

고추 갈색점무늬병원균(*Cercospora capsici*)의 배양특성과 다량 포자형성법

임양숙* · 김병수¹

경상북도농업기술원, ¹경북대학교 원예학과

Sporulation of *Cercospora capsici* causing Cercospora leaf spot of Pepper

Yang-Sook Lim* and Byung-Soo Kim¹

Gyeongbuk Agricultural Techology Administration, Daegu 702-320, Korea

¹Department of Horticulture, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

(Received on April 4, 2003)

High sporulation method and cultural characteristics of *Cercospora capsici* causing Cercospora leaf spot of pepper were examined. Optimum temperature for mycelial growth of *Cercospora capsici* was 25°C. The fungus did not grow below 5°C and over 35°C. Optimum pH for mycelial growth was pH 4.0~pH 8.0. Mycelial growth was not influenced by light. *C. capsici* sporulated well on pepper leaf agar (5 g/l). A standard method of sporulation established was as follows. The mycelial plugs were ground with some water in motar with pestle. The mycelial suspension was smeared on the surface of medium and incubated for 2~3 days at 20°C. The culture surface was lightly scraped with a brush after adding 1 ml of sterile water to stimulate sporulation and further incubated for 2~3 days.

Keywords : *Cercospora capsici*, cercospora leaf spot, cultural characteristics, pepper, sporulation

고추는 우리나라에 도입되어 400여년이 지나는 동안 우리나라 사람들의 식생활에 뿌리깊이 정착하면서 양념채소로 빼놓을 수 없는 중요한 식품이 되었다. 점차 재배형의 분화와 비닐하우스의 확대로 노지 및 시설재배의 생산이 늘어남에 따라 병해충 발생양상이 다양화되고 있다. 국내에서 고추에 발생하는 주요 병해로는 역병 등 30여종 정도가 보고되고 있으며(식물병리학회, 1998) 점차 재배환경등의 변화로 과거 큰 문제가 되지 않았던 갈색점무늬병과 같은 새로운 병해의 발생이 급격히 많아지고 있다.

고추 갈색점무늬병은 최근 몇 년 전부터 경북 청도, 경남 밀양과 남지지역 일대 하우스재배에서 “개구리 눈” 모양의 반점이 하우스 전역에 전파되어 조기 낙엽으로 인한 수량감소로 큰 피해를 발생시키기 시작하여, 전북 임실, 전안, 무주, 충북 음성 등 고추 주산지에서 1996~98년, 6월부터 8월에 이병엽율이 0.3~82.5%가 될 정도로 전국적으로 발생이 확산되었다. 일본에서는 1916년 村田에

의해 고추반점병으로 처음 보고되었으며 우리나라에서는 성 등(1984)에 의해 처음 보고된 이후 병의 피해가 심해지고 있어도 고추 갈색점무늬병에 대한 이상의 연구가 이루어지지 않고 있다. 이 논문에서는 고추 갈색점무늬병원균의 배양적특성과 다량 포자형성방법에 대하여 조사한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

병원균의 분리배양. 사용균주는 1997~98년 밀양, 상주, 영월 등지에서 수집한 병반으로부터 단포자 분리한 “밀양용천사(MY)”, “상주사발(SS)”, “영태(YT)”, “영양(YY)”을 사용하였으며, 공시균을 PDA(Potato Dextrose Agar) 배지 혹은 V8 쥬스배지로 25°C 항온기에 배양하여 실험에 사용하였다.

균사생장 요인. PDA 배지에서 미리 배양한 균총으로 부터 cork bore를 사용하여 직경 4 mm 균사절편을 잘라내어 PDA 배지에 치상한 다음, 온도를 5°C부터 40°C까지 5°C 간격으로 설정하여 20일간 배양한 후 균총의 직경을 측정하였다. pH 조절은 1N HCl, NaOH로 하였으며

*Corresponding author
Phone)+82-53-320-0234, Fax)+82-53-321-7730
E-mail)lysook99@naver.com

pH 4.0~8.0까지 5단계로 하여 균총 직경과 건물중을 접종 30일 후 조사하였다.

포자형성 요인. 균주는 단포자 분리한 “MY”, “YY”를 사용하였다. 배지선발은 PDA, V8 쥬스배지, 당근잎배지(CLA, 당근잎분말 2.8 g, Agar 20 g, 증류수 1 l), 고추잎배지(PLA, 고추잎분말 12.5 g, Agar 20 g, 증류수 1 l)를 조사하였고 선발된 고추잎배지의 적정한 고추 분말 함량을 알아보기 위하여 푸른잎을 음건시켜 마쇄한 고추잎 분말의 함량을 0~10%으로 하여 Water Agar(Agar 20 g, 증류수 1 l)에 첨가하였다. 6일간 배양하는 동안 각 시기별로 배지에 살균수 1 ml을 가하여 살균된 면봉으로 표면을 긁어 자극하여 포자형성을 시켰다. 각 일회용 페트리 접시에 살균수 10 ml을 넣어 면봉으로 포자를 털어 내어 셋은 다음 100 µl를 마이크로피펫으로 취하여 슬라이드글라스에 옮겨 광학현미경 100배 시야당 포자수를 조사하였다.

결과 및 고찰

균사생장 요인. 고추 갈색점무늬병 병원균 *Cercospora capsici*의 균사생장에 미치는 온도의 영향은 Fig. 1과 같이 발육온도는 20~30°C였고, 최적온도는 25°C였으며 5°C

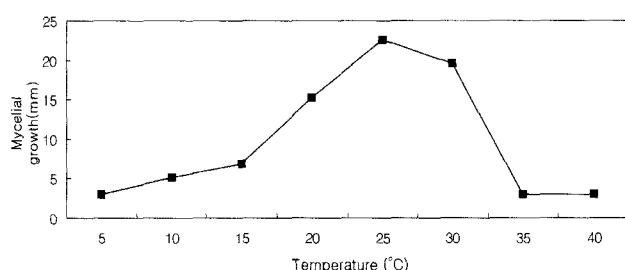


Fig. 1. Effect of temperature on mycelial growth of *Cercospora capsici*.

Table 1. Effect of pH on mycelial growth of *Cercospora capsici* causing leaf spot on pepper

pH	Diameter of mycelia on solid media (mm)		Dry weight of mycelia on liquid media (mg)	
	YT ^a	SS	YT	SS
4	68.8 a ^y	46.5 c	353.5 a	316.0 b
5	60.0 b	57.9 ab	420.5 a	368.0 ab
6	59.5 bc	59.7 a	419.5 a	401.0 a
7	56.5 cd	54.2 b	445.8 a	370.0 ab
8	55.4 d	54.5 b	460.5 a	351.3 ab

^aIsolates.

^bMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 2. Sporulation of *Cercospora capsici* on different media at 20°C for 6 days

Medium	No. of spores on isolates	
	YY 1 ^a	YY 2
PDA	13.4 b ^y	17.0 b
V8	61.3 b	61.0 ab
CLA	143.3 a	193.4 a
PLA	40.1 b	13.4 b

^aIsolates.

^bMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

이하와 35°C 이상에서는 균사생장이 되지 않았다. Kawagoe (1989, 1990)은 피만의 *C. capsici*가 배지 종류에 관계없이 25°C 전후에서 균사 생장이 가장 양호하였다고 보고한 것과 일치하였다. pH에 따른 균사생장은 고형, 액체배지 모두 pH 4.0~8.0 범위에서 생장이 가능하였으며, 균주 간에 다소 차이를 나타내었다(Table 1). 강 등(1996)은 *C. kaki*의 경우도 pH 4.0에서 균사생장이 가장 좋았지만, pH 4.0~8.0 모두 균사생장이 양호하다고 보고하였다. 그러므로 *C. capsici*도 *C. kaki*의 경우처럼 pH에 크게 영향을 받지 않는 병원균으로 생각되었다.

포자형성 요인. *C. capsici* 병원균은 포자형성이 어려운 종으로 알려져 있어 여러 가지 방법을 이용하여 포자형성 실험을 실시하였다. 적정배지 선발을 위해 PDA, V8 주스배지, 당근잎배지, 고추잎배지를 실험한 결과 Table 2와 같다. 균주에 따라 포자 형성에는 다소 차이가 있었으나 포자가 가장 잘 형성되는 배지는 당근잎배지와 고추잎배지로 다량의 포자가 형성되었다(Fig. 2). Kilpatrick과 Johnson(1953, 1956)은 *C. kikuchii*와 *C. capsici*는 steamed carrot leaf - decoction agar에서만 포자가 형성되어 고압으로 살균된 당근잎배지에서는 포자가 형성되지 않는다고 하였다. 그러나 본 시험에서는 carrot leaf-decoction agar를 사용하지 않고 당근 잎분말을 첨가하여 고압멸균한 경우에도 포자형성이 가능하였다.

고추잎배지에서 고추잎 분말의 함량을 적절하게 조정하여 가장 많은 량의 포자를 형성시키기 위해 실험한 결과, 고추 잎 분말이 첨가되지 않은 한천배지(WA)는 포자형성이 아주 적었고 반면에 0.5%(5 g/l)에서 가장 많은 포자가 형성되었으며(Fig. 3) 농도가 높아질 수록 포자형성 정도는 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 농도가 높아짐에 따라 포자형태의 기형화 현상이 많아졌다. *C. kaki*도 농도가 높아질수록 포자형성이 감소되며 기형화된 포자가 많이 형성된다고 하였다(강 등, 1997).

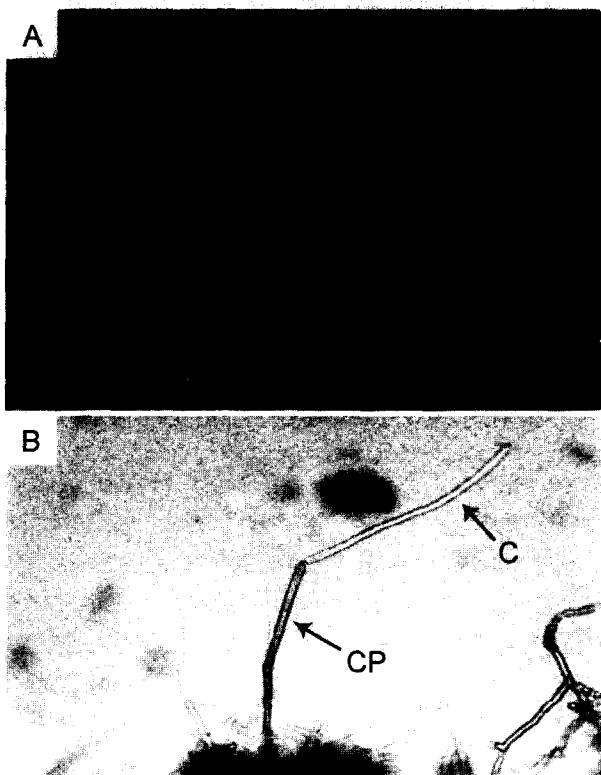


Fig. 2. Conidia produced on the PLA (Pepper Leaf Agar) after incubation at 20°C for 5 days. (A) owe all view, (B) conidium (C) attached on conidiophore (CP).

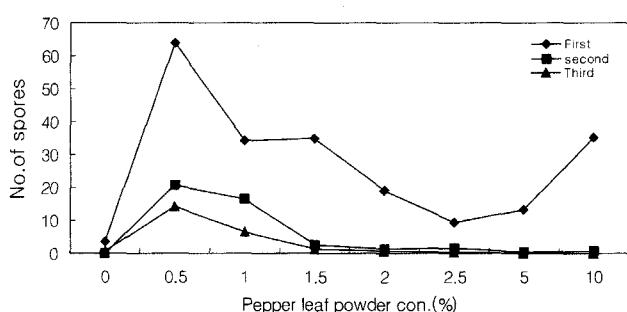


Fig. 3. Yield of *Cercospora capsici* conidia according to the concentration of pepper leaf powder added in water agar.

배양기간에 따른 포자형성 정도는 Table 3과 같다. 배지에 도말한 후 5일, 6일 연속 배양하는 경우 보다는 마쇄한 균사현탁액을 도포하여 3일정도 배양한 후에 살균수를 1ml 첨가하여 살균된 면봉으로 배지 표면을 긁어 자극을 준 후 2, 3일 정도 배양을 했을 때 포자형성이 좋았다. Kilpatrick와 Johnson(1953)은 포자형성이 용이한 *Cercospora* 균에 대해 당근전즙배지에 도말한 후 3~5일 후면 포자가 형성된다고 하였고, 김과 이(1980)는 *Cercospora*

Table 3. Sporulation of *Cercospora capsici* as influenced by surface stimulation during incubation period

Incubation methods	No. of conidia	
	PLA	V8
Continus culture for 6 days	18.4 c ^y	4.5 b
Continus culture for 5 days	32.8 bc	2.3 b
1 day \Rightarrow 4 days ^z	31.4 bc	5.7 b
1 days \Rightarrow 5 days	55.2 ab	2.6 b
2 days \Rightarrow 3 days	77.1 a	39.1 a
2 days \Rightarrow 4 days	48.6 b	15.7 b
3 days \Rightarrow 2 days	45.7 b	9.4 b
3 days \Rightarrow 3 days	47.7 b	10.4 b

^z1 ml of sterile water was added in the culture plates and surface of medium was lightly scraped to stimulate sporulation.

^yMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

균사의 소편을 이식하여 25°C에서 14일간 배양할 경우는 소량의 포자를 형성하였으나 배지표면에 1~2 ml의 살균수를 넣어 균총의 표면을 가볍게 긁어 자극을 준 후 수분을 제거한 다음 다시 배양했을 때 비교적 많은 양의 포자가 형성되었다고 하였다. 본 실험에서도 살균수를 1 ml를 넣어 표면 자극을 주었지만 수분을 제거하지 않아도 다량의 포자를 형성할 수 있었다.

요약

고추 갈색점무늬병(*Cercospor capsici*) 병원균의 균사특성과 포자형성 방법 조사하였다. *C. capsici* 병원균의 균사생장 적온은 25°C이였고 5°C 이하와 35°C 이상에서는 균사생장이 일어나지 않았다. pH 4.0~pH 8.0의 넓은 범위에서 균사생장에 차이가 없었고 일장도 균사생장에는 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 분생포자 다량 형성시키기는 배지로는 0.5% 고추잎배지가 가장 좋았으며 배지 상에서 포자를 다량으로 형성시키는 방법은 고추잎배지에 균사현탁액을 도말 한 후 2, 3일간 20°C에서 배양한 후 1 ml/접시 살균수를 첨가하여 배지표면을 긁어 자극을 준 후 2, 3일정도 배양을 하면 포자형성이 양호하였다.

참고문헌

- 강수웅, 권진혁, 김희규. 1997. 단감 모무늬나엽병균 *Cercospora kaki*의 분생포자 다량형성배지. 한식병지 13(1): 69-71.
강수웅, 권진혁, 조동진, 김희규. 1995. 감모무늬나엽병 발생환경과 방제시험. 경남농업진흥원 농사시험연구보고서 pp.599-607.

- 村田壽太郎. 1916. 蕃子の病害と其防除法. 日本園藝學雑誌 28: 5-9.
- 川越仁. 1990. ピマン斑點病の生態と防除. 今月の農業 1: 38-42.
- 川越仁. 1998. ハウス栽培ピマン斑點病の発生と温・湿度と關係. 日植病報 64(2): 137-138.
- 川越仁, 三浦猛夫, 日高透. 1985. ピマン斑點病の発生生態と防除: 1. 分生胞子の発生と菌そうの發育. 九病蟲研會報 31: 43-44.
- 川越仁, 三浦猛夫, 日高透. 1989. ピマン斑點病の生態と防除. 植物防疫 43(2): 68-72.
- Kilpatrick, R. A. and Johnson, H. W. 1953. Purple stain of legume seed caused by *Cercospora* isolates. *Phytopathology* 43: 477.
- Kilpatrick, R. A. and Johnson, H. W. 1956. Sporulation of *Cercospora* species on carrot leaf decoction agar. *Phytopathology* 46: 180-181.
- 김창호, 이현규. 1980. *Pinus strobus* 잎에 발생하는 *Cercospora* 균의 배지조성에 관한 연구. 동국대농림과학논문집 pp.121-128.
- 한국식물병리학회. 1998. 한국식물병목록. 한국식물병리학회 436pp.
- 성재모, 조의규, 조동진, 강수옹. 1984. 고추의 미기록 병인 *Cercospora capsici*에 의한 고추 반점병. 한국균학회지 12(2): 75-77.