

단감나무 둥근갈색무늬병균(*Pestalotiopsis theae*)의 분생포자 발아에 미치는 환경요인

장태현* · 임태헌 · 정봉구¹
(주)대유 식물영양연구소, ¹충북대학교 농생물학과

Environmental Factors Affecting Conidial Germination of *Pestalotiopsis theae* Causing Leaf Blight on Sweet Persimmon Tree

Tae Hyun Chang*, Tae Heon Lim and Bong Koo Chung¹
Research Institute of Plant Nutrient, Dae Yu Co., Inc, Kyongsan 712-820, Korea
¹Department of Agricultural Biology, Chungbuk National University,
Cheongju 360-763, Korea

ABSTRACT: The conidial germination of *Pestalotiopsis theae* was occurred in cells attached with pedicels, the inferior cell of conidium. The cells were swollen like a ball, and then germinated in 4 hours under favorable conditions. Generally, it was considered that fifty percent of whole conidia was germinated in the range 6~12 hours. The optimum temperature and pH for conidial germination of *P. theae* (SP-3) causing leaf blight on sweet persimmon was 25°C and pH 5, respectively. Conidial germination rate was higher than 90% at 100% relative humidity, but never germinated at a relative humidity lower than 88.5%. Conidial germination was highest at the concentration of 1~4×10⁴ conidia/ml. In case of cultural media, the conidial germination was higher than 90% on PDA, PSA, OME and Leonian agar. There was no relationship between light and conidial germination. It was concluded that the key environmental factors affecting conidial germination of the fungus (SP-3) were temperature and moisture.

Key words : *Pestalotiopsis theae*, leaf blight of sweet persimmon, conidial germination, environmental factors.

우리 나라의 단감은 기후 조건으로 재배가 남부 지방에 한정되어 있다. 1990년 이후 소득 수준이 높아지면서 소비가 늘어나고 저온 저장 시설의 확충으로 유통 기간이 길어지면서 단감은 소득이 높은 경제 과수로 부상되고 있다. 단감은 다른 과수에 비하여 재배 및 병해충 방제에 노동력이 적게 드는 과수로 인식되어 1988년이후 재배 면적이 증가하여 95년이래 25, 000 ha에 이른다(5). 감의 주요 병으로는 둥근무늬낙엽병, 흰가루병 및 탄저병 등 11 종이 보고되어 있고(3), 1996년 장 등은 *Pestalotiopsis theae*에 의한 단감나무 둥근갈색무늬병 발생을 처음 보고하고 병원균의 배양적 특성을 보고하였다(1, 2). 木伏과 安部는 일본에서 단감과 차나무에 병을 일으키는 *Pestalotiopsis theae* 분생포자의 발아 적온과 최적 pH를 보고하였고(9, 11), 山内는 습도가 포자 발아에 미치는 영향을 보고하였다(10).

본 연구는 단감나무 둥근갈색무늬병원균인 *Pestalotiopsis theae*의 분생포자 발아에 미치는 환경 요인을 단감과 차나무에 병을 일으키는 *P. theae*(MAFF 752002)와 *P.*

longiseta(MAFF 752001)를 대조균주로하여 본 병원균의 발아 생리에 관한 기초 자료를 얻고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시균주 및 포자 형성. 공시한 균주는 단감나무 병든 잎으로부터 분리 동정한 *P. theae* (SP-3), 단감나무와 차나무의 율반병원균으로 보고된 *P. theae* (MAFF 752002)와 *P. longiseta* (MAFF 752001)을 일본 농림수산성 야채·차 시험장으로부터 분양 받아 실험에 대조균주로 사용하였다. 공시 균을 PDA(potato dextrose agar)에 접종하여 26±1°C의 항온기에서 7일간 배양 후 살균한 백금선으로 균총의 표면을 긁어 20°C의 근자외선(NUV)하에서 포자를 형성시켜 실험에 사용하였다.

포자 발아에 미치는 환경 요인의 영향.

온도: 항온기 온도는 5°C의 간격으로 5°C부터 35°C까지 설정하여 실험하였다. PDA에서 형성된 포자는 potato dextrose broth로 수확 후 살균된 3겹의 거즈로 여과하여 포자 농도를 2~3×10⁴ conidia/ml로 혈구계를 사

*Corresponding author.

용하여 조절하였다. 물 한천배지를 약 15 ml 분주하여 굳힌 일회용 Petri dish의 5지점에 농도가 조절된 포자 현탁액을 접종하였다. 포자 발아는 설정 온도에서 15시간 배양 후 조사하였다. 조사시간 동안의 발아를 억제하기 위하여 2°C 항온기에 보관하며 조사하였다. 3반복으로 반복당 400개의 포자를 조사하였고, 그 중 시료 준비 과정에서 파괴된 것으로 생각되는 포자는 계수에서 제외시켰다.

pH: pH는 potato dextrose broth를 공시하여 1% tartaric acid 와 1N NaOH로 4-10까지 0.5단위로 13 단계로 조절하였다. 포자 수확은 pH 7로 조절된 potato dextrose broth를 이용하였으며 포자 접종 농도는 $2 \sim 3 \times 10^4$ conidia/ml로 조절하였다. 포자 발아 조사는 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 15시간 배양 후 '온도'의 영향 실험과 동일한 방법으로 하였다.

습도: 상대 습도는 H_2SO_4 의 농도를 조절하여 직경 20 cm의 데시케이터에서 유지 시켰다(4). 배양 온도는 25°C 로 하였으며, 그 외의 방법은 '온도'의 영향 실험과 동일한 방법으로 하였다.

빛: 포자 발아에 미치는 빛의 영향은 배양 시간 동안 광 조건 과 암 조건이 20(h) : 0(h), 2(h) : 2(h), 4(h) : 4(h), 10(h) : 10(h) 및 0(h) : 20(h)으로 전환 되도록 조절하였으며 조명은 항온기내의 배양 접시로부터 5

cm 위에서 조사되도록 설치하였다. 포자 발아 조사는 처리 20시간 후에 실시하였으며, 그 외의 방법은 '온도'의 영향 실험과 동일한 방법으로 하였다.

농도: 포자의 농도는 1, 2, 4, 8, 16 및 32×10^4 conidia/ml로 혈구계를 사용하여 조절한 후 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 15시간 배양 후 '온도'의 영향 실험과 동일한 방법으로 하였다(7).

배지: Leonian Agar (LEN : Peptone 0.625g, Glucose 6.25g, Malt extract 6.25g, KH_2PO_4 1.25g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.625g, Agar 20g, Water 1 l), Potato Sucrose Agar (PSA : Potato 200g, Sucrose 20g, Agar 20g, Water 1 l), Potato Dextrose Agar (PDA : Potato 200g, Dextrose 20g, Agar 20g, Water 1 l), Oatmeal Agar (OME : Oatmeal 200g, Agar 20g, Water 1 l), Czapeck Dox Agar (CDA : NaNO_3 2.0g, KH_2PO_4 1.0g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, KCl 0.5g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01g, Sucrose 30g, Agar 20g, Water 1 l) 및 Water Agar(WA : Agar 20g, Water 1 l) 등 6종류를 공시하였으며, 그 외의 방법은 '온도'의 영향 실험과 동일한 방법으로 하였다.

결과 및 고찰

P. theae (SP-3)의 분생포자 발아 과정은 분생포자의

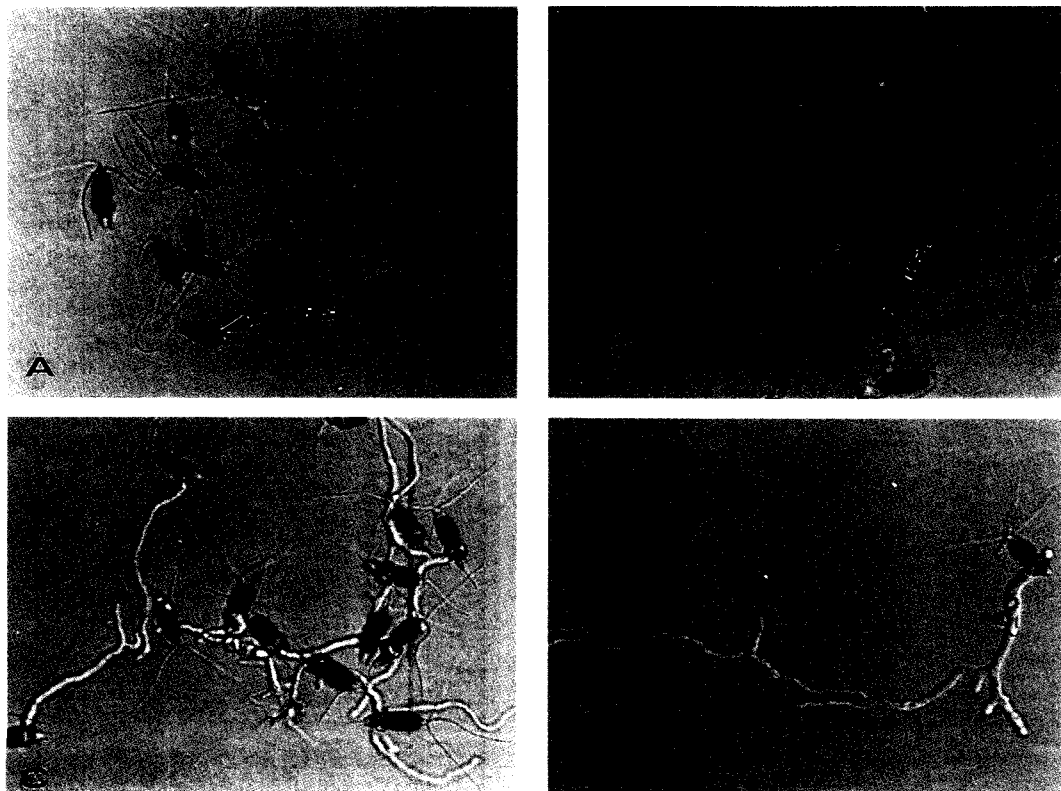


Fig. 1. Conidial germination of *Pestalotiopsis theae* (SP-3) isolated from leaf blight of sweet persimmon tree. A : Conidia of *Pestalotiopsis theae* (SP-3) before germination. B : After 4 hrs, C : After 6 hrs, D : 12 hrs. Gc : Germinating cell, Gt : Germ tube.

유색 세포들 중 가장 아래 세포, 즉 pedicel이 부착된 세포가 약 4시간 배양 후부터 공처럼 팽창하고 점차 발아관이 자라 나왔다(Fig. 1A-D). 물한천배지에서 전체 포자의 50% 이상이 발아하는데 6-12시간이 소요되었다.

온도: *P. theae*(SP-3)의 분생포자 발아는 장 등이 보고한 균사 성장과 포자 형성 적온인 25-30°C 범위 중 25°C에서 발아율이 가장 높았으며(2), 균주별로는 *P. theae*(SP-3) 89.2%, *P. theae*(MAFF 752002) 88.3% 및 *P. longiseta*(MAFF 752001) 90.0%의 발아율을 보였다. 20°C와 30°C에서 *P. theae*(SP-3) 61.0%와 52%, *P. theae*(MAFF 752002) 49.7%와 33.5% 및 *P. longiseta*(MAFF 752001) 52.0%와 33.5%로 25°C에 비하여 현저히 낮게 나타났다. 또한 35°C에서는 모든 공시균주가 전혀 발아하지 못하는 것으로 나타났다(Fig. 2A). *P. theae*(SP-3)의 포자형성은 온도가 상승함에 따라 증가하여 25°C에서 가장 많은 포자를 형성하였으나 25°C 이상으로 상승할 경우 포자 형성이 감소하는 것으로 보고하였다(1). 이상의 결과는 安部가 보고한 *P. theae* 분생포자 발아에 미치는 온도의 영향과 유사한 경향이였다(12). 堀川(1984)은 차나무 윤반병을 일으키는 *P. longiseta*의 포자는 PSA배지를 이용한 실험한 결과 26.5-30.8°C에서 접종 1시간 후부터 pedicel이 붙은 세포가 팽창하기 시작하여 2.5 시간 후부터는 70% 이상 발아함을 보고하였으며, 12.4°C에서는 7시간 배양하여도 발아하지 못함을 보고하였다. 그리고 33°C 이상 고온은 포자의 부속사, 발아관 수 및 형태의 기형을 초래함을 보고하였다.

pH: 분생포자의 발아에 미친 pH의 영향(Fig. 2B)을 보면 *P. theae* (SP-3)와 *P. theae*(MAFF 752002)는 pH가 6 이상으로 증가하면 발아율이 낮아져 pH가 8일 경우 발아율이 각각 34.8% 와 28.8%으로 낮게 나타나 가장 높은 발아율을 보인 pH 5에서의 83.5% 와 73.0%에 비하여 낮아지는 경향을 볼 수 있었다. 그러나 *P. longise-*

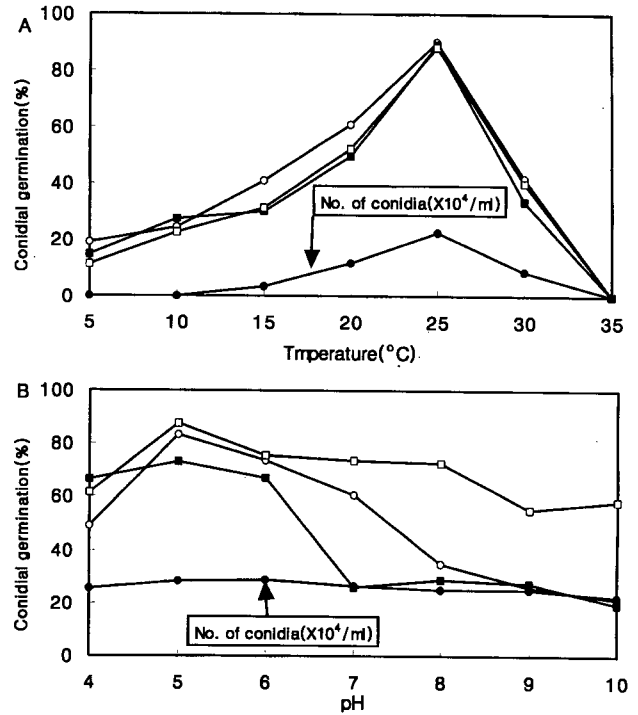


Fig. 2. Effects of different temperature (A) and pH (B) on the conidial germination of *Pestalotiopsis theae* (SP-3) on water agar. Conidial concentration was adjusted to 2×10^4 conidia/ml and conidial germination was observed after incubating for 20 hrs at different temperature(A) and pH (B). ○ : *P. theae* (SP-3), ● : *P. theae* (MAFF 752002), □ : *P. longiseta* (MAFF752001)

ta(MAFF 752001)는 pH 8에서 발아율이 72.5%로 pH 5에서의 83.5% 보다 낮아졌으나 *P. theae*(SP-3)와 *P. theae*(MAFF 752002)보다는 pH의 영향을 적게 받은 것으로 나타났다. 배지의 pH는 *P. theae*(SP-3)의 포자형성에 영향을 주지 못하였다(1). 이상의 결과에 따르면 *P. theae*(SP-3)의 발아 최적 pH는 5였다. 이는 Suss-

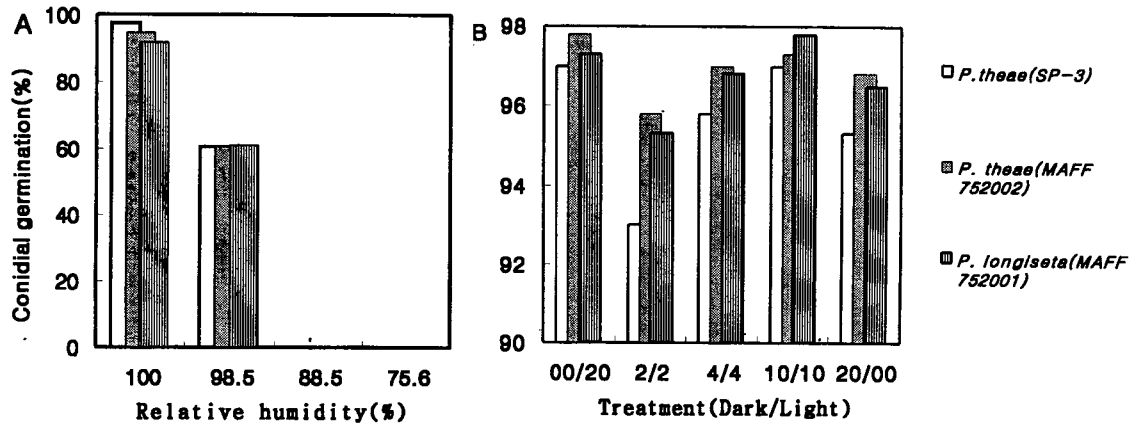


Fig. 3. Effects of different relative humidity (A), and illumination conditions (B) on the conidial germination of *Pestalotiopsis theae* (SP-3) isolated from sweet persimmon tree.

man(8)의 포자 발아 최적 pH는 약산성이라는 보고와 유사하였으나, 木伏이 보고한 *P. theae*의 발아 최적 pH 5.8과 약간의 차이를 보였다(9).

습도: 상대 습도에 따른 분생포자의 발아(Fig. 3A)는 포화 습도에서 *P. theae*(SP-3) 97.5%, *P. theae*(MAFF 752002) 94.5% 및 *P. longiseta*(MAFF 752001) 91.8% 이상의 높은 발아율을 보였다. 그러나 98.5%에서는 모든 공시균주의 발아율이 급격히 낮아져 60~61.0%의 발아율을 보였고 88.5% 이하의 습도에서는 전혀 발아하지 못하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 山內가 보고한 95% 이하의 습도에서의 *P. theae*의 분생포자 발아와 유사한 경향을 보였다(10).

빛: 분생포자 발아에 미치는 광의 영향(Fig. 3B)을 보면, 공시균주 모두 20시간 지속적인 암처리와 각각 10시간 간격으로 암과 광을 교대하는 처리구에서 발아율이 높은 것으로 나타났으나, 가장 낮은 처리구는 2시간 간격으로 암과 광을 처리구로 나타났다. *P. theae*(SP-3)는 지속적 암 처리와 10시간 간격으로 암과 광을 교대하는 처리구에서 97.0%와 97.3%의 높은 발아율을 보였으나, 2시간 간격의 암과 광 처리구에서는 93.0%로 가장 낮은 발아율을 보였다. *P. theae*(MAFF 752002) 또한 지속적 암 처리와 10시간 간격으로 광과 암을 교대하는 처리구에서 97.8%와 97.3%의 높은 발아율을 보였으며, 2시간

간격으로 이루어 지는 처리 역시 95.8%의 발아율을 보였다. *P. longiseta*(MAFF752001)의 경우 10시간 간격의 광과 암 교대 처리구에서 97.8%의 높은 발아율을 보였으나, 2시간 간격의 교대 처리구에서 95.3%의 발아율을 보여 다른 처리구에 비하여 낮게 나타났다. 이상의 결과 모든 공시균이 전처리구에서 90% 이상의 발아율을 보였으나 처리구간 유의성이 없는 것으로 보아 광과 암의 처리 조건이 *P. theae*(SP-3)의 포자 발아에 큰 영향을 주지 못하는 것으로 나타났다.

농도: 분생포자의 접종 농도가 발아에 미치는 영향을 보면, 접종 농도가 $1 \times 10^4 \sim 4 \times 10^4$ conidia/ml까지는 모든 공시균주가 83.3~90.3%의 높은 발아율을 보였으나, 농도가 8×10^4 conidia/ml 이상 증가하면 발아율이 낮아져 32×10^4 conidia/ml일 경우 *P. theae*(SP-3) 62.3%, *P. theae*(MAFF 752002) 60.5% 및 *P. longiseta*(MAFF 752001) 56.0%로 발아율이 크게 낮아졌다(Table 1). Oh와 Chung 그리고李는 *Septoria glycines*와 *Collectotrichum dematium* f. sp. *capsicum*은 포자 농도가 높아짐에 따라 포자 자체가 분비하는 self-inhibitor 물질에 의해 발아율이 낮아진다고 고찰하였다(6, 7). 본 실험에 있어서도 포자의 농도가 높아짐에 따라 입체 공간이 좁아짐과 동시에 포자 자체가 분비하는 self-inhibitor 물질의 영향으로 농도가 높아짐에 따라 발아율이 낮아진 것으로

Table 1. Effects of different conidial concentrations on conidial germination of *Pestalotiopsis theae* (SP-3) causing leaf blight of sweet persimmon

Concentration	Conidial germination (%) ^a		
	<i>P. theae</i> (SP-3)	<i>P. theae</i> (MAFF 752002)	<i>P. longiseta</i> (MAFF 752001)
1×10^4 conidia/ml	83.3±1.11	86.4±1.44	87.5±0.68
2×10^4 conidia/ml	90.3±0.95	90.3±0.25	92.0±0.91
4×10^4 conidia/ml	84.8±1.70	83.8±1.44	87.8±0.85
8×10^4 conidia/ml	79.0±0.41	80.3±0.63	79.5±0.68
16×10^4 conidia/ml	76.3±0.48	76.5±0.65	70.5±1.89
32×10^4 conidia/ml	62.3±1.11	60.5±0.29	56.0±1.29

^aValues are means of 3 replications with their standard deviations.

Table 2. Effect of different media on conidial germination of *Pestalotiopsis theae* (SP-3) isolated from leaf blight of sweet persimmon

Medium ^a	Conidial germination (%) ^b		
	<i>P. theae</i> (SP-3)	<i>P. theae</i> (MAFF 752002)	<i>P. longiseta</i> (MAFF 752001)
LEN	93.2±1.07(7.5 ^c)	90.3±0.37	84.7±1.58
PSA	92.7±0.88(51.7)	90.3±0.41	91.3±0.49
PDA	92.5±0.67(30.0)	91.5±0.43	91.5±0.76
CDA	59.5±0.76(0.0)	52.8±5.16	29.0±3.86
OME	88.2±0.70(31.7)	92.3±1.52	95.7±0.42
WA	30.7±0.49(0.0)	22.3±1.92	27.1±3.76

^aLEN: Lenonian agar, PSA: Potato sucrose agar, PDA: Potato dextrose agar, CDA: Czapeck Dox agar, OME: Oatmeal agar, WA: Water agar.

^bValues are means of 3 replications with their standard deviations.

^cValues are a number of conidia($\times 10^4$ /ml) on different medium(8).

생각되나 이에 대한 더욱 심도 있는 연구가 요구된다.

배지: 배지에 따른 포자 발아에서 *P. theae*(SP-3)는 LEN과 PSA배지에서 93.2%와 92.7%, *P. theae*(MAFF 752002)와 *P. longisetata*(MAFF 752001)는 OME와 PDA 배지에서 각각 92.3%와 91.5% 그리고 95.7%와 91.5%의 높은 발아율을 보였다(Table 2). 이 결과는 균사 생장과 포자 형성에 탄소원으로 dextrose가 좋은 것과 같은 경향이며 모든 공시균주는 영양원이 없는 물한천배지에서 가장 낮은 발아율을 보였으나 균주별로 보면, *P. theae*(SP-3) 30.7%, *P. theae*(MAFF 752002) 22.3% 및 *P. longisetata*(MAFF 752001) 27.1%의 발아율을 보였다. 또한 CDA배지에서도 다른 배지에 비하여 낮은 발아율을 보였다. PSA, OME 및 PDA배지에서 모든 공시균의 포자 형성이 양호하였고(1), 발아도 비슷한 경향을 보였다.

적 요

단감나무 둥근갈색무늬병을 일으키는 *P. theae*(SP-3)의 분생포자 발아 과정은 분생포자의 유색 세포중 가장 아래 세포, 즉 pedicel이 부착된 세포가 공처럼 팽창한 후 발아관이 자라 나왔다. 호적 조건에서 분생포자는 4시간 만에 발아가 시작하고 분생포자의 50% 이상이 발아에 소요되는 시간은 6-12시간이었다. *P. theae*(SP-3)의 분생포자 발아를 위한 최적 온도와 pH는 각각 25°C와 pH 5였다. 상대습도 100%하에서 90% 이상의 발아율을 보였으나, 88.5% 이하에서는 전혀 발아하지 못하였다. 포자의 농도가 1, 2 및 4×10^4 conidia/ml에서 발아율이 높았으며, 배지는 PDA, PSA, OME 및 LEN 배지에서 90% 이상의 발아율을 보였다. 광은 포자 발아에 영향을 미치지 못한 것으로 나타났다. *P. theae*(SP-3)의 분생포

자의 발아에 미치는 환경 요인은 온도와 습도가 가장 큰 영향을 미치는 것으로 조사되었다.

참고문헌

1. 장태현, 임태현, 정봉구, 김병섭, 심형권. 1996. *Pestalotiopsis theae*에 의한 단감나무둥근갈색무늬병(가칭)의 발생. 한국식물병리학회지 12:377-379.
2. 장태현, 임태현, 정봉구, 김병섭. 1997. 단감나무 둥근갈색무늬병원균 *Pestalotiopsis theae*의 배양적 특성. 한국식물병리학회지 13:232-238.
3. 한국식물 병해·충해·잡초명감. 1986. 한국식물보호학회 55-56p.
4. Johnstone, A., and Booth, C. 1983. Plant Pathologist's Pocketbook, 2nd ed. C.M.I., Kew Surrey, England. 439pp.
5. 김성봉. 1992. 단감재배 신기술. 오성출판사. 103pp.
6. 李相範. 1986. 고추 炭疽病菌(*Collectotrichum dematium* f. sp. *capsicum*)의 分生孢子 發芽生理 및 感染組織의 病態解剖學的 觀察에 關한 研究. 충북대학교 대학원 석사학위논문. 40pp.
7. Oh, J. H., and Chung, H. S. 1984. Effect of conidial number and nutrition on the germination of conidia in *Sep-toria glycines*. *Korea J. Plant Prot* 23:61-67
8. Sussman, A. S., and Douthit, H. A. 1976. Activators of fungal spore germination. In Weber. D. J., and Hess. W. M, *The Fungal Spore*. Wiley, New York.
9. 堀川知廣. 1984. 最近多發生しているチャ輪斑病の發生生態と防除. *植物防疫* 38:275-279.
10. 木伏秀夫. 1961. 茶輪斑病菌の生理的特質(講要). *茶技協講要* Oct:17.
11. 山内 誠. 1953. 茶りんはん(輪斑)病について. *茶* 6:42-44.
12. 安部卓雨, 失野弘雄. 1955. 茶の輪斑病について(講要). *茶技協講要* Mar:16.

(Received April 10, 1998)