

GOVP1199804045

최 종  
연구보고서

634.1199  
L293P

Polymer coating에 의한 사과원 농약살포 회수  
경감법의 개발

Development of Disease Control Measures in Apple Orchards  
with Reduced Chemical Spray by Polymer Coating

경 북 대 학 교

농 립 부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “ Polymer Coating에 의한 사과원 농약 살포회수  
경감법의 개발” 에 관한 과제의 최종보고서로 제출합니다.



1997 년 12 월 일

주관연구기관명 : 경 북 대 학 교

총괄연구책임자 : 엄 재 열

연 구 원 : 이 용 현

여 백

# 요 약 문

## I. 제 목

Polymer coating에 의한 사과원 농약 살포 회수 경감법의 개발

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

사과 겹무늬썩음병은 경제적으로 가장 중요한 사과 병해이며 발생이 심한 해에는 10~30% 정도의 과실이 수확기 이전에 발병되어 썩게 되고, 수확 당시 잠복 감염된 과실은 저장 유통 기간 중에 발병하며 그 비율이 40% 이상이다. 경북지방의 사과원에서는 연간 16회 이상의 살균제를 살포하고 있는데 그중 절반 이상이 겹무늬썩음병의 방제를 주목적으로 하고 있다. 따라서 이 병에 대한 효과적 방제 대책의 수립은 사과의 생산성 향상뿐만 아니고 살균제 살포 회수의 절감을 가져 올 수 있을 것으로 생각된다. 그리고 현재의 사과원 방제 체계에서는 살균제의 살포 시 그 실효성과 관계없이 살충제를 첨가하는 것이 일반적 관행이므로 살균제 살포 회수를 줄이게 되면 살충제 살포 회수도 자연히 줄어들 수 있을 것으로 생각된다.

## III. 연구개발 내용 및 범위

이 연구의 최종 목표는 사과나무 가지에 형성된 겹무늬썩음병 병반을 고분자 물질로 도포 하여 과실 감염의 전염원 분산을 차단하므로 농약의 살포 회수를 줄이는 방법을 개발하는 것이다.

1차년도 연구에서는 적절한 polymer를 선정하고, 이를 사과나무 가

지에 도포 할 경우, 겹무늬썩음병균의 포자분산을 어느 정도까지 저지할 수 있는지 검토했으며, 겹무늬썩음병 방제효과를 얻기 위한 polymer피막의 최소 유지 기간을 설정하기 위해 경북 지역의 5개 지점에서 겹무늬썩음병균 포자분산 상황을 조사했다. 또 polymer의 도포가 사과나무 생육에 미치는 영향을 조사했다.

2차년도 연구에서는 겹무늬썩음병 감염 가능 기간 전반에 걸쳐 포자의 분산을 저지할 수 있는 polymer를 선정하고, polymer의 물성을 개선하는 연구를 하는 한편 polymer의 도포에 의한 사과나무 생리 장애의 가능성을 검토하고, polymer 도포 전에 처리하여 병원균의 사멸을 촉진시킬 수 있는 농약을 선발하고 그 이용 가능성을 검토했다. 나아가서 살균제의 살포 회수를 대폭적으로 경감시킨 새로운 살균제 살포력을 개발하기 위해 겹무늬썩음병의 감염시기, 감염시기와 발병시기 등의 발생생태에 관한 연구, 각종 보호살균제의 겹무늬썩음병에 대한 보호효과 최대지속기간의 조사에 의해 살포 간격을 늘리기 위한 약제의 선발, EBI가 과실 조직에 침입한 병원균을 사멸시킬 수 있는 시기의 탐색에 의한 적정 살포 시기의 결정, 잎에 발생하는 병해를 겹무늬썩음병과 동시 방제할 수 있는 약제의 선발 등에 관한 실험을 수행했다. 이러한 실험 결과에 근거하여 연간 살균제 살포 회수를 10회로 한정된 살포력을 작성했다.

3차년도 연구에서는 과수원에서 polymer를 도포하고 2년차 연구에서 개발된 살균제 살포력을 적용 그 방제효과를 검증했다.

#### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

##### 가) 연구개발 결과

○ 사과나무 가지 도포제로 사용 가능한 것은 polyvinylalcohol(PVA)이 가장 적합한 것으로 밝혀졌다.

○ PVA에 chitosan을 혼합하면 인장강도와 신장율이 현저히 개선되었다.

○ PVA 3%에 chitosan 1%를 혼합하여 도포한 결과 사과의 생육기간 거의 전반을 통해 포자의 분산을 90% 이상 저지 가능하였다.

○ Chitosan은 겹무늬썩음균의 포자 발아 및 균사생장을 현저히 억제하였다.

○ PVA-chitosan 혼합 필름에서는 chitosan의 혼합량을 증가시킴에 따라 곰팡이의 생육이 왕성하였으므로 chitosan에 의해 PVA의 붕괴 또는 생분해성마저도 촉진 될 수 있을 것으로 판단되었다.

이상의 결과를 종합하면 겹무늬썩음병의 방제를 위한 사과나무 가지 도포용 polymer는 3% PVA와 1% chitosan혼합물이 가장 이상적인 것으로 밝혀졌다.

○ Polymer 도포에 의해 병세의 진행은 막을 수 없었다.

○ Polymer도포 전에 benzimidazole계 살균제를 처리하면 polymer의 농도를 더 낮출 수 있을 것으로 밝혀졌다.

○ Polymer coating은 사과나무의 생육에는 전혀 영향이 없었다.

○ 살균제 살포력의 개발

- 겹무늬썩음병은 6월 상순부터 감염이 시작되었고 7월 상순까지 70%이상의 과실이 감염되며 7월 중순까지는 90%이상이 감염되었다.

-생육 초기에 감염된 과실은 거의 수확후 가온처리에 의해 발병되었으며 생육 후기에 감염된 과실은 대부분 수확 전에 발병하였다.

-보호살균제의 보호효과 최대지속기간을 조사한 바 iminoctadine triacetate만 7월 하순 이전에 15일간 보호효과가 지속되었고, 침투이행성이 없는 약제임에도 불구하고 매우 높은 치료효과가 확인되었다.

-EBI의 겹무늬썩음병 치료효과는 7월 하순 이후에 높아지기 시작하였고 8월 상중순경의 살포에서는 수확전 발병이 거의 완전히 억제되었다.

-EBI의 보호효과는 7월 상순경에는 대단히 낮았으나 이 약제의 적정 사용시기인 8월 상순경에는 어떻게 될지 아직 밝히지 못했다.

-겹무늬썩음병 방제 약제의 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병 방제효과를 검정한 결과, iminoctadine-triacetate는 이들 두 가지 병에 대해서도 탁월한 방제효과가 있었고 다음으로는 propineb의 효과가 높아 겹무늬썩음병 집중감염기 이전에 사용할 수 있을 것으로 판단했다.

#### ○ 방제력의 작성

보호살균제인 iminoctadine-triacetate가 치료효과와 보호효과를 겸하고 있으며 그 지속기간이 15일 이상이 된다는 사실과 겹무늬 썩음병의 발병 직전인 8월 상중순경에 침투성 살균제인 EBI를 살포하면 그 시기까지 보호살균제의 보호망을 뚫고 감염된 병원균을 한꺼번에 살멸 시킬 수 있다는 2년차 연구의 결과에 근거하여 연간 살균제의 살포 회수를 월동기 살포를 포함하여 10회로 제한한 방제력을 작성했다. 낙화 직후부터 8월 하순까지 기본적으로 15일 간격으로 살균제를 살포하는 것으로 되어 있

으나, 맑은 날씨가 계속되면 살포 간격을 더 늘릴 수 있으므로 실제로는 8~9회 정도로 종료 할 수 있을 것으로 생각했다.

○pilot farm test

이 연구의 3년차인 1997년에는 지난 2년간의 연구 결과에 근거하여 polymer coating 의 효과를 검증하기 위한 포장 실험을 수행했다.

1997년에는 사과에 각종 병해가 유난히 많은 해로 예년에 후지 품종에서 거의 발생하지 않은 탄저병이 경북의 전 사과 재배 지역에 다발 했고 갈색무늬병 및 겹무늬썩음병도 다발 했다. 이러한 병 발생 상황에서도 이 연구의 실험 포장에서의 각종 병해의 발생율은 아래와 같다.

겹무늬썩음병의 발생율은 polymer미도포-살균제 무살포구에서 46.9%, polymer 도포-살균제 무살포구에서는 38.2%가 발생하여 polymer의 도포에 의해 전염원의 밀도를 감소시킨 효과는 매우 적었다. 또 살균제를 살포한 경우 polymer도포구에서 0.8%, polymer 미도포구에서는 1.4%가 발생하여 polymer 도포 없이도 겹무늬썩음병의 발병율을 당초의 목표인 4%이하로 억제할 수 있었다. 그리고 polymer coating은 점무늬낙엽병과 갈색무늬병에 대해서는 전혀 영향이 없었으나, 발병율은 살균제 살포구에서는 거의 무시해도 좋을 정도로 억제되었다. 그러나 당초의 계획에서는 전혀 고려의 대상이 아니었던 탄저병이 금년에 대 발생했는데, 발병율이 겹무늬썩음병보다 더 높아 이에 대한 대책이 요구되었다.

이 연구에서는 당초 사과나무 줄기의 겹무늬썩음병 감염부위를 polymer로 도포하여 전염원의 밀도를 감소시킴으로서 농약의 살포 회수를 줄이려고 했다. 그러나 살균제의 살포 회수를 대폭 경감시킨 새로운 방제력을 개발하기 위한 연구 과정에서 지금까지 밝혀진 바 없는 몇 가

지 새로운 사실이 발견되었고 이를 근거로 하여 작성된 살균제 살포체계를 운용한 결과, polymer를 도포 하지 않고도 당초의 목표를 달성할 수 있다는 중요한 단서가 확보되었다.

#### 나) 활용에 대한 건의

이 연구에서 당초에 설정한 목표 살균제 살포회수를 연간 16회에서 8회로 줄이고 겹무늬썩음병의 발생율을 14%에서 4% 이내로 낮추려는 당초의 목표는 거의 달성했으나 이는 polymer coating에 의한 것 이기보다는 살균제 살포체계의 적절성에 있었던 것으로 생각된다. 즉 polymer coating이 없이도 적절한 시기에 적절한 약제를 배치한다면 약제의 살포회수를 줄이고 겹무늬썩음병을 위시한 주요 병해를 경제적으로 타당성이 있는 수준으로 억제할 수 있는 것으로 것으로 나타났다.

당초의 목표를 달성했다고 해도 일년간의 연구 결과로 실용화하기에는 문제가 있을 것으로 생각된다. 더욱이 이 연구에서 개발한 방제력은 아직 완전한 것이 될 수 없으며 가장 큰 문제가 약제의 선택폭이 매우 좁아 iminoctadine-triacetate가 4회나 살포되었다는 점이다. 이 약제는 그 작용기작으로 보아 저항성균이 출현하기는 어려우나 한가지 약제를 연용하면 어떤 문제가 야기될지 예측하기 어렵다. 또 금년도 실험 포장에서 탄저병이 유난히 많았던 것도 iminoctadine-triacetate의 집중적 사용과 무관하지 않을 것으로 생각된다.

농약살포체계의 적정화에 의해 살포회수를 줄이고 경제적피해허용수준 이하로 병 발생을 억제할 수 있다는 가능성은 충분히 입증되었으나 이러한 방제체계를 일반에 보급하기 위해서는 몇 가지 선결 문제가 있다. ① 사과와 주요 병해의 발생생태에 관한 연구가 더 보완되어야 한다. 특히

금년에 갑자기 문제가 된 탄저병의 후지 품종에 있어서의 발생생태에 대한 연구가 필요하다. ② iminoctadine-triacetate의 지나친 집중을 피하기 위해 이와 유사한 작용 특성을 갖는 약제를 선발해야 하며, 선발된 약제의 점무늬낙엽병, 갈색무늬병, 탄저병, 그을음병 및 그을음점무늬병에 대한 동시 방제효과도 검토되어야 한다. ③ EBI의 점무늬썩음병에 대한 작용 상의 특성이 재확인되어야 하며, 현재 사용되고 있는 EBI제 중에 가장 적절한 것을 선발해야 한다. ④ 개발된 방제력의 적용 대상 지역을 넓히고 수년간의 반복 실험을 통해 각 지역의 특성에 맞는 방제체계가 확립되어야 한다.

이상의 결과에 의거하여 polymer coating에 관한 연구는 이 시점에서 종료하고 위에서 열거한 바와 같이 점무늬썩음병을 위시하여 사과에 발생하는 주요 병해의 발생생태와 각종 살균제의 이들 병해에 대한 작용 상의 특성에 관한 연구를 보완하는 한편 경북의 여러 지역의 특성에 부합하는 살균제 살포력을 개발하기 위한 연구를 계속할 계획이며, 살균제 살포회수를 대폭 경감시킨 방제체계가 농가에 보급되기까지는 앞으로 적어도 3년 정도는 더 소요될 것으로 생각된다.

## SUMMARY

White rot is one of the most important apple disease in Korea and the disease rate, even though quite variable by the year, is estimated to be ranging from 10 to 30% in normally managed orchard. The main target of more than one half of the fungicide sprayed in one cropping season is white rot.

Since the main inoculum of apple white rot is produced on the warts or cankers formed by the infection of *Botryosphaeria dothidea* on the stems of apple tree, it can be conceivable that the disease can be controlled through the inhibition of the spore dispersals from the lesions on the stems by coating them with certain kind of polymer. In order to confirm this concept, various concentrations of reagent or industrial grade of polyvinylalcohol (PVA) were painted in early spring and the spore dispersals were monitored from May to September. It was revealed that approximately 90% of spore dispersals can easily be inhibited by the coating of 5 and 7% of reagent grade and 9% of industrial grade of PVA. The inhibition rate was further raised by the addition of chitosan which is known as an antifungal agent against some plant pathogenic fungi and also known as a biodegradable polymer. Therefore it was concluded that the most suitable polymer for coating of apple tree stem is the mixture of 3% PVA and 1% chitosan. It was also revealed that the polymer coating has no hazardous effects on the growth of apple shoots and that of fruits.

In order to develop a fungicidal spray program which can be applicable to the orchard in which the trees were coated with polymer, several ecological

aspect of white rot and the properties of fungicides against the disease were investigated. The infection of white rot was initiated as early as late May and at the end of June more than 70% of apples were infected, and more than 90% at the middle of July. A marked tendency was found that the apples infected before late July develop symptom after harvest, and those infected in latter season usually develop it before harvest. This fact served as important information for developing the spray scheme.

In the trial conducted by artificial inoculation to select the fungicides of long life of action which enables to extend the spray interval more than 15 days, iminoctadine-triacetate, oxine-copper and folpet were first selected. In the 2nd trial to select the protective fungicides which was conducted in the subsequent year by the natural infection, iminoctadine-triacetate was turned out to be the most reliable chemical, and folpet also showed relatively good control efficacy. It was also found that iminoctadine-triacetate acts both ways as protective and curative, even though it is not systemic fungicides. A characteristic mode of action of EBIs, bitertanol and difenoconazole, was also found that the both chemical exert very low level of curative efficacy when they were sprayed before late July, but suppress the disease incidence almost completely when they were sprayed at early or middle of August. On the basis of the two findings on the mode of action of the iminoctadine-triacetate and EBIs, a spray scheme was formulated in which fungicides were sprayed with basically 15-day intervals from petal fall to late August when the risk of infection of white rot is almost over. In order to determine the effect of polymer coating on the control efficiency against white rot, and to determine availability of the spray scheme, a pilot farm test was conducted.

By the fact that no significant difference was found in the disease rate of white rot between the coated and not-coated block, it could be concluded that reduction of inoculum density by the polymer coating had little effect on the control of white rot. But white rot, the main target, was effectively controlled by the spray scheme developed in this study, and *Alternaria* blotch and *Marssonina* blotch was also suppressed to the level of neglect. However, bitter rot which has not taken into consideration in this study by its low epidemics in Fuji apple occurred seriously in this year throughout the Kyungpook Province, and could not be effectively controlled by the spray scheme of this study. It was thought that the control efficacy of each chemical employed in the spray scheme against bitter rot should be examined.

## CONTENTS

Chapter 1. Introduction	
1. Purpose of study and range of investigation .....	19
Chapter 2. Selection of Polymers and Examination of their Properties	
1. Introduction .....	22
2. Selection of polymer for coating of the apple tree .....	23
3. Antifungal activity of chitosan against pathogenic fungus of apple white rot and its physical properties .....	28
1) Antifungal activity of chitosan .....	31
2) Determination of concentration of chitosan for maintaining the protective activity .....	35
3) Examination of degradation .....	36
4. Physical properties of polymer film .....	37
1) Viscosity of solution .....	39
2) Tensile strength and elongation rate of the film .....	40
3) FT-IR spectra of PVA-chitosan film .....	41
5. Antifungal activity of chitosan, PVA-chitosan and PVA film .....	42
6. Assessment of biodegradability of the materials of film .....	44
Chapter 3. Inhibitory Effects of Polymer Coating on the Spore Dispersals in Apple White Rot	
1. Introduction .....	47
2. Examination of waterborne spore dispersals in Kyungpook Province .....	48

3. Effects of polyvinylalcohol(PVA) coating on the inhibition of spore dispersal .....	52
1) State of film on the apple tree stem by coating of PVA .....	53
2) Inhibition of spore dispersals by the coating of PVA.....	57
4. Effect of PVA-Chitosan mixture on the inhibition of spore dispersal .....	60
5. Effect of polymer coating on the development of wart and viability of pycnidia .....	64
6. Improvement of inhibitory efficacy of spore dispersal .....	66
1) Selection of fungicides inhibiting mycelial growth of <i>Botryosphaeria dothidea</i> .....	68
2) Effect of chemical treatment prior to polymer coating on the inhibition of spore dispersal .....	69
Chapter 4. Effects of Polymer Coatings on the Growth of Apple Tree	
1. Introduction .....	72
2. Effects of polymer coating on the budding of apple tree .....	72
3. Effects of polymer coating on the growth of shoot and fruits .....	73
Chapter 5. Development of fungicidal spray scheme	
1. Introduction .....	77
2. Development of artificial inoculation method for <i>Botryosphaeria dothidea</i> to the undetached apple .....	78
3. Elucidation of relationship between the time of infection and that of symptom development .....	79
1) Trial by artificial inoculation .....	79

2) Trial by natural infection .....	80
4. Effect of bagging on the disease incidence and the time of symptom development in apple white rot .....	84
5. Examination of maximum period of action for protective fungicides .....	86
1) Trial by artificial inoculation .....	86
2) Trial by natural infection .....	88
6. Eradicative efficacy of EBIs against apple white rot .....	91
7. Protective efficacy of EBIs against apple white rot .....	98
8. Time of infection period of fruit diseases except white rot .....	100
9. Control efficacy of fungicides selected to control apple white rot against Alternaria blotch and Marssonina blotch .....	102
 Chapter 6. Pilot farm test	
1. Formulation of spray scheme .....	105
2. Experimental farm design .....	107
3. Application of polymer .....	108
4. General management of experimental farm and chemical spray .....	108
5. Examination of disease incidence .....	109
1) Alternaria blotch and Marssonina blotch .....	109
2) Bitter rot and white rot .....	110
<References> .....	117

# 목 차

## 제1장 서 론

제1절 연구개발의 목적과 범위 .....	19
------------------------	----

## 제2장 코팅소재로 적합한 Polymer의 선정 및 물성 검토

제1절 서 설 .....	22
---------------	----

제2절 사과 나무 코팅에 적합한 Polymer의 탐색 .....	23
-------------------------------------	----

제3절 사과 겹무늬썩음병균에 대한 Chitosan의 항진균 활성 및 Chitosan의 물성 .....	28
-------------------------------------------------------------	----

가. Chitosan의 항진균활성 .....	31
--------------------------	----

나. 피막유지를 위한 chitosan의 농도 결정 .....	35
-----------------------------------	----

다. 겹무늬썩음병균에 의한 chitosan의 분해 여부 검정 .....	36
-----------------------------------------	----

제4절 고분자 필름의 물성 특성 .....	37
-------------------------	----

가. 용액의 점도 .....	39
-----------------	----

나. 필름의 인장강도와 신장율 .....	40
------------------------	----

다. Chitosan/PVA 혼합필름의 FT-IR spectra .....	41
-------------------------------------------	----

제5절 Chitosan, PVA-Chitosan, PVA 피막의 항진균 효과 .....	42
--------------------------------------------------	----

제6절 Polymer 피막재료의 생분해성 평가 .....	44
---------------------------------	----

## 제3장 Polymer의 도포에 의한 사과 겹무늬썩음병균 병포자의 분산 저지효과 검정

제1절 서 설 .....	47
---------------	----

제2절 경북지방의 사과 겹무늬썩음병균 병포자 비산양상 조사 .....	48
----------------------------------------	----

제3절 PVA의 농도에 따른 포자 분산 억제 효과의 검정 .....	52
---------------------------------------	----

가. PVA의 도포에 의한 피막의 상태 .....	53
나. PVA의 종류 및 농도에 따른 포자분산 억제 효과의 차이 .....	57
제4절 Chitosan의 첨가가 PVA의 포자분산 저지효과에 미치는 영향 .....	60
제5절 Polymer의 도포가 겹무늬썩음병균 병세의 진전 및 병자각 생존에 미치는 영향 .....	64
제6절 Polymer 도포 효과의 증진 방법의 개발 .....	66
가. 겹무늬썩음병균의 군사발육을 억제하는 약제의 선별 .....	68
나. Polymer 도포전의 농약처리가 포자분산에 미치는 영향 .....	69
제7절 Polymer의 도포가 부란병의 병세 진전에 미치는 영향 .....	71
<b>제4장 Polymer의 도포가 사과나무의 생육에 미치는 영향</b>	
제1절 서 설 .....	72
제2절 Polymer의 도포가 사과나무의 발아에 미치는 영향 .....	72
제3절 신초 발육 및 과실 비대에 미치는 영향 .....	73
<b>제5장 살균제 살포력의 개발</b>	
제1절 서 설 .....	77
제2절 겹무늬썩음병균의 사과 과실에의 인공접종법 개발 ..	78
제3절 사과 생육 시기별 겹무늬썩음병균의 감염과 발병 시기와의 관계 ....	79
1. 인공접종을 이용한 방법 .....	79
2. 자연감염을 이용한 방법 .....	80
제4절 봉지씌우기가 겹무늬썩음병의 발병 및 발병시기에 미치는 영향 .....	84
제5절 보호살균제의 겹무늬썩음병 방제효과 최대 지속 기간 .....	86
1. 인공접종에 의한 검정 .....	86
2. 자연감염에 의한 검정 .....	88

제6절 EBI제의 사과 겹무늬썩음병 eradication 가능 기간 .....	91
제7절 EBI제의 보호효과 및 그 지속기간 .....	98
제8절 겹무늬썩음병 이외의 과실 발생 병해의 감염시기 .....	100
제9절 겹무늬썩음병 방제약제의 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병 방제효과 .	102
<b>제6장 Pilot farm test</b>	
1. 살균제 살포력의 작성 .....	105
2. 실험 포장의 선정 및 시험구 배치 .....	107
3. Polymer의 도포 .....	108
4. 과수원의 일반관리 및 농약의 살포 .....	109
5. 병해 발생조사 .....	109
1) 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병 .....	109
2) 겹무늬썩음병 및 탄저병 .....	110
< 참고문헌 > .....	117

# 제1장 서 론

## 제1절 연구개발의 목적과 범위

경북 지역의 사과원에는 통상 11~12 종의 병해가 발생하는데(40, 41) 그 중에서도 겹무늬썩음병, 점무늬낙엽병, 갈색무늬병, 붉은별무늬병, 및 검은별무늬병의 5종 병해에 대해서는 재배기간 중에 약제의 살포 등의 적극적인 방제 대책이 요구된다. 붉은별무늬병, 검은별무늬병은 특정 시기에 한정적으로 발생하므로 시기에 맞추어 적절히 약제를 살포하면 방제가 가능하다. 또한 점무늬낙엽병은 6월 초순부터 발생하기 시작하여 수확기까지 지속적으로 감염되나 전문 방제 약제가 개발되어 있고 경북 지방의 주종 품종인 후지는 비교적 저항성이 강하므로 이 병에 인한 손실은 그리 크지 않다. 그러나 겹무늬썩음병은 6월 초·중순부터 수확기까지 감염이 가능하며 발생 정도는 해에 따라, 또 과수원에 따라 편차가 매우 크기는 하나 대략 10~30% 정도가 이 병에 이병 되어 수확 전에 썩게 된다(5, 18, 19). 또한 수확 당시에 이 병이 잠복 감염된 사과는 수확 후 저장 및 유통 과정에서도 발병하며, 그 비율은 40% 이상이 된다(41). 또 1993년 이후 갈색무늬병의 발생이 크게 증가하여 최근에와서는 방제가 부적절한 과수원에는 조기에 낙엽되어 큰 피해를 초래한다.

경북 지방의 사과원 표준방제력에는 살균제를 16회 살포할 것을 권장하고 있는데 그 중 절반 이상이 겹무늬썩음병의 방제를 주목적으로 하고 있다. 그런데 일부 독농가에서는 살균제를 연간 18회 또는 20회까지 살포하는 경우가 있고, 겹무늬썩음병 집중감염기인 7~8월에는 2종의 살균제를 복합 처방하는 경우도 있으나 매년 10% 이상의 발병을 피할 수 없는 실정이다. 따라서 겹무늬썩음병의 방제는 농약 살포에 거의 전적으로 의존하는 방제 체계로는 일정한 한계가 있을 수 밖에 없으므로 새로운 방제법이 모색 되어야 할 것으로 생각되었다.

이와 같은 농약의 과다 살포는 갖가지의 경제적 사회적 문제를 야기하고 있다. 현재 우리 나라의 사과 생산비 중 방제 비용이 차지하는 비율은 20%나 되므로 농약 살포 회수의 과다는 생산비의 상승을 가져오며, 우리 나라의 사과 생산에 있어서 적과 이후에는 병해충 방제 작업이 농작업의 대부분을 점하게 되므로 사과의 품질 향상에 투입되어야 할 노동력이 방제 작업에 투입되고 있다. 그리고 최근에 와서 농약에 의한 토양 및 수질 오염 문제는 거의 사회 문제로 비화되어 있으며, 상당수의 소비자들은 식품의 농약잔류에 대해 거의 신경질적인 반응을 보이고 있다. 이러한 극심한 농약 기피 현상은 농산물 수입 개방과 맞물려 외국산 농산물을 선호하는 경향을 부추길 우려마저 있다. 따라서 농약 살포 회수 및 사용량의 경감은 WTO체제 하에서의 사과 시장의 개방에 대비한 사과의 국제 경쟁력 확보, 날로 심각해지고 있는 사과원의 환경문제, 농약의 식품잔류 문제, 그리고 현재 논의 중에 있는 Green Round 등에 대비해서라도 반드시 필요한 조치로 생각된다.

농약의 과다 사용으로 인한 환경문제에 대처하기 위해 병해충의 종합 관리(IPM, Integrated Pest Management)에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으나 주로 해충 분야에서 연구되고 있고 병해 분야에서는 거의 연구되지 않고 있다. 해충의 경우에는 해충의 밀도가 경제적 피해허용수준 (Economic Damage Threshold)에 도달할 때까지 농약 살포를 유보함으로써 농약의 살포를 줄일 수 있는 반면 병해의 경우 병원균의 감염 시기를 정확하게 포착하는 것이 어려우므로 IPM의 적용은 일반적으로 어려운 것으로 믿고 있다. 그러나 사과 겹무늬썩음병의 경우는 병의 발생 생태로 볼 때 IPM이 충분히 가능할 것으로 생각했다.

사과 겹무늬썩음병의 병원균인 *Botryosphaeria dothidea*가 사과나무 가지에 감염하면 사마귀 또는 canker가 형성되고 여기에서 병포자 또는 자낭포자가 형성되어 과실 감염의 제 1 차 전염원이 되는데(5, 6, 12, 18, 19) 전자가 병의 발생에 크게 영향을 미친다. 자낭포자의 비산 시기는 4월 하순부터 시작되며 병포자는 5월경부터 비산 된다(3, 13, 29, 31, 38). 이들 비산된 포자가 사과에 부

착, 발아하여 감염이 이루어지는데 병포자에 의한 감염은 6월 중순 이후부터 본격적으로 이루어진다(5, 12, 13, 32). 이와 같은 겹무늬썩음병의 발생 생태로 볼 때 병원균의 전염원 밀도를 줄이는 효과적 방법을 개발한다면 발병을 감소시킬 수 있는 근본적인 대책이 마련될 수 있을 것으로 생각되었다. 이 연구에서는 사과나무 가지에서 포자가 형성되는 부위를 고분자 물질로 도포, 포자의 분산을 저지하여 겹무늬썩음병의 방제를 시도했다.

1차년도 연구에서는 적절한 polymer를 선정하고, 이를 사과나무 가지에 도포 할 경우, 겹무늬썩음병균의 포자분산을 어느 정도까지 저지할 수 있는지 검토했으며, 겹무늬썩음병 방제효과를 얻기 위한 polymer피막의 최소 유지 기간을 설정하기 위해 경북지역의 5개 지점에서 겹무늬썩음병균 포자분산 상황을 조사했다. 또 polymer의 도포가 사과나무 생육에 미치는 영향을 조사했다.

2차년도의 연구에서는 겹무늬썩음병 감염 가능 기간 전반에 걸쳐 포자의 분산을 저지할 수 있는 polymer의 선정하고, polymer의 물성을 개선하는 연구를 하는 한편 polymer의 도포에 의한 사과나무 생리 장애의 가능성을 검토하고, polymer 도포 전에 처리하여 병원균의 사멸을 촉진시킬 수 있는 농약을 선별하고 그 이용 가능성을 검토했다. 나아가서 살균제의 살포 회수를 대폭적으로 경감시킨 새로운 살균제, 살포력을 개발하기 위해 ① 사과 생육 시기별 병원균의 침입 소요 시간, ② 침입으로부터 발병에 이르기까지의 병원균의 행동, ③ 자연 조건에서의 감염시기와 발병시기와의 관계, ④ EBI제를 사용하여 과실 조직에 침입한 병원균을 사멸 시킬 수 있는 기간의 탐색, ⑤ 침입 전에 살포한 EBI 제의 병원균 침입 저지 효과의 검정 및 그 지속기간 ⑥ 각종 보호살균제의 보호 효과 최대지속기간 조사 등의 실험을 수행했다. 이상의 실험 결과에 근거하여 연간 살균제 살포 회수를 9회로 한정 한 살포력을 작성했다.

3차년도 연구에서는 과수원에서 polymer를 도포하고 2년차 연구에서 개발된 살균제 살포력을 적용 그 방제효과를 검정했다.

## 제2장 코팅소재로 적합한 Polymer의 선정 및 물성 검토

### 제1절 서 설

사과 겹무늬썩음병의 병원균은 자낭균류인 *Botryosphaeria dothidea*로 과실 뿐만 아니라 사과나무 가지에서도 사마귀 또는 canker를 형성한다. 이 병원균은 사과나무의 병반상에서 1차 전염원으로서 자낭포자 및 병포자를 형성하는데, 이들 포자 중 주 전염원은 병포자로서 병자각에서 형성되어 강우시 빗물과 함께 가지를 타고 흘러 내리면서 사과표면에 부착하고, 여기에서 발아된 포자가 과점을 통해 과실에 침입함으로써 발병시킨다.

이와 같은 발병과정을 살펴볼 때, 이 병해는 주 전염원인 병포자의 분산을 차단함으로써 발병을 예방할 수 있을 것으로 생각되어, 새로운 방제법으로써 전염원이 생성되는 부위에 polymer를 도포하여 인위적인 차단막을 형성시킴으로써 포자의 형성량 및 분산되는 포자의 밀도를 감소시키는 포자분산 저지법의 개발을 시도했다. 그러나 분해가 되지 않거나 분해 기간이 긴 합성 polymer를 코팅재료로 사용한다면 환경에 부정적인 영향을 미칠 것을 예상할 수 있으며 사과나무의 생육에 의해 피막이 손상되고 손상된 부분은 가을에 월동 해충의 서식 장소가 될 가능성이 있으므로 분해성 polymer 재료의 사용이 바람직한 것으로 생각되었다. 이에 이 연구에서는 적합한 polymer 소재를 선정하기 위해 기존의 여러 합성 polymer와 생분해성 polymer의 물성과 적합성을 문헌조사를 통해 검토하였다. 그리고 합성고분자 중 생분해성이며, 수용성 고분자인 polyvinylalcohol을 선정하고 중합도, 검화도에 따른 물성을 비교하였으며, 활용을 위한 기초실험을 수행하였다. 또한 생분해성 polymer 중 chitosan을 선정하고 그 물성 및 사과겹무늬썩음병균에 대한 항진균활성등을 검토하였다.

## 제2절 사과 나무 코팅에 적합한 Polymer의 탐색

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 시 료

검화도와 중합도가 각각 86.6 mol%-2,000, 98.0~99.0 mol%-1,700~1,800, 97.5~99.0 mol%-1,500, 그리고 99.8 mol%-2,000인 네 종류의 공업용 PVA(동양 화학(주))와 검화도가 99.0 mol%이상이고 중합도가 1,500인 시약용 PVA(昭和化學 Co.)를 사용하였다.

#### 나. 각종 PVA의 물에 의한 소실률 측정

각각의 시료를 가열 및 교반시켜 5%(w/v)와 10%(w/v)의 수용액으로 만든 후 유리판에 부어 25℃ 및 60℃에서 건조시켜서 제조한 필름을 물에 의한 소실률 측정을 위한 시험편으로 사용하였다. 미리 무게를 측정한 일정 크기(25cm<sup>2</sup>)의 시험편을 30℃의 물에 24시간 동안 침적시킨 후, 60℃에서 항량이 될 때까지 건조시켜 무게를 측정하였다. 제조된 필름의 물에 의한 소실률은 침적 전후의 필름의 무게 차이를 침적전의 필름 무게로 나눈 값의 백분율로 하였다.

#### 다. PVA 수용액의 점도 측정

중합도가 99.0 mol%이상인 공업용과 시약용 PVA 시료의 5% 수용액 점도를 상온(25±2℃)에서 Brookfield(Model DV-II+) 점도계를 사용하여 측정하였다. 측정 용액의 온도는 25℃였으며, 점도계의 rpm을 20에서 100으로 조정하며 측정하였다.

### 2. 결과 및 고찰

#### 가. 사과 나무 코팅에 적합한 합성 Polymer의 탐색

사과나무 코팅제로 적합한 합성 polymer를 선정하기 위하여 기존의 합성 polymer에 대한 특성을 검토하였다. 많은 종류의 합성 polymer들이 금속, 나무, 종이, 직물 등의 코팅재료로 널리 사용되고 있으며(17), 용매에 따라서 유기

용매에 녹는 유용성과 물에 녹는 수용성으로 크게 나뉘어진다(27, 36). 유용성 polymer로는 알키드수지, 불포화 폴리에스테르수지, 아크릴수지, 아미노수지(요소수지, 멜라민 수지), 에폭시수지, 그리고 우레탄수지 등이 있다(17). 한편 수용성 polymer로는 Table 1에서 보는 바와 같이 폴리초산비닐을 주체로 한 에멀

Table 1. Classification of water-soluble Polymer.

Natural polymer	Protein Starches : corn starch Polysaccharides : agar, arabia rubber
Semi-synthetic polymer	Cellulose : methyl cellulose, ethyl cellulose Starches : soluble starch
Synthetic polymer	Polyvinylalcohol, polyethylene oxide polyacrylic sodium, acryl resin, acryl-amide resin

전(유탕액), 폴리비닐알코올(PVA), 폴리에틸렌 옥사이드, 폴리 아크릴산 나트륨 등이 있다(17, 36). 합성 polymer의 용매로는 유용성 polymer의 경우 유독성인 톨루엔 또는 클로로포름 등이 사용되며, 수용성 polymer의 경우는 물 또는 알코올 등이 분산용매로 사용된다. 따라서 환경 및 인체에 무해하고, 사용이 간편한 수용성 polymer가 사과나무 코팅용으로 적합하다고 판단되었으며, 이 중에서 다음과 같은 특징을 갖고 있는 PVA를 일차 실험재료로 선정하였다.

Table 2. Effect of the degree of polymerization and saponification on the physical properties of polyvinylalcohol.

Degree of polymerization		Degree of saponification	
Decrease	Increase	Decrease	Increase
Increase of Sobility Softness	Increase of Viscosity Tensile strength Adhesive strength Water-proofing Solvent-proofing Dispersibility	Increase of Stability Softness Dispersibility Adhesive strength to hydrophobic material	Increase of Water-proofing Tensile strength Adhesive strength to hydrophilic material

PVA는 비닐아세테이트 단량체를 중합하여 얻어진 폴리비닐아세테이트를 알칼리하에서 검화하여 얻어진 수산기를 갖는 수용성 수지로서, 기본적으로 생체에 무해하며, 우수한 접착력 및 피막형성능 등의 장점이 있어 접착제·종이가공·필름·유화제·보호 콜로이드 등의 분야에서 많이 사용되고 있으며(21, 28), 또한 생분해성을 가지는 합성고분자의 하나로서 그 분해기작이 알려져 있다(20, 26).

PVA는 검화도와 중합도에 따라 여러 등급으로 나누어지며, 각 등급에 따라 각각 다른 성질을 나타내며, 이를 Table 2에 정리하였다.

Table 2에서 보는 바와 같이 PVA는 검화도와 중합도에 따라 형성된 필름들이 가지는 내수성이 다르며, 또한 필름의 건조 조건에 따라 각기 다른 내수성을 보인다. 따라서 빗물에 의한 피막손실을 우려하여 검화도와 중합도에 따른 물에 의한 손실률을 검토하였으며, 분사에 의한 코팅법을 고려하여 분사 가능한 PVA수용액의 농도를 관찰하였다.

시료로는 검화도와 중합도가 각각 86.6 mol%/2,000, 98.0~99.0 mol%/1,700~1,800, 97.5~99.0 mol%/1,500, 그리고 99.8 mol%/2,000인 네 종류의 공업용 PVA(동양화학(주))와 검화도가 99.0 mol%이상 이고 중합도가 1,500인 시약용 PVA(昭和化學 Co.)를 사용하였다. 각각의 시료를 가열 및 교반시켜 5%(w/v)와 10%(w/v)의 수용액으로 만든 후 유리판에 부어 25℃ 및 60℃에서 건조시켜서 제조한 필름을 물에 의한 소실률 측정을 위한 시험편으로 사용하였다. 미리 무게를 측정된 일정 크기(25 cm<sup>2</sup>)의 시험편을 30℃의 물에 24시간 동안 침적시킨 후, 60℃에서 항량이 될 때까지 건조시켜 무게를 측정하였다. 제조된 필름의 물에 의한 소실률은 침적 전후의 필름의 무게 차이를 침적전의 필름 무게로 나눈 값의 백분율로 하였다.

각 시료의 물에 대한 소실률을 그림 1에 나타내었다. 제조된 필름의 소실률은 검화도와 중합도에 따라 많은 차이를 보였다. 검화도가 90 mol%이하인 부분검화물은 필름 제조시의 건조온도에는 상관없이 물에 의해 필름의 90%이상

이 소실되었으며, 검화도가 97.0~99.0 mol%인 시료는 25℃에서 건조시켜 제조한 필름의 약 50%정도가 물에 의해 용해되었고 60℃에서 건조시킨 필름은 약 20%가 물에 의해 소실되었다. 그리고 검화도가 99 mol%이상인 두 시료의 경우, 25℃에서 건조시켜 제조한 필름은 10%이하의 소실률을 보였으며, 60℃에서 건조시켜 제조한 필름은 물에 의해 소실되는 정도가 매우 낮았다. 또한 검화도는 98.0 mol%로 비슷하지만 중합도에서 약 200~300의 차이를 보이는 두 시료의 물에 대한 소실률을 측정된 결과, 중합도가 높은 것이 낮은 것에 비해 약 10%정도의 더 낮은 소실률을 보였다. 또한 농도가 높을수록 두꺼운 필름이 만들어 졌으며, 물에 대한 소실률도 더 낮았다.

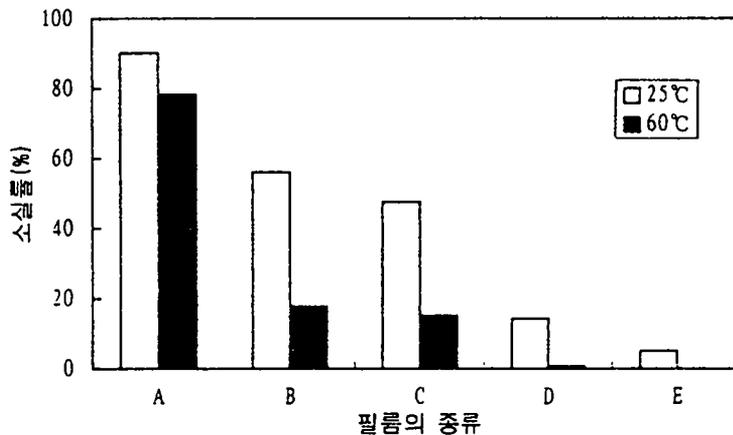


그림 1. 각 폴리비닐알코올 필름의 물에 의한 소실률

A : 검화도 86.6 mol% - 중합도 2,000 B . 검화도 97.5~99.0 mol% - 중합도 1,500  
 C . 검화도 98.0~99.0 mol% - 중합도 1,700~1,800 D . 검화도 99.8 mol% - 중합도 2,000  
 E : 검화도 99.0 mol%이상 - 중합도 1,500(시약용)

이상의 결과들로부터 검화도와 중합도가 높을수록 PVA 필름의 내수성이 높아지며, 또한 높은 온도에서 건조하여 필름을 제조하는 것이 필름의 내수성을 높이는 데 효과적이라는 것을 알 수 있었다. 그리고 시약용 시료가 비슷한 등급의

공업용 시료보다 물에 대해 더 나은 안정성을 보였는데 이는 정제된 정도의 차이에서 비롯된 것으로 사료된다. 따라서 빗물에 의한 코팅 필름의 손상을 고려하여 볼때, 사과 나무 코팅용 PVA의 등급은 중합도가 1,500이상이며 검화도가 99.0 mol%이상의 완전검화물이 적합하다고 판단된다.

앞에서 사용한 다섯가지 시료들중에서 내수성이 가장 뛰어난 중합도가 99.0 mol%이상인 공업용과 시약용 시료를 이용하여 분무 가능한 PVA 수용액의 농도를 분무기를 이용한 분무 실험을 통하여 측정하였는데, 5%(w/v)까지의 PVA는 분무는 가능했으나 점도가 높아 분산에 문제가 있었으므로 실용화는 어려운 것으로 판단되었다. 두 시료 5% 수용액의 점도를 Brookfield 점도계로 측정된 결과, 공업용시료의 점도는 64.4 cps였고, 시약용 시료의 점도는 40.4 cps였다.

#### 나. 생분해성 Polymer의 탐색

분해성 polymer는 분해기구에 의해 크게 생분괴성, 광분해성, 그리고 생분해성 polymer로 나눌 수 있다(22, 23). 생분괴성 polymer는 기존의 합성 polymer에 옥수수 전분 등의 첨가 물질을 섞어 혼합한 것이며, 광분해성 polymer는 광화학반응을 일으킬 수 있는 관능기 또는 발색단을 polymer중에 도입 또는 첨가시켜, 빛에 노출되면 광화학 반응이 일어나 분해되는 특성을 지닌 것이다. 생분해성 polymer는 적어도 분해의 한 과정에 있어서 생물의 대사가 관여하여 저분자량의 화합물로 변환하는 것을 특징으로 하는 고분자 화합물 및 그 배합물이다. 이들 분해성 polymer중에서 완전분해성으로 알려져 있는(22) 생분해성 polymer가 가장 적합한 소재로 판단되었다.

생분해성 polymer로는 미생물 생산형인 PHB(poly- $\beta$ -hydroxybutyrate), 미생물에 의해 분해되기 쉬운 합성 고분자인 polycaprolactone과 aliphatic polyester 등이 개발되어 있는데 현재 이들 대부분은 가격이 상당히 고가이기 때문에 의료용 재료등 고부가가치제품에 한해 이용되고 있는 것으로 알려져 있

다(23). 이 외에도 생분해성 polymer로는 천연 고분자인 전분, 셀룰로오즈, 키틴, 키토산 등이 있으며, 앞서 선정된 PVA도 미생물에 의해 분해되는 생분해성으로 알려져 있다(20, 26). 생분해성 polymer중에서도 자연계에 가장 풍부한 천연자원의 하나이며 곰팡이의 성장을 억제하고 식물 방어 기작을 활성화시킨다고 보고되고 있는(11, 33) chitosan을 코팅용 소재로 선정하였다.

### 제3절 사과 겹무늬썩음병균에 대한 Chitosan의 항진균 활성 및 Chitosan의 물성

#### 1. 재료 및 방법

##### 가. 사용 균주

이 연구에 사용된 균주는 경북대 농생물학과 식물세균병학연구실에서 분리한 사과 겹무늬썩음병균인 *Botryosphaeria dothidea* T1109와 22였다. *B. dothidea*의 배양 배지로는 PDA(potato dextrose agar, Difco Co.)배지를 사용하였으며, 진탕 배양을 위해서는 PD Broth(potato dextrose broth, Difco Co.)를 사용하였다. *B. dothidea*의 종배양 및 고체배양은 PDA배지 중앙에 4일간 PDA배지에서 배양한 균사의 가장자리에서 오려낸 5×5 mm 크기의 균사 함유 agar plug를 올려 놓고 28℃ 항온기에서 배양하면서 4일마다 계대하여 사용하였다.

##### 나. Chitosan의 정제 및 용액 제조

Chitosan은 Ahmed등의 방법(7)에 따라 정제하였다. Chitosan(crab-shell, practical grade, Sigma Co.)을 분쇄기로 분쇄한 후, 0.25 N HCl에 용해시켰다. 용해되지 않은 분순물입자들을 상온에서 원심분리(15 min, 10,000 rpm)하여 제거하였으며, 얻어진 점성이 있는 chitosan용액을 2.5 N NaOH로 중화시키고, 원심분리하여 백색의 chitosan 침전물을 얻었다. 얻어진 침전물로부터 염을 제거하기 위하여 증류수로 4~5회 세척한 후 동결건조시켜 분말성의 정제된 chitosan

을 얻었다.

Chitosan 용액은 Mary등의 방법(25)에 따라 정제된 chitosan을 0.01 M phosphate buffer(pH 6.5)에 분산시키고 glacial acetic acid를 소량 첨가한 후 교반시켜 제조하였다. 제조된 chitosan 용액을 배양실험에 사용하기 위하여 1 N NaOH를 첨가하여 용액의 pH를 5.5로 조정하였다.

#### 다. Chitosan의 고체 배지에서의 균사생장 억제율 측정

Chitosan의 *B. dothidea*에 대한 균사생장 억제활성을 조사하기 위하여 chitosan을 첨가한 PDA배지를 이용하였다. 이를 위하여 살균한 chitosan 용액 (10 mg/ml)을 농도가 각각 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 그리고 3.0 mg/ml이 되게 PDA배지에 첨가하였다. 각 배지 중앙에 4일간 배양한 *B. dothidea* culture의 가장자리에서 취한 지름이 5 mm인 균사함유 agar plug를 올려 놓고 28℃ 항온기에서 배양하면서 곰팡이의 생육정도를 24시간마다 조사하였다. Chitosan에 의한 균사생장 억제율은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{균사생장 억제율(\%)} = \frac{\text{대조구의 콜로니 직경} - \text{실험구의 콜로니 직경}}{\text{대조구의 콜로니 직경}} \times 100$$

#### 라. *Botryosphaeria dothidea* 균사의 형태적 변화 관찰

Chitosan에 의한 *B. dothidea*의 형태적인 변화를 관찰하기 위하여 chitosan을 첨가한 PDA배지 중앙에 *B. dothidea* 균사 함유 agar plug(지름 5 mm)를 이식한 후 28℃에서 4일간 배양한 후 균사 신장 선단 부위를 1 cm 크기로 잘라서 대조구와 함께 광학 현미경(Olympus, ×400)하에서 균사의 모양을 관찰하였다. 또한 균사의 미세적 형태 변화는 TEM(Transmission Electron Microscope, HITACHI H-7100)을 통하여 관찰하였으며, chitosan이 함유된 배지에서 4일간 배양한 균사의 가장자리에서 자른 것을 시료로 취하여 고정과 탈수과정을 거쳐 포매한 후에 초박절편하여 75 kV에서 관찰하였다.

#### 다. *Botryosphaeria dothidea*의 포자 발아를 측정

##### (1) 포자 현탁액의 제조

PDA배지에 균사 함유 plug를 이식하고 28℃에서 4일간 배양하여 균사가 petri dish의 가장자리까지 자랐을 때, 기중균사를 제거하고 1일 8시간씩 40 W 형광등을 30 cm 거리에서 조사하여 포자 형성을 유도하였다. 생성된 포자들중에서 20여개의 포자 덩어리를 백금선으로 채취한 후 살균 증류수 5 ml에 현탁하였다. 현탁시킨 포자액의 개수를 광학현미경(Olympus, CHS-213E)하에서 계수하여 포자의 농도가  $10^5 \sim 10^6$  개/ml가 되도록 하여 사용하였다.

##### (2) *Botryosphaeria dothidea*의 포자 발아를 측정

0.1 M acetate buffer(pH 5.2) 50  $\mu$ l와 chitosan 용액을 각각 10, 20, 그리고 40  $\mu$ l을 E-tube에 넣고 총 부피가 100  $\mu$ l가 되도록 멸균 증류수를 첨가하였다. 여기에 포자현탁액( $2.0 \times 10^4$  포자수/ml) 100  $\mu$ l를 넣은 후 혼합하였다. 1.5% water agar에 위의 혼합 용액 20  $\mu$ l씩을 점적한 후 28℃에서 배양하면서 시간 별(3, 6, 9, 12시간)로 포자의 발아 정도를 확인하였다. 포자들을 aniline blue용액(phenol 20 ml, lactic acid 20 ml, glycerin 40 ml, aniline blue 0.5 g, dH<sub>2</sub>O 20 ml)으로 염색한 후 광학현미경(Olympus, CHS-213E,  $\times 400$ )하에서 발아된 포자수와 총포자수를 계수하여 그 비로부터 발아율을 측정하였다. 대조구는 chitosan 용액은 넣지 않고 멸균 증류수만 50  $\mu$ l를 넣은 혼합 용액을 20  $\mu$ l 점적한 것으로 실험구와 똑같이 28℃에서 배양하면서 발아율을 구하였다.

$$\text{포자 발아율(\%)} = \frac{\text{발아된 포자수}}{\text{총 포자수}} \times 100$$

#### 바. Chitosan 피막 처리

최소한 5개월이상 피막을 유지할 수 있는 chitosan의 농도를 결정하기 위하여 대구시 북구 산격동 소재 경북대학교 부속농장내 과수원에 식재된 7년생 왜생 후지중 줄기가 겹무늬씩음병균의 감염에 의해 사마귀 및 조피가 다량 형성된 나

무를 선정하고 선정된 사과나무의 줄기에 1% 초산용액 1ℓ에 chitosan (crab-shell, practical grade, Sigma Co.) 20 g을 용해시켜 제조된 용액과 5%(w/v) PVA 수용액을 붓으로 도포한 후 형성된 피막과 도포후 5개월이 지난 피막의 상태를 육안으로 관찰하였다.

사. 겹무늬썩음병균에 의한 chitosan의 분해 여부 측정

겹무늬썩음병균에 의한 chitosan의 분해 여부를 측정하기 위하여 탄소원으로 sucrose 대신에 chitosan을 첨가한 Czapek's agar 배지중양에 4일간 배양한 지름이 5 mm인 *B. dothidea* 균사함유 agar plug를 올려 놓고 28℃ 항온기에서 배양하면서 곰팡이의 생육정도를 조사하였다.

## 2. 결과 및 고찰

가. Chitosan의 항진균활성

Chitosan은 poly- $\beta$ -D-glucosamine으로 키틴의 유도체로서 높은 amine 함량과 polycationic 성질때문에 각종 폐수처리의 응집제와 효소 고정화제 등으로 많이 이용되고 있다(29, 34, 35). 또한 chitosan은 *Fusarium oxysporum*과 *Rhizoctonia solani*와 같은 토양유래의 병원성균을 포함한 많은 병원성 곰팡이의 생육을 억제하며, 식물 세포에서는 식물의 방어 기작인 chitinases의 유도, phytoalexins의 축적, 그리고 proteinase inhibitors의 합성 등을 촉진시킨다고 알려져 있다(2, 11, 14, 16, 25, 33, 37, 43). Chitosan이 사과 겹무늬 썩음병균의 생육에도 영향을 미치는 지를 검토하였다.

Table 3. Effect of chitosan on the radial growth of *Botryosphaeria dothidea*.

Chitosan concentration (mg/ml)	Inhibition of radial growth (%) ( days after inoculation )			
	1	2	3	4
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.1	0.0	10.4	9.4	10.0
0.5	65.2	68.0	58.8	57.7
1.0	62.1	80.0	81.3	83.8
2.0	92.4	91.7	93.3	92.5
3.0	98.8	98.9	91.8	94.5

Chitosan의 겹무늬 썩음병균인 *Botryosphaeria dothidea*에 대한 항진균 활성 중 균사생장에 미치는 영향을 검토하기 위하여 chitosan의 첨가량을 달리한 PDA(potato dextrose agar) 고체배지에 겹무늬 썩음병균을 이식 접종하여 28℃에서 4일동안 배양하면서 균사의 성장정도를 관찰하였으며, 결과는 Table 3에 나타내었다.

겹무늬썩음병균의 균사 생장은 chitosan의 첨가량이 0.3 mg/ml일때부터 저해를 받기 시작하여 chitosan의 첨가량이 많아질수록 저해율도 높아져 3 mg/ml의 농도에서는 약 95%정도의 성장 억제율을 보였다. 그러나 3 mg/ml 이상의 고농도 일때에도 100%의 성장 억제율을 보이지 않았으며, 이와 같이 생장이 억제된 균사편을 PDA 배지로 이식접종하였을 때에는 다시 정상적으로 성장함이 관찰되었다. 이상의 결과들로 미루어 볼때 chitosan은 단지 균사의 성장만을 억제할 뿐 균 자체를 치사시키지는 못하는 것으로 사료되었다.

Chitosan을 함유한 PDA 배지에 겹무늬썩음병균을 이식 접종하고 28℃에서 4일간 배양한 후, 자라난 균사의 선단부위를 1 cm<sup>2</sup> 크기로 잘라 광학 현미경(×400)으로 관찰한 결과는 그림 2와 같다. 그림에서 보는 바와 같이 chitosan이 함유되지 않은 배지에서 배양한 대조구의 경우는 균사가 가늘게 신장되었으며 또한 균사에 뚜렷한 세포벽과 격막이 관찰되었다. 그러나 chitosan이 함유된 배지에서 배양한 경우, 균사가 대부분 팽윤되어 있었고 격막 부위가 잘룩하게 들어가 원형의 균사가 연쇄상으로 붙어 있는 것과 같은 형태로 극히 대비적인 형태를 취하고 있었다. 이와 같은 곰팡이류의 균사의 팽윤현상은 곰팡이류 세포벽의 생합성을 저해하는 polyoxin계나, cell membrane attacking agent인 polyene계 항생물질에 의해서 야기되는 현상과 유사한 현상이다(10). 이로부터 chitosan의 활성기작 부위가 세포벽이나 membrane일 가능성이 큰 것으로 사료된다.

위에서 관찰한 균사 형태 변화를 좀 더 미시적으로 관찰하기 위하여 투과형 전자 현미경(TEM; ×3,000, ×9,000)으로 미세구조를 관찰한 결과는 그림 3과

같다. 그림에서 보는 바와 같이 chitosan이 함유되지 않은 배지에서 배양한 대조구의 균사는 얇고 치밀한 세포벽으로 둘러싸여 있었으며, 핵, 미토콘드리아, 그리고 액포 등의 기관들을 포함하고 있는 세포질이 관찰되었다.

반면 chitosan을 첨가한 배지에서 성장한 겉무늬썩음병균의 세포는 액포크기가 증가된 세포와 핵, 미토콘드리아와 같은 세포 내부기관이 거의 손실되어 세포벽만이 관찰되는 심하게 변형된 세포들이 관찰되었다. 또한 모양이 변형된 세포들이 균사의 형태로 뻗어 자라지 못하고 서로 응집되어 있는 것을 관찰할 수 있었다. 세포의 크기는 대조구에 비해 전반적으로 약 3배 정도 팽윤되었고, 세포질을 둘러싸고 있는 세포벽은 두께는 증가되었으나, 대조구의 세포벽에 비하여 그 구조가 치밀하지 못하였다. 대부분의 세포들의 경우, 세포 내부기관들을 명확히 구별할 수는 없었으나 세포질내에 많은 vesicle들을 함유하고 있는 것이 관찰되었다. 몇몇 세포에서는 세포벽과 세포질 사이에 무정형의 물질들이 침착되어 있는 것이 관찰되었다.

이와 같은 chitosan처리에 의한 세포의 미세적 구조변화는 *Fusarium oxysporum*에 대한 연구(2)와 *Pythium aphanidermatum*에 관한 연구(9)에서도 관찰된 바 있다. 최근에 Nicole(2)은 chitosan의 polycationic 특성에 의해 야기되는 세포원형질막의 변형이 세포의 형태적·구조적 변화의 원인으로 추정 된다고 보고한 바 있다. 즉 양전하를 띤 chitosan 고분자가 곰팡이세포 표면에 노출되어 있는 음전하를 띤 거대분자들을 손상시킬 수 있다는 것이다. 그러나 chitosan에 의한 세포 구조의 미세적변화 유발과 같은 항진균활성기작은 아직까지 명확하게 밝혀진 바가 없으며 앞으로 이에 대한 연구가 필요하다. Chitosan의 항진균활성증 포자의 발아 저해에 대한 영향을 시간별로 조사하였다. 각 농도별 chitosan용액과 포자현탁액, 그리고 buffer를 섞은 것을 1.8% water agar에 20  $\mu$ l씩 점적한 후 28°C 배양기에 두고 각 시간별로 꺼내어 발아한 포자를 400배 광학 현미경 하에서 발아률을 조사한 결과는 Table 4와 같다.

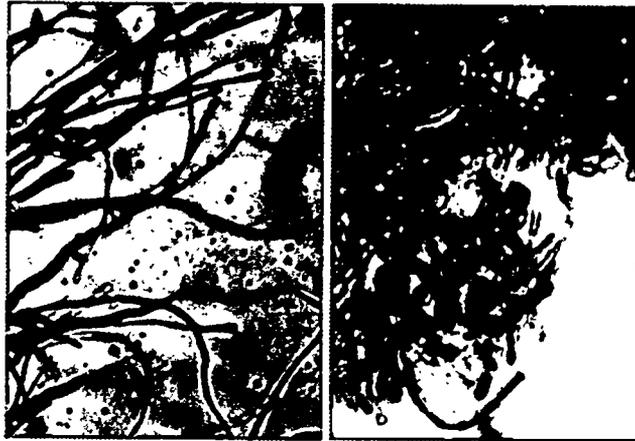


그림 2. Chitosan이 *B. dothidea*의 균사형태에 미치는 영향

A : 무처리구(×400), B : chitosan 2 mg/ml 처리구(×400)

대조구의 경우 겹무늬 썩음병균의 포자는 3시간이 경과하면 발아가 거의 완료되고 균사가 신장하기 시작하였다. 반면, chitosan을 처리한 경우에는 포자 점적후 3시간째에는 발아가 전혀 되지 않고 간간이 포자내에 격막이 관관찰되었으며, 처리 6시간 후부터 포자가 발아하기 시작하였지만 포자와 자라나는 균사의 모양이 격막을 사이에 두고 둥글게 부푸는 기형을 보였다.

Table 4. Effect of chitosan on spore germination of *Botryosphaeria dothidea*

Chitosan concentration (mg/ml)	Spore germination rate (%) (hours after inoculation)			
	3	6	9	12
0.0	93.4	95.8	98.5	98.9
0.5	0.0	1.2	22.0	79.2
1.0	0.0	0.9	25.3	76.9
2.0	0.0	0.2	21.4	77.3

이러한 결과들로부터 chitosan은 사과 겹무늬 썩음병균에 대해서 균사 성장 억제와 포자 발아 억제의 항진균 활성을 나타내는 것으로 확인되었다. 따라서

chitosan을 코팅재료로 활용함으로써, 겉무늬 썩음병균의 포자 분산을 인위적으로 차단할 수 있을 뿐만 아니라, 겉무늬 썩음병균의 생육을 억제할 수 있을 것으로 사료되며, 이에 대한 포장내에서의 연구가 필요하다.

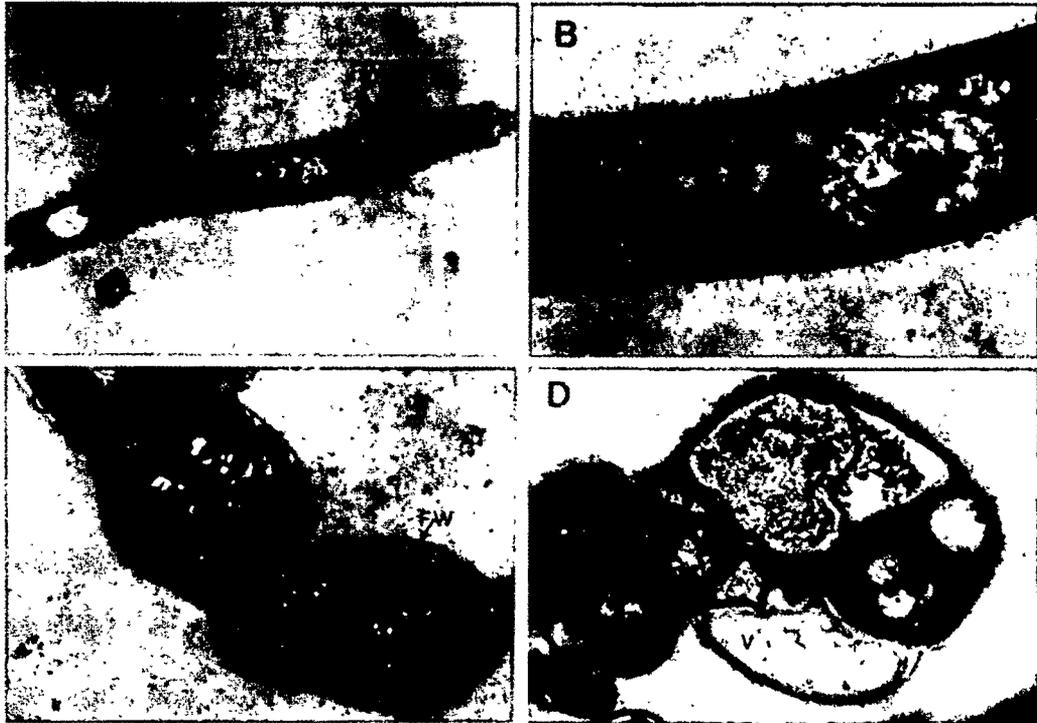


그림 3. Chitosan 첨가배지에서 생육된 *B. dothidea* 균사의 투과 전자현미경상  
 A : 무처리구(×3,000), B : 무처리구(×9,000),  
 C, D : chitosan 2 mg/ml 처리구(×3,000)

#### 나. 피막유지를 위한 chitosan의 농도 결정

사과 나무 코팅용 polymer로 1차 선정된 chitosan이 최소한 5개월 이상 피막을 유지할수 있는 농도를 결정하기 위하여 chitosan 용액을 제조하여 용액의 점도와 형성된 막의 상태를 조사하였다. Chitosan은 Sigma Co.(계 겹질 유래, practical grade)에서 구입한 것을 사용하였다.

Chitosan은 물이나 알코올에는 용해되지 않고 산에 용해하기 때문에 여러가지 산에 대한 용해 정도 및 chitosan용액의 점도와 나무에 미치는 영향을 고려하여 용매를 선정하였다. Chitosan은 젖산, 포름산, 초산 등의 유기산 수용액과 묽은 염산 수용액에 용해되었으며, chitosan-초산용액의 농도를 높이면 점도가 상승하였다. Chitosan 필름 형성을 위한 용매로서 1.0% 초산 수용액을 사용하였다. 1.0% 초산 수용액에 대한 chitosan의 용해도는 약 4.0%(w/v)이었고 이때의 pH는 4.2~4.5였다. 나무에 미칠 영향을 고려하여 chitosan용액의 pH를 5.5로 높이기 위하여 2.0 M sodium acetate를 사용하였으며, 1.0% 초산-2.0 M sodium acetate 수용액 100 ml에 완전히 용해되는 chitosan의 양은 2.0~2.5 g이었다. 2.0% chitosan용액을 나무가지에 도포한 후 피막의 형성유무를 살펴본 결과, 용액이 완전히 마르고 난 후에 얇은 피막이 형성되었으며 이 막은 물에 대해 다소 안정성을 보였다. 따라서 pH를 조절한 chitosan 용액의 최대 농도인 2.0% chitosan 용액을 가지고 다음 실험을 진행하였다.

2.0% chitosan용액을 경북대내의 학교 과수원 사과나무에 도포하고 피막유지 정도를 관찰하였다. Chitosan용액을 붓으로 나무 가지에 도포한 후 형성된 막의 상태를 관찰한 결과, 대조구인 PVA를 도포하여 형성된 막에 비해 얇은 막이 형성되었다. 형성된 chitosan 피막은 시간이 경과함에 따라 점차 소실되어 5개월이 지나면 피막의 유무조차 관찰하기 어려웠다. 이는 형성된 피막이 너무 얇아 대기, 광선, 비, 바람등과 같은 외부 환경에 대한 저항성이 미비하였거나 미생물에 의한 분해가 빨리 진행되어서 도포한 피막이 제대로 유지되지 못한 것으로 사료된다. 따라서 피막을 더욱 두껍게 형성시키기 위하여 chitosan용액의 농도를 높이는 방법이나 다른 성분을 첨가하는 방법 등에 대한 연구가 진행되어야 할 것이다.

다. 겹무늬썩음병균에 의한 chitosan의 분해 여부 검정

나무에 도포한 생분해성 polymer가 겹무늬 썩음병균에 의해 피막의 분해되어

손상되는가를 알아보기 위하여, 겹무늬 썩음병균이 chitosan을 분해하여 탄소원으로 이용할 수 있는지를 검토하였다. 탄소원을 뺀 Czapek's agar 배지에 chitosan을 탄소원으로 첨가한후 직경 5 mm의 겹무늬 썩음병균 culture를 이식한 후 28℃에서 5일간 배양하면서 균의 생육상태를 관찰하였다. Chitosan을 탄소원으로 함유한 Czapek's agar배지에 이식한 균은 배양 5일이 지난 후에도 약간의 기중균사만이 자랐을 뿐 거의 성장하지 못하였으며, 이로부터 사과 겹무늬 썩음병균은 chitosan을 분해하여 탄소원으로 사용할 수 없음을 알 수 있었다. 따라서, chitosan을 사과 나무에 도포하여 피막을 형성시켰을 경우, 사과 겹무늬 썩음병균에 의한 chitosan 피막의 손상은 고려하지 않아도 될 것으로 판단된다.

## 제4절 고분자 필름의 물성 특성

고분자 코팅법을 이용한 사과원의 병해충 방제를 위한 고분자 소재의 물성을 개선하기 위하여 항진균 효과가 알려진 chitosan과 수용성 고분자인 PVA를 혼합한 PVA/chitosan 혼합필름을 제조하고, 용액의 점도, 인장강도 및 신장율과 같은 물리적특성을 검토하였다.

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 고분자필름의 제조

##### (1) Chitosan 필름

적당한 크기로 분쇄한 chitosan(Sigma Co. practical grade)을 1% acetic acid에 넣고 상온에서 교반하여 완전히 용해시켜 2%(w/v) 용액을 제조하였다. 제조된 용액 30±5 ml을 테이프로 50 μm 두께의 테두리를 해 놓은 유리판(13 cm×16.5 cm)에 붓고 30℃에서 24시간 건조하여 필름을 제조하였다.

##### (2) PVA 필름

Polyvinylalcohol(검화도 99.0 mol%이상, 중합도 1500, Showa Chemical Inc.)

를 증류수에 첨가한 후 80~100℃에서 교반시켜서 3%(w/v) PVA 수용액을 제조한 후 위에서와 같은 방법으로 필름을 제조하였다.

### (3) Chitosan/PVA 혼합 필름

상기의 방법으로 제조한 chitosan 용액(2%, 4%)과 PVA 용액(6%, 10%)을 여러 비율(1:3, 2:3, 1:5, 2:5)로 혼합하여 교반한 후, 위에서와 같은 방법으로 chitosan/PVA 혼합필름을 형성시켰다.

#### 나. 제조된 필름의 물성 측정

##### (1) 용액의 점도 측정

Chitosan, PVA, 그리고 chitosan-PVA 혼합용액의 점도는 상온(25±2℃)에서 Brookfield(Model DV-II+) 점도계로 rpm을 20에서 100으로 조정하며 측정하였다.

##### (2) 인장강도 및 신장율 측정

Chitosan, PVA, 그리고 chitosan-PVA 필름을 온도 20±2℃, 습도 65±2%에서 24시간이상 방치한 후 필름 성형가공의 흐름에 수직의 방향(가로방향)으로 시료를 취하여 인장시험을 시행하였다. 인장강도와 신장율은 KS M (Korean Standard M) 3006(9)에 준하여 Instron Universal Testing Machine(Shimadzu Co. AG S-500A)를 이용하여 load cell 500 kg, load cell speed 100 mm/min, chart speed 500 mm/min, grip distance 75 mm의 조건으로 측정하였다. 시험편의 모양은 2호형으로 하였으며, 필름의 인장강도와 신장율의 계산은 다음과 같다.

$$\text{인장강도(Kg/cm}^2\text{)} = \frac{\text{절단할때까지의 최대하중(Kg)}}{\text{시험편의 두께(cm)} \times \text{시험편의 폭(cm)}}$$

$$\text{신장율(\%)} = \frac{\text{절단할 때의 표점간 거리(mm)} - \text{표점간 거리(mm)}}{\text{표점간 거리 (mm)}} \times 100$$

#### 다. 제조된 필름의 FT-IR spectra 측정

Chitosan-PVA 혼합필름에서의 chitosan과 PVA간의 수소 결합 및 새로운 화학결합의 유무등 혼합양상을 관찰하기 위하여 FT-IR spectrophotometer (Mattson Co. Model Galaxy-series FT-IR 7000)를 이용해 파장 4,000~600  $\text{cm}^{-1}$  에서 ATR(Attenuated Total Reflectance) 방법으로 분석하였다.

## 2. 결과 및 고찰

### 가. 용액의 점도

그림 4는 chitosan, PVA 및 chitosan/PVA 혼합용액을 제조하여 각 용액의 점도를 측정된 결과이다. 1.0% 및 2.0% chitosan 용액의 점도는 각각  $107.0 \pm 10.7$  과  $611.0 \pm 61.1$  cps였으며, 5.0% PVA 용액의 점도는  $80.8 \pm 8$  cps였다. Chitosan/PVA 혼합용액의 경우는 PVA 농도를 5.0%로 고정시키고 chitosan을 0.5%, 1.0% 및 2.0%의 농도로 혼합시킬 경우 각 혼합액의 점도는  $330.0 \pm 33.0$  cps,  $570 \pm 57.0$  cps, 그리고  $1,670.0 \pm 167.0$  cps를 나타내어 chitosan의 함량이 높을수록 점도가 급속히 증가됨을 알 수 있었다.

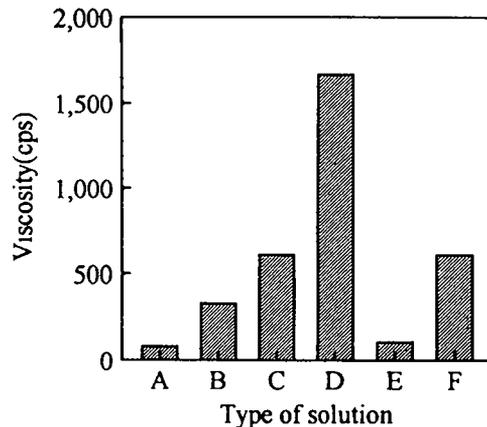


그림 4. PVA, chitosan, 그리고 chitosan-PVA 용액의 점도

A, 5% PVA, B, 0.5% chitosan/5% PVA, C, 1% chitosan/5% PVA,  
D: 2% chitosan/5% PVA, E, 1% chitosan F: 2% chitosan

한편 chitosan의 농도를 1.0%로 고정시키고 PVA를 3.0% 및 5.0%의 농도로 혼합시킬 경우 점도는 각각  $356.0 \pm 35.6$  cps와  $596.0 \pm 59.6$  cps를 나타내어 혼합액의 점도에 미치는 PVA의 영향은 chitosan보다 크지 않았다.

#### 나. 필름의 인장강도와 신장율

제조된 chitosan, PVA, 그리고 각종 chitosan/PVA 필름의 인장강도와 신장율을 Table 5에 나타내었다. 필름의 강성을 나타내는 인장강도는 PVA 필름이  $885.12 \text{ kg/cm}^2$ , chitosan/PVA 필름이  $739.42 \sim 839.76 \text{ kg/cm}^2$ , 그리고 chitosan 필름이  $574.49 \text{ kg/cm}^2$ 로 PVA 필름의 강도가 가장 높게 나타났으며, chitosan/PVA 혼합필름은 chitosan 필름보다 월등히 향상된 인장강도를 나타내었다. PVA의 농도를 3%로 고정시키고 chitosan의 혼합량을 1%에서 2%로 증가시킬 경우 각 필름의 인장강도는  $808.28 \text{ kg/cm}^2$  및  $739.42 \text{ kg/cm}^2$ 를 나타내어 chitosan의 혼합비가 높아질수록 인장강도가 감소되었다.

Table 5. Physical properties of chitosan, chitosan/PVA and PVA films.

Film	Mixing concentration(%)		Film thickness (mm)	Tensile strength ( $\text{kg/cm}^2$ )	Elongation (%)
	PVA	Chitosan			
PVA	5	0	0.127	885.12	332.7
Chitosan	0	3	0.049	574.49	15.29
Chitosan/PVA	3	1	0.072	808.28	128.32
	3	2	0.095	739.42	89.64
	5	1	0.090	810.45	171.85
	5	2	0.088	839.76	133.32

Measured at  $20 \pm 5^\circ\text{C}$ ,  $65 \pm 5\%$  RH, Film direction · width = transverse direction

Film thickness was measured with Dial Thickness Gauge(Ozaki MFG. Co.; Model G)

Tensile strength and elongation were measured with Instron Testing Machine(Shimadzu Co.).

필름의 물리적 변형성을 나타내는 신장율은 PVA 필름이 332.7%였고, chitosan/PVA 혼합필름은 89.64 ~ 171.85%였으며, chitosan 필름은 15.29%를 나

타내어 인장강도의 경우와 유사한 경향을 보였다. 또한 chitosan/PVA 필름의 경우 chitosan의 혼합량이 증가되면 신장율이 감소되는 경향을 나타내었다. 이상의 결과로부터 chitosan에 PVA를 혼합시킴으로써 인장강도와 신장율과 같은 필름의 물성을 향상시킬 수 있음을 알 수 있었다.

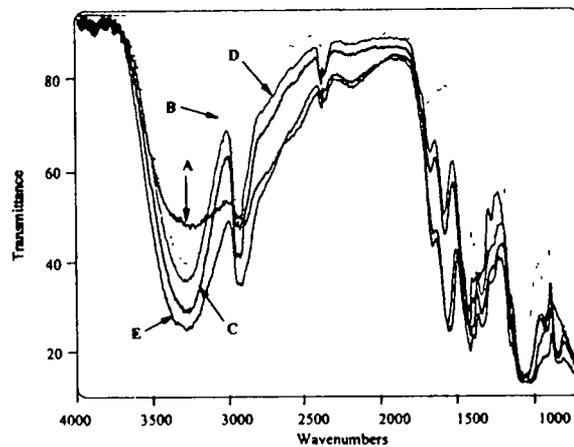


그림 5. PVA, chitosan, 그리고 chitosan-PVA 필름의 FT-IR spectra.

A; chitosan, B; PVA, C; 0.5% chitosan/2% PVA,  
D; 1% chitosan/2% PVA, E; 2% chitosan/2% PVA

#### 다. Chitosan/PVA 혼합필름의 FT-IR spectra

그림 5는 chitosan 용액과 PVA 용액을 여러 비율로 혼합하여 제조한 혼합필름의 결합양상을 FT-IR로 관찰한 결과이다. Chitosan/PVA 혼합필름의 spectra는 PVA와 chitosan 필름의 spectra에 존재하는 band만이 나타났으며, 새롭게 생성된 band는 관찰되지 않았다. 즉  $1,655\text{ cm}^{-1}$ 의 band는 chitosan 유래의 것인 amide band(6)이고  $1,332\text{ cm}^{-1}$ 의 band는 PVA의 C-O band(11)이며, 수소결합 생성시 나타나는  $3,300\text{ cm}^{-1}$  파장에서의 band shifting(12)은 관찰되지 않았

다. 이와 같은 결과들로 미루어 보아 혼합필름은 chitosan과 PVA 사이의 새로운 화학결합보다는 물리적 혼합에 의하여 필름이 형성된 것을 알 수 있었다.

## 제5절 Chitosan, PVA-Chitosan, PVA 피막의 항진균 효과

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 포자 현탁액의 제조

PDA배지에 균사 함유 plug를 이식하고 배양하여 균사가 petri dish의 가장자리까지 자랐을 때, 기중균사를 제거하고 1일 8시간씩 40 W 형광등을 30 cm 거리에서 조사하여 포자 형성을 유도하였다. 생성된 포자들중에서 20여개의 포자 덩어리를 백금선으로 채취한 후 살균 증류수 5 ml에 현탁시켰으며 포자액의 갯수를 광학현미경(Olympus, CHS-213E)하에서 계수하여 포자의 농도가  $10^5 \sim 10^6$  개/ml가 되도록 하여 사용하였다.

#### 나. 필름의 *Botryosphaeria dothidea*에 대한 항진균활성

제조된 필름시료들(3.5 cm × 3.5 cm)을 nutrient-salt agar 배지상에 올려 놓고, 제조한 *B. dothidea* 포자현탁액( $2.0 \times 10^4$  포자수/ml) 1 ml과 soft nutrient-salt agar(0.8% agar포함) 7 ml을 혼합한 용액을 필름시료위에 부어 접종한 후, 28℃에서 10일간 배양하면서 필름표면에서의 포자 발아와 균사 생육 상태를 관찰하였다.

### 2. 결과 및 고찰

그림 6은 제조된 chitosan, PVA, 그리고 chitosan/PVA 혼합필름의 *B. dothidea*에 대한 항진균활성을 검토하기 위하여 nutrient agar 배지에 필름을 얹고 *B. dothidea*의 포자를 접종하여 10일간 배양한 후 균사의 생육상태를 관찰한 결과이다. 필름을 얹지 않은 대조군의 경우는 균사의 성장이 원활히 진행되어 균사가 고루 덮인 것을 관찰할 수 있었고, 또 다른 대조군인 PVA 필름

을 얹은 배지위에서도 역시 균사의 성장이 원활히 이루어 졌다. 그러나

Table 6 Nutrient-salt agar medium used for biodegradability test of chitosan, chitosan/PVA and PVA films.

Component	Concentration(g/ ℓ )
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.7
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.7
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1.0
NaCl	0.005
Fe <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.002
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.002
MnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.001
Agar	1.5
Carbon source	-

pH of medium; 6.0~6.5.

chitosan/PVA 혼합필름을 얹은 배지위에서는 필름이 있는 부위를 제외한 나머지 배지표면에서만 균사가 발아 성장하였고 필름표면과 그 주위에서는 균사가 전혀 자라지 못한 것을 관찰할 수 있었다.

10일간 배양한 후 배지에서 채취한 chitosan 필름과 chitosan/PVA 혼합필름의 표면상태를 광학현미경(×400)하에서 관찰한 결과, 몇몇의 포자는 발아를 하였지만 균사의성장이 정상적으로 이루어지지 못하고 팽윤되어 있는 것이 관찰되어 항진균활성이 피막상태에서도 유지됨을 알 수 있었다.

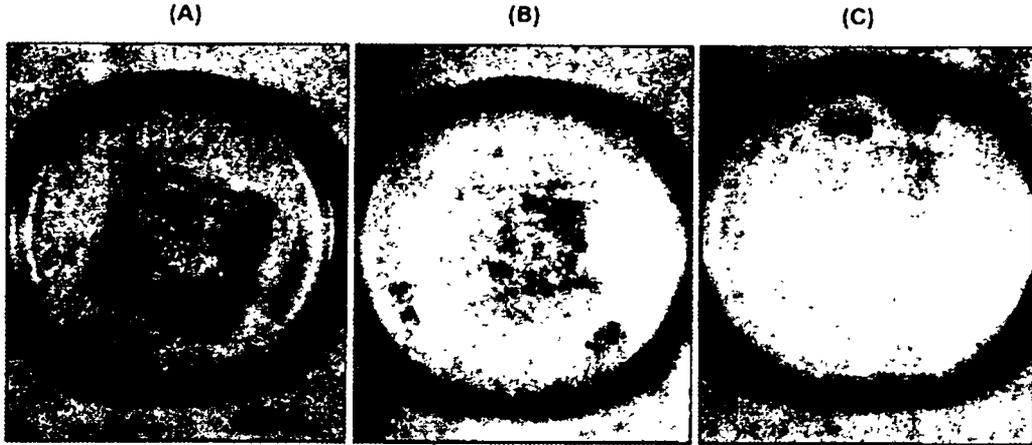


그림 6. 각종 고분자 필름 표면에서 *B. dothidea*의 균사 생육.

A; chitosan film, B; chitosan/PVA film(1% chitosan/5% PVA),  
C, PVA film. Incubated on nutrient agar medium at 28°C for 10 days.

## 제6절 Polymer 피막재료의 생분해성 평가

### 1. 재료 및 방법

생분해성은 ASTM(American Standard Test Method) G21-70(8)을 변형한 soft agar overlay방법(10)에 따라 측정하였다. 필름 시료(5 cm × 5 cm, 80~90 μm 두께)를 Table 6과 같은 조성의 nutrient-salt agar 배지에 올려 놓고, 생분해성 측정균주로부터 채취한 혼합포자 현탁액( $1.0 \times 10^6 \pm 2.0 \times 10^5$  포자수/ml) 1 ml와 soft nutrient-salt agar(0.8% agar포함) 7 ml을 섞은 후, 이를 위의 배지위에 부어 접종하였다. 이를 습도가 85%이상이고 온도가 28°C인 항온항습기에서 4주 내지 5주간 배양하면서 5일 간격으로 필름 표면에서의 곰팡이의 생육정도를 ASTM G21-70에 제시된 바와 같이 5단계로 표시하였다.

### 2. 결과 및 고찰

Table 7은 토양유래의 곰팡이류에 의한 필름의 생분해성을 측정하기 위하여 탄소원이 없는 nutrient-salt agar 배지위에 각각 제조된 필름을 얹고 혼합포자

액을 접종한 후 필름표면에서의 곰팡이들의 생육상태를 관찰한 결과이며, 접종 30일 후의 필름표면에서의 곰팡이들의 생육상태를 그림 7에 나타내었다. 곰팡이의 생육은 PVA 필름의 경우 접종 30일후에도 큰 변화가 없었으며, 반면 chitosan 필름의 경우에는 균의 생육이 배양초기부터 점차 진행되어 접종 20일 후에는 균사가 필름 표면의 약 50%를 덮어 왕성한 생육정도를 보였으며, chitosan/PVA 혼합필름의 경우는 접종 초기에는 균사의 생육정도가 낮았으나 접종 15일 후부터는 점차 증대되어 접종 30일후에는 필름 표면의 30~50%를 덮을 만큼 생육하였다. 또한 chitosan/PVA 필름의 경우 chitosan의 혼합량을 증

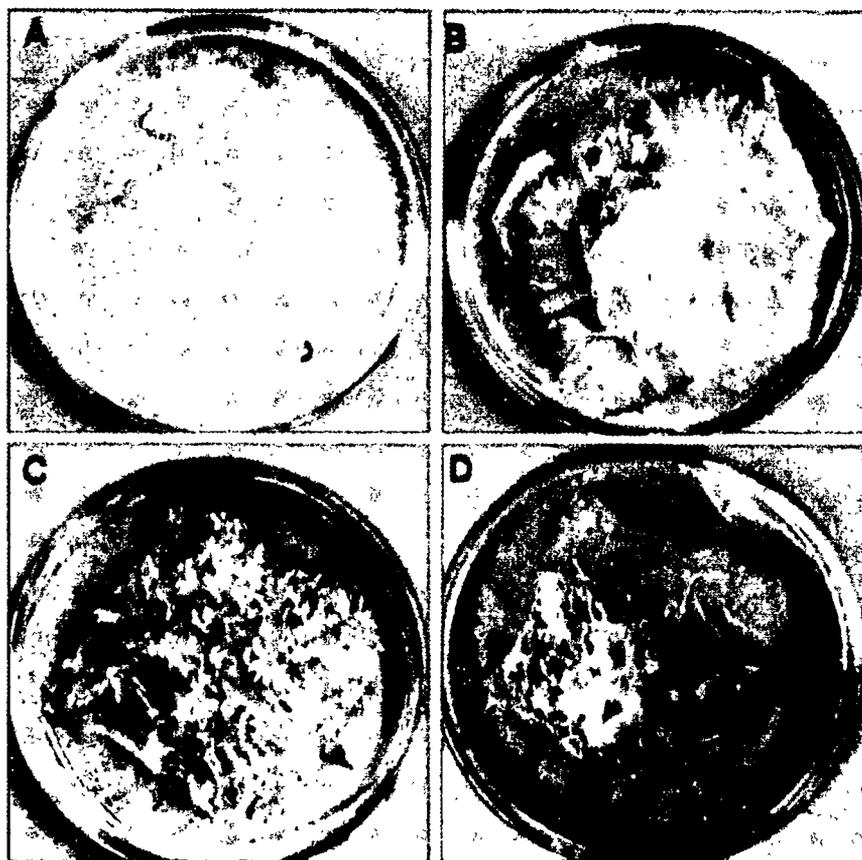


그림 7. 고분자 필름 표면에서 ASTM 공시 곰팡이들의 균사 생육 비교.

Fungal growth on PVA film(A), on chitosan film(B), on chitosan/PVA film(1% chitosan/3%PVA)(C), and on chitosan/PVA film(2% chitosan/ 3% PVA)(D), cultivated on nutrient salt agar without carbon source at 28°C, 85% RH, after 30 days incubation.

가시킴에 따라 곰팡이의 생육이 왕성하였다. 이와 같은 결과는 chitosan과 PVA의 혼합비율이 chitosan/PVA 필름의 분해 기간과 밀접한 관계가 있음을 의미하며 포장에서의 필름의 내구성을 조절할 수 있는 가능성을 제시한다.

Table 7 Fungal degradability of films as measured by soft agar overlay method.

Film	Mixing ratio (cocentration, %)		Fungal degradability* (days)					
	PVA	chitosan	5	10	15	20	25	30
PVA	5	0	0	1	1	1	1	1
Chitosan	0	3	1	2	2	3	4	4
Chitosan/PVA	3	1	1	1	1	2	2	3
	3	2	1	1	2	2	3	4
	5	1	1	1	1	1	2	2
	5	2	1	1	1	2	2	2

\*Fungal degradability was measured by the degree of fungal coverage on each film in accordance with the guidelines of ASTM G21-70, i.e., 0(no growth); 1(less than 10%); 2(10~30%); 3(30~60%); 4(over than 60%).

이상의 결과를 종합하여 볼 때, chitosan과 chitosan/PVA 혼합필름은 사과 겹무늬썩음병균인 *B. dothidea*에 의해서는 분해되지 않고 우수한 항진균활성을 보이지만 자연계에 널리 분포하는 *Aspergillus niger*와 같은 생분해성 측정에 이용되는 각종 공시균주들에 의해서는 생분해가 진행됨을 확인할 수 있었다. 이와 같은 특성을 가진 chitosan과 chitosan/PVA 혼합필름은 사과 겹무늬썩음병 방제법에 활용할 만한 적합한 소재인 것으로 판단된다.

반면 PVA 필름은 생분해성 측정 공시균주에 의해서는 거의 분해 되지 않았다. 그러나 문헌에 의하면 PVA는 *Pseudomonas* sp.와 같은 토양유래의 세균들에 의하여 분해된다고 알려져 있으며(13, 14), 자연계에서 장기간 방치할 경우 각종 미생물에 의하여 생분해가 진행될 것이 예상된다. 이를 확인하기 위해서 토양 매립에 의한 생분해성 실험과 같은 별도의 실험이 요망된다.

## 제3장 Polymer의 도포에 의한 사과 겹무늬썩음병균 병포자의 분산 저지효과 검정

### 제1절 서 설

최근 농약의 과다 사용으로 인한 환경 문제, 식품오염 문제, 약제내성균 문제 등을 고려하여 polymer로 물리적 장벽을 만들어 기주식물을 병원균으로부터 보호하려는 연구가 일부의 연구자에 의해 수행되고 있다. Baxer 등(1)은 토마토의 southern stem blight의 방제에, 그리고 Ziv and Frederiksen(44)은 각종 wax나 plastic polymer로 옥수수 및 수수의 잎에 발생하는 각종 병해의 방제 가능성을 검토한 바 있는데 특정 물질과 특정 병해간에 얼마간의 병발생 억제 효과가 검정되었으나 실용화에는 이르지 못했다. 그런데 Han(15)은 증식 억제제로 쓰이고 있는 gao-zhi-mo라는 물질을 단독 또는 농약과 혼합 처리하여 처리한 결과 병방제 효과와 함께 상당한 증수 효과가 있었다고 보고했다. 그러나 이 물질에 의한 병방제 효과의 기작은 분명치는 않으며 적어도 물리적 장벽의 형성에 의한 것만은 아닌 것으로 보고되어 있다. 이와 같은 연구는 대부분 병원균에 의해 감염될 수 있는 부위를 polymer로 코팅하는 방법인데 이 방법은 보호살균제의 경우와 마찬가지로 식물체의 생장으로 인해 코팅되지 않는 부위가 생겨나므로 확실한 효과를 기대할 수 없었던 것으로 생각된다. 본 연구에서 추구하는 방향은 이와는 달리 병원균의 전염원이 생성되는 부위를 polymer로 코팅하여 병원균의 증식은 물론 포자의 확산을 방지하는 방법으로 위의 방법과는 매우 상이하며, 현재까지 국외에서도 이 방향의 연구 결과는 찾아볼 수 없었다.

이 연구에서는 위의 목적에 사용할 polymer로 수용성인 polyvinylalcohol (PVA) 과 chitosan을 선발했는데 이 실험에서는 이들 물질을 사과나무 가지에 형성된 병반을 도포 하므로 포자의 분산을 어느 정도까지 줄일 수 있는지를

조사했다. 이 실험과 병행하여 병 방제를 위해 polymer의 피막을 유지시켜야 할 기간의 설정을 위해 대구·경북 지역 5개소에서 겹무늬썩음병균의 병포자 분산 상황을 조사했다.

## 제2절 경북지방의 사과 겹무늬썩음병균 병포자 비산양상 조사

Polymer의 도포를 실용화하기 위해서는 이른봄 전정이 끝난 직후 농한기에 도포해야 하므로 이 시기에 도포한 polymer의 피막이 겹무늬썩음병균의 포자분산 최성기까지는 분산 저지 효과가 지속되어야 하므로 경상북도내 사과 집산지 4개소와 본 실험을 수행한 대구시 산격동 소재 경북대학교 농장에서 사과 겹무늬썩음병의 포자비산 상황을 조사했다.

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 겹무늬썩음병균 포자분산 양상 조사 지점의 선정

지리적 기후적 특성을 고려하여 대구시 북구 산격동, 청송군 안덕면, 안동시 길안면, 영주시 부석면, 문경시 영순면의 5개 지점을 선정했다. 이들 각 지역에서 후지 10년생 내외의 나무가 식재된 과수원에서 겹무늬썩음병의 가지 병반이 다량 형성된 과수원을 각 지역에 1 필지씩 선정하고 각 과수원당 다시 3 주의 나무를 선정하여 조사 대상으로 하였다.

#### 나. 사과나무 가지를 타고 흘러내리는 빗물의 수집

겹무늬썩음병균의 병포자는 강우시 빗물에 의해 분산이 유도되므로 가지를 타고 흘러내리는 빗물을 수집할 수 있는 장치를 제작했다. 각 과수원에 선정된 나무의 주지에 지체부로부터 약 15 cm의 위치에 plastic병을 나무의 주간과 잘 밀착되도록 하고 그 속에 고인 물이 병 입구를 통하여 아래로 흘러내리도록 제

단하여 funnel을 제작하고 제단 부위에 polyurethan을 부착했다. 이를 전선으로 나무에 부착한 후 가지를 타고 흘러내리는 빗물이 아래로 새지 않도록 하기 위해 나무의 주간과 funnel 사이의 틈을 실리콘 충전제로 막았다. 비닐 호스의 한쪽 끝은 funnel의 기저부에 연결하고 호스의 다른 끝은 500 ml plastic병에 연결하여 가지를 타고 흘러내린 빗물이 병에 모이도록 했으며, 병속에는 포자의 발아를 막기 위해 약 0.5 g의  $\text{CuSO}_4$  를 넣어 두었다(38). 그리고 겉무늬썩음병균의 병포자의 표면은 많은 식물병원균과 마찬가지로 점질물로 덮혀 있어 병의 바닥이나 벽면에 쉽게 부착되므로 이를 막기 위해 병속에는 유산동과 함께 biodetergent를 소량 넣어 두었다.

#### 다. 포자의 계수

겉무늬썩음병균의 병포자의 분산은 지역마다 상당한 차이를 보이는데(3, 29, 31, 38, 40, 41, 42), 이 연구에서는 5월 중순부터 포자의 분산을 유도할 수 있는 온도 및 강우 조건이 충족된 경우에만 빗물을 채취하여 포자의 수를 조사했으며 수일간 연속 강우가 있을 경우에는 비가 끝난 후에 빗물을 채취했다. 또 조사 지점이 거리가 멀어 매회 강우시마다 빗물을 수거할 수 없는 경우도 있었다. 수거한 빗물 1 ml을 공경 3.0  $\mu\text{m}$  직경 13 mm의 membrane filter (Nucleopore, U.S.A.)에 통과시키고 filter에 부착된 포자를 anniline blue 가용 lactophenol로 염색, 광학 현미경( $\times 250$ )하에서 filter의 전면에 부착한 포자의 수를 계수 했다. 또 포자의 수가 너무 많을 때에는 빗물을 살균수로 적의 희석하여 조사했다.

## 2. 결과 및 고찰

경북 지방에 있어서 겉무늬썩음병균의 병포자 분산은 5월 하순경부터 시작되었으나(Table 8) 7월 상순까지 포자의 분산은 그리 많지 않았다. 그러나 대구 시에서는 이보다 빠른 6월 중순부터 포자분산량이 증가하기 시작하였는데(Table 8) 조사 지점이 경북대학교 부속 농장으로 과수원이 도심에 위치하므로

기온이 여타의 지역 보다 높았기 때문인 것으로 추정되었다. 경북 북부 지방에서는 7월 상순부터 포자분산량이 증가하기 시작하여 7월 중순에 급격한 증가를 보였으며(Table 9) 이러한 대량 분산은 8월 상순까지 지속되었으나 영주 지방에서는 8월 상순부터 벌써 감소 추세를 보였다(Table 10). 그 외 청송, 안동, 문경에서는 8월 중순부터 감소되기 시작하여 8월 하순에는 급격한 감소를 보였다(Table 10). 9월 상순경에는 조사한 3개 지역 모두 매우 적은 량의 포자가 포착되었으며 9월 하순경에는 극히 미미한 정도의 분산량을 보였다 (Table 10). 그런데 대구의 경우는 경북 북부 지역과는 달리 포자의 분산이 늦게까지 지속되어 8월 하순까지 거의 평행 상태를 유지했다. 그후 9월 하순까지 포자의 분산을 유도할 만한 강우가 없었으므로 조사를 할 수 없었고 9월 23일에 와서 6.6 mm의 강우가 있었는데 그때는 이미 포자의 분산이 거의 종료되는 시기였다 (Table 10).

Table 8. Waterborne spore dispersals in *Botryosphaeria dothidea* at the different localities in Kyungpook Province from May to June.

Localities	Precipitation(mm) and No. of spores observed in 1ml of rainwater runoff									
	20~21 May		26~29 May		2~6 Jun		18~19 Jun		27~28 Jun	
	Prec. <sup>a)</sup>	N.S. <sup>b)</sup>	Prec.	N.S.	Prec.	N.S.	Prec.	N.S.	Prec.	N.S.
Taegu	18.2	5	6.0	10	32.9	515	2.8	- <sup>c)</sup>	26.5	-
Chungsong	35.0	0	1.0	-	31.0	3	6.0	2	5.0	25
Andong	43.5	0	0.0	-	71.0	1	5.5	11	5.0	142
Youngjoo	77.0	4	0.0	-	45.5	2	20.5	3	8.5	3
Munhyung	74.5	13	0.0	-	36.0	4	18.1	-	21.0	38

a): precipitation, b): number of spores, C): not examined

Table 9. Waterborne spore dispersals in *Botryosphaeria dothidea* at the different localities in Kyungpook Province During July.

Localities	Precipitation(mm) and No. of spores observed in 1ml of rainwater runoff							
	1~2 Jul		7~8 Jul		19~21 Jul		23~25 Jul	
	Prec. <sup>a)</sup>	N.S. <sup>b)</sup>	Prec.	N.S.	Prec.	N.S.	Prec.	N.S.
Taegu	9.2	1,389	29.3	5,313	5.2	-	67.4	6,171
Chungsong	11.5	-	17.0	212	8.1	12,789	41.0	30,115
Andong	12.1	23	22.0	48	31.5	14,333	42.0	29,240
Youngjoo	0.0	-	23.0	152	10.5	18,720	28.5	6,112
Munhyung	1.0	-	30.0	443	26.0	4,349	46.5	7,632

a): precipitation, b): number of spores, C): not examined

Table 10. Waterborne spore dispersals in *Botryosphaeria dothidea* at the different localities in Kyungpook Province from August to September.

Localities	Precipitations(mm) and No. of spores observed in 1ml of rainwater runoff											
	9 Aug		15 Aug		19~21 Aug		23~26 Aug		7~10 Sep		23~24 Sep	
	Prec. <sup>a)</sup>	N.S. <sup>b)</sup>	Prec.	N.S.	Prec.	N.S.	Prec.	N.S.	Prec.	N.S.	Prec.	N.S.
Taegu	19.4	14,770	33.1	-	9.8	-	127.0	13,035	0.0	-	6.3	158
Chungsong	3.5	26,359	8.0	-	8.5	3,255	75.5	1,129	0.0	-	0.0	-
Andong	2.6	17,595	61.4	3,555	46.7	2,652	66.9	927	10.9	108	7.3	21
Youngjoo	35.5	315	6.0	-	81.0	240	269.5	186	10.5	78	26.0	13
Munhyung	12.9	18,266	65.0	2,996	80.5	358	127.5	236	19.0	189	2.0	-

a): precipitation, b): number of spores, C): not examined

사과 겹무늬썩음병균의 포자 분산 양상은 이 조사 결과에서 보는 바와 같이 지역간에 상당한 차이를 보이며 또 연차간에도 변동이 심한 것으로 보고되어 있다(3, 29, 31, 38, 40, 41, 42). 따라서 1년간의 조사 결과로 확정하기는 곤란하나 포자의 집중 분산기인 8월 중·하 순경까지만 피막을 유지시킬 수 있다면 소기의 방제효과는 얻을 수 있을 것으로 추정된다.

### 제3절 PVA의 농도에 따른 포자 분산 억제 효과의 검정

#### 1. 재료 및 방법

##### 가. PVA의 용해 및 농도

물성이 서로 다른 공업용 PVA(동양화학(주))와 시약용 PVA(Showa Chemical Inc. Tokyo, Japan)를 공시했다. 시약용은 3, 5, 7%의 3 수준으로, 공업용은 5, 7, 9%가 되도록 증류수에 첨가하고 magnetic stirrer상에서 가온하면서 용해했다. 이처럼 시약용과 공업용에서 농도의 차이를 둔 것은 수용액 상태에서 점도의 차이가 있었고 점도의 차이는 이들을 사과나무에 도포했을 경우 피막의 두께의 차이를 줄 수 있으므로 이를 보정하기 위해서였다.

##### 나. PVA 도포 나무의 선정

후지(M26 대목) 9년생이 식재된 경북대학교 부속 농장의 과수원에서 실험했다. 개별 나무마다 사마귀의 형성 정도에 큰 차이가 있었고, 또 이에 따라 포자의 분산량에 차이가 있을 것으로 생각하여 과수원에서 각 나무에 형성된 사마귀의 상태를 조사하고 그 형성 정도에 따라 3등급으로 구분하여 각 처리에 비슷한 등급의 나무가 고루 분포 되도록 하였다.

##### 다. PVA의 도포

사마귀 및 조피는 대부분의 경우 주간의 지제부부터 제 1 주지 분기점 사이에 국한되어 있었으나 가끔 주지에 까지 형성된 경우도 있었다. 각 농도의 PVA

를 4월 하순 주간 및 주지에 사마귀 및 주피가 형성된 부위에 붓으로 도포 했는데 개체간의 변이에 의한 오차를 최소화하기 위해 처리당 10 반복으로 하였다. PVA를 도포한 후 각 나무마다 전절에서 기술한 바와 같이 강우시 가지를 타고 흘러내리는 빗물을 모을 수 있는 장치를 부착했다.

#### 라. PVA 도포 부위의 주사 전자 현미경 관찰

PVA를 도포한후 시간의 경과와 함께 피막 상태의 변화를 관찰하기 위해 수피의 일부를 채취하고 gold coating 한 후 주사전자현미경으로 표면을 관찰했다.

#### 마. 포자 분산 억제 효과의 조사

5월 상순부터 매회 강우시마다 무처리 나무에서 포자의 분산량을 조사하여 전면적인 조사 시기를 결정했는데, 포자의 분산량이 빗물 1 ml당 500개 이상이 된 6월 상순부터 전면 조사를 시작했다. 포자의 분산이 본격화된 이후에는 조사간에 어느 정도의 간격을 두기 위해 매회 강우시마다 조사하지 않았다. 조사 방법은 전절의 실험에서 기술한 바와 같이 강우시 가지를 타고 흘러내린 빗물에 1 ml에 함유된 포자의 수를 계수했다.

## 2. 결과 및 고찰

#### 가. PVA의 도포에 의한 피막의 상태

PVA도포 직후의 피막 상태를 그림 8에 나타내었는데 그림 8A는 무처리의 수피의 상태이며, 그림 8B~D은 PVA를 도포한 사과나무 가지인데, PVA의 종류나 농도에 관계없이 외관상 단단한 피막이 형성되었다. 그러나 도포 후 4개월이 지난 8월 하순에 이들 가지에서의 피막의 상태를 보면 공업용 5% (그림 9A)는 피막이 많이 씻겨 나간 것을 볼 수 있었고 공업용 9%(그림 9B)의 피막은 비교적 온전하게 남아 있었다. 이에 반해 시약용 5% (그림 9C)와 시약용 7% (그림 9D)의 피막은 여전히 온전하게 유지되고 있었다.



그림 8. PVA 도포 직후의 상태

A : 무처리,      B : 공업용 9%  
 C : 시약용 5%, D : 시약용 7%

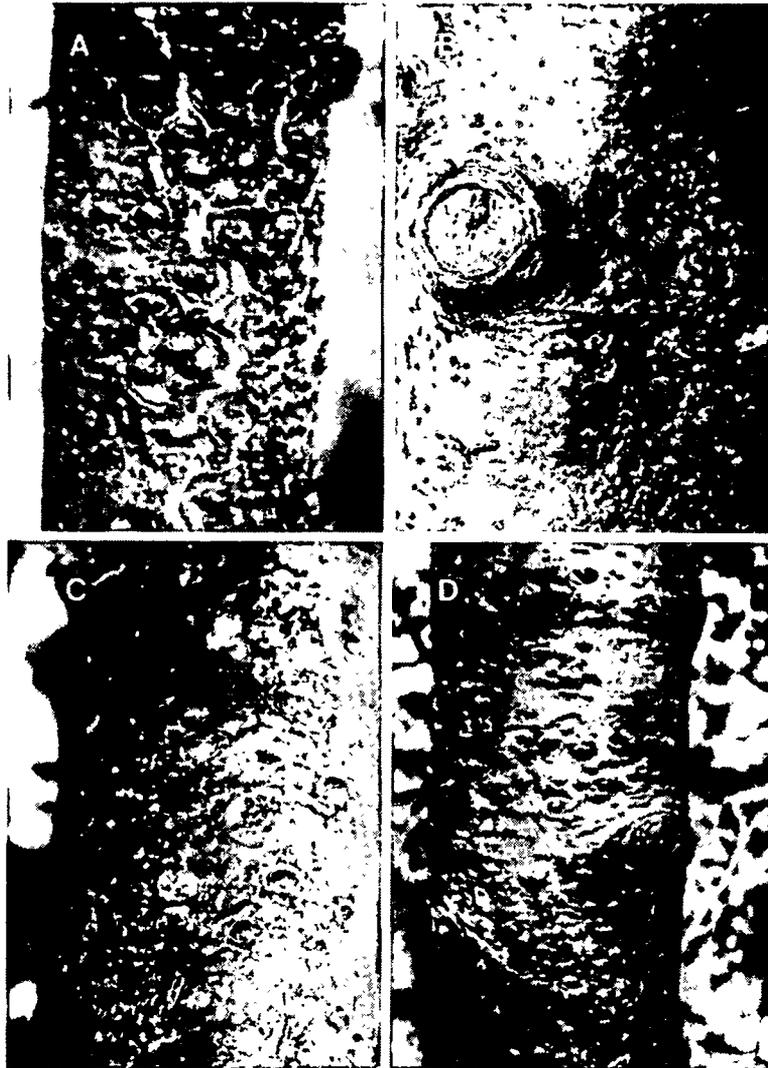


그림 9. PVA 도포 4개월 후의 상태

A : 공업용 7% , B : 공업용 9%

D : 시약용 5% , D : 시약용 7%

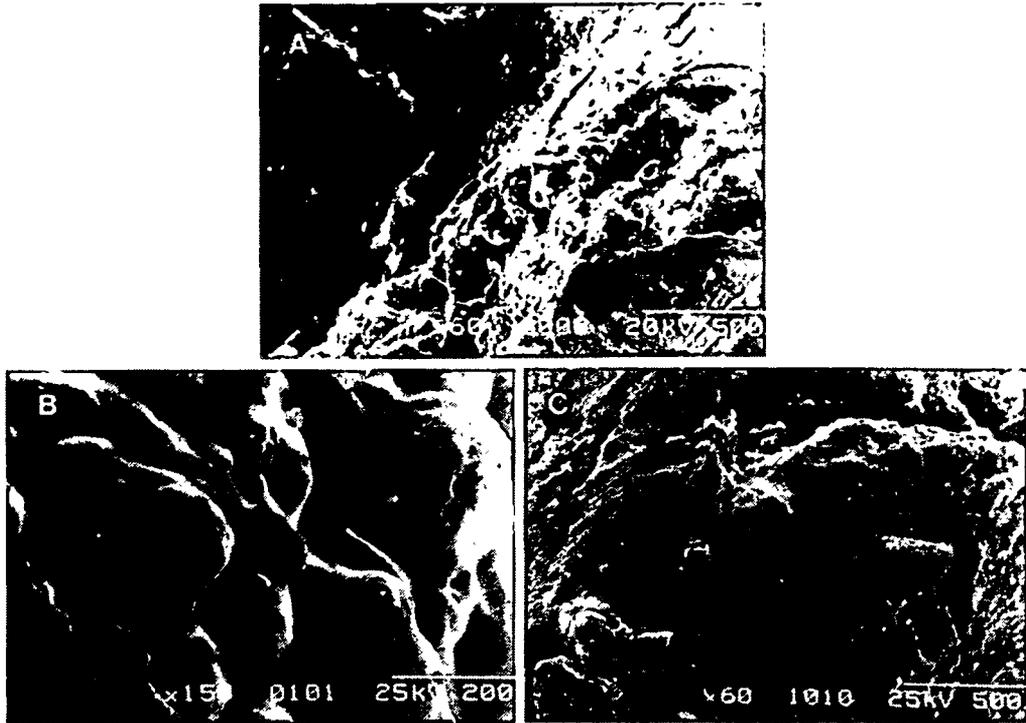


그림 10. PVA도포 부위의 주사전자현미경상

A : 무처리, B : 시약용 7% 도포직후

C : 시약용 7% 도포 4개월 후

PVA도포 직후의 수피를 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 전자가 피막을 투과해 버리므로 피막에 덮여 있는 병자각과 ostiole마저 선명하게 나타났으나 병자각과 병자각 사이에 다소 흐려 있는 것과 같은 부분이 피막인 것으로 판단되었다(그림 10B). 또 PVA도포 4개월 후 피막의 상태가 가장 온전한 시약용 7%의 수피를 관찰한 결과 그림 10C에서 보는 바와 같이 무처리(그림 10A)와 거의 차이가 없었다. 따라서 주사 전자 현미경으로는 피막의 상태를 관찰하기 어려운 것으로 판단되었다.

#### 나. PVA의 종류 및 농도에 따른 포자 분산 억제 효과의 차이

1995년 대구지역에서는 겹무늬썩음병균의 포자분산이 5월 14일에 18.2mm의 강우가 있는 후부터 시작되었다. 전체 조사는 무처리외의 포자수가 500개 이상 되는 6월 초순부터 시작하였는데, 8월 26일 조사 이후 9월 23일 사이에는 강우가 거의 없었으므로 조사할 수 없었고, 9월 23일 강우시에는 무처리 나무의 포자 분산량이 빗물 1ml당 불과 158개에 지나지 않았으므로 전체 조사를 하지 않았다.

PVA의 종류와 농도에 따른 포자분산 저지 효과의 차이를 보면, 포자분산 초기인 6월 상순까지의 포자분산량은 PVA의 종류나 농도간에 유의적인 차이가 없었는데, 이는 PVA를 도포한 후 경과된 시간이 짧아 피막이 온전하게 유지되었기 때문인 것으로 추정되었다. 그러나 7월에 들어가면서 PVA의 종류나 농도에 따라 차이가 나타나기 시작하였는데 이는 잦은 강우에 의해 피막이 유실되고 나무의 부피 자람에 의해 피막이 손상되었기 때문인 것으로 추정되었다. 그리고 대부분의 경우, PVA의 농도가 높을수록 포자분산저지 효과도 높게 나타났으나 8월28일에 조사된 시약용 5%와 7% 및 공업용 5%와 7% 처리구에서는 PVA의 농도와 저지율이 일치하지 않았는데(Table 11), 이는 반복간에 변이의 폭이 너무 컸기 때문인 것으로 판단되었다.

시약용 PVA의 경우, 3%는 포자분산 저지 효과가 다소 낮았으나 5%와 7%에서는 8월 하순까지 포자의 분산이 90% 이상 저지되었으며, 두 농도간에 통계적 유의차가 있는 경우도 있었지만 (7월 25일과 8월 28일) 그 차이는 2~3%에 지나지 않았으므로(Table 11) 시약용 PVA에 있어서 포자의 분산을 저지하기 위해서는 5% 이상의 농도는 의미가 없는 것으로 판단되었다. 한편 공업용의 경우, 5%를 도포한 나무에서는 포자분산 최성기에 70%이상의 저지율을 보였으며, 7%에서는 전 조사기간 동안 80%이상의 저지율을 나타내었고, 9%에서는 8월 하순까지 90% 또는 그에 근사한 효과가 지속되었다(Table 11). 그리고 공업용과 시약용을 같은 농도에서 비교해 보면 시약용이 공업용에 비해 저지 효과가

전반적으로 약간 더 높은 것으로 나타났다. 이 연구의 일환으로 수행된 별도의 실험에서 위의 두 가지 시료로 제조한 필름의 물에 대한 유실율을 조사한 결과 시약용이 공업용 보다 더 낮은 것으로 밝혀졌는데, 이와 같은 물에 대한 안정성의 차이는 PVA의 검화도나 중합도 보다도 정제 정도의 차이에서 기인하는 것으로 판단되었다. 따라서 시약용 및 공업용 PVA에서의 포자분산 저지 효과의 차이는 이들 PVA의 정제 정도의 차이에서 유래된 것으로 판단되었다.

Table 11. Inhibition of pycnidiospore dispersal by the coating of apple tree stems infected by *Botryosphaeria dothidea* with polyvinylalcohol

PVA grade	Conc. (%)	No. of pycnidia observed in 1ml of rainwater runoff											
		Jun		Jul			Aug						
		6	2	8	25	9	28						
Reagent	3	30	b <sup>a</sup>	389	b	969	c	1,707	c	2,183	bc	1,744	c
	5	21	b	60	d	100	f	581	e	1,232	cd	1,148	e
	7	27	b	73	d	131	f	427	f	638	d	1,414	d
Industrial	5	32	b	242	c	1,554	b	1,574	b	3,113	b	1,427	d
	7	43	b	228	c	368	d	851	d	2,192	bc	2,321	b
	9	17	b	193	c	250	e	570	e	1,530	cd	1,418	d
Untreated	0	515	a	1,389	a	5,313	a	6,171	a	14,770	a	13,035	a

<sup>a</sup> In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 1% level by DMRT.

이상과 같이 사과 겹무늬썩음병에 걸린 가지를 5% 이상의 시약용 PVA나 7% 이상의 공업용 PVA로 도포 하면 자연조건에서 포자분산이 거의 종료되는 8월 하순경까지 포자의 분산량을 80~90% 또는 그 이상 저해할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 그런데 사과 겹무늬썩음병에 있어서 전염원 밀도와 병 발생율과의 관계에 대한 연구 결과는 전혀 없다. 따라서 실용성이 있는 PVA의 농도를 결정하기 위한 이론적 근거는 아직 마련되어 있지 않다. 그러나 이 실험 결과에서 보는 바와 같이 시약용 5%를 도포한 경우, 사과의 생육기간 전반에 걸쳐

90% 이상의 포자분산 저지효과가 유지되었으므로 병 방제효과를 기대할 수 있을 것으로 생각되나 시약용 PVA는 고가이기 때문에 경제성에 문제가 있을 수 있다. 한편 공업용 PVA에 있어서도 9%의 경우는 90%에 가까운 포자분산 저지효과가 있었으므로 병 방제효과를 기대할 수 있으나, 점도가 너무 높아 용액을 만드는데 어려움이 있었고, 또 도포 작업에도 어려움이 있었다. 그러나 공업용 7%의 경우, 7월 하순 이후에 포자분산 저지율이 80%대로 다소 낮아졌으나 도포 시기를 조정하면 실용화가 가능할 것으로 생각되었다.

일반적으로 겹무늬썩음병의 감염은 낙화 2주 후의 유과기부터 수확기까지 가능한 것으로 알려져 있으나(13, 32), 8월 하순 이후에는 과실의 감수성이 급격히 저하하므로(13)이 시기에 분산되는 포자에 의한 감염 가능성은 매우 낮다. 또 이 연구에서 병 방제를 위한 polymer 피막의 포자분산 저지 기간을 설정하기 위해 대구, 경북지역 5개소에서 포자의 분산 소장 양상을 조사한 결과(Table 8-10)에 의하면 7월 이전에는 포자의 분산량이 매우 적으므로 그 시기에 대량 감염은 없을 것으로 보인다. 이 실험에서는 4월 15일에 PVA를 도포했고 그 후 6월 중순까지 거의 포자의 분산이 없었으므로 무효 기간이 약 2개월이나 되었던 것으로 생각할 수 있다. 만약 PVA의 도포를 포자의 분산이 시작되기 직전인 6월 중순경으로 미룬다면 겹무늬썩음병 감염 위험 기간 전반에 걸쳐 높은 저지효과를 유지할 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 6월 중순에는 사과나무의 잎이 번무해져 도포 작업상 어려움이 예상되므로, 5월 중순까지 도포 하면 작업상에는 어려움이 없을 것으로 보인다. 이처럼 도포 시기를 늦추면 공업용 7%로서도 8월 하순 이후까지 높은 포자분산 저지 효과를 유지시킬 수 있을 것으로 생각되었다.

일반적으로 겹무늬썩음병의 감염은 낙화 직후의 유과기부터 수확기까지 가능한 것으로 알려져 있으나(12, 13, 18, 29) 8월 하순 이후에는 과실의 감수성이 급격히 저하되므로 감염 가능성이 매우 낮은 것으로 알려져 있다(13, 29). 또한

7월 이전에는 포자의 분산량이 매우 적으므로 그 시기에 대량 감염은 없을 것으로 보인다. 따라서 이 병의 집중 감염 시기는 7월부터 8월 중순경 까지로 추정되므로 이 시기에 포자분산을 억제하면 대량 감염은 막을수 있을 것으로 생각되었다.

이 실험 결과에서 밝혀진 바와 같이 PVA의 도포에 의해 겹무늬썩음병균의 포자의 분산을 완전히 차단할 수는 없었고 90%까지는 어렵지 않게 저지할 수 있는 것으로 나타났다. 그런데 포자의 분산량을 90% 이상 감소시켰다고 해도 분산되는 포자의 수는 저지 효과가 가장 높은 시약용 7%의 경우에도 8월 하순 빗물 1 ml당 1,414개의 포자가 포착되었으므로(Table 11) 이 정도의 포자 양으로 병의 발생을 어느 정도 줄일 수 있는 지에 대해서는 아직 밝히지 못했으며 이를 밝히기 위해서는 대면적에 polymer를 도포하고 병 발생상황을 조사해야 하므로 3차년도에 pilot farm test에서 수행하기로 했다.

#### 제4절. Chitosan의 첨가가 PVA의 포자분산 저지효과에 미치는 영향

PVA는 2종의 *Pseudomonas* sp 협력작용으로 생분해가 가능한 것으로 알려져 있으나 (13, 16, 21) PVA를 분해하는 미생물이 사과나무에 서식하고 있을 가능성이 매우 낮고 분해 속도도 그리 높지 못할 것으로 추정되었다. 따라서 PVA단독으로 처리할 경우 통기 불량에 의해 사과나무의 생육에 부정적 영향을 끼칠 가능성이 있을 것으로 생각되었다. 또 PVA는 수용성이므로 빗물에 씻겨 내려서 토양에 집적되어 토양 환경에 역시 부정적 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각했다. 이와 같은 문제의 해결을 위해 미생물에 의해 쉽게 분해될 수 있는 전분을 일정량 첨가하므로 통기를 조장하고 또 PVA의 붕괴를 촉진시킬 수 있을 것으로 생각했다. 그러나 전분은 겹무늬썩음병균의 영양원으로 이용될 가능성이 있어 최근 각종 식물병원균에 대해 항균성이 있으며 생분해성 재료로 밝

혀져 있는 chitosan을 사용하기로 하였다.

## 1. 재료 및 방법

Chitosan은 산에 용해되므로 1.0% 초산 수용액에 2%가 되도록 chitosan을 용해했는데 이때의 pH는 4.2~4.5였다. 나무에 미칠 영향을 고려하여 2.0 M sodium acetate 로 pH를 5.5로 높였으며 이를 시약용 PVA 3%에는 chitosan의 농도가 1%, PVA 5%에는 0.5, 1.0%가 되도록 첨가하였다. 또 chitosan단독 도포에 의한 포자 분산 억제 효과를 검증하기 위해 2.0%를 공시했다. 이상과 같이 조제한 PVA-chitosan 혼합액 또는 2.0% chitosan용액을 위에서 기술한 방법으로 사과나무 줄기에 도포하고 포자 분산억제 효과를 검증했다. 이 시험 역시 10 반복으로 수행했다.

## 2. 결과 및 고찰

Chitosan은 poly- $\beta$ -D-glucosamine으로 chitin의 유도체로서 높은 amine함량과 polycationic성질 때문에 각종 폐수처리의 응집제와 효소 고정화제 등으로 많이 이용된다(20). 또한 *Fusarium oxysporum*과 *Rhizoctonia solani*와 같은 토양 전염성 식물병원균을 포함한 많은 병원성 곰팡이의 생육을 억제하며(5), 식물 세포에서는 식물의 방어기작인 chitinase의 유도, phytoalexin의 축적, 그리고 proteinase inhibitor의 합성 등을 촉진시킨다고 알려져 있다(6,9,19). 그리고 이 연구의 일환으로 수행된 별도의 실험에서 chitosan은 사과 겹무늬썩음병균에 대해서도 항균 활성이 있어 포자의 발아를 억제하고 발아관의 형태를 일그러트려 정상적인 발육을 저해하는 것으로 밝혀졌다(14).

Table 12. Effect of chitosan mixed with PVA on the inhibition of pycnidial dispersals in apple white rot by the coating of the diseased stems with them

PVA Conc. (%)	Chitosan Conc. (%)	No. of spores observed in 1ml of rainwater runoff											
		Jun		Jul				Aug					
		6	2	8	25	9	28						
3.0	0.0	30	b <sup>a</sup>	389	d	969	c	1,707	c	2,183	c	1,744	d
	1.0	20	b	79	e	93	e	518	d	1,741	c	2,469	c
5.0	0.0	32	b	242	c	1,554	b	1,574	c	3,113	b	1,427	e
	1.0	12	b	117	e	20	f	520	d	450	d	2,461	c
0.0	2.0	26	b	818	b	548	d	4,399	b	4,075	b	9,128	b
0.0	0.0	515	a	1,389	a	5,313	a	6,171	a	14,770	a	13,035	a

<sup>a</sup> In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 1% level by DMRT.

이상과 같은 특성을 갖는 chitosan 1% 용액을 시약용 3%와 공업용 5% PVA에 각각 혼합하여 도포한 결과 피막의 형태는 PVA 단독보다 더 광택이 있고 외견상 더 단단해 보였다(그림 10). 포자분산 저지효과에 있어서도 8월 상순까지는 PVA 단독 처리에 비해 크게 높아졌으며 포자분산 최성기인 7월 하순까지 90%이상의 높은 저지효과가 유지되었다(Table 12). 그러나 8월하순에 가서는 chitosan 첨가구가 무첨가구 보다 오히려 포자분산량이 많아졌는데, 그 원인을 명백히 설명하기는 곤란 8월 이후 chitosan이 미생물에 의해 분해되거나 유실되어 피막에 손상이 있었을 것으로 추정되었다.

그런데 2.0%의 chitosan을 단독 처리했을 경우, 포자분산 저지효과가 대단히 불안정하였으며, 또 저지율이 매우 낮았다(Table 12). 피막의 상태에 있어서도 도포 직후에는 PVA혼용과 거의 차이가 없었으나 도포 후 3개월이 지난 7월 중순경에는 피막이 대부분 유실되었다(그림 11).



그림 11. PVA-Chitosan 혼합액을 도포한 가지



그림 12. Chitosan 2%를 도포한 가지(도포 3개월 후)

이상과 같이 PVA에 chitosan을 혼합한 경우, PVA 단독 처리로는 포자의 분산 저지효과가 너무 낮아 실용성이 의문시 된 공업용 5%에서도 8월 상순경까지 90% 이상의 저지효과를 유지하고 있었다. 이 경우에도 전술한 바와 같이 도포 시기를 1개월 정도 늦춘다면 겹무늬썩음병의 감염 위험이 끝나는 시기까지 충분한 저지효과를 유지시킬 수 있을 것으로 생각되었다.

## 제 5 절 Polymer의 도포에 의한 겹무늬썩음병균 병자각 파괴 여부 및 병자각 파괴 소요시간 조사

겹무늬썩음병에 감염된 사과나무 가지에의 polymer의 도포가 사마귀 내에 형성된 병자각을 파괴할 수 있는지의 여부와 사마귀 증상의 진전에 영향을 미치는지를 검토하기 위한 실험을 수행했다.

### 1. 재료 및 방법

경북 영천시 신녕면 연정 2동 농가과수원에서 겹무늬썩음병의 감염에 의해 사마귀가 다량 형성된 M26 후지 8년생 20주를 선정하고 4월 중순경 주간 및 주지에 PVA 5% (공업용, 동양화학) 및 PVA 3% + chitosan 1% 혼합액을 각각 10주씩의 나무에 도포했다. 도포직후 사마귀의 진행상황을 가장 잘 볼 수 있는 부위를 oilm pen 으로 marking 하고 그 부위를 5, 7, 9월에 사진을 촬영하여 사마귀 증상의 진행상황을 사진으로 조사했다.

위의 실험과 병행하여 polymer를 도포한 나무의 주간 기부에 가지를 타고 흘러내리는 빗물을 모으는 장치를 부착하고 빗물에 함유된 포자수를 6월에 2회 7월에 1회, 8월에 2회 조사 했다.

### 2. 결과

가. Polymer 의 도포가 사마귀 증상의 진전에 미치는 영향

사마귀 증상은 그 발달 단계를 4가지로 분류할 수 있었다. 병원균의 침입 후

최초로 나타나는 병징은 단순한 돌기로 조직은 여전히 살아있고 내부에는 병자각이 아직 형성되지 않고 있는데 이 시기를 S1으로 명명했다. S1에서 병세가 더 진전되면 사마귀의 정단부에 균열이 생기고 내부에 병자각이 형성되는데 이 상태의 사마귀를 S2로 명명했다. 그리고 S2에서 더 진전된 상태는 사마귀의 주변부에 균열이 생기고 균열 안쪽의 수피조직이 괴사하며 과시조직에 까지 병자각이 형성되는데 이 시기를 S3로 명명했다. S3가 지나면 사마귀가 노화되어 주변의 균열 부위가 박리되기 시작하며 내부의 병자각 중에 포자가 내장된 것이 거의 없고 부스러져 버렸는데 이 상태를 S4로 구분했다.

사마귀의 발달 단계를 위와 같이 구분하고 사진 상에 나타난 사마귀의 멸도 멸도진행상태를 Table 13에 나타내었는데, 7월 20일 조사에서 S1에서 S2로 9월 14일의 조사에서는 S1에서 S2로, 또 S2에서 S3로 진행한 사마귀가 발견되었다. 이와 같은 진행은 polymer coating 여부와 관계가 없는 것으로 나타났으므로 polymer coating에 의해 병세의 진전은 막을 수 없으며 아울러 병자각의 사멸도 불가능한 것으로 밝혀졌다. 따라서 polymer coating에 의한 포자밀도 경감효과는 단순한 물리적 차단막 효과에 의한 것으로 판단되었다.

Table 13. Effect of polymer coating on the development of warts

Time observed	Polymer	No. of warts				
		S1	S2	S3	Developed	
					S1→ S2	S2→ S3
Apr 22.	PVA	3	45	7	-	-
	PVA+chitosan	2	56	3	-	-
	Cont.	3	65	4	-	-
May 22	PVA	3	45	7	0	0
	PVA+chitosan	2	56	3	0	0
	Cont.	3	65	4	0	0
Jul. 20	PVA	1	47	7	2	0
	PVA+chitosan	0	58	3	2	0
	Cont.	0	65	7	3	3
Sep.14	PVA	0	43	9	1	2
	PVA+chitosan	0	53	6	0	3
	Cont.	0	58	11	0	4

#### 나. Polymer 도포의 포자의 분산 저지효과

공업용 PVA는 5%의 농도로는 포자의 분산저지효과가 낮아 실용성에 문제가 있을 것으로 생각되었으나 PVA-chitosan 혼합물 처리에서는 겹무늬썩음병의 감염위험이 없어지는 8월 하순까지 포자분산이 95% 이상 저지되었다(Table 14). 공업용 PVA의 경우, 농도가 5% 이상이 되면 점도가 너무 높아 도포에 어려움이 있으므로 실용화를 위해서는 3%의 PVA에 1%의 chitosan 혼합이 불가피한 것으로 판단되었다.

Table 14. Inhibition of spore dispersals by the coating of polymer on the stems of apple tree infected with *Botryosphaera dothidea*

Polymers	No. of spores in 1ml of rainwater runoff and inhibition rate (%)				
	Jun 18	Jun 28	Jul 15	Aug 15	Aug 27
PVA (5%)	144 (91.7)	515 (75.7)	397 (79.0)	1219 (58.0)	653 (72.0)
PVA(3%)+ chitosan (1%)	63 (96.4)	254 (88.0)	86 (95.5)	275 (90.5)	104 (95.5)
Untreated	1737 (0.0)	2119 (0.0)	1899 (0.0)	2904 (0.0)	2338 (0.0)

## 제6절 Polymer 도포 효과의 증진 방법의 개발

사마귀 내에서 병자각이 형성될 수 있는 시기가 되면 사마귀의 정단부에 균열이 생기고 사마귀 조직이 괴사하게 된다. 괴사된 조직에 약제가 침투하는데에는 침투성 농약에서 볼 수 있는 특별한 기작이 필요없고 단순히 약액이 죽은 조직으로 확산되게 된다. 따라서 병원균의 균사발육을 저지하거나 치사시킬 수 있는 약제가 선별되면 그러한 약제는 사마귀 조직에 흡수되어 조직내의 병원균을 제거할 수 있을 것으로 생각하여 우선 in vitro 실험으로 병원균의 균사의

발육을 억제하거나 사멸시킬 수 있는 약제를 선발하고 선발된 약제를 사과나무 가지에 살포하여 포자분산 감소효과를 검토했다.

## 1. 재료 및 방법

### 가. 겹무늬썩음병균의 균사발육을 억제하는 약제의 선발

사용균주로 경북대학교 농생물학과 보존균주 중에 포자의 형성능이 높은 균주인 M26을 사용했다. 약제는 현재 겹무늬썩음병의 방제에 사용되고 있는 약제 중에 비교적 사용빈도가 높은 mancozeb, captan, benomyl, propineb, oxine-copper 및 imminoctadine-triacetate를 선정했으며, 그 외에 사과나무 부란병 방제제로 사용하고 있으며 사과나무 수피조직에 높은 침투성 있는 neosozin을 추가했다.

PDA 평판에 3일간 배양, 균총의 가장자리를 직경 5mm의 cork borer로 함균 한천 disc를 절취, 이를 표준사용농도로 희석한 각 약제에서 10, 20, 40, 60분간 shaking한 후, 멸균수로 1시간에 걸쳐 5회 원심분리법으로 세척, PDA plate에 이식, 균사의 발육상황을 조사했다.

### 나. Polymer 도포 전의 농약 처리가 포자형성 및 병원균 사멸 속도에 미치는 영향

전항의 실험에서 선발된 Captan, Imminoctadine-triacetate, Benomyl, 그리고 겹무늬썩음병의 균사 발육에는 대해서는 거의 저해 효과가 없었으나 강한 침투성이 있어 부란병의 방제에 사용 되는 neosozin을 표준 살포농도의 3배로 희석, 사마귀가 형성된 부위에 소형 압착식 분무기로 살포, 약액이 건조한 후 3% PVA로 도포. 6월 중순부터 8월 중순까지 4회에 걸쳐 가지를 타고 흘러내린 빗물의 단위용적당 포자수를 조사했다.

## 2. 결과 및 고찰

### 가. 겹무늬썩음병균의 균사발육을 억제하는 약제의 선별

이 실험에서는 함균 한천 disc를 각 농약에서 10분에서 60분간 처리했는데 결과는 처리 시간과 전혀 무관하게 점부 동일했으므로 (Table 15) 이 실험의 결과는 각 약제의 겹무늬썩음병균에 대한 최대작용 효과를 나타낸 것으로 볼 수 있었다.

또 실험에 사용한 약제는 겹무늬썩음병균에 대해 매우 다양한 반응을 나타내었는데, Table 15에서 보는 바와 같이 captan과 imminoctadine-triacetate에 처리된 경우에는 균사의 발육을 전혀 볼 수 없었고, thiophanate-methyl과 benomyl에 처리된 함균 한천에서는 균사가 발육했으나 크게 억제되었다. 그러나 mancozeb, propineb 및 neosozin 에서는 균사의 발육은 거의 억제되지 않았다.

보호살균제의 작용기작에는 포자발아 저해, 발아관 신장 저해, 침입균사형성 저해 등 다양한 형태가 있는데, 이 실험에서는 사마귀 조직내의 균사상태의 병원균을 살멸하거나 발육을 저해하는 약제를 선별하는 것이므로 captan iminocadine-triacetate 및 benomyl을 선별하였다.

Table 15. Effect of fungicides on the mycelial growth of *Botryosphaerea dothidea* as determined by immersing the agar disc containing mycelia into the solution of chemicals from 10 to 60 minutes.

Chemicals	Dosage (ppm a.i)	Mycelial growth after treatment of chemicals for minutes			
		10	20	40	60
Mancozeb	1,500	++	++	++	++
Captan	1,000	-	-	-	-
Propineb	1,400	++	++	++	++
Imminocadine- triacetate	250	-	-	-	-
Benomyl	325	+	+	+	+
Neosozin	42.3	++	++	++	++
D.W.	-	++	++	++	++

- : no growth at all, + : grew but inhibited, ++ : continuously grew

나. Polymer 도포 전의 농약 처리가 포자분산에 미치는 영향

배지상에서 균사의 발육을 억제하는 것으로 확인된 3약제와 neoasozin을 처리한 나무에서의 포자분산상황을 조사한 결과, Table 16에서 보는 바와 같이 benomyl 에서만 높은 포자분산 억제효과가 검출되었다. 따라서 균사의 발육저해와 포자형성 저해는 별개의 작용인 것으로 밝혀졌다. benomyl을 처리한 나무에서의 포자분산 저지율은 92.9%를 유지하여 PVA 3% / chitosan (1%) 피막의 저지효과 (Table 14)와 거의 비슷했다.

Table 16. Effect of chemical application prior to the coating of polymer on the sporulation of *Botryosphaerea dothidea*

Chemicals	No. of spores in 1ml of rainwater runoff and inhibition rate (%)				
	Jun 18	28Jun	Jul 15	Aug 15	Aug 27
Captan	187 (89.3)	583	679	1741	916 (60.8)
Imminoctadine-triacetate	197	511	843	1729	1165
Benomyl	61	77	84 (95.6)	375 (87.1)	167 (92.9)
Neoasozin	370	933	950	1586	813
PVA 3%	257	863	1042	1506	1172 (49.9)
Untreated	1737	2119	1899	2904	2338

이 실험에서 약제를 처리한 시기는 4월 중순이었는데 6월 하순까지 benomyl에서 매우 높은 포자분산 저지효과가 검출 되었으므로 이를 재확인하기 위한 실험을 수행했다. 2차 실험에서는 약제의 농도를 표준사용농도로 했고 benomyl과 같은 benzimidazole계 살균제인 thiophanate-methyl을 추가했다. 7월 13일에 각각의 약제를 20주씩의 나무에 처리하고 10주씩의 나무에는 3% PVA를 도포하고 나머지 10주씩의 나무에는 PVA를 도포하지 않았다. 이상의 처리를 한 나무에서 포자의 분산 상황을 8월 하순까지 조사한 결과, Table 17과 같은

매우 흥미로운 결과가 얻어졌다.

Benomyl 과 thiophanate-methyl 양쪽 모두에서 포자분산량이 크게 줄었는데 약제 처리 직후에는 크게 줄지 않았고 약제 처리로부터 시간이 경과할수록 포자의 분산량이 줄어들었으며, 약제 처리 후의 3% PVA도포에 의한 상승 효과는 거의 없는 것으로 나타났다.

Table17. Effect of benzimidazole fungicides on the sporulation of *Botryosphaera dothidea*

Chemicals	PVA(3%) coating	No. of spores in 1ml of rainwater runoff		
		15 Jul.	15 Aug.	27 Aug.
Benomyl	+	1463	749 (74.2)	112 (95.2)
	-	1087	616 (78.8)	381 (83.7)
Thiophanate-methyl	+	1569	857 (70.5)	332 (85.8)
	-	1542	695 (76.0)	279 (88.0)
Untreated		1899	2904	2338

약제 처리 후 시간이 경과할 수록 포자분산량이 감소하는 이유는 지금으로 정확히 설명할 수 없으나 이들 두 약제의 처리에 의한 포자분산량의 감소는 이들 약제가 포자형성을 저해하는 것이 아니고 병자각의 형성을 저해하는 것으로 추정할 수 있다. 그러나 이 실험은 재실험을 통해서 다시 확인되어야 할 것으로 생각되며, 만약 이러한 결과가 재현된다면 polymer의 도포와 같은 번거로움이 없이도 전염원의 밀도를 획기적으로 낮출 수 있는 방법이 될 수 있을 것으로 생각된다.

## 제7절 Polymer의 도포가 부란병의 병세 진전에 미치는 영향 조사

사과나무의 가지에 polymer를 도포한다면 부란병이 감염되어 아직 병징이 나타나지 않은 부위 또는 매우 적은 병반으로 얼른 식별되지 못하는 부위에 polymer를 도포될 가능성이 매우 높다. 이러한 경우 polymer의 도포가 부란병의 병세 진전에 미치는 영향을 미리 검토해 둘 필요가 있을 것으로 생각되어 인공 접종한 병반에서 polymer 도포의 영향을 검토했다.

### 1. 재료 및 방법

12년생 후지 나무에서 직경 5-10cm의 가지를 선정, 직경 5mm의 작열 시킨 콜크 borer로 화상을 입히고 PDA에서 배양한 부란병균의 균총 선단부에서 역시 직경 5mm의 disc를 절취 화상부에 부착하고 비닐테이프를 감아 두었다. 접종 7일 후 병반장을 측정 한 후, 병반 부위에 PVA 5%, chitosan 2%를 도포하고 7일 간격으로 병반장을 조사했다.

Table 18. Effect of polymer coating on the growth of canker caused by *Valsa ceratosperma*.

Treatment	Lesion length (mm) on the days after inoculation		
	0	10	20
PVA (5%)	29.5	74.2	123.4
Chitosan	32.9	78.8	119.8
Untreated	33.8	75.5	131.3

### 2. 결 과

Table 18에서 보는 바와 같이 PVA에서는 물론 항균성이 있는 것으로 알려진 chitosan에 있어서 까지 polymer의 도포가 부란병 병반의 진전에는 영향이 없는 것으로 나타났다.

## 제4장 Polymer의 도포가 사과나무의 생육에 미치는 영향

### 제1절 서 설

사과나무 줄기에 겹무늬썩음병균이 기생하는 부위는 어린 나무에서는 보통 주간과 일부 주지에 국한되나 노목의 경우는 잔가지까지 사마귀가 형성되는 경우가 많다. 겹무늬썩음병의 방제를 목적으로 polymer를 도포할 경우 적어도 사마귀가 형성된 부위까지는 완전히 도포 되어야 한다. 따라서 polymer의 도포는 10년생 이하의 왜생 나무 또는 잔가지까지 겹무늬썩음병에 감염되지 않은 노목에서나 가능할 것으로 생각된다. 10년생 이하의 어린 나무에 도포 할 경우, 그림 12에서 보는 바와 같이 PVA가 도포 되는 부위는 주간과 일부 주지의 기부에 국한되므로 사과나무의 생육에는 큰 영향이 없을 것으로 생각되나 그 사실을 실험적으로 증명할 필요가 있으므로 PVA 및 PVA- Chitosan을 도포한 나무에서의 신초발육과 과실비대를 무처리 나무와 비교했다. 또 이에 앞서 PVA의 도포 방법이 아직 확정된 것은 아니나 도포작업의 생력화를 위해 분무기로 분사하는 상황을 가정하고 이의 사과나무 발아에 미치는 영향을 조사했다.

### 제2절 Polymer의 도포가 사과나무의 발아에 미치는 영향

#### 1. 재료 및 방법

3월 하순 전정이 끝난 직후 6주의 나무를 선정하여 5%의 시약용 및 공업용 PVA를 각각 3 주의 나무의 일부 가지에 대해 소형 분무기로 잎눈과 꽃눈이 많은 잔가지가 완전히 도포되도록 살포하고 잎의 발아 상황을 발아 시작부터 완

전히 전개될 때까지 3~5일 간격으로 조사했다. 조사 대상 가지는 각 나무에서 한가지씩을 선정하고 가지의 선단으로부터 100개의 잎눈에 대해 조사했다.

## 2. 결과 및 고찰

1995년 대구 지방의 사과나무 발아는 3월 29일 경부터 시작되었는데 발아가 어느 정도 진행된 4월 3일부터 조사를 시작했다. PVA를 도포한 나무에서 처음 일부의 잎눈에서는 PVA의 피막이 덮여 발아에 다소 지장을 주는 경우도 있었으나(그림 13) 시간이 경과함에 따라 새잎이 PVA의 피막을 뚫고 정상적인 잎으로 전개되었다. 발아 시작으로부터 잎이 완전히 전개될 때까지 경시적으로 조사한 발아율을 Table 19에 나타내었는데 발아율에 있어서는 PVA의 처리와 무처리 간에 거의 차이가 없었다. 이상의 결과로 볼때 PVA의 도포과정에서 일부의 잎눈이 PVA에 도포 되어도 발아에는 지장이 없는 것으로 판단되었다.

Table 19. Effect of coating of apple twigs with 5% of PVA on the budding of apple tree

PVA grade	% budded on the date			
	3 Apr.	5 Apr.	10 Apr.	15 Apr.
Industrial	48.2	63.8	98.5	100
Reagent	43.8	64.7	95.7	100
Untreated	49.6	62.9	98.5	100

## 제3절 신초 발육 및 과실 비대에 미치는 영향

### 1. 재료 및 방법

PVA와 PVA-Chitosan을 도포한 시험구 중에 포자의 분산 저지 효과가 뚜렷한 처리를 골라 수세가 비슷한 나무를 3 주씩 선정하여 주당 10개의 가지의

길이를 조사하여 DMRT로 통계분석 하였다. 조사 대상으로 한 가지는 끝막음 전정으로부터 자란 가지를 선정했는데 전년도에 자란 가지의 직경이 5~7 mm 범위 내의 가지에서 자란 것만을 선정했다. 또 과실 비대에 미치는 영향을 알기 위해서는 각 나무에서 임의로 20개씩의 사과를 채취, 평균 과중을 구하고 이를 DMRT로 처리했다.

## 2. 결과 및 고찰

PVA를 도포한 나무와 무처리 나무를 달관적으로 관찰한 결과 양자 간에 차이가 없는 것을 알 수 있었다. 그러나 PVA의 도포가 사과나무의 생육에 영향이 없다는 사실을 수치로 나타내기 위해 신초의 발육상황을 조사했으나 나무의 수세가 각각 달랐기 때문에 처리간에 수세가 비슷한 나무를 선정하는 것은 대단히 어려웠으며 상당한 오차가 있을 것으로 생각되었다. 그러나 신초의 길이에 가장 큰 영향을 미치는 요인은 나무의 수세보다 신초가 자라난 전년도 가지의 굵기인 것으로 생각되어 5~7 mm의 범위 내의 가지에서 자란 신초를 대상으로 조사한 결과 Table 11과 같은 결과가 얻어졌는데, PVA의 농도간은 물론 처리와 무처리 간에도 유의차가 없는 것으로 밝혀졌다.

Table 20. Effect of plastic film wrapping on the growth of shoots and fruits.

PVA grade	PVA conc. (%)	Chitosan conc. (%)	Shoots length (cm)		Fruits weight (g)	
Industrial	7.0	0.0	40.2	a <sup>a</sup>	190.3	a
	9.0	0.0	35.8	a	187.6	a
Reagent	5.0	0.0	38.9	a	197.3	a
	5.0	0.5	39.5	a	202.6	a
	5.0	1.0	39.8	a	195.5	a
	7.0	0.0	40.0	a	189.3	a
Untreated	0.0	0.0	36.1	a	198.6	a

<sup>a</sup> : DMRT



그림 13. M26대목 후지 9년생에 있어서의 PVA 도포부위



그림 14. 휴면기에 PVA를 도포한 가지에서의 발아

한편 과실의 비대에 미치는 영향을 조사한 바 과실의 크기는 착과수와 반비례하고 있어 착과 수가 많은 나무에서는 과실의 크기가 적었다. 따라서 착과수와 수세가 비슷한 나무를 골라 조사하여 그 결과를 Table 20에 나타내었는데 신초 발육의 경우와 마찬가지로 PVA 및 PVA-Chitosan의 각 농도간은 물론 처리와 무처리 간에도 유의차가 없었다. 따라서 이들 고분자 물질의 사과나무 가지에의 국부적 도포는 사과나무의 생육 및 과실 비대에 단기적으로는 영향이 없는 것으로 판단되었다. 그러나 이 조사는 어디까지나 일년간의 단기적 관찰이며, 금년도에 처리한 나무 중에 특히 고농도로 처리된 나무를 차년도에도 지속적으로 관찰해야 할 것으로 생각되며, 또 2년이상 연속적으로 매년 도포했을 경우에 나무의 생육에 미치는 영향도 조사해야 할 것으로 생각되었다.

## 제5장. 살균제 살포력의 개발

### 제1절 서설

Polymer coating에 의해 겹무늬썩음병의 전염원 밀도를 감소시키고 농약의 살포회수를 줄이자면 그에 맞는 적절한 농약 살포 scheme이 필요하며, polymer coating에 의해 겹무늬썩음병의 전염원을 완전히 없앨 수는 없으므로 나머지 포자에 대한 대책이 필요하다. 따라서 이 연구에서는 겹무늬썩음병의 효과적인 방제를 위해서 한편으로는 가지병반에서의 포자의 형성 또는 형성된 포자의 비산을 차단하여 전염원의 밀도를 줄여 발병을 최소화하는 방법을 개발하고, 다른 한편으로는 병원균의 과실감염 상태를 정확히 구명하고 그에 근거하여 방제 약제의 특성을 최대한으로 이용하는 새로운 방제력을 개발하는 두가지 방향으로 접근해야 할 것으로 생각되었다. 또 그뿐만 아니고 우리 나라의 사과원에 겹무늬썩음병 이외에 방제를 요하는 병으로 붉은별무늬병, 검은별무늬병, 점무늬낙엽병, 갈색무늬병, 그을음병 및 그을음점무늬병이 있다. 따라서 이들 병해도 효율적으로 방제될 수 있도록 방제력이 작성되어야 할 것으로 생각되었다. 현재 우리나라에는 사과에 대해 경엽 살포제로 등록된 살균제가 69종이나 되므로 어느 시기에 어떤 약제를 살포할 것인지를 결정해야 할 것으로 생각했다.

새로운 살균제 살포력을 개발하는 이론적 근거는 겹무늬썩음병의 잠복기간이 매우 길다는 점이며 그 기간 중에 침투성 살균제를 사용하면 발병을 효과적으로 저지할 수 있을 것으로 생각할 수 있다. 이 문제의 접근을 위해서 자연 조건에서의 가장 감염이 많이 일어나는 시기를 조사해야하고 또 각 시기별로 감염된 사과는 어느 시기에 발병하는 지에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각되었다. 이와 같은 실험 결과에 근거하여 각종 살균제의 겹무늬썩음병에 대한 작용상의 특성 및 기타 병해에 대한 방제효과를 검정해야할 것으로 생각되

었으며 그 내용에는 ① 사과 생육 시기별 보호살균제의 겹무늬썩음병에 대한 방제효과의 변화를 조사하여 각 시기 마다 최적의 약제를 배치하고 ② 각종 보호살균제의 보호효과최대 지속기간 조사하여 살균제의 살포 간격을 최대한으로 늘리며 ③ 보호살균제의 보호막을 뚫고 침입한 병원균을 소거하기 위한 우수한 EBI제를 선발하고 ④ EBI의 효과를 극대화할 수 있는 기간을 탐색하여 최적 사용 시기를 결정하는 한편 ⑤ 병원균 침입전에 살포한 EBI 제의 병원균 침입 저지 효과의 검정 및 그 지속기간을 조사하여 EBI제 살포 후의 감염에 대비한다. ⑥ 그리고 겹무늬썩음병 방제 약제로 선정된 각종 살균제의 점무늬낙엽병, 갈색무늬병, 그을음병 및 그을음점무늬병 방제효과 조사를 조사하여 이들 병해를 겹무늬썩음병과 동시 방제되도록 하는 등의 실험이 포함되어야 할 것으로 생각되었다.

## 제2절 겹무늬썩음병균의 사과 과실에의 인공접종법 개발

겹무늬썩음병의 발생생태에 관한 연구는 그리 많지 않지만 미국 및 일본의 일부 연구자에 의해 수행된 바 있으나 이 연구에서는 우리나라 특히 이 경북지방에 있어서 사과의 생육 시기별 감염을 및 잠복기간의 변화에 관한 정보가 필요하다. 그런데 이 병은 사과의 생육기간 거의 전반에 걸쳐 감염되므로 감염 가능기간이 매우 길고 잠복기간 또한 매우 길기 때문에 자연 감염에 의해서는 그 발생생태를 정확히 파악하기 어려우므로 인공접종법의 개발이 필요한데, 나무에 달린 상태로 인공접종하는 방법은 쉽지 않으며, 특히 무상접종의 경우에는 더욱 그러하다. 처음에는 포자현탁액을 과실에 분무 살포하고 일정 기간 동안 습윤 상태를 유지하기 위해 개개의 과실에 비닐봉지를 씌워 두었다. 그런데 양광면에 위치한 사과에서는 열상을 입는 경우가 많았고 발병을 또한 매우 낮았다. 더욱이 이 병의 경우 잠복기간이 2개월 이상 되므로 발병한 과실도 인공접종에 의한 것인지 자연감염에 의한 것인지를 구별하기 어려웠다. 따라서 수차례의 시행

착오를 거쳐 아래와 같은 방법을 개발 했다.

① 고압살균한 사과나무 가지에 병원균을 이식, 12시간 광조사하에서 포자형성 유도 ②포자현탁액 ( $\sim 10^4/ml$ )의 조제 ③포자현탁액을 직경 5mm의 paper disc에 흡수 ④ 과실표면에 과점이 밀집한 부위에 paper disc를 올려 놓고 ⑤  $1cm^2$ 의 aluminum foil로 접종원을 덮고, ⑥ cellophane tape로 밀봉 ⑦ 접종 3일 후에 접종부위를 oil pen 으로 표식한 후 접종원을 제거.

이상의 방법에 의하면 접종시기에 따라 사과나무의 건강상태에 따라 다소 차이가 있으나 감수성이 높은 시기에는 거의 100%의 감염율을 얻을 수 있었다.

### 제3절 사과 생육 시기별 겹무늬썩음병균의 감염과 발병 시기와의 관계

사과의 생육 시기별 겹무늬썩음병의 감염율의 변화를 조사하여 증점 방제시기를 결정하는 한편 각 시기별로 감염된 과실의 발병 시기를 조사하여 수확후 저장 유통 기간에 발생하는 잠복감염의 실태를 파악하고 그를 줄이는 대책을 수립하기 위해 인공접종법과 자연감염을 이용하는 방법으로 조사했다.

#### 1. 인공접종을 이용한 방법

##### 가. 재료 및 방법

1) 시험장소: 대구시 산격동 경북대학교 부속농장

경북 영천시 화남면 금호리 농가포장

2) 방법 : 6월 하순, 7월 중순 그리고 8월 중순에 매회 50개씩의 사과에 겹무늬썩음병균을 인공접종하였다. 접종 3일 후 접종부위를 유성펜으로 표시하고 접종원을 제거한 후, 자연감염을 막기 위해 봉지를 씌워 두었다. 9월 하순에 봉지를 벗기고 수확시까지 매주 발병과를 조사했으며, 수확당시 발병하지 않은 과실 중에 충해 또는 기계적 장애를 입은 과실은 제외하고 외견상 건전한 사과

는 28C의 정온실에 4주간 보존하면서 발병율을 조사했다.

나. 결과 및 고찰

Table 21. Relationship between the time of inoculation and disease rate determined by artificial inoculation

Localities	Time of Inoculation	Pre-harvest		Post-harvest	
		No. of fruit examined	disease rate (%)	No. of fruit incubated	disease rate (%)
Taegu	28, Jun.	45	35.6	28	46.4
	10, Jul.	41	31.7	21	52.4
	11, Aug.	47	27.6	31	64.5
Youngcheon	29, Jun.	46	45.6	18	83.3
	12, Jul.	47	74.5	9	88.9
	13, Aug.	42	61.9	11	100

이 실험의 결과, 영천포장에서는 거의 100%의 접종 과실이 발병하였으므로 이 연구에서 개발한 인공접종법의 접종효율이 대단히 높은 것이 증명되었다. 또 동일한 균주를 같은 방법으로 접종했음에도 불구하고 대구시와 영천에서의 발병율에는 상당한 차이가 있었는데(Table 21), 이는 사과나무의 건강 및 포장 관리상태의 차이에서 유래된 것으로 판단되었다.

인공접종 실험에서는 접종 시기와 감염을 간에 큰차이가 없었고 접종시기와 발병시기간에도 큰차이가 없었다. 그러나 감염된 사과의 상당한 부분이 수확후에 발병한다는 사실이 밝혀졌다(Table 21).

2. 자연감염을 이용한 방법

가. 재료 및 방법

1) 시험장소: 대구시 산격동 경북대학교 부속농장

경북 영천시 화남면 금호리 농가포장

2) 방법 : 1995년과 '96년 2회 수행했는데, 대구시 경북대학교 과수원에서 6월 28일, 7월 10일 및 8월 11에 매회 50개씩의 과실에 봉지를 씌웠으며, 영천에서는 이보다 1~2일 늦게 나무의 착과 상태에 따라 매회 50~100개씩의 사과에 봉지를 씌웠다. 9월 하순 개개의 사과에 labeling한 후 봉지를 벗기고 11월 상순 수확기 까지의 발병을 조사했고 수확 당시 외건상 건전한 사과를 28℃에서 4주간 가온하면서 잠복감염율을 조사했다.

1996년의 실험은 영천시 화남면 과수원에서만 수행했는데, 6월 상순 이후 약제를 살포하지 않는 나무를 3주씩 선정하고 6월 하순에서 8월 중순까지 월 1회 강우 후에 50개씩의 사과에 봉지를 씌웠다. 그런데 8월 상순경 갈반병의 증상이 심했으므로 과실에 약제가 직접 닿지 않게 하기 위해 당시까지 봉지를 씌우지 않았던 과실 전부에 봉지를 씌우고 imminoctadine- triacetate ( 1,500X)를 살포했다. 약액이 건조한 후에 다시 봉지를 벗기고 강우에 의해 자연 감염 되도록 했다. 이후의 처리는 전년도와 같이었다.

#### 나. 결과 및 고찰

자연감염을 이용한 실험에서는 인공접종 실험과는 매우 다른 결과가 얻어졌으며 감염 시기와 발병시기간에 일정한 경향이 나타났다. Table 22에서 보는 바와 같이 6월 하순까지 감염된 과실에서는 대구시 포장의 경우 수확전 발병은 전혀 없고 전부 수확 후에 발병했으며 감염시기가 늦어질수록 수확전 발병이 많아지는 경향이 나타났다. 이와 같은 경향은 영천시 포장에서도 마찬가지로 6월 하순까지 감염된 과실에서는 49.3%의 전체 발병율 중에 수확전 발병은 5.0%에 불과했고 감염시기가 늦어 질수록 수확전 발병율이 증가하였다. 대부분의 식물병에 있어서 잠복기간이 일정하므로 일찍 감염된 식물에서는 일찍 발병하고 늦게 감염된 식물에서는 늦게 발병하는 것이 일반적인 현상이다. 그러나 이 병에 있어서는 반대의 현상이 나타났으므로 이를 재 확인할 필요가 있어 이듬해 다시 실험했다.

Table 22. Relationship between the time of infection and disease rate determined by natural infection in 1995

Localities	Time of Bagging	Pre-harvest		Post-harvest	
		No. of fruit examined	disease rate (%)	No. of fruit incubated	disease rate (%)
Taegu	28, Jun.	71	0.0	59	13.6
	10, Jul.	65	3.1	40	12.5
	11, Aug.	48	10.0	40	30.0
Youngcheon	29, Jun.	80	5.0	71	49.3
	12, Jul.	70	5.7	62	64.5
	13, Aug.	42	23.8	24	95.8

1996년의 실험에서는 시기별 감염율은 전년도와는 달리 6월 상순까지 15.2%가 감염되었고 6월 하순까지는 이미 84.8%가 감염되었다(Table 23). 그러나 감염 시기와 발병시기간의 관계는 전년도와 거의 비슷하여 조기에 감염된 과실은 수확후에 발병하고 감염시기가 늦어질수록 수확전 발병율이 높아지는 경향이 재확인 되었다. 그런데 이 실험에서의 감염시기는 어느 시기에 한정적으로 감염시킨 것이 아니고 그 시기까지의 누적 감염율이므로 그 결과를 확실히 수치화 하기는 어우나 6월 상순까지 15.6%가 감염되었으나 수확전 발병은 없었고 전부 수확후에 발병했다(Table 23). 이 결과는 전년도 대구시 포장의 경우 6월 하순까지 감염된 과실에서 수확전 발병이 전혀 없었다는 사실 (Table 22)과 일치한다. 따라서 2년간의 실험에서 시차가 있긴 했지만 조기 감염 사과는 수확후에 발병한다는 사실은 확인된 셈이다. 이러한 현상을 현재로서는 적절히 설명할 수 없으나 몇가지 점을 고려할 수 있다. 우선 감염 당시의 사과 성분의 차이에 의해 유래될 수 있을 것으로 생각되며 또 한편으로는 병원균 균주의 특성에 의한 것으로도 생각할 수 있다. 그러나 그 기작을 밝히기 위해서는 아직 많은 실험이 더 필요할 것으로 생각된다. 그러나 이와 같은 현상은 이 병의 방제 대책의 수립에는 매우 유용한 정보가 될 수 있을 것으로 생각된다. 지금까지의 관행으로

Table 23. Relationship between the time of infection and disease rate determined by natural infection in 1996

Date of Rain	Date of Bagging	Pre-harvest		Postharvest	
		No. of fruit examined	disease rate (%)	No. of fruit incubated	disease rate (%)
7~8 Jun	9, Jun	33	0.0	32	15.6
24~27 Jun	28, Jun	66	21.2	46	63.0
2~5 Jul	6, Jul	38	34.2	23	56.5
20~21 Jul	22, Jul	84	34.5	50	64.0
31, Jul	3, Aug.	46	37.0	24	54.2
26~28. Aug	29, Aug	74	51.4	31	45.2

는 수확 후 저장 유통기간 중의 발병을 줄이기 위해 9월 중, 심지어는 10월 상순경까지 약제를 살포하는 농가가 상당 수 있었는데, 그러한 처치가 아무런 의미가 없다는 사실이 증명되었고, 잠복 감염을 줄이기 위해서는 생육 초기에 방제를 철저히 해야하는 것으로 밝혀졌다.

또 이 실험에서 얻어진 중요한 정보는 집중 감염시기가 연차간에 변동이 심하며 해에 따라 과수원에 따라 6월 중에 이미 80% 이상의 과실이 감염될 수 있다는 사실이다. 이 연구에서 수행한 병포자의 시기별 분산 소장 조사 결과 (Table 8)에 의하면 병포자는 6월 상순까지 거의 분산되지 않으며 7월에 들어가서 본격적인 분산이 시작되었다. 그러나 병포자의 본격적인 분산이 시작되기 전에 이미 대량 감염이 일어났으므로 이 실험에서 검출된 초기 감염은 자낭포자에 의한 감염일 것으로 생각되므로 자낭포자의 과실 감염원으로서의 중요성을 재고해야하며 그 대책도 동시에 마련되어야할 것으로 생각되었다.

## 제4절 봉지씌우기가 겹무늬썩음병의 발병 및 발병시기에 미치는 영향

이 연구에서는 사과와 생육 시기 중 어느 특정 시기까지 감염된 사과만을 검토의 대상으로 하는 경우가 많다. 그러한 경우 실험 처리 후의 자연감염을 막기 위해 과실봉지를 씌웠다. 사과에 봉지를 씌우게 되면 발병과 관련된 여러 가지 환경의 변화가 있을 수 있으며, 이로 인해 발병을 및 발병 시기가 봉지를 씌우지 않은 과실과 차이가 있을 수 있으므로 이를 확인하기 위한 실험을 수행했다.

### 1. 재료 및 방법

사과나무의 건강상태가 비교적 좋은 경북대학교 과수원에서 6월 하순에 160개의 사과에 인공접종하고 접종 3일 후에 접종원을 제거, 접종부위를 유성펜으로 표시한 후 80개의 사과에는 봉지를 씌우고 나머지 80개는 접종원만 제거하고 방치했다. 봉지를 씌운 사과는 9월 28일에 봉지의 외피를 벗기고 내피는 10월 4일에 벗겼다. 발병과의 조사는 9월 상순부터 시작했으며 봉지를 씌운 사과에서는 봉지체로 낙과된 과실이 인공접종에 의한 것인지를 여부를 가려 발병과의 수를 조사했고, 봉지를 씌우지 않은 과실에서의 발병과도 역시 접종 부위에서 발병된 것만 계수했다. 11월 2일에 사과를 수확하고 수확 당시 건전한 사과는 25C 정온실에 4주간 보존하면서 발병율을 조사했다.

### 2. 결과 및 고찰

봉지씌운 과실에서의 총발병율은 56.9%였고 봉지를 씌우지 않은 과실에서의 발병율은 63.5%로 양자간에 큰 차이가 없었고, 수확전 후의 발병율에 있어서도 차이가 없었으므로(Table 24) 봉지씌우기가 발병율에 미치는 영향은 없는 것으로 판단되었다.

Table 24. Effect of bagging on the incidence of apple white rot

Treatment	No. of fruits	Disease rate (%)		
		Pre-harvest	Post-harvest	Total
Bagged	58	32.8	24.1	56.9
Not-bagged	74	37.8	25.7	63.5

그러나 발병시기에 있어서는 봉지씌우기가 영향을 미친 것으로 나타났는데, Table 25에서 보는 바와 같이 봉지를 씌우지 않은 과실에서는 9월 중순부터 수확기까지 발병과가 거의 같은 비율로 발견되었는데 봉지를 씌운 과실에서는 봉지를 벗긴 직후에 한꺼번에 발병했다. 그리고 수확 후 발병도 봉지를 씌운 사과에서는 정온실 입고 2주 후에 24.1%가 발병하였는데 반해 봉지를 씌우지 않은 사과는 보존 기간 중에 고르게 발병했다. 이와 같은 현상에 대해서 정확히 설명하기 어려우나 사과 성분의 변화와 관련이 있을 것으로 생각된다.

Table 25. Effect of bagging on the time of symptom development in apple white rot

Treatment <sup>a0</sup>	No. of fruits	Disease rates found on ;										
		Pre-harvest						Post-harvest				
		Sep.			Oct.			Nov.		Dec.		
		11	20	28	10	20	28	2	18	25	2	9
Bagged	58	0.0	1.7	0.0	3.4	22.4	0.0	5.2	24.1	0.0	0.0	0.0
Not-bagged	74	2.7	6.8	4.1	8.1	9.5	4.1	4.1	7.1	5.4	1.4	0.0

a) Date of inoculation : 28, Jun

Date of removal of fruit bag : outer layer 28, Sep. ; inner layer : 4, Oct.

이 실험의 결과에 의하면 봉지씌우기는 겹무늬썩음병균의 감염을 및 발병을에는 영향이 없는 것으로 판단되었다.

## 제5절 보호 살균제의 겹무늬썩음병 방제효과 최대 지속 기간 조사

살균제의 살포회수를 줄이기 위해서 종래 10일의 약제 살포 간격을 늘릴 필요가 있으므로, 현재 겹무늬썩음병의 방제에 이용되는 보호살균제의 최대 약효 지속 기간을 조사했다.

### 1. 인공접종에 의한 검정

#### 가. 재료 및 방법

- 1) 공시약제 : Mancozeb, Captan, Imminoctadine-triacetate, Dithianone, Oxine-copper, Benomyl, Propineb, Folpet
- 2) 실험방법: 한 약제당 3주의 나무를 선정하여 7월 18일에 표준사용농도로 살포했다. 약제 살포 후 7, 10, 13일에 각각 3주의 나무에서 50개의 사과를 선정하여 인공접종했는데 약제의 작용상의 특성을 고려하여 접종원이 과실표면에 닿기 전에 포자가 발아하는 것을 막기 위해 포자현탁액을 흡수시킨 paper disc를 ice bath에 올려 놓고 접종했다. 접종 3일 후에 접종부위를 유성펜으로 표시한 후 접종원을 제거하고 추가 감염을 막기 위해 봉지를 씌워두었다. 이 실험에서도 10월 3일에 봉지를 벗기고 11월 상순 수확기까지 발병율을 조사하였으며, 수확당시 충해 또는 기계적 상처를 입은 과실을 제외하고 외견상 건전한 사과를 4주간 28C에서 가온처리하여 발병율을 조사했다.

#### 나. 결과 및 고찰

약제를 살포하고 10일 후에 접종한 과실에서 수확전 발병율이 한자리 숫자 이내로 억제된 약제는 befran, oxine-copper, folpet의 3종 뿐이었으며(Table 26), 이들 3종의 약제 중 13일까지 역시 한자리 수 이내로 억제된 약제는 befran 한 약제 밖에 없었다. 이 실험에 사용한 약제는 대부분 겹무늬썩음병 방제에 널리 쓰여 온 약제임에도 불구하고 이 실험의 결과에 의하면 거의 신

퇴할 만한 것이 못되었다. 그리고 수확 후의 가온처리에 의한 발병율을 보면 iminoctadine-triacetate, benomyl 및 folpet 을 제외한 나머지 약제에서는 80~100%가 발병하였다(Table 26).

Table 26. Control efficacy of several fungicides on apple white rot determined by artificial inoculation (1995)

Chemicals	Disease rate (%) of the apples inoculated on the days after the chemicals sprayed					
	Pre-harvest			Post-harvest		
	7	10	13	7	10	13
Mancozeb	7.4	18.8	20.8	92.3	89.5	90.0
Captan	3.3	24.2	17.6	50.0	66.7	100
Iminoctadine-triacetate	0.0	3.7	6.3	40.0	64.3	66.7
Dithianone	12.5	20.8	23.9	72.7	80.0	82.3
Oxine-C	7.4	7.4	13.2	75.0	88.9	90.5
Benomyl	13.3	16.7	27.8	64.3	71.4	75.0
Propineb	4.0	50.0	67.2	100	100	100
Folpet	0.0	4.6	10.3	58.3	69.3	72.8
Untreated	55.6	70.4	88.6	100	100	100

이 실험의 결과에 의하면 지금까지 겹무늬썩음병 방제 약제로 사용되어온 약제의 방제효과가 지나치게 낮게 나타나 그 결과를 그대로 신뢰하기에는 약간의 문제가 있을 것으로 생각되었다. 이 실험에서는 인공 접종시 현탁액을 흡수시킨 paper disc를 사용했는데, 이때 접종부위에 부착된 약제가 현탁액에 의해 희석되었을 가능성이 있고 또 실험에 사용한 약제 중 iminoctadine-triacetate를 제외한 약제는 모두 포자발아 저해제이므로 접종시 포자가 약제가 묻어있는 과실 표면에 닿기 전에 발아해 버렸을 가능성도 있으므로 자연감염과는 상황이 매우 다를 것으로 생각되어 이 실험에서 약제를 1차 선발한 후 다음해에 자연 감염을 이용한 실험을 다시 수행했다.

## 2. 자연감염에 의한 검정

### 가. 재료 및 방법

가) 사용약제 : 전년도의 인공 접종에 의한 검정에서 방제 효과가 높았던 iminoctadine-triacetate, folpet, oxine-copper의 3종과 비록 효과는 높지 않았으나 지금까지 널리 쓰여 온 약제로 재 검정이 필요할 것으로 생각된 mancozeb과 benomyl을 포함 시켰다. 또 일반적으로 동제가 껌무늬썩음병의 방제에 효과적이라는 사실이 알려져 있으므로 신규로 이 병에 등록된 copper-sulfate를 추가했다. 그런데 oxine-copper를 처리한 나무 3주중 2주가 시험기간 중에 날개문우병으로 고사하여 결과는 얻지 못했다.

나) 실험방법 : 영천시 화남면 후지 15년생이 식재되어 있는 농가과수원에서 18주의 나무를 선정하고, 약제살포전까지의 감염율을 구하기 위해 7월 4일 약제 살포 1일 전에 실험대상 나무 18주에 100개의 과실을 고루 분산되도록 선정하여 봉지를 씌우고, 한 약제당 3주의 나무에 표준사용농도로 희석한 약제를 살포했다. 약액이 건조한 후 각각의 약제를 살포한 3주의 나무에서 각각 100개의 사과를 선정, 봉지를 씌웠다. 당초에는 약제 살포 7일 후부터 매회 강우 후에 100개씩의 과실에 봉지를 씌우도록 계획했으나 15일이 지난 7월 20일부터 2일에 걸쳐 처음으로 비가내렸으므로 7월 22일에 봉지를 씌울 수 있었다. 따라서 이 실험에서는 약제 살포전까지의 감염에 의한 발병율, 약제살포에 의한 치료효과 그리고 약제 살포 17일 후까지의 보호효과를 검정할 수 있었다.

### 나. 결과 및 고찰

약제살포직전에 봉지를 씌운 과실에서의 수확전 발병율이 25.8%였고, 수확 당시 외견상 건전한 과실 68개를 25C에서 4주간 가온처리한 결과 98.5%가 발병했으므로 (Table 27) 실험 개시 이전에 이미 거의 대부분의 사과가 감염된 것으로 볼 수 있다. 이러한 감염 상태에서 약제를 살포한 결과, Table 27에서 보는 바와 같이 매우 흥미로운 결과가 얻어졌다. 약제살포 직전에 봉지를 씌운

과실에서 수확전 발병율이 25.8%였는데 약제살포 직후에 봉지를 씌운 과실에서 수확전 발병율은 약제에 따라 상당한 차이가 있었지만 대체로 무처리 보다 낮아졌고, 특히 iminoctadine에서의 발병율은 3.3%로 크게 낮아졌다. 이 약제는 보호살균제로 침투성이 없음에도 불구하고 수확전 발병율이 낮아졌다는 사실은 매우 흥미롭고 이 병의 방제를 위한 새로운 단서가 될 것으로 생각된다. 수확전 발병율이 낮아지는 현상은 mancozeb, benomyl 및 folpet에서도 볼 수 있었으나 그 정도는 그리 크지 않았고 copper sulfate에서는 거의 보이지 않았다.

Table 27. Control efficacy of the fungicides against apple white rot determined by the natural infection induced 15 days after the spray of chemicals (1996)

Chemicals	Days <sup>a</sup>	Pre-harvest		Post-harvest	
		No. of fruits examined	disease rate (%)	No. of fruits incubated	disease rate (%)
Iminoctadine	0 <sup>b</sup>	92	3.3	86	61.6
	17	86	0.0	82	80.5
Benomyl	0	93	12.9	74	68.9
	17	85	8.2	73	82.2
Mancozeb	0	92	13.0	78	41.0
	17	88	28.4	60	63.3
Copper-sulfate	0	90	24.4	67	79.1
	17	90	20.0	70	62.9
Folpet	0	94	10.6	80	72.5
	17	92	7.7	76	74.7
Untreated	-1 <sup>c</sup>	97	25.8	68	98.5
	17 <sup>d</sup>	84	34.5	53	98.1

<sup>a</sup> Days between chemical spray and bagging

<sup>b</sup> Bagged when the sprayed chemicals are dried up.

<sup>c</sup> Bagged prior to the chemical spray

<sup>d</sup> Cited from Table 23

약제살포 후 15일째 되는 날부터 2일에 걸쳐 다량의 강우가 있었으므로 감염을 위한 충분한 환경 조건이 갖추어 졌다고 생각되었다. 비가 그친 다음날 즉

약제 살포로부터 17일째 되는 날에 봉지를 씌웠는데, 그때 무처리는 이 실험을 수행하고 있는 나무에는 이미 약제가 살포되었으므로, 약제살포 직전의 무처리 처럼 표본 오차를 줄이기 위해 전체나무에 분산시킬 수 없었다. 그러나 같은날 겹무늬썩음병의 시기별 감염율을 구하기 위한 다른 실험에서 역시 무처리 나무에 봉지를 씌웠으므로 여기에서는 그 결과(Table 23)를 인용했다. 따라서 얼마간의 표본오차는 있을 수 있을 것으로 생각되었다. 특히 시기별 감염율을 구하기 위한 실험에서는 낙화 직후 microbutanil+mancozeb을 1회 살포한 것 이외에는 살균제를 전혀 살포하지 않았고 이 실험에 사용한 나무에서는 6월 중순까지 살균제가 2회 더 살포되었으므로 조건이 완전히 같은 것은 아니다. 실제로 시시별 감염율을 조사한 실험의 결과(Table 23)를 보면 이 실험이 시작되기 1일 전인 7월 4일에 봉지를 씌운 과실에서의 수확전 발병율이 두 실험에서 각각 34.2%와 25.4%로 나타나 차이가 있었다. 그러나 이 실험에서 약제 살포 15일 후의 무처리 사과에서의 발병율은 그 데이터를 이용할 수밖에 없었다.

약제살포로부터 15일 후에 강우에 노출한 무처리 사과에서의 수확전 발병율은 34.5%였으며, 수확 후 발병율은 98.1%로 15일 전과 거의 차이가 없었다. 그러나 수확전 발병율은 25.8%에서 34.5%로 증가했으므로 약제살포 15일 후의 강우에 의해 얼마간의 감염은 있었지만 이는 대부분 같은 사과에 중복감염된 것으로 판단되었다. 이러한 결과는 감염시기와 발병시기와의 관계를 밝히기 위한 실험에서 사과의 생육 후기로 갈수록 수확전 감염율이 높아진다는 결과와 일치하는 것으로 생각되었다.

이상과 같은 무처리에서의 발병 상황과 각 약제를 처리한 사과에서의 발병율을 비교한 결과, 역시 매우 흥미로운 점이 발견되었다. 우선 약제의 살포에 의해 감염율이 크게 낮아진 iminoctadine에서의 발병율을 보면, 약제살포 직후에 3.3%였던 수확전 발병율이 약제 살포로부터 15일이나 경과된 시기에 다량의 강우에 노출되었음에도 불구하고 발병율은 더욱 낮아져 0로 되었다. 이와 유사한

경향이 folpet과 benomyl에서도 발견되었으나 그 이유를 현재로서는 설명할 수 없다. 그러나 침투이행성이 없는 보호살균제가 이미 감염완료된 상태의 겹무늬썩음병균에 대해 항균작용을 나타내는 것은 대단히 흥미로운 사실이며 재확인이 필요한 것으로 생각되었다. 그러나 발병억제효과의 약제간의 차이는 각 약제의 겹무늬썩음병균에 대한 작용상의 특성을 반영하는 것으로 생각되었다.

한편 iminoctadine 을 처리한 사과에서 수확전 발병을 크게 억제되었으나 수확후 가온처리에 의한 발병율은 약제간에 거의 차이가 없었으므로(Table 27) 이 약제에 의한 발병억제는 정균작용에 의한 것이며 살균작용에 의한 것이 아닌 것으로 추정되었다. 이 실험의 결과는 단 한차례의 약제 살포에 의한 결과이며 감염된 사과가 같은 약제에 반복적으로 노출되었을 경우에는 어떤 결과가 얻어질지는 예측할 수 없으므로 이를 알기 위한 실험이 필요할 것으로 판단되었다.

이상과 같이 iminoctadine 은 이미 감염된 상태의 사과에 처리하여도 수확전 발병율을 크게 낮출 수 있다는 사실이 발견되었으므로 방제력 작성시 이 약제를 겹무늬썩음병 감염 위험이 높은 시기에 배치한다면 약제의 살포 간격이 15일 이상이 되어도 높은 방제효과를 얻을 수 있을 것으로 생각되었다. 그러나 이 결과를 방제력 작성에 활용하기 위해서는 장소와 시기를 달리하여 수회 반복해야만 할 것으로 판단되었다. 그리고 더 많은 약제에 대하여 같은 실험을 수행한다면 이와 같은 작용상의 특성을 갖는 약제가 더 선발될 수 있을 것으로 생각되었다. 그러나 현재로는 살포간격을 15일 이상으로 늘려도 문제가 없을 것으로 생각되는 약제는 iminoctadine 밖에 없는 것으로 판단되었다.

## 제6절 EBI제의 사과 겹무늬썩음병 eradication 가능 기간의 조사

사과 겹무늬썩음병에 있어서 잠복기간이 1개월 이상이되므로 이 기간 동안 과점 또는 주피내에 잠복 중인 균사를 사멸 시킬 수 있는 EBI제를 살포하면 발

병을 저지할 수 있을 것으로 생각했다. 그런데 겹무늬썩음병은 6월상순경부터 8월 하순경까지 비만오면 언제든지 감염 가능하므로 감염시기에 따라 약제에 대한 반응이 달라 질 수 있을 것으로 생각되어 겹무늬썩음병의 감염 가능기간을 3부분으로 나누어 실험했다. 즉 6월 하순, 7월 중순 그리고 8월 중순에 감염된 경우를 상정하여 각각의 시기에 인공 접종하고 접종일로부터 일정 간격으로 EBI를 살포하고 발병율을 조사하여 각 시기별 접종 사과에 대한 eradication 가능 기간을 추정했다.

## 1. 재료 및 방법

1) 약제의 선정 : 현재 우리나라에서 겹무늬썩음병에 등록되어 있는 EBI제 중에서 bitertanol과 difenoconazole의 두 약제를 선정했으며, 추천사용농도 (bitertanol : 1,000배, difenoconazole : 2,000배)로 실험했다.

2) 실험방법 : 1995년 6월 28일, 7월 10일, 8월 11일 3차에 걸쳐서 수행했는데, 매회 4주의 나무에서 주당 60개의 사과를 선정하여 병원균을 인공접종하고 접종 3일 후에 접종부위를 oil pen 으로 making한 후 접종원을 제거하고 과실에 봉지를 씌워 자연 감염을 막았다. 다시 접종으로부터 6, 12, 18, 24일에 매회 2주의 나무를 선정, 주당 60개씩의 사과의 봉지를 벗기고 약제를 살포, 약액이 건조한 후 다시 봉지를 씌워 자연감염을 막았다. 무처리는 주당 10개씩으로 약제 살포시 봉지를 벗기지 않았다. 이상과 같이 처리한 사과는 9월 하순에서 10월 상순에 걸쳐 봉지를 벗기고 11월 상순 수확시까지 수시로 발병을 조사하고, 수확 당시 미발병사과는 28C의 정온실에 1개월간 보존하면서 수확후 발병까지 조사했다. 조사 시 접종부위에서 발병한 것만을 발병과로 간주했다.

## 2. 결과 및 고찰

침투성 살균제인 EBI의 방제효율을 극대화하기 위해서는 병원균의 침입 정착 과정 중에 과점 조직내에서 증식하고 있는 병원균을 소거할 수 있는 최대한의

기간을 조사해야 할 필요가 있다. 이를 위해서는 병원균이 기주체의 표면에 부착한 시기를 정확히 알아야 하므로 인공접종법으로 실험했다. 그리고 사과와 성숙정도에 따라 병원균의 침입과 증식의 시간적 경과가 달라 질 것이 예상되어 6월 하순, 7월 중순 및 8월 중순으로 3회에 걸쳐 실험했다.

Table 28. Eradicative efficacy of EBIs against apple white rot determined by artificial inoculation on 28, Jun. 1996

Chemicals	Days <sup>a</sup>	Pre-harvest		Post-harvest	
		No, of fruit examined	Disease rate (%)	No, of fruits incubated	Disease rate (%)
Bitertanol	6	57	26.3	39	53.8
	12	54	24.1	30	60.0
	18	55	21.8	39	61.5
	24	56	25.0	38	44.7
Difenoconazole	6	56	28.6	29	51.7
	12	59	32.2	36	50.0
	18	53	24.5	36	52.8
	24	56	21.4	35	57.1
Check		76	36.8	34	55.9

<sup>a</sup> Days between inoculation and chemical treatment

6월 하순에 병원균을 접종한 결과, Table 28에서 보는 바와 같이 무처리에서의 수확전 발병율이 36.8%였고 수확후 발병율이 55.9%였다. 이러한 상황에서 접종 6일 후에 EBI제를 살포한 결과, bitertanol과 difenoconazole에서 각각 26.3%와 28.6%로 (Table 28) 방제효과는 그리 높지 않았으며, 접종 24일 후에 약제를 살포한 사과에서 까지도 거의 비슷한 정도의 발병율을 보였다. 그리고 수확 후 발병율에 있어서는 약제처리 시기에 따른 발병율의 차이는 물론 무처리와도 거의 차이가 없었다.

일차 실험을 시작한 후 12일째 되는 날에 2차실험을 시작했는데, 이때 무처리 사과에서의 수확전 발병율은 26.2%였고 수확후 발병율은 95.6%로 접종한 거의

모든 사과가 감염된 것으로 판단되었다(Table 29). 2차실험에서도 1차 실험과 마찬가지로 접종 6일 후에 약제를 살포한 경우, 발병율이 무처리와 차이는 없었다(Table 29). 그런데 bitertanol의 경우, 12일 후의 살포부터는 수확전 발병율이 급격히 낮아져 12.1%가 되었으며 접종 24일 후에 약제를 살포한 과실에서는 전혀 발병이 없었다. 한편 difenoconazole에서는 접종 후 12일의 살포에서도 발병율은 21.1%로 6일 후의 살포와 차이가 없었으나 접종 18일 살포부터 급격히 낮아지기 시작하여 접종 24일 후의 살포에서는 1.7%로 나타났다(Table 29). 수확 후 발병에 있어서는 접종 24일 후에 bitertanol을 살포한 과실에서 29.4%로 크게 낮아진 것 이외에는 대체로 무처리와 큰차이가 없었고 산발적으로 낮아진 경우가 있었다(Table 29).

Table 29. Eradicative efficacy of EBIs against apple white rot determined by artificial inoculation on 10, Jul. 1996

Chemicals	Days <sup>a</sup>	Pre-harvest		Post-harvest	
		No, of fruit examined	Disease rate (%)	No, of fruit incubated	Disease rate (%)
Bitertanol	6	49	20.4	32	81.3
	12	66	12.1	54	64.8
	18	59	6.8	51	86.3
	24	62	0.0	54	29.6
Difenoconazole	6	57	26.3	38	63.2
	12	46	21.1	41	80.4
	18	68	2.9	60	55.0
	24	60	1.7	51	70.6
Check		141	26.2	90	95.6

<sup>a</sup> Days between inoculation and chemical treatment

3차 실험은 8월 11일에 시작했는데 이 시기에는 사과가 이미 너무 비대해져 봉지를 씌우고 벗기기가 대단히 어려웠고 봉지를 씌우고 벗기는 과정에서 과실이 떨어지는 수가 많았다. 또 겹무늬썩음병의 발병 시기가 임박했으므로 3차 실험

험에서는 약제의 살포를 접종일로부터 3일 간격으로 3회만 수행했다. 이 시기의 무처리에서의 수확전 발병율은 26.9%로 2차 실험에서의 발병율과 거의 비슷했으나 수확후 발병율은 63.6%로(Table 30) 2차 실험때 보다 크게 낮았는데, 이는 매 접종시의 접종원의 상태 및 접종 당시의 환경 조건의 차이에서 기인하는 것으로 생각되었다.

Table 30. Eradicative efficacy of EBIs against apple white rot determined by artificial inoculation on 11, Aug. 1995

Chemicals	Days <sup>a</sup>	Pre-harvest		Post-harvest	
		No. of fruits examined	Disease rate (%)	No. of fruits incubated	Disease rate (%)
Bitertanol	3	28	3.6	23	21.7
	6	29	0.0	25	16.0
	9	31	0.0	27	14.8
Difenoconazole	3	26	0.0	17	52.9
	6	23	0.0	23	52.2
	9	26	0.0	21	52.4
Check		26	26.9	11	63.6

<sup>a</sup> Days between inoculation and chemical treatment

3차 실험에서는 접종 3일 후에 bitertanol을 처리한 사과에서 3.6%가 발병한 것 이외에 수확전 발병은 전혀 없었다(Table 30). 그리고 수확후 발병에 있어서도 bitertanol을 처리한 사과에서는 무처리에 비해 현저히 줄었으나 difenoconazole에 있어서는 크게 줄어들지 않았고 무처리와도 큰 차이가 없었다(Table 30). 이와 같은 결과는 1,2차 실험 결과와는 매우 달랐는데, 우선 1,2차 실험에서는 접종 후 짧은 기간내에 약제를 처리한 경우 대체로 수확전 발병억제효과가 매우 낮아 무처리와도 큰 차이가 없었으나(Table 28-29), 3차 실험에서는 접종 3일 후에 약제를 처리해도 수확전 발병을 거의 완전히 억제할 수 있었다.

이상과 같은 3차에 걸친 실험 결과를 묶어서 고찰하면 거기에는 다시 일정한 경향이 있음을 볼 수 있었다. 이들 세 차례의 실험은 약간의 시간적 차이가 있

으나 거의 연속되어 있으며, 특히 6월 28일에 접종한 1차 실험과 7월 11일에 접종한 2차 실험은 부분적으로 겹쳐져 있다. 1차 실험에서는 발병율에 거의 변화가 없었으나, 2차 실험에서는 약제처리가 늦어 질수록 발병율이 차츰 낮아졌으며, 이러한 경향은 3차 실험까지 연결되어 있었다. 즉 bitertanol 의 경우 2차 실험의 2회째 처리 (7월 22일)부터 발병율이 낮아지기 시작하여 4회째 처리에서는 발병율이 0가 되었고, 3차 실험의 첫 번째 처리에서 3.6%가 발병하였을 뿐이며 그 후의 처리에서는 전혀 발병이 없었다(Table 29-30). 그리고 difenocoazole에 있어서는 이와 같은 연속성이 더욱 분명하였는데, 발병율이 낮아지는 시기가 bitertanol 보다 6일 늦은 3회째 처리 (7월 28일)부터 시작되어 4회째 살포에 의해서는 발병율이 1.7%로 낮아졌고 3차 실험에서는 더욱 낮아져 발병이 전혀 없었다(Table 29-30). 이와 같은 발병율의 감소 추세를 거슬러 올라가면 1차 실험까지도 같은 연결 선상에 있는 것으로 볼 수 있다. 즉 3차 실험에서는 발병이 거의 없었고 2차 실험에서 약제의 처리 시기가 접종일로부터 가까워 질수록 발병율이 점점 높아져 2차 실험의 1회째 살포는 1차실험에서의 발병율과 거의 차이가 없어졌으므로 1차에서 3차까지의 발병율의 변화 추세는 연결되어 있는 것으로 볼 수 있다. 따라서 1차 실험부터 2차 실험의 중반까지는 발병율에 있어서 거의 변화가 없다가 그후 발병율이 낮아지기 시작하여 2차 실험의 마지막 처리부터 3차실험 전반에 걸쳐 발병이 완전히 억제되었다.

그런데 발병율이 낮아지는 시기가 약제간에 약간의 차이는 있었지만 거의 같았으며, 이 실험에서는 그 시기가 대략 7월 하순경인 것으로 나타났다. 또 EBI의 겹무늬썩음병 방제효과는 사과와 생육 단계와 관계가 있으며, 특정 생육단계에서부터 방제효과를 발휘하는 것으로 볼 수 있다. 이러한 점으로 볼 때 EBI의 겹무늬썩음병에 대한 방제효과는 약제의 병원균에 대한 살균작용 보다는 약제가 기주의 저항기작을 증진시켜 나타난 결과로 추정될 수 있다. 그리고 이와 같은 추정은 약제의 처리에 의해 수확전 발병율은 낮아져도 수확 후 발병율에는

변화가 없다는 사실로 뒷받침 될 수 있다.

이 실험에서 수확 후 발병율을 조사하기 위해 사과를 25C에서 4주간 보존하면서 조사했으므로 감염된 사과는 거의 대부분 발병한 것으로 판단 되었으므로 수확 후 발병율은 감염율을 나타내는 것으로 볼 수 있다. 수확전과 수확후의 발병율을 비교해 보면 1차 실험에서는 수확전 및 후의 발병율은 무처리와 거의 차이가 없었고, 2차 실험에 있어서는 세 번째 및 네 번째 약제 처리에 의해서 수확전 발병율은 크게 줄었으나 수확 후 발병율은 거의 변화가 없었다. 특히 difenocoazole의 경우, 3차실험에서는 수확전 발병은 전혀 없었으나 수확후 발병율은 여전히 무처리와 큰 차이가 없었다. 이처럼 수확전의 발병은 크게 줄었으나 수확후의 발병율은 무처리와 거의 차이가 없다는 것은 약제가 병원균에 작용하여 감염을 저지했다고 볼 수 없다. 따라서 EBI제의 살포에 의한 수확전 발병저지효과는 약제의 병원균에 대한 작용이라기 보다는 사과의 저항 기작의 증진에 의한 것으로 생각 되었다. 그러나 bitertanol에서는 2차 실험의 네번째 처리와 3차 실험 전반에 걸쳐 수확전 발병율의 감소가 수확 후 발병의 감소로 이어졌으므로 살균효과가 있는 것으로 생각되었으나, 그것도 수확전 발병율이 본격적으로 억제된 3차실험에서 나타났다.

이상과 같이 EBI제의 사과 겹무늬썩음병에 대해 작용은 매우 특이한 것으로 추정되나 이를 확인하기 위해서는 아직 많은 실험이 더 필요할 것으로 생각된다. 그러나 이 실험에서 겹무늬썩음병의 방제를 위해 EBI제를 살포하는 시기에 대해서는 대체로 결론을 얻을 수 있을 것으로 생각되었다. 즉 이 병의 방제를 위해 8월 상순 이전에 EBI제를 살포하는 것은 별로 의미가 없으며, 8월 중순경에 살포하면 수확전 발병율을 크게 낮출 수 있을 것으로 생각되었다. 그러나 수확 후에 발병하는 잠복 감염에 대한 대책은 별도로 강구되어야 할 것으로 생각되었다.

## 제7절 EBI제의 보호효과 및 그 지속기간

일반적으로 EBI는 살포 후 수시간 이내에 식물의 조직 내로 흡수되므로 과실의 표면에 약제가 남아서 보호효과를 발휘하기란 기대하기 어렵다. 그런데 치료를 위한 EBI의 살포시기가 생육 중기 또는 겹무늬썩음병 감염 위험이 상존하고 있는 8월 하순 이전으로 결정될 경우, 약제 살포 후는 거의 무방비 상태가 될 수 있다. 그러나 과실 조직 내로 흡수된 약제가 외부로부터 침입해 들어오는 병원균을 제압할 수 있을 것으로도 생각되므로, 이러한 가능성을 확인하는 한편, 만약 보호효과가 있다면 그 지속 기간을 알기 위해 나무에 달린 사과에 병원균을 인공접종하여 실험했다.

### 1. 재료 및 방법

1) 약제 : Bitertanol , Difenoconazole

2) 실험방법 : 경북 영천시 화남면 금호리에 농가포장에서 9주의 나무를 선정하고 그중 6주에 대해서 bitertanol (1,000X) 와 difenoconazole (2,000X)을 각각 3주씩에 살포했으며 나머지 3주는 무처리로 하였다. 약제 살포일로부터 3, 7, 11일에 매회 3주의 나무에서 50개의 사과를 선정하여 인공접종, 3일 후 접종원을 제거, 접종부위를 유성펜으로 표시, 다시 봉지를 씌워 추가감염을 막았다. 조사방법은 전항의 실험과 동일하며, 이 실험에서는 접종 부위에서 발병한 것만 발병으로 간주했다.

### 나. 결과 및 고찰

이 실험은 7월 상순에 시작했는데 수확 후의 발병율이 90% 이상인 것을 보면 접종한 거의 모든 사과가 감염된 것으로 판단 되었다. EBI제의 겹무늬썩음병에 대한 보호효과는 매우 낮은 것으로 나타났는데, bitertanol을 살포하고 3일과 7일 후에 병원균을 접종한 사과에서 수확전 발병율이 각각 6.4%와 9.5%로 같은 시

기의 무처리 35.7%와 43.5%로 어느 정도의 억제효과가 나타났으나 약제살포 11일 후에 접종한 사과에서는 24.1%가 발병하여 약제살포 후 시간이 경과함에 따라 보호효과가 낮아진 것으로 나타났다 (Table 31). 그러나 difenoconazole을 처리한 경우, 3일 및 7일 후에 접종한 사과에서의 발병율이 각각 22.7%와 26.1%로 bitertanol 보다 훨씬 낮았고 11일 후의 접종에서는 30.3%의 발병율을 보였다 (Table 31).

Table 31. Protective efficacy of EBIs against apple white rot determined by artificial inoculation

Treatment	Days <sup>a</sup>	Pre-harvest		Post-harvest	
		No. of fruit examined	Disease rate (%)	No. of fruits incubated	Disease rate (%)
Bitertanol	3	47	6.4	36	91.7
	7	42	9.5	26	92.3
	11	54	24.1	30	96.7
Difenoconazole	3	44	22.7	26	96.2
	7	46	26.1	25	100
	11	46	30.4	26	92.3
Untreated	3	42	35.7	25	100
	7	46	43.5	18	83.3
	11	47	53.2	19	100

<sup>a</sup> Days between chemical spray and inoculation

이상과 같이 약제를 살포한 후 병원균을 인공 접종한 결과 수확 후 발병율은 무처리와 거의 차이가 없었으므로 식물의 조직에 흡수된 EBI는 외부로부터 침입해 들어오는 병원균에 의한 감염을 거의 저지할 수 없는 것으로 나타났다. 그러나 수확전 발병율은 무처리에 비해 어느 정도 감소되었으나, 그것도 bitertanol에서 약제살포 3일 및 7일후의 접종에서 비교적 뚜렷한 수확전 발병율이 감소한 경우에만 볼 수 있었다. 이 실험은 7월 상순에 시작되었는데, 만약 같은 실험을 8월 상순 경에 수행한다면 그 결과는 매우 달라 질 것으로 추정되었다. 전향의 실험에서 EBI제의 겹무늬썩음병 방제효과는 7월 하순 경부터 높

아졌으며 그것도 병원균에 대한 작용보다는 사과나무의 저항력의 증대에 의한 것으로 추정되었으므로 그 시기에 EBI를 살포하면 보호효과도 높아질 것으로 추정되었다.

## 제8절 겹무늬썩음병 이외의 과실 발생 병해의 감염시기

사과 과실에는 겹무늬썩음병 이외에 점무늬낙엽병의 과실감염, 그을음병 및 그을음점무늬병이 발생하는데, 이들 병해의 방제대책도 동시에 고려되어야 한다. 그러나 농약 살포회수를 극단적 제한했으므로 이들 병해에 대해 별도의 농약을 살포할 수 없으므로 겹무늬썩음병 방제약제와 동시 방제가 되도록 해야하므로 이들 병해의 감염 시기를 정확히 조사할 필요가 있을 것으로 생각하여 이에 관련된 실험을 수행했다.

### 1. 재료 및 방법

경북 영천시 화남면 소재의 농가 과수원을 차지하여 실험을 수행했다. 이 실험을 위해서는 과실 발생 병해의 감염기간 중에는 살균제를 살포하지 않았으나 3월하순 월동기 방제시에 기계유제와 부란병 방제를 위해 thiophanate-methyl을 살포했고 4월 중순 개화 직전에 iminoctadine-triacetate를 살포했으며, 7월 하순 잎에 갈색무늬병이 다량 발생하여 이의 방제를 위해 과실에 봉지를 씌운 후 iminoctadine-triacetate를 살포하여 약액이 과실에 직접 닿지 않도록 했다. 약액이 건조한 후 봉지를 다시 벗겨 자연 감염이 되도록 했다. 그리고 살충제는 해충의 발생상황을 모니터하면서 필요시 간헐적으로 살포했다.

### 나 결과 및 고찰

그을음점무늬병은 6월 9일에 봉지를 씌운 과실에서 이미 90.0%가 발병했으므로 6월 상순 이전에 이미 감염이 완료된 것으로 보이며, 그을음 점무늬병은 6월

상순까지 69.7%가 감염되었고 그후 7월 하순까지 꾸준히 증가하여 7월 22일에 봉지를 씌운 과실에서 97.2%가 발병되었다(Table 32). 그러나 이들 병해의 발병은 7월 중순까지 거의 인지되지 않았으므로 봉지내에서 병세가 진전된 것으로 판단 되었다. 그리고 점무늬낙엽병의 과실 감염은 6월 상순까지 이미 48.5%가 감염되었고 그후 7월 하순까지 약간 증가하여 7월 22일에 봉지를 씌운 과실에서 59.1%가 발병하였다(Table 32). 따라서 점무늬낙엽병의 과실 감염도 초기에 일어나는 것으로 판단되었다.

Table 32. Time of infection of sooty blotch, flyspecks and Alternaria blotch on the fruits in 1996 determined by bagging of the unsprayed fruits

Date bagging	No. of fruits examined	Disease rate (%)		
		Sooty blotch	Flyspecks	Alternaria blotch
9, Jun	47	90.9	69.7	48.5
18, Jun	43	97.0	77.0	51.8
28, Jun	49	98.9	89.5	58.1
6, Jul	42	87.4	85.0	50.0
14, Jul	47	91.6	95.8	57.6
22, Jul	45	97.1	97.2	59.1
29, Aug.	46	41.7	29.2	38.9

그런데 8월 29일에 봉지를 씌운 과실에서 3종 병해의 발병율이 급격히 낮아졌는데. 그 원인은 다음과 같이 추정되었다. 앞에서 이미 기술한 바와 같이 7월 하순에 갈색무늬병 방제를 위해 그때까지 봉지를 씌우지 않은 과실에 봉지를 씌우고 iminoctadine-triacetate를 살포하고 약액이 건조한 후 봉지를 다시 봉지를 벗겨두었다. 그 후 영천 지방에서는 8월 28일까지 비가 전혀 내리지 않았으므로 약제를 살포한 후 3일째 되는 날부터 수시로 sprinkler를 가동하였는데, 이때 나무의 잎 및 줄기에 묻어있었던 약제가 과실에 닿아 치료효과를 발휘한 것으로 추정되었다. 실제로 농가 과수원에서 무대재배한 과실에서는 이들 3종의 병해가 거의 문제가 되지 않지만 6월 중순경에 봉지씌우기를 한 과수원에서는

가끔 대 발생하는 예로 볼 때 매우 설득력이 있어보인다.

이상의 추정을 과실의 표면에 기생하는 그을음병 및 그을음점무늬병에 대해서 사실로 인정해도 별로 무리가 없을 것으로 보이나 점무늬낙엽병에 대해서는 다소 무리가 있을 것으로 생각된다. 그 이유로는 점무늬낙엽병의 경우 감수성품종인 인도에서는 감염 후 짧은 시일내에 병반을 형성하는 것으로 알려져있는데, 후지품종에서는 아직 보고된 것이 없다. 만약 후지에서 7월 하순 iminoctadine-triacetate를 살포하기 이전에 병반을 형성했다면 약제의 살포에 의해 발병율이 낮아질 수 없을 것이므로 이 점에 대해서는 확인 실험이 필요할 것으로 판단 되었다.

이상과 같이 그을음병, 그을음점무늬병 및 점무늬낙엽병의 과실 감염은 6월 상순 이전에 감염되는데 이 시기는 겹무늬썩음병의 본격적 감염이 시작되기 전이므로 이들 병해의 방제를 위해서는 별도의 약제 선정이 필요한 것으로 판단 되었다.

## 제9절 각종 살균제의 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병 방제효과

사과나무 잎에 발생하는 주요 병해로는 붉은별무늬병, 검은별무늬병, 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병이 있는데, 이들 중 붉은별무늬병과 검은별무늬병은 봄에 발생하는 병해이기 때문에 별도의 약제 살포가 필요하다. 그러나 점무늬낙엽병과 갈색무늬병의 주 감염시기가 겹무늬썩음병과 거의 일치하므로 겹무늬썩음병 방제약제로 이들 두가지 병해를 동시방제 해야 한다. 특히 갈색무늬병은 근년에 와서 발생이 크게 증가하고 있으므로 특히 주의를 요한다. 이 연구에서는 겹무늬썩음병 방제를 위한 보호살균제의 선별시험과 병행하여 이들 약제의 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병 방제효과검정 시험을 수행했다.

## 1. 재료 및 방법

1) 사용약제: Iminoctadine-triacetate, Folpet, Mancozeb, Benomy Propineb

2) 실험방법 : 6월 중순부터 한 약제를 3주의 나무에 기본적으로 15일 간격으로 4회 연속 살포했는데 기상 조건에 따라 1-2일 약제 살포가 빨라지거나 늦어지는 경우가 있었다. 그 시기에는 점무늬낙엽병이 이미 소량 발생했으므로 최초의 약제살포 직전에 한 나무당 10개씩의 작은 가지를 선정, 가지의 분지점에 비닐 리본으로 표시해 두고 그때까지 생긴 병반은 유성펜으로 표시하여 다음의 조사에서 제외 되도록 했다. 마지막 살포로부터 15일이 경과한 8월 중순에 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병의 발생상황을 조사했는데 미리 선정된 가지의 기부로부터 완전히 전개된 잎까지의 전체 잎에 있어서의 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병에 걸린 잎수를 조사하여 이병엽율을 구하였다.

## 2. 결과 및 고찰

결과의 조사는 8월 하순에 수행되었는데, 점무늬낙엽병은 항상 새로 전개되는 잎에 감염하므로 그 시기가 되면 2차생장이 거의 끝나는 시기이므로 새잎의 전개가 없기 때문에 그 후에는 거의 감염되지 않지만 갈색무늬병은 8월 하순부터 9월 상중순이 발병 최성기가 되므로 조사시기 뿐만아니라 약제살포시기가 맞지 않는다. 그러나 이 연구에서는 점무늬썩음병과 동시 방제가 가능한 약제를 선발하는 것이므로 점무늬썩음병의 감염시기에 약제를 살포해야하므로 6월 중순부터 약제를 살포하는 것이 불가피했다. 또 갈색무늬병은 그 특성상 발생초기에 전염원의 밀도를 낮추면 발생최성기에도 발병율을 낮출 수 있으므로 8월 하순경까지 발병이 적으면 그 후에도 역시 큰 문제는 없을 것으로 생각되었다.

실험에 사용한 5종 약제의 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병 방제효과를 조사한 결과, Table 33과 같이 각 약제의 두 가지 병에 대한 방제효과는 매우 다양하였다. Iminoctadine-triacetate는 두가지병에 대해 모두 높은 방제효과를 나타내었

Table 33. Control efficacy<sup>a</sup> of fungicides which frequently have used for control of white rot against *Alternaria* blotch and *Marssonina* blotch

Chemicals	<i>Alternaria</i> blotch		<i>Marssonina</i> blotch	
	No. of leaves examined	Diseased leaf rate (%)	No. of leaves examined	Diseased leaf rate (%)
Imminoctadine-triacetate	374	1.0	372	1.7
Benomyl	405	5.4	427	16.4
Mancozeb	373	3.0	379	11.5
Propineb	380	2.3	369	5.9
Folpet	443	9.4	424	16.1
Untreated	386	16.2	390	31.7

<sup>a</sup> Examined at late August

고 mancozeb은 점무늬낙엽병에 대해서는 비교적 높은 방제효과가 있었으나 갈색무늬병에 대한 방제효과는 매우 낮았다. 그리고 propineb 은 두가지 병에 대해 상대적으로 높은 방제효과가 있었고 benomyl과 folpet은 방제효과가 낮았다.

이상과 같은 각 약제의 두가지 병에 대한 특성을 볼 때 propineb은 점무늬낙엽병의 감염 초기 즉 5월 하순이나 6월 상순경에는 사용할 수 있을 것이며 mancozeb은 점무늬낙엽병의 감염은 증가하지만 갈색무늬병의 일차감염이 시작되기 전인 5월 하순경에는 사용해도 문제가 없을 것으로 생각되었다.

## 제6장. Pilot farm test

### 1. 살균제 살포력의 작성

제2차년도 실험에서 사과와 생육기간 중 겹무늬썩음병의 집중감염 시기의 탐색, 각종 보호살균제의 예방효과 최대 지속 기간 조사, 침투성 살균제인 EBI의 효과 극대화 시기의 조사 등에 관한 일련의 실험을 수행하여 몇 가지 새로운 사실이 발견되었다.

현재 겹무늬썩음병 방제에 사용되고 있는 보호살균제의 특성은 여러 가지로 나누어졌는데 iminoctadine-triacetate는 타 약제에 비해 예방효과 지속 기간이 매우 길었고, 특히 iminoctadine-triacetate는 침투이행성이 없는 약제로 알려져 있으나 조직 내에 침입 정착한 병원균에 대한 치료효과를 겸하고 있었다. 오랜 동안 겹무늬썩음병 방제에 널리 사용되어 온 propineb, captan 및 benomyl은 약제의 살포 간격을 10일 이상으로 늘릴 경우에는 사용이 곤란한 것으로 판단되었으나, propineb은 겹무늬썩음병의 감염이 본격화하기 이전에 점무늬낙엽병과 갈색무늬병의 방제 및 일소의 방지를 위해 사용의 여지가 있을 것으로 생각되었다. 그 외 dithianone도 겹무늬썩음병에 대해 어느정도 방제효과가 있고 또 갈색무늬병에 대해서도 방제효과가 있었으나 약값이 비싸므로 경제적 타당성이 낮은 것으로 판단되었고, oxine-copper는 인공 접종에 의한 실험에서 겹무늬썩음병에 대해 비교적 높은 방제효과가 검출되었으나 다음해 자연 감염을 이용한 실험을 수행하는 도중에 나무가 고사하여 결과를 얻지 못했다. 또 광범위 살균제로 널리 사용되어 온 mancozeb은 겹무늬썩음병 방제효과도 그리 높지 않았을 뿐만아니라 점박이용애의 천적인 이리 응애의 산란을 억제하므로 이 방제력에서는 일단 제외하기로 했다.

Table 34. Spray schedule for pilot farm test to examine the effect of reduction of chemical spray through coating of apple tree branches with PVA/chitosan

Ser. No	Time Spray	Fungicides	Insecticides	Acaricides	
1	Late Mar.	Thiophanate-methyl		Maschine oil	Before budding
2	Late April	Captan	Phosphamidon		Before blooming
3	Middle May	Systhane M	Lambda cyhalothrin	Clofentezine or Hexythiazox	Petal fall
4	Late May	Propineb	Imidacloprid		
5	Middle Jun.	Folpet	Teflubenzuron or Triflumuron	Azocyclotin	
6	Late Jun.	Iminoctadine	Methidathion		
7	Middle Jul.	Iminoctadine		Fenproxymate	
8	Late Jul.	Iminoctadine	Fenvelerate or Bifenthrin		
9	Middle Aug.	Bitertanol		Propagite	
10	Late Aug.	Iminoctadine	Chlorpyrifos		

위에서 기술한 약제의 방제효과 및 겹무늬씩음병에 대한 작용 상의 특성은 실험을 수행한 당해연도의 특수한 현상인지 일반적으로 적용될 수 있는 것인지에 대해서는 아직 결론을 내릴 수는 없고 2-3년간의 반복 실험이 필요한 것으로 생각되었다. 그러나 이 연구에서는 우선 전년도 실험 결과에 의거하여 살포 간격을 15일 이상으로 늘릴 경우, 겹무늬씩음병에 대해 비교적 안정한 효과를 기대할 수 있는 약제로 iminoctadine-triacetate 한 약제만 선발되었고 folpet도 다소 가능성이 있어 보이나 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병에 대한 방제효과가 낮으므로 문제가 있을 것으로 생각되었다. 그러나 약제의 종류가 부족하므로 folpet 은 6월 하순 1회에 한정하여 사용하고 겹무늬씩음병이 집중감염기

에는 치료효과와 보호효과를 동시에 나타낼 수 있는 iminoctadine-triacetate를 집중 배치했다.

겉무늬썩음병의 감염 상태로 볼 때 보호살균제 위주의 방제를 해야 할 것이나 약제의 살포 간격을 15일 이상으로 늘릴 경우 보호살균제만으로 충분한 방제가 어려울 것으로 생각되었으므로 적절한 치료제의 선발과 그 효과를 극대화할 수 있는 살포 시기를 결정하기 위한 실험을 수행했다. 현재 EBI제로 겉무늬썩음병 방제에 널리 쓰이고 있는 bitertanol과 difenocoazole 은 7월 하순경부터 발병억제효과가 증대되기 시작하여 8월 상.중순경의 살포에서는 수확전 발병을 거의 완전히 억제할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 실험에 공시한 두 약제의 수확전 발병억제효과는 거의 차이가 없었으나 수확 후에 발생하는 잠복감염의 저지 효과에 있어서는 bitertanol이 difenoconazole 보다 우수했으므로 pilot farm test를 위한 약제로 bitertanol을 선정했다.

이상의 실험 결과에 근거하여 pilot farm test에 적용할 방제력을 작성했는데 살충제 및 살미제의 살포력은 대구 사과연구소의 이순원 박사의 도움을 받았다.

## 2. 실험 포장의 선정 및 시험구 배치

경북 영천시 신녕면 연정 2리에 후지 9년생이 식재되어 있으며 겉무늬썩음병의 가지 감염에 의해 사마귀가 다량 형성되어 있는 약 2,000평의 농가 과수원을 선정했는데, 인접한 과수원의 영향을 피하기 위해 가장 근접한 과수원이 직선 거리로 약 300m 떨어진 고립된 과수원을 선정했다.

Polymer 도포효과를 검정하기 위해 과수원을 2개의 시험구로 나누고, 그 한쪽은 polymer 도포구로하고 다른 한쪽은 polymer 무도포구로 했으며 각각의 시험구내에 다시 살균제 무처리구 (7~9주)를 설정했다.

### 3. Polymer의 도포

Polymer에 도포에 의한 겹무늬썩음병의 포자분산 방지 효과를 가급적 오래 지속시키기 위해서 도포 시기를 개화 직전인 4월 23일에 수행했다. PVA는 동양화학 공업용을 사용했고 Chitosan은 (주)영덕키토산의 제품을 사용했다. PVA는 70C에서 가열 교반하여 6%(W/V) 수용액을 만들고 Chitosan은 0.01M phosphate buffer (pH 6.5)에 2%(W/V)가 되도록 분산시킨 후 glacial acetic acid를 소량 첨가하고 교반하여 용해했다. 용해된 이들 두 종류의 polymer를 등량으로 혼합하여 사마귀가 형성된 부위가 완전히 덮이도록 붓으로 도포 했다.

### 4. 과수원의 일반관리 및 농약의 살포

2월 상순에 정지 전정을 완료하고 3월 25일 과수용비료 (12-6-10)를 10a당 60kg을 시용했으며, 제초제는 전혀 사용하지 않았고 5월 중순부터 근권 부위만 덮이도록 부직포를 깔았다.

농약의 살포는 이 연구에서 작성된 살포력에 준해 수행되었는데 그때 그때의 기상상황에 따라 다소 변형되었다. 농약의 살포는 3월 29일에 시작되었으며 thiophanate-methyl 1,000배가용 기계유유제 60배액을 살포했다. 개화 직전에 captan을 살포할 계획이었으나 강우가 거의 없었으므로 생략했다. 금년도에는 개화기가 다소 빨라 5월 중순으로 계획된 낙화 직후 살포가 5월 6일로 앞당겨졌고, 이 시기에 부탄엠을 살포하고 5월 17일부터 실험의 목적에 맞도록 적과 작업을 수행했는데, 진딧물이 급격히 발생하여 적과 작업에 어려움이 있었으므로 5월 16일 살균제 없이 imidacloprid를 단용으로 특별 살포했다. 다시 5월 29일 propineb과 살충제인 diflubenzuron을 혼합 살포했다. 이후 15~17일 간격으로 이 연구에서 작성된 살균제 살포력과 해충 발생 상황을 모니터 하면서 약제 살포를 수행했는데, 그 결과는 Table 35와 같이 살균제는 월동방제를 포함하여 9회 살포했고 진딧물 방제를 위한 살충제 단용 살포가 1회 추가 되어 총 약제

살포 회수는 10회가 되었다.

Table 35. Chemicals sprayed in the orchard for pilot farm test in which apple tree trunk and branches were coated with PVA/chitosan.

Ser. No	Date sprayed (excuted)	Fungicides	Insecticides	Acaricides	Remarks
1	26, Mar.	Thiophanate-methyl		Maschine oil	
2	6, May	SysthaneM	Lambda cyhalothrin		
3	16, May		Imidacloprid		Special spray
4	29, May	Propineb	Diflubenzuron	Azocyclotin	
5	13, Jun	Folpet	Methidathion		
6	30, Jun	Iminoctadine			
7	14, Jul	Iminoctadine		Fenazaquin	
8	29, Jul	Iminoctadine	Fenvalerate		
9	14, Aug	Bitertanol	Chlorpyrifos		
10	28, Aug	Iminoctadine	Chlorpyrifos		

## 5. 병해 발생조사

### 가. 조사방법

#### 1) 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병

낙화 직후인 5월 7일 4개의 각 시험구에서 각각 3주의 나무를 선정하고, 주당 10개의 작은 가지를 선정하여 가지의 기부에 붉은색 리본으로 최초의 조사 위치를 표식 했다. 발병엽의 조사는 최초에 표식된 잎으로부터 완전히 전개된 최상위엽까지의 발병엽수를 조사했는데 매회 조사시 병반을 유성펜으로 표식하여 일차 조사된 병반이 다음 조사에서 이중으로 계산되지 않도록 했다. 점무늬낙엽병의 병반이 처음 발견된 5월 하순부터 약 1개월 간격으로 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병의 발병율을 조사했다.

## 2) 겹무늬씩음병 및 탄저병

나무의 수세, 수형, 햇빛을 받는 위치, 착과상태 등을 고려하여 조사 대상 나무를 처리당 3주씩 미리 선정 해두었는데, 8월 중순경부터 겹무늬씩음병과 전혀 예기치 않았던 탄저병이 동시에 발생하기 시작했다. 이들 병의 발생이 처음 인지된 8월 14일부터 2주에 1회씩 두 가지 병의 발병과실 수를 수확기까지 정기적으로 조사했다. 두 가지 병의 초기 병징은 대단히 비슷하므로 이들 과실은 채취하여 실험실에서 약 1주일간 보관, 병세를 진전시킨 후 양자를 구분했다. 수확시에는 나무에 달린 전 과실을 채취하여 조사대상 나무에 착과된 전체 과실 수에 대한 두 가지 병의 발병율을 계산했다. 또 수확 당시 외견상 건전한 과실을 주당 50개씩 선정하여 25C에서 4주간 보존 하면서 수확 후 발병율을 조사했다.

### 나. 결과 및 고찰

1997년에는 사과에 각종 병해가 유난히 많이 발생하였으며 예년에 후지 품종에서는 거의 발생하지 않았던 탄저병이 경북의 전 사과 재배 지역에 다발했고 갈색무늬병도 역시 대 발생하여 많은 과수원의 나무가 조기에 낙엽 되었다. 또 겹무늬씩음병도 발생율도 예년에 비해 대단히 높았으며 일부 관리가 소홀한 과수원에서는 50% 이상이 발병했다.

#### 1) 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병

점무늬낙엽병은 낙화 직후부터 소량이나마 병엽을 볼 수 있는데 금년도에는 봄에 잦은 강우에도 불구하고 사과나무 잎에서의 점무늬낙엽병의 발생이 매우 적어 5월 10일 조사시에는 병엽이 전혀 없었고 5월 25일 조사시에 약간씩 발병이 시작된 것이 확인 되었다. 갈색무늬병은 6월 29일 조사시에 약간의 발병이 처음 확인되었고 낙엽은 8월 하순의 조사에서 처음으로 확인되었다. 살균제 무처리 구에서의 이들 두가지 병의 시기별 발생상황을 그림 14 에 나타내었다.

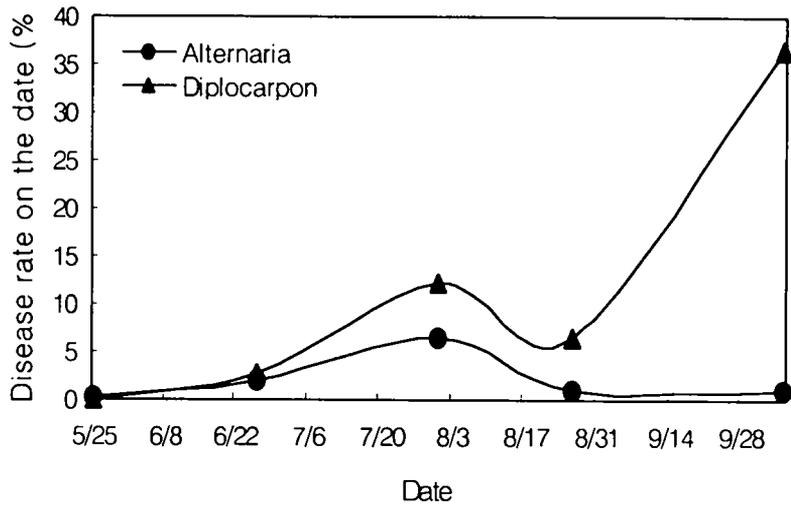


그림 14 점무늬낙엽병 및 갈색무늬병의 시기별 발생소장 (1977. 경북 영천)

Table 36. Disease incidence of apple Alternaria blotch at the pilot farm with reduced fungicidal spray in 1997

Polymer coating	Fungicidal spray	Block designation	No. of leaves examined	Disease rate (%)
coated	sprayed	CS	672	3.8 b
	not-sprayed	CNS	759	14.2 a
not-coated	sprayed	NCS	780	1.9 b
	not-sprayed	NCNS	612	12.1 a

<sup>a</sup> In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

점무늬낙엽병은 그림 14에서 보는 바와 같이 8월 26일 조사시까지 지속적으로 감염되었으며 polymer를 coating한 구와 coating 하지 않은 구에서 거의 차이가 없었다. 이는 이 병의 발생생태로 볼 때 매우 당연한 결과이나 방제는 6월

하순에서 8월 중순까지 꾸준히 수행 되어야하는 것으로 나타났다. 그리고 갈색 무늬병은 6월 하순에 처음으로 병반이 나타났으므로 이 병의 잠복기가 약 10일 정도라는 점으로 본다면 6월 중순 경부터 감염이 시작된 것으로 볼 수 있고 7월 하순의 조사에서 많은 병엽이 발견되었으므로 장마기간에 방제를 철저히 해야하는 것으로 볼 수 있다. 또 8월하순의 조사에서는 발병율이 오히려 감소되었는데, 이 시기에는 고온에 의해 감염율이 일시 낮아진 것으로 추정되었고 10월의 조사에서는 발병율이 급격히 증가하였으므로 8월하순 이후에 기온이 내려감에 따라 감염이 증가한 것으로 생각되었다.

Table 36은 10월 6일까지의 점무늬낙엽병의 발병율을 나타낸 것인데 살균제 무처리구인 CNS와 NCNS에서의 발병율이 각각 14.2%와 12.1%로 대체로 발병이 적은 편이었으며 polymer coating과 발병율 간에는 유의차가 없었다 (Table 36). 그리고 살균제를 살포한 경우의 발병율은 CS와 NCS에서 각각 2.7%와 1.9%로 거의 무시해도 좋을 정도였고, 살균제 무처리 구에서와 마찬가지로 polymer coating이 점무늬낙엽병의 방제와는 무관한 것으로 나타났다.

Table 37은 점무늬낙엽병의 조사와 병행하여 수행한 갈색무늬병의 발생상황인데 역시 10월 6일까지의 조사결과이다. 갈색무늬병은 점무늬낙엽병과는 달리 살균제 무처리구에서는 심한 발병을 보여 CNS와 NCNS에서의 발병율이 각각

Table 37. Disease incidence of Marssonia blotch at the pilot farm with reduced fungicidal spray in 1997

Poymer coating	Fungicidal spray	Block designation	No. of leaves examined	Disease rate (%)	
coated	sprayed	CS	672	1.9	b
	not-sprayed	CNS	759	60.8	a
not-coated	sprayed	NCS	780	3.8	b
	not-sprayed	NCNS	612	57.9	a

<sup>a</sup> In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

60.8%와 57.9%였으며 역시 polymer coating여부와는 무관하였다. 그런데 살균제를 살포한 CS와 NCS에서의 평균 발병율은 각각 1.9%와 3.8%로 거의 무시해도 좋을 정도였다. 수확당시의 각 처리에서의 대표적인 나무에서의 발병상황은 그림 15에서 보는 바와 같이 살균제를 살포하지 않은 CNS와 NCNS에는 잎이 거의 남지 않았으나 살균제를 살포한 CS와 NCS에서는 낙엽이 거의 없었다.

## 2) 겹무늬썩음병 및 탄저병

후지품종은 탄저병에 대해 내성이므로 지금까지 우리나라에서 후지에 탄저병이 문제가 된 적은 없었고 여름에 기온이 높은 해에 산발적으로 약간 발생한 적은 있었다. 따라서 이 연구에서는 당초 탄저병은 고려의 대상에서 제외했으나 1977년에는 이 병이 우려할 수준으로 발생했다. 1977년도 이 연구의 실험포장 살균제 무처리구에서의 겹무늬썩음병 및 탄저병의 시기별 발생 추이를 그림 16에 나타내었다.

탄저병의 발생이 처음 인지된 것은 쓰가루품종에서는 7월 하순경이었고 후지품종에서는 8월 중순경이었으며, 8월 하순에서 9월 상순 사이에 집중적으로 발생했고 9월 하순에 소량의 발생이 있는 후로 거의 발견되지 않았다. 따라서 탄저병은 특정 시기에 집중적으로 발생했으므로 감염도 특정시기에 집중되었을 가능성이 있을 것으로 생각되었다. 그런데 후지품종에 있어서 탄저병의 발생생태에 관한 연구는 거의 없어 잠복기간이 어느 정도인지 전혀 알 수 없으므로 감염 시기를 추정하기는 어려웠다.

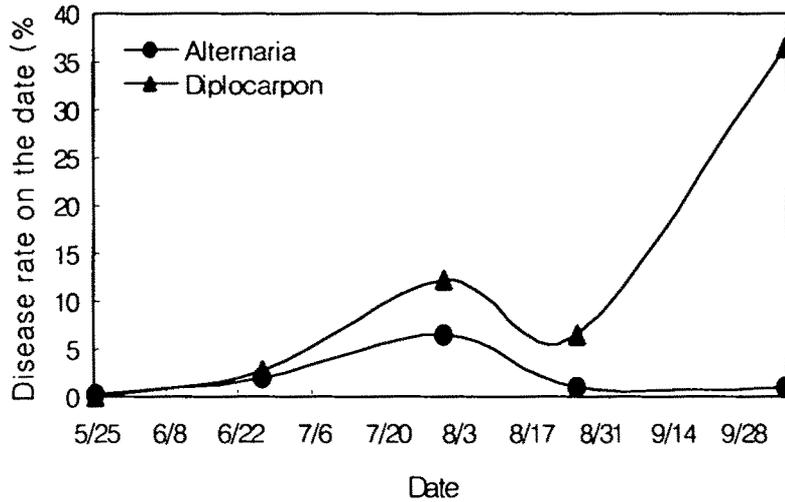


그림 16 탄저병 및 겹무늬썩음병의 시기별 발생소장 (1997. 경북 영천)

Table 38. Disease incidence of apple bitter rot at the pilot farm with reduced fungicidal spray in 1997

Poymer coating	Fungicidal spray	Block designation	No. of fruits examined	Disease rate (%)	
coated	sprayed	CS	492	3.9	b
	not-sprayed	CNS	343	11.2	ab
not-coated	sprayed	NCS	409	7.1	b
	not-sprayed	NCNS	378	26.7	a

<sup>a</sup> In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

한편 겹무늬썩음병은 8월하순부터 발생하기 시작하여 9월 하순까지 거의 같은 비율로 발병하다가 10월부터 수확기까지 갑자기 발병이 증가하였다. 살균제를 살포하지 않은 나무에서는 수확기까지 70% 이상의 사과가 탄저병과 겹무늬썩음병으로 거의 낙과 되어 수확당시 건전한 사과는 매우 적었다.

Table 38은 수확기까지의 탄저병의 발생상황을 나타낸 것인데, 나무에따라 발병율의 변이가 매우 컸다. Polymer 미도포 -살균제 무살포구 (NCNS)에서 26.7%가 발병했고 polymer 도포-살균제 무살포구 (NCS)에서는 11.2%가 발병하여 일견 polymer 도포효과가 있는 것 처럼 보이나 DMRT 분석 결과, 5% 수준에서 유의차는 없었다(Table 38). 이 병의 일차전염원은 사과나무 가지에서 월동하므로 polymer 도포의 효과가 있을 수 있으나 이 실험에서는 주감 및 주지의 일부만 도포되었으므로 그 효과가 나타나지 않은 것으로 생각되었다. 그리고 살균제를 살포한 경우에도 CS에서 발병율이 3.9%, NCS에서 7.1%로 역시 통계적으로 유의차는 없었으나(Table 38) 방제효과는 매우 낮은 것으로 생각되었다.

전술한 바와 같이 후지품종에서는 탄저병은 지금까지 문제가 되지 않았으나 이 실험에서는 상당한 정도로 발생했는데 그 원인이 금년도의 기상상황에 의한 특수한 경우인지 아니면 방제력에 채용된 약제에 문제가 있는지는 더 검토해 보아야할 것으로 생각되었다. 탄저병의 방제에는 mancozeb, captan 등의 EBDC계 살균제가 효과적인 것으로 알려져 있는데, 이들 약제는 점박이용애의 predator인 이리용애의 밀도에 영향을 미치므로 이 실험에서는 제외되었는데 이들 약제의 채용이 재검토되어야 할 것으로 생각되었다. 또 이 실험에서 겹무늬썩음병의 주 방제 약제로 채택한 iminoctadine-triacetate의 탄저병 방제효과도 다시 검토되어야 할 것으로 생각되었다.

Table 39는 수확기까지의 겹무늬썩음병의 발병율을 나타낸 것인데 polymer 미도포-살균제 무살포구(NCNS)에서 46.9%가 발병 한데 비해 polymer 도포-살균제 무살포구(CNS)에서는 38.2%가 발생하여 polymer의 도포에 의해 전염원의 밀도를 감소시킨 효과가 통계적으로 인정되었으나 그 효과는 기대에 훨씬 미치지 못했다. 금년도의 pilot farm에서는 포자의 분산량을 조사하지 않았으나 1차년도 및 2차년도의 연구에서 polymer coating에 의해 포자의 분산량을 90%

또는 그에 근사한 정도까지 줄일 수 있는 것으로 반복 확인되었다. 이와 같은 결과는 이 병에 있어서 포자의 분산량이 워낙 많으므로 polymer coating에 의해 포자 분산량이 90%이상 감소해도 감염율에 있어서는 큰 차이를 낼 수 없는 것으로 해석될 수 있다. 또 살균제를 살포한 경우, CS와 NCS에서 각각 0.8%와 1.4%로 그 폭은 더욱 좁아졌으며 통계적으로도 유의차가 없었다(Table 39). 따라서 살균제를 살포할 경우, 전염원의 밀도를 줄이기 위해 작업이 번거롭고 비용이 소요되는 polymer 도포는 의미가 없는 것으로 판단되었다.

Table 39. Disease incidence of apple white rot at the pilot farm with reduced fungicidal spray in 1997

Polymer coating	Fungicidal spray	Block designation	No. of fruits examined	Disease rate (%)	
coated	sprayed	CS	492	0.8	b
	not-sprayed	CNS	343	38.2	a
not-coated	sprayed	NCS	409	1.4	b
	not-sprayed	NCNS	378	46.9	a

\* In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

이 연구에서는 당초 사과나무 줄기의 겹무늬썩음병 감염부위를 polymer로 도포하여 전염원의 밀도를 감소시킴으로서 농약의 살포 회수를 줄이려고 했다. 그러나 살균제의 살포 회수를 대폭 경감시킨 새로운 방제력을 개발하기 위한 연구 과정에서 지금까지 밝혀진 바 없는 몇 가지 새로운 사실이 발견되었고 이를 근거로 하여 작성된 살균제의 살포체계를 운용한 결과, polymer를 도포하지 않고도 당초의 목표를 달성할 수 있다는 중요한 단서가 확보되었다. 그리고 살균제의 살포회수는 기상 조건에 따라 8회까지도 줄일 수 있을 것으로 생각되나 다소의 위험부담이 있을 것으로 생각되었다.

## 참 고 문 헌

1. Baxter, L. W., Jr., Witcher, W., Fagan, S. G., and Owen, M. G. 1977. Control of southern stem blight of tomatoes by physical means. *Plant Dis. Rep.*, 61: 341-342.
2. Benhamou, N. 1992. Ultrastructural and Cytochemical Aspects of Chitosan on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, Agent of Tomato Crown and Root Rot. *Phytopathology*, 82(10):1185-1193.
3. 정미혜, 김대회, 엄재열. 1993. 사과 과실 표면에 부착한 겹무늬썩음병균포자수의 계수. *한국식물병리학회소식*, 4(1): 79-80.
4. 조정숙, 한정준, 이철호. 1992. 꽃게 껍질에서 분리제조한 키틴산 필름의 물성에 관한 연구. *한국식품과학회지*, 24(6):574-580.
5. 조원대, 김충희, 김승철. 1982. 사과 주요 병해 발생생태와 방제에 관한 시험. *농기연시연보*. pp. 359-364.
6. Edward A. Brown II and Kerry O. Britton. 1986. *Botryosphaeria* diseases of apple and peach in the southeastern United States. *Plant Dis.*, 70: 480-484.
7. Ghaouth, A. E., Arul, J., Ponnampalam, R., and Boulet, M. 1991. Chitosan Coating Effect on Storability and Quality of Fresh Strawberries. *J. Food Science*, 56(6):1618-1620.
8. Ghaouth, A. E., Arul, J., Grenier, J., and Asselin, A. 1992. Antifungal Activity of Chitosan on Two Postharvest Pathogens of Strawberry Fruits, *Phytopathology*, 82(4):398-402.
9. Ghaouth, A. E., Arul, J., Grenier, J., Benhamou, N., Asselin, A., and Bêlanger, R. 1994. Effect of Chitosan on Cucumber Plants: Suppression of

- Pythium aphanidermatum and Induction of Defense Reactions. *Phytopathology*, 84(3):313-320.
10. Gunji, S., Arima, K., and Beppu, T. 1983. Screening of Antifungal Antibiotics According to Activities Inducing Morphological Abnormalities. *Agric. Biol. Chem.*, 47(9):2061-2069.
  11. Hadwiger, L. A. and Beckman, J. M. 1980. Chitosan as a Compound of Pea-*Fusarium solani* Interactions. *Plant Physiol.*, 66:205-211.
  12. 平良木 武 伸谷房治 關澤 博. 1981. リンゴ輪紋病に関する研究 第3 報. 感染時期. *日植病報*, 47: 373.
  13. 林重昭. 1984. リンゴ輪紋病の 發生生態と 防除. *植物防疫*, 38(12):19-22.
  14. Hirano, S. and Nagao, N. 1989. Effects of Chitosan, Pectic Acid, Lysozyme, and Chitinase on the Growth of Several Phytopathogens. *Agric. Biol. Chem.*, 53(11):3065-3066.
  15. Jing-sheng Han. 1990. Use of antitranspirant epidermal coatings for plant protection in China. *Plant Dis.*, 74:263-266.
  16. Kendra, D. F., Christian, D., and Hadwiger, L. A. 1989. Chitosan Oligomers from *Fusarium Solani*/Pea Interactions, Chitinase/ $\beta$ -glucanase Digestion of Sporelings and from Fungal Wall Chitin Actively Inhibit Fungal Growth and Enhance Disease Resistance. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 35:215-230.
  17. 김공수, 이상호, 김영준, 김영식. 1994. 고분자재료 화학. 형설출판사. pp.9-19.
  18. 김종천. 1982. 사과 부패병균의 동정 및 전염경로에 관한 연구. 농촌진흥청. 산학협동. 23:1-51.
  19. 김성봉, 임명순, 장한익. 1981. 사과부패병 발생생태와 방제에 관한 시험원시연보. pp. 95-98.

20. Kiyofumi, S., Nobutake, H. and Yasuto, W. 1985. A New Enzyme,  $\beta$ -Diketone Hydrolase: a Component of a Poly(vinylalcohol)-degrading Enzyme Preparation. *Agric. Biol. Chem.*, 49(6):1901-1902.
21. 이찬복. 1994. PVA 수지의 이해(2). *포장정보*, 8:70-73.
22. 이두원. 1992. 광분해성 플라스틱. *포장기술*, 58(10):22-33.
23. 이용현. 1991. 생분해성 고분자의 개발추세. 제1회 생분해성고분자 연구회 심포지움. pp. 2-20.
24. 이용현, 정의준. 1994. Chitin/Chitosan 유도체의 구조, 분해효소, 이용 및 주류 산업에의 활용. *酒類工業*, 14(4):73-85.
25. Mary, W. S., Hadwiger, L., and Ryan, C. A. 1983. Chitosan and Pectic Polysaccharides both Include the Accumulation of the Antifungal Phytoalexin Pisatin in Pea Pods and Antinutrient Proteinase Inhibitors in Tomato Leaves. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 110(1):194-199.
26. Masayuki, S., Yuji, N., Nobuo, K. and Chikahiro, S. 1985. Localization of Polyvinyl Alcohol Oxidase Produced by a Bacterial Symbiont, *Pseudomonas* sp. Strain VM15C. *Applied and Environmental Microbiology*, 49(1):8-10.
27. 맹기석, 김공수, 송해영, 김재문. 1993. 현대고분자화학. 형설출판사. pp. 259-262.
28. 増田益男. 1992. 수용성 PVA 필름. *포장기술*, 55(10):31-33.
29. 尾形 正. 1992. リンゴ輪紋病の 果實感染に 及ぼす要因. *今月の農業*, 11:48-51.
30. Muzzarelli, R. A. A. 1977. Chitin. Pergamon Press, Oxford, p.58.
31. 박은우, 이준호, 윤진일. 1993. 사과원 병해충종합관리를 위한 예찰 체제의 개발. 한국과학재단 특정기초연구과제 2차 중간보고서

32. Parker, K. C., and Shutton, T. B. 1993. Susceptibility of apple fruit to *Botryosphaeria dothidea* and isolate variation. *Plant Dis.*, 77: 385-389.
33. Pospieszny, H. and Atabekov, J. 1989. Effect of Chitosan on the Hypersensitive Reaction of Bean to Alfalfa Mosaic Virus. *Plant Science*, 62:29-31.
34. Sanford, P. A. and Hutchings, G. P. 1987. Chitosan-A Natural, Cationic Biopolymer: Commercial Applications, in *Industrial Polysaccharides: Genetic Engineering, Structure/Property Relations and Applications* (Yalpani, M., ed.), pp. 363-376.
35. Shimao, M., Taniguchi, Y., Shikata, S., Kato, N. and C. Sakazawa. 1982. Production of polyvinylalcohol oxidase by a symbiotic mixed culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44: 28-32.
36. 손정남. 1993. 접착제 탈용제화의 현황과 전망. *포장정보*, 6:105-113.
37. Stössel, P. and Leuba, J. L. 1984. Effect of Chitosan, Chitin and some Aminosugars on Growth of Various Soilborne Phytopathogenic Fungi. *Phytopath. Z.*, 111:82-90.
38. Sutton, T. B. 1981. Production and dispersal of ascospores and conidia of *Physalospora obtusa* and *Botryosphaeria dothidea* in apple orchards. *Phytopathology*, 71:584-589.
39. Toyoshima, K. 1973. General properties of polyvinyl alcohol in relation to its application.. In: *Polyvinyl alcohol, Properties and applications*, ed. by C.A. Finch. pp. 17-65. John Wiley & Sons, London
40. 엄재열. 1992. 미국의 식물검역 기준에 적합한 사과 1.병해 방제체계 수립. *경상북도 용역연구 보고서*. pp. 8-35.

41. 엄재열. 1993. 미국의 식물검역 기준에 적합한 사과 병해 방제체계 수립. 경상북도 용역연구 보고서. pp. 3-43.
42. 엄재열, 이동혁, 이상계. 1995. 미국 수출용 사과재배를 위한 살균제 살포력의 개발. 한국식물병리학회지, 11: 17-29.
43. Yalpani, M. and Sandford, P. A. 1987. Commercial Polysaccharides: Recent Trends and Developments in Industrial Polysaccharides: Genetic Engineering, Structure/Property Relations and Applications(Yalpani, M., ed.), pp. 311-335.
44. Ziv, O., and Frederikson, R. A. 1983. Control of folial diseases with epidermal coating materials. Plant Dis., 67:212-214.