceptible)	82.0	19
<i>A. alternata</i> +d. w.		83.0	0
<i>C. lunata</i> +toxin		90.5	15
<i>C. lunata</i> +s. g. f.		87.5	9
<i>C. lunata</i> +d. w.		88.0	0
<i>A. alternata</i> +toxin	Hongweol	83.0	0
<i>A. alternata</i> +s. g. f.	(Resistant)	86.5	0
<i>A. alternata</i> +d. w.		88.0	0
<i>C. lunata</i> +toxin		87.0	0
<i>C. lunata</i> +s. g. f.		82.5	0
<i>C. lunata</i> +d. w.		89.5	0

<sup>a</sup> Saprophytic spores of *A. alternata* and *C. lunata* were suspended in distilled water (d. w.), spore germination fluid (s. g. f.) of pathogenic *A. mali* and AM-toxin solution (toxin), respectively, and were inoculated on apple leaves by spraying.

<sup>b</sup> After incubation of the inoculated leaves at 25°C for 24hr., rate of spore germination was examined with a light microscope.

<sup>c</sup> After incubation of the inoculated leaves at 25°C for 48hr., brown spots on the leaves were counted.

胞子發芽率은懸濁液의 종류나供試品種의 종류에 따라 큰 차이가 없어 전체리구에서 80% 이상의 높은發芽率을 나타내었다. 그러나 AM-toxin 및病原菌의胞子發芽液이 첨가된 경우에感受性品種(점보)의 앞에서病斑이 형성되었고抵抗性品種(홍월)의 앞에는病斑 형성 없이 즉非病原性菌의胞자에 HST를 첨가하면病原菌을 접종할 경우와 같이感受性品種에서는感染이成立되어病斑을 형성함을 알 수 있었다.

Yoder & Scheffer<sup>35)</sup>는 *Helminthosporium victoriae*의非病原性菌의胞자를 HV-toxin과 같이接種하면感受性귀리잎을感染시킬 수 있음을 보고하였고 Otani et al<sup>21)</sup>은 AK-toxin을 첨가하여非病原性 *Alternaria*를接種하면感受性배組織에서感染이成立됨을 보고하였다. 이러한 결과들은 HST가感染過程에서病原菌의胞자와感受性寄主組織 사이의親和관계成立을 위한決定因子로서作用하는 것임을 나타내며感染成立에 있어서初期에 중요한役割을 하고 있음을 뜻하는 것이다. 즉 AM-toxin의作用은 다른 HST의作用과 마찬가지로菌體의침입에 앞서서感受體에서親和性反應의誘導, 궁극적으로感受性的誘導에 필요한 것임을 나타내는 것이다.

## 摘 要

本 研究은 韓國産 사과·점무늬낙엽병균(*Alternaria mali*)을 供試하여 그들의病原性和寄主特異的毒素生成과의關係를 조사하고感染成立에 있어서毒素의役割과 그生物活性을 알아보기 위하여 실시하였던 바 그結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 사과나무 잎의病斑에서分離한 5個의 *Alternaria*菌株중에서 3菌株만이病原性이 있었고 2菌株는病原性이 없었다.病原性菌株의培養濾液중에는感受性品種에만 잎맥壞死를 일으키고抵抗性品種에는 잎맥壞死를 일으키지 않는寄主特異的毒素을生成함을 알 수 있었으며非病原性菌株는 이런毒素生成能力이 없었다.

2. 病原菌의培養濾液에서單離한寄主特異的毒素인 AM-toxin은 10<sup>-5</sup>M의 낮은稀釋濃度에서感受性品種에는 매우 심한 잎맥壞死를 일으켰고中度感受性品種에는 약한 잎맥壞死를 일으켰으며抵抗性品種에는 전혀植物毒性을 나타내지 않았다.

3. 病原菌은胞子發芽時에도 AM-toxin을生成하였으며胞子發芽液中の AM-toxin 分泌를經時的으로 조사하였던 바胞子發芽 직후인 2시

간째부터 毒素을 放出하였고 그 量은 시간이 경과함에 따라 증가하였다.

4. 病原菌의 孢子懸濁液을 感受性品種의 잎에 噴霧接種하면 感染에 수반하여 接種잎으로부터 電解質의 多量流出現象이 일어났으며 寄主特異의 毒素(AM-toxin)溶液을 吸收시켜도 같은 現象이 일어났다. 그러나 抵抗性品種의 잎에서는 毒素처리나 孢子接種의 어느 경우에는 電解質多量流出現象이 일어나지 않았다.

5. 病原菌의 孢子發芽液이나 AM-toxin溶液으로 非病原性菌의 孢子懸濁液을 만들어 感受性品種의 잎에 噴霧接種하면 病原菌의 孢자를 接種할 경우와 같이 病斑이 형성되었다.

#### 引用文獻

- Brooks, C. and M. Demeritt. 1912. Apple leaf spot. *Phytopathology* 2 : 181~190.
- Crabil, C.H. 1915. The frog-eye leaf spot of apple. *Virginia Agr. Exp. Sta. Bul.* 209.
- Daly, J.M. 1984. The role of recognition in plant disease. *Ann. Rev. Phytopath.* 22 : 273~307.
- Kohmoto, K. 1987. Recent advances in studies of host-specific toxins—with special reference to *Alternaria* toxins—. *Korean J. Plant Pathol.* 3 : 43~53.
- Kohmoto, K., I.D. Khan, T. Taniguchi and S. Nishimura. 1976. Multiple host specific toxins of *Alternaria mali* and their effect on the permeability of host cells. *Physiol. Plant Pathol.* 8 : 141~153.
- Kohmoto, K., S. Nishimura and H. Otani. 1982. Action sites for AM-toxins produced by the apple pathotype of *Alternaria alternata*. In *Plant Infection: The Physiological and Biochemical Basis*. (ed. Y. Asada, W.R. Bushnel, S. Ouchi, C.P. Vance). pp. 253~263. Tokyo/Berlin: Japan Scientific/Springer-Verlag. 362pp.
- Lewis, C.W. 1912. Inoculation experiments with fungi associated with apple leaf spot and canker. *Phytopathology* 2 : 49~62.
- Luke, H.H. and H.E. Wheeler. 1955. Toxin production by *Helminthosporium victoriae*. *Phytopathology* 45 : 453~458.
- Maekawa, N., M. Yamamoto, S. Nishimura, K. Kohmoto, M. Kumata and Y. Watanabe. 1984. Studies on host-specific AF-toxins produced by *Alternaria alternata* strawberry pathotype. (1) Production of host-specific toxins and their biological activities. *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* 50 : 600~609.
- Mechan, F. and H.C. Murphy. 1947. Differential phytotoxicity of metabolic byproducts of *Helminthosporium victoriae*. *Science* 106 : 270~271.
- 中田覽五郎. 1934. 作物病害圖編. pp. 314~315. 東京.
- 中田覽五郎・瀧元清透. 1928. 朝鮮作物病害目錄. 勸業模範場研究報告. 15.
- Nishimura, S. 1980. Host-specific toxin from *Alternaria alternata*, Problems and prospects. *Proc. Japan Academy.* 56. Ser. B : 362~366.
- Nishimura, S. and K. Kohmoto. 1983. Host-specific toxins and chemical structures from *Alternaria* species. *Ann. Rev. Phytopath.* 21 : 87~116.
- Nishimura, S. and K. Kohmoto. 1983. Role of toxin in pathogenesis. In *Toxins and Plant Pathogenesis*. (ed. J.M. Daly, B.J. Deverall). pp. 137~157. Academy Press. 181pp.
- Nishimura, S., K. Kohmoto and H. Otani. 1979. The role of host-specific toxins in saprophytic pathogens. In *Recognition and Specificity in Plant Host-Parasite Interactions*. (ed. J.M. Daly, I. Uritani). pp. 133~146. Tokyo/Baltimore: Japan Scientific/University Park. 355pp.
- Nishimura, S., K. Kohmoto, H. Otani, P. Ramachandran and F. Tamura. 1982.

- Pathological and epidemiological aspects of *Alternaria alternata* infection depending on a host-specific toxin. See Ref. 6. pp. 199~214.
18. Nishimura, S. and R.P. Scheffer. 1965. Interactions between *Helminthosporium victoriae* and oat tissue. *Phytopathology* 55 : 629~634.
  19. Okuno, T., Y. Ishita, S. Nakayama, K. Fujita and K. Sawamura. 1974. Isolation of a host-specific toxin produced by *Alternaria mali* Roberts. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 40 : 375~376.
  20. Otani, H., K. Kohmoto and S. Nishimura. 1974. Nature of specific susceptibility to *Alternaria kikuchiana* in Nijisseiki cultivar among Japanese pear(I). *J. Fac. Agric. Tottori Univ.* 7 : 5~12.
  21. Otani, H., K. Kohmoto, S. Nishimura, T. Nakashima, T. Ueno and H. Fukami. 1985. Biological activities of AK-toxin I and II, host-specific toxins from *Alternaria alternata* Japanese Pear Pathotype. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 51 : 285~293.
  22. Otani, H., S. Nishimura and K. Kohmoto. 1973. Nature of specific susceptibility to *Alternaria kikuchiana* in Nijisseiki cultivar among Japanese pear(II). *J. Fac. Agric. Tottori Univ.* 8 : 14~20.
  23. Park, P., S. Nishimura, K. Kohmoto and H. Otani. 1981. Comparative effect of host-specific toxins from four pathotypes of *Alternaria alternata* on the ultrastructure of host cells. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 47 : 488~500.
  24. Pringle, P.B. and R.P. Scheffer. 1964. Host-specific plant toxins. *Ann. Rev. Phytopath.* 2 : 133~156.
  25. Roberts, J.W. 1914. Experiments with apple leaf-spot fungi. *Jour. Agr. Res.* 2 : 58~65.
  26. Roberts, J.W. 1924. Morphological characters of *Alternaria mali* Roberts. *Jour. Agr. Res.* 27 : 699~708.
  27. 澤村健三. 1966. リンゴの斑點性病害に関する研究. 第6報. 斑點落葉病菌(*Alternaria mali* Rob.) の代謝毒素. *日本園藝試報.* 4 : 43~59.
  28. 澤村健三・柳瀬春夫. 1963. リンゴの斑點性病害に関する研究. 第2報. *Alternaria* sp. による斑點病の病原菌および病名について. *日本園藝試報.* 1 : 77~94.
  29. Scheffer, R.P. 1983. Toxins as chemical determinants of plant disease. See Ref. 15. pp. 1~40.
  30. Ueno, T., T. Nakashima and H. Fukami. 1982. Chemical basis of host recognition by *Alternaria* species. See Ref. 6. pp. 235~251.
  31. Ueno, T., T. Nakashima, Y. Hayashi and H. Fukami. 1975. Structures of AM-toxin I and II, host-specific phytotoxic metabolites produced by *Alternaria mali*. *Agr. Biol. Chem.* 39 : 1115~1122.
  32. Ueno, T., T. Nakashima, Y. Hayashi and H. Fukami. 1975. Isolation and structure of AM-toxin III, a host-specific phytotoxic metabolite produced by *Alternaria mali*. *Agr. Biol. Chem.* 39 : 2081~2082.
  33. Wheeler, H. and H.H. Luke. 1963. Microbial toxins in plant disease. *Ann. Rev. Microbiol.* 17 : 223~242.
  34. Yamamoto, M., S. Nishimura, K. Kohmoto and H. Otani. 1984. Studies on host-specific AF-toxins produced by *Alternaria alternata* strawberry pathotype (II). *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* 50 : 610~619.
  35. Yoder, O.C. and R.P. Scheffer. 1967. Role of toxin in early interactions of *Helminthosporium victoriae* with susceptible and resistant oat tissues. *Phytopathology* 59 : 1954~1959.