

충북지방의 뿌리혹병 감염 포도나무 뿌리에서 분리한 *Agrobacterium*속 균의 특성양승업 · 박세정 · 이영기¹ · 차재순*충북대학교 식물의학과, ¹농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부 농업미생물과Characterization of *Agrobacterium* spp. Isolated from Roots of the Crown Gall-infected Grapevine in ChungbukSeung-Up Yang, Se-Jung Park, Young Kee Lee¹ and Jae-Soon Cha

Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

¹Agricultural Microbiology Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

(Received on July 6, 2009)

The roots of grapevine in the field in which the crown gall was occurred severely in Chungbuk province were collected and *Agrobacterium* spp. were isolated from the roots using the selective media. The selected 13 isolates were identified as *A. tumefaciens* with fatty acid analysis using MIDI system, nucleotide sequence of 16S rDNA, biochemical characteristics, and PCR with the species-specific primers. *A. vitis*, a pathogen of crown gall disease of grapevine was not isolated from the roots. All of the isolates did not show pathogenicity on the tomato seedlings and the stem and root of grapevine. Eric-PCR showed that DNA band patterns of the root isolates were a little more similar to *A. tumefaciens* than *A. vitis*. However, overall similarity between the root isolates and the pathogenic strains of *A. tumefaciens* and *A. vitis* was low by rep-PCR. These results suggest that a pathogen causing crown gall in grapevine in Chungbuk province may transmitted through the seedlings rather than via soil or roots.

Keywords : *Agrobacterium*, Crown gall, Grapevine, Rep-PCR

국내에서 재배되는 포도나무 중에서 겨울철 동해에 약한 거봉(Kyoho)에 혹병(crown gall)이 발생하여 많은 피해를 주고 있다(정과 심, 1996; Park 등, 2000, 김 등, 2006). 이 병의 병원균은 초기에 *Agrobacterium tumefaciens* biovar (biotype)3으로 동정되었으나(Burr와 Katz, 1983), 나중에 세균학적 특성의 차이로 *A. vitis*로 분류되었으며(Ophel과 Kerr, 1990), *A. vitis*가 포도나무 뿌리혹병의 가장 주된 병원균으로 알려져 있다(Burr 등, 1998). 국내에서 포도나무 혹병(줄기혹병)의 병원균을 최초로 보고한 논문에서도 병원균을 *A. vitis*로 동정하였고(정과 심, 1996), 최근 국내 주요 혹병 발생지인 천안, 안성, 수원 의 포도 혹에서 분리된 균이 모두 *A. vitis*로 동정되어 국내에서 발생하는 포도 혹병의 주된 병원균도 *A. vitis*로 나타났다(김 등, 2006).

많은 연구에도 불구하고 포도나무 혹병균인 *A. vitis*의

전염과정은 아직 확실하지 않은 부분이 많다. 중요 과수에 뿌리혹병을 일으키는 *A. tumefaciens*는 토양서식균(soil inhabitant)으로 토양에 서식하면서 기주식물의 상처를 통해 침입하여 혹을 유도하는 것으로 잘 알려져 있지만, 병원균 *A. vitis*는 토양에서 검출되지 않는 것으로 알려져 있다(Burr 등, 1998). 국내에서 최초로 포도나무 혹병을 보고한 논문에서도 토양에서 병원균의 분리를 시도했지만 분리되지 않았고(정과 심, 1996), 최근 포도나무 혹병균의 특성을 자세히 밝힌 논문에서도 혹병균은 모두 포도 혹에서 분리한 균이었다(김 등, 2006). 또한 *A. vitis*는 *A. tumefaciens*와 다르게 뿌리를 괴사(necrosis)시키는 능력을 가지고 있으며, 포도나무 뿌리에서는 거의 혹을 형성하지 않는 것으로 알려져 있다(Burr 등, 1998; Burr와 Otten, 1999).

포도나무 혹병은 국내 일부 감수성 품종에서 볼 수 있듯이 국부적으로 그 피해가 심각하지만 방제는 매우 어렵다. *A. tumefaciens*에 의한 뿌리혹병의 경우 길항균에 의한 생물적방제가 매우 성공적인 것에 비해 다양한 연

*Corresponding author

Phone) +82-43-261-2554, Fax) +82-43-271-4414

Email) jscha@cbnu.ac.kr

구에도 불구하고 *A. vitis*의 생물적 방제는 아직까지 성공적이지 못하다(Burr 등, 1998). 그런데 최근 비병원성 *A. vitis*을 포도나무 뿌리에 처리함에 의해 흑 발생을 억제하여 이 병의 생물적 방제에 대한 가능성을 제시하였다(Kawaguchi 등, 2008). 또한 이태리와 미국에서 야생포도의 뿌리에 비병원성 *A. vitis*가 검출되며, 이 야생포도에는 흑병이 발생하지 않는 것과 관계가 있는 것으로 암시하고 있다(Burr 등, 1998).

겨울의 동해와 밀접한 관계가 있는 것으로 생각되지만 지난 2년 동안 충북 일부 지역의 만생종 포도나무인 MBA 품종에 흑병이 매우 심하게 발생하였다. 본 연구에서는 흑병균이 발생한 포도나무의 뿌리에서 선택배지를 이용하여 *Agrobacterium* 속 균을 분리하고 동정하여 포도나무 뿌리의 균 특성과 병 발생과의 관계를 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

시료채집 및 세균의 분리. 2008-2009년 동안 충청북도 영동과 옥천 지역에서 포도나무 뿌리흑병이 발생한 MBA와 거봉 포장에서 포도 뿌리를 무작위로 채집하여 총 50 점을 채집하였다. 뿌리 1g을 흐르는 물에 깨끗이 씻어 멸균된 페이퍼타올 위에 놓고 물기를 제거한 후 70% 에탄올로 1분간 표면소독을 실시하였다. 멸균된 막자사발에 표면 소독된 뿌리 1g과 5ml의 멸균수를 넣고 마쇄한 후 상징액을 0.1 ml 채취하여 10배, 100배, 1000배로 희석하고, Schaad 등(2001)이 제시한 *Agrobacterium vitis*, *A. tumefaciens*, *A. rhizogenes*의 선택배지인 Roy and Sasser's medium, 1A, 2E에 도말하고 28°C에서 5일간 배양하였다. 각각의 배지에서 *Agrobacterium*속 균 특징적 콜로니를 선택하여 PDA와 선택배지에서 교호로 2회 스트리크하여 단콜로니를 얻어 순수 배양하였다. 분리된 균들은 동결 보존용 배지에 현탁하여 -70°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

분리균의 동정. 분리균의 지방산 분석은 Trypticase soy broth agar (TSBA)배지에 28°C에서 2일간 배양 후에 MIDI Sherlock system(MIDI, USA)을 이용하여 지방산 분석을 통해 분리균을 동정하였다. 지방산 분석 결과 *Agrobacterium*으로 동정된 균주의 16S rDNA 염기서열을 결정하고 이 염기서열을 NCBI BLAST 프로그램을 이용하여 분리균을 동정하였다.

분리균의 생리·생화학적 특성을 비교하기 위하여, *Agrobacterium* 종들을 구별할 수 있는 생리적·생화학적인 반응을 조사하였다(Schaad 등, 2001). 3-ketolactose 생산, CaCO₃가 첨가된 PDA에서 성장, pH 7.0에서의 운동

성, malonic acid에서의 알칼리 생성, ferric ammonium citrate에서의 색소 발현, melezitose에서 산의 형성, citrate utilization 반응을 조사하였다.

병원성 검정. 분리균을 PDA에 스트리크하여 2일간 배양 후 토마토 유묘와 포도 줄기에 침적종하고, 토마토는 3주 후에 포도나무에서는 5주 후 접종부위에 흑의 형성 유무를 조사하였다. 포도의 뿌리에서 병원성 검정은 PDA 배양배지에서 2일간 배양한 세균을 현탁하여 세균의 농도를 OD₆₀₀에서 0.1의 농도로 맞추었다. 포트에 심겨져 있는 포도를 뽑아 뿌리의 흙을 흐르는 물에 씻고, 뿌리 끝을 잘라 상처를 주어 1시간 동안 현탁액에 침지한 후에 다시 포트에 심어 접종하고, 접종 5주 후에 뿌리를 관찰하여 흑 형성 유무를 확인하였다.

종 특이적 primer를 이용한 PCR. Puławska 등(2006)이 사용한 *Agrobacterium* 종에 특이적인 primer를 이용하여 분리균을 동정하기 위하여 PCR를 수행하였다. PCR에 사용한 분리균의 DNA는 GeneAll® Exgene™ Cell SV Cell DNA isolation mini kit(GENEALL BIOTECHNOLOGY Co., Ltd., Korea)를 이용하여 분리하였고, 분리된 DNA는 -20°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

4종류의 primer, UF f(5'GTAAGAAGCGAACGCAGG-GAACT3'), B1R r(5'GACAA TGACTGTTCTACGCGTAA3'), B2R r(5'TCCGATACCTCCAGGGCCCCCTACA3'), AvR r(5'AACTAACTCAATCGCGCTATTAAC3'), ArR r(5'AAAA-CAGCCACTACGACTGTC TT3')가 사용되었다. PCR 반응액은 1 μl(10 ng/μl)의 template DNA, 0.5U Taq polymerase (TaKaRa, Japan), dNTP 200 μM, 20 mM Tris-HCl (pH8.0), 100 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.5% Tween®20, 0.5% Nonidet P-40®, 50% glycerol, 각각의 primer를 50 pmol을 넣고 멸균수로 최종 반응용액의 부피를 25 μl로 조절하였다. PCR 반응은 T Gradient Thermal Cycler (Biometra, Germany)를 이용하였으며, PCR 조건은 처음 94°C에서 1분간 pre-denaturation시킨 후 94°C에서 1분간 denaturation, 67°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분 30초 extension하여 총 35 cycle 실시하였으며 최종 DNA 합성은 72°C에서 10분으로 하였다. 증폭산물은 2% agarose gel에서 전기영동하였다.

Rep-PCR. 뿌리로부터 분리한 분리균의 유전적 특성을 비교하기 위해 Rademaker 등(1998)이 제안한 rep-PCR을 실시하였다. 사용한 primer는 ERIC 1R (5'ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC3'), ERIC 2 (5'AAGTAAAGTGACTGGGTGAGCG3'), BOX A1R (5'CTACGGCAA-GGCGACGATGACG3')이었다. PCR은 T Gradient Thermal Cycler (Biometra, Germany)를 이용하여 종 특이 PCR과

동일한 반응액으로 수행하였다. PCR반응은 95°C에서 7분간 초기 denaturation 과정을 거친 후에 30 cycles로 95°C에서 1분, REP(52°C에서 1분), BOX(53°C에서 1분) 65°C에서 8분간의 반응을 거쳐 최종 extension 과정을 65°C에서 16분간 반응시켰다. PCR로 증폭된 증폭산물을 1.5%의 agarose gel에 전기영동을 이용하여 증폭된 밴드를 관찰하였다.

결 과

분리균의 동정. 충북지방 포도 혹병 발생 포도원에서 채집한 50여 점의 뿌리로부터 3종류의 *Agrobacterium* 선택배지를 이용하여 *Agrobacterium*의 특이적 콜로니를 보인 총 130개의 세균을 분리하였다. 분리된 130개의 균주의 지방산을 추출하여 MIDI system을 이용하여 동정하

Table 1. The grapevine root isolates and their identification with MIDI and 16S rDNA sequence

Strain	Source			MIDI analysis (Similarity)	16s rDNA sequence
	Location	Variety	Selective media		
CBGR 14	Yeongdong	MBA	RS	<i>A. tumefaciens</i> (0.915)	<i>A. tumefaciens</i> SCAU2
CBGR 40	Yeongdong	MBA	1A	<i>A. tumefaciens</i> (0.675)	<i>A. tumefaciens</i> B228
CBGR 44	Yeongdong	MBA	RS	<i>A. tumefaciens</i> (0.832)	<i>A. tumefaciens</i> ISSDS-425
CBGR 49	Yeongdong	MBA	RS	<i>A. tumefaciens</i> (0.709)	<i>A. tumefaciens</i> AFM2
CBGR 50	Yeongdong	MBA	1A	<i>A. tumefaciens</i> (0.715)	<i>A. tumefaciens</i> ISSDS-425
CBGR 54	Yeongdong	MBA	1A	<i>A. tumefaciens</i> (0.836)	<i>A. tumefaciens</i> SCAU2
CBGR 80	Yeongdong	MBA	RS	<i>Agrobacterium</i> sp. (0.739)	<i>A. tumefaciens</i> ISSDS-425
CBGR 95	Yeongdong	Kyoho	1A	<i>A. tumefaciens</i> (0.867)	<i>A. tumefaciens</i> ISSDS-425
CBGR 102	Yeongdong	Kyoho	RS	<i>A. tumefaciens</i> (0.866)	<i>A. tumefaciens</i> ISSDS-425
CBGR 112	Okcheon	Kyoho	2E	<i>A. tumefaciens</i> (0.845)	<i>A. tumefaciens</i> ISSDS-425
CBGR 116	Yeongdong	MBA	RS	<i>A. tumefaciens</i> (0.916)	<i>A. tumefaciens</i> ISSDS-425
CBGR 117	Okcheon	Kyoho	2E	<i>A. tumefaciens</i> (0.818)	<i>A. tumefaciens</i> SCAU2
CBGR 128	Okcheon	Kyoho	2E	<i>A. tumefaciens</i> (0.731)	<i>A. tumefaciens</i> SCAU2

Table 2. Biochemical characteristics and pathogenicity of the grapevine root isolates

Strain	3-ketolactose production	Acid-clearing on PDA plus CaCO ₃	Motility at pH 7.0	Ferric ammonium citrate	Malonic acid	Citrate utilization	Melezitose	Pathogenicity	
								Tomato	Grape
CBGR 14	+	-	+	+	-	-	+	-	-
CBGR 40	-	-	+	+	-	+	-	-	-
CBGR 42	-	-	+	+	-	+	-	-	-
CBGR 44	+	-	+	+	-	+	+	-	-
CBGR 49	+	-	+	+	-	+	+	-	-
CBGR 50	+	-	+	+	-	+	+	-	-
CBGR 54	+	-	+	+	-	+	+	-	-
CBGR 80	+	-	+	+	-	+	+	-	-
CBGR 95	+	-	+	+	-	+	+	-	-
CBGR 102	+	-	+	+	-	-	+	-	-
CBGR 112	-	-	+	+	-	+	+	-	-
CBGR 116	+	-	+	+	-	+	+	-	-
CBGR 117	+	-	+	+	-	+	+	-	-
CBGR 128	+	-	+	+	-	+	+	-	-
<i>A. tumefaciens</i> (KACC 10736) /Type strain	+	-	+	+	-	+	+	NT*	NT
<i>A. rhizogenes</i> (KACC 10734) /Type strain	-	+	-	-	-	+	-	NT	NT
<i>A. rhizogenes</i> (KACC 11190) /Type strain	+	+	-	-	-	+	-	NT	NT
<i>A. vitis</i> (KACC 10777)/Type strain	-	-	-	-	-	+	-	NT	NT
<i>A. vitis</i> (KACC 11196)/Type strain	-	-	-	-	-	+	-	+	+

*NT: not tested.

였다. MIDI 결과 유사도(similarity)가 0.5 이상이며 *Agrobacterium* 속으로 동정된 35개 균주를 1차 선별하였다. 1차 선별된 분리균주의 16S rDNA 염기서열을 결정하고, 이 염기서열을 NCBI BLAST 프로그램을 이용하여 염기서열의 유사성으로 동정하고 한 시료에서 중복된 세균을 제거한 후 총 13개 균주를 *Agrobacterium* 속 균으로 확인하였다(Table 1).

분리균의 생화학적인 특성을 조사한 결과 포도나무 뿌리에서 분리된 13균주 모두 CaCO₃가 첨가된 PDA배지에서 산을 생성하지 않았으며, pH 7.0에서 운동성을 보였다. 또한 대부분의 균주가 3-ketolactose을 생산하였고, ferric ammonium citrate와 melezitose 이용성에서 양성 반응으로 나타났으며, malonic acid 이용성에서는 음성반응을 나타내었다(Table 2). 일부 분리균의 특성이 다른 반응을 보이는 예외는 있었지만 13개 모든 분리균은 *A. tumefaciens*의 특성과 가장 유사하였다(Table 2).

Puławska 등(2006)이 개발한 종 특이적 primer(UF+B1R+B2R+AvR+ArR)를 이용한 PCR 수행한 결과 표준균주에서는 *A. radiobacter*, *A. tumefaciens*, *A. vitis*, *A. rubi*에 대한 각각 184 bp, 1066 bp, 478 bp, 1006 bp의 종 특이적 PCR 증폭산물을 얻을 수 있었다(Fig. 1). 13개의 분리균을 이용한 PCR에서는 모두 *A. tumefaciens*와 동일한 크기의 DNA가 증폭되었다(Fig. 1).

분리균의 병원성 및 유전적 특성. 포도나무 뿌리에서 분리한 균의 병원성을 토마토 줄기, 포도 줄기 그리고 포도나무 뿌리에 접종하여 병원성을 확인한 결과 일부 분리균이 토마토 줄기에서 분리균을 접종하지 않고 상처만 준 처리보다 접종부위가 약간 더 부푸는 아주 미약한 병원성을 보인 균주가 있었으나 이 균주를 제외하면 모든 균주는 전혀 흑형성을 유도하지 않았다. 토마토 유묘의

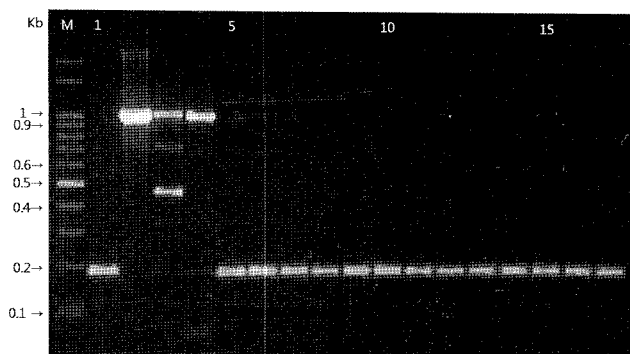


Fig. 1. The PCR products with the species-specific primers of *Agrobacterium* spp. Lane 1: *A. tumefaciens* KACC 10736, lane 2: *A. rhizogens* KACC 10734, lane 3: *A. vitis* KACC 11196, lane 4: *A. rubi* KACC 11193) and lanes 5 to 17: CBGR14, 40, 44, 49, 50, 54, 80, 95, 102, 112, 116, 117, 128.

줄기에서 무접종 처리보다 약간 더 부푸는 반응을 유도한 경우도 병원균을 접종한 경우에서 보여주는 흑 조직이 전혀 생기지 않아서 모두 병원성이 없는 것으로 표시하였다(Data are not shown). 포도나무 줄기와 뿌리에서는 분리균 모두는 전혀 흑 형성을 유도하지 않았다.

뿌리로부터 분리된 분리균 13개의 유전적 유사성을 알아보기 위하여 ERIC primer와 BOX primer를 사용하여 rep-PCR을 실시한 결과 표준균주와 분리균 모두에서 0.5 Kb에서 10 Kb의 범위에서 각각 다양한 크기의 DNA가 증폭되었다(Fig. 2). ERIC-PCR 결과(Fig. 2A) *A. tumefaciens*와 *A. vitis*의 표준균주로 사용한 4개의 균주들 사이에 가장 DNA 밴드패턴의 차이는 약 1.7 kb 크기의 DNA 존재 여부로 나타났다. 즉 *A. tumefaciens*의 2개 표준균주에서는 1.7 kb의 DNA가 증폭된 반면에 *A. vitis*에서는 그 크기의 DNA가 존재하지 않는다. 그런데 13개의 분리균에

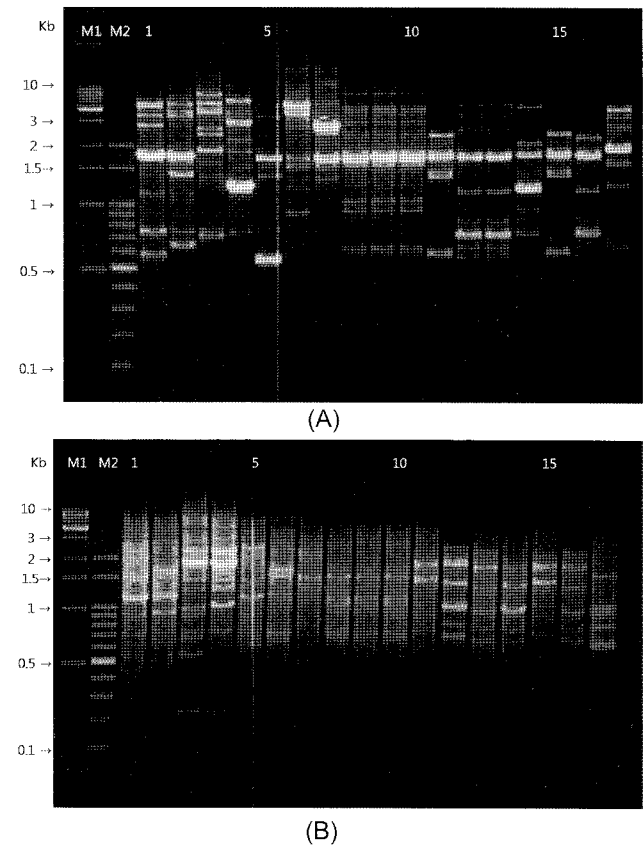


Fig. 2. Rep-PCR products of the grapevine root isolates. (A) Rep-PCR with ERIC primers and (B) Rep-PCR with BOX primers. Lanes M1 and M2 are 1 kb and 100 bp ladder of molecular weight markers. Lanes 1 to 9 are the reference strains; lane 1: *A. tumefaciens* KACC10736, lane 2: *A. tumefaciens* KACC10798, lane 3: *A. vitis* KACC10777, lane 4: *A. vitis* KACC11196. Lanes 5 to 17 are for the root isolates, CBGR 14, 40, 44, 49, 50, 54, 80, 95, 102, 112, 116, 117, 128.

서는 CBGR128 균주를 제외하고 모든 균주가 1.7 kb DNA 밴드를 가지고 있어서 포도나무 뿌리 분리균은 *A. tumefaciens*에 더 유사한 것으로 생각된다(Fig. 2A). 한편 BOX-PCR의 결과 사용한 표준균주들 사이에는 상당히 유사한 DNA 밴드패턴을 보여주고 있다(Fig. 2B). 그러나 분리균과 표준균주 사이에는 어떤 유사성도 보여주지 않고 있다(Fig. 2B). Rep-PCR의 결과는 ERIC-PCR의 결과에서 분리균과 표준균주와 일부 DNA 밴드의 유사성을 보여주고 있지만 전체적으로 포도나무 뿌리 분리균은 병원균인 *A. tumefaciens*나 *A. vitis*와는 유전적 유사성이 낮은 것으로 나타났다.

고 찰

본 연구에서 혹병이 발생한 포도나무 뿌리에서 분리한 *Agrobacterium*속 세균은 모두 비병원성 *A. tumefaciens*로 동정되었다. 일부 생화학적 특성이 전형적인 *A. tumefaciens*와 다른 균주가 있었지만 세균의 동정과 분류의 기준이 되는 생화학적 특성의 양성(positive) 또는 음성(negative)의 의미가 일반적으로 전체 분리균의 80%가 보여주는 특성임을 감안하고(Schaad 등, 2001), *Agrobacterium* 종 특이적 PCR의 결과, 그리고 MIDI와 16S rDNA 결과를 모두 종합했을 때 분리균은 모두 *A. tumefaciens*로 동정되었다. 포도나무 뿌리로부터 *A. vitis*가 분리되는지 세심하게 조사하였지만 *A. vitis*로 동정되는 분리균은 없었다. 이 결과는 포도나무 혹병이 발생한 포도나무 뿌리에는 포도나무 혹병균인 *A. vitis*가 존재하지 않음을 암시하고 있다. 많은 연구를 통해 병원균 *A. vitis*는 혹병을 유도하지 않고 포도나무에서 전신적으로(systematically) 감염하여 생존이 가능하다고 보고되었으며(Lehoczky, 1968; Burr 등, 1995; Burr 등, 1998), 잠복감염된 포도나무로부터 생산된 포도나무의 묘목을 통해 병원균의 전반이 포도나무 혹병의 중요한 전반기정으로 보고되었는데(Burr와 Katz, 1984; Burr 등, 1998), 본 연구의 결과도 충북지방의 MBA와 거봉에서 발생한 혹병이 포도나무의 뿌리나 토양을 통하여 감염이 이루어지지 않고 묘목을 통해 전반되었을 가능성을 암시하고 있다. 이 결과는 포도나무 혹병의 방제에 병원균이 오염되지 않는 건전묘를 사용하는 것이 매우 중요함을 의미하는 매우 중요한 결과로 생각된다.

Burr 등(1995)의 연구에 의하면 포도나무 혹병균인 *A. vitis*는 토양에서 감염된 포도나무의 잔재(grape tissue debris)에서 2년 동안 생존이 가능하며, 혹병이 발생한 포장에서 포도나무가 제거된 후에도 이들 잔재를 통한 전반 가능성을 있음을 보고하였다. 국내에서 포도나무 혹병은 대단

위 거봉 재배지역인 천안과 안성에서 최초로 보고되었고(정과 심, 1996), 현재도 가장 많이 발생하는 지역이므로 포도나무 혹병의 전반기정에 대해서는 앞으로 이 지역의 포장을 중심으로 보다 광범위한 토양 및 포도나무 뿌리에서의 병원균의 생태 파악이 필요하다고 생각된다.

비병원성 *A. tumefaciens*는 토양 및 식물의 근권에 매우 흔히 존재하는 것으로 알려져 있다(Burr 등 1998). 그런데 국내에서 *A. tumefaciens*에 의한 뿌리혹병은 외국으로부터 도입된 도입 병으로 알려져 있다(이, 1996). 앞으로 비병원성 *Agrobacterium* 속 세균의 국내 토양 및 식물의 근권에서 분포와 병원성 *Agrobacterium*과의 관계에 대한 더 많은 연구가 필요하다고 판단된다.

요 약

최근 혹병이 심하게 발생한 충북지방의 포도나무의 뿌리로부터 선택배지를 이용하여 *Agrobacterium*속 세균을 분리하고 동정하였다. 분리균의 지방산 분석을 통한 MIDI에 의한 동정, 16S rDNA 염기서열, 생화학적 특성, 종 특이적 primer을 이용한 PCR 결과로 13개 분리균은 모두 *A. tumefaciens*로 동정되었으며, 포도나무 혹병균인 *A. vitis*는 분리되지 않았다. 모든 분리균은 토마토와 포도나무의 줄기와 뿌리에 병원성을 나타내지 않았다. Rep-PCR 결과 분리균은 *A. tumefaciens*와 일부 유사성이 있지만 전체적으로 병원균인 *A. tumefaciens*와 *A. vitis*와는 유사성이 낮았다. 이상의 결과는 충북 일부 지방의 MBA와 거봉에서 발생한 혹병을 일으키는 병원균은 토양이나 뿌리로부터 전반되지 않고 묘목을 통해서 전반되었을 가능성을 시사하고 있다.

감사의 글

본 논문은 농림부/농림기술관리센터 지정 포도연구사업단의 연구비지원으로 수행한 결과이다.

참고문헌

- Bouzar, H. and Jones, J. B. 1992. Distinction of biovar 2 strains of *Agrobacterium* from other chromosomal groups by differential acid production. *Lett. Appl. Microbiol.* 15: 83-85.
- Burr, T. J. and Katz, B. H. 1983. Isolation of *Agrobacterium tumefaciens* biovar 3 from grapevine gall and sap, and from vienyard soil. *Phytopathology* 73: 163-165.
- Burr, T. J. and Katz, B. H. 1984. Grapevine cuttings as potential sites of survival and means of dissemination of *Agrobacterium*

- tumefaciens*. *Plant Dis.* 68: 976-978.
- Burr, T. J. and Otten, L. 1999. Crown gall of grape: Biology and disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 37: 53-80.
- Burr, T. J., Bazzi, C., Sule, S. and Otten, L. 1998. Crown gall of grape biology of *Agrobacterium vitis* and the development of disease control strategies. *Plant Dis.* 82: 1288-1297.
- Burr, T. J., Reid, C. L., Yoshimura, M., Momol, E. A. and Bazzi, C. 1995. Survival and tumorigenicity of *Agrobacterium vitis* in living and decaying grape roots and canes in soil. *Plant Dis.* 79: 677-682.
- Cooksey, D. A. and Moore, L. W. 1980. Biological control of crown gall with fungal and bacterial antagonists. *Phytopathology* 70: 506-509.
- 정광진, 심재섭. 1996. 우리나라 포도나무 줄기혹병 병원세균의 분리 및 동정. *식물병리학회지* 12: 197-201.
- Kawaguchi, A., Inoue, K. and Ichinose, Y. 2008. Biological control of crown gall of grapevine, rose, and tomato by nonpathogenic *Agrobacterium vitis* strain VAR03-1. *Phytopathology*. 98: 1218-1225.
- Kawaguchi, A., Inoue, K. and Nasu, H. 2005. Inhibition of crown gall formation by *Agrobacterium radiobacter* biovar3 strains isolated from grapevine. *J. Gen. Plant. Pathol.* 71: 422-430.
- Kawaguchi, A., Sawada, H., Inoue, K. and Nasu, H. 2005. Multiplex PCR for the identification of *Agrobacterium* biovar 3 strains. *J. Gen. Plant. Pathol.* 71: 54-59.
- Kawaguchi, A., Inoue, K. and Nasu, H. 2007. Biological control of grapevine crown gall by nonpathogenic *Agrobacterium vitis* strain VAR03-1. *J. Gen. Plant. Pathol.* 73: 133-138.
- 김종균, 임선화, 이대성, 최재을, 윤해근, 박상현, 강성수, 강희완. 2006. PCR 특이검출에 의한 국내 포도나무 혹병 (*Agrobacterium vitis*) 균주의 신속 분리 및 병원학적, 생화학적 특성 비교. *식물병연구* 12: 205-212.
- 김종균, 최재을, 강희완. 2007. 국내 포도나무 혹병(*Agrobacterium vitis*) 균주의 유전적 다양성. *식물병연구* 13: 137-144.
- 이영희. 1996. 우리나라의 외래 식물병 현황과 대책. 87-99. '96 국제 심포지엄 농산물 수출입과 식물검역. 서울대학교 농업생명환경대학 부속 농업개발연구소.
- Lehoczy, J. 1968. Spread of *Agrobacterium tumefaciens* in the vessel of grapevine after natural infection. *Phytopathol. Z.* 63: 239-246.
- Ophel, K. and Kerr, A. 1990. *Agrobacterium vitis* sp. nov. for strains of *Agrobacterium* biovar 3 from grapevines. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 40: 236-241.
- Park, K. H., Jeong, K. S. and Cha, J. S. 2000. Incidence of severe crown gall disease on tetraploid cultivars of grape in Korea. *Plant Pathol. J.* 16: 290-293.
- Puławski, J., Willems, A. and Sobiczewski, P. 2006. Rapid and specific identification of four *Agrobacterium* species and biovars using multiplex PCR. *Systematic and Applied Microbiology*. 29: 470-479.
- Rademaker, J. L. W., Louws, F. J. and de Bruijn, F. J. 1998. Characterization of the diversity of ecologically important microbes by rep-PCR genomic fingerprinting, p. 1-26. *Molecular Microbial Ecology Manual*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. 2001. *Agrobacterium*. 17-35. In Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria, 3rd ed. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota.
- Suzuki, A., Togawa, M., Ohta, K. and Takikawa, Y. 2003. Occurrence of white top of pea caused by a new strain of *Pseudomonas syringae* pv. *pisii*. *Plant Dis.* 87: 1404-1410.
- Thies, K. L., Griffin, D. E., Graves, C. H., Jr and Hegwood, C. P., Jr. 1991. Characterization of *Agrobacterium* isolates from muscadine grape. *Plant Dis.* 75: 634-637.