

電氣泳動法을 利用한 고추炭疽病菌의 分類

朴元穆 · 朴相鎬 · 李鎔世 · 高榮嬉 · 趙義奎 *

高麗大學校 農科大學 植物保護學科
*農村振興廳 農業技術研究所 病理科

Differentiation of *Colletotrichum* spp. Causing Anthracnose on *Capsicum annum* L. by Electrophoretic Method

Won Mok Park, Sang Ho Park, Yong Se Lee, Young Hee Ko and Eui Kyoo Cho*

Department of Plant Protection, College of Agriculture, Korea University, Seoul 132, Korea

*Department of Plant Pathology, Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Suwon 170, Korea

要 約

本實驗은 電氣泳動法에 의하여 炭疽病菌의 種分類를 하였다. 고추 炭疽病菌인 *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. dematium* 과 사과 炭疽病菌 *Gloeosporium fructigenum* 은 esterase, leucine aminopeptidase, acid phosphatase 와 glutamic oxaloacetic transaminase 同位酵素에 의해 구분되었다. 특히 *C. gloeosporioides* 의 G와 R-strain 이 酵素 pattern 에 의해 구분되었다. G-strain 은 고추의 모든 열매(푸른고추, 붉은고추)를 침해하나, R-strain 은 단지 붉은고추를 침해하고 푸른고추는 침해하지 않는다.

ABSTRACT

The present researches were carried out to differentiate the species of *Colletotrichum* by electrophoretic method. *C. gloeosporioides*, *C. dematium* and *Gloeosporium fructigenum* could be differentiated by the sozyme patterns of esterase, leucine aminopeptidase, acid phosphatase and glutamic oxaloacetic transaminase. Especially, G-strain and R-strain of *C. gloeosporioides* were differentiated by the enzyme patterns. The G-train damaged all stage fruits (green and red fruits) of *Capsicum annum*. The R-strain could not infect the inripe (green) fruits, but it could damage only ripe (red) fruit of *Capsicum annum*.

Key words: isozyme patterns, *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. dematium*, *Gloeosporium fructigenum*.

緒 論

고추 炭疽病은 우리나라 고추 栽培에 重要한 病으로서 지금까지는 붉은고추에만 發生되는 것으로 알려져 왔으나 最近 中部地方에서 푸른고추에도 發生하여 큰 피해를 주고 있다.

고추 炭疽病菌은 分類學上 完全世代는 *Glomerella cingulata* 로서 不完全世代는 *Gloeosporium piperatum* 또는 *Colletotrichum nigrum* 等の 異名으로 命名되어 왔다. 最近에는 *Colletotrichum gloeosporioides* 로 통합하는 것이 타당한 것으로 報告된 바 있다(17).

Colletotrichum gloeosporioides 菌 中에는 어린 푸른 고추부터 붉은고추에 이르기까지 病原性을 나타내는

菌株(G-strain)와 붉은고추에만 病原性を 나타내는 菌株(R-strain)로 나눌 수 있다. 이 계통간에는 病原性 뿐만 아니라 菌學的인 特性에도 차이가 있음이 報告된 바 있다(9). 또한 完全世代가 밝혀지지 않은 고추 炭疽病菌으로 *Colletotrichum dematium* f. sp. *capsicum* 도 報告된 바 있다(4). 고추이외에 사과에서 炭疽病을 일으키는 病原菌은 *Glomerella cingulata* 로서 不完全世代는 *Gloeosporium fructigenum* 이다.

이러한 炭疽病菌의 分類는 주로 形態의 特性인 胞子の 形態, 剛毛의 有·無, 菌絲의 培地上에서의 모양 및 寄主에 對한 病原性에 의존하여 왔다. 그러나 이와같은 特性만으로는 分類에 혼돈을 가져오므로 病原菌名을 밝히는데 오류를 범하기 쉽고, 또한 菌株間의 遺傳的 類緣關係를 밝히기에는 어려움이 많다. 따라서 形態的인 面뿐만 아니라 生化學的 方法으로 고추 炭疽病菌의 特性을 밝히는 것이 重要하리라 생각된다.

電氣泳動法은 gel 上的 同位酵素 位置와 數等に 의하여 昆蟲(10), 細菌(1) 및 眞菌(8, 12, 14)의 分類와 遺傳研究에서 좋은 結果를 얻고 있다.

本 實驗은 이러한 電氣泳動法을 利用하여 고추 炭疽病菌인 *C. gloeosporioides* 의 G와 R-strain, *C. dematium* 및 사과 炭疽病菌인 *G. fructigenum* 의 炭疽病菌이 同一한 菌인지 혹은 菌株間에 遺傳的으로 어느정도 類緣關係가 있는가를 밝힘으로서 本 病菌의 分類 및 조기진단에 利用하고자 실시하였다.

材料 및 方法

菌株 本 實驗에 使用한 菌株는 農村振興廳 農業技術研究所 病理科에서 분양받았다. 고추 炭疽病菌은 *Colletotrichum gloeosporioides* 의 G-strain (4 個 菌株)과 R-strain (4 個 菌株), *C. dematium* 및 사과 炭疽病菌 *Gloeosporium fructigenum* 였다(표 1).

胞子形態 觀察. 菌株를 감자찬천배지에서 27°C로 2주간 배양後 현미경(1000 X)으로 胞子の 모양을 觀察하였다.

電氣泳動材料抽出. Modified Czapeck dox medium 50 ml을 담은 250 ml 삼각flask에 菌絲전편을 接種한後 26°C 항온기에서 1주일간 진탕배양하였다.

Modified Czapeck dox medium은 NaNO₃ 1.0 g, K₂HPO₄ 1.0 g, MgSO₄·7H₂O 0.5 g, KCl 0.5 g, peptone 5.0 g, yeast-extract 1.5 g, malt-extract

Table 1. Collected areas of pepper anthracnose, *Colletotrichum gloeosporioides* (G and R-strain)^a, *C. dematium* and apple anthracnose, *Gloeosporium fructigenum*.

| Fungus | Isolate No. | Location |
|---------------------------|-------------|-----------|
| <i>C. gloeosporioides</i> | G1 | Suweon |
| | G2 | Suweon |
| | G3 | Jincheon |
| | G4 | Cheonweon |
| | R1 | Suweon |
| | R11 | Suweon |
| | R12 | Chungju |
| <i>C. dematium</i> | C21 | Suweon |
| <i>G. fructigenum</i> | - | Suweon |

^a G-strain: isolates to cause anthracnose both on green and red fruits of pepper.

R-strain: isolates to cause anthracnose only on red fruits of pepper.

10.0 g, CuSO₄·5H₂O 0.005 g, FeSO₄ 0.01 g, Zn-SO₄·7H₂O 0.01 g, 증류수 1000 ml 였다.

배양後 菌絲體를 Buchner funnel 을 이용하여 filter paper (Whatman No. 3)로 거른後 0.1M Tris-HCl buffer (pH 7.5)로 세척하여 수집하였다. 本 菌絲體에 生體重의 2배의 buffer 를 첨가하여 4°C에서 유발을 使用 마쇄하였다. 이것을 냉동고속원심분리기를 이용하여 4°C에서 12,000 g로 30 분간 원심분리後 상등액을 취하여 電氣泳動材料로 使用하였다.

단백질 含量은 Lowry 等의 方法에 의하여 測定하였다(11).

電氣泳動法. Panta phor system (15)을 使用하였다. 10-25% polyacrylamide porosity gradient slab gel 을 使用하였고 continuous buffer system으로 gel buffer 와 tray buffer 는 0.125 M Tris-borate buffer pH 8.9를 使用하였다. slot 當 sample 은 100 μl 을 넣었고 電氣泳動은 10°C에서 400 Volt 로 20時間 하였다.

發色法. 電氣泳動이 끝난後 gel 을 꺼내어 觀察하고자 하는 酵素種類에 따라 다음과 같이 發色하였다.

Protein: gel 을 發色液(800 ml H₂O, 200 ml methanol, 70 ml acetic acid, 60 g Trichloroacetic acid 혼합용액에 1% Coomassie brilliant blue R 250 을 40:1로 섞음)에 침적하여 4時間 경과後 탈색액(H₂O: methanol: acetic acid = 14:6:1)에 24時間 이상 침적하였다(15).

Esterase: gel 을 0.1 M Tris-HCl buffer (pH

7.2)에 30分間 buffer를 2회 잘아 주면서 침적하여 gel의 산도를 조절 後 發色液(α -naphthylacetate 60mg, acetone 1.2 ml, Fast blue RR salt 70 mg, 0.1 M Tris-HCl buffer(pH 7.2) 120 ml)에 35°C에서 침적하여 band가 명확하여 길때까지 약 30分間 發色하였다(5).

Leucine aminopeptidase (LAP): gel을 Tris-malate buffer(pH 5.4)에 15分間 침적하여 gel의 산도를 조절 後 發色液(Tris-malate buffer(pH 5.4) 50 ml, 증류수 50 ml, Fast Black K salt 15mg, L-leucyl- β -naphthylamide HCl 20 mg)에 37°C로 30分間 어두운 곳에서 發色하였다(7).

Acid phosphatase: gel을 0.1 M acetate buffer(pH 5.2)에 약 30分間 침적하여 gel의 산도를 조절 後 發色液(α -naphthyl-phosphate 80 mg, Fast Garnet GBC salt 70 mg, 10% MgCl₂ 용액 6 ml, 0.1 M acetate buffer(pH 5.2) 100 ml)에 gel을 넣어 37°C에서 약 30分間 發色하였다(5).

Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT): gel을 0.1 M Tris-HCl buffer(pH 8.0)로 15분간 침적하여 gel의 산도를 조절 後 發色液(Tr-aspartic acid 0.4 g, fast blue BB salt 0.3 g, α -ketoglutaric acid 0.2 g, pyridoxal-5-phosphate 1.0 mg, Tris-HCl buffer(pH 8.0) 100 ml)에 37°C에서 30分間 發色하였다(5).

類似度指數. esterase와 leucine aminopeptidase의 同位酵素表現型에 의하여 Stout(16)方式으로 類似度指數를 구하였다.

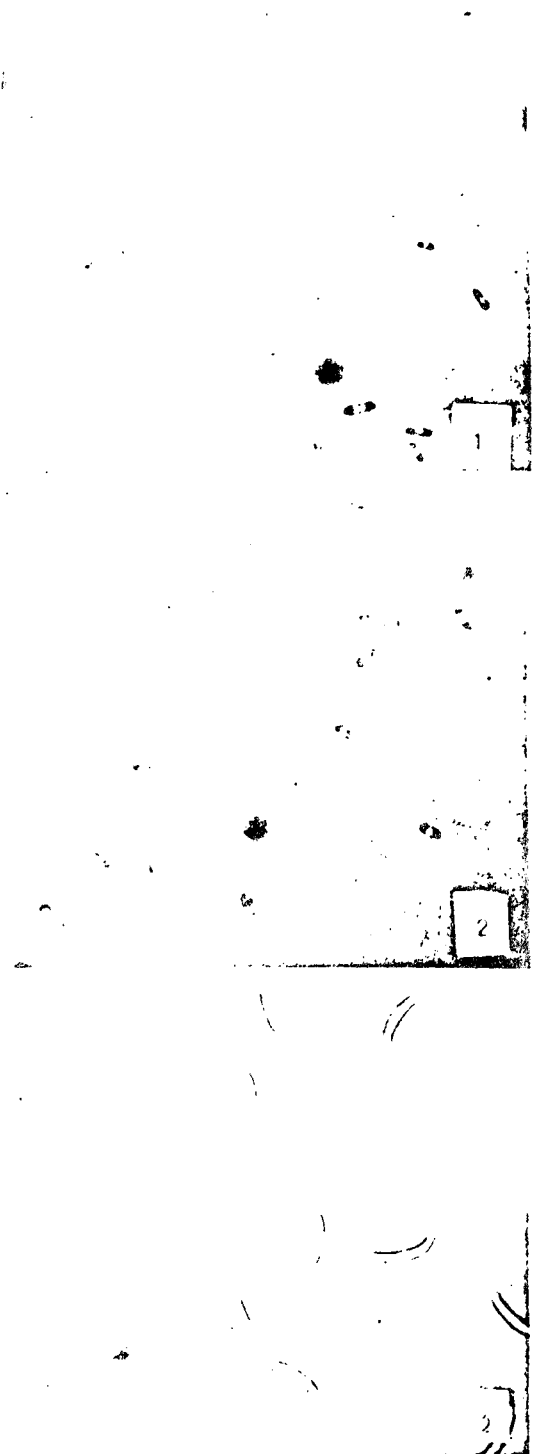
$$\text{類似度指數(\%)} = \frac{\text{同一 band 數}}{\text{總 band 數}} \times 100$$

結 果

胞子形態 觀察. 菌株別 胞子の 形態를 觀察하였던 바 고추 炭疽病菌인 *Colletotrichum gloeosporioides*의 胞子 모양은 매우 비슷한 원통형 혹은 타원형으로 G-strain은 대부분 한쪽 끝이 좁고 모나거나 둥글고 크기가 $14.8 \times 4.0 \mu\text{m}$ 인데 반하여 R-strain은 양쪽 끝이 무더고 둥글며 크기가 $16.2 \times 5.1 \mu\text{m}$ 였다. *C. dematium*은 초생타원형이었고 사과 炭疽病菌인 *G. fructigenum*은 타원형의 胞子形態를 지니고 있었다(그림 1).

Protein pattern. 可溶性 protein pattern은 *C.*

*gloeosporioides*의 G와 R-strain, *G. fructigenum* 및 *C. dematium*은 major band가 서로 달랐으며 또한 G-strain은 1, 4번, R-strain은 3, 10번 band에서 크게 차이가 났다(그림 2).



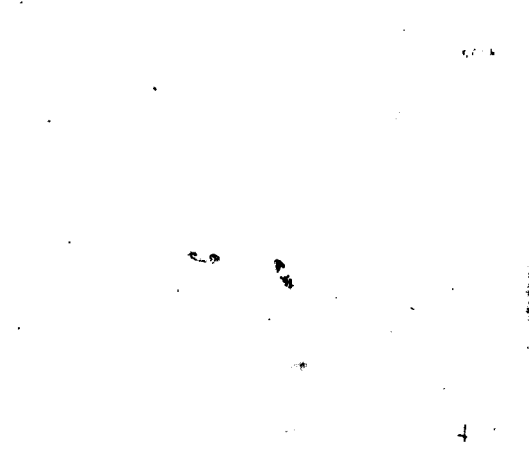


Fig. 1. Microscopy of spores of *Colletotrichum* spp. and *G. fructigenum*.
 1: spore of *C. gloeosporioides* (G-strain),
 2: spore of *C. gloeosporioides* (R-strain),
 3: spore of *C. dematium*,
 4: spore of *G. fructigenum*.

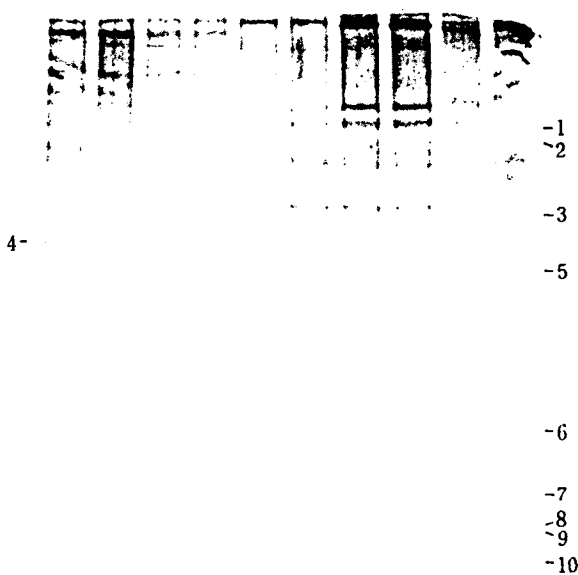


Fig. 2. Buffer soluble protein patterns of *Colletotrichum* spp. on 10-25% polyacrylamide porosity gradient slab gel.
 1,2,3,4: *C. gloeosporioides* G-strain (G1, G2, G3, G4)
 5,6,7,8: *C. gloeosporioides* R-strain (R1, R20, R11, R12)
 9: *G. fructigenum* 10: *C. dematium*.

Esterase 同位酵素 pattern. *C. gloeosporioides* G strain의 특징적인 band는 5개로 2, 5, 8, 9, 12°였으며 R-strain의 공통적인 band는 2, 3, 6, 7, 16였으나 R1, R20과 R10, R11의 菌株間에는 9, 10번 band에서 차이가 있었다. *G. fructigenum*은 3, 7, 11, 16의 4개 band를 지닌 반면 *C. dematium*은 1, 4, 7, 11, 15에서 band가 있었다(그림 3).

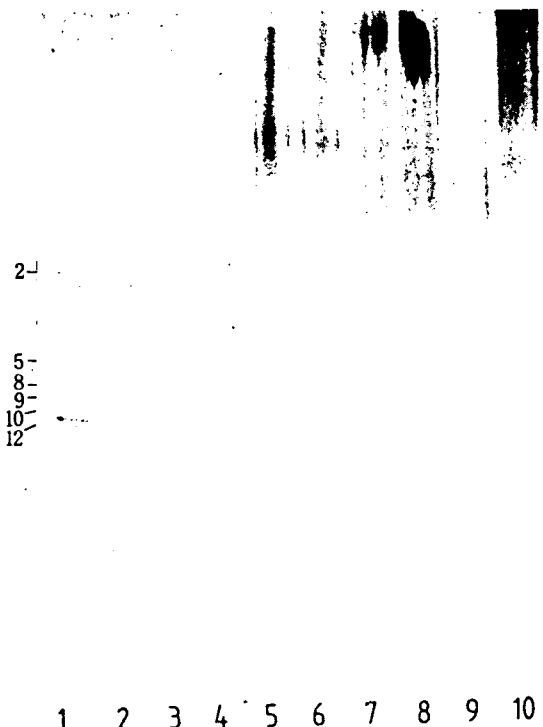


Fig. 3. Isozyme patterns of esterase of *Colletotrichum* spp. on 10-25% polyacrylamide porosity gradient slab gel.
 1,2,3,4: *C. gloeosporioides* G-strain (G1, G2, G3, G4)
 5,6,7,8: *C. gloeosporioides* R-strain (R1, R20, R11, R12)
 9: *G. fructigenum*, 10: *C. dematium*.

Leucine amino peptidase 同位酵素 pattern. G-strain에서는 2, 3, 7의 공통적인 3개 band가 있었으며 R-strain은 1, 3, 5, 6의 4개 band를 나타낸 반면 1, 3번 band에 의하여 R1, R20과 R11, R12 菌株間에 차이가 있었다. *G. fructigenum*은 1, 3, 5, 6 band를 나타내었고 *C. dematium*은 1, 3, 5의 3개 band를 보였었다(그림 4).

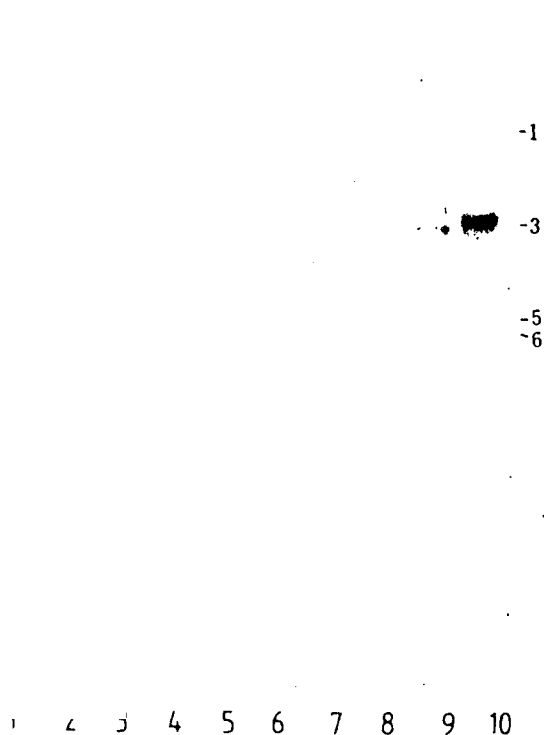


Fig. 4. Isozyme patterns of leucine amino peptidase (LAP) of *Colletotrichum* spp. on 10-25% polyacrylamide porosity gradient slab gel. 1,2,3,4: *C. gloeosporioides* G-strain G1, G2, G3, G4) 5,6,7,8: *C. gloeosporioides* R-strain R1, R20, R11, R12) 9: *G. fructigenum*, 10: *C. dematium*.

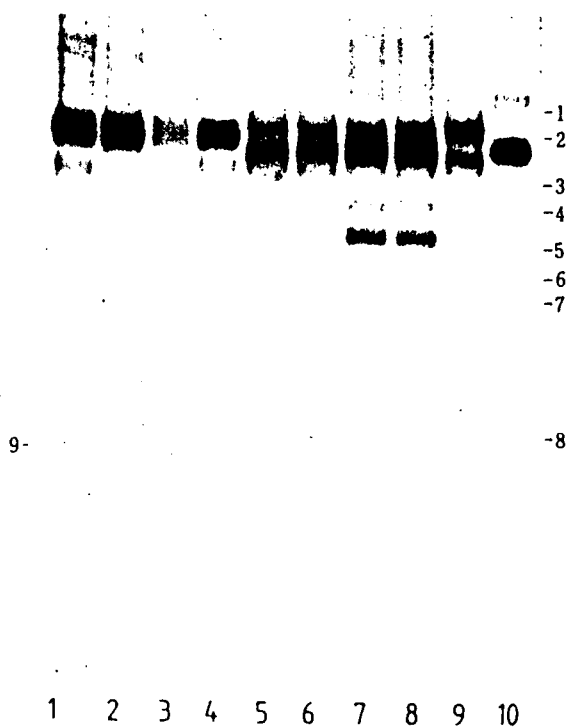


Fig. 5. Isozyme patterns of acid phosphatase of *Colletotrichum* spp. on 10-25% polyacrylamide porosity gradient slab gel. 1,2,3,4: *C. gloeosporioides* G-strain (G1, G2, G3, G4) 5,6,7,8: *C. gloeosporioides* R-strain (R1, R20, R11, R12) 9: *G. fructigenum* 10: *C. dematium*.

Table 2. Coefficient of similarity of esterase and leucine aminopeptidase isozyme bands among isolates of *Colletotrichum* spp.

| | G1 ^a | G2 | G3 | G4 | R1 | R11 | R12 | R20 | C21 | G.f |
|-----|-----------------|------------------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|
| G1 | | 100 ^b | 100 | 100 | 4.5 | 4.7 | 4.7 | 4.5 | 17.6 | 21.4 |
| G2 | | | 100 | 100 | 4.5 | 4.7 | 4.7 | 4.5 | 17.6 | 21.4 |
| G3 | | | | 100 | 4.5 | 4.7 | 4.7 | 4.5 | 17.6 | 21.4 |
| G4 | | | | | 4.5 | 4.7 | 4.7 | 4.5 | 17.6 | 21.4 |
| R1 | | | | | | 78.5 | 78.5 | 100 | 5.0 | 33.3 |
| R11 | | | | | | | 100 | 78.5 | 4.7 | 26.6 |
| R12 | | | | | | | | 78.5 | 4.7 | 26.6 |
| R20 | | | | | | | | | 5.0 | 33.3 |
| C21 | | | | | | | | | | 13.3 |
| G.f | | | | | | | | | | |

^a G : G-strain of *C. gloeosporioides*,
 R : R-strain of *C. gloeosporioides*,
 C : *C. dematium*,
 G.f : *Gloeosporium fructigenum*

^b Coefficient of similarity (%) = $\frac{\text{same bands}}{\text{total bands}} \times 100$

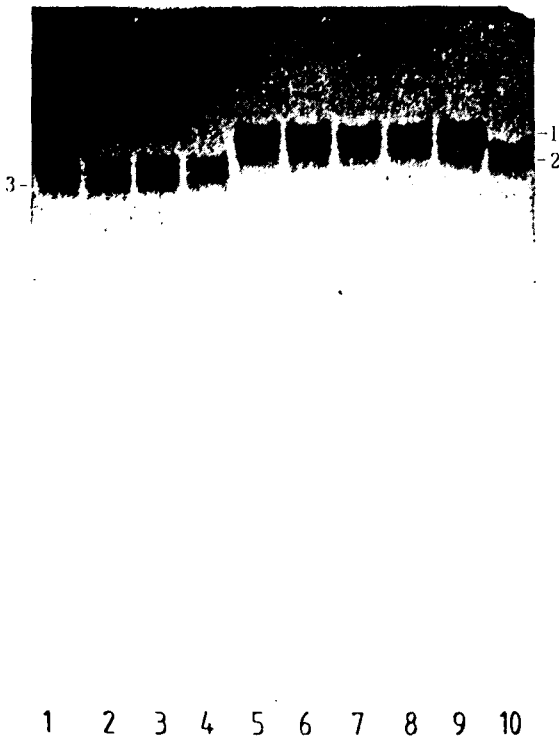


Fig. 6. Isozyme patterns of glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) of *Colletotrichum* spp. on 10-25% polyacrylamide porosity gradient slab gel.

- 1,2,3,4: *C. gloeosporioides* G-strain (G1, G2, G3, G4)
- 5,6,7,8: *C. gloeosporioides* R-strain (R1, R20, R11, R12)
- 9: *G. fructigenum*, 10: *C. dematium*.

Acid phosphatase 同位酵素 pattern. G strain 은 2, 3, 4, 9의 공통적인 band 를 나타내었고 R strain 은 2, 3, 4, 5, 8의 공통적인 band 를 나타내었다. *G. fructigenum* 은 2, 5, 6, 8의 band 를 나타내었고 *C. dematium* 은 1, 3, 6의 band 가 나타났다 (그림 5).

Glutamic oxaloacetic transaminase 同位酵素 pattern. G-strain 은 3번 band 를 공통적으로 나타내었고 R strain 과 *G. fructigenum* 은 1번 band 이고 *C. dematium* 은 2번 band 를 나타내었다 (그림 6).

類似度指數. G strain 의菌株 간에 同位酵素 pattern 의 차이 100%의 類似度指數가 나타내었다. R-strain 菌株間에 R1과 R20 은 100% 이었고 또한 R11과 R12 間에도 100%의 類似度

指數를 나타내었으나 R1, R20과 R11, R20 間에는 78.5%였다. 그러나 G-strain 과 R-strain 間에는 類似度指數가 4.5-4.7%로 매우 낮았다. *C. gloeosporioides* *G. fructigenum* 및 *C. dematium* 間에는 각각 17.6%, 21.4-33.3%의 낮은 類緣關係를 보였다(표 2).

考 察

電氣泳動法은 protein 과 同位酵素는 gel 上의 位置, 有-無, 數 및 質과 量的의 變化에 의하여 菌의 分類에 利用되며 이에 使用되는 酵素는 esterase(8, 12), malate dehydrogenase(2), catalase(3), lorcine aminopeptidase(12), phosphatase(8, 12) 등이 주로 利用되고 있다.

眞菌의 種分類에 있어서는 Neakón 과 Gärber(12)에 의한 *Aspergillus* spp., Hall 등(8)의 *Phytophthora* spp., Sinder 와 Krüner(14)의 *Taphrina* spp. 및 Pelletier 와 Hall(13)에 의한 *Verticillium* 등의 研究되어왔고 病原性과 관련된 race 및 formae specialis 에 관하여는 Bonde 등(2)에 의한 *Peronosclerospora* spp., Burdon 과 Roelfs(3)의 *Puccinia* spp., Gill 과 Powell(6)의 *Phytophthora fragariae* 등의 研究되어왔다. 하지만 病原性과 관련된 菌들은 아직 미진하여 尙 많은 報告가 있다.

本 實驗을 통하여 붉은고추와 붉은고추에서 分離된 菌은 비록 胞子の 形態를 비롯하지만(그림 1) 同位酵素의 protein pattern 으로 보아서 서로 親傳的으로 다른 菌임을 알 수 있었고 *G. fructigenum* 과 *C. dematium* 과도 區별을 알 수 있었다.

Pelletier 등(13)은 *Verticillium* spp. 에서는 다른 種間에 protein 의 點位와 性質이 다른다는 것을 報告한 바 있고 Hall 등(8)은 *Phytophthora* spp. 에서는 protein 과 esterase 同位酵素 pattern 을 조사한 것과 같은 種에서는 같은 protein pattern 을 보였으며 esterase 에서는 같은 種內에서도 다른 形態를 보이는 것도 있었으나 種內보다 種間에 多量의 報告가 있다.

C. gloeosporioides 의 G와 R-strain 의 protein pattern 에서는 각각 band pattern 이 달랐으며 이는 또한 *G. fructigenum* 및 *C. dematium* 과도 다른 band pattern 을 보이는 여러 學者들의 報告한(8, 12, 14) 種間의 차이점을 나타낸 것과 일치한다.

Esterase 와 LAP 同位酵素 pattern 에 시도 G 와 R - strain 間을 구분할 수 있었으며 또한 acid phosphatase 및 GOT pattern 에서도 같은 경향을 나타내었다. 金 等(9)에 의하면 *C. gloeosporioides* 의 G 와 R - strain 은 병원성이 다르다고 報告한 바 있다. esterase 同位酵素 pattern 에서 G - strain 의 3 個의 major band 와 R - strain 의 4 個의 band 는 이들 두 strain 의 차이를 잘 나타내어 준다(그림 3).

Esterase 와 LAP 을 使用한 類縁關係를 살펴보면 G 群은 100 % 및 R 群의 100 - 78.5 % 의 類縁關係를 나타낸 반면, G 와 R - strain 은 4.7 % 의 아주 낮은 관계를 보였다. *C. gloeosporioides* 는 *C. dematium* 과는 4.7 - 17.6 %, *G. fructigenum* 과는 21.4 % 의 類縁關係를 나타내어 이들 種은 胞子の 形態뿐만 아니라 遺傳的으로 상당한 차이가 있음을 알 수 있다. 따라서 類似度指數에 의해서도 *C. gloeosporioides* 種内の 병원성이 다른 G 와 R - strain 이 同位酵素 pattern 에 의해 완전히 구별되었다. 즉 G 와 R - strain 은 4.7 % 의 낮은 類縁關係를 보여 병원성, 培養의 特性 및 同位酵素 pattern 을 고려해 볼 때는 變異라기 보다는 種의 수준에서 생각해 볼 수 있는 다른 菌이 아닌가 思料된다. R - strain 内に 약간의 병원성의 차이가 存在함은 同位酵素 pattern 에 의해서도 구분되었다. GOT 에 의해서는 구분이 되지 않았지만 R1, R20 과 R11, R12 의 두 群은 esterase 와 acid phosphatase 同位酵素 pattern 에서 가장 잘 나타났다. 이들 同位酵素 pattern 은 菌의 分類에 있어서 어느 酵素를 使用하는 것이 가장 적당한가를 잘 나타내 준다. 따라서 菌分類에 있어서는 菌을 잘 특징지을 수 있는 酵素 pattern 을 찾는 것이 先行되어야 한다.

Bonde 等(2)은 옥수수·노균病菌 *Peronosclerospora* spp. 에서 形態의으로 分類하기 어려운 것을 電氣泳動法을 利用하여 分類하였고, Burdon 과 Roelfs(3)는 밀·녹병菌 *Puccinia graminis* 에서 병원성이 다른 菌株間에는 同位酵素 pattern 도 다르다고 하였다. 또한 Lee 等(10)은 밤나무혹벌 *Dryocosmus kuriphilus* 에서 在來種 밤나무에 기생하는 혹벌과 改良種 밤나무에 기생하는 혹벌間에는 同位酵素의 形態에 차이가 남을 報告하였다.

電氣泳動法에 의하여 고추炭疽病菌 *C. gloeosporioides* 의 G 와 R - strain 에 protein 과 同位酵素 pattern 에 차이가 發見되었다는 사실과 R - strain 内の 약간의 병원성을 달리하는 菌株間에도 미세한

同位酵素 pattern 에 차이가 있음은 種의 分類와 더불어 race 및 *fomae specialis* 分類에도 가능성을 제시해 준다. 따라서 菌의 分類에 있어서 病原菌의 精確한 生理·生化學的인 特性과 함께 電氣泳動法을 利用한다면 보다 精確성을 기할 수 있을 것이다.

謝 辭

電氣泳動을 수행하는데 도움을 주신 Prof. Dr. H. Stagemann 教授님(Instytut für Biochemie, Biologische Bundesanstalt, Messeweg 11, D - 3300 Braunschweig, W-Germany)께 感謝 드립니다.

參 考 文 獻

1. BAPTIST, J. N. & KURTZMAN, C. P. (1976). Comparative enzyme patterns in *Cryptococcus laurentii* and its taxonomic varieties. *Mycologia* 68: 1195-1203.
2. BONDE, M. R., PETERSON, G. L., DOWER, W. M. & MAY, B. (1984). Isozyme analysis to differentiate species of *Peronosclerospora* causing downy mildew of maize. *Phytopathology* 74: 1278-1283.
3. BURDON, J. J. & ROELFS, A. P. (1985). Isozyme and virulence variation in asexually reproducing population of *Puccinia graminis* and *P. recondita* on wheat. *Phytopathology* 75: 907-913.
4. CHUNG, B. K. & CHIANG, S. W. (1984). An etiological study on the anthracnose fungus of pepper caused by *Colletotrichum dematium* in Korea. *Korean J. Mycol.* 12: 153-157.
5. GEBRILL, O. (1971). Locating enzyme on gels. *Methods in Enzymology* 22: 578-604, Academic Press, New York and London.
6. GILL, H. S. & POWEL, D. (1968a). Polyacrylamide gel(disc) electrophoresis of physiological races A-1 to A-8 of *Phytophthora fragariae*. *Phytopathology* 58: 722-723.
7. GREEN, R. L., DUDECK, A. E., HANNAH, L. C. & SMITH, R. L. (1981). Isozyme polymorphism in St. Augustinegrass. *Crop Science* 21: 778-782.

8. HALL, R., ZENTMYER, G. A. & ERWIN, D. C. (1969). Approach of taxonomy of *Phytophthora* through acrylamide gel electrophoresis of proteins. *Mycologia* 59: 770-774.
9. 金完圭 · 趙義奎 · 李銀鍾 (1986). 고추炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. 의 2系統 韓植病誌 2(2): 107-113.
10. LEE, K. R., LEE, J. J. & SHIN, B. S. (1985). Studies on the ecotype of the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* YASUMATSU. *Korean J. Ent.* 15: 77-85.
11. LOWRY, O. H., ROSERBOUGH, A. L., FARR, A. L. & RANDALL, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
12. NEALSON, K. H. & GARBER, E. D. (1976). An electrophoretic survey of esterases, phosphatases and leucine aminopeptidases in mycelial extracts of species of *Aspergillus*. *Mycologia* 59: 330-336.
13. PELLETIER, G. & HALL, R. (1971). Relationships among species of *Verticillium*: Protein composition of spores and mycelium. *Can. J. Bot.* 49: 1293-1297.
14. SINDER, R. D. & KRAMER, C. L. (1974). An electrophoretic protein analysis and numerical taxonomic study of the genus *Taphrina*. *Mycologia* 66: 754-772.
15. STEGEMANN, H., BERGEMEISTER, W., FRANCKSEN, H. & KRÖGERRECKENFORT, E. (1985). Gel electrophoresis and Isoelectric focusing. Chapter 3. Standard Electrophoresis (PAGE). *Institut für Biochemie, Biologische Bundesanstalt, Messeweg 11, D-3300 Braunschweig* (West germany)
16. STOUT, D. L. & SHAW, C. R. (1974). Genetic distance among certain species of *Mucor*. *Mycologia* 66: 967-977.
17. 山本和太郎 (1960). 日本産の炭疽病菌の種名と屬名の改變. 植物防疫 14: 49-52.