

## 오이 절편과 곡류 배지를 이용한 *Botryosphaeria dothidea* 분생포자의 생성과 분출

김기우 · 박은우\*

서울대학교 농업생명과학대학 농생물학과

### Production and Exudation of *Botryosphaeria dothidea* Conidia Using Cucumber Disks and Cereal Media

Ki Woo Kim and Eun Woo Park\*

Department of Agricultural Biology, College of Agriculture and Life Sciences  
Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

**ABSTRACT :** A method for inoculum production of *Botryosphaeria dothidea* was developed using cucumber disks and cereal media. Disks of cucumber fruits, and cereal media of barley, wheat, and rice seeds were inoculated with mycelial plugs of *B. dothidea* and incubated at 27°C. Pycnidia were produced on the surface of cucumber disks and seeds after 5 days of inoculation. When the inoculated barley seeds were immersed in sterilized distilled water for 5 minutes, abundant conidia of *B. dothidea* were exuded from mature pycnidia. Conidia were held together by mucilage as they were released from an ostiole. Compared with the conventional method for inoculum preparation using agar media, such as potato-dextrose agar and oatmeal agar, this method could minimize the tedious work required for inoculum preparation within a shorter period of time.

**Key words :** *Botryosphaeria dothidea*, conidia, spore formation, spore exudation.

사과 겹무늬썩음병은 국내에 후지사과의 재배면적이 크게 늘어나면서 큰 피해를 주고 있는 병이다(13). 이 병으로 과실 전체가 급속히 부패되며, 줄기에는 사마귀가 형성되고 수세가 약화된다(3, 10). 병원균은 완전세대로 자낭균류에 속하는 *Botryosphaeria dothidea*(Moug. ex Fr.) Ces. & de Not.로 동정되었고, 불완전세대로는 *Fusicoccum aesculi* Corda로서 병자각과 분생포자를 형성한다(17). 분리한 균주의 동정과 병원성 검정을 목적으로 다량의 접종원을 확보해야 할 경우, 단기간에 다량의 포자를 형성시켜야 한다. 이를 위하여 배지상에서 병자각을 형성시키고 그 내부에 있는 분생포자를 간편하게 회수하는 과정이 중요하다.

*B. dothidea*의 병자각을 형성하기 위하여 potato-dextrose agar나 cellulose film을 표면에 부착한 oatmeal agar 배지에 균사 절편을 접종한다. 이후 기중 균사를 제거하고 25°C~30°C에서 형광등을 켜 준 상태에서 배양하는 방법이 보편화되어 있다(7, 11, 18). 한편 병자각이 형성된 후 그 내부에 있는 분생포자를 분출시키기 위하여 plate에 살균 증류수를 첨가하거나, 병자각을 수거하여 살균된 유발이나 blender로 마쇄하여 분생포자를 회수하는 방법이 있다(6, 18). 이러한 방법을 이용할 경우 최소 2주간 배양해야 하고

분생포자 회수 방법이 불편한 단점이 있다. 또한 다량의 접종원이 필요할 때에는 많은 plate를 사용하여야 하고 준비하는 과정에서 오랜 시간이 소요된다.

본 연구에서는 *B. dothidea*의 병자각과 분생포자를 단기간에 다량으로 형성할 수 있는 배지를 개발하고, 또한 형성된 분생포자의 회수 방법을 효율적으로 개선하고자 실험을 수행하였다.

### 재료 및 방법

**공시 균주.** 표면에 겹겹으로 둥근 무늬를 나타내며 부패하는 과실을 채취하여, 산성화된(pH 4) 감자설탕천배지(PSA)에 5×5 mm 크기의 과육을 치상하였다. 25°C에서 3일간 배양한 후 활발하게 성장하는 균사 말단부를 떼어 PSA에 치상하여 순수 분리하였다. 이 중에서 병자각 형성이 우수한 3 균주(BD-1, BD-3, COV93-1)를 선발하여 실험에 사용하였다. 이들을 PSA slant에 균사 절편을 접종하고 4°C에서 보관하면서 공시 균주로 사용하였다.

**오이 절편에서의 병자각 형성.** 성숙한 오이(*Cucumis sativus* L.) 과실을 채취하여 0.5% NaOCl 용액에 3분간 침지하고 흐르는 물에 씻은 후 건조시켰다. 물기가 제거된 오이 과실을 절단하여 두께가 7 mm이고, 직경이 40 mm인

\*Corresponding author.

절편을 만들었다. 이후 크기가 150×190×50 mm이며 반투명한 재질로 만든 플라스틱 상자를 준비하고 80% EtOH을 분무하여 상자의 표면을 살균하였다. 또한 키친타올 3장을 깔고 살균수를 첨가하여 포화 습도가 유지되도록 하였다. 이 상자 안에 직경 90 mm인 살균한 petri dish를 넣어 두고 그 위에 오이 절편을 얹어 두었다. 한편 PSA에서 활발하게 생육하는 BD-3 균주의 균사 말단부를 직경이 5 mm가 되도록 agar plug를 떼어, 오이 절편의 중앙부에 치상하였다. 이 상자를 밀폐한 후 27°C로 설정한 배양기에 넣어 두었다. 이후 오이 절편 표면에 형성된 병자각 및 ostiole에서의 분출물을 광학현미경과 해부현미경으로 관찰하였다.

**곡류 배지에서의 분생포자 형성.** 보리(*Hordeum vulgare* L.), 밀(*Triticum aestivum* L.), 벼(*Oryza sativa* L.) 종자, 백미를 준비하여 20 g씩 정량하였다. 이것을 각각 250 ml 용량의 삼각 플라스크에 넣고 증류수 12 ml를 첨가한 후 솜마개로 밀폐하였다. 이들을 실온에서 2시간 방치한 후 압력을 2 kgf/cm<sup>2</sup>로 설정한 상태에서 1시간 고압살균하였다. 1일간 실온에 방치하고, 그 다음 날 동일한 조건으로 고압살균을 1회 추가로 실시하여 각 곡류배지를 제작하였다. 이후 PSA에서 활발하게 생육하는 BD-3 균주의 균사 말단부를 직경이 5 mm가 되도록 agar plug를 떼어, 각 곡류 배지에 3개 plug씩 접종하였다. 이 플라스크를 형광등을 켜 준 상태에서 27°C로 설정한 배양기에 넣어 두었다. 곡류 배지의 전면에 걸쳐 접종이 되고, 난알끼리 서로 얽혀 붙는 것을 방지하기 위하여 플라스크를 매일 1회 심하게 흔들어서 주었다. 이후 난알 표면을 해부현미경과, 시료전처리 과정이 필요없는 주사전자현미경(JSM-5410LV, JEOL, Japan)의 low vacuum mode에서 관찰하였다.

**한천 배지에서의 분생포자 형성.** Potato-dextrose agar (PDA, Difco Laboratories, Detroit, MI)와 cellophane film을 배지 표면에 부착시킨 oatmeal agar(OMA, Difco Laboratories, Detroit, MI)를 직경이 90 mm가 되는 유리 petri dish에 제작하였다. 이후 PSA에서 활발하게 생육하는 균사 말단부를 직경이 5 mm가 되도록 agar plug를 떼어, 배지에 치상하였다. 이후 agar plug를 streaking하면서 배지 전면에 접종하였다. 동일한 방법으로 BD-1, BD-3, COV93-1 균주를 3 plate씩 접종하였다. 생성되는 기중균사는 spatula로 제거하고, 형광등을 켜 준 상태를 유지하며 27°C에서 배양하였다.

**분생포자 분출량 비교.** 접종하여 3주가 경과한 PDA, OMA plate에 살균 증류수 20 ml를 첨가하고, 5분간 실온에 방치하여 병자각에서 분생포자의 분출을 유도하였다. 또한 분출되지 않은 포자까지 회수하기 위하여 형성된 병자각과 현탁액을 수거하여, 살균된 막자사발에 옮기고 유발로 마쇄하였다. 이후 2겹의 cheesecloth로 여과하고 haemocytometer로 포자 농도를 측정하였다. 한편 BD-1, BD-

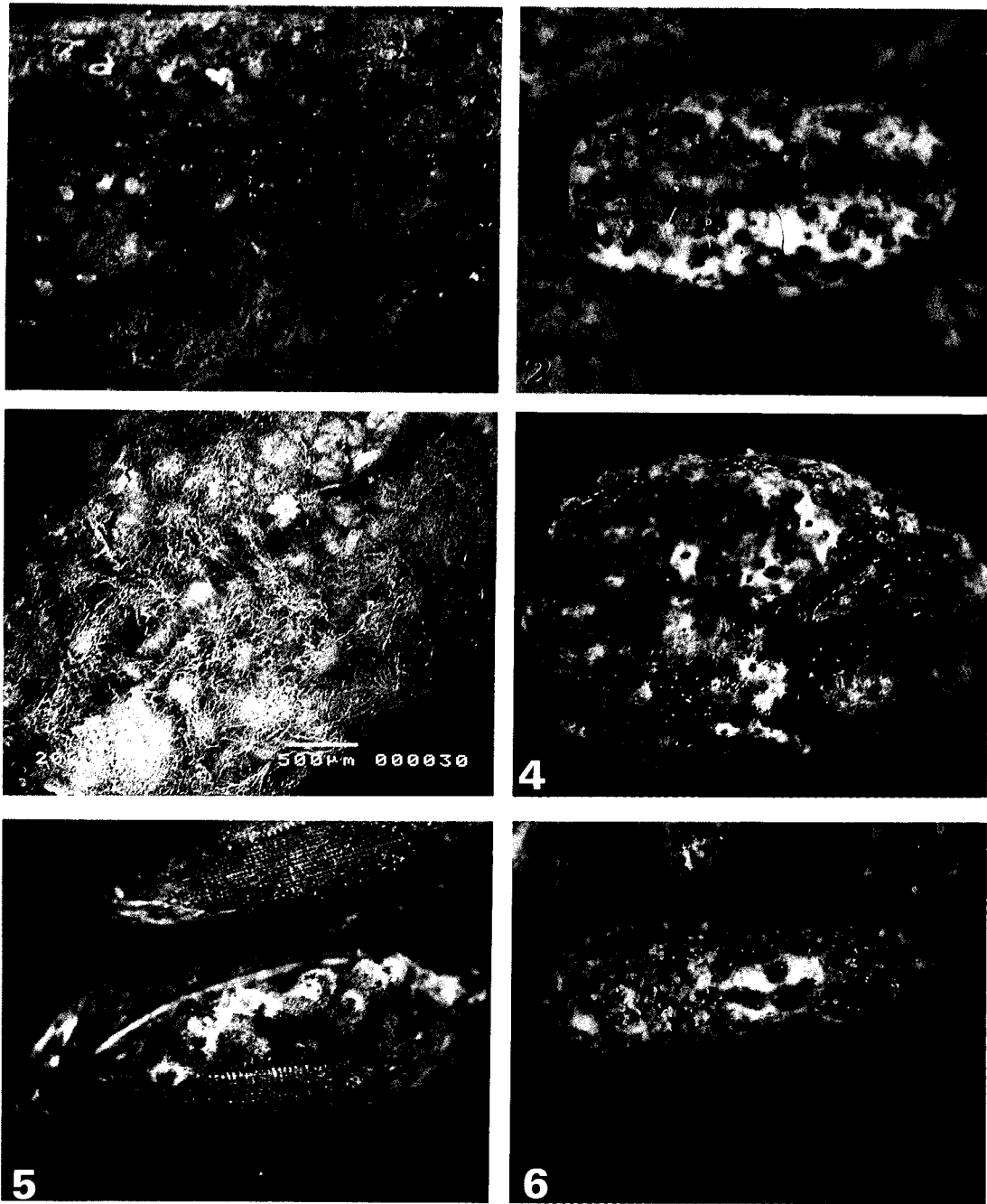
3, COV93-1 균주를 접종하여 3주가 경과한 보리 종자 배지에서 4 g을 정량하여, 100 ml 용량의 비이커에 넣은 후 살균 증류수 20 ml를 첨가하였다. 이렇게 제조한 포자 현탁액을 실온에서 5분간 가볍게 흔들어 주었고, haemocytometer로 포자 농도를 측정하였다. 동일한 방법으로 2회 수행하였고 결과 자료는 SAS PROC MEANS(16)을 활용하여 통계 처리하였다.

**분생포자 분출량의 경시적 변화.** PSA에서 활발하게 생육하는 BD-3 균주의 균사 말단부를 직경이 5 mm가 되도록 agar plug를 떼어, 고압살균하여 제작한 보리 배지에 3개 plug를 접종하였다. 접종하여 5일이 경과한 후 표면에 병자각이 형성된 종자의 6 g을 정량하여 100 ml 용량의 비이커에 넣은 후 살균 증류수 30 ml를 첨가하였다. 자석 교반기로 휘저어 주면서, 침중하여 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30분이 경과한 후에 haemocytometer로 현탁액의 포자 농도를 측정하였다. 동일한 방법으로 2회 수행하였고 결과 자료는 SAS PROC MEANS(16)을 활용하여 통계 처리하였다.

## 결 과

**오이 절편에서의 병자각 형성.** 접종 후 5일이 경과한 오이 절편 표면에 병자각이 형성되었다(Fig. 1). 병자각은 대체로 구형이었고(globose) 흑색이었으며 ostiole 부분이 돌출된 형태로 관찰되었다. Agar plug를 치상한 중앙부 뿐만 아니라 절편의 주변부에도 다수의 병자각이 분포하였다. 대부분 과육 조직에 병자각의 절반이 매몰되어 있었고, ostiole 주변 부위가 절편의 표면으로 돌출되어 있었다. 또한 일부 병자각의 ostiole 부위에는 황색의 분출물이 존재하였다. 이들을 약간 취하여 광학 현미경으로 검정한 결과, 무색이고 방추형인 *B. dothidea*의 분생포자임을 확인하였다. 이들은 발아하지 않은 포자 상태로 묻혀 있으며, 점질성 물질로 둘러싸여 있었다.

**곡류 배지에서의 분생포자 형성.** 각 곡류 배지에 균사 절편을 접종한 지 3일 후에 난알 표면에 병자각이 형성되었다. 보리 종자의 표면에는 흑색의 병자각이 표면 전체에 골고루 형성되어 있었다(Fig. 2). 특히 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 접종한 균사가 종자 표면을 덮고 있으며 병자각 부위가 주위 부분보다 돌출되어 있는 상태로 정착하여 있었다. 또한 병자각의 ostiole 부위에는 오이 절편과 같이 점질성 분출물은 존재하지 않았다(Fig. 3). 밀 종자에서도 구형의 병자각이 형성되었고 표면에 돌출되어 존재하는 것이 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 4). 벼 종자에서는 종피 사이로 외부에 노출된 내부 부위에만 구형의 병자각이 형성되었고, 외부의 종피 부분에서는 병자각이 형성되지 않았다(Fig. 5). 한편 종피를 제거한 백미의 표면에는 흑색의 병자각이 골고루 분포하였고, 형성된 분생포자가 서로 엉겨 붙은 상태로 분출되는 상황도 관찰되었다(Fig. 6).



**Fig. 1.** A disk of cucumber fruit bearing pycnidia and conidia of *B. dothidea*.  
 2. A barley seed bearing pycnidia and conidia of *B. dothidea*.  
 3. A scanning electron micrograph of a barley seed bearing pycnidia of *B. dothidea* ( $\times 35$ ).  
 4. A wheat seed bearing pycnidia of *B. dothidea*.  
 5. An unhurled rice seed bearing pycnidia of *B. dothidea*.  
 6. An hurled rice bearing pycnidia and conidia of *B. dothidea*.

**분생포자 분출량 비교.** 실험에 사용한 균주와 접종한 배지의 특성에 따라서 분생포자 분출량에 차이가 있었다. BD-1과 BD-3 균주의 경우, PDA와 OMA 배지에서 1 ml 당  $14 \times 10^4$ 개 이하의 분생포자가 분출되었다(Table 1). 또

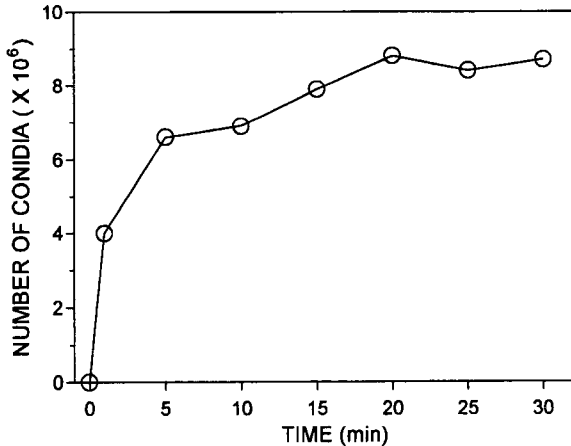
한 보리 종자 배지에서는 PDA와 OMA 배지에서의 분출량의 약 15배에 해당하는  $211 \times 10^4$ 개 이상의 분생포자가 분출되어 큰 차이를 나타내었다. 한편 COV93-1 균주는 PDA와 OMA 배지에서 BD-1과 BD-3 균주보다 더 많은

**Table 1.** Number of conidia ( $\times 10^4$ ) per ml produced by *B. dothidea* when the fungus grew on different media for 3 weeks

| Isolates | PDA <sup>a</sup>      | OMA       | BSM         |
|----------|-----------------------|-----------|-------------|
| BD-1     | 6.3 <sup>b</sup> ±7.0 | 8.1±12.3  | 235.4±113.2 |
| BD-3     | 14.0±20.9             | 6.9±8.0   | 211.3±89.3  |
| COV93-1  | 16.5±21.3             | 23.9±55.9 | 3.4±4.6     |

<sup>a</sup> PDA=potato-dextrose agar, OMA=oatmeal agar, BSM=barley seed media.

<sup>b</sup> means of six replications±standard deviation.



**Fig. 7.** Temporal progress of conidial exudation of *B. dothidea* from 6 grams of barley seeds in 30 ml sterilized distilled water.

$16 \times 10^4$ 개 이상의 분생포자를 분출시켰다. 그러나 보리 종자 배지에서는 PDA와 OMA 배지에서의 분출량보다 적은  $3.4 \times 10^4$ 개의 분생포자가 분출되었다. 각 균주의 PDA와 OMA 배지에서의 분출량은 대체로 유사한 수준이었으나, 보리 종자 배지에서의 분출량과는 큰 차이를 나타내었다.

**분생포자 분출량의 경시적 변화.** 병자각이 형성된 보리 종자를 살균 증류수에 침중함과 동시에 분생포자가 방출되었다. 이들은 서로 뭉쳐 있는 상태로 존재하면서 현탁액 내로 분산되었다. 포자 농도를 계수한 결과, 침중하여 1분이 경과한 후에 1 ml당  $4 \times 10^6$ 개의 분생포자 농도를 나타내었다(Fig. 7). 5분 후에는 최고 분출량의 70%에 해당하는  $6.6 \times 10^6$ 개의 분출량을 나타내었다. 이후 침중 시간이 경과할수록 분출량이 대체로 증가하여 20분 후에는  $8.8 \times 10^6$ 개의 분출량을 기록하였다. 침중하여 30분이 경과한 후에도 분출량은 큰 변화가 없었으며, 최종적으로  $8.5 \times 10^6$ 개의 분출량을 나타내었다.

## 고 찰

자낭균류에 속하는 *B. dothidea*는 PDA나 OMA와 같은 고체 배지에서 대부분 균사 상태로 생육한다. 불완전세대

에서 균사 상태로 존재하는 영양생장 단계에서, 유전적으로 동일한 분생포자를 형성시키는 무성생식생장 단계로 전환되는 과정에는 상호 복합적인 환경 요인이 관여한다. 그 요인을 단계적으로 구명하여 곰팡이의 생장을 조절하고, 목적하는 단계의 균체를 회수할 수 있는 방법은 중요한 의미를 갖는다(12, 15). 본 연구에서는 *B. dothidea* 균주의 접종원을 생성하기 위하여 오이 절편과 곡류 배지의 사용 가능성을 조사하였는데, 균주와 배지 종류에 따라서 분생포자의 생성능력에 차이가 있었다. 그러나 오이 절편과 곡류 배지에 대한 정착 능력이 우수한 균주는 다량의 병자각과 분생포자를 형성하였다. 특히 보리 종자 배지에서는 PDA나 OMA 배지에서의 생성량에 비하여 15배~30배나 많은 분생포자를 획득할 수 있었다. 곡류 배지에서는 접종한지 3일 후부터 병자각이 종자 표면에 국부적으로 형성되었으나, 1주 후에는 표면 전체까지 확산되었다. 따라서 petri dish에서 병자각을 형성할 때보다 배양 기간을 단축할 수 있었다. 또한 같은 용기에 들어 있는 다량의 종자에 동시적으로 병자각이 형성되었다. 한편 병자각의 내부에 형성된 분생포자를 회수하기 위하여, 접종된 종자를 침중하는 방법으로 충분한 양의 분생포자를 회수할 수 있었다. 살균 증류수를 첨가하여 분출을 유도하거나 물리적으로 병자각을 파괴하는 기존의 수단보다 간편하며 효율적이었다.

곰팡이의 분생포자를 형성하기 위하여 다양한 소재를 이용하여 만든 곡류 배지에 관한 보고가 있었다(15). 본 실험에서는 곡류 배지의 소재로 보리, 밀, 벼 종자와 백미를 사용하였다. 벼 종자의 경우 종피 부분을 제외한, 노출된 종자 내부의 표면에서만 병자각이 형성되었으므로, 병자각이 형성될 수 있는 표면적이 비교적 좁다. 종피가 제거된 백미는 자좌 및 병자각 형성도 우수하였다. 그러나 초기에 배지를 제조하고, 배양하는 과정에서 난알이 서로 엉겨 붙고 덩어리지는 현상(caking)이 심하였다. 따라서 취급하는 과정이 번거롭고, 균사와 접촉하는 부분이 감소되는 단점이 있다. 한편 밀 종자에서도 병자각은 잘 형성되었으나, 실험 재료인 밀 종자를 쉽게 구할 수 없으므로 접종원 제조 배지로서의 이용에는 한계가 있다. 오이 과실에서도 다수의 병자각이 형성되었지만, 배양 기간이 경과할수록 과육 조직이 약화되어 조작하는 과정이 불편하다. 그러나 보리 종자에서는 표면 전체를 이용하여 병자각이 형성되고, 난알이 서로 엉겨 붙는 문제가 적으면서도 저렴하게 실험 소재를 확보할 수 있는 장점이 있다. 이러한 이유로 *B. dothidea* 균주의 접종원, 특히 분생포자 형성용 배지로서 보리 종자 배지가 가장 적합한 것으로 판단된다. 보리, 밀, 벼와 같은 단자엽 식물의 종자는 유식물로 성장하는데 필요한 양분을 배유(endosperm)에 저장하고 있다(14). 이 곰팡이가 곡류 종자에서 생육하며 정착할 수 있었던 것은, 종자의 배유에 함유된 각종 영양분을 이용할 수 있기에 가능한 것으로 생각된다. 또한 곡류 배지를 흔들여 주었는

데, 이로써 균사에 상해를 가하여 포자 형성 단계로 더욱 유도한 것으로 판단된다.

표면에 병자각이 형성된 종자를 침종하고 5분이 경과한 후에도 다량의 분생포자가 분출되었다. 병자각의 ostiole이 개폐되는데 수분이 중요한 역할을 함은 이미 알려져 있다 (2). 특히 기주 식물에는 *B. dothidea*가 형성하는 다수의 병자각이 수피에 존재하는데, 병자각이 빗물에 젖고 습윤 상태일 경우 분생포자가 분출된다(4, 8, 9). 본 실험에서도 유사한 결과를 확인하였으며, 이 결과는 *B. dothidea*가 형성하는 병자각의 성숙과 포자 분출에 관한 연구에 응용될 수 있을 것이다.

본 실험에서 BD-1과 BD-3 균주는 보리 종자 배지에서, COV93-1 균주는 PDA, OMA 배지에서 분생포자 분출량이 많았다. 이와 같은 균주간 차이는 포자 형성 능력 및 포자 형성 조건의 다양성에 기인한 것으로 생각된다. 이후에는 다양한 *B. dothidea* 균주를 곡류 배지에 접종하여 포자 형성 능력을 조사하고 우수한 균주를 확보한다면, 분생포자를 이용하는 접종원의 확보가 용이할 것으로 판단된다. 이로써 일시에 많은 기주 식물을 대상으로 하는 병원성 검정이 간편하게 수행될 수 있다. 본 실험에서는 보리 종자와 살균 증류수를 1:5(w/v) 비율로 혼합하여 포자 현탁액을 제조하였다. 사용하는 균주의 포자 형성 능력에 따라서 혼합 비율을 조절하므로, 접종원의 농도에 따른 기주 식물의 반응을 조사하는 실험이 원활히 수행될 수 있다(5). 이외에도 분생포자를 안정적으로 형성할 수 있다면 *Fusicoccum*과 *Dothiorella* 균주의 구분과 같은, 불완전세대에 서의 분화 단계별 형태적 특성 연구에도 도움이 될 것으로 기대된다(5). *B. dothidea*와 근연 관계에 있는 *B. obtusa*의 분생포자의 생성 방법은 *B. dothidea*와 동일한 것으로 보고되었다(1). 따라서 균학적 특성이 유사한 *Botryosphaeria* 속의 다른 종의 곰팡이에도 동일한 원리의 분생포자 형성법이 적용될 수 있을 것이다.

## 요 약

오이 절편과 곡류 배지를 이용하여 *Botryosphaeria dothidea*의 접종원을 생성하는 방법을 개발하였다. 오이 과실과 보리, 밀, 벼 종자의 곡류 배지에 *B. dothidea*의 균사 plug를 접종하고 27°C에서 배양하였다. 접종하여 5일이 경과한 후 오이 절편과 종자 표면에 병자각이 형성되었다. 접종한 보리 종자를 살균 증류수에 5분간 침종했을 때 다량의 *B. dothidea*의 분생포자가 성숙된 병자각에서 분출되었다. 분생포자는 ostiole에서 분출되면서 점질성 물질로 서로 뭉쳐 있었다. 한천 배지인 potato-dextrose agar나 oatmeal agar를 이용한 관행적인 접종원 준비와 비교할 때, 이 방법은 접종원 준비에 필요한 번거로운 과정을 최소화하며 소요되는 시간을 단축시킬 수 있었다.

## 감사의 말씀

본 연구는 한국학술진흥재단 '96 신진연구인력 연구장려금 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Arauz, L. F. and Sutton, T. B. 1989. Temperature and wetness duration requirements for apple infection by *Botryosphaeria obtusa*. *Phytopathology* 79: 440-444.
2. Barakat, R. M., Johnson, D. A. and Grove, G. G. 1995. Factors affecting conidial exudation and survival, and ascospore germination of *Leucostoma cincta*. *Plant Dis.* 79: 1245-1248.
3. Brown, E. A. and Hendrix, F. F. 1981. Pathogenicity and histopathology of *Botryosphaeria dothidea* on apple stems. *Phytopathology* 71: 375-379.
4. English, H., Davis, J. R. and DeVay, J. E. 1975. Relationship of *Botryosphaeria dothidea* and *Hendersonula toruloidea* to a canker disease of almond. *Phytopathology* 65: 114-122.
5. Gardner, D. E. 1997. *Botryosphaeria mamane* sp. nov. associated with witches'-brooms on the endemic forest tree *Sophora chrysophylla* in Hawaii. *Mycologia* 89(2): 298-303.
6. 홍연규, 예완해, 김충희, 조의규, 이은중. 1989. *Botryosphaeria dothidea*에 의한 사과나무 사마귀 형성의 병원학 및 병태조직학적 고찰. *한국식물병리학회지* 5(2): 151-160.
7. 정미혜, 김대희, 엄재열. 1994. 사과 겹무늬썩음병의 효과적인 방제를 위한 약제살포 체계의 수립 1. 사과의 생육시기별 보호살균제의 선택 원칙. *한국식물병리학회지* 10(4): 284-291.
8. Kim, K. W. 1994. Epidemiological studies on apple white rot and a forecasting system for scheduling fungicide sprays. M. S. thesis. Seoul National University. 101pp.
9. 김기우, 박은우, 김성봉, 윤진일. 1995. 사과원에서 *Botryosphaeria dothidea* 포자 방출의 경시적 변화 및 관련된 기상요소. *한국식물병리학회지* 11(3): 230-237.
10. 김성봉, 김진수. 1989. 사과 겹무늬썩음병의 병원성과 발생생태에 관한 연구 I. 병원균의 분리동정 및 균사생육에 미치는 영양원과 환경요인의 영향. *한국원예학회지* 30(1): 26-37.
11. Kohn, F. C., Jr. and Hendrix, F. F. 1982. Temperature, free moisture, and inoculum concentration effects on the incidence and development of white rot of apple. *Phytopathology* 72: 313-316.
12. 권미경, 홍정래, 선해정, 성기영, 조백호, 김기청. 1997. 박과작물 덩굴마름병균 *Didymella bryoniae*의 병포자 대량생산 방법의 표준화. *한국식물병리학회지* 13(2): 105-112.
13. Lee, Y. H., Cho, W. D., Kim, W. K., Lee, E. J., Han, S. J. and Chung, H. S. 1993. Detailed survey of apple and pear diseases in major fruit producing areas in Korea ('88-'92). *Korean J. Plant Pathol.* 9(1): 47-51.
14. 이유성. 1997. 현대식물형태학. 우성. 서울. 502pp.

15. Renfro, B. L. and Wilcoxson, R. D. 1963. Production and storage of inoculum of *Phoma herbarum* var. *medicaginis*. *Plant Dis. Rep.* 47:168-169.
16. SAS Institute Inc. 1988. SAS/STAT User's Guide, Release 6.03 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC. 1028pp.
17. Sutton, T. B. 1990. White rot. Pages 16-18 in: Compendium of Apple and Pear Diseases. A. L. Jones and Aldwinckle, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
18. Sutton, T. B. and Arauz, L. F. 1991. Influence of temperature and moisture on germination of ascospores and conidia of *Botryosphaeria dothidea*. *Plant Dis.* 75:1146-1149.

(Received December 2, 1997)