한국식물보호학회지 제16권 제4호
Kor.J.Pl.Prot. Vol.16, No. 4, p. 211~215(1977)

Didymella bryoniae (Auersw.) Rehm (오이류 덩굴마름병균)의 柄子殼 및 子囊殼形成에 미치는 光線 및 培地의 影響

李 斗 珩*

Effects of Light and Media on Pycnidial Formation of *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm

D. H. Lee*

Abstract

The sporulation of *Didymella bryoniae* were observed under diurnal cycles of light/darkness of near ultraviolet light (NUV) and artificial daylight (ADL) and continous darkness in eight isolates growing on PDA and V-8 juice agar.

Light stimulated pycnidial and perithecial formation of this fungus on potato dextrose agar and V-8 juice agar. Sporulation was poor in darkness, but some isolates were able to produce pycnidia and perithecia in the absence of light. Perithecial formation was much better under artificial daylight(ADL) on V-8 juice agar than those grown under near ultraviolet light(NUV).

In general, cultures grown on V-8 juice agar sporulated better than cultures grown on PDA under three setsof light condition.

Most of the pycnidiospores obtained from each isolates of this fungus grown on PDA were non-septate and microtype, but macrotype of non-septate and uniseptate pycnidiospores were produced on V-8 juice agar. Pycnidiospores produced on V-8 juice agar were similar to those produced on the radicle of naturally infected seeds.

The appearance of perithecia were quite distinctive from pycnidia. The mature perithecia were darker than pycnidia and whitish spore masses formed on the ostiole of perithecia.

緖 言

Didymella bryoniae (Auersw.) Rehm (=*Mycosphaerella cictryllina* (C.O.Sm.) Gross. 혹은 *M. melonis* (Pass.) Chiu & Walker)는 오이類 덩굴마름병(蔓枯病)의 병원균으로서 大部分의 호로과식물에 寄生한다. 또 그에 의한 病徵도 잎에는 斑點, 줄기에는 潰瘍, 또는 萎凋 그리고 열매에는 腐敗現象을 나타내는 등 多樣하며, 種子가 第一次傳染에 重要한 役割을 하는 것으로 알려져 있다[9].

Didymella bryoniae 는 柄胞子의 모양이 多樣하기 때문에 *Ascochyta cucumis* Fauter & Rhom. (=*A. Citrullina* 혹은 (=*A. meolnis* Potebnia), *Phyllosticta citrullina* Chester. 및 *Diplodina citrullina* (Smith) Grossenb. 등[4]으로 알려져 있고 병든 種子나 병든 植物에서의 子囊胞子의 形成이 고르지 않다. 더욱이 *D. bryoniae* 는 培地上에서 系統에 따라 子囊胞子의 形成이 잘 되지 않는다는 報告가 많다[1,3,11].

*서울市立産業大學(The City College of Seoul)

따라서 이 病原菌을 同定하는데는 여러가지로 困難한 點이 많다. 筆者는 호로과植物의 種子 91個 試料를 調査하는 동안 9個 試料에서 *D. bryoniae* 에 의해서 병든 種子를 檢出하였으며, 同定에 必要한 몇가지 實驗을 하였으므로 그 結果를 發表하는 바이다.

材料 및 方法

供試菌株는 *Didymella bryoniae* 로써 한국산 오이종자에서 分離한 3개 균주, 한국산 호박종자에서 分離한 2개균주와 레소토(Lesotho), 프랑스(France) 및 이태리(Italy)産 호박종자에서 各各 分離한 1개 균주등 모두 8個菌株를 供試하였다.

供試培地는 Difco PDA 및 V-8 juice 寒天[10]이며, 살균한 후 푸라스틱 페트리 접시(Hegerplast 産, Denmark)에 15 ml씩 넣고, 응고시킨 다음 Difco PDA에서 자라고 있는 신선한 공시균의 균총선단에서 小量의 菌을 取하여 페트리 접시 중심부에다 接種하여 均一하게 자라도록 하였다.

光源은 晝光色螢光燈(Philips TLF 40W/34 De Luxe) 및 近紫外線燈(Philips black light lamps TL 40W/08)

Table 1. Pycnidial and perithecial formation by eight isolates of *Didymella bryoniae* growing on PDA and V-8 jujce agar at 20°C under three light conditions

Light conditions on.	Isolate	Index[1/] of sporulating structure formation					
		PDA			V-8 juice agar		
		pycnidia	perithecia	proto-perithecia	pycnidia	perithecia	proto-perithecia
NUV,	1	1	1	3	1	2	0
12 h daily	2	1	2	1	1	2	9
	3	3	1	0	3	1	0
	4	3	0	0	4	1	0
	5	4	0	0	4	2	0
	6	4	0	0	4	1	0
	7	4	0	0	4	1	0
	8	4	0	0	4	1	0
ADL,	1	0	0	1	1	3	1
12 h daily	2	0	1	3	1	3	0
	3	2	[illegible]	0	3	2	
	4	2	0	0	2	1	0
	5	4	1	0	3	4	0
	6	4	1	0	3	4	0
	7	4	1	0	3	2	0
	8	4	1	0	3	4	0
Darkness,	1	0	0	0	0	0	0
Continous	2	0	0	0	2	2	0
	3	0	0	0	1	0	0
	4	0	0	0	1	1	0
	5	2	0	0	2	1	0
	6	2	[illegible]	0	2	2	0
	7	3	0	0	1	1	
	8	3	0	0	1	0	0

1/ Sporulation index were estimated under the field of 25 times magnification of stereoscopic microscope(WILD M-5) according to following categories;0=no sporulation, 1=less than 20 sporulating structures, 2=21-70 sporulating structures, 3=71-150 sporulating structures, 4=more than 151 sporulating structures. The number of sporulating structures on colony surfaces was counted *in six random areas of each culture.*

이며, 4個의 晝光色螢光燈에서 60 cm 아래 2800 Lux 되는 곳과 2個의 近紫外線燈에서 41 cm 되는 곳에 各各 페트리 접시를 놓고, 光期와 暗期를 12時間씩 處理하였다. 本實驗에서의 培養溫度는 모두 20±1°C 이다.

本實驗에서는 處理區마다 3반복 하였으며 2回 反覆實驗을 하였다. 柄子殼 및 子囊殼의 形成量은 培養 7日後 完全히 成熟한 것만 計數하였고, 計數方法은 雙眼擴大鏡(Wild M-5)의 25倍 視野에 나타난 胞子果의 形成程度에 따라 다음과 같이 類別하였다. 即 0은 한 個도 形成이 안된 것이고 1은 20個 미만으로 형성된 것이며 2는 21~70個 形成, 3은 71~150個 形成, 4는 151個 以上 形成된 것으로 하였다. 또 培地 表面에 나타난 柄子殼 및 子囊殼의 形成量에 대한 計數는 各 페트리 접시 마다 6個所를 無作爲로 定하여 調査하였다.

結果 및 考察

菌株, 光源 및 培地別로 柄子殼 및 子囊殼의 形成量을 調査한 結果는 表 1과 같다.

菌株別로 柄子殼의 形成을 보면 오이에서 分離한 1號 및 2號菌은 光源 및 培地에 關係없이 他菌株에 比하여 形成量이 낮았으나 子囊殼의 形成은 오히려 많았거나 비슷하였다. 또 原生子囊殼(Protoperithecia)의 形成도 주로 光源의 存在로 PDA 上에서 1號 및 2號菌에서만 形成되었다.

光源別로 보면 繼續 暗黑處理에서 培養한 區는 12時間 照明區에 比하여 柄子殼이나 子囊殼의 形成이 顯著히 낮았다. 勿論 繼續 暗黑處理에서도 菌株나 培地間에는 差異가 있었다. 近紫外線과 晝光色光源 사이에는 柄子殼의 形成量의 差異가 별로 없었으나, 子囊殼의 形成量을 보면 PDA의 경우 1, 2, 3號菌은 近紫外線 光源에 의해서 促進되었고 5, 6, 7, 8號菌등은 晝光色 光源에 의해서 오히려 促進되었다. 그러나 V-8 juice 寒天 培養區에서는 近紫外線 光源보다 晝光色 光源에 依해서 子囊殼의 形成이 현저히 促進되었음을 알 수 있다.

또 培地別로 보면 柄子殼의 경우 形成量의 差異를 크게 인정할 수 없으나, 晝光色光源과 繼續 暗黑處理에서는 菌株에 따라 PDA가 V-8 juice 寒天區 보다 形成量이 많았다. 그러나 柄子殼의 形成과는 달리 V-8 juice 寒天區가 光源, 菌株에 關係없이 子囊殼의 形成量이 현저히 많았음을 알 수 있다.

*Didymella bryoniae*의 胞子 특히 子囊殼과 子囊胞子가 人工培地에서 形成되기 어렵다는 報告가 많다[1,3,11]. 本 實驗結果 V-8 jujce 培地의 境遇에는 差異는 있으나 近紫外線과 晝光色光源 모두가 子囊殼의 形成을 促進하였으며, 繼續 暗黑處理에 있어서도 菌株에 따라서는 促進된 것을 볼수 있었다. 그러나 PDA의 경우 계속 暗黑處理에서는 전혀 子囊殼 및 子囊胞子의 형성이 없었음에 비추어 近紫外線보다는 晝光色光源下에서 比較的 많은 菌株가 形成된 것을 보면 光이 胞子形成을 促進시킴에는 틀림이 없다. Leach[7,8], Curren[5] 그리고 Calpouzos & Lapis[2] 등도 光에 의해서 柄子殼과 子囊殼의 形成이 促進된다고 報告한 바 있다.

Waint[11]는 胞子形成을 促進시키기 위하여 몇가지 다른 培地를 使用하였으나 失敗하고, 이 病原菌의 胞子形成은 遺傳的인 支配를 받는다고 하였으며, Chiu & Walker[3] 등은 Oat-paste 寒天을 使用해서 胞子의 形成을 促進시켰다고 報告하였으나, 柄子殼인지 子囊殼인지 확실치 않다. Curren[5]에 依하면 子囊殼의 形成을 促進시키는 培地는 V-8 juice 寒天뿐이라고 報告한 바 있으며 本實驗의 結果와 一致된다. 따라서 *Didymella bryoniae*의 子囊殼形成에 미치는 영향은 本實驗에서 보여 준바와 같이 菌株에 따라서 다를 뿐만 아니라 光源이나 培地등 培養條件의 支配를 받는다고 생각된다.

병든 種子가 發芽할 때 種皮나 胚軸에 形成된 *Didymella bryoniae*의 柄胞子와 Difco PDA 및 V-8 jujce 寒天上에 形成된 本菌의 柄胞子는 形態的으로 많은 變異가 나타난다. 즉 PDA에 形成되는 柄胞子는 無色 小型單胞子(그림 1)가 대부분이며, V-8 juice 寒天에 형성되는 것은 大型單胞子(그림 2) 外에 隔膜이 하나 있는 胞子(그림 3)를 形成하고 또 菌株(1號菌)에 따라서는 隔膜이 두개 있는 胞子(그림 4)를 形成하므로써 마치 병든 種皮나 胚軸에 形成된 것과 흡사하였다.

*Didymella bryoniae*의 不完全世代는 위에서 論한바와 같이 多形態性이기 때문에 同定에 혼동되기 쉬워 많은 研究者[3,6,11]들에 의해서 論議되기도 하였다. 따라서 種子의 健全檢査時에는 特히 注意를 要하게 된다.

한편 子囊殼은 병든種子의 標本에 따라 잘 形成되는 것도 있었으나 大部分의 標本에서는 形成되지 않았다. 外部 形態的인 特徵은 柄子殼(그림 5)과는 달리 색갈이 더 진한 黑色이며, 乳頭狀 殼孔위에 白色의 胞子塊가 形成(그림 6)되는 특징을 가지고 있어서 쉽게 柄子殼과 區別할 수 있었다. PDA나 V-8 juice 寒天에 形成된 子囊殼과 柄子殼(그림 7)도 병든 種子 위에서와 같이 柄子殼은 엷은 색이고 子囊殼은 暗黑色을 나타내어 區別이 容易하였다.

摘 要

오이류 덩굴마름병균(*Didymella bryoniae*)의 胞子形成에 미치는 培地, 近紫外線光과 晝光色螢光燈 12時間

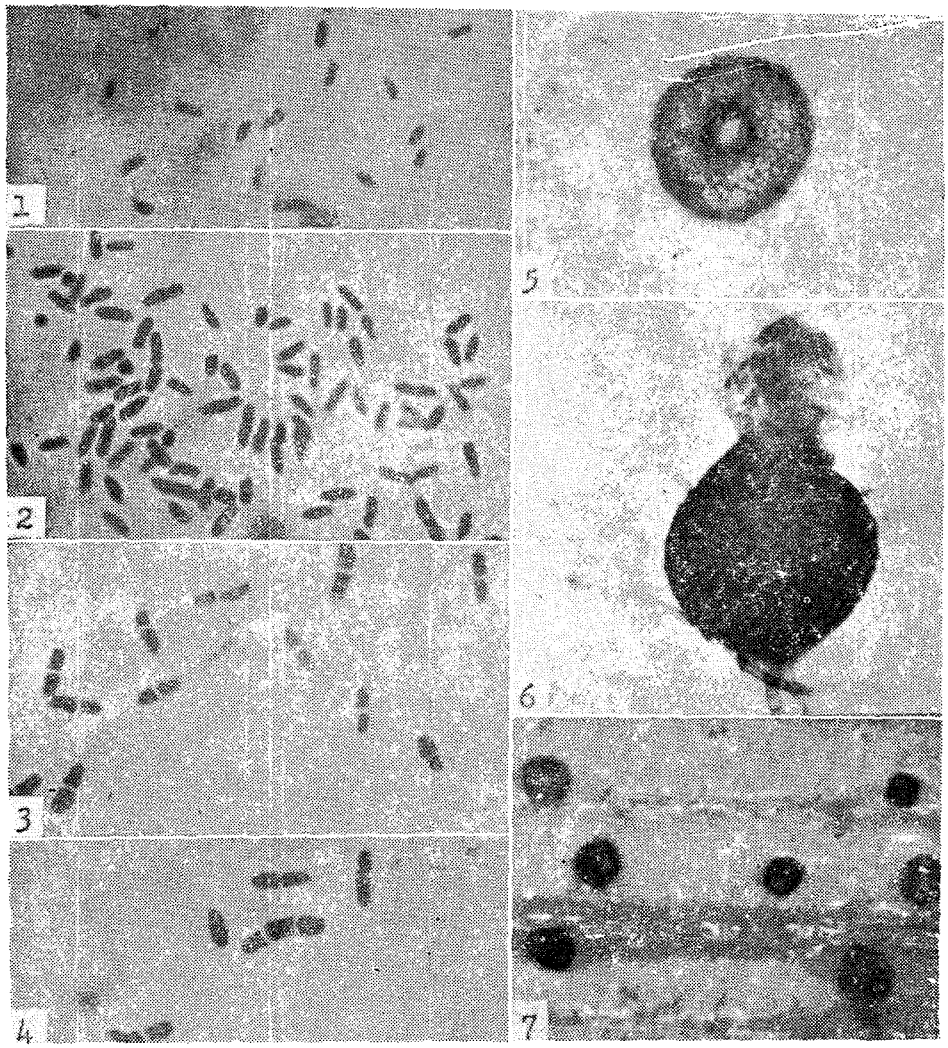

Fig.1-6; Photomicrographs showing pycnidial and perithecial stage of *Didymella bryoniae*.

1. Microtype non-septate pycnidiospores (1,000 x). 2. Macrotype non-septate pycnidiospores (1,000 x). 3. Uniseptate pycnidiospores (1,000 x) 4. Biseptate pycnidiospores (1,000 x) 5. Pycnidium. 6. Whitish masses of exuded ascospores formed on the ostiole of perithecia. 7. Isolate no. 1 grown on V-8 juice agar showing perithecia (dark colour) and pycnidia (light colour)

交互照射와 繼續暗黑處理의 影響을 調査하였다.

*Didymella bryoniae*를 감자寒天과 V-8 juice寒天에 培養하였을 때 光線은 柄子殼 및 子囊殼의 形成을 促進하였으나 繼續 暗黑處理區의 胞子形成은 낮았다. 그러나 菌株에 따라서는 無光下에서도 柄子殼과 子囊殼을 形成할 수 있었다. V-8 juice寒天에 培養했을 때 子囊殼의 形成은 近紫外線 보다는 靈光色光線에서 促進되었다.

一般的으로 光源에 관계없이 V-8 juice 寒天에 培養한 것이 감자寒天에 培養한 것보다 胞子의 形成이 良好하였다.

감자寒天에서 培養된 *D. bryoniae*의 各菌株는 柄胞子의 大部分이 無隔膜의 小型 柄胞子였음에 比하여 V-8 juice寒天에 培養한 것은 無隔膜의 大型 柄胞子 또는 1個의 隔膜을 가진 柄胞子로써 병든 種子의 胚軸上에 形成된 柄胞子와 흡사하였다. 子囊殼의 外觀은 柄子殼과는 判異하였으며 乳頭狀 殼孔위에 白色의 胞子塊가 形成되었다.

引 用 文 獻

1. Brown,M. E. and Preece, T.F., 1968, Examination of cucumber seed for *Mycosphaerella melonis*.

Plant Path. 17:116-118

2. Calpouzos, L. and Lapis, D.S., 1970, Effects of light on pycnidium formation, sporulation, and tropism by *Septoria nodorum*. Phytopath.60; 791-794
3. Chiu, W.F. and Walker, J. C., 1949, Morphology and variability of the cucurbit black rot fungus. Jour. Agri. Res. 78; 81-102
4. Commonwealth Mycological Institute, 1972, *Didymella bryoniae*. CMI description of pathogenic fungi and bacteria no. 332
5. Curren, T., 1969, The sporulation of two isolates of *Mycosphaerella citrullina* on agar media. Can. Jour. Bot. 47:2108-2109
6. Hemmi, T., 1922, On the occurrence of Mycosphaerella wilt of muskmelons in Japan. Phytopath. 12: 394-397
7. Leach, C. M., 1962, The quantitative and qualitative relationship of ultraviolet and visible radiation to the induction of reproduction in *Ascochyta pisi*. Can. J. Bot. 40: 1577-1602
8. Leach, C.M., 1963, The quantitative and qualitative relationship of monocromatic radiation to sexual and asexual reproduction of *Pleospora* herbarum. Mycologia 55: 151-163
9. Lee, Du-Hyung, 1975, Seed-borne infection of *Didymella bryoniae*(Auersw.) Rehm, Research report of Danish Government Institute of Seed Pathology, Copenhagen, 42 pp.
10. Miller, P.M. 1955. V-8 juice agar as a general purpose medium for fungi and bacteria. Phytopath. 45: 461-463
11. Waint, J.S., 1945, Mycosphaerella black rot of cucurbits. Jour. Agr. Res. 71:193-213