

포도나무 갈색무늬병균(*Pseudocercospora vitis* (Lév.) Speg.)의 생육에 미치는 온도의 영향과 갈색무늬병 발생 포도나무의 피해해석

박종한* · 한경숙 · 이중섭 · 서상태 · 장한익 · 김홍태¹
원예연구소 원예환경과, ¹충북대학교 식물의학과

Effect of Temperature on Pathogen Growth and Damage Analysis of Leaf Spot Disease on Grapevine Caused by *Pseudocercospora vitis* in Korea

Jong-Han Park*, Kyeong-Suk Han, Jung-Sup Lee, Sang-Tae Seo, Han-Ik Jang and Heung-Tae Kim¹

Horticultural Environment Division, National Horticultural Research Institute, Suwon 441-440, Korea

¹Department of Plant Medicine, Chungbuk Natl. University, Cheongju 361-763, Korea

(Received on November 3, 2005)

This study was carried out to know damages of the grapevine trees by the disease to the leaf spot from 2000 to 2003. The isolates collected from different varieties and locations were identified as *Pseudocercospora vitis* (Lév.) Speg. based on the morphological and cultural characteristics. According to the *in vitro* test, the range of temperatures for the mycelial growth and the conidial germination of the fungus were from 10°C to 35°C and optimum temperature was 25°C. There were remarkably different features between a low infection trees group and high infection trees group in terms of number of leaves per fruit branch, length and diameter of internode and leaf area.

Keywords: Damage analysis, Grapevine, Leaf spot, *Pseudocercospora vitis*

포도는 과수 중 가장 오랜 재배역사를 가진 작물로 지금 구상에 처음 출현한 것은 중생대 백악기(1억 4,000만년전)라고 하는 고고학자들의 주장이 있으나 명확하지는 않다. 세계 각지에서 포도가 널리 재배된 것은 16세기 이후이며 그 후 재배면적이 계속 확대되어 오늘에 이르고 있다. FAO 통계에 따르면 세계 포도재배면적은 1,000만 ha이상 되기도 하였으나, 2003년 현재 7,517천 ha이고 생산량은 6,235만 톤 내외인 것으로 되어있다. 농림부 농림통계자료에 의하면 우리나라 포도 생산액은 2004년 말 7,852억원으로 전체 과실생산액 29,416억원의 26.7%를 차지하고 있는 작물이며 전체 생산액에서 포도생산액이 차지하는 비율은 증가하고 있는 추세이다.

우리나라 포도나무에는 현재 23종의 병이 발생하는 것으로 보고되어 있으며 이중 19종이 진균병이다(한국식물병리학회, 2004). 미국의 경우 29종의 진균병이 기록되어

있다(Pearson과 Goheen, 1998). 포도 재배기간 중의 갈색무늬병 발생률은 캠벨얼리 품종에서 94.5%에 이르기까지 하나, 거봉 품종에서는 발생이 미미하여(김 등, 1980; 박과장, 2003) 국내 주요 두 품종에서의 품종 간 발생에 큰 차이를 나타내고 있다. 또한 포도 갈색무늬병은 우리나라에서는 7월부터 발생되기 시작하는데 장마기를 지나면서 급격하게 확산되어 방제시기를 놓치는 경우에는 병의 만연에 의한 피해가 심하게 나타난다고 하였다(김 등, 1980; 박과장, 2003; 충북대학교 농과대학, 1998).

우리나라에서는 여름철 고온다습한 기후와 겨울철 극한기온으로 유럽종 포도는 노지월동이 어려워 미국종 또는 교잡종 품종이 주로 재배되고 있다. 우리나라는 전 세계에서 미국종 계통의 재배면적이 가장 많은 나라가 되었으며 특히, 일본의 북해도 지역 약간을 제외하면 캠벨얼리 품종을 재배하는 유일한 나라가 되었다(김 등, 1999; 농촌진흥청, 2002). 따라서 캠벨얼리 품종에서 큰 문제가 되고 있는 포도 갈색무늬병에 대한 연구는 전세계적으로 매우 드물다.

*Pseudocercospora*속 균은 불완전균강(Class Deuteromycetes),

*Corresponding author
Phone) +82-31-290-6231, Fax) +82-31-290-6259
E-mail) pjhn@rda.go.kr

선균목(Order Melanconiales), 속상선균과(Family Stillbaceae)에 속하여 분생자경속(coremium)을 형성하는 균으로, 명명법상 동의어(nomenclatural synonym)와 분류학상 동의어(taxonomic synonym)의 변천이 상당히 많았던 분류군이다. Shin과 Braun(1993), Shin과 Kim(2001)에 의하면 현재 40종의 식물 병원균이 *Pseudocercospora* 속에 포함되어 여러 식물에 점무늬병을 비롯한 각종 병을 일으키고 있다. *Pseudocercospora* 속 대부분의 병원균이 병을 일으키는 기주식물이 경제성이 큰 작물이 아니기 때문에 이에 대한 체계적인 연구는 없고 병원균의 기주식물로 기록만 유지되는 형편이다. *Pseudocercospora* 속 식물 병원균은 *P. abelmoschi*는 무궁화나무(*Hibiscus syriacus*), *P. vitis*는 왕머루(*Vitis amurensis*)와 포도나무(*V. vinifera*)에 병을 일으키는 등 40종의 균이 49종의 기주식물에 점무늬병 등 각종 병을 일으키고 있다.

우리나라에서 포도갈색무늬병 발생은 *Phaeoisariopsis vitis*에 의한 반점병으로 1928년 조선총독부 관업보병장 연구보고에 처음 기록되어 있다. 1958년에는 *Ph. vitis*에 의한 포도 갈색무늬병은 우리나라 전역에 광범위하게 분포하며 피해가 크다고 기록되었다(박, 1996). 그 후 1993년 신 등에 의해 *P. vitis*로 기록되었고, 기주식물로는 왕머루와 포도나무가 있다고 하였다(Shin과 Braun, 1993; Shin과 Kim, 2001). 현재 우리나라에서는 농촌진흥청 원예연구소에서 1995년 이후 매년 주요 포도 재배지역에서의 대량적인 발생상황을 조사, 기록하고 있다(박 등, 2004; 박과 장, 2003; 박, 2002).

따라서 본 연구는 우리나라에서는 크게 문제가 되고 있는 *P. vitis*에 의한 포도나무 갈색무늬병균에 대한 기초적인 특성을 파악하고 다발생에 의한 수체에 미치는 피해해석을 하고자 수행하였다.

재료 및 방법

병원균의 분리 동정. 갈색무늬병의 병원균 분리를 위하여 2000년부터 2003년에 걸쳐 전국 6개 지역에서 갈색무늬병에 걸린 포도 잎을 채집하여 87균주를 분리하였다 (Table 1). 전형적인 갈색무늬병 증상을 나타내는 잎을 채집하여 살균 중류수로 표면을 세척한 후 건전부와 병든부위의 경계 부분을 잘라내어 70% 에틸알코올로 약 2분간 침지 살균하고 살균 여과지를 이용하여 에틸알코올을 완전히 제거한 후 0.9% 차아염소산나트륨(NaOCl) 용액에 약 2분간 침지하여 표면 살균을 하였다. 표면 소독 후 살균 중류수로 3회 세척하고 세균의 오염을 방지하기 위하여 streptomycin(500 µg/ml)을 첨가한 감자한천배지(potato

Table 1. Number of isolates of *Pseudocercospora vitis* obtained from diseased grapevine leaves (cv. 'Champbell Early') for this study

Locations (City, Province)	Number of isolates
Suwon, Gyeonggi	26
Yongin, Gyeonggi	9
Asan, Chungnam	12
Chungju, Chungbuk	9
Youngweol, Gangwon	8
Sangju, Gyeongbug	23
Total	87

dextrose agar, PDA)에 접종하였다. 분리된 병원균은 26±1°C 항온기에 배양하면서 배지에서 신장되는 균사의 선단부분을 취하여 V8 juice agar(V8JA) 배지에 옮겨 순수 배양하였다. 순수 분리한 균주들은 26±1°C 항온기에서 약 40일간 배양하여 포자 형성을 유도한 후 4±1°C 냉장고에 보관하면서 시험균주로 사용하였다. 분리균의 동정은 기존에 기록된 *Pseudocercospora vitis*에 관한 기술 내용(Shin과 Braun, 1993; Shin과 Kim; 2001)과 균사 및 분생포자의 형태와 생리적 특성 등을 비교하여 검토하였다.

병원균의 균사 생장과 분생포자 발아에 미치는 온도의 영향. 온도 변화에 따른 균사생장을 조사하기 위한 시험배지는 V8 juice agar를 사용하였다. 접종원은 우리나라 6개 지역에서 채집한 균주 중 지역별로 1균주씩 6개 균주를 사용하였다. PDA 배지에서 30일 정도 전배양한 균총의 가장자리로부터 직경 5 mm인 cork borer로 균사 절편을 만들어 배지의 중앙에 접종하였다. 항온기의 온도를 10, 15, 20, 25, 30 및 35°C로 설정하여 45일간 배양한 후 균총의 직경을 조사하였다. 실험은 5반복으로 실시하고, 유의성 검정을 위하여 SAS(Statistical Analysis System, Inc. 1999) 프로그램을 이용하여 Duncan의 다중검정을 실시하였다. 온도 변화에 따른 분생포자 발아율을 조사하기 위한 접종원은 용인(GYI-6)과 충주(GCJ-9)에서 채집하여 분리한 2개 균주를 사용하였다. 설정 온도 범위는 10°C에서 35°C까지 5°C 간격으로 처리하였다. V8JA 배지에 형성된 포자를 멸균 살균수로 수확하여 살균된 세 겹의 거즈로 여과하여 포자현탁액의 농도를 $2\sim3\times10^4$ 분생포자/ml로 조절하였다. 농도가 조절된 포자 현탁액을 2% 물한천배지(water agar, WA)에 약 15ml 분주된 87×15 mm 1회용 petri-dish의 5지점에 접종하였다. 포자발아율은 설정 온도에서 15시간 배양 후 조사하였다. 조사 시간 동안 포자의 발아를 억제하기 위하여 lactophenol로 고정한 후, 2°C 저온고에 보관하며 조사하였다. 3반복으로 반복당 400개의 포자를 조사하였다.

갈색무늬병 발생주의 생육변화. 갈색무늬병에 심하게 걸린 포도나무와 비교적 건전한 포도나무 사이의 이듬해 생육상황을 파악하고자 수원시 당수동에 위치한 포도 재배 농가에서 2000년 9월 18일에 발병률과 결과지당 부착되어있는 잎 수를 조사하여 기록한 후, 해당 조사주에 번호표를 부착하였다. 다음해인 2001년 5월 22일에 같은 주의 생육상황을 조사하였다. 생육조사는 캠벨얼리 품종에서 실시하였다. 전년도 병 발생조사 자료의 이병률을 기준으로 갈색무늬병에 심하게 발병된 포도나무와 병 발생이 경미한 포도나무 각 10주씩을 조사하였으며, 절간장, 절간 직경은 각 결과지의 1~5절간 각 100반복 조사를 실시하여 평균값을 사용하였다. 현재까지 포도나무 갈색무늬병의 다발생에 의한 피해해석은 과실의 당도저하 측면에서만 발표된 바 있다(박 등, 2004).

결과 및 고찰

병원균의 분리 동정. 전국의 포도 과원에서 채집한 병든 잎으로부터 순수 분리한 병원균을 기 보고된 *Pseudocercospora vitis*에 관한 내용(Shin과 Braun, 1993; Shin과 Kim, 2001)과 균사 및 분생포자의 형태와 생리적 특성 등을 비교한 결과(Table 2), 분생자경은 9~42개로 다발을 이루고, 분생자경의 색깔은 옅은 올리브색에서 짙은 갈색을 띠기도 하며 4~8개의 격막을 가지고 있으나 분지하지는 않으며, 약간 직선에서 약간 굽은 형태이거나 어떤 것은 끝에서 굽기도 한다. 분생자경의 크기는 120~300 × 3.0~5.5 μm이나 긴 것은 500 μm 이상되기도 하는 특성 역시 본 연구를 위해 분리한 균과 일치하였다. 분생포자

의 크기는 45~90 × 5.0~9.0 μm 정도이며, 단생(單生)하고, 곤봉모양을 하기도 하며 약간 길고 직선형이거나 약간 굽은 형태이고, 옅은 올리브색에서 짙은 갈색을 나타낸다. 표면은 평탄하거나 가끔은 주름지고 거칠기도 하지만, 정단에서는 넓고 둥근 모양이다. 이상의 선행연구에 의한 기술 내용과 본 연구를 위해 분리한 균과 일치하므로 본 연구에 이용한 균을 *Pseudocercospora vitis*로 동정하였다.

병원균의 균사생장과 분생포자 발아에 미치는 온도의 영향. 온도 변화에 따른 병원균의 균사생장과 분생포자 발아시험을 실시한 결과(Table 3, Fig. 1), 시험에 사용된 6개 균주의 균사생장은 25°C에서 가장 잘 자란 GYI-6 균주의 일일평균생장량이 1 mm 정도로 다른 일반 식물병원균에 비하여 현저히 늦은 편이었다. V8JA 배지에 균 접종 45일 후에 균총의 직경을 측정한 결과, 6균주 모두 20~30°C 온도범위에서 균사생장이 좋았고 25°C에서 가장 왕성한 생장을 하였다. 채집한 지역에 따라서는 편차가 거의 없었다. 용인(GYI-6)과 충주(GCJ-9)에서 채집하여 순수 분리한 2균주의 온도변화에 따른 분생포자 발아율을 조사한 결과, 20~30°C 범위에서 발아율이 높았고 25°C에서 가장 높은 발아율을 나타냈으나, 35°C에서 균사생장은 현저히 억제된 반면 분생포자 발아는 억제 경향이 다소 완만한 특징을 나타냈다. 이와 같은 결과는 분생포자 발아 온도는 15~35°C가 적은 범위이고 25°C가 최적이었다는柴 등(2002)의 결과와 일치하였다. 또한 시험을 실시한 GYI-6 균주의 발아율과 온도 사이의 관계에서 $y = -0.1336X^2 + 6.9892X - 45.221$ ($R^2 = 0.992$), GCJ-9 균주의 발아율과 온도 사이의 관계에서는 $Y = -0.179X^2 + 9.5185X - 70.848$ ($R^2 = 0.9764$)의 회귀모형을 각각 유도할 수 있어

Table 2. Comparative description of morphological characteristics of *Pseudocercospora* sp. isolate obtained from grapevine in Korea with *P. vitis* previously described

Characteristics	Present isolates	<i>Pseudocercospora vitis</i> ^a
Mycelia	septate, branched subhyaline to pale olivaceous	septate, branched subhyaline to pale olivaceous
Stromata	well-developed, globular brown to dark brown	well-developed, globular pale brown to moderately dark brown
Conidiophores	densely packed coremioid fascicle, pale olivaceous to brown, 3-9 septate, not branched substraight to sinuous, or geniculate at the apex	6-40 in a densely packed coremioid fascicle synnematous, pale olivaceous to dark brown, 4-8 septate, not branched substraight to mildly sinuous, or somewhat geniculate at the apex 120-300 × 3.0-5.5 μm, sometimes up to 500 μm long
Conidia	35-90 × 4.0-10.5 μm, solitary obclavato-cylindric straight to mildly curved, varying from rather pale olivaceous to dark brown, smooth or wrinkled rough, rounded at the apex	45-90 × 5.0-9.0 μm, solitary obclavate to obclavato-cylindric straight to mildly curved, varying from rather pale olivaceous to dark brown smooth or often wrinkled-rough, broadly rounded at the apex

^a Described by Shin and Kim (2001).

Table 3. Mycelial growth of six isolates of *Pseudocercospora vitis* associated with leaf spot of grapevine at different temperatures

Temperature (°C)	Diameter of mycelial growth (mm) ^a					
	GSW-2	GYI-6	GAS-7	GCJ-9	GYW-10	GSJ-11
10	10.3 d ^b	12.7 d	7.7 d	10.3 d	13.3 d	8.3 c
15	13.7 d	18.7 c	14.0 c	16.3 c	18.7 c	17.7 b
20	39.7 b	43.0 b	38.3 b	36.3 a	38.0 a	38.3 a
25	44.7 a	46.3 a	42.3 a	36.7 a	42.0 a	38.7 a
30	39.3 b	43.7 ab	39.7 ab	32.3 ab	40.0 a	38.0 a
35	17.3 c	9.7 e	9.3 d	9.3 d	15.7 d	10.3 c

^aMycelial growth was measured 45 days after incubating on V8JA media.

^bValues are the mean of 5 replications. Values with the same letter in the column indicate insignificantly different ($P=0.05$) according to Duncan's multiple range test.

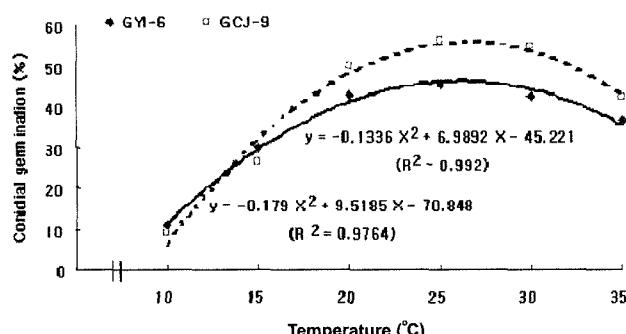


Fig. 1. The percentage of conidial germination of *Pseudocercospora vitis* isolates associated with leaf spot of grapevine at different temperatures.

시험을 실시한 두 균주 간에는 GYI-6가 발아율이 다소 낮았으나 두 균주 모두 높은 R^2 값을 나타내어 *P. vitis* 균의 균사생장 및 분생포자 발아와 온도사이에는 밀접한 관계가 있음을 알 수 있었다.

Pseudocercospora vitis 균의 배양에 관한 연구로는 분생포자 형성에 관하여, 포도 갈색무늬병은 포도 잎에 발생하며 격발하면 조기낙엽으로 피해가 심하나, 병원균의 균사생육이 매우 느리며 포자형성도 불량하므로 이 병에 대한 생리생태연구에 지장을 초래한다는 기록과 함께 분생포자 형성 조건과, 병원균의 균사를 마쇄하여 PDA 평판배지에 도말하여 균사 절편에 의한 포자형성 정도를 조사하여, 형광등 조명조건에서 V8JA 배지에서, 탄소원 중에는 inositol, 배양온도는 25°C, pH는 6.0 조건이 분생포자형성의 최적조건임을 구명한 바 있다(田代와 井手他, 1997). 한편 분생포자 발아에 대한 연구로는 중국에서 柴 등(2002)에 의해 온도는 15~35°C가 범위이고 25°C가 최적이었으며, 40°C에서는 발아율이 현저히 감소하였고, 50°C 이상에서는 분생포자 발아가, 54°C 이상에서는 균사생장이 완전히 정지됨을 구명하였다. pH에 있어서는

Table 4. Growth comparison of the low and highly diseased grapevine trees

State of trees	Max. ratio of diseased leaves ^a	No. of leaves per fruit branch ^b	Internode length ^c (cm)	Internode diameter ^c (mm)
Low infected	10.7	11.8a	9.07	8.12
Highly infected	94.5	0.7b	6.74	5.09

Cultivar: 'Campbell Early'.

^aInvestigated on 18th Sep., 2000.

^bInvestigated on 8th Nov., 2000.

^cInvestigated on 22nd May, 2001.

분생포자 발아가 가능한 범위는 pH 3~13, 좋은 조건은 pH 5~9, 최적 pH는 7이었고, 분생포자 발아에는 상대습도가 93% 이상이어야 함을 보고한 바 있으나(柴 등, 2002), 정작 가장 문제가 되는 우리나라에서는 발표된 바가 전혀 없다.

갈색무늬병 발생 포도나무의 생육변화. 갈색무늬병에 심하게 걸린 포도나무의 이듬해 생육상황을 조사하고자 수원시 당수동에 위치한 포도 농가에서 실시한 생육조사 결과(Table 4), 갈색무늬병이 심하게 발생한 포도나무의 집단과 비교적 건전했던 포도나무의 집단 간에는 갈색무늬병에 의한 조기낙엽으로 당해연도의 결과지당일 수에서 현저한 차이를 보였다. 다음 해의 결과지 마디의 길이는 갈색무늬병이 심하게 발생한 포도나무의 집단은 6.74 cm이었던 반면 비교적 건전했던 포도나무의 집단은 9.07 cm로 차이를 나타냈으며, 마디의 직경은 각각 5.09 mm와 8.12 mm로 차이가 현저하였다. 갈색무늬병 발생에 의한 조기낙엽과 결과지의 길이가 짧고 굵기가 가는 이 결과는 포도나무의 동화작용에 지장을 초래함은 물론이고, 동화산물의 축적 면에서도 불리하여 포도나무의 전체적인 생장에 큰 영향을 미칠 것으로 판단되었다.

초 록

2000년부터 2003년에 걸쳐 전국의 포도 과원에서 채집한 병반에서 순수 분리한 병원균을 관련 연구문헌에 기록된 *Pseudocercospora vitis* (Lev.) Speg.에 관한 기술 내용과 균사 및 분생포자의 형태와 생리적 특성 등을 비교한 결과 동일한 균으로 동정하였다. 온도변화에 따른 갈색무늬병균의 균사생장은 10~35°C에서 균사생장이 이루어 졌고, 시험온도 중에는 25°C에서 가장 왕성한 생장을 하였고, 채집한 지역에 따라서는 편차가 거의 없었다. 분생포자는 10~35°C 범위에서 발아가 가능하였고 25°C가 최적이었다. 갈색무늬병이 심하게 발생한 포도나무의 집단과 비교적 견전했던 포도나무의 집단 간에는 당해연도의 결과지당 잎 수에서 현저한 차이를 보였다. 다음 해의 결과지 마디의 길이는 갈색무늬병이 심하게 발생한 포도나무의 집단은 6.74 cm이었던 반면 비교적 견전했던 포도나무의 집단은 9.07 cm로 차이를 나타냈으며, 마디의 직경은 각각 5.09 mm와 8.12 mm로 차이가 현저하였다. 갈색무늬병 발생에 의한 조기낙엽과 결과지의 길이가 짧고 굵기가 가는 이 결과는 포도나무의 동화작용에 지장을 초래함은 물론이고, 동화산물의 축적 면에서도 불리하여 포도나무의 전체적인 생장에 큰 영향을 미칠 것으로 판단되었다.

참고문헌

충북대학교 농과대학. 1998. 포도 병해총 종합방제 기술개발. 농

- 총진홍청 농업특정연구개발사업 연구보고서. 93 pp.
- 김승철, 김충희, 조원대. 1980. 포도 주요병해 발생생태와 피해에 관한 시험. 농촌진홍청 농업기술연구소 시험연구보고서. pp. 367-371.
- 김선규, 변재균, 유영산, 윤천종, 이돈균, 이재창, 이종석, 이창후, 임명순, 임열재, 최종승, 황용수. 1999. 포도재배의 신기술. 선진문화사. 서울. pp. 15-24.
- 한국식물병리학회. 2004. 한국식물병명목록(제4판). 정행사. 779 pp.
- 박종한. 2002. 포도 노균병과 갈색무늬병 방제기술개발. 농촌진홍청 원예연구소 시험연구보고서 CD-ROM.
- 박종한, 한경숙, 이중섭, 서상태, 장한익, 김홍태. 2004. 포도나무 갈색무늬병의 최근 발생 동향과 다발생에 의한 과실의 당도저하. 식물병연구 10: 341-344.
- 박종한, 장한익. 2003. 과수 병해 발생실태 및 종류 조사. 농촌진홍청 원예연구소 시험연구보고서 CD-ROM.
- 박종성. 1996. 한국산 식물의 진균병에 관한 조사보고. 후암 박종성 교수 정년기념 논문집. 253 pp.
- Pearson, R. C. and Goheen, A. C. 1998. Compendium of grape diseases. APS Press. 30 pp.
- 농촌진홍청. 2002. 포도재배. 삼미기획. pp. 25-36, pp. 247-266.
- Shin, H. D. and Braun, U. 1993. Notes on Korean cercospora and allied genera (I). *Mycotaxon* 49: 351-362.
- Shin, H. D. and Kim, J. D. 2001. *Cercospora* and allied genera from Korea. pp. 158-231.
- 柴兆祥, 李敏權, 李金花, 2002. 葡萄尾孢菌分生孢子萌芽特性及病菌致死溫度. 植物保壦 28: 21-23.
- 田代, 井手他. 1997. ブドウ褐斑病菌(*Pseudocercospora vitis*)の分生胞子形成條件(九州部會). 日本植物病理學會報 63: 481.