

배지에서 당근검은잎마름병균의 포자 형성에 영향을 미치는 요인

Factors Affecting Spore Formation of Carrot Leaf Blight Caused by *Alternaria dauci* In Vitro***Corresponding author**

Tel: +82-43-261-2556

Fax: +82-43-261-2556

E-mail: thkim@cbnu.ac.kr

ORCID

<https://orcid.org/0000-0001-7132-0587>윤세나 · 민지영 · 김흥태* 

충북대학교 농업생명환경대학 식물학과

Sena Yoon, Jiyoung Min, and Heung Tae Kim* 

Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

In order to examine the pathogenicity of *Alternaria dauci*, the causal agent of carrot leaf blight, it is necessary to standardize sporulation conditions to ensure the optimal quantity and quality of spore inoculum. Therefore, in this study, the effects of the growth medium, aeration treatment, and UV treatment with 12-hr photoperiod on the sporulation of *A. dauci* KACC42997 were investigated. *A. dauci* KACC42997 was pre-cultured for 7 days in a potato dextrose agar medium at 25°C in the dark condition. When the pre-culture, after removing aerial mycelia, was re-incubated for 5 days, with simultaneous aeration treatment and 12-hr cycle UV treatment at 20°C, the largest number of spores was produced. One hundred seventy isolates of *A. dauci* were isolated from major carrot growing regions such as Pyeongchang, Gumi and Jeju and tested for sporulation under the conditions established in this study. Except for 20 strains, all strains produced spores. Statistically significant differences in the extent of sporulation were found among local populations of *A. dauci* isolates, but no difference was observed in their pathogenicity on carrots.

Keywords: *Alternaria dauci*, Carrot leaf blight, Spore production

Received August 11, 2023

Revised August 28, 2023

Accepted August 28, 2023

서론

*Alternaria*속 속하며 대형 분생포자를 만드는 *Alternaria dauci*는, 당근에서 검은잎마름병을 일으키는 병원균으로 알려져 있다. 다습한 조건에서 대량의 포자를 만들어 바람을 통해서 전파되며(Park 등, 2011; Strandberg, 1983), 병징에서 2차 전염원인 분생포자를 계속적으로 형성하기 때문에, 당근 재배 기간 동안 계속적으로 피해를 일으키는 문제 병원균이다. 바람을 통한 전파뿐만 아니라 꽃 감염을 통해 종자 전파도 하기 때문

에 방제가 어렵다(Farrar 등, 2004; Langenberg 등, 1977; Pryor 등, 2002; Soteris, 1979). 국내에서도 8월 이후의 고랭지 재배지에서 발병률이 70% 이상을 상회할 정도로 피해가 컸던 적도 있었다(Kwon 등, 2007). 당근의 지상부에 검은잎마름병이 발생하게 되면, 광합성 효율이 감소하게 되어 품질이 저하되고, 수확량이 감소할 뿐만 아니라, 대규모 재배지에서 당근을 기계 수확할 때, 지상부가 쉽게 잘려져 나가 수확에 어려움을 겪기도 한다(Bounds 등, 2007; Dugdale 등, 2000; Farrar 등, 2004; Strandberg, 1983). 최근 들어서는 가을 작형뿐만 아니라 봄 하우스 및 터널 작형에서까지 병이 발생하면서 방제에 대한 필요성이 높아지고 있다(Kwon 등, 2007). 이런 당근 검은잎마름병의 방제를 위해서는 저항성 품종의 육종과 효과적인 살균제 선발, 포장에서 살균제의 처리 체계 확립 등과 같은 연구가 필요

Research in Plant Disease

eISSN 2233-9191

www.online-rpd.org

© The Korean Society of Plant Pathology

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

하다(Farrar 등, 2004). 당근에 대한 병 저항성 검정이나 살균제 효과 검정 등을 위해서는 유묘 또는 성체 식물에서 병원균을 접종하는 검정법이 필요하기 때문에, 병원성을 갖는 포자를 대량으로 얻을 수 있는 표준화된 포자 형성 조건의 확립이 필요하다(Rodrigues 등, 2010).

배지에서 *Alternaria*의 포자를 형성하기 위해서는 배양하는 배지, 광, 온도 등과 같은 요인을 적절하게 조절하여야 한다(Rodrigues 등, 2010). *Alternaria*의 포자 형성을 위한 배지로는 V8 juice 배지, potato dextrose agar (PDA) 배지, 식물체의 조직이나 추출액 등을 첨가한 배지 등이 사용된다(Miller, 1955; Shahin과 Shepard, 1979). 광의 파장과 광 조사 주기가 포자 형성에 영향을 미치기도 하는데, 25°C에서 24시간 계속적으로 형광등을 조사하거나, 20°C에서 자외선을 16시간 주기로 조사하거나, 25°C에서 12시간 주기로 조사하여 포자를 형성시킨다(Douglas, 1972; Fournouni 등, 1998). 이런 요인 이외에도 병원균의 균사에 상처를 주거나 배지의 수분 함량을 변화시키는 스트레스를 주어서 포자 형성을 유도하기도 한다(Shahin과 Shepard, 1979). 그런데 배지에서 형성된 포자의 경우 형태와 특성이 포장에서 형성된 포자와 달라지는 경우가 있다. 감자와 토마토 등에서 껍질근무늬병을 일으키는 *A. alternata*는 포장에서 형성된 포자가 배지에서 형성된 포자에 비해서 크기가 더 크며, 형태도 균일한 것으로 알려져 있는데(Grogan 등, 1975), 배지에서 형성된 포자의 형태와 특성은 온도, 습도, 배지의 종류 등과 같은 요인의 영향을 받기도 한다(Houston과 Oswald, 1946; Jimenez와 Miller, 1966; Latham, 1974; Vargas와 Wilcoxson, 1969). 하지만 대부분의 연구가 포자 형성에 미치는 요인의 효과에 초점이 맞추어져 있었으며, 형성된 포자의 병원성 여부와 다양한 균주를 사용하여 확립한 방법의 효용성 검증 등에 대한 연구는 거의 진행되지 않았다.

따라서 본 연구에서는 접종원으로 사용할 *A. dauci*의 포자를 대량으로 생산할 수 있는 방법을 확립하기 위해서 병원균을 배양하는 배지의 종류, 통기 처리 및 자외선의 처리 등이 *A. dauci*의 포자 형성에 미치는 효과를 조사하였으며, 배지에서 형성된 포자가 당근에서 병원성을 나타내는지를 조사하였다. 또한 표준화한 방법을 사용하여 주요 재배 지역에서 채집한 많은 균주들의 포자 형성 여부와 형성된 포자의 당근에 대한 병원성을 검정하였다.

재료 및 방법

실험에 사용한 병원균 및 배지. 농촌진흥청 씨앗은행에서 분양받은 *A. dauci* KACC42997을 사용하여, 병원균의 포자 형

성과 병원성 실험을 실시하였다. 분양받은 병원균은 PDA 배지에 접종하여 25°C에서 10일간 배양하였다. 병원균의 균총 선단에서 3 mm의 균사 조각을 떼어내어 PDA 사면 배지에 접종하고 동일한 조건에서 10일간 배양한 후, 4°C에 보관하며 실험에 사용하였다. 냉장 보관과 더불어 Cryovial (직경: 12 mm, 높이: 48 mm, Simport Scientific Inc., Beloeil, Canada)를 이용하여 만든 PDA 사면 배지에 병원균을 배양한 후, 2회 멸균한 유동 파라핀을 균총 위에 붓고 실온에서 보관하였다. 당근 재배 지역에서 분리한 병원균을 사용하기 위하여, 평창, 구미, 제주의 당근 재배지에서 병든 당근 잎을 채집하고 단포자를 분리하였다. 단포자 분리한 *A. dauci*의 균주를 각 지역 당 69개, 57개, 44개씩 총 170개 균주를 분리하여 균사 생장과 포자 형성 정도를 조사하였다. 또한 각 지역에서 분리한 균주 중에서 포자 형성량이 많았던 평창에서 11균주, 구미 6균주, 제주 8균주 등 총 25균주를 선발하여 당근에 대한 병원성을 검정하였다.

병원균의 포자 형성에 영향을 미치는 요인. 배지의 종류, 통기 처리, 그리고 자외선 처리가 *A. dauci* KACC42997의 포자 형성에 미치는 영향을 조사하였다. 포자 형성 배지로서 물한천 배지(agar, 15 g; 증류수, 1 liter), 20% V8 juice agar 배지(Campbell's V8 juice, 163 ml; CaCO₃, 4 g; agar, 20 g; 증류수, 1 liter)와 PDA 배지(Becton, Dickinson and Company, Difco, Sparks, MD, USA)를 사용하여 *A. dauci* KACC42997의 포자 형성 정도를 조사하였다. 병원균을 배지에 접종한 후, 배지가 마르는 것을 방지하기 위하여 비닐랩으로 밀봉하여 25°C의 암 상태에서 7일간 배양하였다. 병원균의 공중 균사를 제거하고 20°C로 옮긴 후, 통기 처리를 위해서 페트리 접시를 밀봉하였던 비닐랩을 제거하였으며, 자외선 처리를 위해서 12시간 간격으로 UV를 5일간 조사하였다. 통기와 자외선 처리는 단독으로 각각 처리하거나 또는 동시에 처리하였다. 배지에서 형성된 포자의 수를 조사하기 위하여, 페트리 접시(직경: 9.0 cm) 당 균사 조각(직경: 5 mm)을 총 6조각씩 떼어내어 5 ml의 멸균수에 넣고 voltex mixer (Vortex-Genie 2, Scientific Industries, Inc., Bohemia, NY, USA)로 3분간 교반하였다. 포자 현탁액에서 포자의 수를 혈구계산기를 사용하여 현미경으로 관찰하였다. 균사 조각은 균총의 중앙에서 양방향으로 각각 3조각씩을 떼어내어 사용하였다.

당근의 재배. 원예용 사각 50구 연결포트(Bumnong Co., Ltd., Jeongeup, Korea)에 원예용 상토(Baroker, SeoulBio Co., Ltd., Eumseong, Korea)를 넣고, 당근 종자 3립씩 파종하여 온실에서 재배하였다. 당근은 'D230', 'K-dream', 'Chamjoen', 'Sailo' 등 4개 품종을 7-8엽기까지 온실에서 재배하였다.



Fig. 1. Disease index of *Alternaria* leaf blight. 0, no visible diseased lesion; 1, the case that lesions began to be observed on the leaves and the lesion area was less than 5% of the total leaf; 3, the case that typical lesions were also observed on the petiole, and the lesion area was 5% to 20% of the total leaf; 5, the case that the lesion area was 20% to 40% of the total leaf; 7, the case that the lesion area was 40% to 60% of the total leaf; 9, the case that almost all the leaves withered.

병원균의 병원성 검정. *A. dauci* KACC42997을 위에서 설명한 방법으로 배양하여 포자를 형성시켰다. 병원균의 포자는 300 µg/ml의 Tween 20 용액으로 수확하고, 현탁액의 포자 밀도를 1.4×10^5 , 7.0×10^4 , 3.5×10^4 , 1.7×10^4 개/ml로 조절하여 당근의 지상부에 분무 접종하였다. 접종한 당근은 25°C에서 1일간 습실 처리하고 온실로 옮겨 2주간 재배하며 발병을 유도한 후, 발병도를 조사하였다. 발병도는 Fig. 1과 같은 발병지수(disease index)를 사용하여 조사하였다. 발병지수 0은 유묘가 건전한 경우, 1은 잎에 병반이 관찰되기 시작하면서, 병반 면적이 전체 잎의 5% 이하일 경우, 3은 뚜렷한 병반이 엽병에서도 관찰되기 시작하며, 병반 면적이 전체 잎의 5–20%일 경우, 5는 병반 면적이 20–40%인 경우, 7은 병반 면적이 40–60%이며, 일부 잎이 시들기 시작한 경우, 9는 거의 전체 잎이 고사한 경우로 결정하였다. 발병률은 조사한 발병지수를 가지고 아래 식에서 계산하였다.

$$\text{발병률 (\%)} = \frac{\sum (\text{발병지수} \times \text{발병조사수})}{9 \times \text{전체 조사주수}} \times 100$$

지역별 균주의 균사 성장과 포자 형성량 조사. 평창, 구미, 제주 지역에서 분리한 *A. dauci* 균주 69개, 57개, 44개의 균사 성장과 포자 형성량을 조사하였다. PDA 배지에 접종하여 25°C의 암조건에서 5일간 배양한 *A. dauci*의 균총 선단에서 직경 3 mm의 균사 조각을 떼어내어 새로운 PDA 배지에 접종하고, 다시 5일간 배양한 후 균총의 직경을 측정하였다. 모든 균주는 25°C의 PDA 배지에서 7일간 배양한 후 공중 균사를 제거하고, 20°C에서 5일간 통기 처리와 12시간 주기의 자외선 처리를 실시하여 포자 형성을 유도하였다. 포자 형성량 조사를 위하여 펠트리 접시 당 6개의 균사 조각(직경: 5 mm)을 떼어내어 5 ml의 멸균수에 넣고 강하게 교반한 후, 혈구측정기를 사용하여 현미경 하에서 포자의 수를 조사하였다.

지역별 균주의 병원성 조사. 실험에 사용한 170개 균주 중에서 선발한 25개 균주를 PDA 배지에서 배양하여 포자를 형성시킨 후, 300 µg/ml의 Tween 20 용액으로 수확하였다. 수확한 포자 현탁액은 4점의 거즈에 여과하여 균사 등 잔재물을 제거하고, 포자 밀도를 1.4×10^5 개/ml로 조정된 후 접종원으로 사용하였다. 온실에서 4–5엽기까지 재배한 당근(품종: Chamjoen)에 병원균을 접종하여 1일간 습실 처리한 후, 온실에서 2주간 재배하고 발병지수를 이용하여 발병 정도를 조사하였다.

통계 처리. 통계분석은 SPSS 프로그램(version 24.0, IBM Corp., Armonk, NY, USA)을 이용하였으며, 처리 평균간 비교를 위하여 Duncan's multiple range test ($P=0.05$)를 실시하였다.

결과 및 고찰

병원균의 포자 형성. 통기 처리와 자외선 처리 없이 병원균을 배양하였을 때에는 모든 배지에서는 포자가 형성되지 않았다. 자외선 처리만 하였을 때에는 V8 juice agar 배지와 PDA 배지에서 포자가 각각 6×10^4 개/ml와 9×10^4 개/ml가 형성되었고, 통기 처리만을 하였을 때에는 2×10^4 개/ml와 1×10^4 개/ml가 형성되었다. 하지만 자외선과 통기 처리를 동시에 하였을 때에는, V8 배지에서 2.9×10^5 개/ml, PDA 배지에서는 9.8×10^5 개/ml로, 형성된 포자의 수가 상승하였다(Table 1, Fig. 2).

Shahin과 Shepard (1979)와 Rodrigues 등(2010)은 *Alternaria* spp.의 포자 형성을 위해서 병원균을 먼저 균사 성장 배지에서 배양한 후, 포자 형성 배지로 옮겨서 포자 형성을 유도하였다. 균사 성장 배지에서 포자 형성 배지로 병원균을 옮겨주는 과정에서 균사에 상처를 유발하였으며, 포자 형성 배지는 18°C의 암 상태 또는 20°C의 근자외선 조사 조건에서 배양하였다. Schouten 등(2002)은 PDA 배지에 접종한 병원균을 상온에서

Table 1. Effects of aeration, UV irradiation and media on sporulation of *Alternaria dauci* KACC42997

Treatment ^a		Media ^b used in the experiment		
Aeration	UV	WA	V8	PDA
-	-	0 ^c w ^d	0 w	0 w
-	+	0 w	6 y	9 y
+	-	0 w	2 x	1 x
+	+	0 w	29 z	98 z

^a*A. dauci* KACC42997 was inoculated into the potato dextrose agar (PDA) medium and cultured at 25°C for 7 days, then moved to 20°C and subjected to aeration and UV treatment for 5 days. "-" indicated no treatment, and "+" did treatment.

^bThe media used in the experiment were water agar medium (WA), V8 juice medium (V8), and PDA medium.

^cThe number represented the number of spores produced in each medium, and the unit was 10⁴ conidia/ml.

^dThe means followed by the same letter in the same column were not significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

7일간 배양한 후, 20°C로 옮겨서 UV를 14일간 처리한 후 포자를 수확하였다. 본 실험에서는 Schouten 등(2002)의 방법을 개선하여 *A. dauci* KACC42997의 포자 형성 조건을 실험하였다. 병원균을 25°C의 PDA 또는 V8 juice agar 배지에서 7일간 배양한 후, 공중 균사를 제거하고 20°C로 옮겨, 통기 및 12시간 주기로 UV를 처리하였다. *A. dauci* KACC42997은 통기 처리와 UV 처리를 각각 시행하였을 때보다 동시 처리하였을 때에 포자 형성량이 현저하게 증가하였다. 본 실험에서 통기 처리란 25°C의 암 상태에서 배양할 때 밀봉한 비닐랩을 제거하는 것을 의미한다. 비닐랩을 제거하게 되면, 배지에서 건조 또는 탈수 현상들이 나타나게 되어 식물병원성 곰팡이의 포자 형성이 유도되기도 한다. *A. solani*의 균사가 건조해질 때 포자 형성이 유도되었고, *Neurospora crassa*의 경우에도 균총이 건조해지면서, 포자 형성에 관여하는 유전자가 발현되기 시작하였다(Li 등, 1997; Rodrigues 등, 2010). 또한 공기의 흐름에 의해서 탈수 현상이

발생하게 되면 Petri 접시 내부의 CO₂의 양이 감소되고 O₂ 양이 증가하면서 *A. solani*의 포자 형성이 유도하기도 하였다(Lukens와 Horsfall, 1973). 본 실험에서 비닐랩을 제거한 후 *A. dauci* KACC42997의 포자 형성이 소폭이기는 하나 상승한 이유도 통기 처리에 의한 배지의 건조 또는 탈수의 효과라고 생각한다. 배지의 밀봉 제거가 포자 형성에 미치는 영향은 *Pyrenophora semeniperda*에서도 찾아볼 수 있었는데, Petri 접시의 밀봉을 제거하지 않았을 때에는 *P. semeniperda*의 포자 형성이 억제되기도 하였다(Campbell 등, 2003). 배지의 건조 또는 탈수뿐만 아니라 광 또한 배지에서 식물병원성 곰팡이의 포자 형성에 영향을 미친다. *A. alternata*는 광을 쬐여 줄 경우 포자 형성이 억제되고, 암 상태에서 1일간 배양함으로써 포자 형성을 유도하기도 하였다(Pruß 등, 2014). *A. solani*의 경우 12시간 주기로 광을 조사할 경우 포자의 형성이 유도되었는데, 광 조사 시에 분생포자경이 형성되었고, 암 상태에서 포자가 형성되었다(Rodrigues 등, 2010). 본 실험에서 *A. dauci*는 균사에 상처를 유발하고 12시간 주기로 UV를 쬐어줌으로써 포자의 형성이 유도되었다.

A. dauci KACC42997의 포자 형성이 통기 또는 UV의 단독 처리에 의해서 유도되기는 하였으나, 형성되는 포자의 양이 매우 적었고, 두 처리를 동시에 실시하였을 경우 포자 형성량이 매우 큰 폭으로 상승하였으며, 이런 결과는 V8 juice agar 배지보다는 PDA 배지에서 크게 나타났다. 이것은 포자 형성에 관여하는 여러 가지 요인을 동시에 처리함으로써 배지에서 형성되는 포자의 양을 상승시킬 수 있음을 보여주는 결과라고 생각하였다.

PDA 배지에서 형성된 *A. dauci* KACC42997의 병원성. 당근 품종 'D230'에서 발병률은 15.6%, 'K-dream'과 'Sailo'에서는 33.3%와 46.7%이었으며, 'Chamjoemun'은 71.4%이었다(Fig. 3). Fig. 4에서 보는 것과 같이, *A. dauci* KACC42997의 포자 밀도가 1.7×10⁴ 개/ml에서 14.0×10⁴ 개/ml로 상승하면서, 7-8엽기의 'Chamjoemun' 당근에서 발병률도 15.1%에서 60.0%로 증가하였

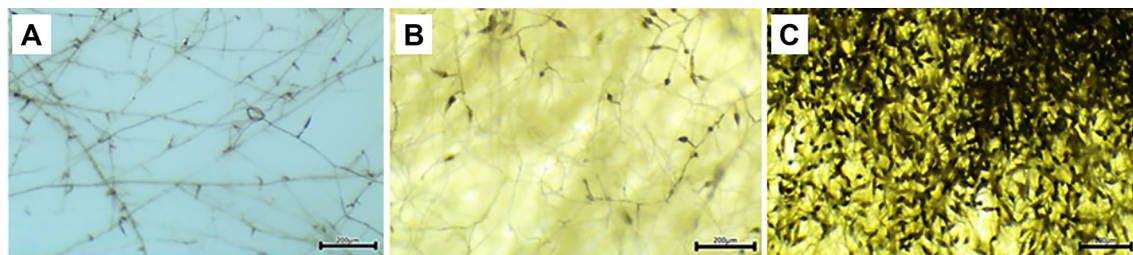


Fig. 2. Spore production of *Alternaria dauci* KACC42997 in each medium used in the experiment. (A) Water agar medium. (B) V8 juice agar medium. (C) Potato dextrose agar medium. The *A. dauci* KACC42997 inoculated into each medium were cultured at 25°C for 7 days, and then cultured at 20°C for 5 days while aeration and UV treatment were performed simultaneously. Scale bars=200 µm.

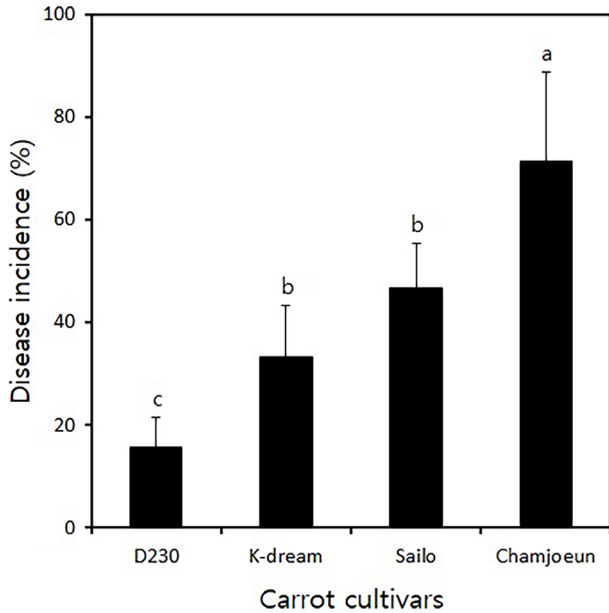


Fig. 3. Pathogenicity of *Alternaria dauci* KACC42997 according to carrot cultivars and leaf stages. The spores of *A. dauci* KACC42997 formed in the potato dextrose agar medium were inoculated into 7–8 leaf stage carrots. Four kinds of carrot cultivars were used in the experiment. The spore density of the inoculum suspension was adjusted to 1.4×10^5 conidia/ml, and after spray inoculation of the suspension, it was kept in a humidity chamber at 25°C for 1 day and then transferred to a greenhouse. Two weeks after inoculation with the pathogen, the degree of disease was investigated using the disease index in Fig. 1.

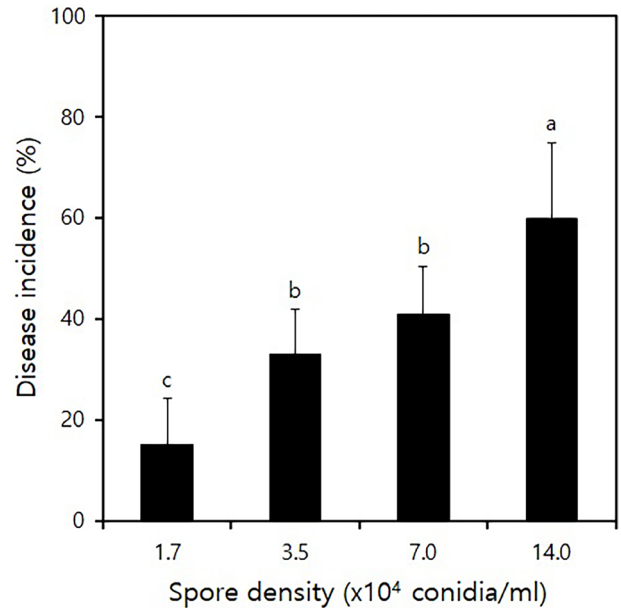


Fig. 4. Pathogenicity of *Alternaria dauci* KACC42997 according to spore density of spore suspension and carrot leaf stage. To produce spores, *A. dauci* KACC42997 was inoculated into potato dextrose agar (PDA) and cultured at 25°C for 7 days. The pathogens were transferred to 20°C and cultured for 5 days while aeration and UV irradiation with 12-hr cycles were performed. Spores formed on the PDA were harvested using 300 µg/ml of Tween 20 solution. The spore density of the suspension was adjusted to a defined density. The prepared spore suspension was inoculated into carrots (cv. Chamjoemun) at the 7–8 leaf stage. The disease incidence was investigated as disease index 2 weeks after inoculation.

다. *A. dauci* KACC42997의 병원성은 당근의 품종과 접종하는 포자의 밀도에 따라서 달라지기는 하였지만, PDA 배지에서 형성된 포자가 당근에 검은잎마름병을 일으킬 수 있음을 확인할 수 있었다.

각 지역에서 분리한 병원균의 특성. 평창, 구미, 제주의 세 지역에서 분리한 *A. dauci* 균주 집단의 평균 균사 성장 정도는 Table 2에서 보는 것과 같이 지역 간에 통계적인 유의한 차이가 없었다. 하지만 평창, 구미, 제주 지역 균주 집단의 평균 포자 형성량은 2.8×10^5 , 1.6×10^5 , 0.8×10^5 개/ml로, 평창 지역 균주의 포자 형성량이 가장 많았으며, 제주 지역 균주의 포자 형성량이 적었다. 위도가 높은 평창에서 분리한 균주 집단이 위도가 낮은 제주 지역 균주 집단보다 포자 형성량이 많았다. 세 지역에서 분리한 170개의 균주 중에서 구미에서 분리한 *A. dauci* CDSGM9-2 균주가 9.3×10^5 개/ml로 가장 많은 포자를 형성하였다. 하지만 온도의 변화와 통기 및 자외선 처리를 하였음에도 불구하고 평창에서 분리한 균주 중에서 8균주가, 구미 균주 중에서는 4균주가, 그리고 제주 균주 중에서는 8개의 균주는 포자가 형성되지 않았다. Rodrigues 등(2010)은 *A. solani*의

Table 2. Mycelial growth and spore production of *Alternaria dauci* on PDA

Region	Mycelial growth ^a (mm)	Spore production ^b ($\times 10^5$ conidia/ml)
Pyeongchang	26.4 ± 4.7 x ^c	2.8 ± 2.1 x
Gumi	29.5 ± 6.8 x	1.6 ± 1.5 y
Jeju	26.1 ± 5.6 x	0.8 ± 0.9 z

^aThe mycelial growth of *A. dauci* was compared by measuring the colony diameter of each isolate cultured in potato dextrose agar (PDA) medium at 25°C for 5 days.

^bSix pieces of mycelium with a diameter of 5 mm were removed from the PDA medium in which spores were formed, and put into 5 ml of sterile distilled water and vigorously stirred. The sporulation of each isolate was compared with the amount of spores suspended in 1 ml of the spore suspension.

^cThe means followed by the same letter in the same column are not significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

포자 형성을 위해서 확립한 조건이 감자와 토마토에서 분리한 30개의 균주에도 적용할 수 있는지를 실험한 결과, 7개 균주가

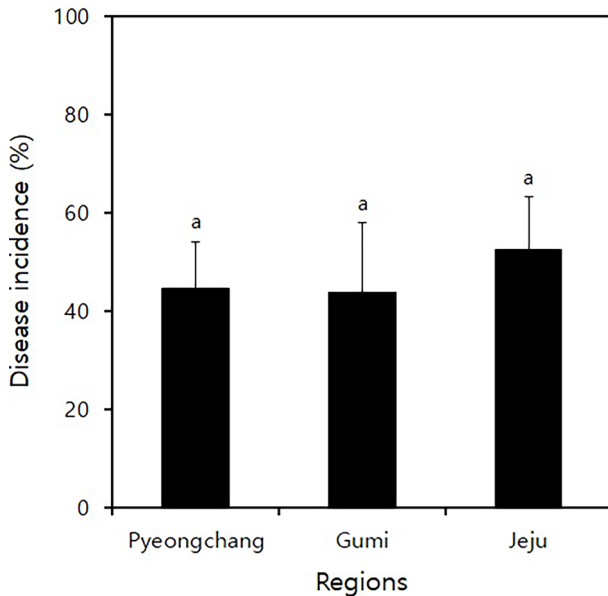


Fig. 5. Disease incidence of *Alternaria dauci* isolated from each region. As for the pathogens used in the experiment, 11 isolates from Pyeongchang, 6 isolates from Gumi, and 8 isolates from Jeju were selected randomly. The result of the experiment was the average disease incidence of all isolates used in each region.

균사 성장을 위해서 사용한 V8 juice 액체 배지에서 배양이 되지 않아 포자 형성이 실패하였고, 나머지 23개 균주만이 포자를 형성하였다고 보고하였다. 본 실험에서는 사용한 전체 균주의 88.2%인 150개 균주가 포자를 형성하였으며, 지역 균주 집단의 평균 포자 형성량에는 통계적인 차이가 있었다. 평창 균주 집단에서 11균주, 구미에서 6균주, 제주에서 8균주를 선발하여 'Chamjoen' 품종에 대한 병원성을 검정한 결과(Fig. 5), 각 지역의 평균 발병률에는 통계적인 유의성이 없었다. 이처럼 배지에서 형성된 포자의 병원성에는 차이가 없었지만, 포자 형성량에는 통계적으로 유의한 차이가 있었기 때문에, 병원균의 대표 균주를 선정하기 위해서는 다양한 균주를 사용하여 포자 형성 능력과 병원성 등과 같은 다양한 특성을 조사한 후에 결정해야 할 것으로 생각한다.

이상의 결과에서 보는 것처럼 본 연구의 포자 형성 방법을 따라 *A. dauci*를 배양한다면, 특성이 균일한 포자를 대량으로 얻을 수 있기 때문에, 병원균을 접종해야 하는 여러 가지 연구에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각한다.

요 약

당근 검은잎마름병을 일으키는 *Alternaria dauci*의 병원성 검정을 위해서는 양과 질이 우수한 포자를 형성할 수 있는 조건의 표준화가 필요하다. 따라서 본 실험에서는 배지의 종류, 통

기 처리, UV 처리 등이 *A. dauci* KACC42997의 포자 형성에 미치는 효과를 조사하였다. *A. dauci* KACC42997은 25°C, 암 상태의 PDA 배지에서 7일간 전배양하였다. 배지 상에 나타난 병원균의 공중 균사를 제거하고, 20°C에서 통기 처리와 12시간 주기의 UV 처리를 동시에 실시하며 5일간 배양하였을 때, 가장 많은 포자를 형성하였다. 확립 포자 형성 조건에서 평창, 구미, 제주 등 당근의 주요 재배지역에서 분리한 170개의 다양한 *A. dauci* 균주가 포자를 형성하는지의 여부를 확인한 결과, 20개 균주가 포자를 형성하지 못하였고, 88.2%의 균주는 포자를 형성하였다. 또한 지역 균주 집단 간의 포자 형성량에는 차이가 있었지만, 당근에 대한 병원성에는 차이가 없었다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgments

This work was supported by a funding for the academic research program of Chungbuk National University in 2022.

References

- Bounds, R. S., Podolsky, R. H. and Hausbeck, M. K. 2007. Integrating disease thresholds with TOM-CAST for carrot foliar blight management. *Plant Dis.* 91: 798-804.
- Campbell, M. A., Medd, R. W. and Brown, J. B. 2003. Optimizing conditions for growth and sporulation of *Pyrenophora semeniperda*. *Plant Pathol.* 52: 448-454.
- Douglas, D. R. 1972. The effect of light and temperature on the sporulation of different isolates of *Alternaria solani*. *Can. J. Bot.* 50: 629-634.
- Dugdale, L. J., Mortimer, A. M., Isaac, S. and Collin, H. A. 2000. Disease response of carrot and carrot somaclones to *Alternaria dauci*. *Plant Pathol.* 49: 57-67.
- Farrar, J. J., Pryor, B. M. and Davis, R. M. 2004. *Alternaria* diseases of carrot. *Plant Dis.* 88: 776-784.
- Fourtouni, A., Manetas, Y. and Christias, C. 1998. Effect of UV-B radiation on growth, pigmentation, and spore production in the phytopathogenic fungus *Alternaria solani*. *Can. J. Bot.* 76: 2093-2099.
- Grogan, R. G., Kimble, K. A. and Misaghi, I. 1975. A stem canker disease of tomato caused by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology* 65: 880-886.
- Houston, B. R. and Oswald, J. W. 1946. The effect of light and tem-

- perature on conidium production by *Helminthosporium gramineum* in culture. *Phytopathology* 36: 1049-1055.
- Jimenez, M. F. and Miller, R. C. 1966. Effect of light on the sporulation of *Alternaria tenuis*. *Phytopathology* 56: 883.
- Kwon, M., Ryu, K. Y., Kim, J. S. and Shin, G. Y. 2007. Occurrence pattern of pests in carrot fields and effect of plant debris removal after harvest at highland area. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 25: 316-321. (In Korean)
- Langenberg, W. J., Sutton, J. C. and Gillespie, T. J. 1977. Relation of weather variables and periodicities of airborne spores of *Alternaria dauci*. *Phytopathology* 67: 879-883.
- Latham, A. J. 1974. Effect of moisture on conidiophore morphology of *Cristulariella pyramidalis*. *Phytopathology* 64: 1255-1257.
- Li, C., Sachs, M. S. and Schmidhauser, T. J. 1997. Developmental and photoregulation of three *Neurospora crassa* carotenogenic genes during conidiation induced by desiccation. *Fungal Genet. Biol.* 21: 101-108.
- Lukens, R. J. and Horsfall, J. G. 1973. Processes of sporulation in *Alternaria solani* and their response to metabolic inhibitors. *Phytopathology* 63: 176-182.
- Miller, P. M. 1955. V-8 juice agar as a general purpose medium for fungi and bacteria. *Phytopathology* 45: 461-462.
- Park, K. H., Yun, H. J., Ryu, K. Y., Yun, J. C., Kim, S. R., Kim, W. I. et al. 2011. Influence of environmental factors on conidial germination of *Alternaria dauci*. *Res. Plant Dis.* 17: 381-385. (In Korean)
- Pruß, S., Fetzner, R., Seither, K., Herr, A., Pfeiffer, E., Metzler, M. et al. 2014. Role of the *Alternaria alternata* blue-light receptor LreA (white collar 1) in spore formation and secondary metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.* 80: 2582-2591.
- Pryor, B. M., Strandberg, J. O., Davis, R. M., Nunez, J. J. and Gilbertson, R. L. 2002. Survival and persistence of *Alternaria dauci* in carrot cropping systems. *Plant Dis.* 86: 1115-1122.
- Rodrigues, T. T. M. S., Maffia, L. A., Dhingra, O. D. and Mizubuti, E. S. G. 2010. *In vitro* production of conidia of *Alternaria solani*. *Trop. Plant Pathol.* 35: 203-212.
- Schouten, H. J., van Tongeren, C. A. M. and van den Bulk, R. W. 2002. Fitness effects of *Alternaria dauci* on wild carrot in The Netherlands. *Environ. Biosafety Res.* 1: 39-47.
- Shahin, E. A. and Shepard, J. F. 1979. An efficient technique for inducing profuse sporulation of *Alternaria* species. *Phytopathology* 69: 618-620.
- Soteros, J. J. 1979. Pathogenicity and control of *Alternaria radicina* and *A. dauci* from imported carrot seed in New Zealand. *N. Z. J. Agric. Res.* 22: 191-196.
- Strandberg, J. O. 1983. Infection and colonization of inflorescences and mericarps of carrot by *Alternaria dauci*. *Plant Dis.* 67: 1351-1353.
- Vargas, J. M. and Wilcoxson, R. D. 1969. Some effects of temperature and radiation on sporulation by *Helminthosporium dictyoides* on agar media. *Phytopathology* 59: 1706-1712.